

**UFRRJ**  
**INSTITUTO DE VETERINÁRIA**  
**CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS**  
**VETERINÁRIAS**

**DISSERTAÇÃO**

**Ocorrência e caracterização morfológica de**  
***Blastocystis* sp. em três espécies de aves**  
**comercializadas em mercados municipais do**  
**Rio de Janeiro**

**Wyslaine Costa da Cruz**

**2008**



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO  
INSTITUTO DE VETERINÁRIA  
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS**

**OCORRÊNCIA E CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA DE  
*Blastocystis* sp. EM TRÊS ESPÉCIES DE AVES COMERCIALIZADAS  
EM MERCADOS MUNICIPAIS DO RIO DE JANEIRO**

**WYSLAINE COSTA DA CRUZ**

*Sob a Orientação da Professora*  
**Teresa Cristina Bergamo do Bomfim**

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências**, no Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Área de Concentração em Parasitologia Veterinária

Seropédica, RJ

Fevereiro de 2008

636.50896

C837o

T

Cruz, Wyslaine Costa da, 1977-  
Ocorrência e caracterização  
morfológica de Blastocystis sp. Em  
três espécies de aves  
comercializadas em mercados  
municipais do Rio de Janeiro /  
Wyslaine Costa da Cruz - 2008.  
56f. : il.

Orientador: Teresa Cristina  
Bergamo do Bomfim.

Dissertação (mestrado) -  
Universidade Federal Rural do Rio  
de Janeiro, Curso de Pós-Graduação  
em Ciências Veterinárias.

Bibliografia: f. 39-44.

1. Ave doméstica - Parasito -  
Teses. 2. Blastocystis - Teses. 3.  
Ave doméstica - Doenças - Teses. I.  
Bomfim, Teresa Cristina Bergamo do.  
II. Universidade Federal Rural do  
Rio de Janeiro. Curso de Pós-  
Graduação em Ciências Veterinárias.  
III. Título.

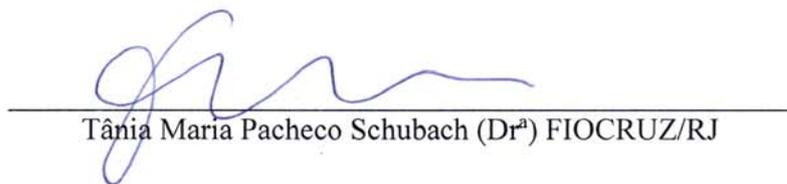
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO  
INSTITUTO DE VETERINÁRIA  
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

WYSLAINE COSTA DA CRUZ

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciências, no Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, área de concentração em Parasitologia Veterinária.

DISSERTAÇÃO APROVADA EM 27 / 02 / 2008

  
Teresa Cristina Bergamo do Bomfim - (Dr<sup>a</sup>) UFRRJ (Orientadora)

  
Tânia Maria Pacheco Schubach (Dr<sup>a</sup>) FIOCRUZ/RJ

  
Franziska Huber - (Dr<sup>a</sup>) IST – FAETEC / Pbi

*Aos dois homens que me ensinaram a ser  
tudo que sou hoje e que serei sempre.*

*Exemplos de caráter, dignidade,  
dedicação, força de vontade e  
cumplicidade.*

*Ao meu pai Cícero e meu “pai” Delcimar,  
dedico todo esse trabalho.*

*Estarão sempre guardados em minha  
mente e meu coração.*

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente a DEUS, responsável pela vida e por todas as coisas e por permitir que desfrutemos de tudo isso.

À minha grande amiga Raquel Saucier, a quem muito devo por ter chegado a este ponto, me auxiliando e me ensinando os caminhos. Tenho-te sempre como meu espelho de virtudes profissional e pessoal.

À professora e minha orientadora Teresa Cristina, que desde a graduação sempre teve muita atenção e dedicação, o que permitiu que se criassem elos profissionais e de amizade.

À minha família, base forte de sustentação. Minha mãe Neuma, uma mulher de fibra e garra que, incondicionalmente, sempre esteve comigo me dando amor, carinho e sua dedicação. Ao meu querido pai, Cícero Canuto (*in memoriam*), meu maior incentivador, do qual sempre teve muito orgulho em dizer que eu era seu filho.

À minha irmã Estherlaine, que, ao meu lado, dividiu momentos alegres e tristes e que sempre tive como exemplo de pessoa briosa. Ao meu cunhado Ronison e ao meu sobrinho Vítor Luís, que chegou para preencher e encher de alegria minha vida.

À minha amiga e namorada Talita, que, com sua alegria contagiante, apareceu em um momento delicado de minha vida e, mesmo estando longe nesse momento, me deu forças, incentivo e me ajudou a caminhar.

Aos meus grandes amigos Elaine Bandeira, Felipe Marques, Renata Scarlato, Rodrigo Neves e Vanessa Santana, que sempre me proporcionaram bons momentos na vida acadêmica e agora na vida pessoal. Eu nunca os esquecerei.

Ao sexteto que me adotou como parte de suas famílias: Alcione, Allan, Paula, Pedro, Rosângela e Victor; me dando sempre a imensa alegria de estar com vocês.

A todos meus amigos e companheiros da turma de mestrado, nos quais dividimos e compartilhamos dois anos de estudo, trabalho e um pouco de diversão.

A todos os professores e funcionários do curso de Pós-graduação em Ciências Veterinárias pela convivência quase que diária.

À dona Marlene e a todas as meninas da cantina, que sempre tiveram muito carinho e atenção comigo, além de um cafezinho descontraído no meio da tarde para relaxar.

E por último, a todas as pessoas que me auxiliaram, de forma direta e indireta, nesse trabalho e ao curso de Pós-graduação em Ciências Veterinárias e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo suporte financeiro.

## RESUMO

CRUZ, Wyslaine Costa da. **Ocorrência e caracterização morfológica de *Blastocystis* sp. em três espécies de aves comercializadas em mercados municipais do Rio de Janeiro.** 2008. 44 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias, Parasitologia Veterinária). Instituto de Veterinária, Departamento de Parasitologia Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2008.

*Blastocystis hominis* é um dos parasitos de maior prevalência no trato gastrintestinal de humanos, porém seu papel patogênico ainda permanece incerto. Alguns organismos semelhantes à *B. hominis* têm sido descritos em uma variedade de hospedeiros não-humanos sendo denominado *Blastocystis* sp., mas seu potencial zoonótico não está esclarecido. O objetivo desse trabalho foi verificar a ocorrência de infecção natural de *Blastocystis* sp. em três espécies de aves domésticas comercializadas em dois mercados municipais do Rio de Janeiro, caracterizando morfológicamente esses organismos encontrados em material fecal para a emissão de um diagnóstico preciso. Foram adquiridas 214 aves, sendo 35 patos (*Anas platyrhynchos*) do mercado A e 38 do mercado B, 35 codornas (*Coturnix japonica*) do mercado A e 36 do mercado B, e 35 pintos (*Gallus gallus*) do mercado A e 35 do mercado B. Das aves pesquisadas no mercado A, 8 (22,9%) pintos, 15 (42,9%) codornas e 13 (37,1%) patos apresentaram formas biológicas de *Blastocystis* sp. nas fezes, enquanto que no mercado B, 15 (42,9%) pintos, 2 (5,56%) codornas e 21 (55,3%) patos apresentaram tais formas nas fezes. Não houve uma diferença estatisticamente significativa em relação à ocorrência de infecção em patos e pintos dos dois mercados municipais pesquisados, ocorrendo essa diferença somente entre as codornas dos dois mercados. Ao considerarmos o número de aves infectadas nos dois mercados, independentemente da espécie, observou-se que não houve uma diferença estatisticamente significativa entre os dois mercados. Das observações de esfregaço de fezes coradas com Giemsa daqueles animais que apresentaram positividade para *Blastocystis* sp., foi possível caracterizar seis formas do organismo, sendo estas: vacuolar, granular, amebóide, císticas, avacuolar e multivacuolar. Também foi possível caracterizar as formas reprodutivas de *Blastocystis* sp. como: divisão binária, endodiogenia, brotamento, plamatomia e esquizogonia. Mesmo não tendo estudos que confirmem o potencial zoonótico e patogênico de *Blastocystis* sp., tanto para hospedeiros humanos quanto para animais, sugere-se que nesses mercados de comercialização pode ocorrer a contaminação ambiental, devido às condições higiênicas e sanitárias serem de péssima qualidade, sendo um risco para os animais, assim como para a população humana que comumente freqüentam esses ambientes. O conhecimento das formas evolutivas que foram encontradas e caracterizadas no presente trabalho é de grande importância para que se tenha um diagnóstico preciso e confiável de *Blastocystis* sp. em material fecal.

**Palavras-chave:** Caracterização morfológica, *Blastocystis* sp., Aves domésticas.

## ABSTRACT

CRUZ, Wyslaine Costa da. **Occurrence and morphological characterization of *Blastocystis* sp. in three bird species sold at cooperative markets in Rio de Janeiro.** 2008. 44 p. Dissertation (Masters in Veterinary Sciences with Specialization in Veterinary Parasitology). Veterinary Institute, Department of Veterinary Parasitology, Rio de Janeiro Federal Rural University, Seropédica, RJ, 2008.

*Blastocystis hominis* is one of the most prevalent parasites of the human gastrointestinal tract, but its pathogenic role still remains uncertain. Some organisms similar to *B. hominis* have been described in a range of non-human hosts and are denominated *Blastocystis* sp., but their zoonotic potential still needs clarification. The objective of this work was to investigate the occurrence of natural infection by *Blastocystis* sp. in three species of domesticated birds sold at cooperative markets (with individual vendor stalls) in two districts of the city of Rio de Janeiro and to characterize the morphology of these organisms found in bird droppings, to enable a precise diagnosis. A total of 214 birds were purchased: 35 ducks (*Anas platyrhynchos*) from market A and 38 from market B, 35 quails (*Coturnix japonica*) from market A and 36 from market B and 35 chicks (*Gallus gallus*) from market A and 35 from market B. Of the birds studied from market A, 8 chicks (22.9%), 15 quails (42.9%) and 13 ducks (37.1%) presented biological forms of *Blastocystis* sp. in their droppings, while at the market B, the respective figures were 15 chicks (42.9%), 2 quails (5.56%) and 21 ducks (55.3%). There was no statistically significant difference in relation to the occurrence of infection in ducks and chicks between the two markets studied, but there was between the quails at the two markets. Considering the number of infected birds at the two markets irrespective of species, the difference was statistically significant. From the observations of the stained fecal smears of the animals that were positive for *Blastocystis* sp., it was possible to characterize six forms of organisms, namely vacuolar, granular, ameboid, cystic, avacuolar and multivacuolar. It was also possible to characterize the reproductive forms of *Blastocystis* sp. as binary division, endodyogeny, budding, plamotomy and schizogeny. Even though there are no studies confirming the zoonotic and pathogenic potential of *Blastocystis* sp., either to human or animal hosts, we suggest that environmental contamination can be occurring at these markets, due to the poor hygienic and sanitary conditions, thus posing a risk to both the animals and the people who circulate there. The knowledge of evaluative forms that were found and characterized in this work is important to gives a precise and faithful diagnosis of *Blastocystis* sp. in dropping.

**Key words:** Morphological characterization, *Blastocystis* sp., domesticated birds.

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> – Ocorrência de <i>Blastocystis</i> sp. em pintos ( <i>Gallus gallus</i> ) provenientes de dois mercados municipais do Rio de Janeiro	14
<b>Tabela 2</b> – Ocorrência de <i>Blastocystis</i> sp. em patos ( <i>Anas platyrhynchos</i> ) provenientes de dois mercados municipais do Rio de Janeiro	15
<b>Tabela 3</b> – Ocorrência de <i>Blastocystis</i> sp. em codornas ( <i>Coturnix japonica</i> ) provenientes de dois mercados municipais do Rio de Janeiro	16
<b>Tabela 4</b> – Ocorrência de <i>Blastocystis</i> sp. em patos, pintos e codornas comercializados nos mercados municipais do Rio de Janeiro	17
<b>Tabela 5</b> – Ocorrência de <i>Blastocystis</i> sp. em aves comercializadas nos dois mercados municipais do Rio de Janeiro	17
<b>Tabela 6</b> – Dados morfométricos (média e desvio padrão) das formas vacuolares (n=100) de <i>Blastocystis</i> sp. em aves comercializadas em dois mercados municipais do Rio de Janeiro	19
<b>Tabela 7</b> – Dados morfométricos (média e desvio padrão) das formas granulares (n=100) de <i>Blastocystis</i> sp. em aves comercializadas em dois mercados municipais do Rio de Janeiro	22
<b>Tabela 8</b> – Dados morfométricos (média e desvio padrão) das formas amebóides (n=17) de <i>Blastocystis</i> sp. em aves comercializadas nos mercados municipais do Rio de Janeiro	22
<b>Tabela 9</b> – Dados morfométricos (média e desvio padrão) das formas císticas (n=200) de <i>Blastocystis</i> sp. em aves comercializadas nos mercados municipais do Rio de Janeiro	24
<b>Tabela 10</b> – Dados morfométricos (média e desvio padrão) das formas avacuolares (n=60) de <i>Blastocystis</i> sp. em aves comercializadas em dois mercados municipais do Rio de Janeiro	27
<b>Tabela 11</b> – Dados morfométricos (média e desvio padrão) das formas multivacuolares (n=25) de <i>Blastocystis</i> sp. em aves comercializadas nos mercados municipais do Rio de Janeiro	27

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** – Esmregaço de fezes coradas pelo Giemsa, forma vacuolar de *Blastocystis* sp.: A – Presença de um vacúolo central (→), B – Apresentando sete núcleos em seu citoplasma (— = 10 µm). 20
- Figura 2** – Esmregaço de fezes coradas pelo Giemsa, forma granular de *Blastocystis* sp. possuindo citoplasma com algumas inclusões: A – B, com um único núcleo, C – D com mais de um núcleo (— = 10 µm). 21
- Figura 3** – Esmregaço de fezes coradas pelo Giemsa, forma amebóide de *Blastocystis* sp.: A - B possuindo projeções semelhantes à pseudópodes que são emitidas do seu citoplasma (— = 10 µm). 23
- Figura 4** – Esmregaço de fezes coradas pelo Giemsa, formas císticas de *Blastocystis* sp.: A – observa-se nitidamente uma camada fibrilar envolvendo os cistos que contém núcleos, B e C – possuindo vestígios de camada fibrilar e cistos contendo núcleos, D – cistos dispersos em fezes, contendo núcleos e alguns “vacúolos” podem ser observados em seu interior (— = 10 µm). 25
- Figura 5** – Esmregaço de fezes coradas pelo Giemsa, forma avacuolar de *Blastocystis* sp.: A, B e C – Formas possuindo tamanhos variados e sem a presença de vacúolos em seu citoplasma (— = 10 µm). 26
- Figura 6** – Esmregaço de fezes coradas pelo Giemsa, forma multivacuolar de *Blastocystis* sp.: A, B e C – Formas possuindo tamanhos variados com a presença de vários vacúolos em seus citoplasmas (— = 10 µm). 28
- Figura 7** – Esmregaço de fezes coradas pelo Giemsa, reprodução por divisão binária de *Blastocystis* sp.: A – Início da divisão binária, onde observamos um alongamento da célula e núcleos em pólos opostos, B – Célula com a divisão do seu citoplasma, C – Uma possível célula proveniente da divisão binária (— = 10 µm). 30
- Figura 8** – Esmregaço de fezes coradas pelo Giemsa, reprodução por endodiogenia de *Blastocystis* sp.: A, B e C – Formas possuindo a internalização do seu citoplasma para que ocorra a divisão, D – Forma onde observa-se a divisão do núcleo e do citoplasma (— = 10 µm). 31
- Figura 9** – Esmregaço de fezes coradas pelo Giemsa, reprodução por brotamento de *Blastocystis* sp.: A – Aumento em um dos lados da célula, dando origem a uma nova célula de tamanho menor, B – Mais de uma célula filha de tamanhos diferentes sendo originadas de uma maior (— = 10 µm). 32

**Figura 10** – Esfregaço de fezes coradas pelo Giemsa, reprodução por plasmatomia de *Blastocystis* sp.: observamos o prolongamento da membrana citoplasmática que originará uma outra célula (— = 10 µm). 33

**Figura 11** – Esfregaço de fezes coradas pelo Giemsa, reprodução por esquizogonia de *Blastocystis* sp.: A e B – Cistos com um a dois núcleos, C – Cistos onde observa-se a multiplicação nuclear (→) e posterior liberação de formas alongadas semelhantes a esporozoítas (▶) (— = 10 µm). 35

**Figura 12** – Esfregaço de fezes coradas pelo Giemsa: A, B, C e D – Formas não identificadas de *Blastocystis* sp. 36

**Figura 13** – Esfregaço de fezes coradas pelo Giemsa: A, B e C - Formas não identificadas de *Blastocystis* sp. 37

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b>	1
<b>2 REVISÃO DE LITERATURA</b>	3
2.1 Histórico	3
2.2 Classificação Taxonômica	3
2.3 Espécies Consideradas Como Válidas	4
2.4 Diagnóstico	4
2.4.1 Diagnóstico clínico	4
2.4.2 Diagnóstico parasitológico	4
2.4.3 Diagnóstico sorológico/imunológico	5
2.4.4 Diagnóstico por genotipagem	5
2.5 Características Biológicas	6
2.5.1 Formas evolutivas	6
2.5.2 Formas reprodutivas	7
2.5.3 Ciclo biológico	7
2.6 Infecção Por <i>Blastocystis</i>	8
2.6.1 Infecção em humanos	8
2.6.2 Infecção em aves	8
2.6.3 Infecção em outras espécies de animais	9
2.7 Epidemiologia	9
<b>3 MATERIAL E MÉTODOS</b>	11
3.1 Procedência Dos Animais	11
3.2 Descrição Dos Mercados Municipais	11
3.3 Descrição Dos Alojamentos E Comercialização Das Aves	11
3.4. Acondicionamento Das Aves No Laboratório	12
3.5 Coleta Das Amostras De Fezes	12
3.6 Procedimentos Laboratoriais	12
3.7 Observação De Formas Evolutivas De <i>Blastocystis</i> sp.	13

3.8 Preparo E Montagem De Lâminas Para Caracterização Morfológica De <i>Blastocystis</i> .sp.	13
3.9. Caracterização Morfológica	13
3.10 Análise Estatística	13
<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>	<b>14</b>
4.1 Ocorrência Da Infecção Natural Por <i>Blastocystis</i> sp. Em Pintos ( <i>Gallus gallus</i> ) Dos Mercados Municipais	14
4.2 Ocorrência Da Infecção Natural Por <i>Blastocystis</i> sp. Em Patos ( <i>Anas platyrhynchos</i> ) Dos Mercados Municipais	15
4.3 Ocorrência Da Infecção Natural Por <i>Blastocystis</i> sp. Em Codornas ( <i>Coturnix japonica</i> ) Dos Mercados Municipais	15
4.4 Verificação Geral Da Ocorrência Da Infecção Natural De <i>Blastocystis</i> sp. Entre Patos, Pintos e Codornas Pesquisados Nos Dois Mercados Municipais	16
4.5 Caracterização Morfológica De <i>Blastocystis</i> sp.	19
4.5.1 Morfometria de <i>Blastocystis</i> sp.	19
4.5.2 Formas reprodutivas de <i>Blastocystis</i> sp.	29
<b>5 CONCLUSÕES</b>	<b>38</b>
<b>6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	<b>39</b>

# 1 INTRODUÇÃO

É muito conhecida a relação entre o ser humano e os animais, explorando várias espécies como fonte de alimento, força de tração para o trabalho e também para desfrutar de sua companhia. Mas essa relação sempre teve vantagens e desvantagens. Devido à convivência com os animais domésticos houve o surgimento de várias doenças em humanos, originando-se assim as zoonoses.

Muitos animais são portadores de patógenos com potencial zoonótico e eles têm contribuído para o aumento de infecções já conhecidas e também outras cuja importância como zoonose ainda é contestada.

