

**DIAGNÓSTICO COPROPARASITOLÓGICO DE
Blastocystis sp. EM HUMANOS E CÃES ORIUNDOS DE
CINCO BIOMAS BRASILEIROS**

EDUARDO DOS SANTOS GARCIA

Dissertação apresentada à Universidade do Estado de Mato Grosso, como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Ciências Ambientais para obtenção do título de Mestre.

**CÁCERES
MATO GROSSO- BRASIL
2015**

**DIAGNÓSTICO COPROPARASITOLÓGICO DE
Blastocystis sp. EM HUMANOS E CÃES ORIUNDOS DE
CINCO BIOMAS BRASILEIROS**

EDUARDO DOS SANTOS GARCIA

Dissertação apresentada à Universidade do Estado de Mato Grosso, como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Ciências Ambientais para obtenção do título de Mestre.

Orientador: Prof. Dr. Antonio Francisco Malheiros

**CÁCERES
MATO GROSSO- BRASIL
2015**

EDUARDO DOS SANTOS GARCIA

**DIAGNÓSTICO COPROPARASITOLÓGICO DE
Blastocystis sp. EM HUMANOS E CÃES ORIUNDOS DE
CINCO BIOMAS BRASILEIROS**

Esta dissertação foi julgada e aprovada como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Ciências Ambientais.

Cáceres, 30 de março de 2015.

Banca Examinadora

Prof. Dr. Antônio Francisco Malheiros
Universidade do Estado de Mato Grosso-UNEMAT
Orientador

Prof.^a. Dra. Eliane Ignotti
Universidade do Estado de Mato Grosso-UNEMAT

Prof.Dr. Acácio Pagan
Universidade Federal de Sergipe- UFS

**CÁCERES
MATO GROSSO- BRASIL
2015**

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho aos meus avós Manoel dos Santos e Renato Garcia, dois grandes mentores que sempre vão estar ao meu lado em todas as minhas batalhas.

AGRADECIMENTOS

- À Deus por me amparar nos momentos difíceis, me dar força interior para superar as dificuldades, mostrar os caminhos nas horas incertas e me suprir em todas as minhas necessidades.
- Ao meu orientador e amigo Prof. Dr. Antonio Francisco Malheiros, por acreditar em mim, me mostrar o caminho da ciência, fazer parte da minha vida durante esta jornada nos momentos bons e ruins.
- Ao meu filho Samuel pela compreensão nos momentos de ausência, minha companheira Claudia, mulher que me ensinou a persistir e lutar pelos meus objetivos mesmo quando tantos outros disseram ser impossível, mulher que sempre esteve ao meu lado, incentivando e dando força nos momentos de indecisão.
- Aos meus pais, irmãos e toda a minha família, em especial ao meu tio Manoel que esteve sempre ao meu lado, disposto a me auxiliar em qualquer dúvida que houvesse, aos meus avós Manoel e Renato, que onde quer que estejam sei que estão sempre me incentivando.
- Aos meus colegas de laboratório que me ajudaram nessa longa jornada, que são tão autores quanto eu desse trabalho, Stephanny, Lucas, Larissa, Dimes, Mara, Yasmin, Israel, Beatriz, Tati, Johnny e tantos outros.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS.....	7
LISTA DE FIGURAS.....	8
RESUMO	9
ABSTRACT.....	10
1 - INTRODUÇÃO.....	11
2 - REFERENCIAL TEÓRICO.....	17
2.1 - Trabalhos realizados no Brasil.....	19
2.2 - Diagnostico em microscopia.....	20
3 - MATERIAL E MÉTODOS.....	22
3.1 - Área de estudo.....	22
3.2 - Público Alvo.....	22
3.3 - Coleta das amostras.....	23
3.4 - Análise coproparasitológica.....	23
3.5 - Análise dos dados.....	24
3.6 - Aspectos éticos.....	25
4 - RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	26
5 - CONCLUSÃO.....	38
6 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	40

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Estudos realizados no Brasil sobre <i>Blastocystis</i> sp. por autores, área de estudo e porcentagem de amostras positivas em seus respectivos estudos.....	20
Tabela 2 – Cidades onde foram realizadas coletas, seus estados, bioma e Índice de Desenvolvimento Humano - IDH.....	22
Tabela 3 – Distribuição das amostras fecais humanas e de cães analisadas, positivas e porcentagem das amostras positivas para <i>Blastocystis</i> sp. por municípios (17) e biomas estudados	27
Tabela 4 - Associação de Helmintos e outros protozoários à <i>Blastocystis</i> sp. em amostras fecais de cinco biomas brasileiros, teste de correlação linear em programa R, significância de 5%.....	33

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Mapa de distribuição das pesquisas de prevalência de <i>Blastocystis sp.</i> no Brasil por bioma. Fonte: Modificado de Malheiros (2012).....	16
Figura 2 – Formas do protozoário <i>Blastocystis sp.</i>	18
Figura 3 – Frequencia total de amostras positivas para ao menos um enteroparasita.....	26
Figura 4 - Frequência geral para todos os helmintos e protozoários.....	27
Figura 5 – Frequência de <i>Blastocystis sp.</i> em amostras fecais humanas e de cães provenientes dos 17 municípios estudados.....	29
Figura 6 - Qui-quadrado para o valor de P.....	30
Figura 7 – Protozoário <i>Blastocystis sp.</i> para os Biomas brasileiros.....	30
Figura 8 – Frequências das amostras positivas para <i>Blastocystis sp.</i> por sexo.....	31
Figura 9 – Frequências das amostras positivas para <i>Blastocystis sp.</i> por associação com outros parasitas.....	32
Figura 10 – frequencia de consistencia fecal por amostras positivas para <i>Blastocystis sp.</i>	33

Figura 11: Correlação linear das amostras positivas para *Blastocystis* e *E.nana*..... 34

Figura 12: Correlação linear das amostras positivas para *Blastocystis* e *I.buschili*..... 35

Figura 13: Correlação linear das amostras positivas para *Blastocystis* e *E.coli*..... 35

RESUMO

GARCIA, Eduardo dos Santos. **Distribuição de *Blastocystis* spp. em humanos e cães oriundos de cinco biomas brasileiros.** Cáceres: UNEMAT, 2015. 40 p. (Dissertação – Mestrado em Ciências Ambientais)¹.

Introdução: A blastocistose é uma enteroparasitose causada pelo protozoário *Blastocystis* spp., que apesar de pouco mais de um século de pesquisa ainda existem lacunas a ser preenchidas no que diz respeito a sua patogenicidade, transmissão e distribuição mundial. **Objetivos:** Este estudo tem como objetivo avaliar a presença de *Blastocystis* spp. em cinco dos setes biomas encontrados no Brasil: Caatinga, Cerrado, Pantanal, Mata Atlântica e Campos Sulinos, e associação deste parasita com outros enteroparasitos. **Materias e métodos:** As coletas de amostras fecais de humanos e cães foram realizadas em 17 municípios dos cinco biomas estudados, utilizando a técnica de sedimentação espontânea de Hoffman e coloração lugol para diagnóstico em microscopia. Para análise macroscópica, visualizamos consistência e aspecto de cada amostra de fezes. **Resultados:** No total de 2528 amostras analisadas, 38% foram positivas para ao menos um parasita seja ele protozoário ou helminto, destas 8,5 % foram positivas para *Blastocystis* spp., os enteroparasitas de maior associação com *Blastocystis* spp. nesse estudo foram as amebas, *Entamoeba coli*, *Endolimax nana* e *Iodamoeba bustchili* com valor de $P < 0,005$ para o teste de correlação, sendo este o primeiro estudo realizado no Brasil a abranger tantos biomas, observamos em teste Qui-quadrado com valor de $P < 0,005$ que o bioma influencia na porcentagem de amostras positivas para *Blastocystis* spp., encontramos também um possível potencial zoonótico desse parasita em relação as amostras caninas. **Conclusão:** Este foi o primeiro estudo a abranger tantos biomas, todavia mais estudos acerca da epidemiologia desse parasita e análise molecular são necessárias para entendermos como se dá essa relação entre parasita e ambiente.

Palavras-chave: *Blastocystis*, Biomas brasileiros, distribuição

¹ Orientador: Prof. Dr. Antonio Francisco Malheiros.

ABSTRAC

GARCIA, Eduardo dos Santos. **Diagnóstico coproparasitológico de *Blastocystis* sp. em humanos e cães oriundos de cinco biomas brasileiros.** Cáceres: UNEMAT, 2015. 40 p. (Dissertation – Master in Environmental Sciences)¹

Blastocystosis is a parasitic infections caused by protozoan *Blastocystis* sp. that although just over a century of research there are still gaps to be filled with regard to its pathogenicity, transmission and distribution worldwide. This study evaluated the presence of *Blastocystis* sp. in five of the seven biomes found in Brazil, namely, Caatinga, Cerrado, Pantanal, Atlantic Forest and Sulinos Fields and understand how *Blastocystis* spp. distributes these study sites. A total of 2528 samples, 213 samples were positive for *Blastocystis* spp., the frequency of 8.5% of positive samples is consistent with other studies published in Brazil, the largest association of parasites with *Blastocystis* spp. in this study were the *Entamoeba coli*, *Endolimax nana* and *Iodamoeba butschili* this study also showed that the biome influence the prevalence of *Blastocystis* spp. with $P < 0.005$, but more studies are needed to understand how this occurs and what factors contribute to this association, climate, fauna, flora or availability of water resources.

Keywords: Blastocystis, Brazilian biomes, coproparasitological

¹ Major professor: Prof. Dr. Antonio Francisco Malheiros.

1 - INTRODUÇÃO

As parasitoses intestinais são amplamente discutidas e constituem um sério problema de Saúde Pública no Brasil, apresentando maior prevalência em populações de nível socioeconômico mais baixo e condições precárias de saneamento básico, resultando em altos índices de morbidade. (VINHA et al., 1971) citam três fatores que corroboram para a prevalência dessas parasitoses e que estão intimamente relacionadas às enteroparasitoses: parasito, hospedeiro e meio ambiente, sendo assim, entender como cada parasita se comporta e se distribui no meio ambiente é de fundamental importância para controle das parasitoses e dos parasitas emergentes, que são aqueles que antes eram considerados comensais porém em situações de desequilíbrio imunológico do indivíduo que alberga o parasita pode causar transtornos de saúde severos, dentre os parasitas emergentes podemos citar *Blastocystis* sp. que assim como alguns *coccídios*, ainda é negligenciado nos exames coproparasitológicos (SILVA et al., 2001).

Como sugerem Silva et al. (2001), *Blastocystis* é um protozoário polimórfico e apresenta quatro formas principais: vacuolar, granular, ameboide e o estágio de cisto. Este parasita já foi considerado um organismo vegetal, uma levedura ou fungo, como também forma cística de outros protozoários, o que evidencia a complexidade de seu diagnóstico clínico. Em 1996, estudos realizados mediante análise filogenética do RNA ribossomal incluíram o parasito entre os *Stramenopiles*.

