

*Pregledni rad/  
Review article*

SVINJE KAO POTENCIJALNI ZOONOTSKI  
REZERVOAR *BLASTOCYSTIS SP.*

*PIGS AS A POTENTIAL ZOONOTIC  
RESERVOIR OF BLASTOCYSTIS SP.*

Tamás Süli<sup>1,2</sup>, Gordana Kozoderović<sup>3</sup>, Vuk Vračar<sup>1</sup> i  
Vesna Lalošević<sup>1</sup>

**Correspondence to:**

**Vesna Lalošević**

Poljoprivredni fakultet  
Department veterinarske medicine  
Trg Dositeja Obradovića 8  
Novi Sad  
064/2035777  
[lvesna@polj.uns.ac.rs](mailto:lvesna@polj.uns.ac.rs)

<sup>1</sup> Poljoprivredni fakultet Univerziteta u Novom Sadu

<sup>2</sup> Prophyl Animal Health Ltd, Mohács, Hungary

<sup>3</sup> Pedagoški fakultet Sombor Univerziteta u Novom Sadu

**Ključne reči**

Blastocystis, svinje, ljudi, zoonoza.

**Key words**

Blastocystis, pigs, humans, zoonose.

**Sažetak**

*Blastocystis sp.* je anaerobna protozoa koja kolonizuje digestivni trakt ljudi i brojnih životinja uključujući sisare i ptice. Kod inficiranih životinja nema kliničkih simptoma bolesti dok se kod ljudi povezuje sa pojavom intestinalnih tegoba i simptoma dijareje ili čak inflamatorne bolesti creva (IBD), ali do danas ne postoji konsenzus o patogenom značaju ovog parazita, jer se sreće i kod zdravih osoba. Genetska raznolikost pokazuje prisustvo više od 17 suptipova (ST) kod sisara i ptica, različite geografske distribucije, a smatra se da specifičnost za vrstu domaćina i patogenost izolata koreliraju sa varijacijama SSU-rRNA gena. Kod ljudi se najčešće sreću ST1-ST9, sa dominacijom antropofilnog ST3, koji je nađen i kod svinja i goveda. STs 5-8 se retko sreću kod ljudi, ST 5 viđa se kod goveda i ptica, ST6 i ST7 uglavnom kod ptica. Pretpostavlja se da humane infekcije mogu biti rezultat zoonotske transmisije. U prilog tome ide činjenica visokog prisustva ovog parazita kod osoba u kontaktu sa životinjama. ST1, ST2, ST3 i ST4 najzastupljeniji su u Evropi. ST1, ST2 i ST3 jednako su prisutni kod pacijenata sa dijarejom i kod zdravih individua, dok se ST4 povezuje sa dijarejom i/ili IBD. Dijagnostika ovog parazita uglavnom se do sada zasnivala na mikroskopskom koprološkom pregledu, međutim molekularne metode (PCR) pokazuju daleko veću osetljivost i specifičnost, zbog čega je neophodno uvesti ih u laboratorijski rad. Razvoj odgovarajućeg protokola neophodan je za molekularnu epidemiologiju, a pomoći će u rasvetljavanju izvora *Blastocystis sp.* za ljude kao i identifikaciji potencijalnih animalnih rezervoara.

**UVOD**

*Blastocystis* je genetski izrazito varijabilna protozoa intestinalnog trakta ljudi i životinja za koju ni posle 100 godina od otkrića, nije postignuta saglasnost o patološkom značaju. *Blastocystis* je osim kod ljudi izolovan iz vodozemaca, reptila, insekata, brojnih vrsta ptica i sisara, posebno primata. Osim divljih, *Blastocystis* je izolovan i iz domaćih životinja kao što su svinje, živina, preživari i konji<sup>(1,2)</sup>.

Taksonomski položaj ove protozoe menjan je tokom vremena, a danas, na osnovu filogenetske analize sekvence male subjediniće ribozomalnog RNK gena (SSU-rDNA) *Blastocystis* se svrstava u kraljevstvo *Stramenopila* uprkos odsustvu tipične morfologije. *Stramenopila* je velika grupa slobodno živećih, aerobnih eukariota, (za razliku od *Blastocystis-a* koji je striktni anaerob) u koje spadaju

komensali koji se često izoluju iz reptila i amfibija<sup>(3)</sup>. Odsustvo tipične morfologije *Stramenopila* je više nego verovatno posledica sekundarnog gubitka određenih morfoloških struktura<sup>(4,5)</sup>, što je potvrđeno i sekvenciranjem drugih gena<sup>(6)</sup>. Razvoj molekularnih metoda dijagnostike sredinom 1990-ih godina brzo je otkrio dve stvari: 1. SSU-rDNA gen blastocistisa kod ljudi je izrazito varijabilan; 2. SSU-rDNA gen blastocistisa prisutnih u različitim vrstama životinja ne može da se razlikuje od istog gena blastocistisa prisutnih u ljudi<sup>(7,8)</sup>.

Ovo otkriće je značilo da je binominalni naziv vrsta parazita na osnovu domaćina neodrživ, pošto se jedan isti organizam nazivao različitim imenima. Na primer, vrsta *B. hominis* se pokazala potpuno identičnom sa vrstom *B. ratti*, a kasnije su obe vrste identifikovane kao *Blastocystis* ST4, tj. suptip 4.

