

Adam Kaczmarek<sup>1</sup>, Elżbieta Gołąb<sup>1</sup>, Hanna Żarnowska-Prymek<sup>2</sup>, Anna Rawska<sup>2</sup>, Dawid Jańczak<sup>1</sup>,  
Artur Lewicki<sup>3</sup>, Maria Wesółowska<sup>4</sup>, Wioletta Rożej-Bielicka<sup>1</sup>, Danuta Cielecka<sup>3</sup>, Ruslan Salamatina<sup>1,3</sup>

## GENETIC DIVERSITY OF *BLASTOCYSTIS HOMINIS* SENSU LATO ISOLATED FROM HUMANS IN POLAND

### ZRÓŻNICOWANIE GENETYCZNE *BLASTOCYSTIS HOMINIS* SENSU LATO WYIZOLOWANYCH OD LUDZI W POLSCE

<sup>1</sup>National Institute of Public Health – National Institute of Hygiene, Warsaw, Poland  
Department of Parasitology

<sup>2</sup>Hospital of Infectious Diseases in Warsaw, Poland  
Parasitology Laboratory

<sup>3</sup>Medical University of Warsaw, Poland

Department of General Biology and Parasitology

<sup>4</sup>Wrocław Medical University, Poland,

Department of Biology and Medical Parasitology

<sup>1</sup>Narodowy Instytut Zdrowia Publicznego – Państwowy Zakład Higieny, Warszawa, Polska  
Zakład Parazytologii

<sup>2</sup>Wojewódzki Szpital Zakaźny w Warszawie,  
Pracownia Parazytologii

<sup>3</sup>Katedra Biologii Ogólnej i Parazytologii, Warszawski Uniwersytet Medyczny,

<sup>4</sup>Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu  
Katedra i Zakład Biologii i Parazytologii Lekarskiej

#### ABSTRACT

**INTRODUCTION AND OBJECTIVES.** *Blastocystis hominis* s. 1. is one of the most commonly detected protozoa in the human large intestine. The aim of the study was to determine the genetic subtypes of *Blastocystis hominis* s. 1. occurring in humans in Poland.

**MATERIALS AND METHODS.** Stool samples from patients diagnosed in the Laboratory of the Department of Parasitology, National Institute of Public Health – National Institute of Hygiene (NIZP-PZH) and in the Parasitology Laboratory of the Hospital for Infectious Diseases in Warsaw were examined. *Blastocystis* subtypes were assayed based on the fragment of small-subunit ribosomal RNA gene sequences (SSU rDNA).

**RESULTS:** The examined isolates were classified into five *Blastocystis* subtypes (STs), fifteen of which belonged to ST3, three to ST1, two to ST2, two to ST6, and one isolate belonged to ST7. In three cases the subtype of isolate was not identified.

**DISCUSSION AND CONCLUSIONS.** In Poland, the subtypes ST1, ST2, ST3, ST4, ST6 and ST7 have been reported in humans so far. The ST6 and ST7 subtypes are rarely detected in humans in Europe. In Poland, the ST6 subtype was previously described in chickens. On the basis of the studies, it was found that *Blastocystis* isolated from humans in Warsaw show high genetic diversity. In order to determine the possible pathogenic potential of individual *Blastocystis* subtypes, special epidemiological studies are required.

**Keywords:** *Blastocystis hominis*, human, Poland

#### STRESZCZENIE

**WSTĘPI CEL PRACY:** *Blastocystis hominis* s. 1. to jeden z najczęściej wykrywanych pierwotniaków w jelicie grubym człowieka. Celem pracy było określenie genetycznych subtypów *Blastocystis hominis* s. 1. występujących u ludzi w Polsce.

**MATERIAŁ I METODY:** Zbadano próbki kału pacjentów diagnozowanych w Laboratorium Zakładu Parazytologii NIZP-PZH oraz w Pracowni Parazytologii Wojewódzkiego Szpitala Zakaźnego w Warszawie. Oznaczenie subtypów *Blastocystis* przeprowadzono w oparciu o sekwencje fragmentu genu małej podjednostki rRNA (SSU rDNA).

**WYNIKI:** Zbadane izolaty zaklasyfikowano do pięciu subtypów *Blastocystis*, w tym: 15 należało do subtypu ST3, trzy do subtypu ST1, dwa do subtypu ST2, dwa do subtypu ST6 i jeden izolat należał do subtypu ST7. W trzech przypadkach nie określono subtypu izolatu.

**DYSKUSJA I PODSUMOWANIE:** W Polsce u ludzi odnotowano dotychczas subtypy ST1, ST2, ST3, ST4, ST6 oraz ST7. Do rzadko odnotowywanych u ludzi w Europie należą subtypy ST6 i ST7. W Polsce subtyp ST6 opisano uprzednio u kur. Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzono, że *Blastocystis* wyizolowane od ludzi wykazują dużą różnorodność genetyczną. W celu określenia możliwego potencjału chorobotwórczego poszczególnych subtypów *Blastocystis* niezbędne jest przeprowadzenie specjalistycznych badań epidemiologicznych.