Segundo Brumpt et al. (1992) o primeiro relato documentando definindo o gênero *Blastocystis* como organismo distinto foi de Alexeieff em 1911, que descreveu a espécie após observar esses organismos além de ter descrito como cistos do protozoário *Trichomonas intestinalis*. Brumpt et al. (1912) descreveram o organismo *Blastocystis* sendo a forma cística de um flagelado de uma levedura do gênero *Schizosaccharomyces*, *Blastocystis* então passa a ser relacionado ao longo dos anos à *Blastomyces* sp.; Zierdt et al. (1967) descrevem as primeiras características que define esse organismo como pertencente ao sub reino *protozoa* até então considerado fungo, descrevendo

mitocôndria e complexo de golgi, não possui parede celular mas uma fina membrana com vesículas e poros , reprodução por divisão binária ou esporulação, núcleo eucariótico bem definido e uma membrana nuclear bem definida.

Stenzel and Borehan et al. (1996) descrevem *Blastocystis* como sendo microrganismos geralmente redondos, caracterizados por um corpúsculo central grande, assemelhado a um grande vacúolo que funciona como depósito glicogênio e lipídico, rodeado por múltiplos pequenos núcleos, onde cada núcleo dará origem a uma nova forma ameboide, sendo que a forma clássica, que é vista nos espécimes de fezes humanas, varia tremendamente em tamanho, de 6 a 40 micras. Morfologicamente o *Blastocystis* sp. é um organismo polimórfico e as quatro formas comumente descritas são: vacuolar, ameboide, cística e granular. *Blastocystis* sp. possui o ciclo biológico onde a forma cística transmitida via oral-fecal e no intestino do hospedeiro se desenvolve na sua forma vacuolar que se reproduz por divisão binária.

Stensvold et al. (2007) chegaram a um consenso para buscar a padronização da terminologia *Blastocystis* sp., com o intuito de melhorar a comunicação e correlacionar os resultados das pesquisas por especialistas, baseada principalmente nas análises publicadas da pequena subunidade do Gene RNA ribossomal (SSU-rDNA), propondo que todos os isolados de mamíferos e aves deveriam ser designados como *Blastocystis* sp., e este foi um passo importante para conhecer a distribuição geográfica do parasita.

Segundo Malheiros et al. (2011), *Blastocystis* sp., é um organismo de grande diversidade genética sendo até o momento conhecido 13 subtipos diferentes do organismo e destes 9 foram encontrados em seres humanos, sendo o subtipo ST3 o mais comum em seres humanos e os ST5 e ST9 possivelmente de origem zoonótica. De acordo com Gill et al. (2013) durante muito tempo *Blastocystis* foi considerado um protozoário que nada causa ao homem e por vezes negligenciado em exames de rotina, todavia atualmente este protozoário é caracterizado como parasita de prevalência relativamente alta em exames coproparasitológicos, de patogenicidade e aspectos epidemiológicos pouco conhecidos. *Blastocystis* sp. é o agente etiológico da

blastocistose e sua sintomatologia até o momento não é bem definida, podendo variar desde casos assintomáticos, a casos sintomáticos com vômitos, náuseas, diarreia e dores abdominais sendo os casos sintomáticos mais comuns em pacientes imunodeprimidos.

A blastocistose apesar de um pouco mais de um século de pesquisa, ainda é discutida e relacionada com várias controvérsias e indefinições, entre elas se o *Blastocystis sp.* é ou não patogênico, já que este protozoário unicelular não demonstrava invadir tecidos, porém há trabalhos que relatam essa invasão para órgão extra intestinais como o de Santos et al. (2014), todavia até o presente momento não existe consenso quanto a sua real patogenicidade. Presentemente chega a ser tido como oportunistas em imunodeprimidos, sendo encontrado em grande quantidade em exames parasitológicos e de elevado potencial zoonótico.

A ação patogênica do *Blastocystis sp.* estaria, portanto, relacionada à imunodeficiência, com a virulência da cepa e com a carga parasitária. É considerada a causa de distúrbios intestinais quando se confirma a inexistência de outros agentes patogênicos (vírus, protozoários, bactérias e helmintos), porém como mostra Lu e Yung et al. (2009) infecções por *Blastocystis sp.* sintomáticas são regredidos os sintomas após administrados metronidazol ou espontaneamente sem uso de fármaco, reforçando a ideia de se tratar de um organismo comensal.

No Brasil há alguns estudos que relatam o aparecimento de *Blastocystis sp.* em diferentes populações de diversas regiões do país: em Campinas- SP, Teixeira et al. (1989) encontraram 22,5% de indivíduos portadores de blastocistose; no Rio de Janeiro, Moura et al. (1989) encontraram 2% de prevalência examinando indivíduos com aids; Guimarães et al. (1993) analisaram fezes de crianças de uma creche no município de Botucatu –SP e encontraram 34,7 % das amostras positivas para *Blastocystis sp.*

Kobayashi et al. (1995) verificaram prevalência de 37,8 % para esse protozoário em fezes de moradores da cidade de Holambra-SP. Amato Neto et al. (2004) examinando fezes de crianças do município de SP encontraram

38,3% de amostras positivas para *Blastocystis* no ano de 2004 e 9,8% em 2003.

Carvalho Costa et al. (2007) examinando fezes de crianças desidratadas em um hospital pediátrico no Rio de Janeiro encontraram 1,4% de amostras positivas para *Blastocystis*. Miné et al. (2008) verificou a prevalência de 4,6 % para *Blastocystis sp.* com consistência predominantemente pastosa, na região de Araraquara em São Paulo. Malheiros et al. (2011) em seu trabalho com os índios Tapirapé da Amazônia, diagnosticou que 16,84% das amostras positivas eram de *Blastocystis sp.*

Gill et al. (2013) em seu trabalho examinou amostras fecais de pacientes com Insuficiência renal crônica e encontrou a prevalência de 24,5 % para *Blastocystis*. Gill et al. (*op. cit.*) menciona ainda sobre a prevalência de enteroparasitoses nas favelas urbanas de Belo Horizonte, *Blastocystis* foi o parasita mais prevalente, infectando 22,4% dos indivíduos.

No entanto nenhum trabalho no Brasil foi realizado abrangendo tantos biomas em um único estudo e nenhuma análise foi realizada para discutir a relação do protozoário *Blastocystis sp.* com os diferentes biomas, uma vez que, os trabalhos desenvolvidos acerca desse protozoário no Brasil são mais prevalentes no bioma Cerrado, seguido pelos biomas Mata Atlântica, Amazônia e Pampas. Nos biomas Pantanal e Caatinga não existem trabalhos acerca da distribuição de *Blastocystis sp.* (Fig.1).

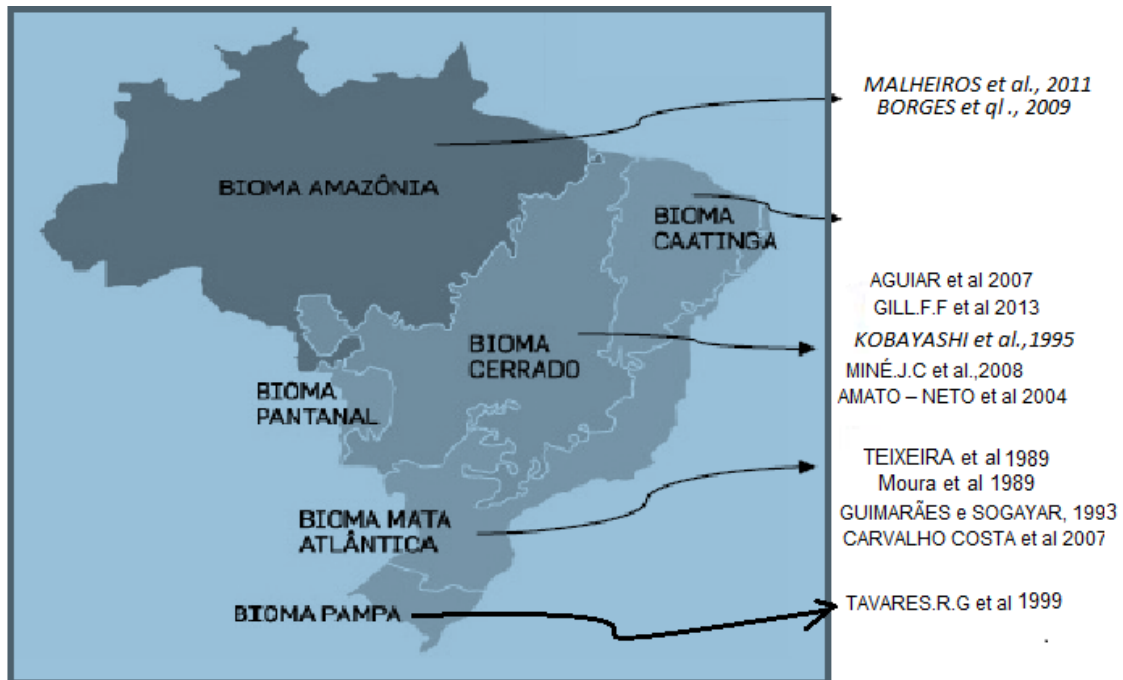


Figura 1 - Mapa de distribuição das pesquisas de prevalência de *Blastocystis sp.* no Brasil por bioma. Fonte: Modificado de Malheiros (2012).

Segundo o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística -IBGE, bioma é caracterizado por um conjunto de fauna e flora específicos de uma região que possui similaridade geológica e climática e sofrem o mesmo processo de formação de paisagem, no Brasil possuímos sete biomas distintos, Caatinga, Amazônia, Mata Atlântica, Pantanal, Cerrado, Campos Sulinos e biomas costeiros (IBGE, 2010).

Entender o comportamento desse protozoário no meio ambiente é fundamental para atuar no controle desse parasito comumente encontrado em fezes humanas e outros animais, como sugere Malheiros et al. (2011) em seu estudo com os índios *Tapirapé*, *Blastocystis sp.*, onde é encontrado também em amostras fecais de cães, podendo haver circulação do mesmo subtipo do organismo em humanos e cães caracterizando assim uma zoonose, e entender um pouco mais sobre essa possível zoonose se faz necessário também compreendermos o comportamento desse protozoário, conseqüentemente entender um pouco mais sobre a patogenicidade desse organismo que ainda é muito negligenciado nos exames coproparasitológicos de rotina mesmo

causando sérios problemas em pacientes imunossuprimidos (KULIK et al., 2009).

Nesse sentido, este trabalho tem como objetivo avaliar a presença de *Blastocystis sp.* em cinco dos setes biomas encontrados no Brasil, sendo eles, Caatinga, Cerrado, Pantanal, Mata Atlântica e Campos Sulinos e entender como o *Blastocystis sp.* se distribui nesses locais de estudo.