Dentre esses patógenos está *Blastocystis hominis*, um organismo descrito pela primeira vez no início do século XX, mas que até o momento causa muita controvérsia a respeito de seu papel como patógeno e mesmo sobre o seu potencial zoonótico. Nas últimas décadas foi dedicada grande atenção à *Blastocystis hominis*, principalmente devido ao aumento no número de ocorrências em diagnósticos de rotina e também por estar sendo considerado como patogênico para humanos.

*Blastocystis hominis* é a única espécie do gênero reconhecida na literatura que é encontrada no trato gastrointestinal de humanos. Porém vários autores o descreveram em muitas outras espécies de hospedeiros animais denominando-o *Blastocystis* sp. Dentre os hospedeiros animais, as aves domésticas e silvestres têm se destacado como sendo de grande relevância, devido às similaridades genéticas de isolados desses animais com os isolados de humanos, enfatizando-se o aspecto zoonótico nesses hospedeiros.

No Estado do Rio de Janeiro existem vários locais onde há a comercialização de aves domésticas vivas ou mortas. Dentre esses se destacam as feiras livres, aviários na periferia de vários municípios e os grandes mercados municipais. No município do Rio de Janeiro essa comercialização é, na maioria das vezes, realizada em mercados municipais onde há grande quantidade e variabilidade de espécies de aves, além de outras espécies de animais. Nesses ambientes existe a comercialização diversificada de mercadorias que geralmente são dispostas próximas às lojas onde são comercializados esses animais, além disso, há a movimentação intensa de pessoas na busca de produtos de baixo custo financeiro.

Muitas das aves adquiridas nesses locais são destinadas para o abate no domicílio, para criações de subsistência, com a exploração de seus produtos para o consumo e também, algumas vezes como animais de estimação.

A prática de adquirir animais vivos desses locais, onde não se tem um conhecimento sobre a origem e um histórico dos fornecedores, onde não há um controle e um cuidado em abrigar esses animais separados de outros, pode constituir um risco de disseminação de vários patógenos, expondo tanto as pessoas que habitualmente freqüentam esses ambientes quanto às várias espécies de animais que compartilham esses locais.

Nessa última década as pesquisas com *Blastocystis* têm sido intensificadas, porém ainda não há um consenso sobre a real condição se *Blastocystis* tem um papel patogênico ou mesmo se seus isolados de hospedeiros não-humanos possuem potencial zoonótico. No entanto, *Blastocystis* vem sendo considerado como um dos organismos de alta prevalência no trato gastrointestinal de humanos e em várias espécies de animais. Devido à escassez de informações sobre *Blastocystis* sp. em várias espécies de hospedeiros não-humanos, torna-se de grande relevância o conhecimento dos aspectos biológicos e morfológicos das várias formas do seu ciclo de vida encontradas em material fecal para a obtenção de um diagnóstico preciso e confiável.

O presente trabalho teve como propósito verificar a ocorrência de *Blastocystis* sp. em três espécies aves domésticas, patos (*Anas platyrhynchos*), codornas (*Coturnix japonica*) e pintos (*Gallus gallus*), naturalmente infectadas comercializadas em mercados municipais do Rio de Janeiro, identificando e caracterizando morfológicamente as formas biológicas encontradas em material fecal.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Histórico

A primeira descrição que propôs *Blastocystis* como um gênero distinto foi feito por Alexeieff em 1911 que nomeou a espécie *Blastocystis enterocola* como sendo uma levedura. Porém, Brumpt em 1912 propôs o nome *B. hominis* para o organismo isolado de material fecal humano, sendo essa a denominação atual na literatura para isolados obtidos de humanos.

Após essa primeira descrição, poucos trabalhos foram realizados com *B. hominis* e alguns pesquisadores erroneamente atribuíam certas doenças ao organismo. Em 1927, Rosebusch, em um erro de diagnóstico, colocou *B. hominis* como causa da doença da cabeça negra, em perus e, por um erro similar, a patologia hepática em humanos também foi atribuída ao *B. hominis* (ZIERDT, 1991).

Muitas publicações classificavam *B. hominis* como uma levedura (BRUMPT, 1912; CIFERRI; REDAELLI, 1938; WOLYNSKA; SOROCZAN, 1972), pesquisadores, equivocadamente, descreviam-no como um cisto de um flagelado, material vegetal, leveduras e também como fungos (ZIERDT, 1991), mas Zierdt et al. em 1967, descreveram as características de protozoário do organismo.

Nas décadas de 1970 e 1980 os trabalhos de Charles Zierdt chamaram a atenção de biólogos e clínicos (TAN et al., 2002) e, a partir daí, muitos trabalhos foram realizados, principalmente enfocando os aspectos morfológicos de *B. hominis* (STENZEL; BOREHAM, 1996).

Hoje *B. hominis* é provavelmente o protozoário mais comum do trato gastrointestinal de humanos em várias partes do mundo (STENZEL; BOREHAM, 1996) e também é encontrado em uma grande variedade de hospedeiros como suínos, macacos, cobaias, aves, répteis e ratos (BOREHAM; STENZEL, 1993) sendo fortemente considerado como um organismo potencialmente zoonótico (TAN, 2004).

### 2.2 Classificação Taxonômica

Apesar de ter sido descrito no início do século XX, atualmente ainda há controvérsias na classificação taxonômica de *Blastocystis*.

Inicialmente foi classificado como uma levedura (ALEXEIEFF, 1911; BRUMPT, 1912; CIFERRI; REDAELLI, 1938). Suas características de protozoário foram posteriormente descritas por Zierdt et al. (1967), baseadas em critérios morfológicos e fisiológicos. Em 1991, Zierdt classificou o organismo inicialmente como sendo um Sporozoário, levando em consideração suas características morfológicas, de cultivo e seu modo de divisão, e posteriormente o reclassificou como pertencente ao grupo Sarcodina.

Com o advento da biologia molecular, a taxonomia, associando as afinidades filogenéticas de *Blastocystis*, foi comparada com diferentes Eukaryotos. As análises das seqüências parciais de SSUrRNA mostraram que *B. hominis* não é monofilético com leveduras, fungos, sarcodinas ou esporozoários (JOHNSON et al., 1989), levando a conclusão de que *B. hominis* não está relacionado às leveduras e poderia ser colocado em um grupo mais distante da classe que liga Ciliados e Apicomplexos.

Em um outro estudo, Cavalier-Smith (1997), indicou que *Blastocystis* era filogeneticamente relacionado ao flagelado Proteromonas, sendo que *Blastocystis* não possuía flagelo e nem tubos capilares. De acordo com a classificação, *Blastocystis* não é nem um fungo e nem um protozoário como anteriormente suposto, e, pelo fato dele não possuir cílios,

foi criada uma nova classe Blastocystea no Subfilo Opalinata, Infra-reino Heterokonta, Subreino Chromobiota, Reino Chromista, fazendo com que *Blastocystis* seja o primeiro chromista conhecido parasitando humanos (CAVALIER-SMITH, 1998).

### 2.3 Espécies Consideradas Como Válidas

Dados indicam que diferentes grupos de isolados de *Blastocystis* podem ser diferenciados em humanos e isso levantou a hipótese de haver mais de uma espécie de *Blastocystis* infectando humanos (STENZEL; BOREHAM, 1996).

Outros pesquisadores propuseram espécies de *Blastocystis* para hospedeiros não-humanos, sendo: *B. galli* para frangos (BELOVA; KOSTENKO, 1990), *B. anatis* para patos domésticos (BELOVA, 1991), *B. anseri* para gansos domésticos (BELOVA, 1992) e *B. lapemi* para cobra-do-mar (*Lapemis hardwickii*) (TEOW et al., 1991), porém, a maioria dos isolados de *Blastocystis* é indistinguível morfológicamente, através da observação em microscopia óptica e eletrônica (NOËL et al., 2005). Mas enquanto não houver confirmações posteriores usando dados moleculares disponíveis, *B. hominis* será definido como parasita isolado de humanos e *Blastocystis* sp. será definido como aquele isolado de outros animais (NOËL et al., 2005).

### 2.4 Diagnóstico

#### 2.4.1 Diagnóstico clínico

O diagnóstico clínico ainda é discutido e relacionado com várias controvérsias e indefinições, entre elas, se *B. hominis* é ou não patogênico, já que este organismo demonstra não invadir tecidos. Porém é prudente considerá-lo como potencialmente patogênico.

Os sinais clínicos da infecção por *Blastocystis* observados em humanos não são específicos e incluem diarreia, dores abdominais, náuseas e, em casos agudos, diarreia aquosa profusa e febre (TAN, 2004). Fadiga, anorexia, flatulência e outros distúrbios gastrintestinais não específicos também podem ser associados à infecção por *B. hominis* (STENZEL; BOREHAM, 1996).

Num estudo de infecção experimental de *B. hominis* em camundongos, Moe et al. (1997) relataram que alguns animais apresentaram edema de ceco, perda de peso e os animais apresentavam-se letárgicos e com fezes pastosas.

Quilez et al. (1995) também relataram diarreia em suínos com seis semanas de idade que, em exame parasitológico de fezes, apresentaram pequenas quantidades de formas de *Blastocystis* sp.

A falta de um modelo experimental adequado e a dificuldade de se excluir todas as outras causas dos sinais clínicos faz com que o papel do *Blastocystis* como um agente causador de patologia em humanos e animais permaneça indefinido (TAN, 2004).

#### 2.4.2 Diagnóstico parasitológico

O diagnóstico de *Blastocystis* é normalmente feito através de exame coproparasitológico em microscópio óptico (ZIERDT, 1991) com a observação, normalmente, das formas vacuolares (GARCIA; BRUCKNER, 1993).

Os métodos mais usados para diagnóstico de protozoários e outros parasitas intestinais, como os métodos de concentração, não são eficazes para *Blastocystis*, pois promovem a destruição das formas vacuolar, multivacuolar e granular do organismo (MILLER; MINSHEW, 1988).

A sedimentação espontânea é sugerida como o método mais adequado para separar *Blastocystis* do material fecal (GUIMARÃES; SOGAYAR, 1993), porém a adição de água destilada nesse processo leva a lise da célula. É recomendada a adição de solução fisiológica para o preparo da amostra para o seu diagnóstico (GARCIA; BRUCKNER, 1993; ZAMAN et al., 1995).

O uso de corantes também pode ser utilizado para o diagnóstico em microscópio óptico, onde os esfregaços de fezes podem ser corados pelo Trichomio (GARCIA; BRUCKNER, 1993), Hematoxilina férrica (GUIMARÃES; SOGAYAR, 1993), Giemsa (DAWES et al., 1990), Gram (ZIERDT, 1991) e corante de Wright (VANNATTA et al., 1985) não existindo um método que seja mais eficiente que outro. Estes métodos parecem ser o procedimento de escolha para o diagnóstico de *B. hominis* por causa da dificuldade de identificação do organismo em material fecal fresco.

#### **2.4.3 Diagnóstico sorológico/imunológico**

Os testes sorológicos foram usados para identificar pacientes com *B. hominis*, porém com pouco sucesso devido à falta de resposta imune (CHEN et al., 1987).

Garavelli et al. (1992) relataram que o teste ELISA detectou anticorpos séricos para *B. hominis* em quatro pacientes e Zierdt et al. (1995) usaram teste ELISA e detectaram anticorpos de imunoglobulina G no soro de 28 pacientes. No entanto, anticorpos apropriados não estão disponíveis para a utilização em diagnóstico clínico (STENZEL; BOREHAM, 1996).

#### **2.4.4 Diagnóstico por genotipagem**

Estudos moleculares indicaram que *B. hominis* não é uma simples espécie, pois vários isolados têm demonstrado genótipos distintos, porém idênticos morfológicamente (CLARK, 1997; YOSHIKAWA et al., 1998, 2000).

Trabalhos considerando a caracterização molecular de isolados de *Blastocystis* têm demonstrado seu potencial zoonótico através da Reação em Cadeia da Polimerase (PCR), da análise do Polimorfismo do Comprimento dos Fragmentos de Restrição (RFLP) e da seqüência dos genes de pequenas-subunidades de rRNA (SSUrRNA) e rDNA (SSUrDNA). A caracterização molecular tem se tornado uma ferramenta valiosa para elucidar esse potencial zoonótico.

Abe et al. (2003), estudando isolados de *Blastocystis* pela PCR e análise do RFLP da SSUrRNA, demonstraram que os genótipos de *Blastocystis* sp. isolados de bovinos e suínos apresentaram-se geneticamente similares aos isolados de *B. hominis*, considerando desta forma, como sendo uma fonte potencial de infecção para humanos.

Arisue et al. (2003) e Noël et al. (2003) relataram nove isolados, sendo um de suíno, três de roedores, quatro de aves e um de macaco, todos como tendo potencial zoonótico baseando-se na comparação das seqüências do gene da SSUrRNA.

Noël et al. (2005) basearam-se em dados de classificação genotípica da PCR e relacionaram seis grupos de isolados de *Blastocystis*, tanto de humanos quanto de animais, como sendo de baixa especificidade por hospedeiros e sugeriram a existência de vários isolados com freqüente transmissão de animal para o homem e do homem para o animal, sendo este um grande reservatório potencial para infecção em humanos.

Num estudo conduzido por Abe (2004) que seqüenciou a SSUrDNA inteira de 19 isolados de *Blastocystis* de várias espécies de animais e analisou a relação filogenética desses isolados com os isolados de humanos, verificou-se que os isolados provenientes de animais poderiam ser classificados em sete grupos e que muitos desses apresentavam potencial

zoonótico devido as similaridades gênicas existentes entre animais e humanos e, com isto, sugeriu a capacidade de realização de infecção cruzada entre os animais e humanos e vice-versa.

## 2.5 Características Biológicas

### 2.5.1 Formas evolutivas

As descrições e as características morfológicas apresentadas são baseadas em *B. hominis* que é a espécie reconhecida e considerada como válida na literatura.

*Blastocystis* é um organismo polimórfico que apresenta várias formas evolutivas sendo descritas na literatura seis formas: vacuolar, granular, amebóide e a cística que são comumente observadas (TAN et al., 2002) e as formas avacuolar e multivacuolar, que ocorrem em menor frequência. Nestas podemos encontrar filamentos semelhantes a inclusões que também foram descritas na forma granular (STENZEL; BOREHAM 1996).

Existem poucas informações na literatura sobre a transição de uma forma evolutiva de *Blastocystis* para a outra e a maioria dos dados morfológicos disponíveis enfatiza somente a descrição dos seus estágios individualmente (TAN, 2004).

**Forma vacuolar** - Essa forma também é denominada como vacuolada ou forma de “corpo central” do *B. hominis* (ZIERDT, 1991). É geralmente reconhecida para o diagnóstico de *B. hominis*, sendo comumente encontrada em amostras fecais (GARCIA; BRUCKNER, 1993) e é também predominante em cultivo (ZIERDT, 1967; MATSUMOTO et al., 1987). Essa forma apresenta um tamanho de 2 a 200 µm de diâmetro, com média variando entre 4 e 15 µm (STENZEL; BOREHAM, 1996). É caracterizada por conter um corpo central, assemelhando-se a um vacúolo, que ocupa, aproximadamente, 90% do volume celular, com uma fina camada de citoplasma periférico. Organelas como núcleos e estruturas similares à mitocôndrias e complexo de Golgi estão localizadas nesse citoplasma periférico (TAN, 2004). De modo não muito frequente, o citoplasma dessas formas invagina para o vacúolo central resultando na deposição dessas organelas citoplasmáticas para essa região.

**Forma granular** - Morfológicamente semelhante à forma vacuolar, compartilhando muitas similaridades como formato e tamanho. Tem uma ultraestrutura similar à forma vacuolar, apesar de os conteúdos do vacúolo central serem morfológicamente e citoquimicamente diferentes. Esses grânulos, que se apresentam por toda a célula, podem ser inclusões semelhantes à mielina, pequenas vesículas, grânulos cristalinos, pequenas porções em forma de pontos de lipídios e também podem ser observados fragmentos de bactérias em compartimentos semelhantes à lisossomas dentro do vacúolo central (TAN et al., 2002; TAN, 2004). Esses grânulos são encontrados no citoplasma e, mais comumente, em um maior número de estruturas, dentro do vacúolo central (STENZEL; BOREHAM, 1996; TAN, 2004; ZHANG et al., 2007).

**Forma amebóide** - Esta forma tem sido referida com pouca frequência e foi também observada em culturas mais velhas, culturas tratadas com antibióticos e, ocasionalmente, em amostras fecais (TAN et al., 2002). Apresenta morfologia irregular com um ou dois prolongamentos semelhantes à pseudópodes e ausência de um vacúolo central (STENZEL; BOREHAM, 1996). No entanto, Tan e Zierdt (1973) descreveram a forma amebóide um pouco diferente, como sendo organismos ovais com um ou dois grandes pseudópodes e com vacúolo central. Por esse motivo, a forma amebóide tem tido relatos morfológicos confusos e conflitantes (DUNN et al., 1989; ZIERDT, 1991; STENZEL; BOREHAM, 1996; TAN, 2004).

**Forma cística** - Vários estudos referem-se a uma pequena e resistente forma de *B. hominis*, que possui um tamanho menor em relação às outras formas, variando de 2 a 5 µm, de

forma arredondada a ovóide, não possuindo um vacúolo central. As estruturas internas incluem de 1 a 4 núcleos que aparecem como estruturas puntiformes escuras após a coloração com iodo e também depósitos de glicogênio e de lipídio (TAN, 2004; ZHANG et al., 2007).

**Forma multivacuolar** – Ao invés de um único vacúolo grande, múltiplos vacúolos pequenos de diferentes tamanhos e formas são verificados nas células de *B hominis* de material fecal, sendo que também são observados em material cultivado (STENZEL et al., 1991). Estas formas são menores comparando-se com as formas granulares ou vacuolares típicas e possuem aproximadamente 5-8 µm de diâmetro.

**Forma avacuolar** – São formas pequenas quando observadas em material fecal em se comparando com as mesmas obtidas de culturas (DUNN et al., 1989), não apresentam vacúolo central e possuem aproximadamente 5 µm de diâmetro.

### 2.5.2 Formas reprodutivas

Zhang et al. (2007) descrevem cinco modos de reprodução de *Blastocystis* que foram observados em material fecal e em meios de cultivo. Segue abaixo a descrição de cada modo reprodutivo.

**Divisão binária** – Foi a forma de reprodução mais comumente observada em amostras fecais, onde uma célula mãe se divide dando origem a duas células filhas de igual forma e tamanho.

**Endodiogenia** – Foi ocasionalmente observada em amostras fecais, onde o vacúolo central de uma célula mãe se divide em duas células menores e há a formação de uma nova membrana entre os vacúolos das células filhas.

**Brotamento ou Gemação** – Foi observado em amostras frescas de fezes. É caracterizado por um aumento em um dos lados da célula, onde dá origem a uma célula menor. Às vezes podem ser observadas células originando duas ou três outras células.

**Plasmatomia** – Observada em cultura *in vitro*, onde há o prolongamento da membrana citoplasmática que dá origem a outra célula.

**Esquizogonia** – Foi considerada como a forma reprodutiva de menor frequência e só observada em meio de cultivo. Onde uma grande célula, em média quatro vezes maior que a forma vacuolar e granular, dando origem a outras células menores contendo estruturas semelhantes à núcleos e grânulos refráteis.

Embora haja a descrição desses modos de reprodução, mais estudos são necessários para o entendimento de sua biologia básica.

### 2.5.3 Ciclo biológico

Há consideráveis controvérsias em relação ao ciclo biológico e aos modos de divisão ou tipos reprodutivos de *Blastocystis*.

