

UFRRJ

**INSTITUTO DE VETERINÁRIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MICROBIOLOGIA
VETERINÁRIA**

DISSERTAÇÃO

***BLASTOCYSTIS HOMINIS* BRUMPT, 1912
(CHROMISTA: BLASTOCYSTEA) EM CÃES E GATOS
DE DOMICÍLIOS LOCALIZADOS NA REGIÃO
METROPOLITANA DO RIO DE JANEIRO**

IONE SOARES FERREIRA GINUINO

2006



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

***BLASTOCYSTIS HOMINIS* BRUMPT, 1912 (CHROMISTA: BLASTOCYSTEA) EM
CÃES E GATOS DE DOMICÍLIOS LOCALIZADOS NA REGIÃO METROPOLITANA
DO RIO DE JANEIRO**

IONE SOARES FERREIRA GINUINO

Sob a Orientação do Doutor

Walter Leira Teixeira Filho

Dissertação submetida como requisito parcial para
obtenção do grau de **Mestre em Ciências**, no Curso
de Pós-Graduação em Microbiologia Veterinária.

Seropédica, RJ

Fevereiro de 2006

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

IONE SOARES FERREIRA GINUINO

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências**, no Curso de Pós-Graduação em Microbiologia Veterinária.

DISSERTAÇÃO APROVADA EM 24/03/2006

Walter Leira Teixeira Filho, *Ph.D.* UFRRJ
(Orientador)

Carlos Wilson Gomes Lopes, *Ph.D.* LD. UFRRJ

Francisco Carlos Rodrigues de Oliveira, *Ph.D.* UENF

Celeste da Silva Freitas de Souza, Dr^a em Ciências. IOC/Fiocruz

Walter Fausino, *Ph.D.* UFRRJ

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, Waldemiro Soares e Glória Isabel Soares “in memoriam”, pelo exemplo de dignidade e retidão de caráter e por terem-me imprimido a sede do saber, Muito agradeço, aos meus filhos, Vinicius e Amanda, e meu marido Cleber que me fizeram acreditar que era possível, quando tudo se apresentava inviável, à minha irmã Ivone, pelo apoio incondicional e pela grande amizade que me tem dedicado.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a *Deus* por ter me dado a oportunidade de estar no mundo.

Ao meu amigo e orientador na minha pesquisa de mestrado, Dr. Walter Leira Teixeira Filho, pela orientação precisa, pela bondade e afetividade, pelos inúmeros momentos de conforto, apoio e estímulo, pela confiança que sempre imprimiu às nossas discussões, por ter-me viabilizado escolher os meus próprios caminhos e neles ter trilhado comigo, de mãos dadas.

Ao Professor Doutor Carlos Wilson Gomes Lopes, pelo incentivo, franco apoio, e sugestões valiosas em todas as fases da execução desta pesquisa.

Aos colegas do Laboratório de Coccídios e Coccidioses (LCC) da UFRRJ/IV, especialmente ao Dr. Walter Flausino, Dr^a Simoni Machado de Medeiros, aos Doutorandos Paulo Roberto de Carvalho Filho, Fabiana Massad Valadão, Marcel Teixeira, Sergian Vianna Cardozo, e a aluna de graduação Gisele dos Santos Meireles, pela solidariedade, e que se tornaram meus amigos fraternais.

Aos profissionais do Laboratório de Parasitologia do Instituto Municipal de Veterinária Jorge Vaistman, em especial ao Sr. Luiz Cláudio de Souza Abooud, pela dedicação e disponibilidade no envio das amostras me auxiliando no desenvolvimento deste trabalho.

O Caminho

Um dia, um bezerro precisou atravessar a floresta virgem para voltar a seu pasto. Sendo animal irracional, abriu uma trilha tortuosa, cheia de curvas, subindo e descendo colinas...

No dia seguinte, um cão que passava por ali, usou essa mesma trilha torta para atravessar a floresta.

Depois foi a vez de um carneiro, líder de um rebanho, que fez seus companheiros seguirem pela trilha torta.

Mais tarde, os homens começaram a usar esse caminho: entravam e saíam, viravam à direita, à esquerda,

abaixando-se, desviando-se de obstáculos, reclamando e praguejando, até com um pouco de razão...

Mas não faziam nada para mudar a trilha.

Depois de tanto uso, a trilha acabou virando uma estradinha onde os pobres animais se cansavam sob cargas pesadas, sendo obrigados a percorrer em três horas uma distância que poderia ser vencida em, no máximo, uma hora, caso a trilha não tivesse sido aberta por um bezerro.

Muitos anos se passaram e a estradinha tornou-se a rua principal de um vilarejo, e posteriormente a avenida principal de uma cidade.

Logo, a avenida transformou-se no centro de uma grande metrópole, e por ela passaram a transitar diariamente milhares de pessoas, seguindo a mesma trilha torta feita pelo bezerro... centenas de anos antes...

Contudo, a velha e sábia floresta ria daquelas pessoas que percorriam aquela trilha, como se fosse um caminho único... Sem se atrever a mudá-lo.

Muitas vezes nos chamam de ousados, chatos, cri-cri, metidos, etc., pois temos ousado por caminhos novos, pois quando nos falam que devemos seguir aquele caminho, pois todos estão indo por ali e não sentimos paz no coração, buscamos a resposta do alto, os conselhos de Deus e através Dele, por Ele e com Ele à nossa frente seguimos novos desafios.

Autor desconhecido

SUMÁRIO

	Págs.
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	2
2.1. <i>Blastocystis hominis</i>	2
2.1.1. Histórico.....	2
2.1.2. Classificação.....	5
2.1.3. Ciclo biológico.....	6
2.1.4. Morfologia.....	8
2.1.5. Diagnóstico laboratorial.....	9
2.2. Especificidade aos hospedeiros.....	11
3. EPIDEMIOLOGIA.....	15
3.1. Em humanos.....	15
3.2. Em animais.....	19
3.3. Em Saúde Pública.....	20
3.4. Patogenia.....	21
3.5. Modelo animal.....	24
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	26
4.1. Localização do experimento.....	26
4.2. Origem das amostras.....	26
4.3. Coleta dos dados.....	27
4.4. Pesquisa pela microscopia óptica.....	27
4.4.1. Método direto.....	27
4.4.2. Preparação das lâminas e avaliação microscópica.....	28
4.4.3. Método de concentração das formas.....	28
4.4.3.1. Mensuração das formas.....	29
4.4.3.2. Técnicas de coloração.....	29
4.4.3.3. Tricrômio de Gomori.....	29
4.4.3.4. Hematoxilina férrica.....	30
4.5. Fotomicrografia.....	30
4.6. Análise estatística dos dados.....	30
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	31
5.1. Diagnóstico de <i>Blastocystis hominis</i>	31
5.1.1. Identificação morfológica das formas através de exame direto das fezes.....	31
5.1.2. Aspectos morfológicos da forma vacuolar de <i>Blastocystis hominis</i> encontradas nas duas espécies estudadas	33
5.2. Morfometria da forma vacuolar de <i>Blastocystis hominis</i> observada entre as duas espécies estudadas.....	33
5.3. Frequência de <i>B.lastocystis hominis</i> entre as duas espécies estudadas de acordo com a idade e sexo.....	36

	Págs.
5.4. Associação de <i>Blastocystis hominis</i> com outros enteropatógenos.....	37
5.5. Fatores de risco para a blastocistose.....	38
6. CONCLUSÕES.....	41
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	42
8. ANEXOS.....	57

ÍNDICE DE TABELAS

	Págs.
Tabela 1. Características das formas de <i>Blastocystis hominis</i> , obtidas pelo exame direto das fezes.....	34
Tabela 2. Frequência de <i>Blastocystis hominis</i> entre as espécies estudadas.....	37
Tabela 3. Frequência de outros enteropatógenos associados à <i>Blastocystis hominis</i>	38
Tabela 4. Número de animais segundo o diagnóstico da infecção por <i>Blastocystis hominis</i>	40

ÍNDICE DE FIGURAS

	Págs.
Figura 1. Ciclo biológico de <i>Blastocystis hominis</i> de acordo com Singh et al. 1995	7
Figura 2. Ciclo de transmissão entre de <i>Blastocystis hominis</i> entre as espécies de acordo com Tan (2004).....	8
Figura 3. <i>Blastocystis hominis</i>. Forma vacuolar com núcleos periféricos. A – Hematoxilina férrica. B – Tricrômio de Gomori. C – Contrastado com lugol.....	44

RESUMO

Giunino, Ione Soares Ferreira. *Blastocystis hominis* Brumpt 1912 (Chromista: Blastocystea) em cães e gatos de domicílios localizados na região Metropolitana do Rio de Janeiro. Seropédica: UFRRJ, 2006. 59p. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Veterinária). Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2006.

Com o objetivo de determinar a morfologia, frequência, influência da idade e sexo, e fatores de risco associados à *Blastocystis hominis* nas fezes de cães e gatos domiciliados na Região Metropolitana do Rio de Janeiro, foram coletadas amostras fecais por conveniência de 175 cães e 59 gatos. Para o diagnóstico de *B. hominis*, foi utilizado o exame direto, e para confirmação do diagnóstico foram usadas às técnicas de coloração da hematoxilina férrica e tricrômio de Gomori. A largura e o comprimento de *B. hominis* encontrado nas amostras fecais variaram de 10,07 a 13,80µm, e 12,66 a 19,93µm para cães e gatos respectivamente. Quanto à frequência de *B. hominis* nos animais domiciliados, 23,42% dos cães, e 23,72% dos gatos foram positivos, independente do sexo. A idade dos animais foi um importante fator para determinar, principalmente nos cães domiciliados, o risco de transmissão de *B. hominis*.

Palavras-chaves: *Blastocystis hominis*, cães, gatos, diagnóstico, frequência, fatores de risco.

ABSTRACT

Ginuino, Ione Soares Ferreira. *Blastocystis hominis* Brumpt, 1912 (Chomista: Blastocystea) in housed dogs and cats from Metropolitan Region of Rio de Janeiro. Seropédica: UFRRJ, 2006. 59p. Dissertation (Master Science in Veterinary Microbiology) Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2006.

With the objective to determine frequency, age and sex influences, and risk factor associated to *Blastocystis hominis* in feces of housed dogs and cats from the Metropolitan Region of Rio de Janeiro, Brazil, 234 fecal samples were collected by convenience from 175 dogs and 59 cats. To the diagnostic of *B. hominis* in fecal samples, direct examination was used, but ferric-hematoxin and Gomori's trichrome techniques were used in order to confirm this diagnostic. Width and length of the parasite found in fecal samples varied from 10.07 to 13.80, and 12.66 to 19.93 to dogs and cats respectively. With regards the frequency of *B. hominis* in housed animals, 23.42% of dogs, and 23.72% of cats were positives, independent of animal sex. Animal's age was the important factor to determine, mainly in dogs, the risk of *B. hominis* transmission in dwellings.

Key-words: *Blastocystis hominis*, dogs, cats, diagnostic, frequency, risk factor.

1. INTRODUÇÃO

Com o crescente número de animais considerados de companhia nas áreas urbanas, em especial cães e gatos, as doenças por eles transmitidas ao homem têm apresentado interesse científico. Entre estas doenças, atualmente a blastocistose, causada por um microrganismo do gênero *Blastocystis* encontrado comumente em humanos, mas que também tem sido observado numa grande variedade de espécies de animais, incluindo invertebrados, répteis pássaros e mamíferos.

Em humanos este gênero, é freqüentemente encontrado nas fezes de indivíduos com ou sem manifestações gastrintestinais como diarréia, dor abdominal, prurido anal e flatulência, e especialmente, em imunossuprimidos ou imunocomprometidos, podendo permanecer no intestino durante semanas, meses ou anos.

No Brasil, não existem relatos sobre o encontro deste organismo em animais de companhia. Na maioria das vezes, a identificação deste microrganismo se baseia na forma mais comum encontrada nas fezes de humanos, além de não o considerar como patogênico.

O presente trabalho teve como objetivos: 1. comparar métodos de coloração, e técnicas utilizadas no diagnóstico deste organismo; 2. determinar através da morfometria, as formas de *B. hominis* encontradas nas fezes de cães e gatos; 3. determinar a freqüência de *B. hominis* em cães e gatos domiciliados na região metropolitana do Rio de Janeiro; 4. estabelecer relações com as variáveis de idade e sexo; 5. determinar os fatores de risco da infecção por *B. hominis* em cães e gatos.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. *Blastocystis*

Blastocystis é o agente etiológico da blastocistose, encontrado no intestino de vários hospedeiros animais, inclusive o homem, muito prevalente em regiões tropicais. Entretanto, seu significado clínico é incerto. Assim, como seu mecanismo de transmissão, seu papel como patógeno, e sua classificação taxionômica são aspectos que causam controvérsias quanta a sua identificação nos últimos anos (AMATO NETO et al., 2004).