2 - REFERENCIAL TEÓRICO

Existem cerca de 1500 agentes conhecidos por serem contagiosos para os seres humanos, 66 são protozoários e 287 são helmintos e, a maioria (60,3%) das doenças infecciosas são zoonoses emergentes. Estudos demonstram que, em locais com condições de higiene precária, o contato do ser humano com animais domésticos pode elevar o potencial de infecção por parasitas intestinais zoonóticos em decorrência da contaminação do solo por formas infectantes de helmintos e protozoários intestinais (DEVERA et al., 2005; STENSVOLD et al., 2009; MALHEIROS et al., 2011).

Segundo Machado et al. (1999) a frequência de parasitoses intestinais em nosso país é sabidamente elevada, assim como nos demais países em desenvolvimento, sofrendo variações quanto à região de cada país, as condições de saneamento básico, ao nível sócio-econômico, ao grau de escolaridade, a idade e aos hábitos de higiene dos indivíduos

O *Blastocystis sp.*, descrito por Brumpt em 1912, foi ao longo dos anos classificado como relacionado à *Blastomyces* a forma cística de um flagelado de uma levedura do gênero *Schizosaccharomyces*. Em 1978, estudos de Zierdt permitiram a reclassificação do microrganismo como um protozoário. A forma clássica, que é vista nos espécimes de fezes humanas, varia em tamanho, de 6 a 40 micras. Estes microrganismos são geralmente redondos, caracterizados por um corpúsculo central grande, assemelhado a um grande vacúolo que funciona como depósito glicogênico e lipídico, rodeado por múltiplos pequenos núcleos, onde cada núcleo dará origem a uma nova forma ameboide.

Segundo Stenzel et al. (1996) morfologicamente o *Blastocystis* sp. é um organismo polimórfico e as quatro formas comumente descritas são: Vacuolar – com diâmetro comum de 4-15 micras, apresenta uma camada superficial de variável espessura, as formas são esféricas e caracterizadas por um largo vacúolo central que pode ocupar 90% do volume da célula; Granular – provavelmente surgiu da forma vacuolar, pois compartilha de muitas similaridades com essa forma exceto os numerosos grânulos que são encontrados dentro da fina banda de citoplasma; Amebóide – apresenta forma oval com um ou dois pseudópodes, com uma média de diâmetro de 2,6 a 7,8 micra, curiosamente não possui o vacúolo central, o complexo de Golgi e mitocôndrias e Forma Cística – com um tamanho de 3 a 5 micras pode ser facilmente confundido nas fezes, os cistos são de esféricos a ovais e protegidos com uma parede com multicamadas. A célula interna contém de um a quatro núcleos, múltiplos vacúolos e depósitos lipídicos e glicogênicos, conforme ilustrado na figura 2.

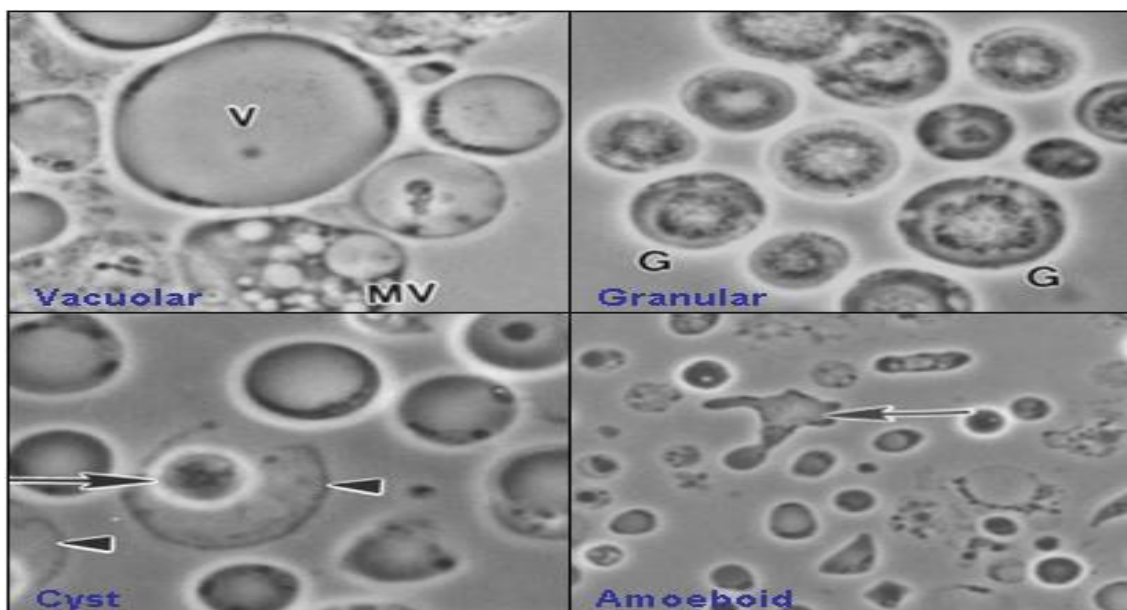


Figura 2 – Formas do protozoário *Blastocystis* sp. Fonte: descritas por Stenzel e Bowham 1996 em Kevin.S.W.Tan et al., 2008.

Garcia et al. (1984) ao examinarem amostras de fezes de 2.360 pacientes ambulatoriais e hospitalizados em Los Angeles, CA, encontraram

uma incidência de 59,6% de *Blastocystis sp.* entre 485 amostras positivas, sendo que, dentre estas, 66,5% apresentavam *Blastocystis sp.* isoladamente. Nessa totalidade para *Blastocystis sp.*, relata-se que 61,8% dos pacientes apresentavam os sintomas já evidenciados neste trabalho e que foi detectada a presença de leucócitos, o que sugere um quadro clínico infeccioso.

Enquanto acreditou-se que *Blastocystis sp.* era um organismo não patogênico, seu achado em exames a fresco de fezes era frequentemente subestimado. No entanto, a partir do momento em que este microrganismo passou a ser considerado um protozoário e, como tal, um possível agente patogênico, tanto os laboratórios de análises clínicas quanto a classe médica devem estar alertas para o possível envolvimento do *Blastocystis sp.* na gênese de diarreias crônicas.

Segundo Kulik et al. (2008) o protozoário *Blastocystis sp.* é frequentemente encontrado em amostras fecais de indivíduos imunodeprimidos com e sem sintomas gastrintestinais, e em pacientes imunodeprimidos, infecção causada por este protozoário ainda envolve várias controvérsias e indefinições em relação a sua ação patogênica.

Lu e Yung et al. (2009), sugere que a maioria dos indivíduos acometidos por este protozoário se apresenta assintomático, e nos casos sintomáticos a remissão dos sintomas muitas vezes ocorre sem o tratamento específico, fortalecendo a ideia de que o *Blastocystis sp.* possa ser um organismo comensal. A ação patogênica do *Blastocystis sp.* estaria, portanto, relacionada à imunodeficiência, com a virulência da cepa e com a carga parasitária.

O *Blastocystis sp.* é considerado a causa de distúrbios intestinais quando se confirma a inexistência de outros agentes patogênicos (vírus, protozoários, bactérias e helmintos). Os sinais e sintomas presentes na blastocistose são inespecíficos, e inclui náusea, vômito, anorexia, dor abdominal, edema, flatulência, diarreia aguda ou crônica, sem a presença de sangue e leucócitos nas fezes. Segundo Kobayashi et al. (1995) a população de maior incidência de *Blastocystis sp.* também são crianças menores de 16 anos (MALHEIROS et al.,2011).

2.1. Trabalhos realizados no Brasil

Na tabela 1 é apresentado os trabalhos realizados até o momento no Brasil, sobre *Blastocystis* sp., desde de 1989.

Segundo (KOBAYASHI et al., 1995) a população de maior incidência de *Blastocystis* sp. são crianças menores de 16 anos, GUIMARÃES E SOGAYAR (1993) encontraram frequência de 32% em crianças de idades pré escolar, todavia (MARTINS et al., 2007) encontra frequência significativamente menor na mesma faixa etária de idade pré escolares, mas como bem cita o autor, não é aconselhável considerar que os resultados obtidos em seu trabalho é diferente dos encontrados por outros autores visto que são usadas técnicas diferentes para microscopia, isso reforça a necessidade de se criar um padrão para diagnóstico desse parasito, visto que se trata de um protozoário polimorfo.

Tabela 1 – Estudos realizados no Brasil sobre *Blastocystis* sp. por autores, área de estudo e porcentagem de amostras positivas em seus respectivos estudos.

TRABALHOS NO BRASIL	ANO	ÁREA DE ESTUDO	% <i>Blastocystis</i> sp.
Gill et al.	2013	Belo Horizonte – MG	22,4%
Malheiros et al.	2011	Confresa-MT	16,84%
Tavares et al.,	1999	Novo Hamburgo – RS	51,2 %
Miné et al.	2008	Araraquara – SP	4,6%
Teixeira et al.	1989	Campinas – SP	22,5 %
Carvalho Costa et al.	2007	Rio de Janeiro – RJ	1,4%
Amato Neto et al.	2004	São Paulo – SP	38,3%
Kobayashi et al.	1995	Holambra – SP	37,8%
Guimarães e Sogayar et al.	1993	Botucatu – SP	34,7%
Moura et al.	1989	Rio de Janeiro – RJ	2%

Fonte: GARCIA, E.S. 2015.

2.2. Diagnostico em microscopia

A identificação de *Blastocystis sp.* por microscopia é um meio de diagnóstico muito viável, por ser de fácil execução, baixo custo e permite que as formas do protozoário descritas anteriormente sejam identificadas pelo exame. A técnica pode ser utilizada com ou sem coloração pelo lugol, e em esfregaços permanentes corados pelo tricrômico, hematoxilina férrica ou *Giemsa*.

Zerpa (1999) em seu estudo publicado na revista mexicana de patologia clinica relatou o uso da coloração com tinta da China, a qual permite visualizar a cápsula e algumas estruturas internas do *Blastocystis sp.* A forma vacuolar é a mais típica e a mais comumente encontrada nos exames de fezes.

Quando as fezes forem frescas, recomenda-se substituir a água pela solução salina a 0,85% nos procedimentos de diluição e lavagem do sedimento fecal, pois a água pode causar a ruptura das formas vacuolar, granular e multivacuolar. Por outro lado, se as fezes forem previamente preservadas com formol a 10% ou SAF, as formas de *Blastocystis sp.* não serão destruídas.

Dentre as técnicas para diagnóstico em microscopia para *Blastocystis sp.* podemos destacar as técnicas de sedimentação de Hoffmann que possui boa sensibilidade, pois é utilizada para identificação de ovos pesados como para pequenos cistos. Outra técnica muito eficaz é a técnica de centrifugo-flutuação em sacarose proposta por Sheather (1923).

As técnicas de coloração são de suma importância também e tem como objetivo auxiliar na visualização das estruturas internas e morfologia do protozoário, dentre elas podemos destacar, técnica de coloração tricrômio, núcleo e estruturas internas verdes azuladas e restante cor purpura, coloração *Giemsa*, coloração com lugol, outra técnica bastante utilizada é o exame direto a fresco sem coloração.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Área de estudo

O presente trabalho avaliou a presença de *Blastocystis sp.* em amostras fecais de humanos e cães em dezessete cidades, abrangendo cinco dos seis biomas brasileiros, sendo eles: Caatinga, Cerrado, Mata atlântica, Pantanal e Pampas conforme tabela 2.