**Słowa kluczowe:** *Blastocystis hominis*, człowiek, Polska

## INTRODUCTION

*Blastocystis hominis* s. l. is one of the most frequently detected protozoa in the human large intestine. *B. hominis* s. l. infection generally occurs asymptotically, in some cases blastocystosis is accompanied by diarrhea, abdominal pain, bloating, constipation, nausea. In the world, the prevalence of *B. hominis* s. l. in humans ranges from 1.5–10% in developed countries to 30–50% in developing countries (1). In Poland, the highest percentage of *B. hominis* s. l. infections in immunocompetent persons has been reported in the Warmian-Masurian Voivodeship. The percentage of infested children hospitalized in the Regional Specialist Children's Hospital in Olsztyn was 10.7% (2), and among the tested volunteers in this city it was 12% (3).

In contrast, according to data collected by the Voivodeship Sanitary-Epidemiological Station in Bydgoszcz in 2009–2014, *B. hominis* s. l. was reported in 0.14–0.87% of the examined individuals (4) and, among patients of the Parasitology Laboratory of the Voivodeship Sanitary-Epidemiological Station in Krakow in 2000–2006, there was no single case of *B. hominis* s. l. infection (5).

*Blastocystis hominis* s. l. is a complex of species in which up to 22 subtypes (ST) have been identified so far, including at least 9 isolated from humans (6). Some authors consider the ST1 subtype to be the most virulent of the previously studied (7). It has also been shown that the structure of subtypes of human *Blastocystis* isolates may indicate the reservoir and transmission route of infection (8, 9). In the few Polish reports concerning the results of genotyping of human *Blastocystis* isolates, the subtypes from ST1 to ST4 and ST6–ST7 have been reported (3, 10–13).

## WSTĘP

*Blastocystis hominis* to jeden z najczęściej wykrywanych pierwotniaków jelita grubego człowieka. Zażenie *B. hominis* s. l. na ogół przebiega bezobjawowo, w niektórych przypadkach blastocystozie towarzyszą: biegunka, bóle brzucha, wzdęcia, zaparcia, nudności. Na świecie częstość występowania *B. hominis* s. l. u ludzi waha się w przedziale od 1,5–10% w krajach rozwiniętych do 30–50% w krajach rozwijających się (1). W Polsce u osób z wydolnym układem odpornościowym najwyższy odsetek zarażeń *B. hominis* odnotowano dotychczas w województwie warmińsko-mazurskim. Odsetek zarażonych dzieci hospitalizowanych w Wojewódzkim Specjalistycznym Szpitalu Dziecięcym w Olsztynie wynosił 10,7% (2), a wśród zbadanych ochotników z tego miasta zarażonych było 12% (3).

Natomiast według danych zebranych przez Wojewódzką Stację Sanitarno-Epidemiologiczną w Bydgoszczy w latach 2009–2014 *B. hominis* s. l. odnotowano u 0,14–0,87% zbadanych (4), a wśród pacjentów Laboratorium Parazytologii Wojewódzkiej Stacji Sanitarno-Epidemiologicznej w Krakowie w latach 2000–2006 nie stwierdzono ani jednego przypadku zarażenia *B. hominis* s. l. (5).

*Blastocystis hominis* s. l. stanowi kompleks gatunków, w którym dotychczas wyróżniono 22 subtypy (ST), w tym co najmniej 9 wyizolowanych od człowieka (6). Niektórzy autorzy uważają subtyp ST1 za najbardziej patogenny spośród dotychczas zbadanych (7). Wykazano także, że struktura subtypów ludzkich izolatów *Blastocystis* może wskazywać na rezerwuar i drogę zarażenia (8, 9). W nielicznych polskich doniesieniach obejmujących wyniki genotypowania ludzkich izolatów *Blastocystis* odnotowano występowanie subtypów od ST1 do ST4 oraz ST6 i ST7 (3, 10–13).

## THE AIM OF THE STUDY

The study aim was to determine the genetic subtypes of *Blastocystis hominis* s. l. in humans in Poland.

## MATERIAL AND METHODS

The feces sampled from patients diagnosed in the Laboratory of the Department of Parasitology, National Institute of Public Health–National Institute of Hygiene (NIZP-PZH) and in the Parasitology Laboratory of the Hospital for Infectious Diseases in Warsaw were examined. Microscopic examination and culture method on modified Jones medium (14) supplemented with 10% horse serum in anaerobic conditions at 37°C were used for the detection of *Blastocystis* infection. Cultures were microscopically examined after 48–72 hours. Positive cultures were sieved to new media and incubated for 48–72 hours and then the cell pellet was separated by centrifugation at 10,000 × g for 1 min. DNA isolation from the cell pellet was carried out using QIAamp DNA Mini Kit (Qiagen GmbH) or Genomic Mini (A&A Biotechnology). By PCR method, a small-subunit ribosomal RNA gene (SSU rDNA) fragment of about 560 bp was amplified using BhrDr primers (5'-GAGCTTTTAACTGCAACAACG-3') (15) and RD5 (5'-ATCTGGTTGATCCTGCCAGT-3') (16). PCR products were sequenced and the resulting sequences were compared to the *Blastocystis* sequences deposited in the GenBank database. Phylogenetic analysis using Bayesian inference was performed (17, 18), including 24 reference sequences representing *Blastocystis* ST1–ST9 subtypes (19, 20). *Proteromonas lacertae* (GenBank: U37108) was used as an outgroup (Tab. I). The sequences reported in this paper were deposited in the GenBank database with the accession numbers KU684642–KU684646 and MG720855–MG720858. *Blastocystis* subtype nomenclature follows that of *Stensvold* et al. (21).