Na predlog Stensvolda i saradnika<sup>(9)</sup> postignut je konsenzus da se sve vrste izolovane iz ptica ili sisara, uključujući *Blastocystis hominis*, imenuju kao *Blastocystis sp.*, a da taj naziv prati oznaka suptipa „ST“ sa određenim brojem u zavisnosti kojem suptipu vrsta pripada (primer: ST1, ST3, ST5 itd.). Ovu nomenklaturu je prihvatila većina istraživača, što je dovelo do određenog reda u literarnim podacima objavljenim posle 2007. godine.

U momentu postizanja konsenzusa oko nomenklature blastocistisa 2007. godine bilo je identifikovano 9 suptipova (ST1-ST9). Od 2013-2017., potvrđeni su suptipovi 10 - 17, a od tada još 9 suptipova (18-26) ali najnovija istraživanja Stensvolda i Klarka, predlažu da se suptipovi 21 i 23-26 prihvate a da se ostali izbace iz nomenklature kao nedovoljno definisani<sup>(10)</sup>. Razlike u genetskoj strukturi blastocistisa mogu biti izuzetno diskretne, iz tog razloga je neophodan poseban oprez prilikom objavljivanja podataka o pretpostavljenom novom suptipu. Preporuka je da se novi suptip definiše samo u onom slučaju ako postoji minimum 5% odstupanja sekvence SSU-rDNA gena u odnosu na poznate suptipove<sup>(5)</sup>. Prag od 5% se preporučuje delom iz razloga što genetska varijabilnost može da bude izražena i unutar samih suptipova, sa odstupanjima čak do 3%<sup>(4)</sup>.

### Patogeni značaj

Različiti autori daju različiti patološki značaj blastocistisu, i još uvek ne postoji konsenzus o kliničkom značaju ovog mikroorganizma. Izvesne populacije mogu biti prijemčivije na poremećaje koji su povezani sa blastocistisom, a među faktore rizika spadaju imuno-kompromitovana zdravstvena stanja, slabe higijenske navike, imigracija i putovanje iz/u zemlje u razvoju, bliski kontakt sa životinjama i konzumacija kontaminirane hrane i/ili vode.

Izvestan broj istraživanja je dokazao višu incidencu blastocistisa kod imuno-kompetentnih pojedinaca sa gastrointestinalnim poremećajima nego kod asimptomatske grupe individua<sup>(11,12,13,14,15,16)</sup>. Zanimljiv je rezultat više incidence blastocistisa kod pacijenata sa alergijskim oboljenjima kože<sup>(17)</sup>. U izvesnom broju tih studija prisustvo parazita je povezano sa nespecifičnim simptomima kao što su abdominalni bolovi, dijareja i nadutost. Viša incidenca izolacije blastocistisa je uočena kod pojedinaca na imunosupresivnoj terapiji, kao što su lica sa transplantacijom bubrega<sup>(17,18)</sup> i deca na kortikosteroidnoj terapiji<sup>(19)</sup>. Kod pacijenata sa hematološkim malignitetima, koji su dobijali hemoterapiju, *Blastocystis* je bio najčešće izolovan parazit, a povezivan je sa abdominalnim bolovima, dijarejom i nadutošću<sup>(20)</sup>. Infekcija blastocistisom se često sreće kod dece sa različitim geografskih područja i sve je veći broj epidemioloških i studija slučajeva, koje ukazuju na to da infekcija blastocistisom uzrokuje gastro-intestinalna oboljenja u ovoj populaciji<sup>(21,22,23,24)</sup>. Istraživanja rađena u Vojvodini, o povezanosti hroničnog kolitisa kod dece i prisustva blastocistisa u stolici, pokazala su statistički veću učestalost kolitisa i hronične inflamatorne bolesti creva kod dece hospitalizovane zbog proliva i bola u trbuhu koja su bila inficirana blastocistisom<sup>(25,26)</sup>. Infekcije ovim uzročnikom su česte među pripadnicima različitih zanimanja koja podrazumevaju kontakt sa životinjama, što ukazuje na zoonotsku prirodu ovog mikroorganizma. Među rizičnom

populacijom se nalaze radnici u zooološkim vrtovima i klanicama<sup>(27, 28)</sup>.

### Molekularna epidemiologija: Da li su humane infekcije rezultat zoonotske transmisije prvenstveno od svinja?

Od do sada definisanih suptipova, 10 se sreće kod ljudi, i to ST 1-9 i ST 12, a više od 90% humanih *Blastocystis sp.* pripada suptipovima 1, 2, 3 i 4<sup>(10)</sup>. Svi do sada opisani suptipovi izuzev ST9 sreću se i kod životinja. Smatra se da izlaganje životinjama inficiranim blastocistisom samo po sebi nije dovoljno za razvoj infekcije kod ljudi. Na primer, ST10 je veoma čest suptip kod životinja namenjenih za ljudsku ishranu<sup>(29)</sup>, međutim još uvek nije izolovan kod čoveka. Na osnovu gore navedenog može se pretpostaviti, da na sposobnost blastocistisa da kolonizuje digestivni trakt ljudi veliki uticaj bi mogla imati i fiziološka crevna flora čoveka<sup>(30)</sup>.