2.1.1. Histórico

Brittan e Swayne (1849, *apud* Zierdt, 1991), descreveram os primeiros casos de blastocistose humana, em uma epidemia de cólera ocorrida em Londres no Reino Unido. Estes mesmos autores trabalhando separadamente deram denominações diferentes a este microrganismo. Brittan denominou ao organismo encontrado por ele de célula anelar, e Swayne o chamou de corpos de cólera. Porém não foi possível a confirmação posterior da natureza deste, devido à insuficiência de dados no manuscrito (LÖSCH, 1875, *apud* ZIERDT, 1991).

Em 1911 Alexeieff, isolou organismo semelhante em ratos, cobaias, galinhas, sanguessugas e répteis, e o denominou de *B. enterocola*, descrevendo ainda sua morfologia e um possível ciclo de vida, que com pequenas modificações viria a ser mais tarde confirmado como as formas evolutivas deste microrganismo.

A primeira descrição da blastocistose em humanos aceita internacionalmente foi relatada por Brumpt (1912), que ao trabalhar com material fecal humano, classificou este organismo como

uma levedura intestinal. Este mesmo autor reclassificou a espécie mudando a sua denominação de *B. enterocola* para *B. hominis*, sendo esta última denominação reconhecida com válida pela literatura atual para humanos. Posteriormente, Rosenbuch (1927) atribuiu erroneamente, a doença denominada de “cabeça negra” que acomete perus, da mesma maneira que uma patologia hepática em humanos a este organismo.

Durante um longo período de tempo, *B. hominis*, foi tratado como levedura, até que foi definido por Zierdt et al. (1967), dada às evidências morfológicas e fisiológicas, como sendo um protozoário parasita do trato gastrointestinal de humanos, e passou a chamar a atenção devido aos crescentes relatos sobre sua patogenicidade, e na ausência de um outro patógeno sejam eles bactérias, vírus, ou parasito deveria ser reconhecido e tratado como altamente patogênico para humanos (SALAVERT et al., 1990).

Youhana et al. (1994), relataram um caso de uma menina de quatro anos de idade com sangramento retal associado a uma enteropatia, onde *B. hominis* foi o único organismo encontrado causando úlcera na mucosa intestinal. Muitos pesquisadores pensam que quando *B. hominis* está presente nas fezes em grande número e na ausência de outro patógeno, deva ser considerado como altamente patogênico.

A infecção por *B. hominis* vem sendo observada em infecções naturais desde a década de 70. Onde Burden et al. (1978; 1979) no Reino Unido, observaram *B. hominis* somente em suínos. Posteriormente, este organismo foi também observado em primatas, roedores, pássaros aves de rapina, répteis, anfíbios, cães, gatos, suínos, e baratas (TEOW et al., 1992; BOREHAM: STENZEL, 1993; ZAMAN et al., 1993; QUILEZ et al., 1995; YOSHIKAWA et al., 1998; DUDA et al., 1998; LEE; STENZEL.,1999). Estudos realizados por Belova e Krilov (1998) com base em critérios morfológicos e fisiológicos consideraram ainda três novas espécies: *B. galli* em galinhas, *B. anatis* em patos e *B. anseri* em gansos. Anteriormente Chen et al. (1997a), relataram

o encontro de formas de *Blastocystis* em ratazanas, assim como em camundongos, coelhos, e hamster, entretanto, em gerbis não foi observado.

Estudos abordando o desenvolvimento, ultraestrutura, patogenicidade e transmissão, cultivo, sorologia e imunologia de *Blastocystis* foram realizados por Zierdt et al. (1967); Zierdt (1991); Chen et al. (1987); Kain et al. (1987). Entretanto, Chen et al. (1999), através de estudos experimentais, foram capazes de produzir a encistação e excistação de *Blastocystis ratti in vitro*, cultivando o organismo em meio de cultura Iscove Dulbecco modificado (IMDM) com concentrações crescentes de soro de cavalo.

Duda et al. (1998) encontraram *Blastocystis* em cães e gatos domésticos, em Brisbane, Austrália. Enquanto, Abe et al. (2002) observaram a presença deste organismo em fazendas de criação de animais, pet shopping, e em várias espécies de animais de zoológico no Japão.

McClure et al. (1980) relataram o encontro de *Blastocystis* causando infecção em primata não humano (*Macaca nemestrina*) de 10 anos de idade, o animal desenvolveu diarreia profusa, onde foi descartada infecção bacteriana.

Solaymani-Mohammadi et al. (2004) relataram o encontro de *Blastocystis* em suínos, no Luristão, Região Ocidental da República Islâmica do Irã. Além de outras espécies de parasitos, este organismo foi também observado nos habitantes desta região. Contudo, os estudos realizados anteriormente por Yamada et al. (1987) em várias espécies de primatas não humanos, determinaram que os cistos de *B. hominis* são morfológicamente indistinguíveis. Recentemente, estudos moleculares como o ssrRNA de isolados de galinha e cobaias, permitiram sugerir a possível transmissão zoonótica deste organismo (YOSHIKAWA et al., 1998; CLARCK, 1997).

Mais de 17 espécies de *Blastocystis* já foram descritas na literatura, mas a aceitação de todas ainda é controversa. Estudos moleculares com uma pequena subunidade do RNA propuseram 10 espécies tais como: *B. lessonae* em *Rana lessonae*, *B. anatis* em *Anas*

platyrhynchos, *B. anseri* em *Anser anser*, *B. galli* em *Gallus gallus*, *B. rumidae* em *Numidea meleagridis*, *B. meleagris* em *Meleagris gallopavo*, *B. equi* em *Equus caballus*, *B. suis* em *Sus scrofa*, *B. bovis* em *Bos taurus*, *B. ovis* em *Ovis Áries* (BELOVA, 1995).

2.1.2. Classificação

A taxionomia de *Blastocystis* ainda é confusa. Uma das razões para a divergência é a falta de consistência na classificação do organismo. Devido à definição clássica de espécie, como sendo um grupo da população natural com comportamento independente de outros grupos, tendo como resultado, diferenças na morfologia, especificidade de hospedeiro, comportamento e distribuição geográfica. Isto tem sido objeto de diversas modificações ao longo dos anos e, provavelmente ainda sofrerá alterações quando se tiverem resultados mais conclusivos.

Foram realizadas propostas diversas na classificação deste organismo dentro do Reino Protista. Zierdt e Tan (1976) consideraram que se tratava de um esporozoário, com base em estudos posteriores, demonstraram a presença de pseudópodes e fissão binária, propondo sua reclassificação no Subfilo Sarcodina. Zierdt e Nagi (1993) relataram características próprias de *Blastocystis* com Sarcomastigophora, fazendo com que houvesse a necessidade de se criar um Subfilo independente. Nesse sistema, a classificação e descrição do gênero *Blastocystis* foram feitas com base nos aspectos morfológicos além da análise do organismo por microscopia eletrônica de transmissão (ZIERDT, 1973). Boreham e Stenzel (1993) chamaram atenção para a necessidade de se trabalhar com estudos moleculares, evitando assim classificações baseadas unicamente em caracteres morfológicos. A primeira análise molecular filogenética de *B. hominis* em humano deve-se a Johnson et al. (1989), quando analisaram a seqüência de RNA de uma

pequena subunidade ribossomal (ssrRNA), e não encontraram relações monofiléticas com nenhum eucariota, passando a ser considerado *in certa sedis* .

Nos anos subseqüentes, Silberman et al. (1996) demonstraram que ao completar a seqüência gênica do ssrRNA deste organismo, ele poderia ser incluído dentro do grupo Stramenopiles, sinônimo de Heterokonta (CAVALIER-SMITH, 1997), sendo Stramenopiles definido como um complexo heterogêneo, reunindo seres unicelulares e multicelulares e seu metabolismo heterotrófico ou fotossintético. Neste grupo se inclui alga marrom, cianofíceas, lodo, entre outros. Entretanto, o estudo relaciona *B. hominis* com o flagelado *Proteromonas*, com quem compartilha características do seu ciclo vital.

De acordo com revisão de classificação realizada por Cavalier-Smith em 1998, e as colocações de Tan (2004), *Blastocystis* está classificado no: Reino: Chromista; Subreino: Chromobiota; Infrareino: Heterokonta; Subphylum: Opalinata; Classe: Blastocystea; Gênero: *Blastocystis*.

2.1.3. Ciclo biológico

Stenzel e Boreham (1996), ao propor um ciclo biológico para *B. hominis*, demonstraram que a divisão do organismo ocorre através de fissão binária, havendo a necessidade de apenas um hospedeiro para o seu desenvolvimento. As formas encontradas *in vivo* foram caracterizadas como: vacuolar, granular, amebóide e a forma cística, embora outras formas distintas fossem menos encontradas como: avacuolar e multivacuolar. As formas multivacuolar e amebóide tem sido encontrada com auxílio da colonoscopia (STENZEL et al.,1991).

De acordo com Singh et al. (1995), o ciclo biológico de *B. hominis* ocorreria da seguinte forma (Figura 1):

1. Os cistos de parede grossa presente nos espécimes fecais são responsáveis pela transmissão externa, 2. Possivelmente ocorre através da ingestão de água ou alimento contaminado pela rota fecal-oral. 3. Os cistos ingeridos penetram nas células epiteliais do trato digestivo e multiplicam-se assexuadamente. 4. Através da mitose, ocorre a multiplicação das formas vacuolares, dando origem as formas multi-vacuolares 5a. e formas amebóides 5b. A forma multi-vacuolar desenvolve para pré-cisto 6a. que através da esquizogonia dá origem a cistos de parede fina 7a. responsáveis pela auto-infecção do hospedeiro. A forma amebóide dá origem ao pré- cisto 6b. através da esquizogonia, desenvolvendo cistos de parede grossa 7b. Os cistos de parede grossa são excretados juntamente com as fezes, e liberados no meio ambiente.

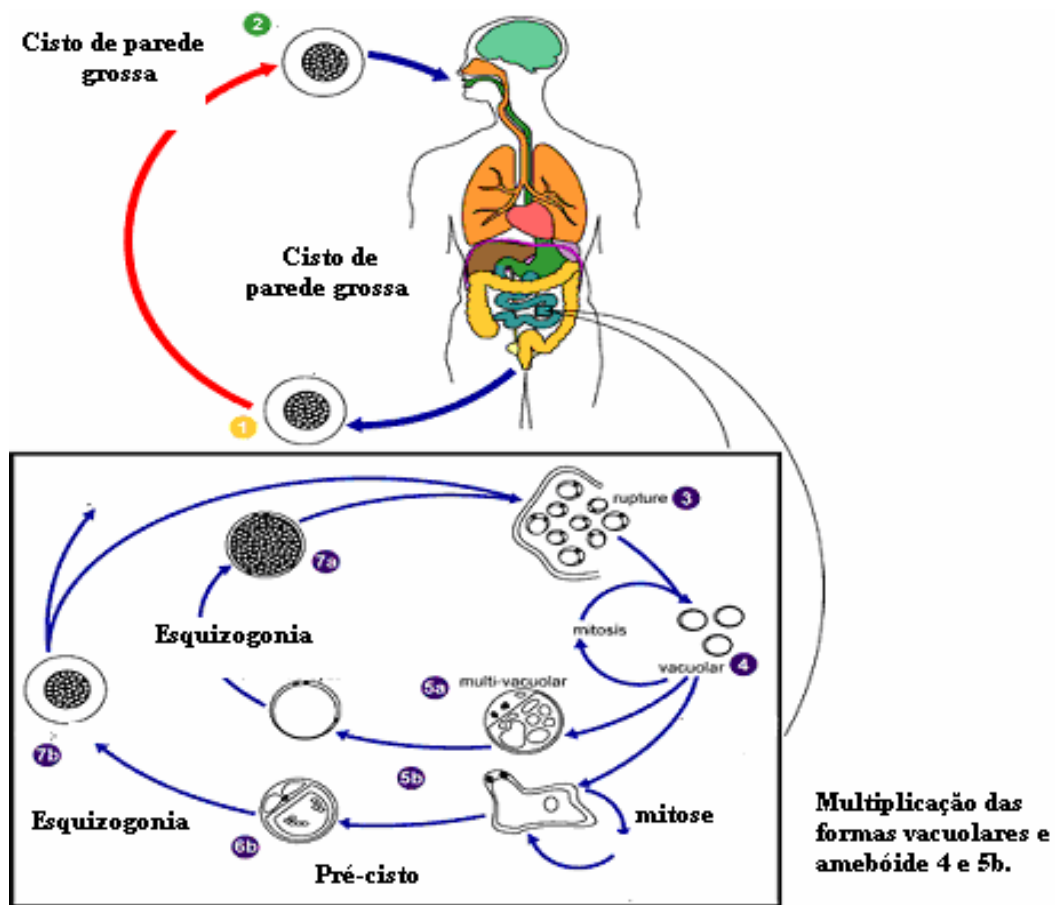


Figura 1. Ciclo biológico de *Blastocystis* proposto por Singh et al. (1995).