Segundo Singh et al. (1995), os cistos, presente no ambiente, são ingeridos pelos hospedeiros através da rota fecal-oral em água e alimentos contaminados. Após a ingestão penetram nas células epiteliais do trato gastrointestinal e multiplicam-se assexuadamente. Através da mitose ocorre a multiplicação das formas vacuolares, dando origem às formas multivacuolares e formas amebóides. A forma multivacuolar desenvolve para pré-cisto que, através da esquizogonia, dá origem aos cistos de parede fina responsáveis pela auto-infecção interna do hospedeiro. A forma amebóide dará origem à pré-cisto, através da esquizogonia, desenvolvendo cistos de parede grossa, que são excretados juntamente com as fezes e liberados no meio ambiente.

No ciclo biológico proposto por Tan (2004), a infecção em humanos e animais é iniciada quando uma forma cística, presente nas fezes, é ingerida com água e alimentos

contaminados. No trato gastrintestinal, esse cisto se desenvolve para a forma vacuolar que, subsequentemente, se reproduz por divisão binária. Algumas formas vacuolares se encistam e são excretados nas fezes do hospedeiro e, através da rota fecal-oral, são transmitidas à humanos e animais. As fases em que as outras formas biológicas aparecem no ciclo ainda não estão muito bem elucidadas.

## **2.6 Infecção Por *Blastocystis***

### **2.6.1 Infecção em humanos**

A rota de infecção de *Blastocystis* é a fecal-oral, porém outras rotas de transmissão são mencionadas, sendo que essas foram raramente conduzidas com estudos controlados (YOOVA, 2004).

Estudos têm associado infecções por *Blastocystis* com indivíduos imunodeficientes, principalmente portadores da imunodeficiência adquirida humana (AIDS), como sendo a causa de distúrbios gastrintestinais, na maioria diarreia (CIRIONI et al., 1999; PRASAD et al., 2000). No entanto outros trabalhos sugerem que não há essa associação (CIMERMAN et al., 1999; LEDER et al., 2005).

Amato Neto et al. (2004) relataram a presença deste organismo em população infantil, com uma taxa de prevalência de 38,3% em crianças com idade escolar entre 6 e 10 anos, sendo esta percentagem expressiva e predominante para *B. hominis*.

Em uma área rural na comunidade de Tamarindo na Venezuela, a prevalência da infecção por *Blastocystis* em crianças e adultos com idade de até 60 anos foi de 66,7% (DEVERA et al., 2003).

Recentes pesquisas moleculares têm associado *Blastocystis* como possuindo um potencial zoonótico (ABE et al., 2003; NOËL et al., 2005; RIVERA; TAN, 2005), porém não há evidências desse potencial como também não há um consenso entre os pesquisadores se *B. hominis* é um agente causador de distúrbios gastrintestinais como diarreia e dor abdominal em humanos (YOOVA, 2004) ou ainda se este organismo é patogênico, comensal ou um organismo oportunista (TAN, 2004).

### **2.6.2 Infecção em aves**

Muitos organismos semelhantes à *Blastocystis* têm sido isolados de diversos animais, principalmente de várias espécies de aves e mamíferos, como também répteis, anfíbios e, ocasionalmente, em insetos (TANIZAKI et al., 2005).

Novas espécies de *Blastocystis* foram propostas para aves, dentre estas, *B. galli* infectando frango (BELOVA; KOSTENKO, 1990), *B. anatis* infectando pato (BELOVA, 1991) e *B. anseri* infectando ganso (BELOVA, 1992). No entanto, essas espécies propostas de *Blastocystis* não são consenso entre os pesquisadores.

Tanizaki et al. (2005) demonstraram que isolados de frangos, codornas e gansos foram capazes de infectar frangos, demonstrando a infecção cruzada entre espécies de aves. Além disso, um frango não infectado, ao ser introduzido e criado juntamente com outros parasitados, adquiriu a infecção, enfatizando que a transmissão de *Blastocystis* acontece facilmente entre a mesma espécie ou entre diferentes espécies de aves.

Lee e Stenzel (1999), estudando a prevalência de *Blastocystis* em 227 frangos domésticos de cinco granjas comerciais e verificaram uma alta taxa de infecção, aproximadamente 95%, em quatro das cinco granjas estudadas sendo que uma dessas granjas não apresentou infecção nos frangos.

Em uma pesquisa de *Blastocystis* sp. em animais de zoológico, Abe et al.(2002) encontraram uma prevalência de infecção da ordem de 80% em faisões e 56% em patos, sendo que, dentre as espécies infectadas, oito espécies de faisão e quatro espécies de pato não havia sido identificado *Blastocystis* sp. anteriormente.

Em um outro trabalho, Stenzel et al. (1997) relataram a presença de formas císticas de *Blastocystis* sp. em 31% das amostras fecais dos frangos pesquisados.

Infecção experimental em ratos e frangos com quatro subtipos isolados de humanos confirmou que alguns isolados de humanos poderiam infectar ratos e/ou frangos indicando o potencial zoonótico de alguns isolados de humanos, fazendo com que ratos e frangos possam ser modelos animais adequados para esses estudos (IGUCHI et al., 2007).

A maioria das infecções naturais de *Blastocystis* pode ser causada pela ingestão de cistos em água e alimento contaminado, caracterizando a rota fecal-oral de transmissão, porém há controvérsia quanto a patogenicidade de *Blastocystis* em aves (TANIZAKI et al., 2005).

### 2.6.3 Infecção em outras espécies de animais

Estudos revelam que há uma alta prevalência de infecção por *Blastocystis* sp. em diversas espécies de hospedeiros.

Duda et al. (1998) detectaram *Blastocystis* sp. em amostras fecais de 72 cães e 52 gatos domésticos, uma taxa de prevalência considerada alta, com 70,8% para cães e 67,3% para gatos.

Em uma pesquisa de *Blastocystis* sp. em animais de produção, animais de estimação e animais de zoológico, Abe et al. (2002) verificaram que as taxas de prevalência foram variadas entre os grupos estudados. Uma alta prevalência de infecção nos animais de produção onde dos 61 suínos e 55 bovinos pesquisados houve uma taxa de infecção em 95% e 71% dos animais respectivamente, porém nenhum dos 54 cães estudados apresentou a infecção. Já dos 34 primatas do zoológico, 85% apresentaram infecção, enquanto que vários carnívoros e herbívoros apresentaram-se negativos.

Yoshikawa et al. (2004) pesquisaram a infecção de *Blastocystis* sp. em anfíbios e relataram uma taxa de 47,8% das 23 *Rana nigromaculata* (rã leopardo) pesquisadas, 92% das 25 *Rana catesbeiana* (rã touro) pesquisadas e 100% das 24 *Bufo japonicus japonicus* (sapo) pesquisados.

Quilez et al. (1995) detectaram a presença de *Blastocystis* sp. em 7,5% dos 360 suínos pesquisados na Espanha, encontrando positividade em nove das 17 fazendas estudadas. *Blastocystis* sp. estava presente em animais de todas as faixas etárias, a partir de um mês de idade a adultos. Dentre estes, a faixa etária com maior prevalência foi em suínos com idade de um a dois meses, com 18,4% dos animais infectados, e com idade de dois a seis meses, com 15,4 % dos animais infectados.

## 2.7 Epidemiologia

*Blastocystis hominis* é um dos mais freqüentes organismos relatados em amostras fecais de humanos (WINDSOR et al., 2002), apresentando uma prevalência que varia entre 30 e 50% em alguns países em desenvolvimento (STENZEL; BOREHAM, 1996) e uma prevalência de 1,5% a 10 % nos países desenvolvidos, sendo um dos parasitos de maior freqüência nos Estados Unidos (VALLE et al., 2006).

Alguns estudos indicaram que a infecção de *B. hominis* é comum em moradores de países tropicais e subtropicais em desenvolvimento (ZAKI et al., 1991; TORRES et al., 1992; DEVERA et al., 2003) e em pessoas que viajaram para países em desenvolvimento

(STENZEL; BOREHAM, 1996), como também em imigrantes e refugiados desses países (TAN, 2004).

Segundo Carbajal et. al. (1997), há um maior índice de parasitismo em adultos que em crianças e um pequeno predomínio no sexo feminino, ainda que na maioria dos estudos não se tem encontrado diferenças em relação ao sexo.

Sanad et al. (1991) e Torres et al. (1992) relataram transmissão de *Blastocystis* entre membros da mesma família e em comunidades com precárias condições sanitárias.

Martin et al. (1990) analisaram a frequência de *Blastocystis* em diferentes grupos infantis e relataram a presença do parasito em crianças hospitalizadas, em creches e em escolas primárias.

Uma das rotas de transmissão mais freqüente é a via fecal-oral, o que contribui para uma maior prevalência de *Blastocystis* em locais onde há uma precária condição sanitária. Porém, outros estudos apontam outras fontes potenciais de veiculação, como por via hídrica (YOOVA, 2004) e por alimento contaminado (NOLLA; CANTOS, 2005).

Moura et al. (1989) sugeriram que a ocorrência de *B. hominis* poderia acontecer entre portadores do HIV onde o mecanismo de transmissão não parece contribuir para o aumento da ocorrência de infecções parasitárias e sim os mecanismos clássicos de transmissão de parasitos associado às condições do meio onde vivem.

*Blastocystis* sp. tem sido descrito em uma ampla variedade de espécies de animais, tem sido assinalado em quatro classes de vertebrados, sendo estas a dos mamíferos, aves, répteis e anfíbios, na classe dos mamíferos incluem animais domésticos, silvestres, de estimação ou companhia (TANIZAKI et al., 2005).

Trabalhos experimentais de infecção cruzada utilizando isolados de *B. hominis* foram relatados com sucesso em cobaias, ratos e em aves domésticas (SURESH et. al., 1995; STENZEL; BOREHAM, 1996; IGUCHI et. al., 2007). A caracterização molecular de isolados de hospedeiros animais também tem sido relatada e obtendo como resultado, isolados muito próximos aos isolados que infectam humanos (ABE et al., 2003; RIVERA; TAN, 2005; NOËL et al., 2005). Se espécies de *Blastocystis* têm baixa especificidade por hospedeiros ou se os isolados de animais são capazes de infectar outros animais, incluindo o homem, o grande número de animais que se encontram infectados naturalmente, podem funcionar como reservatórios, apresentando um potencial zoonótico (ABE, 2004).

## 3 MATERIAL E MÉTODOS

### 3.1 Procedência Dos Animais

Para a realização deste trabalho, foram adquiridas 214 aves domésticas vivas em dois mercados municipais do Rio de Janeiro, sendo 71 codornas (*Coturnix japonica*), 73 patos (*Anas platyrhynchos*) e 70 pintos (*Gallus gallus*). Foram obtidos, na totalidade, 105 animais do mercado municipal que foi considerado como A, sendo destes, 35 patos, 35 codornas e 35 pintos e 109 animais do mercado municipal considerado como B, sendo destes 38 patos, 36 codornas e 35 pintos. Os patos e pintos adquiridos apresentavam, aproximadamente, uma semana de idade, já as codornas um mês, sendo que esta idade era a ideal, segundo os comerciantes, para a comercialização dessa espécie de ave, por coincidir com a fase de postura de ovos, sendo mais facilmente vendidas.

A escolha dos mercados foi feita por conveniência, pela facilidade de obtenção dos animais e por serem próximos ao local da realização dos diagnósticos.

### 3.2 Descrição Dos Mercados Municipais

Os mercados municipais do Rio de Janeiro possuem um tipo estrutural de comercialização que é caracterizado pelo grande número de lojas com uma vasta variedade de produtos, como *in natura*, manufaturados, industrializados e animais vivos e mortos. Existe uma estreita proximidade entre as lojas de comercialização de todos os produtos. Por serem ambientes de comercialização de produtos de baixo custo, a movimentação de pessoas é intensa.

Nesses mercados é observada a comercialização de animais vivos, tais como várias espécies de aves, pequenos mamíferos e peixes. Era possível observar a comercialização de alimentos, como verduras, vários tipos de carnes e também restaurantes bem próximos dessas lojas de animais.

No mercado municipal A, as lojas se encontram em um espaço de dois andares onde no primeiro, que é o subsolo, são comercializados produtos como verduras, carnes, frutas, laticínios, brinquedos e animais. Dentre essas lojas, cinco destinavam-se à comercialização de animais vivos e possuíam a mesma estrutura na disposição de todas as lojas destinadas a outros tipos de comercialização.

O acesso a essas lojas de animais às vezes era dificultado pelo fato de haver uma grande quantidade de pessoas para adquirir e outras vezes somente para observar os animais como uma forma de entretenimento, principalmente as crianças cujos pais adquiriam pequenos esses animais para serem utilizados como de estimação.

O mercado municipal B se diferenciava do anterior pelo tamanho. Possuía somente um andar e as lojas eram em menor quantidade. Mas a diversidade de produtos para a comercialização era a mesma, o que é característico desses ambientes. Dentre essas lojas, duas eram destinadas à venda de animais, com a mesma estrutura e organização para o alojamento e comercialização dos animais que o mercado anterior.

### 3.3 Descrição Dos Alojamentos E Comercialização Das Aves

Os animais eram alojados em gaiolas de arame galvanizado, dispostas em baterias de três a quatro andares e separadas apenas por um fundo removível sob a forma de bandejas recobertas por folhas de jornais onde se acumulavam as fezes. A higienização dessas gaiolas

era feita uma vez por dia. Nessas gaiolas encontravam-se várias espécies de aves, como codornas, pintos, patos, periquitos e pombos; pequenos mamíferos, como porquinhos da Índia e coelhos. Às vezes era observada na mesma gaiola mais de uma espécie de ave e a superpopulação era uma constante nas mesmas. Observava-se também a presença de caprinos em algumas lojas com instalações improvisadas para alojá-los.

Nessas gaiolas observavam-se bebedouros e comedouros localizados na parte interna, e em alguns era comum a presença de fezes devido ao hábito de certas espécies em ciscar no ato da alimentação e conseqüentemente defecarem nesses locais.

A maioria dessas gaiolas possuía uma alta densidade populacional, onde era fácil observar animais pisoteados e muitas das vezes mortos, e esses não eram, imediatamente, retirados ou separados do local.

### **3.4 Acondicionamento Das Aves No Laboratório**

Após a aquisição aleatória das aves nas gaiolas de comercialização dos mercados municipais, as mesmas foram imediatamente encaminhadas à Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro para isolamento no Laboratório de Protozoologia do Departamento de Parasitologia Animal. As aves foram alojadas individualmente em gaiolas com um fundo aramado onde recebiam água e ração à vontade.

As aves eram adquiridas em lotes de cinco exemplares por espécie, conforme disponibilidade nos mercados. Antes da aquisição de um novo lote de animais era realizada, no local destinado ao isolamento, a desinfecção de superfícies e de todos os utensílios onde as aves eram acondicionadas, utilizando água sanitária e posteriormente era utilizada a vassoura de fogo. Esses procedimentos foram realizados para se evitar ao máximo a contaminação das novas aves adquiridas.

As aves permaneciam isoladas por um período de uma semana para a realização de exames coproparasitológicos para o diagnóstico da infecção natural de *Blastocystis* sp. com a confecção de lâminas. Após esse período, as aves eram doadas a pessoas interessadas em sua criação pra fins de consumo de ovos e carne.

### **3.5 Coleta Das Amostras De Fezes**

As coletas das amostras fecais eram realizadas diariamente para o diagnóstico de *Blastocystis* sp. e após a sedimentação espontânea, aquelas que apresentavam positividade do material fecal, lâminas eram confeccionadas.

As aves eram isoladas por um período de, aproximadamente, 3 horas, onde as amostras fecais desse período eram recolhidas individualmente e acondicionadas em recipientes plásticos, previamente identificados, sem a adição de nenhum tipo de produto ou conservantes. No ato da coleta era observada a consistência de cada material fecal. Após a coleta, essas amostras eram levadas para o laboratório para serem processadas.

### **3.6 Procedimentos Laboratoriais**

Para o processamento, foram pesadas 4g de cada amostra fecal individualmente, que eram homogeneizadas com 14 mL de solução fisiológica e filtradas em tamis plástico descartável contendo uma gaze sobre o mesmo. O material fecal processado e filtrado era acondicionado em tubo plástico cônico de 15 mL onde permanecia em repouso por duas horas em temperatura ambiente para que ocorresse a sedimentação espontânea. Após esse período, era retirada, com uma pipeta Pasteur, uma pequena alíquota desse sedimento onde era colocada entre lâmina e lamínula para observação em microscopia óptica.

### **3.7 Observação De Formas Evolutivas De *Blastocystis* sp.**

Para se verificar as formas evolutivas de *Blastocystis* sp., as amostras fecais processadas das aves foram submetidas à análise em microscopia óptica, com e sem contraste de fase, utilizando objetiva com um aumento de 40 vezes e confirmando a positividade utilizando objetiva com um aumento de 100 vezes.

### **3.8 Preparo E Montagem De Lâminas Para Caracterização Morfológica De *Blastocystis* sp.**

As amostras fecais analisadas com resultado positivo para *Blastocystis* sp. onde eram encontradas, pelo menos, cinco formas biológicas por campo de observação microscópica em um aumento de 40 vezes, eram imediatamente separadas e preparadas lâminas que eram coradas para a caracterização morfológica dessas formas biológicas encontradas.

Das amostras fecais positivas, era retirada, com uma pipeta Pasteur, uma pequena alíquota do sedimento do material fecal processado. Essa alíquota era colocada em uma lâmina onde era realizado um esfregaço fino de fezes, que após secagem ao ar em temperatura ambiente, era fixada com metanol por, no máximo, três a cinco minutos. Após esse procedimento, as lâminas eram coradas pelo Giemsa, onde permaneciam nesse corante por 60 minutos. Logo após esse período, as lâminas eram lavadas em água filtrada, secas ao ar em temperatura ambiente e montadas com uma lamínula usando-se balsamo do Canadá.

As lâminas montadas eram visualizadas em microscopia óptica utilizando objetivas com aumento de 40 e de 100 vezes. As formas biológicas encontradas foram fotografadas utilizando-se uma câmera acoplada a um microscópio Olympus BX-51 usando-se filme fotográfico de alta sensibilidade (ISO 400).

### **3.9 Caracterização Morfológica**

A morfometria das formas biológicas de *Blastocystis* sp. encontradas nas fezes das aves que foram submetidas à coloração foi realizada utilizando uma ocular micrométrica PZO com um aumento de 15 vezes, acoplada a um microscópio Olympus CH 20. As células encontradas foram analisadas quanto ao seu tamanho, sua forma, o número de núcleos e a proporção do vacúolo central, quando presente, em relação ao tamanho total da célula.

### **3.10 Análise Estatística**

Para a análise estatística dos dados quantitativos obtidos, utilizou-se o teste Qui-quadrado e o Fisher exato, quando recomendado. Para a análise estatística desses dados, foi utilizado o programa estatístico Statcalc do Epiinfo, programa de análises epidemiológicas do Center of Disease Control and Prevention (DEAN et al., 2000).

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Ocorrência Da Infecção Natural Por *Blastocystis* sp. Em Pintos (*Gallus gallus*) Dos Mercados Municipais

Dentre os 35 pintos provenientes do mercado A, 8 (22,9%) apresentaram formas biológicas de *Blastocystis* nas fezes, enquanto que dos 35 animais provenientes do mercado B, 15 (42,9%) apresentavam tais formas em suas fezes.

Apesar do número maior de animais positivo no mercado B, estes resultados apresentados demonstraram que não houve uma diferença estatisticamente significativa ( $p=0,74$ ) entre os dois mercados pesquisados conforme observado na tabela 1.

**Tabela 1** – Ocorrência de *Blastocystis* sp. em pintos (*Gallus gallus*) provenientes de dois mercados municipais do Rio de Janeiro.

Mercado	Animais Positivos	Animais Positivos (%)	*p
A (n=35)	8	22,90	0,074
B (n=35)	15	42,90	

\* Não Significativo pelo teste Qui-quadrado

A taxa de *Blastocystis* encontrada nesse trabalho, infectando naturalmente pintos é semelhante à encontrada por Stenzel et al. (1997) que relatou taxa de 31 % de infecção.