## CEL PRACY

Celem pracy było określenie genetycznych subtypów *Blastocystis hominis* s. l. występujących u ludzi w Polsce.

## MATERIAŁ I METODY

Zbadano próbki kału pacjentów diagnozowanych w Laboratorium Zakładu Parazytologii NIZP-PZH oraz w Pracowni Parazytologii Wojewódzkiego Szpitala Zakaźnego w Warszawie. Do wykrywania zarażenia *Blastocystis* zastosowano badania mikroskopowe oraz metodę hodowli na zmodyfikowanym podłożu Jonesa (14) z dodatkiem 10% surowicy końskiej w warunkach beztlenowych w 37°C. Hodowle sprawdzano mikroskopowo po 48–72 godzinach. Dodatkowo hodowle przesiewano na nową pożywkę i inkubowano przez 48–72 godzin, po czym oddzielano osad komórkowy przez wirowanie przy 10 000 × g przez 1 min. Izolację DNA z osadu komórkowego przeprowadzono za pomocą QIAamp DNA Mini Kit (Qiagen GmbH) lub Genomic Mini (A&A Biotechnology). Metodą PCR amplifikowano fragment genu małej podjednostki rRNA wielkości ok. 560 pz przy użyciu starterów BhrDr (5'-GAGCTTTTAACTGCAACAACG-3') (15) i RD5 (5'-ATCTGGTTGATCCTGCCAGT-3') (16). Produkty PCR sekwencjonowano, a otrzymane sekwencje porównywano z sekwencjami *Blastocystis* zdeponowanymi w bazie GenBank. Wykonano analizę filogenetyczną z użyciem wnioskowania bayesowskiego (17, 18) uwzględniając 24 sekwencje referencyjne reprezentujące subtypy *Blastocystis* ST1–ST9 (19, 20). *Proteromonas lacertae* (GenBank: PLU37108) użyto jako grupy zewnętrznej (Tab. I). Sekwencje zostały zdeponowane w bazie GenBank (numery dostępu: KU684642–KU684646 and MG720855–MG720858). Nomenklatura subtypów *Blastocystis* według *Stensvold* i wsp. (21).

Table I. GenBank reference sequences used in the construction of phylogenetic tree

Tabela I. Sekwencje referencyjne z bazy GenBank wykorzystane do konstrukcji drzewa filogenetycznego

Subtype	Number in the GenBank database
1	AB070989 (human / człowiek), U51151 (human / człowiek), AB107967 (monkey / małpa)
2	AB070987 (human / człowiek), AB070997 (monkey / małpa), AB107969 (monkey / małpa)
3	AB070988 (human / człowiek), AB107963 (pig / świnia), AB107965 (cattle / bydło)
4	AB071000 (rat / szczur), AY135408 (rat / szczur), U51152 (guinea pig / kawia domowa)
5	AB070999 (pig / świnia), AB107964 (pig / świnia), AB070998 (pig / świnia)
6	AB107972 (partridge / kuropatwa), AB070995 (quail / przepiórka), AB070990 (human / człowiek)
7	AY135412 (duck / kaczka), AB070991 (human / człowiek), AF408427 (human / człowiek)
8	AB107970 (black-and-white ruffed lemur / lemur wari)
9	AF408425 (human / człowiek), AF408426 (human / człowiek)
n/a	PLU37108 (unknown / brak informacji)

## RESULTS

As a result of the studies, 23 *Blastocystis* sequences showing a high degree of similarity to the homologous *Blastocystis* sequences deposited in GenBank were obtained. In three cases the sequences of tested isolates were not determined. Based on the phylogenetic analysis, the isolates obtained were classified into five *Blastocystis* subtypes. Most isolates (15 isolates) formed a distinct cluster ST3, three isolates were classified to ST1 subtype, two isolates belonged to each of the two subtypes ST2 and ST6, respectively and one isolate to ST7 subtype (Fig. 1).

## WYNIKI

W wyniku przeprowadzonych badań otrzymano 23 sekwencje *Blastocystis* wykazujące wysoki stopień podobieństwa do homologicznych sekwencji *Blastocystis* zgromadzonych w GenBank. W trzech przypadkach nie określono sekwencji badanych izolatów. Na podstawie analizy filogenetycznej uzyskane izolaty zaklasyfikowano do pięciu subtypów *Blastocystis*. Większość izolatów (15) tworzyło odrębny klastery ST3, do ST1 zaklasyfikowano trzy izolaty, po dwa izolaty należały do subtypów ST2 i ST6, a jeden do ST7 (Ryc. 1).