Tan (2004) propôs um ciclo de transmissão entre as espécies para *Blastocystis*, onde a infecção dos hospedeiros se iniciaria através da ingestão de cistos fecais. Estes por sua vez se desenvolveriam para a forma vacuolar, e subsequentemente através de fissão binária, daria origem às formas amebóide, granular, ou diretamente, a forma de cistos intermediários (encistação) (Figura 2).

A encistação, possivelmente ocorre pela exposição a ácidos gástricos de enzimas intestinais (SCHAEFER, 1990), onde perderiam a camada de proteção (parede cística). Os cistos são liberados juntamente com as fezes para o meio ambiente, sendo os mesmos extremamente resistentes às condições abióticas. A infecção do hospedeiro dar-se-ia provavelmente pela ingestão de água ou alimentos contaminados.

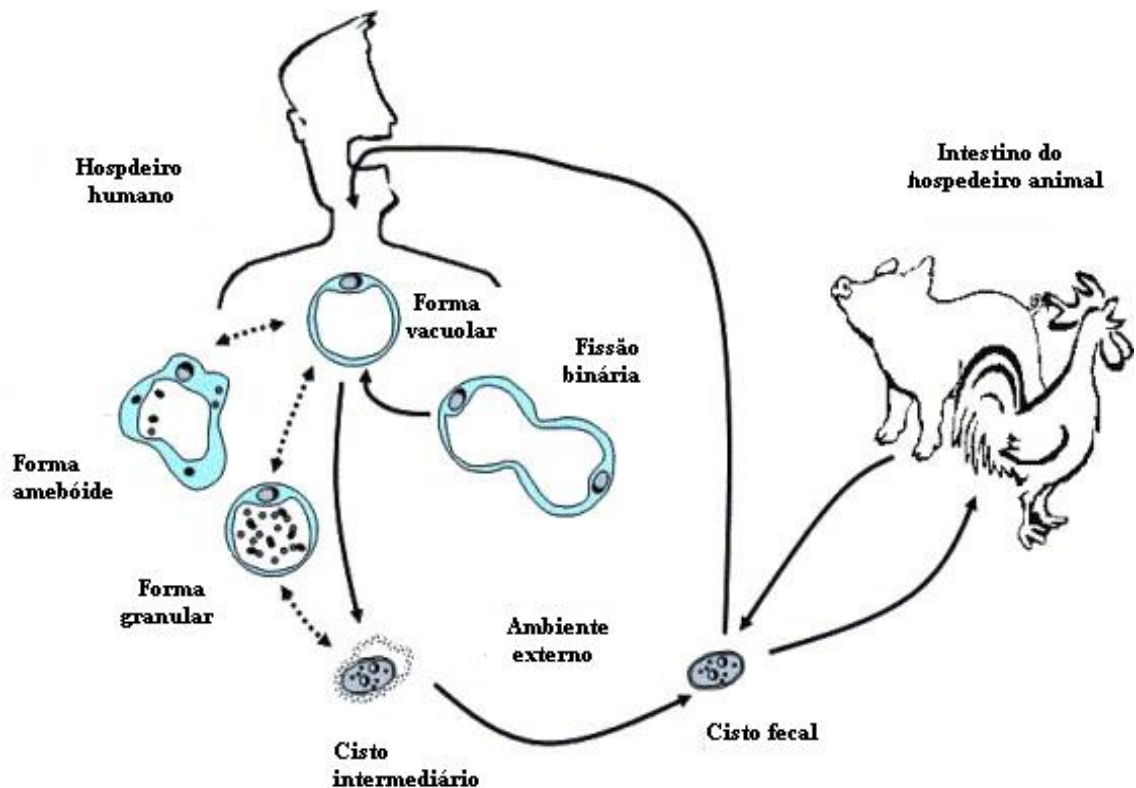


Figura 2. Ciclo de transmissão de *Blastocystis* proposto por Tan (2004)

2.1.4. Morfologia

As formas morfológicas de *Blastocystis*, quando encontradas nas fezes, e examinadas ao microscópio óptico, geralmente mediram entre 4 a 15 μ m, enquanto que as medidas observadas

quando se trabalhou com cultivo de células em meio axênico, variaram de 15 a 25 μ m. Entretanto, poucos são os relatos detalhando a ultra-estrutura das formas deste organismo quando encontrado no exame direto de fezes, sendo os trabalhos que envolvem cultivo celular, os mais utilizados (ZIERDT, 1991).

Além da forma vacuolar, que de acordo com a técnica utilizada para diagnóstico varia de 1 a 200 μ m, possui um vacúolo central; o número de núcleo varia de 1 a 4; vacúolo central ocupando a maior parte do volume da célula (em exame de fezes e cultura). Outras cinco formas para *Blastocystis* podem ser encontradas nas fezes de seus hospedeiros (STENZEL; BOREHAM, 1996)

Forma granular: tamanho variando de 6,5 a 80 μ m; observada em cultura de fezes; vacúolo central presente; 1 a 4 núcleos; pode-se observar granulações no vacúolo central; morfologia similar à forma vacuolar.

Forma multivacuolar: tamanho variando de 5 a 8 μ m; observada em cultura de fezes; vacúolo central ausente; número de núcleos variando de 1 a 2; pequenos vacúolos múltiplos (podem ser muito pequenos para serem observados através de microscopia óptica);

Forma avacuolar: mede aproximadamente 5 μ m; pode ser encontrada no intestino ou nas fezes; vacúolo central ausente; com 1 a 2 núcleos; raramente essa forma é relatada.

Forma amebóide: mede de 2,6 a 7,8 μ m; encontrada em cultura de fezes; vacúolo central ausente; raramente relatada; informações contraditórias sobre sua morfologia.

Forma cística: medindo de 3 a 5 μ m; observada em cultura de fezes; vacúolo central ausente; possui de 1 a 4 núcleos; parede cística presente (MCCLURE et al., 1980, MOE et al., 1990; BOREHAM, 1991; BOREHAM; STENZEL, 1993; SINGH, 1995; STENZEL; BOREHAM, 1996).

2.1.5. Diagnóstico laboratorial

São inúmeros os trabalhos que responsabilizam *Blastocystis* como agente causal de distúrbios gastrintestinal, principalmente em indivíduos imunocomprometidos (BORRAS et al., 1991; PINEL et al., 1999). Entretanto, a frequência deste chromista no Brasil ainda é pouco conhecida. Este fato está relacionado à falta de conhecimento do organismo, uso de técnicas incorretas, ou simplesmente pela importância do seu achado.

O diagnóstico laboratorial de *Blastocystis* é feito pelo método de exame direto das fezes utilizando solução salina 0,85% e solução de lugol, sendo o mais empregado, por ser prático, de baixo custo, e efetivo. A técnica de coloração especial como a hematoxilina férrica, permite uma melhor visualização das estruturas internas do organismo, além de avaliar a diversidade morfológica obtida de concentrações formol-éter (MACPERSON; MACQUEEN, 1994). Suresh et al. (1994), utilizaram laranja de acridina para diferenciação dos estágios de *B. hominis*.

A microscopia óptica continua sendo o padrão para o diagnóstico de *Blastocystis*, embora vários problemas estejam associados a este método. A relação da infecção pode ser estabelecida entre o número de células presente nas fezes (>5 organismos por campo de 40x), e a ausência de outros patógenos (SHEENAN et al., 1986).

A variabilidade em tamanho das formas de *Blastocystis* faz com que o diagnóstico seja uma etapa decisiva, uma vez que a maior dificuldade nos laboratórios em diagnosticar o encontro de espécies deste gênero, é não considerá-lo como patogênico.

A utilização de técnicas que não sejam próprias para o diagnóstico, pode mascarar os resultados (AMATO NETO et al., 2003). Esses mesmos autores, ainda, afirmaram que para melhor evidenciar as formas de *Blastocystis*, seria necessário o emprego do método direto de exame de fezes, e de preparações permanentes, como a hematoxilina férrica ou da tionina.

Alertaram também, que a água e outras soluções lisam o organismo, o que pode levar a um resultado falso-negativo. Neste mesmo trabalho, ao examinarem as fezes de escolares da cidade de São Paulo, onde havia rede de esgoto e água potável, estes autores utilizaram para o diagnóstico o método direto, método de Faust, e o de sedimentação (Hoffmann), além da coloração pela hematoxilina férrica. O resultado serviu para destacar que *Blastocystis* só foi evidenciado pelo método direto, e pela coloração da hematoxilina férrica. Em 2004, estes mesmos autores, trabalharam com escolares da cidade de São Paulo, com padrão de vida classificado como baixo, utilizaram para coleta do material fecal, recipiente que faz parte do sistema “Coprotest”. Além disso, foram empregadas três técnicas de diagnóstico: o exame direto, o de centrífugo-flutuação em solução saturada de sulfato de zinco, e o de sedimentação, e observaram que havia diferenças nos resultados positivos de acordo com a técnica empregada, sendo a mais indicada para o diagnóstico o exame direto.

Atualmente, além da técnica de exame de fezes direto, e o emprego das técnicas de coloração permanente, pode-se também utilizar para auxiliar no diagnóstico, o teste ELISA, e testes de anticorpos fluorescentes (AMATO NETO, 2003; TAN; SURESH, 2005).

Outras técnicas de diagnóstico além das já citadas anteriormente, podem ser empregadas para o diagnóstico de *Blastocystis*, tais como a técnica de coloração como o Sudan III, corante de Quensel, e também a cultura de fezes (SUAREZ; GUZMAN de RONDON, 1994). Os resultados encontrados por estes autores, demonstraram que o exame direto, com o emprego de solução salina 0,85% e solução de lugol, e as colorações utilizando o Sudan III e o corante de Quensel, foram mais sensíveis e específicos do que a cultura de fezes.

Estudos sorológicos têm sido realizados para a obtenção de anticorpos anti-*Blastocystis*. Entretanto, poucos são os relatos e os resultados obtidos. Anteriormente, Chen et al. (1987) descreveram a falta de uma resposta imunológica, embora amostras de quatro pacientes terem

sido analisadas através de teste do “immunoblotting”. Zierdt et al. (1995) analisaram IgG através do teste ELISA, e observaram que dos 28 pacientes estudados, 25 estavam infectados com *Blastocystis*, sendo a diluição de limiar informada como sendo de 1/50. Em outro estudo com paciente com síndrome do cólon irritado (IBS), Hussain et al. (1997), sugeriram que havia relação entre IBS e *Blastocystis*. Além de sugerirem que houve produção de anticorpos da subclasse IgG2 induzidos por fragmentos de superfície do organismo, que foram transportados por meio das células M das placas de Peyer do lúmen intestinal para linfócitos e macrófagos.

2.2. Especificidade aos hospedeiros

Boreham e Stenzel (1993), observaram que o gênero *Blastocystis* tratava-se de uma espécie única parasitando vários hospedeiros inclusive: primatas não humanos, porcos, roedores, pássaros, répteis, anfíbios e insetos, assim como semelhanças morfológicas entre diferentes isolados.

Teow et al. (1991), com base nas diferenças genéticas de temperatura ótima de crescimento (perfis cariótipos), consideraram novas espécies para *B. hominis*, como, *B. lapemi* isolado de serpente marinha *Lapemis hardwickii*. Singh et al. (1991) descreveram em outros répteis inclusive uma píton reticulada (*B. píton*), tartaruga vermelha (*B. geocheloni*), iguana (*B. cycluri*). Chen et al. (1997b), descreveram *B. ratti* em isolados de ratos. Entretanto, os resultados baseados em características distintas de crescimento para isolados de répteis foram realizados através de perfis cariótipos para diferir entre espécies de *B. hominis* (TAN, 2004). Krylov e Belova (1997), sugeriram uma nova espécie *B. lemuri* encontrado nas fezes de primatas da espécie *Lemur catta*.