Lee e Stenzel (1999) estudando a prevalência de infecção em frangos domésticos encontraram uma taxa de aproximadamente 95% em quatro das cinco fazendas pesquisadas e em uma dessas cinco fazendas não encontraram nenhuma ave com infecção por *Blastocystis*.

No estudo de Stenzel et al. (1997), os frangos estavam dispostos em gaiolas com duas ou três aves, diferentemente do que ocorria no presente trabalho, onde as aves eram acondicionadas em gaiolas com grande densidade populacional.

As condições sanitárias das gaiolas onde eram comercializadas as aves também possivelmente poderiam auxiliar nessa transmissão, pois uma das rotas de infecção de *Blastocystis* sp. é a fecal-oral, modo similar de vários protozoários gastrintestinais. Associando-se ao fato de que as instalações dos animais nos mercados não apresentavam condições higiênico-sanitárias de boa qualidade, não se deve descartar a hipótese de contaminação no local de comercialização e conseqüentemente podendo infectar aves da mesma espécie ou de espécies diferentes, assim como também para outras espécies de animais que são comercializados nesses mesmos ambientes.

Lee e Stenzel (1999) apontam, como muito boa, as condições sanitárias das instalações onde nenhuma das aves pesquisadas apresentou infecção. Nessas instalações o piso e os equipamentos eram regularmente lavados para a remoção de fezes, os comedouros encontravam-se constantemente limpos e a temperatura ambiente apropriada para a criação. Tais condições de higiene inibiriam a contaminação do ambiente e, subseqüentemente, a

transmissão de organismos fecais. Essas condições descritas pelos autores acima não foram observadas no presente trabalho.

Tanizaki et al. (2005) relatam que *Blastocystis* sp. é passível de transmissão para hospedeiro de uma mesma espécie e de espécies diferentes convivendo em ambientes similares. Nesse trabalho a alta densidade de animais por gaiolas e a proximidade das mesmas poderia favorecer a disseminação de *Blastocystis* sp. para várias espécies de animais que comumente são comercializados nesses ambientes.

#### 4.2 Ocorrência Da Infecção Natural Por *Blastocystis* sp. Em Patos (*Anas platyrhynchos*) Dos Mercados Municipais

Das 35 aves provenientes do mercado municipal A, 13 (37,14%) apresentaram formas biológicas de *Blastocystis* nas fezes, enquanto que dos 38 animais provenientes do mercado municipal B, 21 (55,26%) apresentavam tais formas em suas fezes.

Neste caso, como ocorreu com os pintos, mesmo havendo um número maior de animais positivos no mercado B, os resultados apresentados apontam que não houve uma diferença estatisticamente significativa ( $p=0,121$ ) entre os dois mercados pesquisados conforme observado na tabela 2.

**Tabela 2** – Ocorrência de *Blastocystis* sp. em patos (*Anas platyrhynchos*) provenientes de dois mercados municipais do Rio de Janeiro.

Mercado	Animais Positivos (infectados / examinados)	Animais Positivos (%)	*p
A	13 / 35	37,14	0,121
B	21 / 38	55,26	

\* Não Significativo pelo teste Qui-quadrado

Tanizaki et al. (2005) estudando a infectividade de isolados de *Blastocystis* de patos, pintos e codornas, relataram que a transmissão de *Blastocystis* ocorre facilmente entre aves de mesma espécie ou de espécies diferentes, não havendo especificidade por hospedeiros e que esses isolados também apresentaram a transmissão por via fecal-oral.

Os valores encontrados nos dois mercados municipais são muito semelhantes aos que Abe et al. (2002) encontraram em patos pertencentes ao zoológico da cidade de Osaka, no Japão, onde essa taxa de infecção foi da ordem de 56 %.

Mais uma vez o local dos alojamentos dos patos nesses mercados onde são comercializados, que são similares para todos os animais que neles são alojados, não apresentavam condições adequadas, possivelmente propiciando facilidade na contaminação entre animais da mesma espécie e de espécies diferentes.

#### 4.3 Ocorrência Da Infecção Natural Por *Blastocystis* sp. Em Codornas (*Coturnix japonica*) Dos Mercados Municipais

Dentre os 35 animais provenientes do mercado A, 15 (42,85%) apresentaram formas biológicas de *Blastocystis* nas fezes, enquanto que dos 36 animais provenientes do mercado

B, apenas 2 (5,56%) apresentaram positividade nos exames coproparasitológicos, como podemos visualizar na tabela 3.

**Tabela 3** – Ocorrência de *Blastocystis* sp. em codornas (*Coturnix japonica*) provenientes de dois mercados municipais do Rio de Janeiro.

Mercado	Animais Positivos (infectados / examinados)	Animais Positivos (%)	*p
A	15 / 35	42,85	< 0,001
B	2 / 36	5,56	

\* Significativo pelo teste Qui-quadrado

Do mesmo modo que em pintos e patos, a transmissão em codornas também é de fácil ocorrência entre estas e outras aves domésticas (TANIZAKI et al., 2005). Porém o fato de apenas duas das codornas pesquisadas do mercado municipal B terem apresentado infecção por *Blastocystis* sp. pode ser entendido pela diferença de idade em que essas aves são comercializadas em relação aos pintos e patos.

Geralmente, as codornas são comercializadas após 30 dias de idade por apresentarem alta mortalidade em idade menor. Essas aves são muito sensíveis quando jovens, ficando susceptíveis a vários agentes patogênicos onde se tem um índice de mortalidade alto. Na faixa de 30 dias de idade esses animais também já estão na fase de postura de ovos facilitando a sua comercialização.

Já pintos e patos são comercializados com, no máximo, uma semana de idade, e possivelmente são mais suscetíveis a várias infecções, dentre estas *Blastocystis* sp., mas a mortalidade desses animais é menor comparando-se com as codornas.

Tanizaki et al. (2005) em seu estudo de infectividade em patos, pintos e codornas, trabalharam com aves de uma semana de idade.

O fato das codornas serem comercializadas com 30 dias de idade, imunologicamente já estariam preparadas e capazes de combater várias infecções, dentre estas *Blastocystis*.

O que pode ter ocorrido também, é que as codornas poderiam ter adquirido a infecção no local de origem de suas criações e, na época da comercialização, já não estarem mais eliminando formas de *Blastocystis* nas fezes. Desse modo, as codornas do mercado municipal B poderiam estar passando por esse período, enquanto que as do mercado municipal A não.

Essas codornas também poderiam estar sendo comercializadas com idades diferentes nos dois mercados estudados, no mercado A poderiam estar com idade abaixo de 30 dias ao serem comercializadas, enquanto que as do mercado B poderiam estar sendo comercializadas aproximadamente com 30 dias idade ou mais, sendo desta forma, mais resistentes à infecções.

#### **4.4 Verificação Geral Da Ocorrência Da Infecção Natural De *Blastocystis* sp. Entre Patos, Pintos e Codornas Pesquisados Nos Dois Mercados Municipais.**

Dentre as 214 aves pesquisadas nos dois mercados municipais do Rio de Janeiro, 74 (34,6%) apresentaram formas biológicas de *Blastocystis* sp. nas fezes, nas quais 34 (15,9%) foram de patos, 23 (10,7%) foram de pintos e 17 (7,9%) de codornas (Tabela 4).

**Tabela 4** – Ocorrência de *Blastocystis* sp. em patos, pintos e codornas comercializados nos mercados municipais do Rio de Janeiro.

<b>Aves</b>	<b>Animais Positivos (n=214)</b>	<b>Animais Positivos (%) (n=214)</b>	<b>*p</b>
Patos	34	15,90	a
Pintos	23	10,70	a b
Codornas	17	7,90	b
<b>Total</b>	<b>74</b>	<b>34,60</b>	

\*p – Teste Qui-quadrado, onde letras iguais indicam que não houve diferença significativa.

Através dos resultados obtidos, verificamos que não houve diferença estatisticamente significativa de infecção entre patos e pintos e nem entre pintos e codornas, porém essa diferença ocorreu entre patos e codornas.

Com relação aos dados obtidos da infecção das três espécies de aves comercializadas nos dois mercados municipais, podemos sugerir que os patos são mais sensíveis à infecção por *Blastocystis*, visto que pintos e codornas também são comercializados com idades diferentes e não houve diferença entre eles. Ressaltando que codornas e pintos pertencem a ordem Galliformes e patos a Anseriformes, estes poderiam também possuir resposta imunológica diferentes por pertencerem a ordens distintas.

Em relação às aves positivas pesquisadas nos dois mercados municipais, 36 (34,3%) eram do mercado municipal A e 38 (34,9%) eram do mercado municipal B (Tabela 5).

**Tabela 5** – Ocorrência de *Blastocystis* sp. em aves comercializadas nos dois mercados municipais do Rio de Janeiro.

<b>Mercado</b>	<b>Animais Positivos (infectados / examinados)</b>	<b>Animais Positivos (%) (n=90)</b>	<b>*p</b>
A	36 /105	34,3	0,92
B	38 /109	34,9	

\*Não significativo pelo Teste Qui-quadrado

Com esses resultados, verificamos que não houve diferença estatisticamente significativa ( $p=0,92$ ) em relação à infecção de *Blastocystis* sp., independentemente da espécie de ave analisada entre os mercados municipais. Podemos, deste modo, entender que os mercados não têm uma grande influência nas taxas de infecção dessas aves comercializadas, já que as condições higiênico-sanitárias desses ambientes são similares.

Como nesses mercados também há a comercialização vários tipos de produtos alimentares, associado ao fato de que a infecção de *Blastocystis* sp. ocorre pela rota fecal-oral, a contaminação nesses ambientes de comercialização de aves seria possível ocorrer, tanto para alimentos destinados a humanos quanto para animais, constituindo, desta forma, um risco não só para a população humana, como também para aqueles consumidores que adquirem os animais levando-os para seus domicílios. Mas também não se deve descartar a hipótese de contaminação para outras espécies de animais que são comercializados vivos nesses ambientes assim como também para outras espécies de animais que estejam sendo criadas em domicílio.

Mesmo ainda existindo controvérsias e incertezas em relação à *Blastocystis* quanto a sua patogenicidade e ao seu papel como um agente zoonótico, seria prudente que se atentasse para uma melhor forma de alojar, manter e comercializar esses animais nesses mercados, pois sabe que estes possuem outros patógenos com potencial zoonótico, como exemplo *Cryptosporidium* (GOMES, 2006) que apresenta a mesma via de infecção de *Blastocystis* sp.

O simples hábito dos comerciantes de animais desses mercados observarem freqüentemente o comportamento dos animais alojados, tais como, letargia, falta de apetite e fadiga, separando-os após os primeiros sinais, poderia ser uma medida que preveniria a infecção para outras aves, pois esses sinais foram observados por Stenzel e Boraham (1996) e Moe et al. (1997) em aves infectadas por *Blastocystis*.

Outro importante aspecto a ser observado é a consistência das fezes apresentadas pelas aves. No presente trabalho, grande parte das amostras fecais positivas para *Blastocystis* apresentava fezes pastosas, muco-pastosa, diarréicas e, às vezes, de coloração sanguinolenta com muco. Não é possível fazer uma correlação entre o aspecto das fezes e a presença de infecção por *Blastocystis*, pois, segundo Tan (2004) é difícil descrever os sinais clínicos de *Blastocystis* isoladamente como uma causa real da doença. Por outro lado, vários autores mencionam a ocorrência de fezes pastosas e diarréicas na infecção por *Blastocystis*. Quilez et al. (1995) relataram fezes pastosas em suínos; Stenzel e Boreham (1996) diarréicas em humanos e Moe et al. (1997) pastosas em ratos de laboratório. Portanto, evitando a aquisição ou separando aves sintomáticas das aparentemente assintomáticas, evitaria a disseminação de formas infectantes desse organismo.

Um outro hábito dos comerciantes que poderia auxiliar, tanto em relação aos animais quanto à população que se utiliza desses mercados, já que a movimentação é intensa, é a higienização dos locais onde os animais são alojados. Manter as gaiolas sempre livres de fezes, comedouros e bebedouros limpos, estes providos de água fresca e limpa, além de uma boa ventilação nesses ambientes, ajudaria para a manutenção dos animais sadios. Esse tipo de prática não só ajudaria a impedir a disseminação de *Blastocystis*, mas também outros patógenos.

Lee e Stenzel (1999) apontaram o alto padrão das condições higiênico-sanitárias, como piso, utensílios e equipamentos regularmente lavados, remoção de fezes e os locais dos comedouros e bebedouros bem limpos e livres de resto de excrementos, como possíveis inibidores da contaminação ambiental na transmissão fecal-oral da infecção por *Blastocystis* em frangos. Na propriedade estudada pelos autores, o padrão higiênico-sanitário foi considerado ótimo e nenhuma das aves pesquisadas apresentou positividade para *Blastocystis*.

Segundo Tanizaki et al. (2005) a transmissão de *Blastocystis* acontece facilmente entre uma mesma espécie ou entre espécies diferentes de aves. Além disso, em seu estudo, foi observado que com a introdução de um frango não infectado e criado juntamente com outros parasitados, este foi capaz de desenvolver a infecção.

## 4.5 Caracterização Morfológica De *Blastocystis* sp.

### 4.5.1 Morfometria de *Blastocystis* sp.

Das formas biológicas de *Blastocystis* sp. encontradas em esfregaços fecais de aves corado pelo Giemsa, foram observadas seis formas: vacuolar, granular, amebóide, cística, avacuolar e multivacuolar, sendo estas assinaladas por vários autores.

A forma mais comumente observada foi a vacuolar, que se apresenta de forma arredondada, contendo corpo central, que se assemelha a um grande vacúolo, ocupando, aproximadamente, 90% do volume celular, com uma fina camada de citoplasma periférico, onde podem ser observadas estruturas semelhantes à organelas que, segundo Tan (2004) são mitocôndrias e complexo de Golgi. Porém essas estruturas só são bem visualizadas em microscopia eletrônica de transmissão. Nessa fina camada de citoplasma também podem ser observados os núcleos periféricos, que foram visualizados em número de até sete por célula, porém numa média de dois núcleos por células dispostos em pólos opostos. Na figura 1, encontram-se imagens dessa forma. As medidas das formas vacuolares de *Blastocystis* estão descritas na tabela 6.

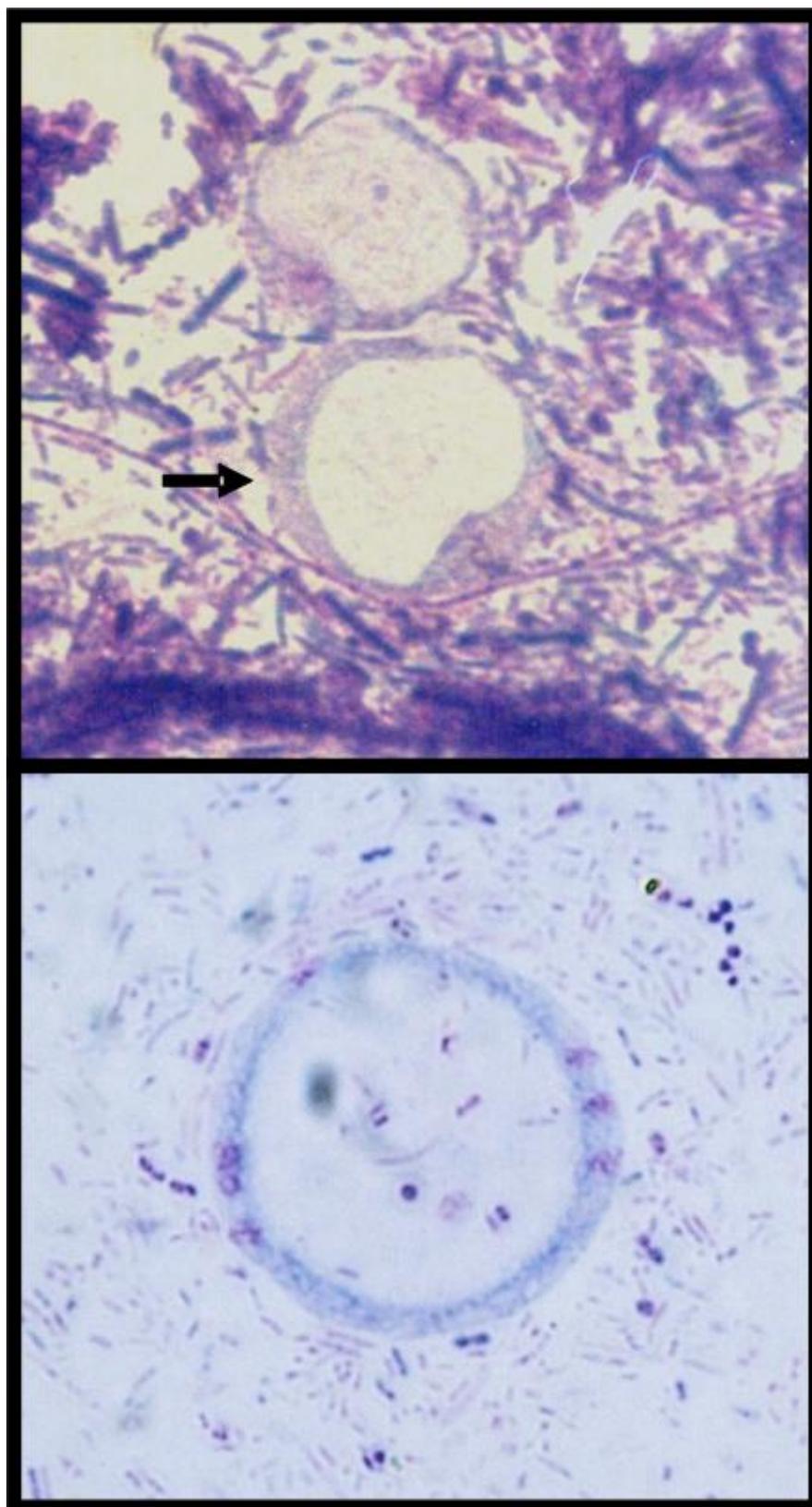
**Tabela 6** – Dados morfométricos (média e desvio padrão) das formas vacuolares (n=100) de *Blastocystis* sp. em aves comercializadas em dois mercados municipais do Rio de Janeiro.