Prve podatke o infekciji svinja sa *Blastocystis sp.* objavio je Burden<sup>(31)</sup> i saradnici, koji su prijavili prevalencu od 60%. Pakandl<sup>(32)</sup> je kultivacijom na hranljivoj podlozi uz dodatak konjskog seruma, takođe utvrdio prisustvo blastocistisa kod svinja počev od trodnevnih prasadi do odraslih svinja sa prevalencom od 68-93%. Stensvold i saradnici<sup>(33)</sup> su dokazali jaku povezanost kontakta sa svinjama i životinjom u *Blastocystis* infekcijama ljudi. Laboratorijski dokazi govore da su svinje domaćini ST1, ST2, ST3 i ST5<sup>(34)</sup>. Visoka prevalenca blastocistisa kod svinja, sa najčešće prisutnim suptipovima 1 i 5, ukazuje da su svinje najverovatnije prirodni domaćini ovih parazita. Iako se suptip 5 smatra relativno retkim kod čoveka, potencijalna zoonotska transmisija je već dokazana<sup>(34)</sup>. U cilju testiranja ove hipoteze Wang i saradnici<sup>(35)</sup> su molekularnoj analizi podvrgli uzorke fecesa od svinja i ljudi, koji su bili u kontaktu sa tim svinjama. Jednu grupu su činile svinje iz intenzivnog uzgoja sa farmi jugo-istočnog Kvinslenda (Australija) i radnici sa farmi, dok su drugu grupu činile svinje i ljudi iz sela u ruralnom delu Kambodže. Prevalenca blastocistisa kod svinja iz intenzivnog uzgoja je iznosila 76,7%, dok je prevalenca kod svinja iz ruralnog područja Kambodže iznosila 45,2%. Kod svih svinja je dokazano prisustvo suptipa 5. Među radnicima sa farmi svinja procenat pozitivnih uzoraka je bio čak 83,3%, dok su stanovnici kambodžanskog sela bili inficirani u 55,2% slučajeva. Kod ljudi su dokazani suptipovi 1, 2, 3 i 5. Interesantno je da je suptip 5 (inače redak nalaz kod ljudi) bio prisutan kod 13,9% (5/36) radnika sa farmi, dok uopšte nije dokazan kod ljudi iz seoskih gazdinstava. Autori zaključuju da bliski kontakt radnika sa svinjama predstavlja rizik zoonotske transmisije.

### Mikroskopska dijagnostika blastocistisa

Rutinskim pregledom nativnog preparata svežeg izmeta može se videti vakuolarna forma koja se smatra tipičnom ćelijskom formom od dijagnostičkog značaja<sup>(36,37)</sup>. Vakuolarna forma dominira u preparatima iz kulture, a nalazi se i prilikom direktnog pregleda fekalnog materijala<sup>(38)</sup>. Granularna forma poseduje ultrastrukturu sličnu vakuolarnoj formi, osim morfološki i citohemijski različite centralne vakuole<sup>(38)</sup>. Vakuolarna i granularna forma se ne

posmatraju kao dve različite forme, smatra se da je granularna forma u suštini vakuolarna sa granulama određene strukture u centralnoj vakuoli. Vakuolarne i granularne forme poseduju tanak pojas citoplazme oko velike centralne vakuole. Dugački citoplazmatski izdanci, koji često sadrže organele, mogu prominirati ka centralnoj vakuoli kod vakuolarnih formi prisutnih u fekalnom materijalu<sup>(39)</sup>.

### Kultivacija *Blastocystis*

Ksenična *in vitro* kultura je metoda kultivacije uz prisustvo neidentifikovane bakterijske flore u kojoj *Blastocystis* dobro raste i razmnožava se u velikom broju<sup>(14)</sup>. Jones-ov medijum je u širokoj upotrebi zbog svoje jednostavnosti pripreme i ekonomičnosti, ali i brojne druge hranjive podloge su pogodne za kultivaciju *Blastocystis*, npr. Robinsonov i LYSGM (varijacija TYSGM-9) medijum<sup>(40)</sup>. Kultivacija u Jones-ovom medijumu kao dijagnostička procedura ima osetljivost između 52% i 79% u poređenju sa visoko osetljivim PCR protokolima<sup>(41)</sup>.

### Molekularna dijagnostika

Prvi dijagnostički PCR protokol za *Blastocystis* su opisali Stensvold i saradnici 2006. godine<sup>(42)</sup>. Za sada u literaturi se navode dva najviše korišćena načina molekularne identifikacije i genotipizacije: analiza SSU rDNA tzv. „barcoding“, po protokolu koji su opisali Scicluna i saradnici<sup>(43)</sup>. Po protokolu dolazi do amplifikacije regiona 600 baznih parova SSU-rDNA gena *Blastocystis*. U PCR reakciji primenjuju se prajmeri: BhrDR (5' GAGCTTTTAACTGCAACAACG 3') i RD5 (5' ATCTGGTTGATCCTGCCAGT 3') a potom se radi sekvenciranje<sup>(43)</sup> i dokazivanje suptipova (ST) pomoću specifičnih setova prajmera<sup>(44,34)</sup>.