Estudos realizados por Carbajal et al. (1997), revelaram que os perfis dos cariótipos foram significativamente variáveis entre isolados de *Blastocystis*. Por este motivo, a proposta da

utilização da reação em cadeia da polimerase (PCR) e do estudo do polimorfismo do comprimento dos fragmentos de restrição (RFLP) para distinguir as espécies e as cepas de *Blastocystis* faz-se necessário (HOEVERS et al., 2000; YOSHIKAWA et al., 2000).

A análise de ssRNA ribossomal de oito isolados de *B. hominis* procedente de caprinos, bovinos, ovinos, cobaias e de emas, confirmaram a existência de cinco genótipos nesses isolados compartilhando diferentes hospedeiros. Do mesmo modo, foi observado que múltiplos genótipos podem ser isolados de um único hospedeiro animal. Estes resultados sugerem que *Blastocystis* não possui especificidade a um único hospedeiro e que infecções cruzadas entre diferentes espécies hospedeiras podem ocorrer (SNOWDEN et al., 2000).

O significado das espécies zoonóticas de *Blastocystis* para a blastocistose humana ainda não está claro. Devido à ocorrência única de cistos de *Blastocystis* em animais, e no meio ambiente, é possível que os parasitos de origem zoonótica desempenhem um importante papel na blastocistose humana. De forma que as comparações realizadas por Thathaisong et al. (2003), de análise filogenética obtida de isolados de humanos, suínos e eqüinos, suportam a hipótese de *Blastocystis* ter potencial zoonótico, sugerindo ainda que todos os isolados independente da sua origem podem ser incluídos no mesmo grupo.

A análise de seqüenciamento genético tem sido investigada em relação à taxionomia deste microrganismo frente a diferentes isolados do gênero *Blastocystis* e outros organismos. Com exceção do fator de alongamento EF-1 α que foi realizado por Ho et al. (2001), a maioria destes estudos tem explorado seqüências de DNA de ssRNA para análise filogenética do microrganismo. Para isto tem demonstrado que entre o pequeno grupo de Stramenopiles, *P. lacertae* é o parente mais próximo do gênero *Blastocystis*. Estas observações interessantes sobre filiações filogenéticas de isolados de humanos, e de animais dentro do grupamento onde está

situado *Blastocystis*, foram realizadas por Silberman et al. (1996); Arisue et al., (2002); Noel et al. (2003).

Entretanto, um relato sobre seqüenciamento de *ssrRNA* de 10 isolados de *Blastocystis* obtidos de seis hospedeiros naturalmente infetados (humano, porco, galinha, pato, peru e rato) foram analisados por Noel et al. (2003). Os 10 isolados foram divididos em três grupos, o primeiro grupo incluía dois isolados de humano e um isolado de porco, e obteve alta taxa de identidade através das seqüências de *ssrRNA*, indicando que as cepas humanas (HE87 e Nand) podem ser isolados de suínos, revelando assim que se tratava de uma mesma espécie. O segundo grupo composto de seqüências de isolados de galinha, pato e peru, demonstrou distância evolucionária entre cada isolado comparado com aquelas observadas entre as espécies *Stramenopiles*, sugerindo que se trata de espécies distintas de *B. hominis*, e o terceiro grupo incluiu dois isolados de roedores e um de humano, onde revelou que o isolado humano foi distinto do isolado de roedores.

Com base na especificidade de *B. hominis*, Arisue et al. (2003) assinalaram que as seqüências de *ssrRNA* de 16 isolados de humanos e outros animais poderiam ser divididos filogeneticamente em sete grupos distintos. Estes mesmos autores em 2004 postularam que isolados de *Blastocystis* são espécies distintas, ou que a taxa evolutiva de *ssrRNA* deste gênero está extremamente acelerada. Entretanto, estes dois estudos sugerem fortemente a hipótese de que *Blastocystis* não tem especificidade a um hospedeiro, e pode promover infecção cruzada entre vários hospedeiros animais. Isto implica em que alguns animais como porcos, galinhas e roedores, passem a constituir um grande reservatório em potencial.

Em resumo, essas informações baseadas nas aproximações moleculares suportam que o genoma de vários isolados de *Blastocystis* seja provavelmente heterogêneo, e morfológicamente semelhante ao humano e de outras espécies animais, indicando que podem representar espécies

distintas. Com base nesses estudos, Clarck et al. (1997) e Arisue et al. (2003), confirmam que tal diversidade genética possa responder pela discrepância na virulência deste organismo.

3. Epidemiologia

3.1. Em humanos

Doyle et al. (1990), em estudo prospectivo para avaliar a epidemiologia, e a patogenicidade de *B. hominis* em pacientes examinados em ambulatório de clínica médica em Vancouver no Canadá, selecionaram mediante um questionário 143 indivíduos, onde foi detectado *B. hominis* em 3,2% do material examinado, sem estar associado a outros patógenos.

Segundo Nolla et al. (2005), *B. hominis* se destacou como o segundo organismo de maior ocorrência em manipuladores de alimentos. Isto vem se caracterizando como patologia emergente em pacientes com SIDA, e despertando o interesse de sua pesquisa em amostras clínicas em várias cidades de países da América Latina (AMATO NETO et al., 2003, 2004; CIMERMAN et al., 2003).

Relatos de blastocistose em pessoas imunocompetentes incluem trabalhadores da área de Medicina Veterinária que tem contato direto com animais, viajantes de países desenvolvidos e subdesenvolvidos, (RAJAH et al., 1999).

De acordo com Borda et al. (1996); Wilairatana et al. (1996); Yoshikawa et al. (2000), a transmissão mais comum de *Blastocystis* ocorre de pessoa para pessoa, provavelmente pela rota fecal-oral, o que obviamente contribui para a prevalência deste organismo em locais com precárias condições sanitárias. Entretanto, estudos recentes apontam outras fontes potenciais de infecção, como alimentos e água contaminados, além de alguns insetos, como baratas que podem

efetuar o transporte das formas infectantes deste organismo (NOLLA et al., 2005; TAASMARI et al., 2000; ZAMAN et al., 1993).

De acordo com Devera et al (1998), a infecção por *B. hominis* é reconhecida atualmente como uma das parasitoses intestinal mais prevalente em diversas regiões do mundo. Vários estudos de prevalência já foram realizados, encontrando-se freqüentemente *B. hominis* nas fezes de pessoas com ou sem manifestações gastrintestinais em imunocompetentes e imnuossuprimidos (BRITES et al., 1997; JUNOD, 1995). Entretanto, a falta de correlação entre os grupos determinados e a clínica dos pacientes, torna difícil a comparação, devido à diferença quanto à amostragem populacional, e as técnicas de diagnóstico empregadas (AMATO NETO et al., 2003). De qualquer forma, hipóteses foram sugeridas por vários pesquisadores a partir destes estudos: a) a prevalência é maior em indivíduos imunocomprometidos, especialmente em indivíduos portadores de SIDA, e ocorre transitoriamente em imunocompetentes; b) a prevalência da blastocistose é mais elevada em países subdesenvolvidos; c) a infecção ocorre com maior freqüência em pacientes sob terapia imunossupressiva ou com algum tipo de deficiência imunológica, e em pessoas com desnutrição, do que na população em geral; d) fatores de risco que podem contribuir para a infecção pelo *Blastocystis* incluem: fatores climáticos, deficiência imunológica, exposição ocupacional, condições sanitárias precárias, idade, contato direto com indivíduos infectados, viagens para países em desenvolvimento, e ingestão de água ou alimentos contaminados (BORDA et al., 1996; RAJAH et al., 1999; GAMBOA et al., 2003; CHANDRASENA et al., 2004; MINVIELLE et al., 2004; NOLLA et al., 2005).

Em São Paulo, Amato Neto et al. (2004) encontraram prevalência de 38,3% para *B. hominis* sobre os demais parasitos intestinais pesquisados nas fezes, seguidos de *Entamoeba coli*, *Endolimax nana*, *Giardia lamblia*, *E. histolytica*, *Trichuris trichiura*, *Ascaris lumbricoides*, *Hymenolepis nana* e *Enterobius. vermicularis*.

RAJAH et al. (1999), estudando fatores de risco para casos isolados de blastocistose em indivíduos imunocompetentes na Malásia, constataram que o contato estreito com animais de zoológico foi considerado fator de risco significativo para a infecção por *Blastocystis*.

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

Benetton et al. (1999), em Manaus, Amazonas, relataram uma prevalência de 80% para *B. hominis* em manipuladores de alimentos em feiras livres. Igualmente, em Florianópolis, Nolla et al. (2005) verificaram a ocorrência de *B. hominis* em fezes de manipuladores de alimentos de feiras livres, e encontraram positividade de 28,6% entre os grupos estudados.

Relato de caso-controle de crianças em idade pré-escolar na Jordânia demonstrou uma prevalência para *B. hominis* de 25% nas 250 amostras fecais estudados (NIMRI, 1993).

Aspectos críticos na epidemiologia da blastocistose são as observações históricas de *Blastocystis* e sua ubiqüidade em várias espécies de hospedeiros animais que eliminam em suas fezes cistos que possuem similaridade morfológica com o *B. hominis* (OLSON et al., 2000), e ainda que a blastocistose já foi relatada em diversos países de vários continentes, tanto em pacientes imunossuprimidos como em indivíduos imunocompetente (PINEL et al., 1999).

Os dados de prevalência são 3 a 16% em países desenvolvidos, e uma taxa de 50% em países em desenvolvimento (BOREHAM; STENZEL, 1993). No Japão, Horiki et al. (1997) ao analisarem uma população de 6.422 indivíduos assintomáticos, encontraram 30 (0,5%) infectados por *B. hominis*.

Amato Neto et al. (2004), estudaram a prevalência deste organismo em população infantil, e observaram uma taxa de prevalência (38,3%) mais elevada em crianças com idade escolar entre 6 a 10 anos, uma percentagem expressiva e predominante para *B.hominis*. Nascimento et al. (2005), em trabalho realizado no Distrito de Pitanga, Maringá no Paraná, relataram uma

prevalência maior de *B. hominis* sobre os demais parasitos intestinais encontrados nas fezes, vindo a seguir *E. nana*, *G. lamblia*, *E. coli*, *A. lumbricoides*, *Iadamoeba butschlii*, e *Ancylostoma* sp.

O transporte de microrganismos pelas águas tem apresentado um fator importante no comprometimento de recursos hídricos, e na disseminação de processos infecciosos em populações, especialmente quando sistemas de abastecimentos de águas são precários, aumentando os riscos da população de contrair doenças (CIRIONI et al., 1999; GUIGNARD et al., 2000).

Taasmari et al. (2000), estudando a frequência de *Blastocystis* em população do exército Tailandês, revelaram que o encontro deste organismo foi de 21,9%, sugerindo que a prevalência entre a população de soldados foi significativamente alta quando associada ao consumo de água não filtrada ou água não fervida. O estudo responsabilizou *Blastocystis* como sendo o principal responsável pela contaminação das águas, onde antes vários casos de infecção eram associados à *Giardia* spp. (NIMRI, 1993).

Na Malásia, um estudo das águas superficiais revelou a presença de cistos de *Blastocystis* em 76% da água residual não tratada, e 60% em efluentes de sistema de tratamento de esgoto (SURESH et al., 2005).

3.3. Em animais

A infecção por *Blastocystis* foi relatada ocorrendo naturalmente em primatas não humanos, roedores, pássaros aves de rapina, répteis, anfíbios, gatos, suínos incluindo insetos como baratas (TEOW et al., 1992; BOREHAM; STENZEL, 1993b; STENZEL et al., 1993; QUILEZ et al., 1995; YOSHIKAWA et al., 1998; DUDA et al., 1998; LEE et al., 1999). De

acordo com Thathaisong et al. (2003), a ubiquidade de *Blastocystis*, inclusive em mamíferos, pode desempenhar importante papel zoonótico na blastocistose humana.

Estudos revelaram que certos animais parecem exibir maior prevalência de infecção por *Blastocystis*, incluindo ratos de laboratório (CHEN et al., 1997a), porcos (PAKANDL, 1991; ABE et al., 2002), pássaros (YAMADA et al., 1987, LEE; STENZEL, 1999) e galinhas domésticas (YAMADA et al., 1987). De modo que estudos baseados em aproximações moleculares e análise filogenética revelam que estes grupos de animais têm sido implicados como fonte de transmissão zoonótica. (NOEL et al., 2003 ; ARISUE et al., 2003), Thathaisong et al. (2003) e Abe et al. (2002), relataram que infecções potenciais, assim como a prevalência em outros animais é mais variável. Estudo realizado por Abe et al., (2002) revelaram que infecções por *Blastocystis* podem ser comuns em bovinos (71%) e baixa em cães domésticos (0%). No entanto, QUILEZ et al. (1995) observaram que a prevalência em bovinos foi de 1,8%, enquanto, DUDA et al. (1998), observaram em cães um percentual de 71%.