Medidas (n=100)	Tamanho ( $\mu\text{m}$ )	Número de Núcleos
Diâmetro Maior	20,3 $\pm$ 4,2	
Diâmetro Menor	18,3 $\pm$ 3,9	1 a 7
Índice Morfométrico	1,11 $\pm$ 0,02	

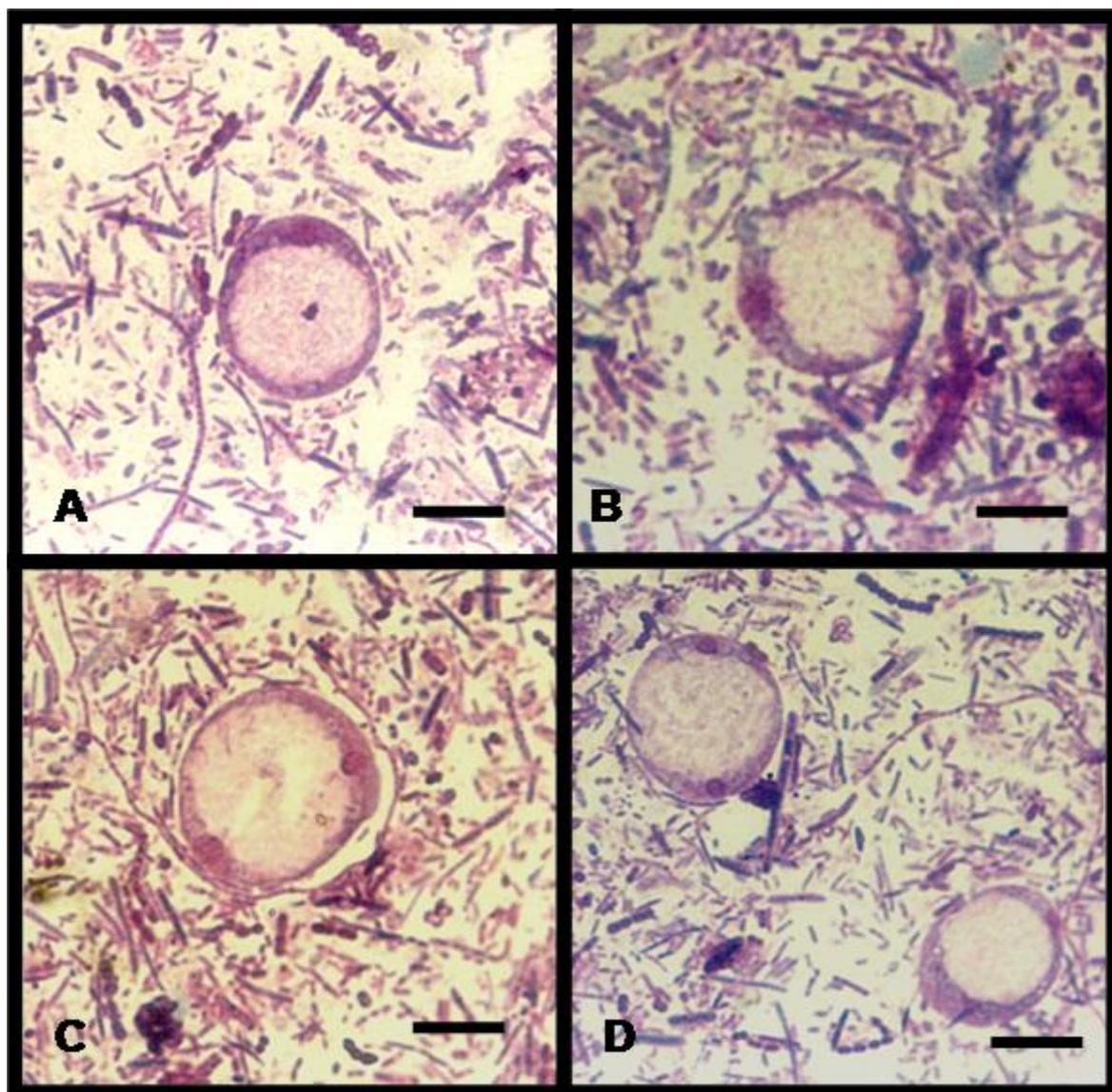
Os dados morfométricos apresentados são condizentes com àqueles descritos por Lee e Stenzel (1999) num estudo em frangos domésticos. As medidas das formas vacuolares de *Blastocystis* sp. foram bastante variadas, com uma medida mínima de 10,9 $\mu\text{m}$  e a máxima de 32,1 $\mu\text{m}$ , considerando esses valores como sendo do diâmetro maior das células mensuradas. Porém não foram encontrados na literatura dados referentes ao índice morfométrico das células de *Blastocystis* sp. A forma granular de *Blastocystis* sp. é muito semelhante à forma vacuolar, sendo que elas apresentam vários grânulos, em sua maioria no vacúolo central. Dunn et al. (1989) propuseram que essas estruturas poderiam ser inclusões semelhantes à mielina, pequenas vesículas, grânulos cristalinos e gotículas lipídicas.

Conforme observado na forma vacuolar, também encontramos mais de um núcleo em seu restrito citoplasma, que no máximo pode conter até quatro. Na figura 2 encontram-se algumas formas granulares. As medidas estão representadas na tabela 7.

As formas granulares de *Blastocystis* sp. se apresentaram ligeiramente menores que as formas vacuolares, porém semelhantes às relatadas por Stenzel e Boreham (1996).



**Figura 1** – Esfregaço de fezes coradas pelo Giemsa, forma vacuolar de *Blastocystis* sp.:  
A – Presença de um vacúolo central (→), B – Apresentando sete núcleos em seu citoplasma  
(— = 10  $\mu$ m).



**Figura 2** – Esfregaço de fezes coradas pelo Giemsa, forma granular de *Blastocystis* sp. possuindo citoplasma com algumas inclusões: A – B, com um único núcleo, C – D com mais de um núcleo (— = 10  $\mu$ m).

**Tabela 7** – Dados morfométricos (média e desvio padrão) das formas granulares (n=100) de *Blastocystis* sp. em aves comercializadas em dois mercados municipais do Rio de Janeiro.

<b>Medidas (n=100)</b>	<b>Tamanho (µm)</b>	<b>Número de Núcleos</b>
Diâmetro Maior	16,9 ± 4,1	
Diâmetro Menor	15,3 ± 3,9	1 a 4
Índice Morfométrico	1,11 ± 0,03	

O tamanho das células variou entre 9,0 e 28,3 µm, sendo que estes valores se referem ao diâmetro maior das células mensuradas. As células apresentaram de um a quatro núcleos sendo uma média de dois núcleos por célula.

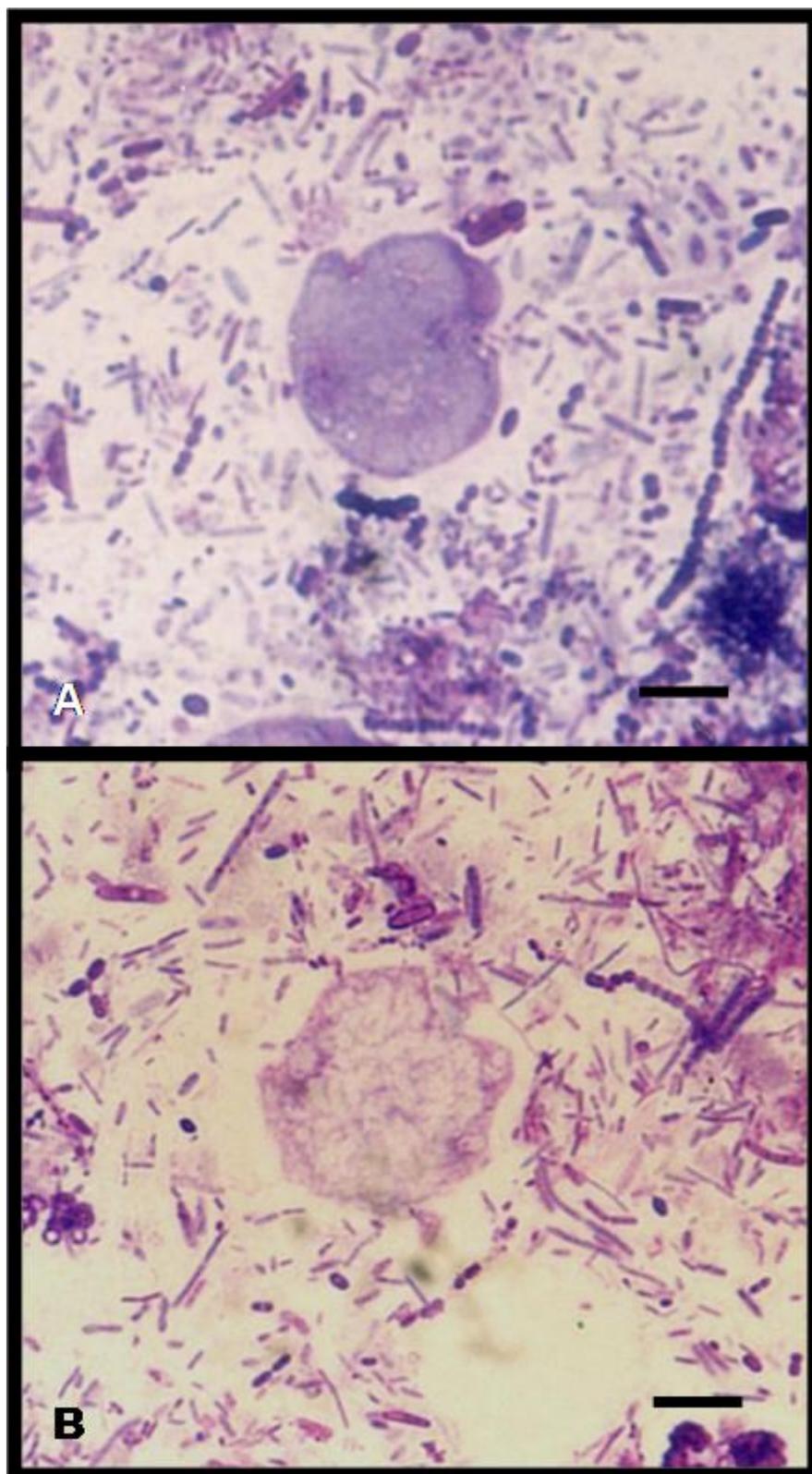
Algumas dessas células da forma granular apresentaram uma quantidade maior ou menor de grânulos em seu interior e possivelmente essa quantidade seria responsável pela variação de coloração observada, o que pode ser explicado por uma afinidade maior ou menor ao corante utilizado nesse estudo.

Assim como a forma vacuolar, a granular também estava presente em grande número no material preparado para a análise, sendo também muito comum em amostras fecais frescas. Essas duas formas de *Blastocystis* sp. são bem fáceis de serem visualizadas e caracterizadas em esfregaço corado de material fecal fresco, sendo um bom parâmetro para apontar a positividade do material examinado.

A forma amebóide presente em material fecal corado nesse estudo foi encontrada em pequena quantidade. Eram formas que se apresentavam com bordas irregulares, muitas das vezes assemelhando-se a prolongamentos parecidos com pseudópodes e não possuíam o vacúolo central característico. Na figura 3 encontram-se imagens da forma amebóide. As medidas das células amebóides de *Blastocystis* estão descritas na tabela 8.

**Tabela 8** – Dados morfométricos (média e desvio padrão) das formas amebóides (n=17) de *Blastocystis* sp. em aves comercializadas nos mercados municipais do Rio de Janeiro.

<b>Tamanho Médio (µm)</b>	22,0 ± 7,7
<b>Tamanho Máximo (µm)</b>	45,5
<b>Tamanho Mínimo (µm)</b>	13,4
<b>Número de Núcleos</b>	1 a 4



**Figura 3** – Esfregaço de fezes coradas pelo Giemsa, forma amebóide de *Blastocystis* sp.: A - B possuindo projeções semelhantes à pseudópodes que são emitidas do seu citoplasma (— = 10  $\mu$ m).

O tamanho médio da forma amebóide foi de 22  $\mu\text{m}$  com medidas que variaram de 13,4  $\mu\text{m}$  a 45,5  $\mu\text{m}$ . Esses valores são semelhantes àqueles encontrados por Tan e Suresh (2006), que encontraram medidas que variaram de 5 a 50  $\mu\text{m}$ .

Em relação à forma amebóide de *Blastocystis*, ainda há muito relato conflitante e confuso sobre a sua caracterização morfológica. Dunn et al. (1989) relataram células de 2.6 a 7.8  $\mu\text{m}$  de diâmetro, de forma irregular, com ausência de um vacúolo central e apresentando pseudópodes extendidos. Já Tan e Zierdt (1973) relataram células amebóides como ovais, contendo um ou dois grandes pseudópodes e também um grande vacúolo central.

A forma cística de *Blastocystis* encontrada no material fecal corado apresentou-se geralmente grupadas, mas também foram observadas isoladamente. Cistos quando agrupados apresentavam-se envolvidos por uma membrana ou vestígio da mesma. Zaman et al. (1999) observaram que os cistos poderiam estar envolvidos por uma camada fibrilar que poderia aparecer intacta ou fragmentada. Segundo Stenzel et al. (1997) após observarem cistos isolados de fezes de frangos domésticos, utilizando a microscopia eletrônica de transmissão, concluíram ser constituída por uma camada fibrilar. Nesse estudo foi observada a presença de um a quatro núcleos dentro dos cistos.

No presente trabalho, os cistos foram caracterizados por apresentarem-se de aspecto arredondados a ovóides, com uma boa afinidade tintorial pelo Giemsa e apresentavam em seu interior estruturas semelhantes núcleos, que variaram, em média, de um a dois. Na figura 4 podemos observar os cistos. Os dados morfométricos das formas císticas são apresentados na tabela 9.

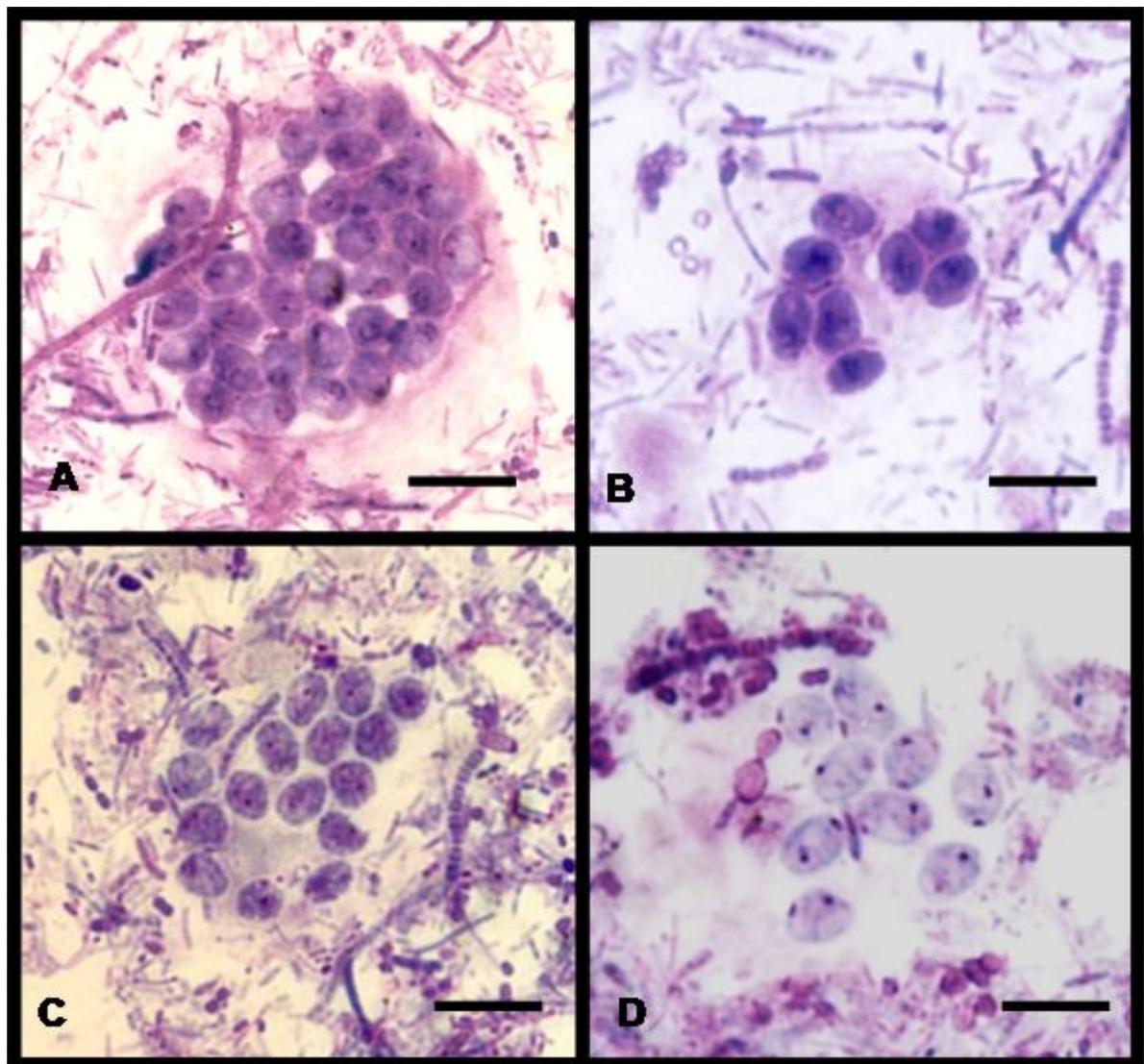
**Tabela 9** – Dados morfométricos (média e desvio padrão) das formas císticas (n=200) de *Blastocystis* sp. em aves comercializadas nos mercados municipais do Rio de Janeiro.

<b>Tamanho Médio (<math>\mu\text{m}</math>)</b>	4,2 $\pm$ 0,5
<b>Tamanho Máximo (<math>\mu\text{m}</math>)</b>	5,5
<b>Tamanho Mínimo (<math>\mu\text{m}</math>)</b>	2,1
<b>Índice morfométrico</b>	1,4 $\pm$ 0,03
<b>Número de Núcleos</b>	1 a 4

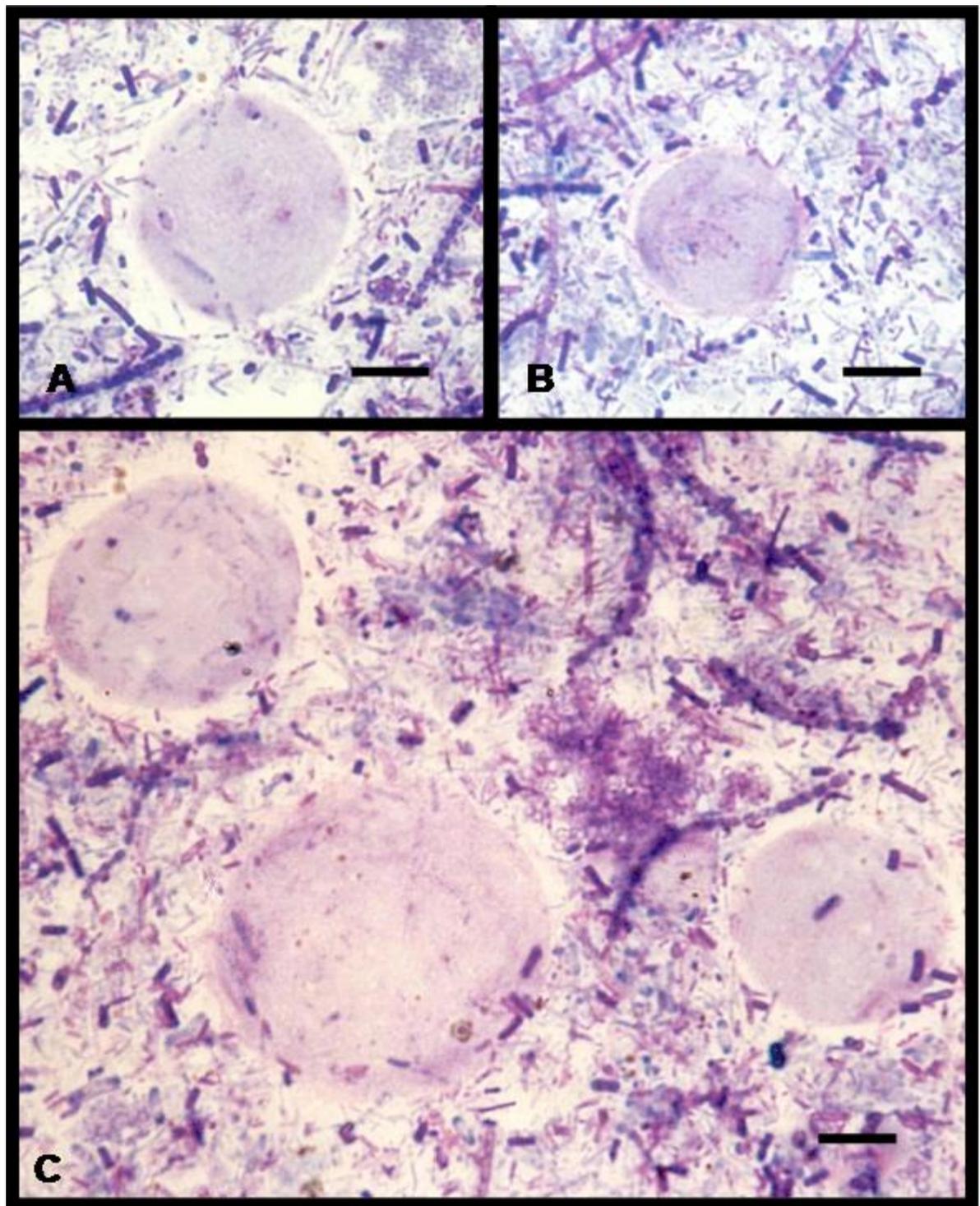
As medidas das formas císticas de *Blastocystis* variaram de 2,1  $\mu\text{m}$  a 5,5  $\mu\text{m}$ , o que vai de encontro às medidas descritas por Stenzel e Boreham (1996).