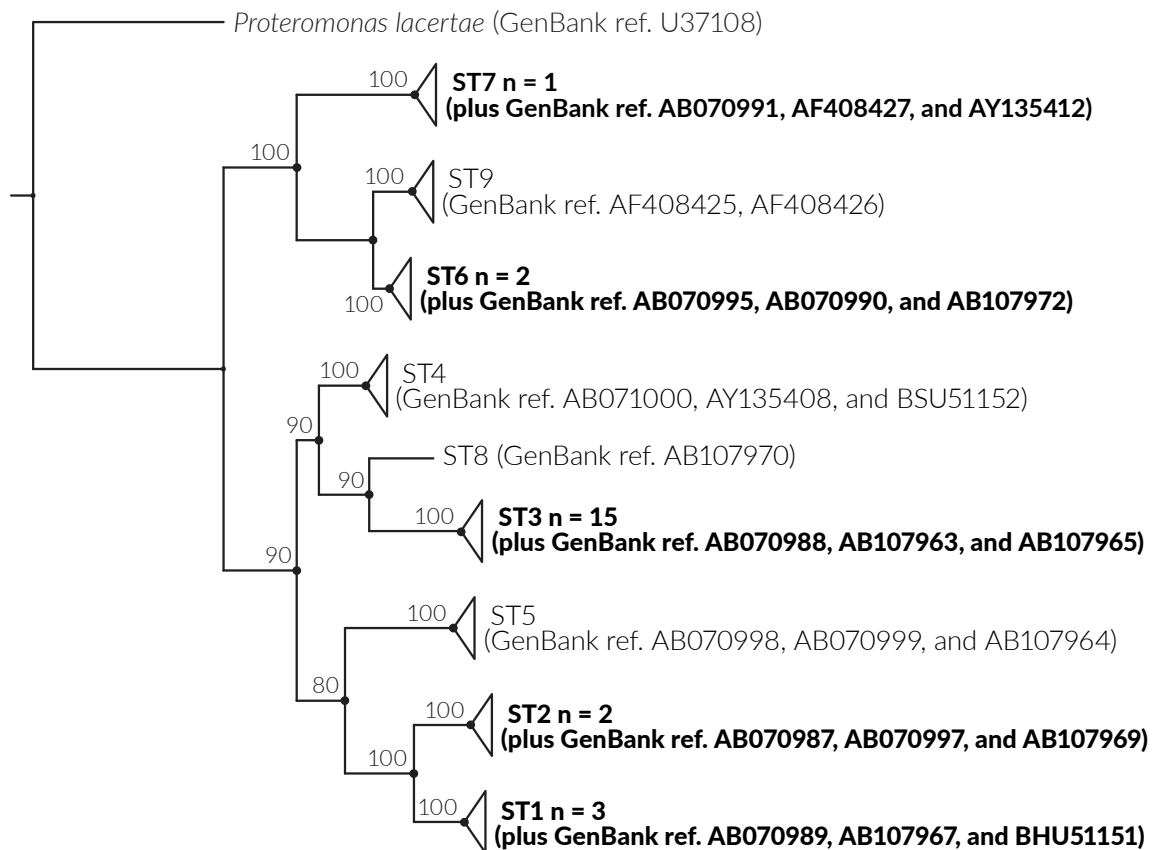


Fig. 1. Bayesian inference tree based on fragment of sequences (536 bp) obtained at the small-subunit rRNA gene (SSU rDNA) of *Blastocystis* isolates of the present study, performed using MrBayes 3.1 (17, 18). The numbers adjacent to branchpoints indicate the Bayesian posterior probabilities.

Ryc. 1. Drzewo zbudowane w oparciu o fragment sekwencji (536 pz) małej podjednostki rRNA (SSU rDNA) za pomocą wnioskowania bayesowskiego z użyciem oprogramowania MrBayes 3.1 (17, 18). Liczby obok węzłów wskazują prawdopodobieństwo *a posteriori*.

## DISCUSSION

Of the 22 subtypes hitherto identified in the *Blastocystis hominis* s. l. complex of species, at least nine have been reported in humans (6). It was previously shown that the structure of subtypes of human *Blastocystis* isolates may indicate the reservoir and mode of transmission (8, 9). In the few reports on

## DYSKUSJA

Pośród 22 subtypów wyróżnionych do tej pory w kompleksie gatunków *Blastocystis hominis* s. l. co najmniej dziewięć odnotowano u człowieka (6). Uprzednio wykazano, że struktura subtypów ludzkich izolatów *Blastocystis* może wskazywać na rezerwuari i drogę zarażenia (8, 9). W nielicznych doniesieniach

*Blastocystis* subtypes found in Poland in humans, the subtypes ST1, ST2, ST3, ST4, ST6 and ST7 have been detected so far (3, 10–13).

The most frequently detected subtype in Poland is ST3 considered to be typically human (10, 15, 22). Its occurrence was found in 84 out of 134 isolates for which subtypes were identified in *Kotłowski's* studies (10), and 10 out of 31 isolates were identified by *Lepczyńska et al.* (3). In our own study, 15 out of 23 isolates had the ST3 genotype. In examination of patients in a Dutch hospital, *Blastocystis* was found in 24.2% out of 442 study participants. Most cases of infection were caused by the subtypes ST1, ST2, ST3 and ST4. However, as in Poland, ST3 was prevalent and was detected in 40% of isolates (23).