Pankandl e Pecka (1992), ao trabalharem com isolados de *Blastocystis* obtidos de marrecos domésticos (*Anas platyhynchos f. doméstica*) conseguiram infectar 80% dos adultos e 25% de marrecos jovens. Em Minas Gerais, Mundim et al. (2004) relataram o encontro de *Blastocystis* nas fezes de javali (*Sus scrofa scrofa*) criados em cativeiros.

3.4. Importância em Saúde Pública

No estudo das parasitoses, há de se considerar três fatores, que inter-relacionados determinam a ocorrência da doença: o parasita, o hospedeiro e o ambiente.

Doyle et. al (1990), observaram que 121 (44%) pacientes infectados com *B. hominis* tiveram história de exposição a animais domésticos, e sugeriram assim, que o convívio entre homens e animais facilitaria a transmissão deste organismo.

Hewaldt et al. (2001), ao trabalharem com um grupo de manipuladores de animais na Guatemala, afirmaram que o risco de adquirir a infecção por via fecal-oral seria significativamente maior quando se trabalhava em áreas onde o parasito seria endêmico, corroborando com os resultados encontrados em estudo similar na Malásia, por Rajah Salim et al. (1999) com manipuladores de animais, que constataram uma prevalência de 41 % dos indivíduos infectados por *Blastocystis*.

A hipótese é de que a transmissão deste organismo ocorra devido à forma cística ser protegida por uma grossa parede que facilita sua permanência no meio ambiente por um longo período de tempo (MOE et al., 1996), especialmente quando associada a condições de higiene precária, consumo de água e alimentos contaminados, contato com outros animais infectados, exposição a efluentes ou condições precárias do próprio manejo (BORDA et al., 1996; CIRIONI et al., 1999; RAJAH et al., 1999; ABE et al., 2002).

Alguns fatores biológicos e características próprias de *Blastocystis* relacionados às condições ambientais tais como a temperatura, umidade, vento e solo, são responsáveis pelo sucesso da infecção (GAMBOA et al., 2003) além da exposição aos resíduos de animais, e de humanos que tem contribuído para que este agente assuma um papel importante, tanto em Saúde Pública como em Medicina Veterinária (CIRIONI et al., 1999; ABE et al., 2002). Os ambientes onde há aglomeração como criatórios representam um elo entre ambos, favorecendo a transmissão deste organismo. (MUNDIM et al., 2004).

3.5. Patogenia

Ainda, não está definitivamente confirmada a patogenicidade de *Blastocystis*. Numerosos estudos que implicam ou exoneram este organismo como causa de distúrbios intestinais ainda são contraditórios. No entanto, seria conveniente considerá-lo como potencialmente patogênico. Apesar das revisões realizadas por Zierdt (1991); Boreham e Stenzel (1993); Stenzel e Boreham (1996); Tan et al. (2002), que relatam sinais clínicos e sintomas de infecções não específicas incluindo diarreia, dores abdominais e náuseas, a patogenicidade deste organismo ainda continua obscura. Entretanto, a falta de modelos experimentais não permite que sejam feitos melhores estudos a cerca da patogenicidade deste microrganismo, fazendo com que os fatores de risco referentes a ele sejam em grande parte desconhecidos (AMATO NETO et al., 2003). Contudo, uma vez que quando positivo em exame de fezes, pode ser encontrado co-infectando os indivíduos com outros patógenos, o que dificulta o diagnóstico clínico e descrição de uma sintomatologia específica.

Clark (1997), ao empregar técnica de “riboprinting” para estudo deste organismo, demonstrou que *B. hominis* tem ampla diversidade genética, o que poderia explicar as disparidades encontradas em relação à patogenia do organismo. Além disso, artigos como os de Garcia et al. (1984); Ricci et al. (1984); Lebar et al. (1985); Vanatta et al. (1985); Carbajal et al. (1997a), relataram que a infecção por *B. hominis*, quando da ausência de qualquer outro patógeno conhecido, é elevada nas fezes.

Borras et al. (1991) e Pinel et al. (1999), realizaram estudo sobre a prevalência de *B. hominis* em indivíduos imunossuprimidos e imunocompetentes, e observaram que os resultados não diferiram da população sadia e de pacientes com SIDA, porém obtiveram resultados relevantes principalmente em imunossuprimidos com queixas de hemopatias malignas.

Sheenan et al. (1986) e Carbajal et al. (1997), associaram um grande número de células encontradas nas fezes de pacientes, como forma aguda da doença, e afirmaram que a forma amebóide predomina sobre a vacuolar em quadros diarréicos agudos. Porém, estudos realizados por Narkewicz et al. (1989) afirmaram que não houve diferença de prevalência entre população sintomática e assintomática infectados por *Blastocystis*.

A patogenicidade de *Blastocystis* é controversa por diferentes razões, sendo uma das hipóteses mais comum, a de que ele seja um microorganismo meramente comensal, devido a reações de sintomas na administração de tratamento específico prévio descrito por Kain (1987); Miller e Minshew (1998); Sun et al. (1989); Markell e Udkow (1986), que afirmaram que a remissão dos sintomas a resposta do tratamento, deve-se a eliminação de outro patógeno não detectado, e que seria o verdadeiro responsável pela infecção.

Não se conhecem quais são as determinantes de patogenicidade deste organismo. Entretanto, Garavelli et al. (1991) relataram que a infecção por *Blastocystis* depende da interação entre o sistema imunológico, o micro-ambiente e o intestino do hospedeiro. Eles propuseram uma ação tóxico-alérgica que daria lugar a uma inflamação inespecífica da mucosa colônica. De acordo com Cook (1987); Llibre et al. (1989); Ayadi et al. (1992), existe a hipótese de que a patogenicidade contribuiria com distúrbios nutricionais e digestivos em pacientes imunodeprimidos.

Em estudos anatomopatológicos realizados, foi observada que o parasitismo por *Blastocystis* não é uma infecção entero-invasiva (ZIERDT; TAN, 1976; ZUCKERMAN et al., 1990). Casos de colite e ileite terminal com reação inflamatória inespecífica da lâmina própria foram relatados por Kain et al. (1987), Russo et al. (1988). Galantowicz et al. (1993), observaram ainda, mediante biopsia colônica, colite inespecífica associada a este organismo.

Ainda, de acordo com Zierdt (1991); Boreham e Stenzel (1993), o quadro clínico pode ser leve e autolimitante, agudo ou crônico, com duração que oscila entre 3 a 10 dias e pode persistir durante meses. Outras manifestações clínicas freqüentes são dores abdominais, flatulência náuseas, vômitos e complicações intestinais inespecíficas.

Zierdt e Tan (1976) relataram um caso de morte por diarreia refratária e fulminante, de etiologia desconhecida, o qual o único enteropatógeno observado foi *B. hominis*. Jeddy e Farrington (1991), descreveram um caso de infecção por *B. hominis* em um paciente com colite ulcerativa em fase ativa, com tratamento específico frente as parasitoses desapareceram os sintomas. Além dos estudos realizados por Sheenan et al. (1986); Garavelli et al. (1988 1991); Garcia et al. (1988); Krech et al. (1990); Botet et al. (1992); Fleta et al. (1993), onde estes autores se referiram a eosinofilia periférica. Porém, diversos sintomas inespecíficos têm sido descritos, tais como febre, cefaléia, insônia, anorexia, perda de peso, desidratação, tenesmo (ZIERDT, 1991).

Em pacientes portadores de SIDA, o aparecimento de diarreia crônica, é mais persistente e recidivante (RICCI et al., 1984; COOK, 1987; GARAVELLI; SCAGLIONE, 1989). Existem poucas publicações de infecções de *Blastocystis* associado a quadro extraintestinais. Lee et al. (1990) relataram um caso de artrite em que se visualizou a presença de *B. hominis* em liquido sinovial, associado ao estado de imunodepressão por tratamento antiinflamatório, e disseminação hematogena do organismo.

3.6. Modelo Animal

Apesar de diversos modelos experimentais já terem sido testados para se trabalhar com este organismo, nenhum deles obteve ainda aceitação total da comunidade científica. A

blastocistose já foi estudada em cobaias (PHILLIPS; ZIERDT, 1976), coelhos (YAKIMOFF et al., 1925), e ratos, (YOSHIKAWA et al., 2000).

O modelo animal mais utilizado até o momento para estudar a infecção por *Blastocystis* tem sido camundongo BALB/c. Estes animais podem ser experimentalmente infectados quando jovens, por apresentarem mais susceptibilidade à infecção, porém quando adultos são mais resistentes a este organismo (MOE et al., 1996).

Phillips e Zierdt (1976), ao inocularem por via oral e cecal, *B. hominis* obtidos de meios de cultura obtidos dos meios axênico e não axênico em animais de laboratório comprovaram que somente os cultivos não axênicos produziram nesses animais hiperemia macroscópica, e alterações microscópica da mucosa intestinal. Narkewicz et al. (1989), relataram que a microbiota desempenha um importante papel na patogenicidade deste microrganismo. Entretanto, os estudos realizados por Silard et al. (1977), através da inoculação intrahepática em hamster dourado com uma cepa de *E. histolytica* associada ao *B. hominis*, observaram a presença de forma vacuolar em células do parênquima hepático. Em contrapartida, Moe et al. (1997), não encontraram associação de *B. hominis* invadindo tecido hepático, e mostraram ainda que este organismo foi capaz de causar doença gastrointestinal em camundongos jovens imunocompetentes, e revelaram que não foi exclusivamente dependente de associação com outras bactérias, demonstrando que as formas encontradas tanto em cultivo axênico (cultivo puro) *in vitro*, e formas císticas não cultivadas (xênicas) produziram alterações histopatológica idêntica.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Localização do experimento

O presente estudo foi realizado entre Março de 2004 e Março 2005 na Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), no Laboratório de Coccídios e Coccidioses vinculado ao Projeto Sanidade Animal (Embrapa/UFRRJ).

4.2. Origem das amostras

4.2.1 Amostragens – Foram obtidas 234 amostras fecais por conveniência de 175 cães e 59 gatos com ou sem sintomas de diarreia, atendidos no Instituto de Medicina Veterinária Jorge Vaistman, Bairro de Mangueira, no Município do Rio de Janeiro.

4.2.2 Animais – Participaram da pesquisa, cães e gatos oriundos da região Metropolitana do Rio de Janeiro, Estado do Rio de Janeiro. Os animais pertenciam a diferentes raças, sexo, e idade, sendo divididos em três grupos, de acordo com a idade e sexo, em grupo 1: Animal jovem (0-1 ano de idade); grupo 2: Animal adulto (1-7 anos); grupo 3: Animal senil (acima de 7 anos),

4.2.3 Material coletado – Amostra fecal de cada animal foi coletada e, posteriormente foram armazenadas sob refrigeração em potes plásticos limpos e apropriados para este fim, e devidamente identificados.

4.3. Coleta dos dados

Foi realizada através de uma ficha padronizada utilizada no estudo com informações referente a cada animal (Anexo A).

4.4. Pesquisa pela microscopia óptica

4.4.1. Método direto

Parte das fezes frescas foi homogeneizada com bastão de vidro e emulsificadas na proporção de uma parte de fezes para duas de formol a 10%. Os frascos contendo essa suspensão inicial (diluição 1/3) foram mantidos em temperatura de refrigeração até posterior utilização.

Do restante das amostras foi pesada 1g de fezes de cada animal, e homogeneizada individualmente em um Becker, utilizando-se bastão de vidro, e emulsificadas em 100ml de água destilada, sendo a seguir filtradas em tamis de plástico com gaze dobrada quatro vezes. Em seguida, colocadas em repouso por 30 minutos, sendo o sobrenadante desprezado.

As lâminas foram preparadas a partir do sedimento, retirando-se com pipeta automática (Icell modelo p-213) um volume de 5 μ l que foi colocado sobre uma lâmina, e a seguir adicionou-se uma gota de solução de lugol, sendo em seguida cobertas com lamínula 24x24mm, e examinadas em microscópio binocular em objetiva de 40x.

4.4.1.1 Método de concentração das formas em água destilada

O sedimento foi transferido para tubo de centrifuga com capacidade de 15ml, e completado com 10ml de água destilada, e em seguida vedados com rolha de borracha, e agitados vigorosamente por 10 segundos. Posteriormente centrifugado a 500 giros durante 5 minutos, o sobrenadante foi desprezado.