Tabela 2 – Cidades onde foram realizadas coletas, seus estados, bioma e Índice de Desenvolvimento Humano - IDH.

BIOMA	CIDADES	ESTADO	IDH
Pantanal	Cáceres	MT	0,708
Pantanal	Barão de Melgaço	MT	0,600
Pantanal	Porto Murtinho	MS	0,666
Cerrado	Aparecida de Goiânia	GO	0,718
Cerrado	Nova Xavantina	MT	0,704
Cerrado	Contagem	MG	0,756
Caatinga	Fortaleza	CE	0,754
Caatinga	Domingos Mourão	PI	0,550
Caatinga	Piripiri	PI	0,635
Mata Atlântica	Nanuque	MG	0,701
Mata Atlântica	Salvador	BA	0,769
Mata Atlântica	Paulo Afonso	BA	0,674
Mata Atlântica	Taboão da Serra	SP	0,769
Pampas	Santana do Livramento	RS	0,727
Pampas	Porto Alegre	RS	0,805
Pampas	Uruguaiana	RS	0,744
Pampas	Pelotas	RS	0,739

Fonte: IBGE, 2010.

3.2. Público Alvo

Conforme descrito anteriormente *Blastocystis sp.* possui ampla distribuição e pode ser encontrado em amostras fecais tanto de humanos quanto de outros animais como aves e outros mamíferos como cães, dito isso, foi realizado para o presente estudo coletas de amostras fecais de humanos e cães das regiões supracitadas.

3.3. Coleta das amostras

Escolhemos aleatoriamente as cidades que iram participar do estudo segundo a disponibilidade e aceitação dos representantes do município, entramos em contato com a prefeitura e essa nos fornecia os dados e a disponibilidade para a coleta das amostras nos municípios, visto que precisávamos da colaboração das equipes de saúde das Unidades Básicas de Saúde para coletarmos as amostras em tempo hábil, as amostras de fezes das crianças coletamos nas creches e escolas próximas as UBS.

Para cada cidade realizamos a coleta de amostras fecais de humanos nas Unidades Básicas de Saúde (UBS), sendo que dessas 100 amostras eram de Crianças com idade >(maior) 5 anos e <(menor) que 16 anos e 100 amostras fecais de adultos com idade > 16 anos.

Para as coletas de cães foram coletadas 50 amostras fecais em praças, ruas ou canil para cada cidade, o presente estudo está vinculado ao projeto de GEOHELMINTÍASE do Ministério da Saúde que é coordenado pelo professor Dr. Antônio Francisco Malheiros por isso todas as coletas foram padronizadas segundo o projeto supracitado.

O material foi coletado em pequenos potes coletores onde foi etiquetada com o local de coleta da amostra, a idade do individuo e o numero controle que foram distribuídos aleatoriamente. Acondicionamos em isopor com gelo até o mesmo ser encaminhado ao laboratório de parasitologia da UNEMAT, onde guardamos o material em geladeiras para conservação.

3.4. Análise coproparasitológica

Análises macroscópicas do material fecal eram feitas antes dos exames microscópicos, para obtenção de dados como consistência fecal (formada, pastosa, cíbalos e diarreica) e, aspecto fecal (normal, mucoso, sanguinolento e muco-sanguinolento)

Neste estudo utilizamos diferentes meios de conservação para posterior extração de DNA das amostras positivas, uma porção é diluída em etanol e outra conservada *in natura*, enquanto uma terceira porção da amostra é

utilizada para sedimentação através da técnica de Hoffmann descrita mais adiante

Para evidenciar as formas de protozoários intestinais e helmintos foram utilizadas as técnicas de sedimentação espontânea, instituída por Hoffman et al. (1934).

Uma porção da amostra fecal de cada indivíduo (humanos e cães), era colocada num copo descartável de 200 mL, enumerado para cada indivíduo, diluído na proporção de 1/3 de água e dissolvida com ajuda de um palito de madeira. Em seguida, o material era distribuído em dois tubos cônicos de plástico (falcon) de 15 ml e, filtrado usando miniparasitofiltros descartáveis com tela de 8 mm que estavam sobre os tubos de 15 ml, o tubo é então colocado em um ciclo de 20 segundos na centrifuga para sedimentação do material, após descarte da água o sedimento é completado com formol, sendo a proporção de uma parte de sedimento para 3 partes de formol 10%, os tubos são homogeneizados para que o formol entre em contato com todo o sedimento e então acondicionada em geladeira para posterior análise microscópica com solução de lugol para corante.

As amostras fecais foram analisadas com auxílio de microscópio óptico (aumento de 400x) utilizando corante lugol nas lâminas.

Vale ressaltar que, neste estudo, não houve repetições nos exames microscópicos e, também não houve contagem dos ovos dos helmintos, dada a impossibilidade de prolongar o período de permanência nos locais de coleta e a quantidade de fezes analisadas nesse trabalho.

3.5. Análise dos dados

Foram realizadas análises de frequência de ocorrência de *Blastocystis* sp. sobre sexo, idade, associação com outros parasitas, aspecto fecal e consistência fecal. os dados foram transformados em porcentagens para minimizar o efeito dos diferentes números de amostras coletadas.

Para Análise Qui - Quadrado foi utilizado o programa R de estatística, utilizamos como variável dependente porcentagem de amostras positivas para

Blastocystis sp. e como variável independente os biomas Pantanal, Cerrado, Caatinga, Pampas.

Para as análises de correlação linear, foi utilizado como variável dependente a porcentagem de amostras positivas de *Blastocystis sp.* e como variável independente a porcentagem de amostras positivas por protozoários e helmintos, utilizamos o programa estatístico R. Todas as premissas das análises acima foram realizadas.

3.6. Aspectos éticos

O estudo foi submetido a avaliação e aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa em seres humanos e animais com base nas leis nacionais 196/96 e 251/97. Para a realização da pesquisa foi utilizado o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), obrigatório para pesquisas em seres humanos - (Resolução no. 01 de 13/06/1988 - Conselho Nacional de Saúde), o qual foi assinado pelos pais ou responsáveis legais.

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Neste estudo foram analisadas 2528 amostras oriundas das 17 cidades envolvidas no trabalho, sendo elas: Cáceres - MT(Pantanal), Barão de Melgaço - MT (Pantanal), Porto Murtinho - MS (Pantanal), Aparecida de Goiânia - GO (Cerrado), Contagem - MG (Cerrado); Nova Xavantina - MT (Cerrado); Santana do Livramento - RS (Pampas), Porto Alegre - RS (Pampas), Uruguaiana - RS (Pampas), Pelotas - RS (Pampas), Taboão da Serra - SP (Mata Atlântica); Salvador - BA (Mata Atlântica), Nanuque - MG (Mata Atlântica), Paulo Afonso - BA (Mata Atlântica), Domingos Mourão – PI (Caatinga), Piripiri - PI (Caatinga); Fortaleza - CE (Caatinga), do total analisadas foram identificados nesse estudo 1036 amostras positivas e 1492 amostras negativas para ao menos um parasito, sendo assim a frequência geral de amostras positivas foi de 38% de amostras positivas conforme figura 3 e a frequência geral dos protozoários e helmintos das 1036 amostras positivas está descrita na figura 4, vale ressaltar que o mesmo individuo pode albergar mais de um enteroparasita.

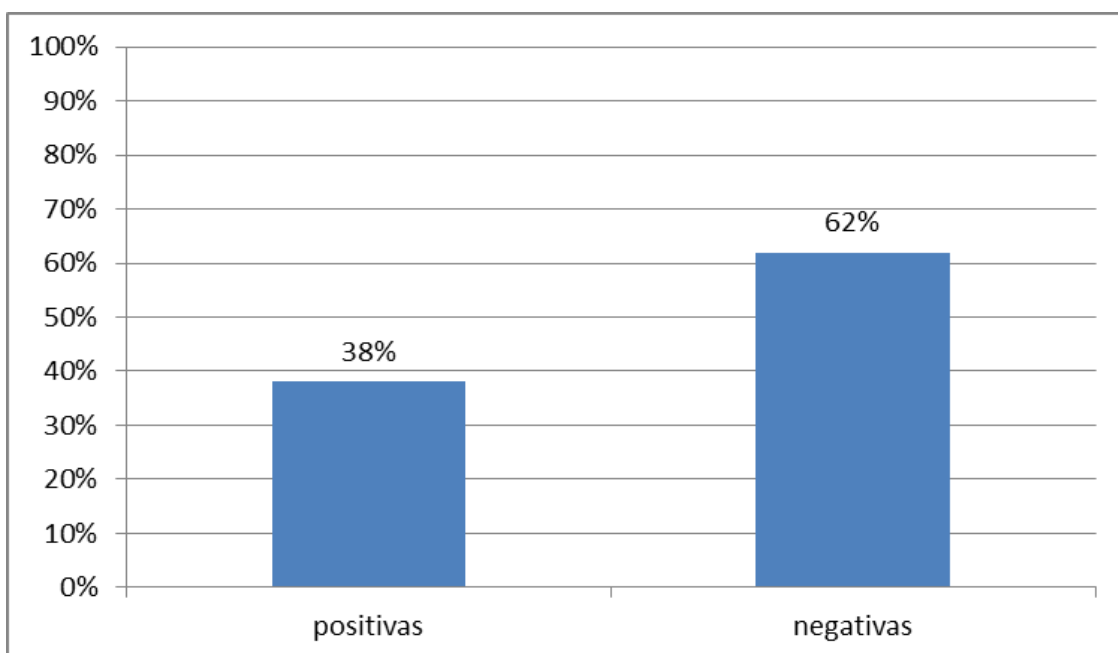


Figura 3- Frequencia total de amostras positivas para ao menos um enteroparasita

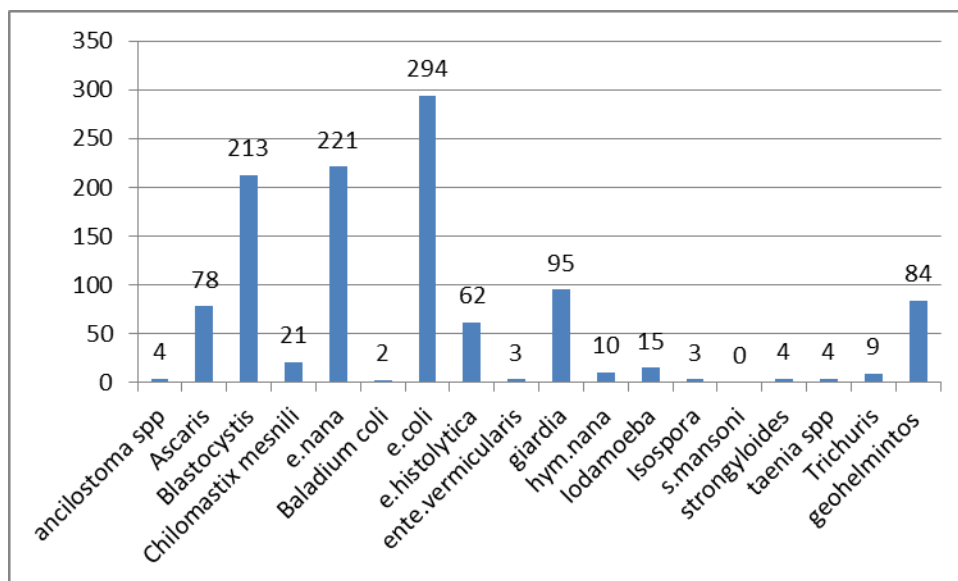


Figura 4 - Frequência geral para todos os helmintos e protozoários.