**Tabela 1.** STS prajmeri za suptipizaciju *Blastocystis* svinja iz Vojvodine, prema<sup>(34)</sup>.

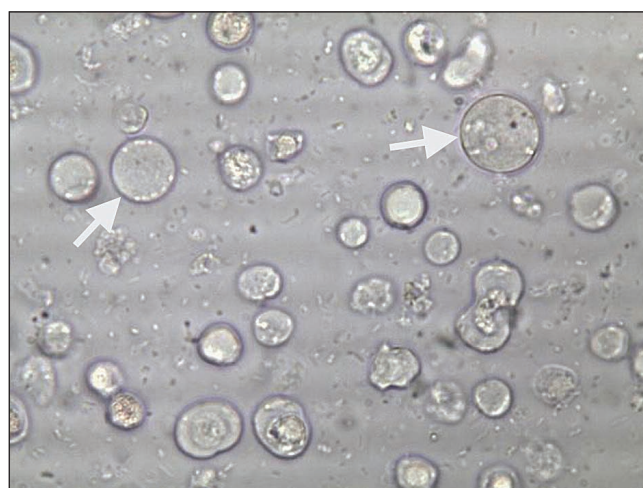
Suptip	Oznaka	Veličina PCR produkta (bp)	Sekvence prajmera
1	SB83	351	F 5' GAA GGA CTC TCT GAC GAT GA 3' R 5' GTC CAA ATG AAA GGC AGC 3'
2	SB340	704	F 5' TGT TCT TGT GTC TTC TCA GC 3' R 5' TTC TTT CAC ACT CCC GTC AT3'
3	SB227	526	F 5' AGG ATT TGG TGT TTG GAG A 3' R 5' TTA GAA GTG AAG GAG ATG GAA G 3'
5	SB336	317	F 5' GTG GGT AGA GGA AGG AAA ACA 3' R 5' AGA ACA AGT CGA TGA AGT GAG AT 3'

### Ispitivanje *Blastocystis sp.* u Vojvodini

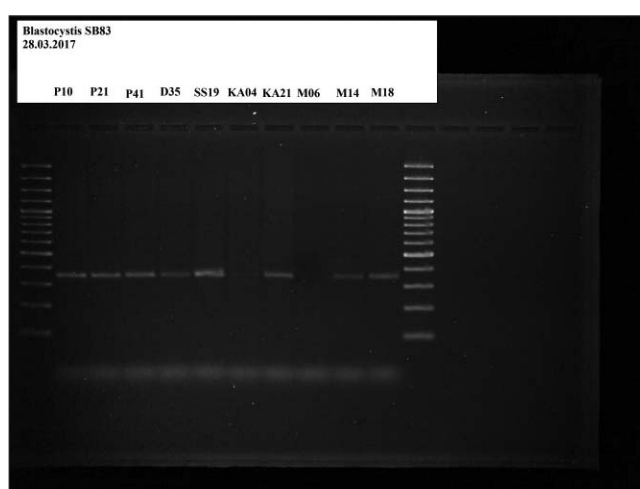
Prva istraživanja o prisustvu *Blastocystis* kod ljudi u Vojvodini, rađena su još 1995. godine<sup>(45)</sup> i prisustvo ove protozoe dokazano je kod 30% zdravih nosilaca i više od 50% ljudi sa gastrointestinalnim tegobama među kojima je najzastupljeniji bio hronični bol, dijareja i nadutost u truhu.

Ispitivanjem živine u intenzivnom uzgoju, mikroskopskim pregledom svežeg uzorka fecesa, *Blastocystis sp.* je dokazan u 70% uzoraka<sup>(1)</sup>.

U istraživanju iz 2016. godine, koje je obuhvatilo 403 individualna uzorka fecesa svinja sa 10 farmi iz Vojvodine,



**Slika 1.** *Blastocystis sp.* u kulturi (400x), strelice - granularna forma.



**Slika 2.** Suptipizacija izolata *Blastocystis*, prisustvo ST1, veličina produkta 351 bp.

u nativnom preparatu svežeg izmeta detektovane su morfološke forme cista i granularne forme, dok su ređi nalaz predstavljale klasične lako prepoznatljive vakuolarne forme, a prisustvo je potvrđeno u 168 uzoraka (41,69%). Pri mikroskopiranju preparata *in vitro* kultura, na uveličanju od 400x dominirale su vakuolarna i granularna forma. Kod pojedinih uzoraka mogao se uočiti parazit u formi ciste, dok je na većem broju preparata jasno bio vidljiv proces binarne deobe mikroorganizma.

Kultivacijom *Blastocystis sp.* je dokazan u 283 uzorka (70,22%). Primenom lančane reakcije polimeraze (PCR) pregledano je 48 nasumice izabranih uzoraka sa svih deset farmi. Uzorci su odabrani proporcionalno od svake kategorije svinja. Od 48 uzoraka, devet je bilo negativno, dok je preostalih 39 bilo nedvosmisleno pozitivno na *Blastocystis sp.* PCR reakcija je smatrana pozitivnom ukoliko je došlo do amplifikacije 600 baznih parova<sup>(41)</sup>.

Rezultati molekularne suptipizacije izolata, koji su bili pozitivni pri *in vitro* kultivaciji, pokazali su prisustvo očekivanih suptipova kod svinja: ST1, ST2, ST3 i ST5. Neki

od ova četiri suptipa su identifikovani u 25 uzoraka, a u preostalim 13 uzoraka nije bilo dokazano prisustvo traženih suptipova. Od 25 uzoraka pozitivnih sa nekim od suptip-specifičnih prajmera u 8 uzoraka je bio prisutan samo jedan suptip, u 10 uzoraka je ustanovljena mešana infekcija sa dva suptipa, dok je u preostalim 7 uzoraka dijagnostikovana mešana infekcija sa 3 suptipa (tabela 2.)