As formas avacuolar e a multivacuolar também foram encontradas, porém em pouquíssima quantidade.

A forma avacuolar apresentou-se arredondada sem a presença de um vacúolo central, com estruturas semelhantes a núcleos e parecia possuir algumas inclusões citoplasmáticas, as mesmas citadas para as formas granulares. Na figura 5 observamos essa forma. Porém Stenzel e Boreham (1996) relatam essas células avacuolares em material fresco de humanos como



**Figura 4** – Esfregaço de fezes coradas pelo Giemsa, formas císticas de *Blastocystis* sp.: A – observa-se nitidamente uma camada fibrilar envolvendo os cistos que contém núcleos, B e C – possuindo vestígios de camada fibrilar e cistos contendo núcleos, D – cistos dispersos em fezes, contendo núcleos e alguns “vacúolos” podem ser observados em seu interior(= 10  $\mu$ m).



**Figura 5** – Esfregaço de fezes coradas pelo Giemsa, forma avacuolar de *Blastocystis* sp.: A, B e C – Formas possuindo tamanhos variados e sem a presença de vacúolos em seu citoplasma (— = 10  $\mu$ m).

tendo um tamanho médio de 5 a 8  $\mu\text{m}$  e no presente estudo apresentaram média de 21  $\mu\text{m}$  com células que variaram de 13 a 29,8  $\mu\text{m}$  como apresentado na tabela 10.

**Tabela 10** – Dados morfométricos (média e desvio padrão) das formas avacuolares (n=60) de *Blastocystis* sp. em aves comercializadas em dois mercados municipais do Rio de Janeiro.

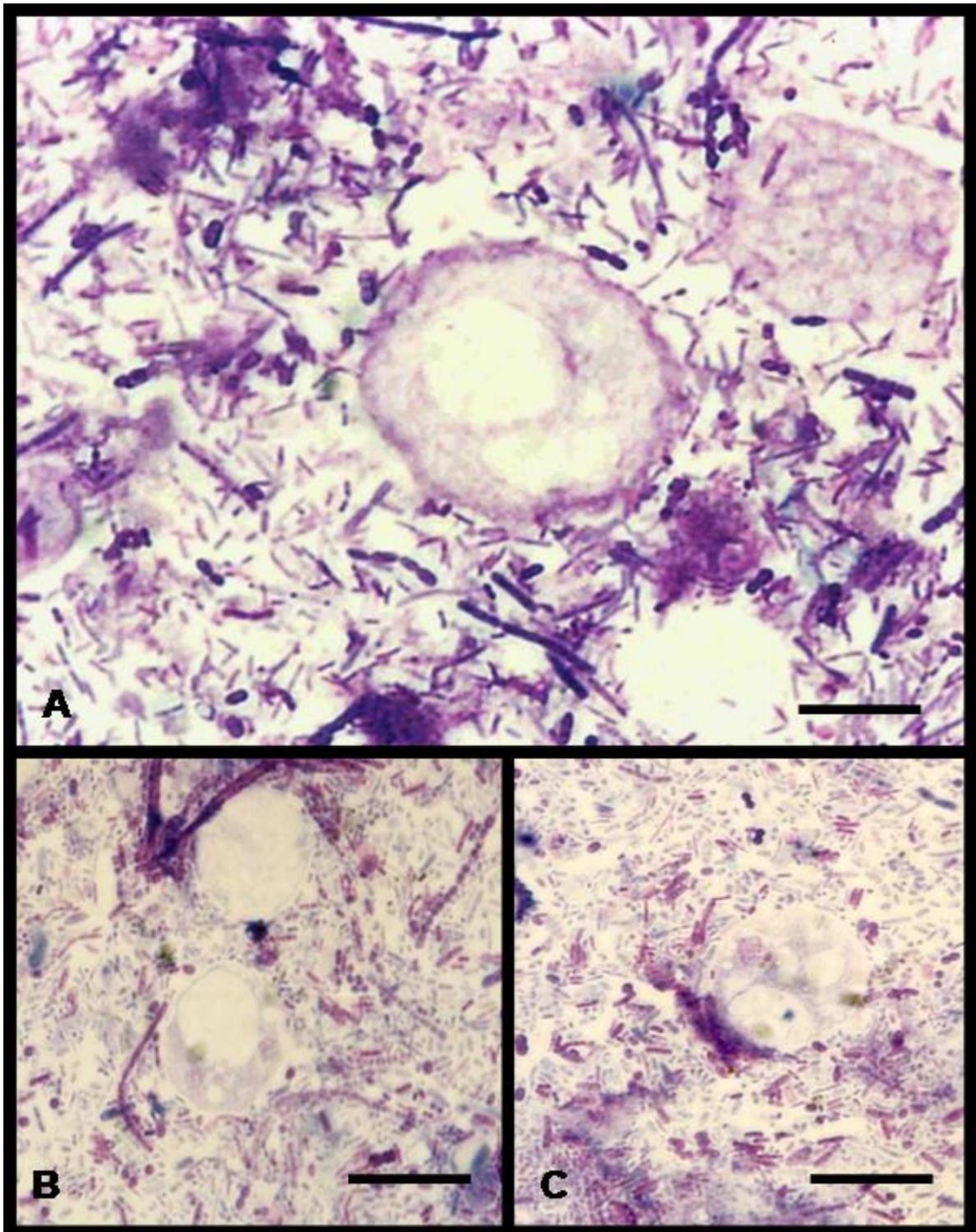
<b>Medidas (n=60)</b>	<b>Tamanho (<math>\mu\text{m}</math>)</b>	<b>Número de Núcleos</b>
Diâmetro Maior	21,0 $\pm$ 4,3	
Diâmetro Menor	18,4 $\pm$ 4,1	1 a 4
Índice Morfométrico	1,1 $\pm$ 0,04	

Já a forma multivacuolar aparentemente possuía várias vesículas internas que se assemelhavam a pequenos vacúolos. Continham estruturas semelhantes à núcleos e também possuíam estruturas internas que poderiam ser diversas organelas presente nas células. Na figura 6 observamos imagens dessa forma.

As medidas apresentadas das células multivacuolares (Tabela 11) não são semelhantes àquelas relatadas por Stenzel e Boreham (1996) que descrevem essas células como sendo menores que as típicas formas vacuolares encontradas em material fecal de humanos e se apresentaram com uma média de 5 a 8  $\mu\text{m}$  de diâmetro.

**Tabela 11** – Dados morfométricos (média e desvio padrão) das formas multivacuolares (n=25) de *Blastocystis* sp. em aves comercializadas nos mercados municipais do Rio de Janeiro.

<b>Tamanho Médio (<math>\mu\text{m}</math>)</b>	28,2 $\pm$ 3,1
<b>Tamanho Máximo (<math>\mu\text{m}</math>)</b>	34,3
<b>Tamanho Mínimo (<math>\mu\text{m}</math>)</b>	22,8
<b>Número de Núcleos</b>	1 a 2



**Figura 6** – Esfregaço de fezes coradas pelo Giemsa, forma multivacuolar de *Blastocystis* sp.: A, B e C – Formas possuindo tamanhos variados com a presença de vários vacúolos em seus citoplasmas (— = 10  $\mu$ m).

Devemos considerar as diferenças das medidas das células avacuolares e multivacuolares, pois os isolados estudados no presente trabalho referem-se à material obtido de fezes de aves domésticas e os autores citados acima referem-se a material obtido de humanos. Para tais esclarecimentos, seriam necessários maiores estudos em relação à morfologia das formas biológicas de *Blastocystis* em diferentes hospedeiros.

Stenzel e Boreham (1996) sugerem que esta forma multivacuolar pode ser uma forma intermediária do estágio de desenvolvimento para a forma cística que sofre essa diferenciação dentro da forma vacuolar. Porém como há um número muito reduzido de estudos que relatem esse tipo de forma, são necessários futuros estudos para tal confirmação.

#### **4.5.2 Formas reprodutivas de *Blastocystis* sp.**

Em relação às formas reprodutivas de *Blastocystis* sp. encontradas no presente estudo, estas estão de acordo com as formas descritas no trabalho de Zhang et al. (2007) no qual descreveram cinco formas reprodutivas, sendo elas: divisão binária, endodiogenia, brotamento, plasmatomia, e esquizogonia.

A forma reprodutiva mais comumente observada no presente trabalho foi a reprodução por divisão binária. A divisão é caracterizada pela partição do citoplasma de uma célula mãe originando duas células filhas de igual forma e tamanho.

Nessa forma reprodutiva nota-se que o citoplasma se comprime para o centro da célula e há um aumento nas duas extremidades da célula mãe, até que ela se rompe dando origem a duas células. A figura 7 apresenta a caracterização dessa reprodução.

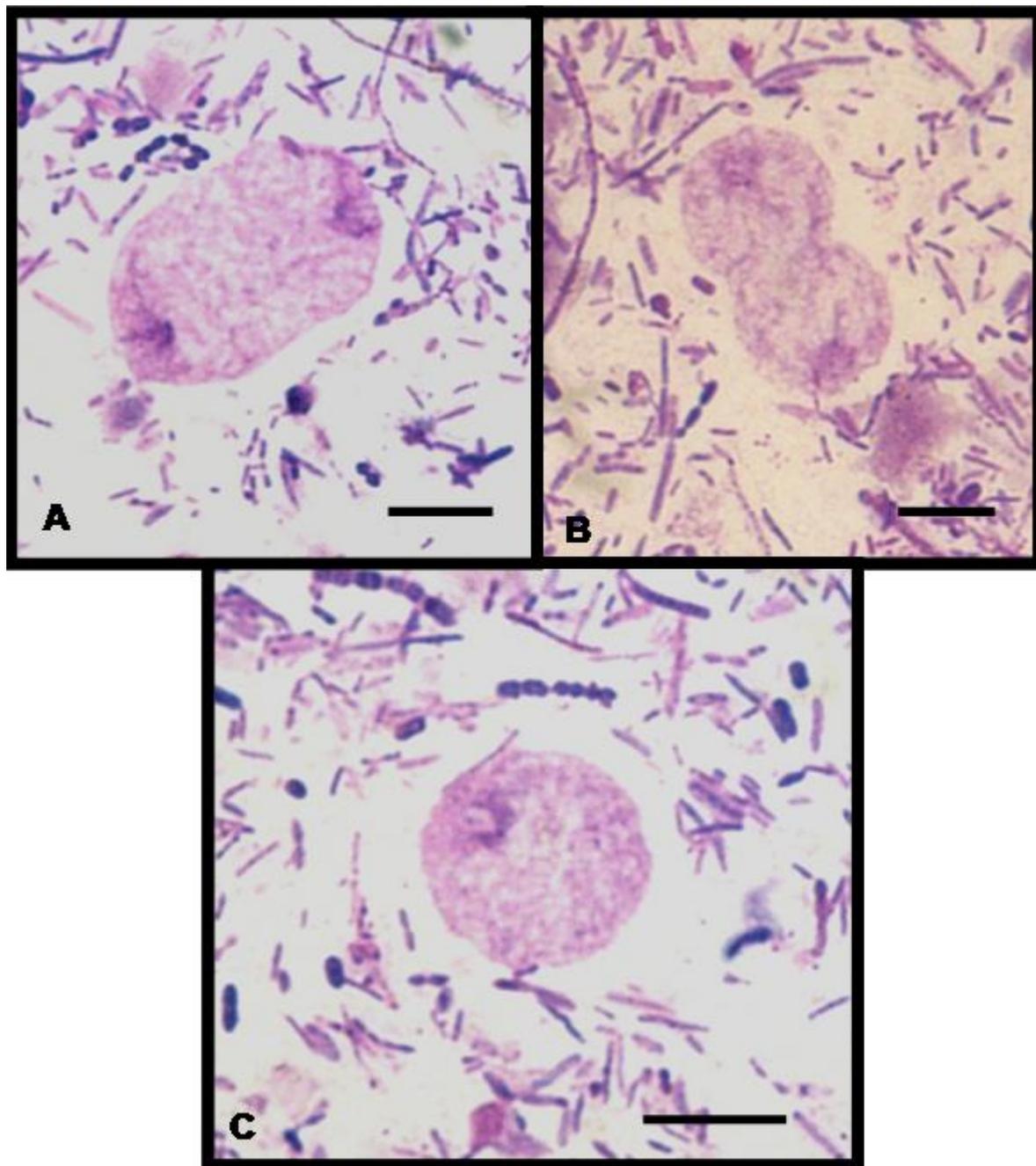
Outra forma reprodutiva observada foi a reprodução por endodiogenia. Esta forma se assemelha com a divisão binária, sendo que ocorre no interior da célula, onde o vacúolo central da célula mãe se divide em dois pequenos vacúolos no qual se originam duas células filhas. Na figura 8 podemos observar esse tipo de reprodução.

A outra forma reprodutiva observada em material fecal foi a reprodução por brotamento. Nesse tipo de reprodução, a célula mãe aumenta formado em um dos lados uma nova célula filha de tamanho menor. Às vezes essa célula mãe pode dar origem a duas ou até três células filhas, sendo sempre de menor tamanho que a célula que a originou. Na figura 9 encontramos esse tipo de reprodução.

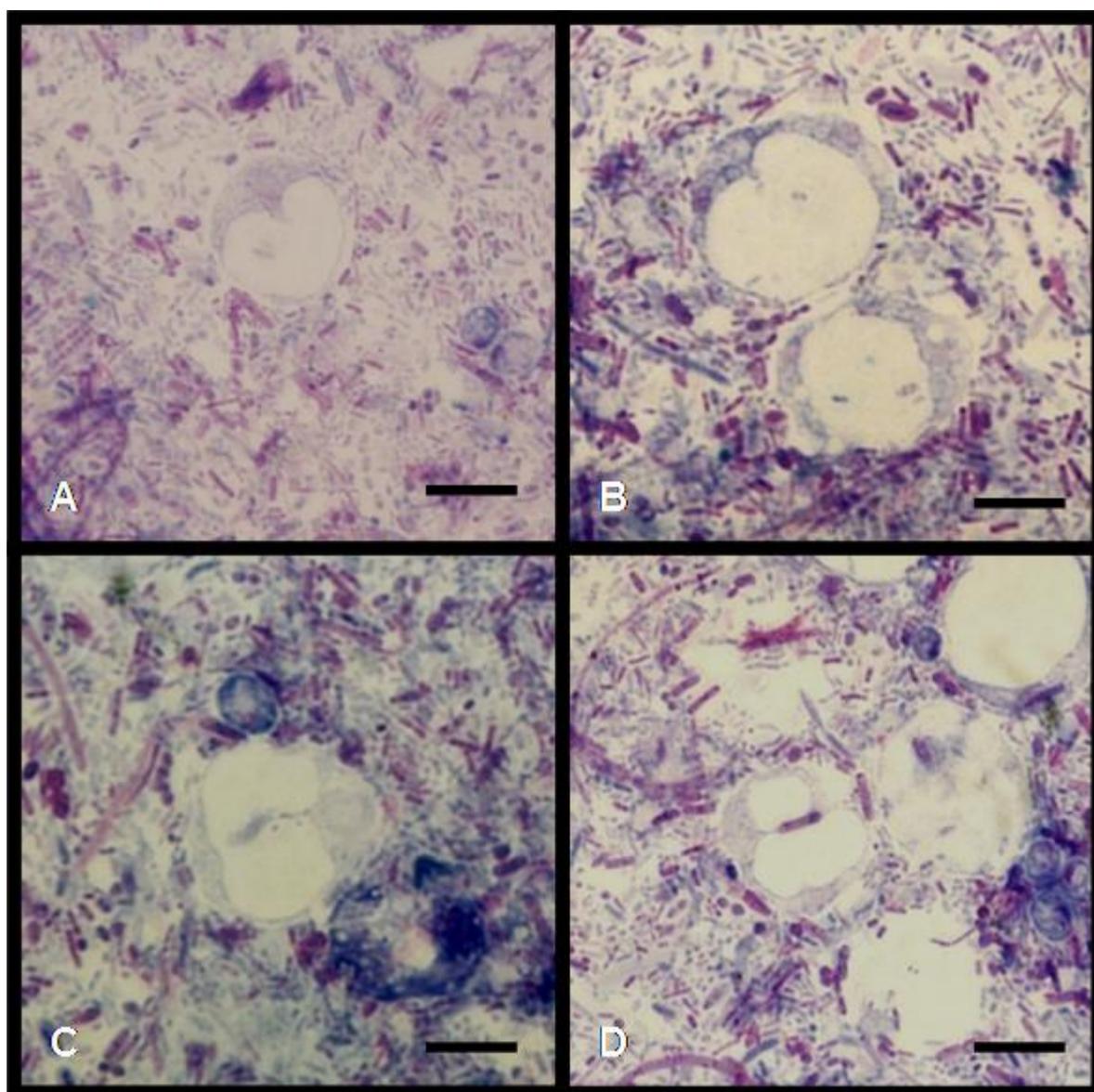
A plasmatomia é uma outra forma reprodutiva, mas foi considerada de rara observação no presente estudo em material fecal corado. Zhang et al. (2007) conseguiram observar esta forma somente em cultura *in vitro*. A plasmatomia se caracteriza pelo prolongamento da membrana citoplasmática e da superfície da célula, onde esta continua seu crescimento. A célula filha vai se formando a partir da extensão citoplasmática e da superfície da célula mãe. (figura 10).

A esquizogonia, uma outra forma reprodutiva, foi observada por Zhang et al. (2007) em meio de cultivo. Os autores caracterizaram esta forma reprodutiva como sendo uma célula bem maior que uma célula de forma vacuolar e granular. Dentro dessa célula maior observaram várias células menores com formato aparentemente vacuolar e que possuíam estruturas semelhantes à núcleos e também outras inclusões citoplasmáticas semelhantes às observadas nas células de forma granular.