Autores como Guimarães e Sogayar et al. (1993), Kobayashi et al. (1995), Teixeira et al. (2001), Amato Neto et al.(2004), Aguiar et al. (2007), Borges et al.(2009), Malheiros et al. (2011) e Gill et al.(2013) obtiveram em seus estudos frequências diferentes de positividade para *Blastocystis* sp. conforme mostra tabela 3, no entanto é bastante variável a frequência desse protozoário em trabalhos realizados pelo mundo variando de 2% no estudo de MOURA et al., (1989) à 100% como no trabalho de EL SAFADI *et al.*, (2014) que relatou essa incidência em 94 crianças do Senegal em condições de saúde e higiene extremamente precárias.

Tabela 3 – Distribuição das amostras fecais humanas e de cães analisadas, positivas e porcentagem das amostras positivas para *Blastocystis* sp. por municípios (17) e biomas estudados

BIOMAS	MUNICÍPIOS	AMOSTRAS ANALISADAS	AMOSTRAS POSITIVAS	PORCENTAGEM POSITIVAS
Pantanal	Cáceres	686	72	10,50 %
Pantanal	Barão de Melgaço	100	13	13,00%
Pantanal	Porto Murtinho	100	5	5,00%
Cerrado	Aparecida de Goiânia	102	22	21,50 %

Cerrado	Nova Xavantina	20	1	5,00%
Cerrado	Contagem	215	15	7,00%
Caatinga	Fortaleza	90	3	3,33%
Caatinga	Domingos Mourão	155	14	9,00%
Caatinga	Piripiri	95	9	9,50%
Mata Atlântica	Nanuque	187	6	3,20%
Mata Atlântica	Salvador	201	16	8,00%
Mata Atlântica	Paulo Afonso	110	12	11,00%
Mata Atlântica	Taboão da Serra	100	11	11,00%
Pampas	Santana do Livramento	130	3	2,30%
Pampas	Porto Alegre	70	1	1,40%
Pampas	Uruguaiana	36	5	14,00%
Pampas	Pelotas	131	5	4,00%
Total		2528	213	8,5%

No Brasil alguns trabalhos foram desenvolvidos acerca da prevalência de *Blastocystis* sp. dentre eles podemos destacar os trabalhos de Moura et al., 1989; Guimarães e Sogayar et al., 1993; Kobayashi et al., 1995; Teixeira et al., 2001; Amato Neto et al., 2004; Aguiar et al., 2007; Miné et al., 2008; Borges et al., 2009; Malheiros et al., 2011 e Gill et al., 2013. Todos estes autores trabalharam com a prevalência de *Blastocystis* sp. e outros helmintos e protozoários em apenas um bioma isolado, até o presente momento não existe trabalho no Brasil que abrange mais de uma região ou bioma.

Na figura 5 apresenta a Frequência de *Blastocystis* sp. em amostras fecais humanas e de cães provenientes dos 17 municípios estudados.

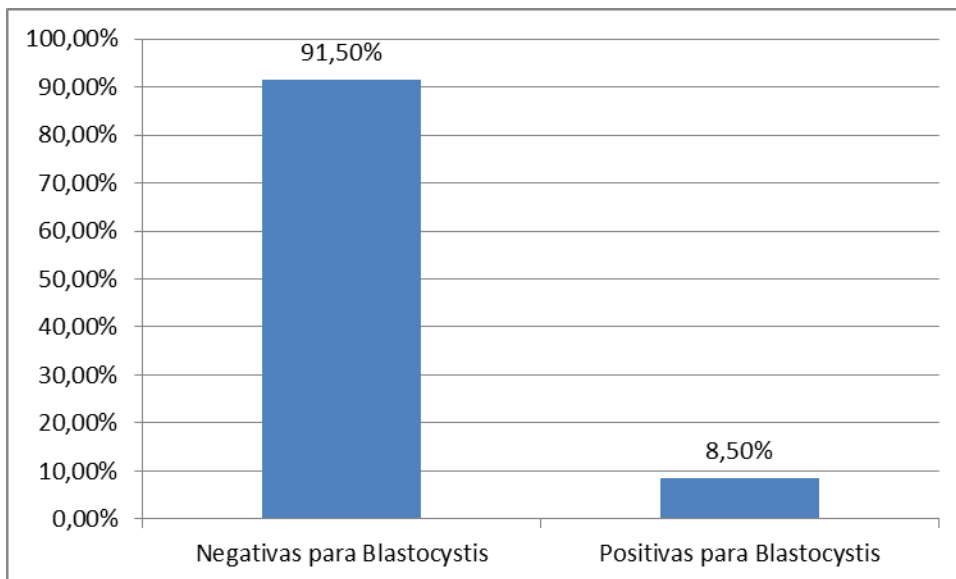


Figura 5 – Frequência de *Blastocystis* sp. em amostras fecais humanas e de cães provenientes dos 17 municípios estudados.

Alguns autores como Lee et al., 2012 e Fréalles et al., 2015 dentre vários outros autores pelo mundo relatam a prevalência desse protozoário no ciclo silvestre, com o intuito de tentar elaborar uma possível via de transmissão zoonótica do organismo sendo que Lee et al., 2012 relatam a contaminação da água por animais silvestres.

Tendo dito isso, entender como é a distribuição desse organismo no meio ambiente bem como nos diferentes biomas pode ajudar a entender como esse protozoário se comporta em seu ciclo silvestre e o seu real potencial zoonótico, em resumo apesar de mais de meio século de estudo sobre esse parasita, ainda sabemos muito pouco sobre o seu comportamento e mais estudos acerca do assunto se faz necessário.

Para avaliar a associação do protozoário *Blastocystis* sp. com os biomas aqui estudado, foi realizado o teste Qui-quadrado em programa onde encontramos o valor de P 0,0026 ou seja $P > 0,05$ conforme figura 6, sendo assim existe relação no número de amostras positivas para *Blastocystis* sp. e biomas, apesar de alguns autores como KOBAYASHI (1995); MINÉ (2008); MALHEIROS (2011) e outros terem trabalhado em biomas brasileiros, este trabalho é o primeiro a abranger tantos biomas e avaliar a relação dos biomas e a presença de *Blastocystis* sp. e isso é algo de extrema importância para

elucidar algumas respostas acerca do comportamento, ciclo biológico e potencial zoonótico desse organismo. MALHEIROS (2011) foi o único a trabalhar com a sazonalidade desse parasita, ao avaliar a presença de *Blastocystis* sp. em diferentes épocas do ano, mostrando que o ambiente pode influenciar na presença desse parasita.

```

      [,1] [,2] [,3] [,4] [,5]
[1,]  45  38  90  26   9
[2,] 553 299 729 314 227

      [,1]      [,2]      [,3]      [,4]      [,5]
[1,] 53.38369 30.08412 73.11245 30.35193 21.06781
[2,] 544.61631 306.91588 745.88755 309.64807 214.93219

Pearson's Chi-squared test

data:  bioma
X-squared = 16.291, df = 4, p-value = 0.002653

```

Figura 6 - Qui-quadrado para o valor de P.

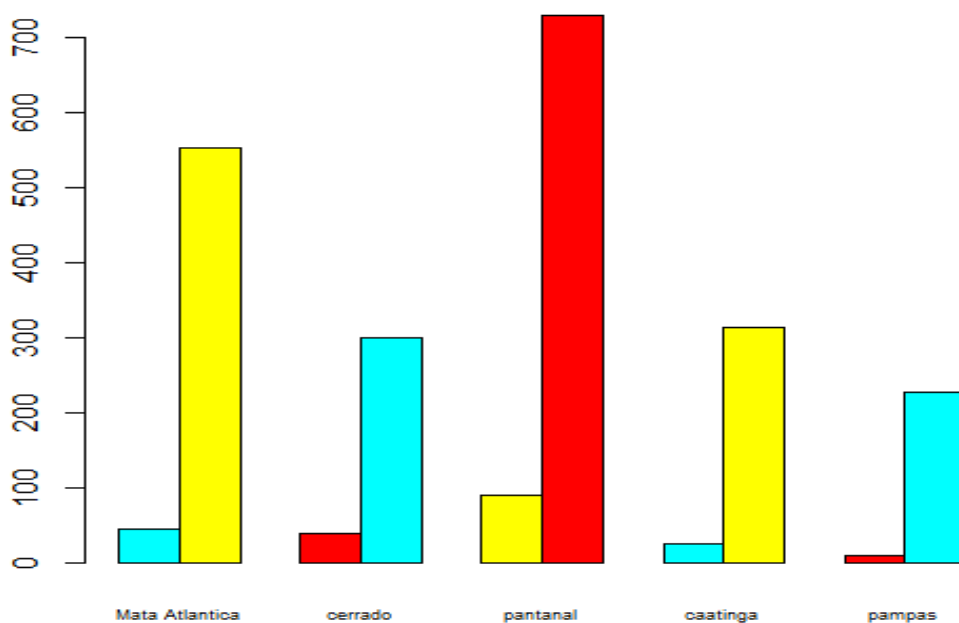


Figura 7 – Protozoário *Blastocystis* sp. para os Biomas brasileiros.

Ao analisarmos a frequência de crianças 10% e adultos 6%, em crianças houve frequência ligeiramente superior aos adultos. Estudos posteriores sugere que essa prevalência seja pelos hábitos das crianças que geralmente estão em contato com ambientes favoráveis a disseminação de diversos parasitas, as crianças geralmente não possuem hábitos de higiene bem definidos por estarem em processo de formação e por vezes as brincadeiras características da infância são disseminadoras desses organismos na criança (STENSVOLD et al., 2009; MALHEIROS et al., 2011).

Segundo a figura 8, mostra que houve distribuição homogênea de *Blastocystis sp.* nos sexos masculino e feminino, sendo assim o gráfico sugere que não existe tropismo do parasito pelo sexo do indivíduo.