**Tabela 2.** Distribucija suptipova (ST) u uzorcima fecesa.

ST	Broj uzoraka
ST1	7
ST2	0
ST3	0
ST5	1
ST1 + ST5	9
ST1 + ST3	1
ST1 + ST3 + ST5	5
ST1 + ST2 + ST5	2

### Diskusija i zaključna razmatranja

*Blastocystis* je čest nalaz kod svinja sa različitim geografskih područja sa najvećim stepenom kolonizacije čak do 100%. Razlike u rezultatima pojedinih autora mogu biti posledica različitog broja uzoraka, dijagnostičkih procedura i geografskih varijacija. Ako se uzmu u obzir podaci iz literature i rezultati našeg istraživanja, podaci o prevalenci blastocistisa kod svinja moraju se tumačiti sa izvesnim oprezom, naročito ako je na ograničenom broju uzoraka primenjen samo jedan dijagnostički postupak.

U našem istraživanju ustanovili smo prevalencu blastocistisa kod svinja na osnovu rezultata nativnog pregleda od 41,69%, dok je prevalenca blastocistisa na osnovu rezultata *in vitro* kultivacije iznosila 70,22%. Ako se uzme slaba osetljivost nativnog pregleda, koju smo dokazali prilikom upoređivanja različitih dijagnostičkih procedura, zaključak o realnoj prevalenci blastocistisa možemo doneti na osnovu rezultata *in vitro* kultivacije. Ako se posmatra samo 48 uzoraka koji su nasumice izabrani i podvrgnuti molekularnoj dijagnostici, rezultati su veoma slični. Od 48 uzoraka, 21 uzorak je bio pozitivan pri nativnom pregledu fecesa, što predstavlja prevalencu od 43,45%, 38 uzoraka je bilo pozitivno pri *in vitro* kultivaciji, što predstavlja prevalencu od 79,16%, dok je 39 uzoraka bilo pozitivno pri PCR analizi, što predstavlja prevalencu od 81,25%. Naši rezultati su u saglasnosti sa rezultatima autora, koji su ispitivali prisustvo blastocistisa kod svinja u intenzivnom uzgoju. Navarro i saradnici<sup>(46)</sup> prijavljuju prevalencu od 41,3% na osnovu rezultata mikroskopije koncentrovanih uzoraka. Song i sar.<sup>(47)</sup> su sakupili 560 uzoraka fecesa svinja sa različitim geografskih lokacija na teritoriji Shaanxi provincije (NR Kina). 419 uzoraka je bilo pozitivno na *Blastocystis* PCR metodom, što daje prevalencu od 74,8%. Wang i saradnici<sup>(35)</sup> su PCR metodom ispitali 240 uzoraka fecesa i prijavili prevalencu od 76,7% kod svinja iz intenzivnog uzgoja u Australiji.

Visoka prevalenca blastocistisa kod svinja ukazuje da su svinje najverovatnije prirodni domaćini ovih parazita.

Najčešći suptipovi kod svinja jesu ST1 i ST5. Suptip 5 se smatra relativno retkim kod čoveka, međutim zoonotska transmisija je već dokazana<sup>(34)</sup>. Song i sar.<sup>(47)</sup> su kod svinja na teritoriji Shaanxi provincije (NR Kina) dokazali prisustvo četiri suptipa (ST1, 3, 5 i 10). Zoonotski suptip 1 je detektovan kod nezalučenih i zalučenih prasića i tovljenika, a ST3 je detektovan kod svih svinja uzrasta do četiri meseca. Osim jedne farme ST1 je dokazan na svim lokacijama, dok je zoonotski suptip 3 identifikovan na svega dve lokacije. Suptip ST10 je dokazan samo u jednom uzorku fecesa poreklom od nezalučenog praseta. Yoshikawa i sar.<sup>(48)</sup> su kod svinja u Indoneziji takođe prikazali dominaciju ST5, a dokazani su i suptipovi ST1, ST2 i ST7. Iako se čini da ST5 dominira u molekularnoj epidemiologiji blastocistisa kod svinja, Navarro i sar.<sup>(46)</sup> su pak ustanovili da je ST1 najzastupljeniji kod svinja iz intenzivnog uzgoja. Razlike u geografskoj distribuciji pojedinih suptipova su dokazane kod primata<sup>(2)</sup> pa se ni kod svinja ne mogu isključiti geografske varijacije u distribuciji različitih suptipova. U našem istraživanju na populaciji svinja iz intenzivnog uzgoja među identifikovanim suptipovima dominirao je ST1 (96,0%). ST1 je jedan od suptipova, koji se najčešće sreću kod ljudi, pa se uloga svinja sa ovako visokim stepenom inficiranosti nikako ne sme zanemariti u epidemiologiji humanih *Blastocystis* infekcija. Od ostalih suptipova ST5 je identifikovan u 64,0% uzoraka, zatim ST3 u 24,0% i ST2 8,0% uzoraka. Suptip ST5 kao potencijalni zoonotski suptip ima značaj u industrijskom svinjarstvu, gde je dokazana njegova transmisija na ljude. Utvrđivanje pravca transmisije ST1 i ST3, odnosno određivanje uloge svinja u transmisiji ovih suptipova zahteva dodatna molekularno-epidemiološka istraživanja. Istraživanja pokazuju da je većinom prisutna infekcija jednim suptipom blastocistisa, međutim relativno često se piše i o mešanim infekcijama sa dva ili više suptipova. U zavisnosti od studije mešane infekcije se viđaju u rasponu od 1,1 do 14,3% slučajeva. Većina koinfekcija je sa suptipovima 1 i 3<sup>(49,50,51)</sup>, dok se ređe prijavljuju koinfekcije sa suptipovima 1 i 2, 2 i 3<sup>(49,50)</sup>, odnosno 3 i 5<sup>(34)</sup>.