As lâminas foram preparadas a partir do sedimento. Foram adicionados 5ml de solução salina a 0,85% ao sedimento, e em seguida colocada uma gota de solução de lugol. As lâminas

foram cobertas com lamínula 24x24mm, e observado em microscópio binocular (Carl Zeiss, RFA) em objetiva de 40x.

4.4.2 Método de concentração em solução saturada

Um grama de fezes de cada amostra foi acrescido de 100ml de água destilada, homogeneizado, e passado em tamis de plástico com gaze dobrada quatro vezes. Em seguida, foi retirado 10ml da suspensão água-fezes, colocadas em tubos plásticos, e uma nova centrifugação foi realizada a 250 giros durante 5 minutos.

O sobrenadante foi desprezado, e o sedimento ressuspendido em 8ml de solução saturada de açúcar, com densidade de 1.20. Centrifugados novamente a mesma velocidade e tempo. Após centrifugação, os tubos de 15ml foram completados com a mesma solução saturada, até formar um menisco convexo sobre o bordo do tubo. Em seguida, foi colocada uma lâminula de vidro de 24x24mm sobre este menisco. Após 15 minutos, as lamínulas foram retiradas e colocadas sobre lâminas para o diagnóstico das formas de *Blastocystis* de acordo com Figueiredo (1984). As lâminas foram examinadas com uso de microscópio binocular Carl Zeiss (RFA) em objetiva de 40X.

4.4.3. Mensuração das formas

As mensurações das formas encontradas pelo método de exame direto das fezes de cães e gatos foram realizadas com a utilização de ocular micrométrica K-15X (PZO-Polônia) acoplada a um microscópio binocular em objetiva de imersão (100X), onde foram obtidas as medidas dos Diâmetros Maior (DM) e menor (dm).

4.4.4. Técnicas de coloração

As lâminas foram preparadas a partir da suspensão inicial (método direto), utilizando-se volumes de 5µl do sedimento na confecção de finos esfregaços circulares, com o objetivo de facilitar as avaliações qualitativas das formas de Blastocystis, e examinadas em microscópio binocular utilizando objetiva de imersão (100X).

4.4.5. Tricrtômio de Gomori

Os esfregaços foram fixados em metanol durante cinco minutos, e colocados para secar em temperatura ambiente. Após secarem, as lâminas foram imersas em álcool a 70° GL iodado (iodo metálico) por um período de 10 minutos. Em seguida, foram imersas em álcool a 80° GL por oito minutos. Posteriormente, as lâminas foram cobertas com tricrômio de Gomori por 10 minutos. A seguir, foram diferenciadas no álcool a 90° GL acidificado (ácido acético glacial) por 30 segundos. Em seguida, foram desidratadas em álcool 100° GL durante seis minutos. Após este tempo, elas foram clarificadas em xilol por 10 minutos, e montadas com resina de secagem rápida (Entelan – Merck), e fechadas com lamínulas 24x24 mm.

4.4.6. Hematoxilina férrica

A técnica de coloração de hematoxilina férrica foi feita de acordo com Pessoa (1988) (Anexo B).

4.5. Fotomicrografia

As formas de *Blastocystis* foram fotografadas com auxílio de microscópio triocular JENAPOL (Zeiss Jena, antiga RDA) acoplado com câmara fotográfica modelo f-KAS Automatic-2 e filmes Kodacolor ISSO 100 (Kodak, México) ou câmara digital Sony® Mavica modelo MVC-CD250 (Japão).

4.6. Análise estatística

As medidas das formas encontradas foram analisadas com auxílio do programa Excel (Microsoft®) para medidas de tendência central, e para os testes estatísticos aplicou-se o teste do quiquadrado de acordo com Sampaio (2002). Análise de risco foi calculada, com o emprego do teste odds ratio.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Diagnóstico de *Blastocystis hominis*

5.1.1. Identificação morfológica das formas através de técnicas de coloração e pelo método de exame direto das fezes

Neste experimento, as técnicas de coloração pela hematoxilina férrica e o tricrômio de Gomori foram utilizadas com a finalidade de confirmação de diagnóstico, e foram eficientes na identificação da forma vacuolar de *B. hominis*. Entretanto, a coloração pela hematoxilina férrica permitiu uma melhor visualização das estruturas internas de *Blastocystis*, quando comparada com a coloração pelo tricrômio de Gomori (Figura 3), concordando com os achados de MacPerson e MacQueen (1994); Amato Neto et al. (2003).

Quanto ao emprego do método de exame direto das fezes com solução salina a 0,85% e lugol, foi o método mais rápido e eficiente na detecção das formas encontradas nas fezes dos animais examinados, concordando com os resultados obtidos por Suarez e Guzman deRondon (1994) e Amato Neto et al. (2003; 2004).

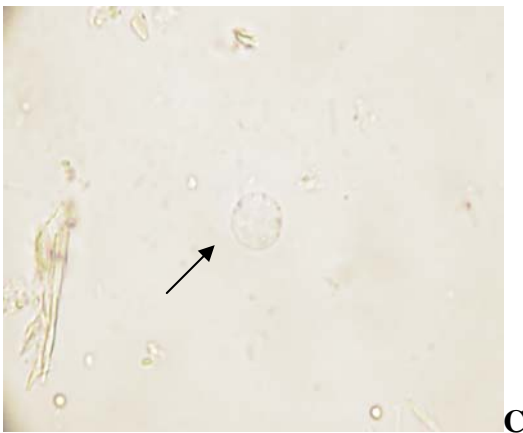
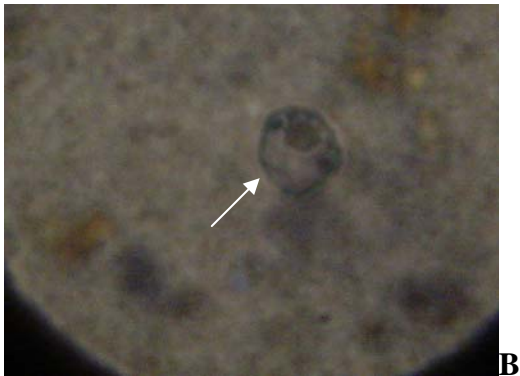


Figura 3. *Blastocystis hominis*. Forma vacuolar com núcleos periféricos. A - Tricrômio de Gomori. B - Hematoxilina férrica. C - Contrastado com lugol.

5.1.2. Aspectos morfológicos das formas de *Blastocystis* encontradas nas duas espécies animais estudadas

Os resultados obtidos neste estudo, através da microscopia óptica utilizando o método de exame direto das fezes em solução salina a 0.85% e lugol (como diferenciador), mostraram a forma vacuolar de *Blastocystis*, como estruturas subesférica, alongada a elipsoidal, concordando com os achados encontrados por Zierdt (1991) e Miller (2003).

5.2. Morfometria da forma vacuolar de *Blastocystis* observada entre as duas espécies animais estudadas

A comparação da forma vacuolar de *Blastocystis* encontradas nas fezes das duas espécies animais estudadas de acordo com a idade e sexo, mostrou haver diferença entre o DM e dm, quando do exame pela microscopia óptica (Tabela 1).

Entre animais da espécie canina, pode-se observar que entre as fêmeas não houve diferença entre as faixas etárias para o DM. Quanto, ao dm não houve diferença para os animais adultos e idosos ($p=0,0569$). Os machos apresentaram uma diferença entre os DM dos animais adultos e idosos ($p>0,0579$), e não houve diferença entre os dm das três faixas etárias estudadas.

Em relação à espécie felina, para as fêmeas, não foi observada diferença entre os DM dos animais jovens e adultos ($p=0,0725$), assim como, para os dm dos animais jovens e idosos ($p\leq 0,0862$).

Tabela 1. Características das formas de *Blastocystis hominis*, obtidas pelo exame direto das fezes

Animais	Forma vacuolar	Medidas (μm)		
		DM	dm	IM ^a
Cães:				
Jovens ♀	subesférica, alongada	12,43±3,05	10,46±2,56	1,18
Adultos ♀	subesférica, alongada	13,80±3,20	12,21±2,56	1,13
Idosos ♀	subesférica, alongada	13,49±3,80	11,57±3,41	1,16
Jovens ♂	subesférica, alongada	10,07±2,62	8,42±2,43	1,19
Adultos ♂	subesférica, alongada	11,24±3,32	9,75±3,10	1,15
Idosos ♂	subesférica, alongada	10,82±2,41	9,19±2,41	1,17
Gatos:				
Jovens ♀	elipsoidal	12,70±5,19	10,50±4,16	1,20
Adultos ♀	subesférica, alongada	12,66±4,04	10,88±3,56	1,16
Idosos ♀	subesférica, alongada	19,93±2,01	16,93±1,72	1,17
Jovens ♂	subesférica, alongada	13,25±3,70	11,81±3,41	1,12
Adultos ♂	elipsoidal	13,15±4,64	10,82±3,67	1,21
Idosos ♂	NV	NV	NV	NV

^aÍndice Morfométrico
NV= Não verificado

Entre aos machos, não houve diferença entre o DM e dm dos animais jovens e adultos. Vale ressaltar, que não se obteve material fecal de animais do sexo masculino idosos neste experimento.

No presente estudo, a forma vacuolar encontrada para *Blastocystis* variou em seu DM entre 10,07 – 13,80µm para cães, e para gatos entre 12,66 – 19,93µm, e para o dm entre 9,19 - 12,21µm e 10,50-16,93µm, para cães e gatos respectivamente, não concordando com os resultados observados por Zierdt (1991), que observou medidas que variaram entre 2 a 200µm. No entanto, elas ficaram próximas às encontradas pelo mesmo autor, no mesmo ano, quando este trabalhou com cultivo de células em meio axênico. E, estiveram de acordo com o trabalho realizado por Miller (2003), que encontrou para o DM valores entre 5 a 30µm, diferindo, no entanto, quanto ao dm onde o autor observou variações entre 8 a 10µm.

Duda et al. (1998), trabalhando com cães e gatos domésticos, observaram para cães forma vacuolar com medidas entre 3 a 10µm (média de 4,5µm), e para gatos variações entre 2 a 10µm (média de 2.8µm), o que não foi observado neste trabalho. Stenzel e Boreham (1996) mencionaram que a medida para a forma vacuolar deste organismo variou de 2 a 200µm (exame de fezes e cultura) dependendo da técnica utilizada para diagnóstico. Entretanto, estes autores, não especificaram as medidas exatas, obtidas no exame direto das fezes.

A dificuldade de se comparar os resultados encontrados referentes à morfologia de *B.hominis* deste estudo com outros trabalhos, esteve justamente relacionada aos poucos relatos na literatura brasileira e mundial, uma vez, que a maioria refere-se a formas obtidas em cultivo celular ou por analogia, ao utilizar biologia molecular.

5.3. Frequência de *Blastocystis* entre as duas espécies estudadas de acordo com a idade e sexo dos animais

A frequência de animais positivos para *B.hominis* entre a espécie canina considerando-se o sexo, foi de 22,66% (17/75) para os machos e 24,00% (24/100) para as fêmeas. Quanto à

espécie felina, a frequência observada para as fêmeas foi de 24,39% (10/41) e 22,22% (4/18) para os machos (Tabela 2).

Entre as fêmeas da espécie canina, a maior frequência observada foi para os animais idosos 42,85% (12/28), e respectivamente para as fêmeas idosas da espécie felina 40,00% (2/5). A menor frequência observada foi para as fêmeas adultas da espécie canina 11,42% e 15,38% para machos adultos da espécie felina.

Em relação ao total de animais positivos para *B. hominis* entre os 175 cães, somente 20 tiveram fezes diarréicas (11,43%), sendo que 12 (60%) animais apresentaram em suas fezes somente formas deste organismo, e os outros oito (40%) estavam associados com *Cryptosporidium* sp. e *Giardia* spp. Entre os 59 gatos, sete animais (11,86%), cinco deles (71,42%) apresentaram em suas fezes somente *B. hominis*, e os outros dois (28,57%) estavam associado com *Giardia* spp., *Cryptosporidium* sp. e ascarídeos.

Os resultados do presente estudo diferem dos encontrados por Chavier et al. (1997), que observaram 4,4% de *Blastocystis* nas fezes de cães que eram encaminhados ao Laboratório do Hospital Veterinário “Ramírez Daza”, sendo que as amostras fecais foram obtidas por conveniência, e em seguida submetidas ao exame parasitológico.