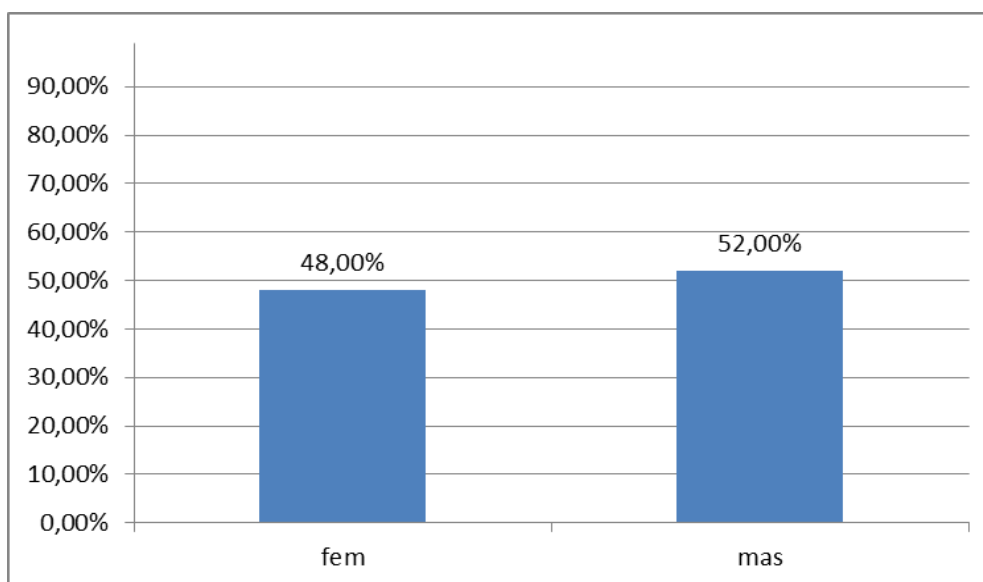


Figura 8 – Frequências das amostras positivas para *Blastocystis sp.* por sexo.

1 - samples proportions teste with continuity correction- null probability 0,5- X-squared=0,0199 , df=1 , p-value= 0.8878. alternative hypothesis: true p is not equal to 0,5 95 percent confidence interval: 0,4217783 0,5635862 samples estimates: p 0,492537.

A figura 9 ilustra maior prevalência de *Blastocystis sp.* associado à outros parasitas , este gráfico está de acordo com outros trabalhos realizados que relatam que *Blastocystis sp.* é um protozoário relativamente comum em fezes humanas e na maioria das vezes está associado á algum outro parasito. (DEVERA et al 1998; KULIK et al 2009; MALHEIROS 2011)

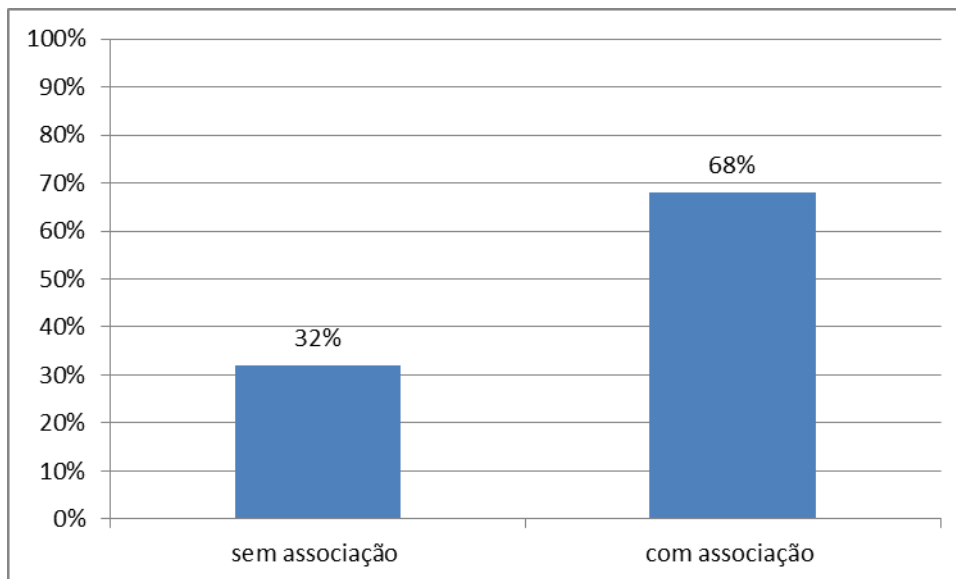


Figura 9 – Frequências das amostras positivas para *Blastocystis sp.* por associação com outros parasitas.

O poliparasitismo pode estar relacionado as condições socioambientais como sugere Lu e Yung et al. (2009). Em seus trabalhos Devera et al. (1998), Silva et al. (2006), Miné et al. (2008) também relatam a elevada prevalência de *Blastocystis* associado a outros parasitas, este fato enriquece ainda mais a discussão acerca da patogenicidade desse parasita, que por vezes é ainda considerado comensal, por isso a associação desse protozoário é importante para podermos entender a real patogenicidade deste organismo e a relação dele com os outros parasitas, por isso se faz necessário mais estudos acerca deste assunto.

A figura 10 mostra a frequência de blasto em relação a consistência fecal. Neste resultado houve maior frequência de blasto em fezes pastosas e formada, esta análise revela ainda que 4% dos indivíduos positivos para blasto apresentaram sintomas mais severos como a diarreia, aspecto fecal das fezes examinadas também foi superior com 98% de prevalência, isso sugere que esses indivíduos que albergavam *Blatosystis sp.*,

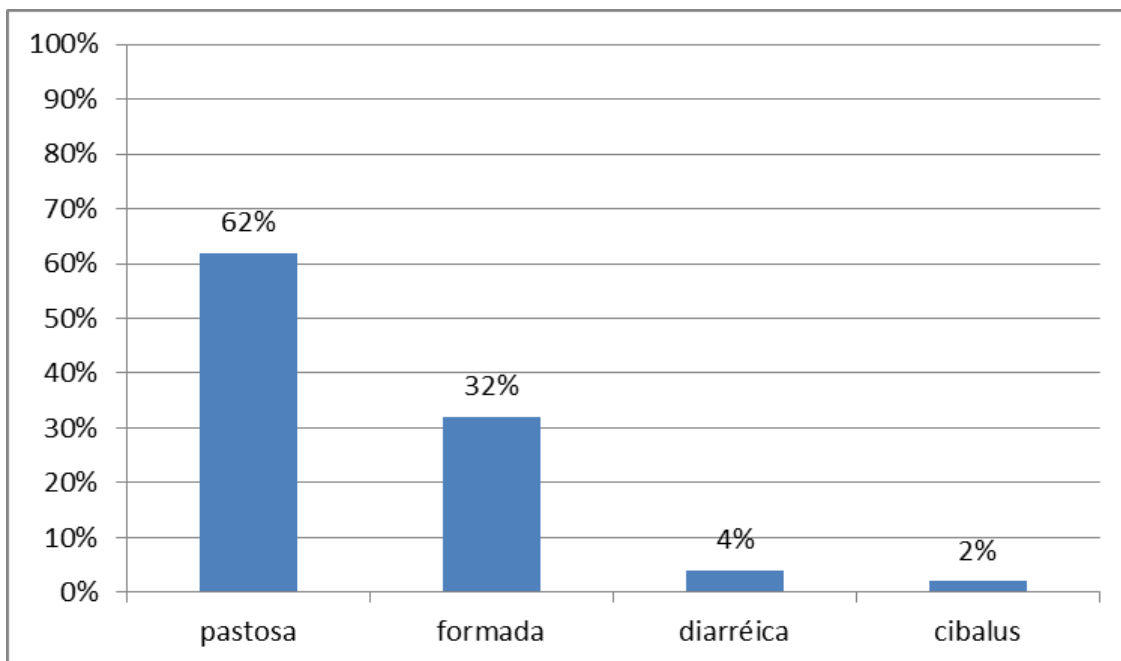


Figura 10 – frequência de consistência fecal por amostras positivas para *Blastocystis sp.*

Quanto ao aspecto fecal, 98% das amostras examinadas macroscopicamente foram classificadas como normais, revelando que os indivíduos que albergavam o *Blastocystis sp* não apresentaram alterações clínicas visíveis como a presença de sangue ou muco nas fezes.

Na tabela 4 de correlação linear das amostras positivas de *Blastocystis sp.* e outros protozoários e helmintos, as amebas *Entamoeba coli*, *Endolimax nana* e *Iodamoeba butschlii* tiveram resultados estatisticamente significativos de $P > 0,05$. Estas, *Endolimax nana*, *Iodamoeba butschlii* e a *Entamoeba coli* são protozoários da família da *Entamoeba histolytica*, que é sabidamente patogênica enquanto *E. Nana*, *I. Butschli* e *E. coli* são consideradas comensais, podendo apresentar tanto infecções assintomáticas quanto sintomáticas, sendo a diarreia, vômito e dores abdominais os sintomas mais frequentes..

Tabela 4 - Associação de Helmintos e outros protozoários à *Blastocystis sp.* em amostras fecais de cinco biomas brasileiros, teste de correlação linear em programa R, significância de 5%.

<i>Blastocystis spp.</i>	HELMINTOS E PROTOZOÁRIOS	VALOR DE P
% positivas Blasto	<i>Ascaris lumbricoides</i>	0,0883
% positivas Blasto	<i>Enterobius vermicularis</i>	0,465
% positivas Blasto	<i>Trichuris trichuris</i>	0,694
% positivas Blasto	<i>Strongiloides stercoralis</i>	0,68
% positivas Blasto	Ancilostomídeo	0,915
% positivas Blasto	<i>Hymenolepis nana</i>	0,0658
% positivas Blasto	<i>Chilomastix mesnili</i>	0,745
% positivas Blasto	<i>Cryptosporidium sp.</i>	0,817
% positivas Blasto	<i>Entamoeba histolytica</i>	0,121
% positivas Blasto	<i>Eimeria sp.</i>	0,491
% positivas Blasto	<i>Toxocara sp.</i>	0,591
% positivas Blasto	<i>Giardia intestinalis</i>	0,106
% positivas Blasto	<i>Entamoeba coli</i>	0,0371*
% positivas Blasto	<i>Endolimax.nana</i>	0,011*
% positivas Blasto	<i>Iodameba butschulii</i>	0,00137**

*significante estatisticamente ** muito significativo

As figuras 11,12 e 13 evidenciam respectivamente a reta ascendente de correlação linear ente *Blastocystis sp.* e *E. nana.*, *Blastocystis sp.* e *E.coli* e *Blastocystis sp.* e *I.butschulii*.

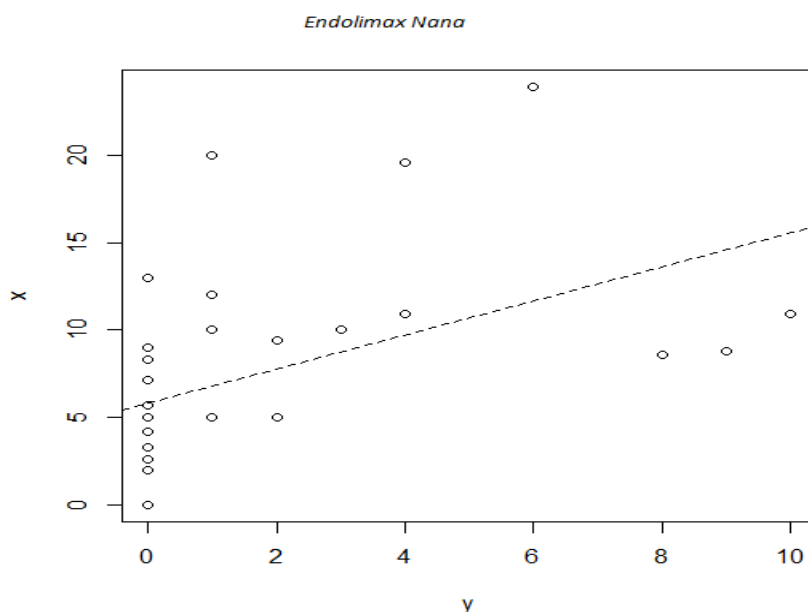


Figura 11: Correlação linear das amostras positivas para *Blastocystis* e *E.nana*.