U zaključku se može reći da je *Blastocystis* i dalje enigma za istraživače, a da svinje predstavljaju mogući potencijalni zoonotski rezervoar. Neophodno je u budućim istraživanjima usaglasiti jasan protokol identifikacije i suptipizacije, radi preciznog poređenja molekularnih, epidemioloških i drugih podataka o ovom kosmopolitskom parazitu.

**Abstract**

*Blastocystis sp.* is an anaerobic protozoa that colonize the digestive tract of humans and numerous animals such as mammals and birds. In infected animals there are no clinical symptoms of the disease while in humans it is associated with the appearance of intestinal problems and diarrheal symptoms or even inflammatory bowel disease (IBD), although there is no consensus on the pathogenic significance of this parasite because it is found in healthy persons as well. Genetic diversity shows the presence of 17 subtypes (ST) with different geographical distribution in mammals and birds, and it is considered that host specificity and pathogenicity of isolates are in correlation with variations in SSU-rRNA gene. In humans ST1-ST9 are most likely to be found, with domination of the anthropophilic ST3, which found in pigs and cattle, respectively. STs 5-8 are rarely found in humans, while ST 5 is found in cattle and birds, and ST6 and ST7 mainly in birds. It is assumed that human infections may be the result of zoonotic transmission. In favor of this is the fact of the high prevalence of this parasite in those people who are in contact with animals. ST1, ST2, ST3 and ST4 are the most prevalent in Europe. ST1, ST2, and ST3 are equally present in patients with diarrhea and in healthy individuals, while ST4 is associated with diarrhea and / or IBS. Diagnostics of this parasite has mainly been based on microscopic coprological exam, but molecular methods (PCR) show far greater sensitivity and specificity, which is why it is necessary to introduce them into laboratory work. Development of the appropriate protocols is necessary for molecular epidemiology and it will help to identify the source of *Blastocystis sp.* for humans, as well as potential animal reservoirs.