Duda et al. (1998), encontraram uma positividade de 70% para *Blastocystis* sp. em uma população de cães e 67,3% em gatos que viviam em abrigos. Provavelmente a alta frequência encontrada nesses animais ocorreu devido ao estresse a que foram submetidos, além de deficiência nutricional, condições sanitárias não satisfatórias, e o uso de medicação imunossupressora. Quanto à idade, os cães idosos foram os que apresentaram maior positividade para *B. hominis* (35,4%), a hipótese, é de que isto tenha relação ou pode ter ocorrido devido à diminuição da resposta imunológica nestes animais concordando com as observações de Chavier et al. (1997). No entanto, a baixa frequência encontrada em animais idosos da espécie felina, não pode ser explicada devida, o baixo número de material analisado.

Tabela 2. Frequência de *Blastocystis hominis* entre as espécies estudadas

Idade	Cães		Gatos	
	Machos	Fêmeas	Machos	Fêmeas
	N/Positivos	N/Positivos	N/Positivos	N/Positivos
Jovens ^a	06/22 (27,27)	08/37 (21,62)	02/05 (40,00)	03/12 (25,00)
Adultos ^b	06/33 (19,18)	04/35 (11,42)	02/13 (15,38)	05/24 (20,83)
Idosos ^c	05/20 (25,00)	12/28 (42,85)	0/0 (0,0)	02/05 (40,00)
Total	17/75 (22,66)	24/100 (24,00)	04/18 (22,22)	10/41 (24,39)

^a até 12 meses de idade

^b 1 a 7 anos de idade

^c acima de 7 anos de idade

N = Número de animais positivos

5.4. Associação de *Blastocystis* com outros enteropatógenos

Em relação aos enteropatógenos observados juntamente com *B. hominis* parasitando ambas as espécies de animais (Tabela 3), pode-se observar no presente estudo que ancylostomídeos e *Giardia* spp., apareceram com maior frequência em relação aos outros parasitos, tanto em animais jovens quanto em adultos.

Tabela 3. Frequência de outros enteropatógenos associados à *Blastocystis hominis*

Enteropatógenos	Cães ♀						Cães ♂					
	J	%	A	%	S	%	J	%	A	%	S	%
<i>Ancylostomídeos</i>	04	2,28	06	3,42	02	1,14	07	4,00	04	2,28	01	0,57
<i>Ascarídios</i>	-	-	01	0,57	-	-	03	1,71	01	0,57	-	-
<i>Dipylidium caninum</i>	-	-	-	-	-	-	01	0,57	-	-	-	-
<i>Giardia</i> sp.	02	1,14	-	-	-	-	02	1,14	01	0,57	-	-
<i>Cystoisospora</i> sp.	04	2,28	03	1,71	01	0,57	03	1,71	-	-	-	-
<i>Cryptosporidium</i> sp.	-	-	-	-	-	-	02	1,14	-	-	-	-
Total	10	5,70	10	5,70	03	1,71	18	10,27	06	3,42	01	0,57

Enteropatógenos	Gatos ♀						Gatos ♂					
	J	%	A	%	S	%	J	%	A	%	S	%
<i>Ancylostomídeos</i>	-	-	01	1,69	01	1,69	-	-	-	-	-	-
<i>Ascarídios</i>	02	3,38	-	-	-	-	01	1,69	-	-	-	-
<i>Dipylidium caninum</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Giardia</i> sp.	01	1,69	03	5,08	-	-	-	-	03	5,08	-	-
<i>Cystoisospora</i> sp.	02	3,38	02	3,38	-	-	-	-	01	1,69	-	-
<i>Cryptosporidium</i> sp.	-	-	-	-	-	-	01	1,69	-	-	-	-
Total	05	8,45	06	10,15	01	1,69	02	3,38	04	6,77	-	-

5.5. Fatores de risco para a blastocistose

De acordo com Duda et al. (1998), cães e gatos podem atuar como reservatórios da infecção de *B. hominis* para humanos. No entanto, para que a infecção ocorra, alguns fatores relacionados ao meio ambiente, e o estado imune dos indivíduos pode favorecer esta infecção, além do já citado por Garavelli (1989), que sugeriu que a transmissão ao homem ocorria através da água contaminada com fezes dos animais.

Em humanos, *B. hominis* é considerado um problema sério e grave em indivíduos portadores de SIDA (GARAVELLI; SCAGLIONE 1990). Outro fator importante é a manipulação desses animais, além de um sistema sanitário deficiente que contribui de maneira significativa para o

aparecimento da blastocistose (GARAVELLI et al., 1989, 1990; TORRES et al., 1992; QUILEZ et al., 1995; KOUTSAVLIS et al., 2006).

Tan (2004) relatou que entre os organismos transmissíveis pela água, alimentos contaminados e contato com animais, *B. hominis* ainda hoje é o menos avaliado.

No presente estudo, ao se avaliar os fatores de risco que poderiam favorecer a infecção por *B. hominis* em cães e gatos de comportamento domiciliado, observou-se que a idade teve grande importância no aparecimento deste organismo nas fezes desses animais. Quanto à dispersão no meio ambiente de *B. hominis* eliminados nas fezes de cães e gatos ser altamente significativa (Tabela 4), somente se observou risco maior quanto à presença de cães nos domicílios, visto que os gatos têm o hábito de enterrar suas fezes, o que não se observa nos cães, facilitando com isso a dispersão deste organismo no meio ambiente. Além disto, devem-se levar em consideração que para a manipulação desses animais, alguns cuidados básicos de higiene devem ser tomados pelos tratadores, médicos Veterinários, e principalmente pelos indivíduos que têm como companhia esses animais, enfatizando as observações feitas por Tan (2004).

Tabela 4. Números de animais segundo o diagnóstico da infecção por *Blastocystis hominis* frente ao domicílio.

Animal estudado	Positivos		Negativos		Total
	com diarreia	sem diarreia	com diarreia	sem diarreia	
Cães ^a	20	16	38	101	175
Gatos ^b	05	13	32	09	59
Total	25	29	70	110	234

a= $p \leq 0,0025$ OR: 3,32 (1,56 < OR < 7,08) muito significativo

b= $p \leq 0,0004$ OR: 0,11 (0,03 < OR < 0,38 altamente significativo)

6. CONCLUSÕES

Após análise dos resultados, pode-se concluir que:

1. Exame de fezes pelo método direto foi mais eficiente pratico e rápido. Quanto à coloração da hematoxilina férrica, fica com a finalidade de confirma o diagnóstico, esta permitiu uma melhor visualização das estruturas internas deste organismo.
2. Não foi observada nenhuma associação em relação ao quadro de diarréia que alguns animais apresentaram com o encontro de *B. hominis* em suas fezes. Além deste organismo não mostrar especificidade em relação ao sexo entre as espécies estudadas.
3. Os cães idosos se mostraram mais susceptíveis à infecção por este organismo.
4. O presente estudo evidenciou o primeiro achado de *B. hominis* em cães e gatos domiciliados no Brasil.
5. Quanto aos fatores de risco fica como alerta aos proprietários e profissionais da área de Saúde Pública e em especial aos Médicos Veterinários, a observação da necessidade de determinados cuidados que devem ser tomados quanto ao manuseio destes animais. Dada à facilidade com que cães e gatos criados em domicílios possam manter o risco de uma contínua reinfecção deste organismo, principalmente os cães.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABE, N.; NASGOSCHI, M.; TAKAMI, K.; SAWANO, Y.; YOSHIKAWA, H. A survey of *Blastocystis* sp. in livestock, pets, and zoo animals in Japan. *Veterinary Parasitology*, v. 106, n. 3, p. 203-212, 2002.

ALEXIEFF, A. Sur la nature des formations dites “kystes de *Trichomonas intestinalis* “. *Compets. Rendus des séances de la Société de Biologie.*, v. 1, n. 4. p. 296-298, 1911.

AMATO NETO, V.; ALARCON, R. S. R.; GAKIYA, E.; BEZERRA, R. C.; FERREIRA, C. S.; BRAZ, L. M. A. Blastocistose: controvérsias e indefinições. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v. 36, n. 4, p. 515-517, 2003.

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, n.4, p. 354-356, 2004.

ARISUE, N.; HASHIMOTO, T.; YOSHIKAWA, H.; NAKAMURA, G.; NAKAMURA, F.; YANO, T.; HASEGAWA, M. Phylogenetic position of *Blastocystis hominis* and of Stramenopiles inferred from multiple molecular sequence data. *Journal Eukaryotic Microbiology*, v. 49, n 1, p. 42-53, 2002.

ARISUE, N.; HASHIMOTO, T.; YOSHIKAWA, H. Sequence heterogeneity of the small subunit ribosomal RNA genes among *Blastocystis* isolates. *Parasitology* v, 126, n. 1, p. 1-9, 2003.

AYADI, A.; DUTOIT, E.; CAMUS, D. *Blastocystis hominis*: in search of a disease, a misunderstood organism. *La Presse Medicale*. Rewiew. v. 21, n.35, p.1677-1679,1992.

BELOVA, L. M. [*Blastocystis* fauna]. *Parazitologiya*. v. 29, n. 3, p. 208-213, 1995.

BELOVA, L. M.; KRILOV, M. V. [The distribution of *Blastocystis* according to different systematic groups of hosts]. *Parazitologiya* (em russo), v. 32, n. 3, p. 268-276, 1998.

BENETTON, M. L.; PINHEIRO, S.; MACHADO, P.; PAES, M.; SILVA, R.; ODA, W. Prevalência parasitária em manipuladores de alimentos em feiras livres da cidade de Manaus. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v.32, n.1, p.308-309, 1999.

BORDA, C. E.; REA, M. J.; ROSA, J. R.; MAIDANA, C. Intestinal parasitism in San Cayetano, Corrientes, Argentina. *Bulletin Pan American Health Organization*, v.30, n.3, p. 227-33, 1996.

BOREHAM., P. F. L.; STENZEL. D J. Blastocystis in humans and animals morphology, biology, epizootiology. *Advances in Parasitology*, v. 32, p.1-70, 1993.

BOREHAM, R. E.; BENSON, S.; STENZEL, D. J.; BOREHAM, P. F. L. *Blastocystis hominis* infection. *Lancet* ., v.348, n. 9022, p. 272-273,1996.

BORRÁS, R.; ESTEBAN, J.G.; CARVAJAL, L.; A ALSADI, S. H. Estudio comparativo de las parasitosis intestinales humanas: VIH (+) y VIH (-). En: Parasitología en el Sur-Oeste de Europa (I Congreso Internacional de las Asociaciones Sudoccidentales-Europeas de Parasitología (ICASEP I) Mas coma ETEBAN, S.; BARGUES J.G. M. A.; VALERO M. V.; GALÁN-PURCHADES, M. T. (eds). Valencia. 446 p. (1991).

BOTET, J. P.;AUGUET, T.; RUBIÉS-PRAT, J. *Blastocystis hominis*: A controversial enteric protozoon. *Clinical Gastroenterology*, v. 14, n. 1, p. 88, 1992.

BURDEN, D.J.; ANGER, H. S.; HAMMET, N. C. *Blastocystis* sp. infections in pigs. *Veterinary Microbiology*, v. 3, n.3, p. 227-234.1978/1979.

BRITES, C.; BARBERINO, M. G.; BASTOS, M. G.; BASTOS, M. A.; SAMPAIO S.A, M.; SILVA, N. *Blastocystis hominis* as a potencial cause of diarrhea in AIDS patients: a

report of six cases in Bahia, Brasil. Brazilian. *Journal Infectious Diseases*, v. 1, n. 2, 91-94, 1997.

BRUMPT, E. *Blastocystis hominis* n. sp et formes voisines. *Bullettin. Société de . Pathologie. Exotique*, v.5, n.1, p. 724-730, 1912.

CARBAJAL, J. A.; DELCASTILHO, L.; LANUZA, M.; VILLAR, J.; BORRAS, R.. Karyotypic diversity among *Blastocystis hominis*. *International Journal for Parasitology*, v. 27, n.8, p 941-942, 1997.

CAVALIER-SMITH, T. Sagenita and Bigyra, two phyla of heterotrophic heterokont chromists. *Archiv für Protistenkunde*, v. 148. n. 5, p.253-267, 1997.

CAVALIER-SMITH, T. A revised six-kingdom system of life *Biology Rewien*. Cambridge Philosophical Societyv, v.73, p. 203-266, 1998.

CHANDRACENA, T. G.; de ALWIS AC,; de SILVA L D,; MOREL RP,; de SILVA NR. Intestinal parasitoses and the nutritional status of Veddah children in Sri Lanka. *Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health*,. v.35, n.2, p.255-259, 2004.