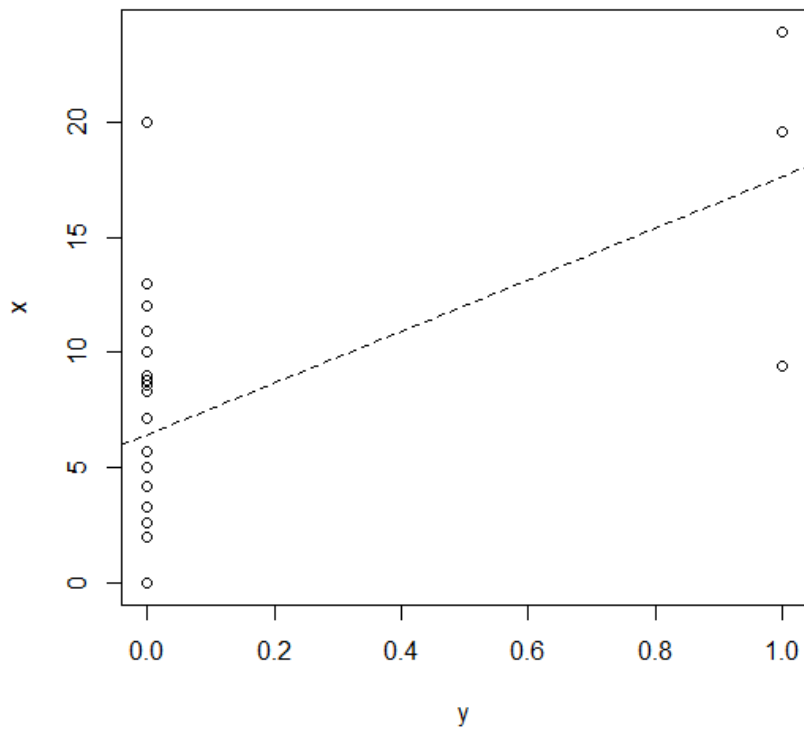


Figura 12: Correlação linear das amostras positivas para *Blastocystis* e *I.butschulii*.

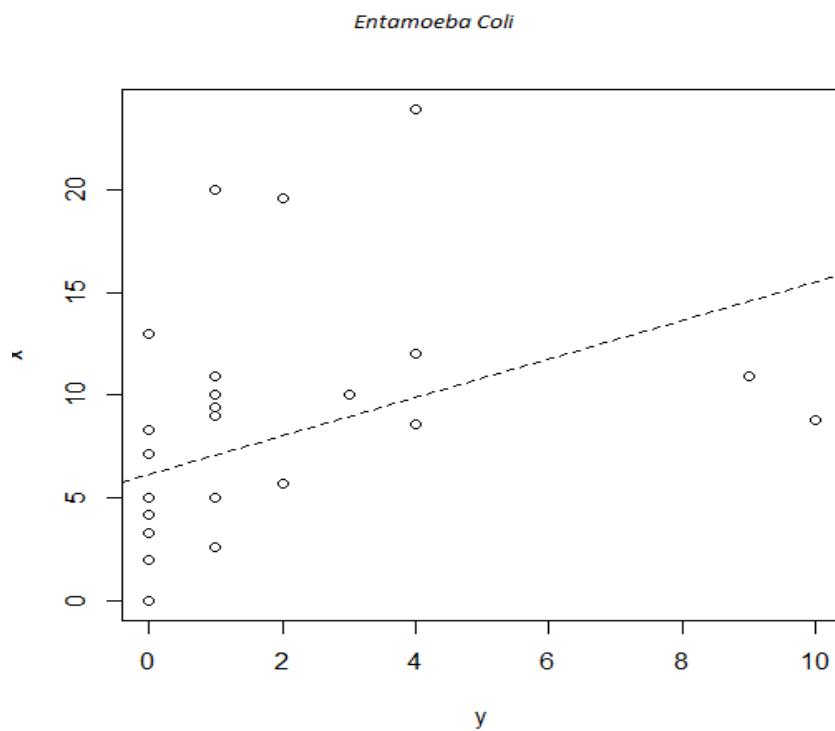


Figura 13: Correlação linear das amostras positivas para *Blastocystis* e *E.coli*.

Devera et al. (1998) observaram que *Blastocystis* se associa mais frequentemente a *G. lamblia* e que é um parasito mais presente que a *Entamoeba coli*. Silva et al. (2006) diagnosticaram 10% de amostras positivas para *Blastocystis* sp. sendo que destas houve associação maior de *Blastocystis* com *G. lamblia* e *E nana*.

Segundo Kulik et al. (2008) as amebas são comumente encontradas em amostras fecais de pacientes com insuficiência renal crônica em associação a *Blastocystis* sp., sendo *Endolimax nana* a mais prevalente.

Apesar de *Blastocystis* sp. não estar associado a nenhum protozoário ou helminto de maior relevância clínica ou de maior potencial patogênico, o estudo mostra que a associação com as amebas supracitadas é bastante frequente, e essas podem ser sintomáticas, e podem causar maiores incômodos aos indivíduos que albergam esses parasitas, sendo que em pacientes imunossuprimidos essas, co-infecções são mais comuns e prejudicam consideravelmente a qualidade de vida desses indivíduos (LU e YUNG et al., 2009; BORGES et al., 2009; KULIK et al., 2008).

5 - CONCLUSÃO

O presente estudo obteve resposta positiva e significativa ao avaliar a incidência de *Blastocystis* sp. e os biomas estudados, o próximo passo será elaborar o perfil molecular desse protozoário nessas regiões para assim entendermos como circula seus diferentes subtipos e se existe o mesmo subtipo circulando em animais e seres humanos, caracterizando assim uma zoonose. A relação dos enteroparasitas com o meio ambiente é algo de considerável relevância para entendermos como se dá o ciclo biológico do organismo e sua transmissão, dito isso estudos acerca da influencia dos regimes hídricos de diferentes regiões e da sazonalidade poderá nos ajudar completar as lacunas ainda existentes a cerca do *Blastocystis* sp. que apesar de pouco mais de um século de pesquisa ainda existem várias controvérsias envolvendo esse organismo, dentre elas a sua patogenicidade.

Apesar de o exame macroscópico sugerir que os pacientes que participaram desses estudos em sua maioria são assintomáticos, sabemos que os sintomas como dores abdominais e diarreia estão presentes em algumas infecções causadas pelo *Blastocystis* sp. e mais estudos acerca do assunto se faz necessário para entendermos quais são os fatores que podem influenciar a patogenicidade desse protozoário.

A associação com outros parasitas, os resultados para *Blastocystis* sp. revelam maior tropismo pelas amebas diferente de outros estudos encontrados pelo Brasil e realizados no mundo que sugerem tropismo maior pela giárdia

Entender como *Blastocystis* sp. se relaciona com outros protozoários e enteroparasitas é de suma importância para compreendermos a patogenicidade desse microorganismo, sabemos que a associação desse protozoário pode causar complicações mais evidentes ao indivíduo que alberga esse organismo. *Blastocystis* sp. é um protozoário que ainda sabemos muito pouco sobre a influencia do meio ambiente em seu comportamento, ao ponto que estudos acerca de sua prevalência, incidência e caracterização molecular são apenas o início para compreendermos a complexidade desse parasito, o que faz necessário mais estudos para elucidação deste agente parasitário em todas as regiões brasileiras.

6 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMATO NETO, V.; GRYSCHK, R. C. B.; AMATO, V. S.; TUON, F. F. *Parasitologia – uma abordagem clínica*. Rio de Janeiro: Ed. Elsevier, 2008. 456 p.

AMATO NETO, V.; ALARCON, R. S. R.; GAKIYA, E. G.; FERREIRA, C. S.; BEZERRA, R. C.; SANTOS, A. G. Elevada porcentagem de blastocistose em escolares de São Paulo, SP. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v. 37, n.4, p. 354-356, 2004.

BORGES, J. D.; AMARCÓN, R. S. R.; AMATO NETO, V.; GAKIYA, E. Parasitoses intestinais de indígenas da comunidade Mapuera (Oriximiná, Estado do Pará, Brasil): elevada prevalência de *Blastocystis hominis* e encontro de *Cryptosporidium* sp e *Cyclospora cayetanensis*. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v. 42, n. 3, p. 348-350, 2009.

BRUMPT, E. *Blastocystis hominis* n. sp. et formes foissines. Bull. Soc. Pathol. EXOT., v.5, p. 725-30, 1912.

CARLI, G. A. *Diagnóstico laboratorial das parasitoses humanas*. Rio de Janeiro: Ed. Medsi, 1994. 315 p.

CLARK, C. G. Cryptic genetic variation in parasitic protozoa. *Journal of Medical Microbiology*, v. 49, n. 6, p. 489–491, 2000.

CLARK, C. G. Extensive genetic diversity in *Blastocystis hominis*. *Molecular Biochem Parasitol*, v. 87, n. 1, p. 79–83, 1997.

DEVERA, R.; BLANCO, Y.; CABELLO, E. High prevalence of *Cyclospora cayetanensis* among indigenous people in Bolivar State, Venezuela. *Cadernos de Saúde Pública*, v. 21, n. 6, p. 1778-1784, 2005..

EL SAFADI et al. BMC Infectious Diseases 2014, 14:164

GARCIA, L. S.; BRUCKNER, D. A.; CLANAY, M. N. *Clinical relevance of Blastocystis hominis*. Lancet, p. 1233-4, 1984.

GILL, F. F.; BARROS, M. J.; MACEDO, N. A.; JÚNIOR, C. G.; REDOAN, R.; BUSATTI, H.; GOMES, M. A.; SANTOS, J. F. Prevalence of intestinal parasitism and associated symptomatology among hemodialysis patients. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, v. 55, n. 2, p. 69-74, 2013.

GILL, F. F. *Prevalência de enteroparasitoses em comunidades da periferia de Belo Horizonte: prevalência nos laboratórios da comunidade vs comunidade*. 2011, 117p. Dissertação (Mestrado em parasitologia) - Universidade Federal de Minas Gerias, Belo Horizonte, MG, 2012.