**LITERATURA**

- Süli T., Lalošević V. Intestinal parasites of poultry in intensive farming with special emphasis on *Blastocystis sp.* Contemporary Agriculture 2012, 61 (3-4):230-239.
- Alfellani M.A., Stensvold C.R., Vidal-Lapiedra A., Onuoha E.S.U., Fagbenro-Beyioku A.F., Clark C.G. Variable geographic distribution of *Blastocystis* subtypes and its potential implications. Acta Trop. 2013, 126:11-18.
- Kostka, M., Cepicka, I., Hampl, V., Flegr, J. Phylogenetic position of *Karotomorpha* and paraphyly of *Proteromonadidae*. Mol. Phylogenet. Evol. 2007, 43:1167-1170.
- Clark, C.G., Van der Giezen, M., Alfellani, M.A., Stensvold, C.R. Recent developments in *Blastocystis* research. Advances in Parasitology. 2013, 82:1-32.
- Stensvold, C.R., Clark C.G. Current status of *Blastocystis*: A personal view. Parasitol. Int. 2016, <http://dx.doi.org/10.1016/j.parint.2016.05.015>.
- Arisue, N., Hashimoto, T., Yoshikawa, H., Nakamura, Y., Nakamura, G., Nakamura, F., Yano, T.-A., Hasegawa, M. Phylogenetic position of *Blastocystis hominis* and of stramenopiles inferred from multiple molecular sequence data. J. Eukaryot. Microbiol. 2002, 49:42-53.
- Böhm-Glönig, B., Knobloch, J., Walderich, B., Five subgroups of *Blastocystis hominis* isolates from symptomatic and asymptomatic patients revealed by restriction site analysis of PCR-amplified 16S-like rDNA. Trop. Med. Int. Health. 1997, 2:771-778.
- Clark, C.G. Extensive genetic diversity in *Blastocystis hominis*. Mol. Biochem. Parasitol. 1997, 87:79-83.
- Stensvold, C.R., Suresh, G.K., Tan, K.S.W., Thompson, R.C.A., Traub, R.J., Viscogliosi, E., Yoshikawa, H., Clark, C.G. Terminology for *Blastocystis* subtypes – a consensus. Trends Parasitol. 2007, 23, 93-96.
- Stensvold, C.R., Clark C.G. Trends in Parasitology, No. of pages 4, 2020, in press.
- El-Shazly, A.M., Abdel-Magied, A.A., El-Beshbishi, S.N., El-Nahas, H.A., Fouad, M.A., Monib, M.S. *Blastocystis hominis* among symptomatic and asymptomatic individuals in Talkha Center, Dakahlia Governorate, Egypt. J. Egypt. Soc. Parasitol. 2005, 35:653-666.
- Graczyk, T.K., Shiff, C.K., Tamang, L., Munsaka, F., Beitin, A.M., Moss, W.J. The association of *Blastocystis hominis* and *Endolimax nana* with diarrheal stools in Zambian school-age children. Parasitol. Res., 2005;98(1):38-43, doi: 10.1007/s00436-005-0003-0.
- Kaya, S., Cetin, E.S., Aridogan, B.C., Arikan, S., Demirci, M. Pathogenicity of *Blastocystis hominis*, a clinical reevaluation. Turkiye Parazit. Derg. 2007, 31:184-187.
- Leelayoova, S., Taamasri, P., Rangsin, R., Naaglor, T., Thathaisong, U., Mungthin, M. In-vitro cultivation: a sensitive method for detecting *Blastocystis hominis*. Ann. Trop. Med. Parasitol. 2002, 96:803-807.
- Minvielle, M.C., Pezzani, B.C., Cordoba, M.A., De Luca, M.M., Apezteguia, M.C., Basualdo, J.A. Epidemiological survey of *Giardia* spp. and *Blastocystis hominis* in an Argentinian rural community. Korean J. Parasitol. 2004, 42:121-127.
- Lalošević, V., Vučković, N., Vukavić, T., Vučković, D., Somer, Lj., Lalošević, D. *Blastocystis hominis* and colitis ulcerosa- a case report. Archive of Oncology 1998, (Suppl.2):57-8.
- Özcakir, O., Güreşer, S., Ergüven, S., Yılmaz, Y. A., Topaloğlu, R., Hascelik, G. Characteristics of *Blastocystis hominis* infection in a Turkish university hospital. Turkiye Parazit. Derg. 2007, 31:277-282.
- Ok, U.Z., Cirit, M., Uner, A., Ok, E., Akcicek, F., Basci, A., Ozcel. M.A. Cryptosporidiosis and blastocystosis in renal transplant recipients. Nephron 1997, 75:171-174.
- Nourelidin, M.S., Shaltout, A.A., El Hamshary, E.M., Ali, M.E. Opportunistic intestinal protozoal infections in immunocompromised children. J. Egypt. Soc. Parasitol. 1999, 29:951-961.
- Tasova, Y., Sahin, B., Koltas, S., Paydas, S. Clinical significance and frequency of *Blastocystis hominis* in Turkish patients with hematological malignancy. Acta Med. Okayama. 2000, 54:133-136.
- Al-Tawil, Y. S., Gilger, M. A., Gopalakrishna, G. S., Langston, C., Bommer, K. E. Invasive *Blastocystis hominis* infection in a child. Arch. Pediatr. Adolesc. Med. 1994, 148:882-885.
- Andiran, N., Acikgoz, Z.C., Turkay, S., Andiran, F. *Blastocystis hominis*-an emerging and imitating cause of acute abdomen in children. J. Pediatr. Surg. 2006, 41:1489-1491.
- Bratt, D. E., Tikasingh, E. S. *Blastocystis hominis* in two children of one family. West Indian Med. J. 1990, 39:57-58
- Martin-Sanchez, A. M., Canut-Blasco, A., Rodriguez-Hernandez, J., Montes-Martinez, I., Garcia-Rodriguez, J.A. Epidemiology and clinical significance of *Blastocystis hominis* in different population groups in Salamanca (Spain). Eur. J. Epidemiol. 1992, 8:553-559.
- Stojšić M. Uloga *Blastocystis hominis* u razvoju kolitisa kod dece. Doktorska disertacija, Medicinski fakultet Novi Sad, 2016.
- Stojšić, M., Kolarović, J. Metronidazol u terapiji blastocistoze kod dece. MD-Medical Data 2017;9(3): 177-180.
- Parkar, U., Traub, R.J., Kumar, S., Mungthin, M., Vitali, S., Leelayoova, S., Morris, K., Thompson, R.C.A. Direct character-

ization of *Blastocystis* from faeces by PCR and evidence of zoonotic potential, *Parasitology* 2007, 134:359-367.

28. Rajah Salim, R.H., Suresh, K.G., Vellayan, S., Mak, J.W., Khairul Anuar, A., Init, I., Vennila, G.D., Saminathan, R., Ramakrishnan, K. *Blastocystis* in animal handlers. *Parasitol. Res.* 1999, 85:1032-3.

29. Alfellani, M.A., Jacob, A.S., Perea, N.O., Krecsek, R.C., Taner-Mulla, D., Verweij, J.J., Levecke, B., Tannich, E., Clark, C.G., Stensvold, C.R. Diversity and distribution of *Blastocystis* sp. subtypes in non-human primates. *Parasitol.* 2013, 140:966-971

30. Stensvold, C.R., Lewis, H.C., Hammerum, A.M., Porsbo, L.J., Nielsen, S.S., Olsen, K.E.P., Arendrup, M.C., Nielsen, H.V., Mølbak, K. *Blastocystis*: unravelling potential risk factors and clinical significance of a common but neglected parasite. *Epidemiol. Infect.* 2009, 137:1655-1663.

31. Burden, D.J. *Blastocystis* sp.: a parasite of pigs. *Parasitology* 1976,73: 4-5.

32. Pakandl, M., The prevalence of intestinal protozoa in wild and domestic pigs. *Vet. Med. (Praha)*. 1994, 39:377-380.

33. Stensvold, C.R., Lewis, H.C., Hammerum, A.M., Porsbo, L.J., Nielsen, S.S., Olsen, K.E.P., Arendrup, M.C., Nielsen, H.V., Mølbak, K. *Blastocystis*: unravelling potential risk factors and clinical significance of a common but neglected parasite. *Epidemiol. Infect.* 2009, 137:1655-1663.