Many authors point to *Blastocystis hominis* s. l. as an etiological factor in travelers' diarrhea (24–26). Dutch studies have identified higher prevalence of *Blastocystis* among patients with a recent history of travel to tropical countries. In this group, as well as in patients not going to the tropics, *Blastocystis* ST3 (40%) was also most frequently detected (23).

Patients infected with *Blastocystis* complain mainly of gastrointestinal symptoms such as abdominal pain, diarrhea and nausea. Dermatological manifestations, including urticaria, are less frequent (23, 27–28). However, in studies by *Abdel Hameed et al.* (29), *B. hominis* s. l. ST3 was reported in 61% of patients with urticaria, while in the control group the percentage of infected patients was 8%. The use of appropriate antiparasitic agents caused disappearance of urticaria and related symptoms (29).

Some authors consider the ST1 subtype to be the most virulent of the previously examined (7). Only two isolates with this subtype were found in our own studies, while in the Olsztyn population it constituted one third of 31 examined isolates (3). In the *Kotłowski's* research (10), ST1 was detected in 10.8% of *Blastocystis* isolates (16 out of 147 examined). In addition, it was found in 2 cases of mixed ST1 / ST3 invasion.

The ST2 subtype detected in our own studies was previously identified in Poland in isolates collected by *Kotłowski* (10), where it constituted 19% of all the examined, and in the population of Olsztyn (3). *Blastocystis hominis* s. l. ST2 infection is primarily associated with asymptomatic cases (10, 30), but there are also reports of skin disorders associated with the occurrence of this subtype in patients (10, 31).

A significant risk factor for acquiring blastocystosis is close contact with animals (32–35). In our studies we found in patients *Blastocystis* ST6 and ST7, which are considered as avian parasites. ST6 and ST7 subtypes are rarely reported in humans in Europe, but are frequent in Japan, Pakistan and Egypt. In Poland, the ST6 subtype was previously described in chickens (36).

na temat subtypów *Blastocystis* występujących w Polsce u ludzi odnotowano dotychczas subtypy ST1, ST2, ST3, ST4, ST6 oraz ST7 (3, 10–13).

Najczęściej wykrywanym subtypem w Polsce jest ST3 uważany za subtyp typowo ludzki (10, 15, 22). Jego występowanie stwierdzono w 84 ze 134 izolatów, dla których określono subtypy w badaniach *Kotłowskiego* (10) oraz w 10 ze 31 izolatów oznaczonych w badaniach *Lepczyńskiej i wsp.* (3). W badaniach własnych 15 z 23 izolatów posiadały genotyp ST3. W badaniach przeprowadzonych w grupie pacjentów szpitala w Holandii stwierdzono występowanie zarażenia *Blastocystis* u 24,2% spośród 442 osób zbadanych. Większość przypadków zarażeń była wywołana przez subtypy ST1, ST2, ST3 i ST4. Jednak tak jak w Polsce dominował subtyp ST3, który wykryto w 40% zbadanych izolatów (23).

Wielu autorów zwraca uwagę na *Blastocystis hominis* s. l. jako czynnik etiologiczny biegunek u osób podróżujących (24–26). W badaniach holenderskich stwierdzono wyższą prevalencję *Blastocystis* wśród pacjentów z aktualną historią podróży do krajów tropikalnych. W grupie tej, tak jak i w grupie pacjentów niewyjeżdżających do tropików, też najczęściej wykrywano *Blastocystis* ST3 (40%) (23).

Pacjenci zarażeni *Blastocystis* mają objawy głównie ze strony układu pokarmowego, takie jak: bóle brzucha, biegunkę i nudności. Objawy dermatologiczne, w tym pokrzywka występują u zarażonych rzadziej (23, 27, 28). Natomiast w badaniach *Abdel Hameed i wsp.* (29) wykazano obecność *B. hominis* s. l. ST3 u 61% pacjentów z pokrzywką, podczas gdy u pacjentów z grupy kontrolnej odsetek zarażonych wynosił 8%. Zastosowanie odpowiednich leków przeciw pasożytniczych powodowało zanik pokrzywki i związanych z nią objawów (29).

Niektórzy autorzy uważają subtyp ST1 za najbardziej patogenny spośród dotychczas zbadanych (7). W badaniach własnych wykryto tylko dwa izolaty z tym subtypem, podczas gdy w populacji olsztyńskiej stanowił on jedną trzecią wśród 31 zbadanych izolatów (3). Natomiast w badaniach *A. Kotłowskiego* (10) ST1 był wykryty w 10,8% izolatów *Blastocystis* (16 na 147 zbadanych), oprócz tego stwierdzono jego obecność w 2 przypadkach inwazji mieszanych ST1/ST3.