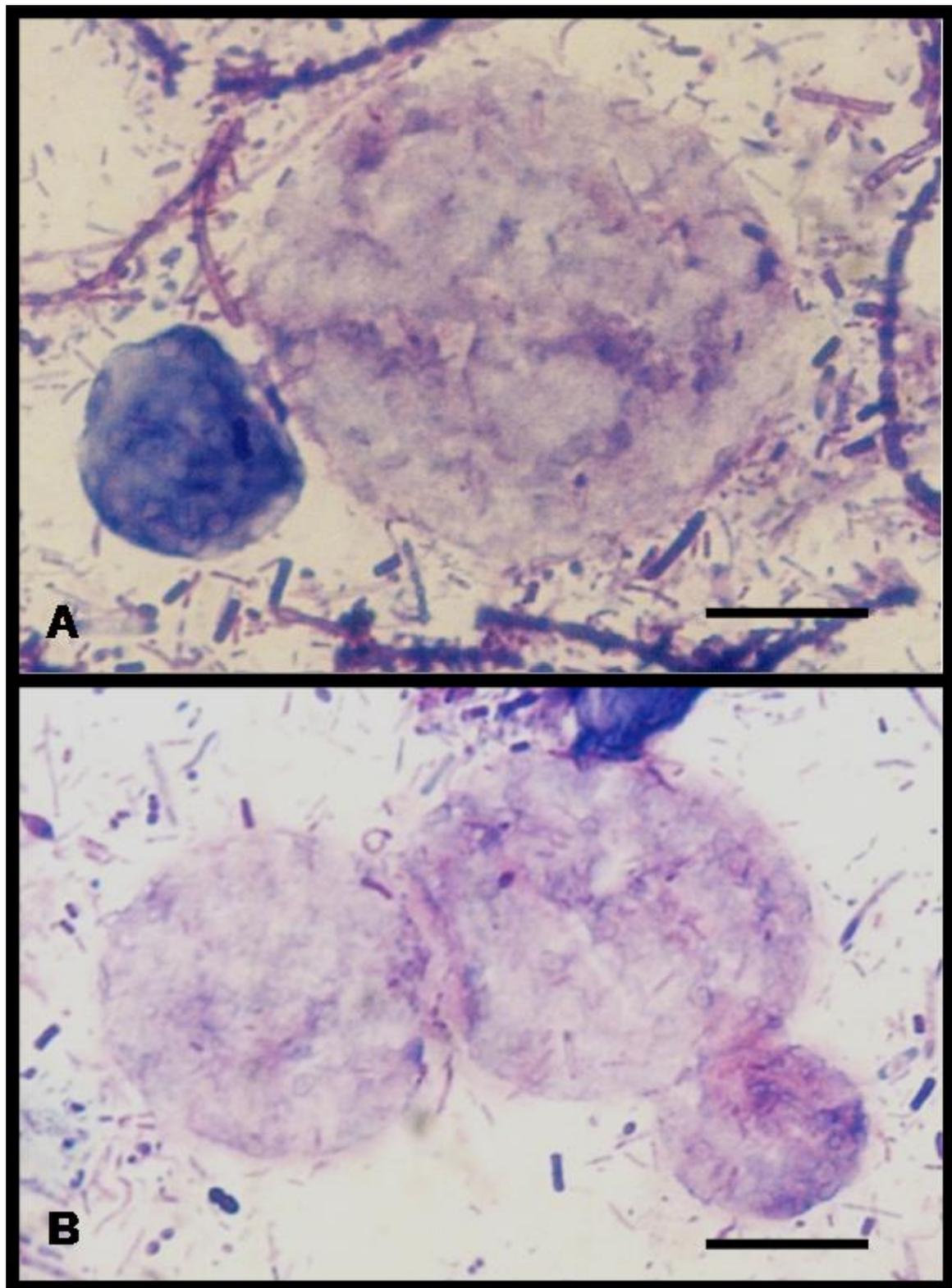
Tan et al. (2002) alertam para o fato de poder haver confusão em relação à reprodução por esquizogonia, pois essas células podem ser confundidas com a forma multivacuolar. Os múltiplos vacúolos presentes nessa forma de *Blastocystis* podem ser confundidos com a progênie das células em reprodução por esquizogonia. Futuros estudos seriam necessário para elucidar esse fato.



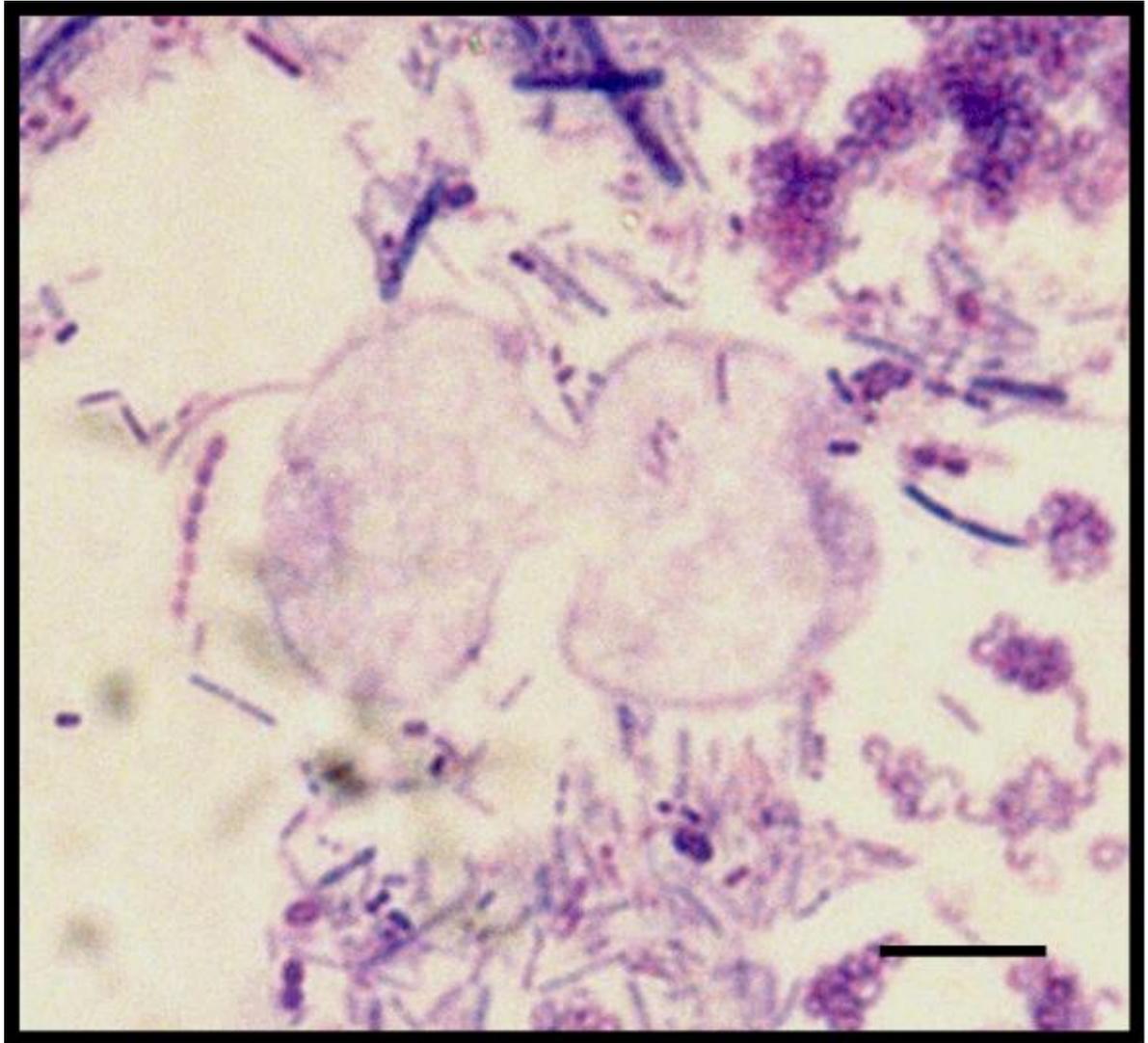
**Figura 7** – Esfregaço de fezes coradas pelo Giemsa, reprodução por divisão binária de *Blastocystis* sp.: A – Início da divisão binária, onde observamos um alongamento da célula e núcleos em pólos opostos, B – Célula com a divisão do seu citoplasma, C – Uma possível célula proveniente da divisão binária (— = 10 µm).



**Figura 8** – Esfregaço de fezes coradas pelo Giemsa, reprodução por endodigonia de *Blastocystis* sp.: A, B e C – Formas possuindo a internalização do seu citoplasma para que ocorra a divisão, D – Forma onde observa-se a divisão do núcleo e do citoplasma (— = 10  $\mu$ m).



**Figura 9** – Esfregaço de fezes coradas pelo Giemsa, reprodução por brotamento de *Blastocystis* sp.: A – Aumento em um dos lados da célula, dando origem a uma nova célula de tamanho menor, B – Mais de uma célula filha de tamanhos diferentes sendo originadas de uma maior (— = 10  $\mu$ m).



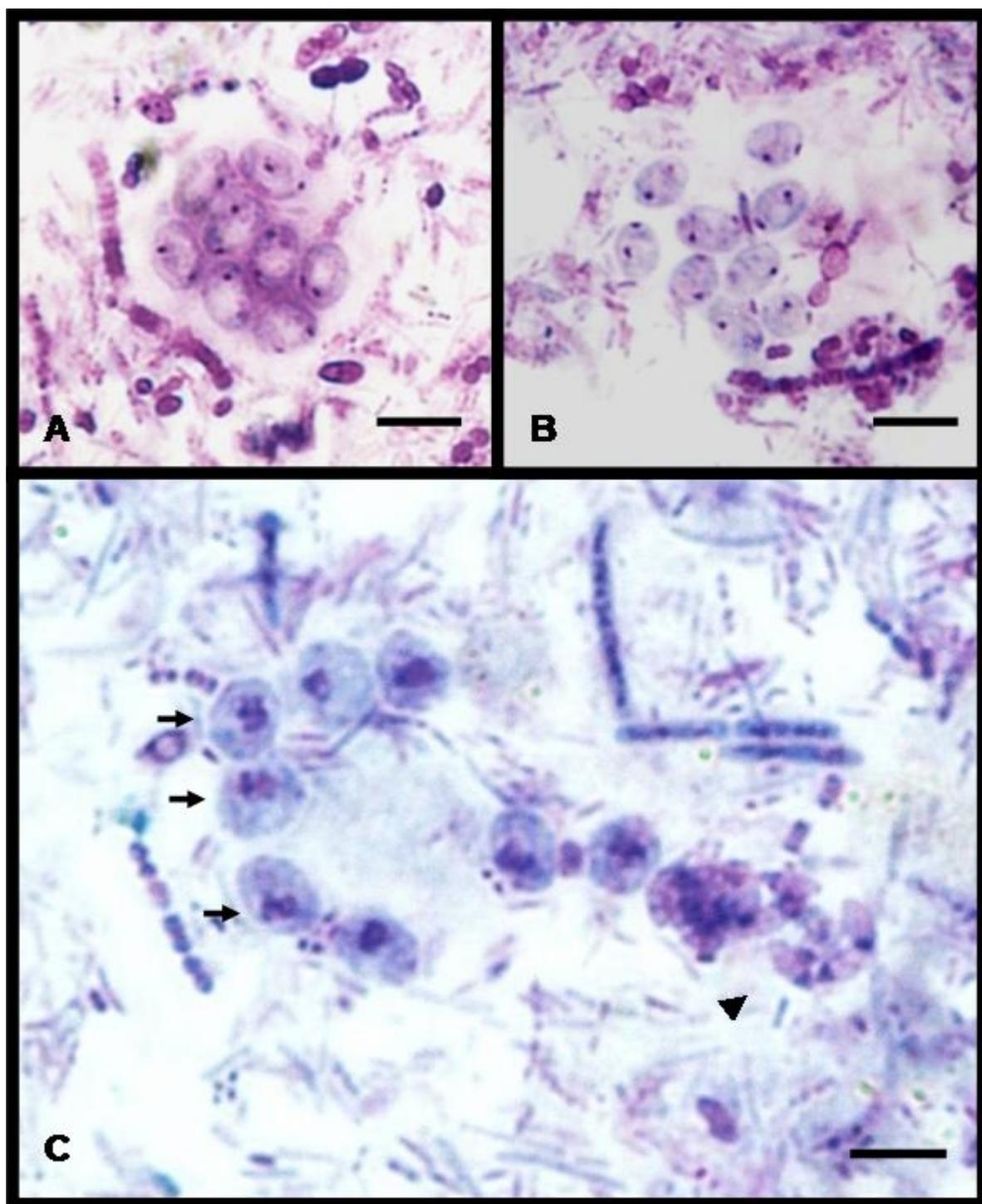
**Figura 10** – Esfregaço de fezes coradas pelo Giemsa, reprodução por plasmatomia de *Blastocystis* sp.: observamos o prolongamento da membrana citoplasmática que originará uma outra célula (— = 10  $\mu$ m).

Zaman et al. (1999) observaram no interior de cistos, células filhas. Em algumas células filhas era possível visualizar a formação de vacúolos, com o rompimento desses cistos ocorria a emergência dessas células filhas.

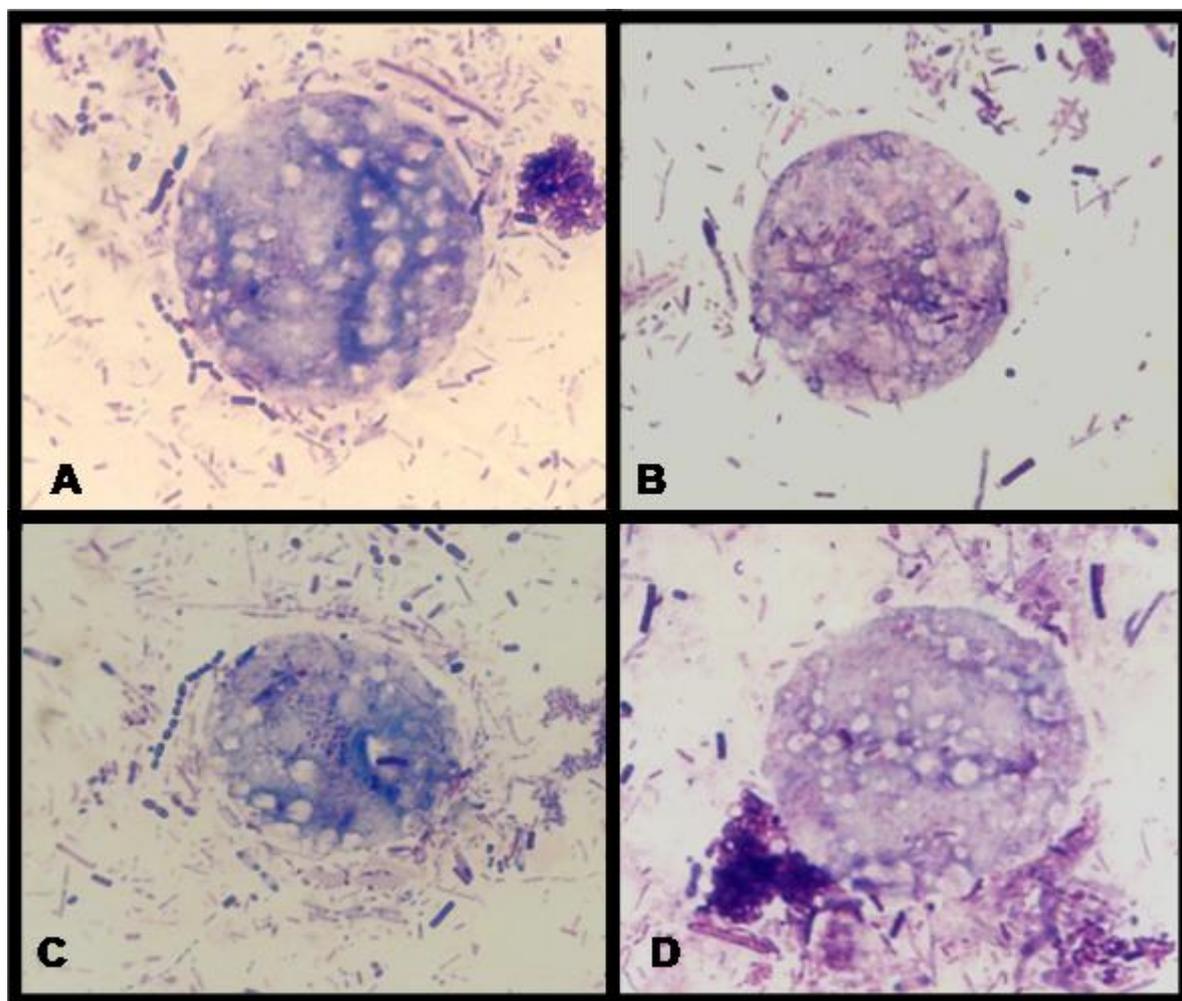
Nesse trabalho foi observado que os cistos apresentavam estruturas internas semelhantes às descritas por Zaman et al. (1999), sendo que era visível a presença de um ou mais núcleos em alguns cistos. Essa variação no número de núcleos no interior dos cistos, provavelmente estaria relacionada ao estágio de amadurecimento dos mesmos. Também foram observadas estruturas semelhantes a um vacúolo acompanhando cada núcleo, o mesmo sendo observado por Zaman et al. (1999). Se a esquizogonia é caracterizada inicialmente pela divisão nuclear, não acompanhada imediatamente pela divisão do citoplasma celular, foi possível observar que alguns cistos possuíam essas células filhas que foram mais nitidamente observadas quando houve a emergência das mesmas do interior dos cistos (Figura 11-C). Este fato nos leva a especular que existe a reprodução por esquizogonia no interior desses cistos.

Partindo-se desta hipótese, podemos observar que essas estruturas oriundas do interior desses cistos se assemelham a “esporozoítas”, morfológicamente sendo alongadas com uma das extremidades mais afiladas que a outra e nucleadas, que poderiam sustentar, teoricamente, o ciclo biológico proposto por Singh et al. (1995) onde esses autores citam que existe a fase de penetração de cistos na mucosa intestinal, sendo que pelas observações realizadas no nosso trabalho, esta penetração na mucosa intestinal poderia ser proveniente dos “possíveis esporozoítas” liberados dessas formas císticas. Porém, diferentemente do que foi relatado por Zhang et al. (2007) onde relacionaram a esquizogonia ocorrendo em células vacuolares, sendo que estas apresentavam bem maiores que as células vacuolares normalmente encontradas, sendo conflitante com as nossas observações.

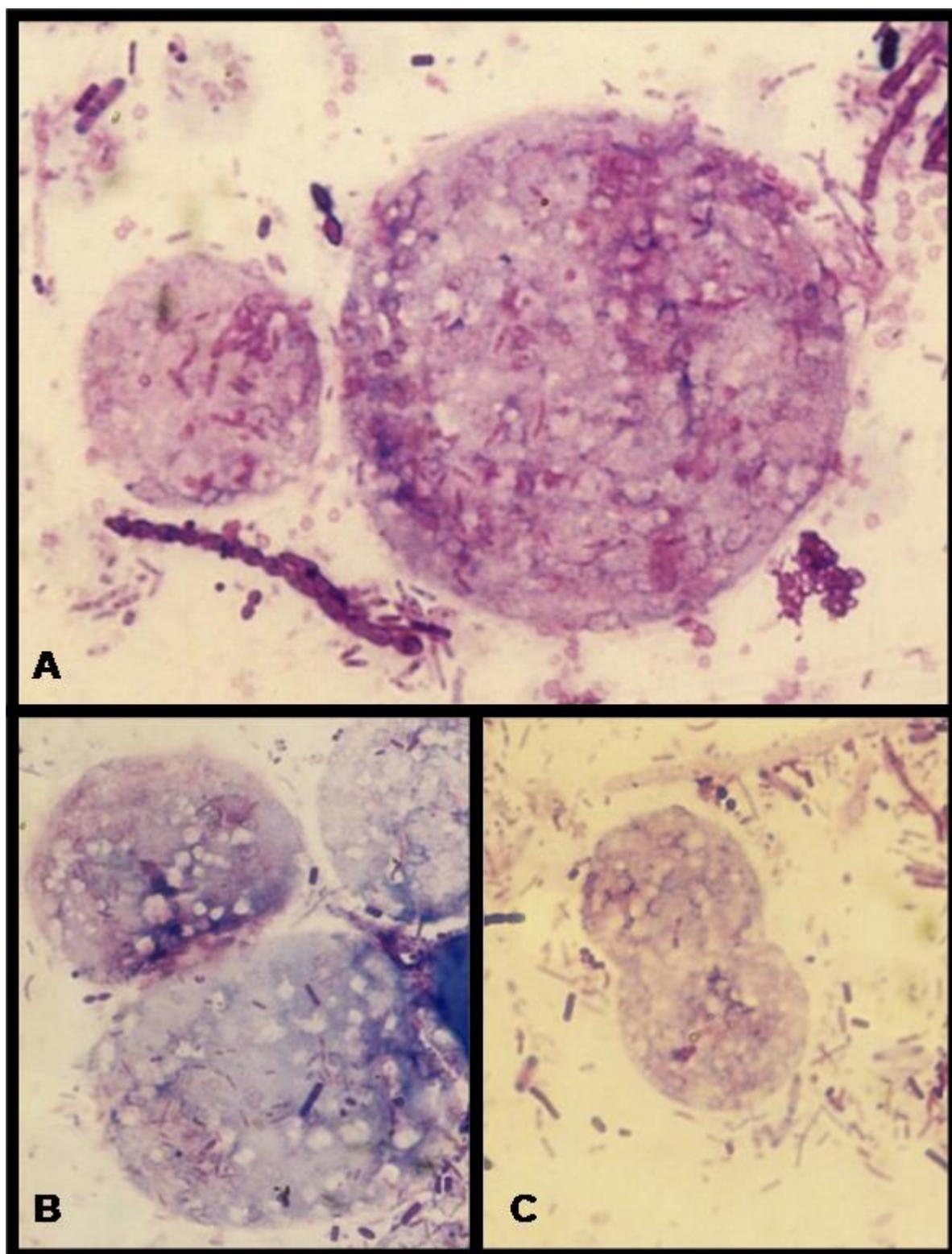
Além de todas as formas biológicas observadas e caracterizadas nesse trabalho, outras formas também foram observadas, mas não foram caracterizadas morfológicamente. Até o momento não há nenhuma descrição na literatura e também as já descritas não são muito bem caracterizadas morfológicamente. Na figura 12 e 13, observamos algumas dessas formas, onde ficam muitas dúvidas se são ou não precursoras de formas já conhecidas ou se são novas células. Estudos deverão ser conduzidos para maiores esclarecimentos sobre as formas biológicas de *Blastocystis*, assim como também para elucidar o seu ciclo biológico.