GUIMARÃES, S.; SOGAYAR, M. I. *Blastocystis hominis: occurrence in children and staff members of municipal day-care center from Botucatu, São Paulo, Brazil*. Mem. Ist. Oswaldo Cruz., v. 88, n. 3, p. 427 – 9, 1993

HOFFMAN, W. A.; PONS, J. A.; JANER, J. L. The sedimentation concentration method in *Schistosomiasis mansoni*. *Journal of Public Health and Trop. Medicine*, v. 9, n. 1, p. 283-291, 1934.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. IBGE. *Índice de desenvolvimento humano municipal*. Disponível em <emas.php?lang=&codmun=220342&idtema=118&search=piaui|domingos-mourao|Índice-de-desenvolvimento-humano-municipal-idhm->. Acesso em: 13/10/2014.

KOBAYASHI, J.; HASEGAWA, H.; FORLI, A. A.; NISHIMURA, N. F.; YAMANAKA, A.; SHIMABUKURO, T.; SATO, Y. Prevalence of intestinal parasitic infection in five farms in Holambra, São Paulo, Brazil. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo*, v. 37, n. 1, p. 13-18, 1995.

KULIK, R. A.; FALAVIGNA, D. L.; NISHI, L.; ARAUJO, S. M. *Blastocystis* sp. and other intestinal parasites in hemodialysis patients. *Brazilian Journal of Infectious Diseases*, v. 12, n. 4, p. 338–341, 2008.

LEE, L. I.; CHYE, T. T.; KARMACHARYA, B. M.; GOVIND, S. K.; Blastocystis sp.: waterborne zoonotic organism, a possibility?. *Parasites & Vectors*, v. 5, n. 130, p. 1-5, 2012.

LU, C. T.; YUNG, Y. J. Epidemiology of Blastocystis sp. hominis and other intestinal parasites among the immigrant population in northeastern Taiwan by routine physical examination for residence approval. *Journal Microbiology Immunology and Infection*, v. 2, n. 1, p. 505–509, 2009.

MACHADO, R. C.; MARCARI, E. L.; CRISTANTE, S. F. V.; CARARETO, C. M. A. Giardíase e Helmintíases em crianças de creches e escolas de 1º e 2º graus (públicas e privadas) da cidade de Mirassol (SP, Brasil). *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v. 32, n. 5, p. 697-704, 1999.

MALHEIROS, A. F. Ocorrência de patógenos intestinais e fatores de risco associados à infecção entre os índios Tapirapé habitantes da Amazônia mato-grossense, Brasil. 2011, 166 p. Tese (Doutorado em Parasitologia) Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, 2012.

MALHEIROS, A. F.; STENVOLD, C. R.; CLARK, C. G.; BRAGA, G. B.; SHAW, J. J. Molecular Characterization of Blastocystis sp. obtained from Members of the Indigenous Tapirapé Ethnic Group from the Brazilian Amazon Region, Brazil. *American Society of Tropical Medicine and Hygiene*, v. 85, n. 6, p. 1050–1053, 2011.

MARTINS, L. P. A.; SERAPIÃO, A. A. T. B.; VALENCIANO, R. F.; PIRES, J. E. C.; CASTANHO, R. E. P. Frequência de Blastocystis hominis e outras enteroparasitoses em amostras fecais analisadas no laboratório de patologia da Faculdade de Medicina de Marília – SP. *Revista de Patologia Tropical*, v. 36, n. 1, p. 47-53, 2007.

MELONI, D.; SANCIU, G.; POIRIER, P.; EI ALAOU, H.; CHABÉ, M.; DELHAES, L.; DEI-CAS, E.; DELBAC, F.; FIORI, P. L.; CAVE, D. D.; VISCOGLIOSI, E. Molecular subtyping of Blastocystis sp. sp. isolates from symptomatic patients in Italy . *Parasitology Research*, v. 190, n. 3, p. 613–619, 2011.

MOURA H, FERNANDEZ O, VIOLA JPB, SILVA SP, PASSOS RH, LIMA DB. Enteric parasites and HIV infection: Occurrence in AIDS patient in Rio de Janeiro, Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v.84 ,p.527-33, 1989

MINÉ, J. C.; ROSA, J. A. Frequência de Blastocystis hominis e outros enteroparasitas em amostras de fezes examinadas no Laboratório de Parasitologia da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade Estadual Paulista, Araraquara. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v. 41, n. 6, p. 565-569, 2008.

NASCIMENTO, S. A.; MOITINHO, M. L. R. Blastocystis hominis and other intestinal parasites in a community of Pitanga city, Paraná State, Brazil. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v. 47, n. 4, p. 213-217, 2005.

PARKAR, U.; TRAUB, R. J.; VITALI, S.; ELLIOT, A.; LEVECKE, B.; ROBERTSON, I.; GEURDEN, T.; STEELE, J.; DRAKE, B.; THOMPSON, R. C.

Molecular characterization of *Blastocystis sp.* isolates from zoo animals and their animal-keepers . *Veterinary Parasitology*, v. 169, n. 1-2, p. 8–17, 2010.

SANTOS, H. L.; SODRÉ, F. C.; MACEDO, H. W. *Blastocystis sp.* in splenic cysts: causative agent or accidental association? A unique case report. *Parasites & Vectors*, v. 7, n. 1, p. 1-5, 2014.

SCICLUNA, S. M.; TAWARI, B.; CLARK, C. G.; DNA barcoding of *blastocystis*. *Protist*, v. 157, n. 1, p. 77–85, 2006.

SHEATHER, A. L. The detection of intestinal protozoa and mange parasites by a flotation technique. *Journal of Comparative Pathology and Therapeutics*, v. 36, n. 1, p. 266-275, 1923.

SILVA, C. G.; SANTOS, H. A. Ocorrência de Parasitoses Intestinais da área de abrangência do Centro de Saúde Cícero Idelfonso da Regional Oeste da Prefeitura Municipal de Belo Horizonte, Minas Gerais. *Revista de Biologia e Ciências da Terra*, v. 1, n. 1, p. 1-10, 2001.

SOUPPART, L.; SANCIU, G.; CIAN, A.; WAWRZYNIAK, I.; DELBAC, F.; CAPRON, M.; DEI-CAS, E.; BOOROM, K.; DELHAES, L.; VISCOGLIOSI, E. Molecular epidemiology of human *Blastocystis sp.* isolates in France. *Parasitol Research*, v. 105, n. 2, p. 413 – 421, 2009.

STENZEL, D. J.; BOREHAM, P. F. L. *Blastocystis hominis* Revisited. *Clin.Microbiol.Rev.*, v. 9, n. 4, p. 563-84, 1996.

STENSVOLD, C. R.; ALFELLANI, M. A.; NORSKOV-LAURITSEN, S.; PRIP, K.; VICTORY, E. L.; MADDOX, C.; NIELSEN, H. V.; CLARK, C. G. Subtype distribution of *Blastocystis* isolates from synanthropic and zoo animals and identification of a new subtype . *International Journal for Parasitology*, v. 39, n. 4, p. 473–479, 2009.

STENSVOLD, C. R.; NIELSEN, H. V.; MOLBAK, K.; SMITH, H. V. Pursuing the clinical significance of *Blastocystis* –diagnostic limitation. *Trends in Parasitology*, v. 25, n. 1, p. 23-29, 2009.

STENSVOLD, C. R.; LEWIS, H. C.; HAMMERUM, A. M .; PORSBO. L. J.; NIELSEN, S. S.; OLSEN, K. E.; ARENDRUP, M. C.; NIELSEN, H. V.; MOLBAK, K. *Blastocystis*: unraveling potential risk factors, and clinical significance of a common but neglected parasite. *Epidemiology and Infection*, v. 137, n. 11, p. 1655–1663, 2009.

STENSVOLD, C. R.; ARENDRUP, M. C.; JESPERSGAARD, C.; MOLBAK, K.; NIELSEN, H. V. Detecting *Blastocystis* using parasitologic and DNAbased methods: a comparative study . *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, v. 59, n. 3, p. 303–307, 2007.

STENSVOLD, C. R.; SURESH, G. K.; TAN, K. S.; THOMPSON, R. C.; TRAUB, R. J.; VISCOGLIOSI, E. YOSHIKAWA, H.; CLARK, C. G. Terminology for *Blastocystis* subtypes—a consensus . *Trends in Parasitology*, v. 23, n. 3, p. 93–96, 2007.

STENSVOLD, R.; BRILLOWSKA-DABROWSKA, A.; NIELSEN, H. V.; ARENDRUP, M. C. Detection of *Blastocystis hominis* in unpreserved stool

specimens by using polymerase chain reaction. *Journal of Parasitology*, v. 92, n. 5, p. 1081–1087, 2006.

TAN, K. S.; MIRZA, H.; TEO, J. D.; WU, B.; MACARY, P. A. Current views on the clinical relevance of *Blastocystis spp.* *Current Infectious Disease Reports*, v. 12, n. 1, p. 28–35, 2010.

TAVARES-DIAS, M.; GRANDINI, A. A. Prevalência e aspecto epidemiológicos de enteroparasitoses na população de São José da Bela Vista , São Paulo. *Ver. Soc. Bras. Medicina Tropical*, V. 32, n. 1, p. 63-5, 1999.

TEIXEIRA, A. T. L. S.; GARLIPP, C. R.; BOTTINI, P. V.; SOUZA, R. *Blastocystis hominis*: prevalência e patogenicidade. *Revista Brasileira de Patologia Clínica*, V.25,n. 1, p. 7-9, 1989.

UTZINGER. J.; BOTERO-KLEIVEN, S.; CASTELLI, F., CHIODINI, P. L.; Edwards, H.; Köhler, N.; Gulletta, M.; Lebbad, M.; Manser, M.; Matthys, B.; N'Goran, E K.; Tannich, E.; Vounatsou, P.; Marti, H. Microscopic diagnosis of sodium acetate-acetic acid-formalinfixed stool samples for helminths and intestinal protozoa: a comparison among European reference laboratories . *Clinical Microbiology and Infection*, v. 16, n. 3, p. 267 – 273, 2010.

VINHA, C. Incidência no Brasil, de helmintos transmitidos pelo solo- Rotina coproscópica do Ex. Departamento Nacional de Endemias Rurais. *Rev. Bras. De Malariologia e Doenças Tropicais*, v. 23, p. 3-9, 1971.

Zerpa R, Huicho L, Guillén A. *Tinta china modificada para la detección de formas encapsuladas de Blastocystis hominis*. *Rev. Mexicana de patologia clinica* 1999.

ZIERDT, C. H. *Blastocystis hominis* - Past and Future. *Clinical Microbiology Reviews*, v. 4, n. 1, p. 61-79, 1991.

ZIERDT, C. H. *Blastocystis hominis* , an intestinal protozoan parasite of man. *Public health lab.*, v. 36, p. 147-60, 178.

ZIERDT, C. H.; RUDE, W. S.; BULL, B. S. *Protozoan characteristics of Blastocystis hominis*. *Am.J.Clin.Pathol.*,v 48, n. 5,p. 495-501, 1967.

ZIERDT, C. H.; WILLIAMS, R. *Blastocystis hominis*: Axenic cultivation. *Exp. Parasitol.*, v. 36, p. 233- 43 , 1974