Wykryty w badaniach własnych subtyp ST2 wcześniej był stwierdzany w Polsce w izolatach zebranych przez *A. Kotłowskiego* (10), gdzie stanowił 19% wśród wszystkich zbadanych oraz w populacji olsztyńskiej (3). Zarażenia *Blastocystis hominis* s. l. ST2 związane są głównie z przypadkami bezobjawowymi (10, 30), niemniej jednak są też doniesienia o objawach skórnych związanych z występowaniem tego subtypu u pacjentów (10, 31).

Znaczącym czynnikiem ryzyka nabycia blastocystozy jest bliski kontakt ze zwierzętami (32–35). W badaniach własnych u pacjentów wykryto *Blastocystis* ST6

Data from the literature indicate that immunocompromised people, such as infected with HIV, patients with cancer and children, are more likely to develop blastocystosis (37–39). We did not have information on the function of the immune system in subjects tested for our work purposes. However, in the studies conducted in Wrocław among HIV-positive patients, the percentage of *Blastocystis* was higher (38%) than in HIV-negative patients (29%) (13).

The results of research on human *Blastocystis* isolates collected in Warsaw so far demonstrate their high genetic diversity. In order to determine the possible pathogenic potential of individual *Blastocystis* subtypes, it will be necessary to conduct epidemiological studies using molecular biology methods.

#### ACKNOWLEDGEMENTS

We would like to thank dr Aleksander Masny (National Institute of Public Health – National Institute of Hygiene, Warsaw) for the support of our study.

#### REFERENCES

1. Sohail MR, Fischer PR. *Blastocystis hominis* and travelers. *Travel Med Infect Dis* 2005;3(1):33–38. doi: 10.1016/j.tmaid.2004.06.001
2. Raś-Noryńska M, Białkowska J, Sokół R, Piskorz-Ogórek K. Parasitological stool examination from children without the typical symptoms of parasitic disease. *Przegl Epidemiol* 2011;65(4):599–603.
3. Lepczyńska M, Dzika E, Stensvold CR. Genetic diversity of *Blastocystis* spp. in the human population of the Olsztyn area. *Ann Parasitol* 2016;62(Suppl):28.
4. Kasprzak J, Szaladzińska B, Smogula M, Ziuziakowski M. Intestinal parasites found in stool samples and perianal swabs examined by The Voivodeship Sanitary-Epidemiological Station in Bydgoszcz between 2000–2014 = Pasożyty przewodu pokarmowego wykrywane w próbkach kału i wymazów okołoodbytniczych badanych w Wojewódzkiej Stacji Sanitarno-Epidemiologicznej w Bydgoszczy w latach 2000–2014. *Przegl Epidemiol* 2017;71(1):45–54.
5. Nowak P, Jochymek M. Występowanie pasożytów jelitowych człowieka w wybranych populacjach na terenie Krakowa w latach 2000–2006 na podstawie badań parazytologicznych kału przeprowadzonych w Laboratorium Parazytologii Wojewódzkiej Stacji Sanitarno-Epidemiologicznej. *Ann Parasitol* 2007;53(4):285–293.
6. Zhao GH, Hu XF, Liu TL, Hu RS, Yu ZQ, Yang WB, et al. Molecular characterization of *Blastocystis* sp. in captive wild animals in Qinling Mountains. *Parasitol Res* 2017; 24;116(8):2327–2333. doi: 10.1007/s00436-017-5506-y

i ST7, które są uznawane za pasożyty ptaków. Subtypy ST6 i ST7 są rzadko odnotowywane u ludzi w Europie, natomiast są częste w Japonii, Pakistanie i Egipcie. W Polsce subtyp ST6 opisano uprzednio u kur (36).

Dane z piśmiennictwa wskazują, że osoby z osłabionym układem odpornościowym: zarażone wirusem HIV, pacjenci z nowotworami oraz dzieci, są bardziej narażone na blastocystozę (37–39). Nie mieliśmy informacji dotyczących funkcji układu odpornościowego u osób zbadanych do celów pracy, jednak w badaniach przeprowadzonych we Wrocławiu wśród pacjentów HIV-dodatnich odsetek zarażonych *Blastocystis* był wyższy (38%) niż wśród pacjentów HIV-ujemnych (29%) (13).

#### PODSUMOWANIE

Uzyskane wyniki badań dotychczas zebranych w Warszawie ludzkich izolatów *Blastocystis* wykazują ich dużą różnorodność genetyczną. W celu określenia możliwego potencjału chorobotwórczego poszczególnych subtypów *Blastocystis* niezbędne będzie przeprowadzenie badań epidemiologicznych z wykorzystaniem metod biologii molekularnej.

#### PODZIĘKOWANIA

Serdecznie dziękujemy dr. Aleksandrowi Masnemu (NIZP-PZH) za wszechstronne wsparcie w pracach badawczych i za cenne uwagi podczas pracy nad rękopisem.