**Figura 11** – Esfregaço de fezes coradas pelo Giemsa, reprodução por esquizogonia de *Blastocystis* sp.: A e B – Cistos com um a dois núcleos, C – Cistos onde observa-se a multiplicação nuclear (→) e posterior liberação de formas alongadas semelhantes a esporozoítas (▴) (— = 10 µm).



**Figura 12** – Esfregaço de fezes coradas pelo Giemsa: A, B, C e D – Formas não identificadas de *Blastocystis* sp.



**Figura 13** – Esfregaço de fezes coradas pelo Giemsa: A, B e C - Formas não identificadas de *Blastocystis* sp.

## 5 CONCLUSÕES

- 1- Ocorreu a infecção natural por *Blastocystis* sp. em pintos, codornas e patos em dois mercados municipais estudados no Rio de Janeiro, não havendo diferença estatisticamente significativa entre eles.
- 2- Foi caracterizado morfologicamente as seis formas evolutivas de *Blastocystis* sp. em material fecal de aves domésticas, sendo elas: vacuolar, granular, amebóide, cística, avacuolar e multivacuolar.
- 3- Também foi possível observar as formas reprodutivas de *Blastocystis* sp. em material fecal de aves domésticas, sendo estas: divisão binária, endodiogenia, brotamento, plasmatomia e esquizogonia.
- 4 - É possível que a infecção de *Blastocystis* sp. nessas aves estudadas poderia está relacionada às condições higiênico-sanitárias inadequadas de seus alojamentos no local de comercialização, o que poderia propiciar a contaminação entre animais da mesma espécie ou de espécies diferentes.

## 6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABE, N. Molecular and phylogenetic analysis of *Blastocystis* isolates from various hosts. *Veterinary Parasitology*, v. 120, p. 235–242, 2004.
- ABE, N.; NAGOSHI, M.; TAKAMI, K.; SAWANO, Y.; YOSHIKAWA, H. A survey of *Blastocystis* sp. in livestock, pets, and zoo animals in Japan. *Veterinary Parasitology*, v. 106, p. 203–212, 2002.
- ABE, N.; WU, Z.; YOSHIKAWA, H. Zoonotic genotypes of *Blastocystis hominis* detected in cattle and pigs by PCR with diagnostic primers and restriction fragment length polymorphism analysis of the small subunit ribosomal RNA gene. *Parasitology Research*, v. 90, p. 124–128, 2003.
- ALEXEIEFF, A. Sur la nature des formations dites “kystes de *Trichomonas intestinalis*.” *Comptes Rendus Des Seances De La Societe De Biologie*, v. 71, p. 296–298, 1911.
- AMATO NETO, V.; ALARCON, R. S. R.; GAKIYA, E.; 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, p. 354-356, 2004.
- ARISUE, N.; HASHIMOTO, T.; YOSHIKAWA, H. Sequence heterogeneity of the small subunit ribosomal RNA genes among *Blastocystis* isolates. *Parasitology*, v. 126, p. 1–9, 2003.
- BELOVA, L. M. *Blastocystis anatis* sp. n. (Rhizopoda, Lobosea) from *Anas platyrhynchos*. *Zoologicheskyy Zhurnal*, v. 70, p. 5–10, 1991.
- BELOVA, L. M. *Blastocystis anseri* (Protista: Rhizopoda) from domestic goose. *Parazitologiya*, v. 26, p. 80–82, 1992.
- BELOVA, L. M.; KOSTENKO, L. A. *Blastocystis galli* sp. n. (Protista: Rhizopoda) from the intestine of domestic hens. *Parazitologiya*, v. 24, p. 164–168, 1990.
- BOREHAM, P. F. L.; STENZEL, D. J. *Blastocystis* in humans and animals: morphology, biology and epizootiology. *Advances in Parasitology*, v. 32, p. 1–70, 1993.
- BRUMPT, E. *Blastocystis hominis* n. sp. et formes voisines. *Bulletin de la Société de Pathologie Exotique*, v. 5, p. 725-730, 1912.
- CARBAJAL, J. A.; VILLAR, J.; LANUZA, M. D.; ESTEBANA, J. G.; MUÑOZ, C.; BORRAS, R. Significación clínica de la infección por *Blastocystis hominis*: estudio epidemiológico. *Medicina Clínica (Barcelona)*, v. 108, p. 608-612, 1997.
- CAVALIER-SMITH, T. Sagenista and Bigyra, two phyla of heterotrophic heterokont chromists. *Archiv für Protistenkunde*, v. 148, p. 253–267, 1997.
- CAVALIER-SMITH, T. A revised six-kingdom system of life *Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society*, v. 73, p. 203–266, 1998.

- CHEN, J.; VAUDRY, W. L.; KOWALEWSKA, K.; WENMAN, W. M. Lack of serum immune response to *Blastocystis hominis*. *The Lancet*, v. 2, p. 1021-1030, 1987.
- CIFERRI, R.; REDAELLI, P. A new hypothesis on the nature of *Blastocystis*. *Mycopathologia*, v. 1, p. 3-6, 1938.
- CIMERMAN, S.; CIMERMAN, B.; LEWI, D. S. Prevalence of intestinal parasitic infections in patients with acquired immunodeficiency syndrome in Brazil. *International Journal of Infectious Diseases*, v. 3, p. 203–206, 1999.
- CIRIONI, O.; GIACOMETTI, A.; DRENAGGI, D.; ANCARANI, F.; SCALISE, G. Prevalence and clinical relevance of *Blastocystis hominis* in diverse patient cohorts. *European Journal of Epidemiology*, v. 15, p. 389–93, 1999.
- CLARK, C. G. Extensive genetic diversity in *Blastocystis hominis*. *Molecular and Biochemical Parasitology*, v. 87, p. 79–83, 1997.
- DAWES, R. F. H.; SCOTT, S. D.; TUCK, A. C. *Blastocystis hominis*: an unusual cause of diarrhoea. *The British Journal of Clinical Practice*, v. 44, p. 714–716, 1990.
- DEAN, A. G.; ARNER, T. G.; SANGAN, S.; SUNKI, G. G.; FRIEDMAN, R.; LANTINGA, M.; ZUBIETA, J.C.; SULLIVAN, K. M.; SMITH, D. C.. EpiInfo 2000, a database and statistics program for public health professionals for use on Windows 94, 98, NT and 2000 Computers. Atlanta: Center for Disease Control and Prevention, 2000.
- DEVERA, R.; CERMENO, R. J.; BLANCO, Y.; MORALES, B. C. M.; GUERRA, X.; SOUZA M.; MAITAN, E. Prevalence of blastocistosis y otras parasitosis intestinales em uma comunidade rural Del Estado Anzoátegui, Venezuela. *Parasitologia Latino Americana*, v. 58, p. 95-100, 2003.
- DUNN, L. A.; BOREHAM, P. F. L.; STENZEL, D. J. Ultrastructural variation of *Blastocystis hominis* stocks in culture. *International Journal for Parasitology*, v. 19, p. 43–56, 1989.
- GARAVELLI, P. L.; SCAGLIONE L.; FLEISHER, T; ZIERDT, C. H. Serology of *Blastocystis hominis*: preliminary data, abstract. *Abstracts of the Sixth European Multicolloquium of Parasitology*, 1992.
- GARCIA, L. S.; BRUCKNER, D. A. Diagnostic medical parasitology, 2<sup>nd</sup> ed. Washington, D.C. ASM Press, 1993.
- GUIMARÃES, S.; SOGAYAR, M. I. L. *Blastocystis hominis*: occurrence in children and staff members of municipal day-care centres from Botucatu, São Paulo State, Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 88, p. 427–429, 1993.
- GOMES, R. S. Infecção natural por *Cryptosporidium* sp. em aves domésticas comercializadas em mercados municipais no Rio de Janeiro. Seropédica, RJ. *Dissertação de Mestrado em Ciências Veterinárias, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro*, 2006. 43p.

IGUCHI, A.; EBISU, A.; NAGATA, S.; SAITOU, Y.; YOSHIKAWA, H.; IWATANI, S.; KIMATA, I. Infectivity of different genotypes of human *Blastocystis hominis* isolates in chickens and rats. *Parasitology International*, v. 56, p. 107–112, 2007.

JOHNSON, A. M.; THANOU, A.; BOREHAM, P. F. L.; BAVERSTOCK, P. R. *Blastocystis hominis*: phylogenetic affinities determined by rRNA sequence comparison. *Experimental Parasitology*, v. 68, p. 283–288, 1989.

LEDER, K.; HELLARD, M. E.; SINCLAIR, M. I.; FAIRLEY, C. K.; WOLFE, R. No correlation between clinical symptoms and *Blastocystis hominis* in immunocompetent individuals. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, v. 20, p. 1390–1394, 2005.

LEE, M.G.; STENZEL, D.J. A survey of *Blastocystis* in domestic chickens. *Parasitology Research*, v. 85, p. 109–117, 1999.

MARTÍN, A. M.; CANUT, A.; MONTES, I.; GARCÍA, E. J. *Blastocystis hominis*: epidemiology in different population groups. *Bulletin De La Société Française De Parasitologie*, v. 8, p. 754–759, 1990.

MATSUMOTO, Y.; YAMADA, M.; TEGOSHI, T.; YOSHIDA, Y. The prevalence of *Blastocystis hominis* infection in humans in Kyoto City, Japan. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, v. 15, p. 158–159, 1987.

MILLER, R. A.; MINSHEW, B. H. *Blastocystis hominis*: an organism in search of a disease. *Reviews of Infectious Diseases*, v.10, p. 930–938, 1988.

MOE, K.T.; SINGH, M.; HOWE, J.; HO, L.C.; TAN, S.W.; NG, G.C.; CHEN, X.Q.; YAP, E.H. Experimental *Blastocystis hominis* infection in laboratory mice. *Parasitology Research*, v. 83, p. 319–25, 1997.

MOURA, H.; FERNANDES, O.; VIOLA, J. P. B.; SILVA, S. P.; PASSOS, R. H.; LIMA, D. B. Enteric parasites and HIV infection: occurrence in AIDS patients in Rio de Janeiro, Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 84, p. 527–533, 1989.

NOËL, C.; PEYRONNET, C.; GERBOD, D.; EDGCOMB, V.P.; DELGADO-VISCOGLIOSI, P.; SOGIN, M.L.; CAPRON, M.; VISCOGLIOSI, E.; ZENNER, L. Phylogenetic analysis of *Blastocystis* isolates from different hosts based on the comparison of small-subunit rRNA gene sequences. *Molecular and Biochemical Parasitology*, v. 126, p. 119–123, 2003.

NOËL, C.; DUFRERNEZ, F.; GERBOD, D.; EDGCOMB, V. P.; DELGADO-VISCOGLIOSI, P.; HO, L. C.; SINGH, M.; WINTJENS, R.; SOGIN, M. L.; CAPRON, M.; PIERCE, R.; ZENNER, L.; VISCOGLIOSI, E. Molecular phylogenies of *Blastocystis* isolates from different hosts: implications for genetic diversity, identification of species, and zoonosis. *Journal of Clinical Microbiology*, v. 43, p. 348–355, 2005.

NOLLA, A. C.; CANTOS, G. A Relationship between intestinal parasites in food handlers epidemiological factor in the city of Florianópolis, Santa Catarina, Brazil. *Cadernos de saúde pública / Ministério da Saúde*, v. 21, p. 641–645, 2005.

- PRASAD, K. N.; NAG, V. L.; DHOLE, T. N.; AYYAGARI, A. Identification of enteric pathogens in HIV-positive patients with diarrhoea in northern India. *Journal of Health, Population and Nutrition*, v. 18, p. 23–26, 2000.
- QUILEZ, J.; CLAVEL, A.; SANCHEZ-ACEDO, C.; CAUSAPE, A. C. Detection of *Blastocystis* sp. in pigs in Aragon (Spain). *Veterinary Parasitology*, v. 56, p. 345–348, 1995.
- RIVERA, W. L.; TAN, M. A. V. Molecular characterization of *Blastocystis* isolates in the Philippines by ribotyping. *Parasitology Research*, v. 96, p. 253–257, 2005.
- ROSENBUSCH, F. *Blastocystis* en los animales. Rectificación etiologica de la Typhlohepatitis en los pavos. *Boletín Instituto Clínica Quirúrgica*, v. 3, p. 352–354. 1927.
- SANAD, M. M.; DARWISH, R. M.; YOUSEF, S. M.; NASSEF, N. E. *Blastocystis hominis*: laboratory identification and clinical relevance. *Journal of Tropical Medicine*, v. 1, p. 61–70, 1991.
- SINGH, M.; SURESH, K.; HO, L. C.; NG, G. C.; YAP, E. H. Elucidation of the life cycle of the intestinal protozoan *Blastocystis hominis*. *Parasitology Research*, v. 81, p. 446–450, 1995.
- STENZEL, D. J.; BOREHAM, P.F.L. *Blastocystis hominis* revisited. *Clinical Microbiology Reviews*, v. 9, p. 563–584, 1996.
- STENZEL, D.J.; BOREHAM, P.F.L.; MCDUGALL, R. Ultrastructure of *Blastocystis hominis* in human stool samples. *International Journal for Parasitology*, v. 21, p. 807–812, 1991.
- STENZEL, D. J.; LEE, M. G.; BOREHAM, P. F. L. Morphological differences in *Blastocystis* cysts: an indication of different species? *Parasitology Research*, v. 83, p. 452–457, 1997.
- SURESH, K.; CHONG, S. Y.; HOWE, J.; HO, L. C.; NG, G. C.; YAP, E. H.; SINGH, M. Tubulovesicular elements in *Blastocystis hominis* from the caecum of experimentally-infected rats. *International Journal for Parasitology*, v. 25, p. 123–126, 1995.
- TAN, H. K.; ZIERDT, C. H. Ultrastructure of *Blastocystis hominis*. *Zeitschrift für Parasitenkunde*, v. 42, p. 315–324, 1973.
- TAN, K. S. W. *Blastocystis* in humans and animals: new insights using modern methodologies. *Veterinary Parasitology*, v. 126, p. 121–144, 2004.
- TAN, K. S. W.; SINGH, M., YAP, E.H. Recent advances in *Blastocystis hominis* research: hot spots in terra incognita. *International Journal for Parasitology*, v. 32, p. 789–804, 2002.
- TANIZAKI, A.; YOSHIKAWA, H.; IWATANI, S.; KIMATA, I. Infectivity of *Blastocystis* isolates from chickens, quails and geese in chickens. *Parasitology Research*, v. 96, p. 57–61, 2005.

- TEOW, W. L.; ZAMAN, V.; NG, G. C.; CHAN, Y. C.; YAP, E. H.; HOWE, J.; GOPALAKRISHNAKONE, P.; SINGH, M. A *Blastocystis* species from the sea-snake, *Lapemis hardwickii* (Serpentes: hydrophiidae). *International Journal for Parasitology*, v. 21, p. 723–726, 1991.
- TORRES, P.; MIRANDA, J. C.; FLORES, L.; RIQUELME, J.; FRANJOLA, R.; PEREZ, J.; AUAD, S.; HERMOSILLA, C.; RIQUELME, S. Blastocystosis and other intestinal protozoan infections in human riverside communities from Valdivia River, Basin, Chile. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, v. 34, p. 557–564, 1992.
- VALLES, L. E. T.; MIESESY, M. T.; AGOBIAN, G. Predominio de *Blastocystis hominis* sobre otros enteroparásitos en pacientes del municipio Palavecino, estado Lara, Venezuela. *Revista Cubana De Medicina Tropical*, v. 58, p. 14-18, 2006.
- VANNATTA, J. B.; ADAMSON, D.; MULLICAN, K. *Blastocystis hominis* infection presenting as recurrent diarrhea. *Annals of Internal Medicine*, v. 102, p. 495–496, 1985.
- WINDSOR, J. J.; MACFARLANE, L.; HUGHES-THAPA, G.; JONES, S. K.; WHITESIDE, T. M. Incidence of *Blastocystis hominis* in faecal samples submitted for routine microbiological analysis. *British Journal of Biomedical Science*, v. 59, p.154-157, 2002.
- WOLYNSKA, M.; SOROCZAN, W. *Blastocystis hominis* Brumpt, 1912 (Phycomycetes) w narzadzie rodnym kobiety. *Polski Tygodnik Lekarski*, v. 27, p. 788-791, 1972.
- YOOVA, S. L.; RANGSIN, R.; TAAMASRI, P.; NAAGLOR, T.; THATHAISONG, U.; MUNGTHIN, M. Evidence of waterborne transmission of *Blastocystis hominis*. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, v. 70, p. 658-662, 2004.
- YOSHIKAWA, H.; NAGANO, I.; WU, Z.; YAP, E.H.; SINGH, M.; TAKAHASHI, Y. Genomic polymorphism among *Blastocystis hominis* strains and development of subtype-specific diagnostic primers. *Molecular and Cellular Probes*, v. 12, p. 153–159, 1998.
- YOSHIKAWA, H.; ABE, N.; IWASAWA, M.; KITANO, S.; NAGANO, I.; WU, Z.; TAKAHASHI, Y. Genomic analysis of *Blastocystis hominis* strains isolated from two long-term health care facilities. *Journal of Clinical Microbiology*, v. 38, p. 1324–1330, 2000.
- YOSHIKAWA, H.; MORIMOTO, K.; NAGASHIMA, M.; MIYAMOTO, N. A survey of *Blastocystis* infection in anuran and urodele amphibians. *Veterinary Parasitology*, v. 122, p. 91-102, 2004.
- ZAKI, M.; DAOUD, A. S.; PUGH, R. N. H.; AL-ALI, F.; AL-MUTAIRI, G.; AL-SALEH, Q. Clinical report of *Blastocystis hominis* infection in children. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, v. 94, p. 118–122, 1991.
- ZAMAN, V.; HOWE, J.; NG, M. Ultrastructure of *Blastocystis hominis* cysts. *Parasitology Research*, v. 81, p. 465–469, 1995.
- ZAMAN, V.; ZAKI, M.; MANZOOR, M.; HOWE, J.; NG, M. Postcystic development of *Blastocystis hominis*. *Parasitology Research*, v. 85, p. 437–40, 1999.

ZHANG, X.; QIAO, J. Y.; ZHOU, X. J.; YAO, F. R.; WEI, Z. C. Morphology and reproductive mode of *Blastocystis hominis* in diarrhea and in vitro. *Parasitology Research*, v. 101, p. 43–51, 2007.

ZIERDT, C.H. *Blastocystis hominis*—past and future. *Clinical Microbiology Reviews*, v. 4, p. 61–79, 1991.

ZIERDT, C. H.; RUDE, W. S.; BULL, B. S. Protozoan characteristics of *Blastocystis hominis*. *American Journal of Clinical Pathology*, v. 48, p. 495–501, 1967.

ZIERDT, C. H.; ZIERDT, W. S.; NAGY, B. Enzyme-linked immunosorbent assay for detection of serum antibody to *Blastocystis hominis* in symptomatic infections. *International Journal for Parasitology*, v. 81, p. 127–129, 1995.