34. Yan, Y., Su, S., Ye, J., Lai, X., Lai, R., Liao, H., Chen, G., Zhang, R., Hou, Z., Luo, X. *Blastocystis* sp. subtype 5: a possibly zoonotic genotype. *Parasitol. Res.* 2007, 101:1527-1532.

35. Wang, W., Owen, H., Traub, R.J., Cuttall, L., Inpankaew, T., Bielefeldt-Ohmann, H. Molecular epidemiology of *Blastocystis* in pigs and their in-contact humans in Southeast Queensland, Australia, and Cambodia. *Vet Parasitol.* 2014, 14:203(3-4):264-9, doi: 10.1016/j.vetpar.2014.04.006.

36. Ash, L. R., Orihel, T.C. *Blastocystis hominis* and fecal elements. In L. R. Ash and T. C. Orihel Atlas of Human Parasitology, 3<sup>rd</sup> ed. American Society of Clinical Pathologists Press, Chicago, 1990, pp. 88-89.

37. Garcia, L.S., Bruckner D.A. Diagnostic medical parasitology, 2<sup>nd</sup> ed. ASM Press, Washington, D.C., 1993.

38. Matsumoto, Y., Yamada, M., Yoshida, Y. Light-microscopical appearance and ultrastructure of *Blastocystis hominis*, an intestinal parasite of man. *Zentralbl. Bakteriol. Microbiol. Hyg. Hyg. Ser. A* 1987, 264:379-385

39. Stenzel, D.J. Ultrastructural and cytochemical studies of *Blastocystis* sp. Ph.D. thesis. Queensland University of Technology, Brisbane, Australia. 1995.

40. Clark, C.G., Diamond, L.S. Methods for cultivation of luminal parasitic protists of clinical importance. *Clin. Microbiol. Rev.* 2002, 15:329-341.

41. Süli T, Kozoderović G, Potkonjak A, Simin S, Simin V, Lalošević V. Comparison of Conventional and Molecular Diagnostic Techniques for Detection of *Blastocystis* sp. in Pig Faeces. *Iran J Parasitol.* 2018;13(4):594-601.

42. Stensvold, C.R., Brillowska-Dabrowska, A., Nielsen, H.V., Arendrup, M.C. Detection of *Blastocystis hominis* in unpreserved stool specimens by using polymerase chain reaction, *J. Parasitol.* 2006, 92:1081-1087.

43. Scicluna, S.M., Tawari, B., Clark, C.G. DNA barcoding of *Blastocystis*, *Protist.* 2006, 157:77-85.

44. Yoshikawa H, Wu Z, Kimata I, Iseki M, Ali IK, Hossain MB, Zaman V, Haque R, Takahashi Y. Polymerase chain reaction-based genotype classification among human *Blastocystis hominis* populations isolated from different countries. *Parasitol Res.* 2004;92(1):22-9.

45. Lalošević V. Značaj infekcije sa *Blastocystis hominis* kod ljudi, Zbornik rezimea sa VII Kongresa mikrobiologa Jugoslavije, Herceg Novi, 1995, str. 56.

46. Navarro, C., Domínguez-Márquez, M.V., Garijo-Toledo, M.M., Vega-García, S., Fernández-Barredo, S., Pérez-Gracia, M.T., García, A., Borrás, R., Gómez-Muñoz, M.T. High prevalence of *Blastocystis* sp. in pigs reared under intensive growing systems: frequency of ribotypes and associated risk factors. *Vet. Parasitol.* 2008, 153:347-58.

47. Song, J.K., Hu, R.S., Fan, X.C., Wang, S.S., Zhang, H.J., Zhao, G.H. Molecular characterization of *Blastocystis* from pigs in Shaanxi province of China. *Acta Trop.* 2017, 173:130-135.

48. Yoshikawa H., Masaharu, T., Takehiro, N., Shunsuke, A., Asih, P.B., Rozi I.E., Syafruddin D. Molecular survey of *Blastocystis* sp. from humans and associated animals in an Indonesian community with poor Indonesian community with poor hygiene. *Parasitol. Int.* 2016, 65:780-784

49. Li, L.H., Zhang, X.P., Lv, S., Zhang, L., Yoshikawa, H., Wu, Z., Steinmann, P., Utzinger, J., Tong, X.M., Chen, S.H., Zhou, X.N. Cross-sectional surveys and subtype classification of human *Blastocystis* isolates from four epidemiological settings in China. *Parasitol Res* 2007;102(1):83-90, doi: 10.1007/s00436-007-0727-0.

50. Li, L.H., Zhou, X.N., Du, Z.W., Wang, X.Z., Wang, L.B., Jiang, J.Y., Yoshikawa, H., Steinmann, P., Utzinger, J., Wu, Z., Chen, J.X., Chen, S.H., Zhang, L. Molecular epidemiology of human *Blastocystis* in a village in Yunnan province, China. *Parasitol. Int.* 2007, 56:281-6.

51. Thathaisong, U., Worapong, J., Mungthin, M., Tan-Ariya, P., Viputtigul, K., Sudatis, A., Noonai, A., Leelayoova, S. *Blastocystis* isolates from a pig and a horse are closely related to *Blastocystis hominis*. *J. Clin. Microbiol.* 2003, 41:967-975.