7. Hussein EM, Hussein AM, Eida MM, Atwa MM. Pathophysiological variability of different genotypes of human *Blastocystis hominis* Egyptian isolates in experimentally infected rats. *Parasitol Res* 2008;102(5):853–860.
8. Stensvold CR, Arendrup MC, Jespersgaard C, Mølbak K, Nielsen H V. Detecting *Blastocystis* using parasitologic and DNA-based methods: a comparative study. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2007;59(3):303–307.
9. Stensvold CR, Lewis HC, Hammerum AM, Porsbo LJ, Nielsen SS, Olsen KE, Arendrup MC, Nielsen HV, Mølbak K. *Blastocystis*: unravelling potential risk factors and clinical significance of a common but neglected parasite. *Epidemiol Infect* 2009;137(11):1655–1663. doi: 10.1017/S0950268809002672
10. Kotłowski A. Blastocystoza – próba oceny objawów klinicznych i skuteczności leczenia metronidazolem w przypadkach różnych stopni intensywności inwazji pasożytniczej oraz izolowanych genotypów *Blastocystis* sp. u Polaków powracających z tropiku

- i nieopuszczających kraju. *Annales Academiae Medicae Gedanensis* 2012;42(Suppl 3):1–85.
11. Salamatin R, Kaczmarek A, Rozej-Bielicka W, Cielecka D, Jańczak D, Lewicki A, Wesolowska M., Młocicki D., Gołąb E. Genotype characterisation of *Blastocystis* isolates from Polish patients – preliminary results. *Ann Parasitol* 2016;62(Supplement):93.
  12. Salamatin R, Kaczmarek A, Rozej-Bielicka W, Wesolowska M, Młocicki D, Gołąb E. Genotypes of *Blastocystis* isolated from Polish patients: a case of *Blastocystis hominis* sensu lato (subtype 6) infection. *In: [12th European Multicolloquium of Parasitology. EMOP XII. Abstracts]; 2016 July 20–24; Turku, Finland. [USB flash drive]; 2016. P17.15.*
  13. Wesolowska M, Kicia M, Szetela B, Kopacz Z, Salamatin R, Rymer W, Szymczak A, Knysz B. Prevalence of *Blastocystis hominis* among HIV-positive and HIV-negative patients in Poland. *In: [12th European Multicolloquium of Parasitology. EMOP XII. Abstracts]; 2016 July 20–24; Turku, Finland. [USB flash drive]; 2016. P6.11.*
  14. Jones WR. The experimental infection of rats with *Entamoeba histolytica*; with a method for evaluating the anti-amoebic properties of new compounds. *Ann Trop Med Parasitol* 1946;40:130–140. doi: 10.1080/00034983.1946.11685270
  15. Scicluna SM, Tawari B, Clark CG. DNA barcoding of *Blastocystis*. *Protist* 2006;157(1):77–85. doi: 10.1016/j.protis.2005.12.001
  16. Clark CG. Extensive genetic diversity in *Blastocystis hominis*. *Mol Biochem Parasitol.* 1997;87(1):79–83.
  17. Huelsenbeck JP, Ronquist R. Bayesian analysis of molecular evolution using MrBayes. *In: Statistical Methods in Molecular Evolution.* Ed.: R. Nielsen. New York: Springer, 2005, p. 183–232.
  18. Miller MA, Pfeiffer W, Schwartz T. Creating the CIPRES Science Gateway for inference of large phylogenetic trees. *In: Proceedings of the Gateway Computing Environments Workshop (GCE), 14 Nov. 2010, New Orleans, LA, pp. 1–8.*
  19. Rivera WL. Phylogenetic analysis of *Blastocystis* isolates from animal and human hosts in the Philippines. *Vet Parasitol* 2008;156(3/4):178–182. doi: 10.1016/j.vetpar.2008.06.001
  20. Mattiucci S, Crisafi B, Gabrielli S, Paoletti M, Cancrini G. Molecular epidemiology and genetic diversity of *Blastocystis* infection in humans in Italy. *Epidemiol Infect* 2016;144(3):635–46. doi: 10.1017/S0950268815001697
  21. Stensvold CR, Suresh GK, Tan KS, Thompson RC, Traub RJ, Viscogliosi E, Yoshikawa H, Clark CG. Terminology for *Blastocystis* subtypes – a consensus. *Trends Parasitol* 2007;23(3):93–96. doi: 10.1016/j.pt.2007.01.004
  22. Yoshikawa H, Morimoto K, Wu Z, Singh M, Hashimoto T. Problems in speciation in the genus *Blastocystis*. *Trends Parasitol* 2004; 20: 251–255. doi: 10.1016/j.pt.2004.03.010
  23. Bart A, Wentink-Bonnema EM, Gilis H, Verhaar N, Wassenaar CJ, van Vugt M, Goorhuis A, van Gool T. Diagnosis and subtype analysis of *Blastocystis* sp. in 442 patients in a hospital setting in the Netherlands. *BMC Infect Dis* 2013;13:289. doi: 10.1186/1471-2334-13-389
  24. Shlim DR, Hoge CW, Rajah R, Rabold JG, Echeverria P. Is *Blastocystis hominis* a cause of diarrhea in travelers? A prospective controlled study in Nepal. *Clin Infect Dis* 1995;21(1):97–101. doi: 10.1093/clinids/21.1.97
  25. Kowalewska B, Rudzińska M, Zarudzka D, Kotłowski A. Ocena częstości zarażeń pasożytami jelitowymi wśród pacjentów przychodni Instytutu Medycyny Morskiej i Tropikalnej w Gdyni w okresie ostatnich 30 lat. *Diagnostyka Laboratoryjna = Journal of Laboratory Diagnostics* 2013;49(1):9–15.
  26. Duda A, Kosik-Bogacka D, Lanocha-Arendarczyk N, Lanocha A. The prevalence of *Blastocystis hominis* and other protozoan parasites in soldiers returning from peacekeeping missions. *Am J Trop Med Hyg* 2015;92(4):805–806. doi: 10.4269/ajtmh.14-0344
  27. Suh KN, Kozarsky P, Keystone JS. *Cyclospora cayetanensis*, *Cystoisospora (Isospora) belli*, *Sarcocystis* species, *Balantidium coli*, and *Blastocystis* species. *In: Mandell, Douglas, and Bennett's principles and practice of infectious diseases.* Eds: JE Bennett, R. Dolin, MJ Blaser. Updated Eighth edition. Philadelphia, PA: Elsevier/Saunders, [2015]. p. 3184–3191.
  28. Tan KSW. New insights on classification, identification, and clinical relevance of *Blastocystis* spp. *Clin Microbiol Rev* 2008;21(4):639–665. doi: 10.1128/CMR.00022-08
  29. Abdel Hameed DM, Hassanin OM, Zuel-Fakkar NM. Association of *Blastocystis hominis* genetic subtypes with urticaria. *Parasitol Res* 2011;108(3):553–560. doi: 10.1007/s00436-010-2097-2
  30. Mirza H, Tan KSW. Clinical aspects of *Blastocystis* infections: advancements amidst controversies. *In: Blastocystis: pathogen or passenger?* Eds: H Mehlhorn, KSW Tan, H Yoshikawa. Heidelberg, New York, Dordrecht, London: Springer, 2012. p. 65–84. (Parasitology Research Monographs; Vol. 4). doi: 10.1007/978-3-642-32738-4\_5
  31. Vogelberg C, Stensvold CR, Monecke S, Ditzén A, Stopsack K, Heinrich-Gräfe U, Pöhlmann C. *Blastocystis* sp. subtype 2 detection during recurrence of gastrointestinal and urticarial symptoms. *Parasitol Int* 2010; 59(3):469–471. doi: 10.1016/j.parint.2010.03.00

32. Clark CG, van der Giezen M, Alfellani MA, Stensvold CR. Recent developments in *Blastocystis* research. *Adv Parasitol* 2013;82:1–32. doi: 10.1016/B978-0-12-407706-5.00001-0
33. Tan KSW, Mirza H, Teo JDW, Wu B, MacAry PA. Current views on the clinical relevance of *Blastocystis* spp. *Curr Infect Dis Rep* 2010;12(1):28–35. doi: 10.1007/s11908-009-0073-8
34. Alfellani MA, Taner-Mulla D, Jacob AS, Imeede CA, Yoshikawa H, Stensvold CR, Clark CG. Genetic diversity of *Blastocystis* in livestock and zoo animals. *Protist* 2013;164(4):497–509. doi: 10.1016/j.protis.2013.05.003
35. Roberts T, Stark D, Harkness J, Ellis J. Subtype distribution of *Blastocystis* isolates from a variety of animals from New South Wales, Australia. *Vet Parasitol* 2013;196(1/2):85–89. doi: 10.1016/j.vet-par.2013.01.011
36. Lewicki A, Rożej-Bielicka W, Sałamatın R. *Blastocystis hominis* s. l. ST6 – parasite of chickens – new zoonotic agent in Poland. *Anna Parasitol* 2016;62(Suppl):203.
37. El Safadi D, Gaayeb L, Meloni D, Cian A, Poirier P, Wawrzyniak I, Delbac F, Dabboussi F, Delhaes L, Seck M, Hamze M, Riveau G, Viscogliosi E. Children of Senegal River Basin show the highest prevalence of *Blastocystis* sp. ever observed worldwide. *BMC Infect Dis* 2014;14:164. doi: 10.1186/1471-2334-14-164
38. Kurniawan A, Karyadi T, Dwintasari SW, Sari IP, Yuniastuti E, Djauzi S, Smith HV. Intestinal parasitic infections in HIV/AIDS patients presenting with diarrhoea in Jakarta, Indonesia. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 2009;103(9):892–898. doi: 10.1016/j.trstmh.2009.02.017
39. Taşova Y, Sahin B, Koltaş S, Paydaş S. Clinical significance and frequency of *Blastocystis hominis* in Turkish patients with hematological malignancy. *Acta Med Okayama* 2000;54(3):133–136.
- 

Otrzymano: 3.07.2017

Zaakceptowano do publikacji: 27.07.2017

Received: 3.07.2017

Accepted for publication: 27.07.2017

**Address for correspondence:**

**Adres do korespondencji:**

Ruslan Sałamatın

Chałubińskiego 5

02-004 Warszawa

Tel. 22 621 26 07

e-mail: rsalamatın@wum.edu.pl