CHAVIER, H.; HURTADO, O.; ALVAREZ, Z.; PÉREZ, M.; BRITO J. Blastocistosis y otras infecciones parasitarias intestinales en CANINOS. Universidad Centroccidental “Lisandro Alvarado”. Decanato de Ciências Veterinárias. *Laboratório de Patologia Clinica. Unidada de Biotecnologia Animal*. Barquisimeto, Venezuela, v.1, n.3, p. 44-53, 1997.

CHEN, J.; VAUDRY, W.L.; KOWALEWSKA, K.; WENMAN, W. M. Lack of serum immune response to *Blastocystis hominis*, *Lancet*, v.2, n. 31, p. 1021, 1987.

CHEN X. Q.; SINGH, M.; HO, L. C.; TAN, S.W.; NG, G. C.; MOE, K. T.; YAP, E. H. A suvey of *Blastocystis* sp. in rodents. *Laboratory Animal Science*, v. 47, n.1, p.91-94, 1997a.

CHEN, X.Q.; SINGH, M.; HO, L. C.; TAN, S.W.; N.G, G. C.; MOE, K. T.; YAP, E. H. Description of a *Blastocystis* species from *Rattus novergicus*. *Parasitology Research*, v. 83, n.4, p. 313-318.,1997b.

CHEN, X. Q.; SINGH, M.; HOWE, J.; HO, L. C.; TAN, S. W.; YAP, E. H. In vitro encystation and excystation of *Blastocystis ratti*. *Parasitology*, v. 118, n.2, p. 151-160, 1999.

CIMERMAN, S.; LADEIRA, M.C.T.; UILIANO, W.A. Blastocistose: nitazoxanida como uma nova opção terapêutica. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v. 36, n. 3, p. 415-417, 2003.

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, n. 4, p. 387-391, 1999.

CLARCK, C. G. Extensive genetic diversity in *Blastocystis hominis*. *Molecular Biochemistry. Parasitology*, v. 87, n. 1, p.79-83, 1997.

COOK, G. C. Opportunistic parasitic infections associated with the acquired immune deficiency syndrome (AIDS): Parasitology, Clinical Presentation, Diagnosis and Management. *Quartely Journal of Medicine*, v. 65, n. 248. p. 967-983. 1987.

DEVERA, R. *Blastocystis hominis*: o enigma continua. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v. 31, n. 5, p. 491-492, 1998.

DEVERA, R., CERMENO, R. J., BLANCO, Y., MORALES, B. C. M., GUERRA, X., SOUZA DE M., MAITAN, E. Prevalence of blastocistosis y otras parasitosis intestinales em uma comunidade rural Del Estado Anzoátegui Venezuela, *Parasitologia Latino Americana*, v.58, n.3-4, p. 95-100, 2003.

DOYLE, P. W.; HELGASON, M. M.; MATHIAS, R. G.; PROCTOR, E. M. Epidemiology and pathogenicity of *Blastocystis hominis*. *Journal of Clinical Microbiology*;v. 28, n.1, p. 116-121, 1990.

DUDA, A.;STENZEL, D.J.; BOREHAM, P.F.L. Detection of *Blastocystis* sp. in domestic dogs and cats . *Veterinary Parasitology*, v.76, n. 31, p. 9-17, 1998.

FLETA, Z. J.; CLAVEL, P. A.; CASTILHO, G. F. J.; BUENO, L. M.; SARRIÁ, C. A. *Blastocystis hominis* and abdominal pain in childhood. *Anales Espanoles de Pediatria*. Review. Spanish, v.38, n.1, p.13-6, 1993.

GALANTOWICZ, B. B.; ILLUECA, M. D.; LEVY, J.; RAYBURN, J.; WEINSTOCK, L. Neonatal *Blastocystis hominis* diarrhea. *Pediatric infectious disease journal*., V, 12, n. 4, p.345-347. 1993.

GAMBOA, M. I.; BASUALDO, J.A.; CÓRDOBA, M. A.; PEZZANI, P. C.; MINVIELLE, M. C.; LAHITTE, H. B. Distribution of intestinal parasitoses in relation to enviromental and socio-cultural parameters in La Plata. *Argentina*., *Journal of Helminthology*, v. 77, n.1, p.15-20, 2003.

GARCIA, L. S. S.; BRUCKNER, D.A.; CLANCY, M. N. Clinical relevance of *Blastocystis hominis*. *Lancet* , v. 1, n. 8388, p. 1233-1334,1984.

GARCIA, P. L.; BARTOLOMÉ, C. R.; CUENCA, L. R.; SAN, J. L. A. Enteritis por *Blastocystis hominis*. *Medicine Clínica*. v. 91, n. 10, p. 797, 1988.

GARAVELLI, P. L.; SCAGLIONE, L., Blastocistosis. An epidemiological study. *Microbiologica*, v. 12, n. 4, p. 349-350, 1989.

GARAVELLI, P. L, SCAGLIONE, L., *Blastocystis hominis* infection AIDS and correlate pathologie. *Minerva Medica*, v. 81, supl. 7-8, p. 91-92, 1990..

GARAVELLI, P. L. The therapy of *Blastocystis*. *Journal of Chemotherapy*. v. 3, n. 1, p. 245-246, 1991.

GUIGNARD, S.; ARIENTI, H.; FREYRE, L.; LUJAN, H.; RUBINSTEIN, H. Prevalence of enteroparasites in a residence for children in the Cordoba Province. Argentina, *European Journal of Epidemiology*, v. 1, n. 3, p. 287- 293, 2000.

HERWALDT, B. L.; ARROYAVE, H. R.; WALQUIST, S. P.; MERIDA, A. M.; LOPEZ, A. S.; JURANEK, D. D. Multiyear prospective study of intestinal parasitism in a cohort of Peace Corps volunteers in Guatemala. *Journal Clinical Microbiology*, v. 39, n.1, p. 34-42, 2001.

HO, L.C., JEYASEELAN, K., SINGH, M., Use of elongation -1 alpha gene in a polymerase chain reaction-based restriction- fragment-length polymorphism analysis of genetic heterogeneity among *Blastocystis* species. *Molecular and Biochemical Parasitology*, v. 112, n. 2, p. 287-291, 2001.

HOEVERS, J.; HOLMAN, P.; LOGAN, K.; HOMMEL, M.; ASHFORD, R.; SNOWDEN, K. Restriction-fragment-length polymorphism analysis of small-subunit rRNA genes of *Blastocystis hominis* isolates from geographically diverse human hosts. *Parasitology Research*, v. 86, n. 1, p.57-61, 2000.

HORIKI, N.; MARUYAMA, M.; FUJITA, Y.; YONEKURA, T.; MINATO, S.; KANEDA, Y. Epidemiologic survey of *Blastocystis hominis* infection in Japan. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, v. 56, n. 4, p. 370-374, 1997.

HUSSAIN, R.; JAFERI, W.; ZUBERI, S.; BAQAI, R.; ABAR, W.; AHMED, A., ZAMAN, L. Significantly increased IgG2 subclass antibody levels to *Blastocystis hominis* in patients with irritable bowel syndrome. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, v.56, n. 3, p. 301-306, 1997.

JEDDY, T. A.; FARRINGTON. G. H. *Blastocystis hominis* complicating ulcerative colitis. *Journal of the Royal Society of Medicine*, v. 84, n.10, p. 623, 1991.

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, n. 3, p.283-288, 1989.

JUNOD, C. *Blastocystis hominis*: a common commensal in the colon. Study of prevalence in different populations of Paris. *Presse Medical French*, v. 24, n. 36, p.1684-1688, 1995.

KAIN, K. C.; NOBLE, M. A.; FREEMAN, H. J.; BARTELUK, R. L. Epidemiology and clinical features associated with *Blastocystis hominis* infection. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, v. 8, n. 4, p. 235-244, 1987.

KRECH, T.; NGUYEN, X. M.; SPICHER, H. *Blastocystis hominis* in feces: AN assessment of 56 cases. *Schweizerische medizinische Wochenschrift. in German*, v. 120, n. 20, p. 742-744, 1990.

KRILOV, M.V.; BELOVA, L. M. *Blastocystis* from primates. *Parazitologiya, Russian*, v. 31, n. 4, p. 341-345,1997.

KOUTSAVALIS, A.T.; VALIQUETE, L.; ALLARD, R.; SOTO, L. *Blastocystis hominis*: A new pathogen in day-care center? Canada Communicable Disease Report. Disponível em: < <http://www.phac-aspc.gc.ca/publicat/ccdr-rmtc/01vol27/dr09eb.html>.> Acesso em 7 fev2006.

LEBAR, W. D.; LARSEN, E. C. ; PATEL, K. Afebrile diarrhea and *Blastocystis hominis*. *Annals of Internal Medicine*, v. 103, n. 2, p. 306, 1985.

LEE, M. G.; RAWLINS, S.C.; DIDIER, M.; DECEULAER, K. Infective arthritis due to *Blastocystis hominis*. *Annals of the Rheumatic Diseases*, v. 49, n3, p. 192-193, 1990.

LEE, M. G.; STENZEL, D. J. A survey of *Blastocystis* in domestic chickens. *Parasitology Research*, v. 85, n. 2, p. 109-117, 1999.

LLIBRE, J. M.; TOR J.; MANTEROLA, J. M.; CARBONELL, C.; FOZ, M. *Blastocystis hominis* chronic diarrhea in AIDS patients. *Lancet*, v.1, n. 8631, p. 221, 1989.

MCCLURE, H. M.; STROBERT, E. A. G.; HEALY, R. *Blastocystis hominis* in a pig-tailed macaque: a potential enteric pathogen for non-human primates. *Laboratory Animal Science*, v. 30, n 5, p. 890-899, 1980.

MACPHERSON, D. W.; MACQUEEN, W. Morphological diversity of *Blastocystis hominis* in sodium acetate-acetic acid-formalin-preserved stool samples stained with iron hematoxylin. *European Journal of Clinical Microbiology*, v.32, n. 1, p. 267-268, 1994.

MARKELL, E. K.; UDKOW, M. P. *Blastocystis hominis*: pathogen or fellow traveler? *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, v. 35, n. 5, p. 1023-1026, 1986.

MILLER ,R. A., MINSHEW, B. H. *Blastocystis hominis*: an organism in search of a disease. *Reviews of Infectious Diseases*. v.10 n. 5. p. 930-938. 1988.

MILLER, J. Parasites and Pestilence: Infection Public Health Challenges. Disponível em: <http://www.phac-aspc.gc.ca/publicat/ccdr-mtc/01vol27/de2709eb.html>. Acesso em: 7fev2006.

MINVIELLE, M. C.; PEZZANI, B. C.; CORDOBA, M. A.; DE LUCA, M. M.; APEZTEGUIA, M. C.; BASUALDO, J. A. Epidemiological survey of *Giardia* spp. and *Blastocystis hominis* in an Argentinian rural community. *Korean Journal of Parasitology*, v. 42, n. 3, p.121-127, 2004.

MOE, K, T.; SINGH, M.; HOWE , J.; HO, L, C.; TAN, S. W.; Ng, G. C.; CHEN, X.; YAP, Q. E. H.. Observations on the ultrastructure and viability of the cystic stage of *Blastocystis hominis* from human feces. *Parasitology Research*, v. 82, n. 5, p. 439-444. 1996.

MOE, K, T.; SINGH, M.; HOWE , J.; HO, L, C.; TAN S, W., Ng, G. C.; CHEN, X.; YAP, Q. E. H... Experimental *Blastocystis hominis* infection in laboratory mice. *Parasitology Research*, v. 84, n. 4 p, 319-325, 1997.

MUNDIM, M. J.; MUNDIM, A. V.; SANTOS, A. L. Q.; CABRAL, D. D.; FARIA, E. S. M.; MORAES, F. M. Helminhos e protozoários em fezes de javalis (*Sus scrofa scrofa*) criados em cativeiros. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária Zootecnia*, v. 56, n.6, p. 1-6, 2004.

NARKEWICZ, M. R.; JANOFF, E.; N SOKOL, R. J.; LEVIN, M. J. *Blastocystis hominis* gastroenteritis in a hemophiliac with acquired immune deficiency syndrome. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, v.8, n. 1, p.125-128, 1989.

NASCIMENTO, S. A.; MOITINHO, M. D. A. L. *Blastocystis hominis* and other intestinal parasites in a community of Pitanga City, Parana State, Brazil. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, v.47, n.4, p. 213-217, 2005.

NIMRI, L. F. Evidence of an epidemic of *Blastocystis hominis* infections in preschool children in northern Jordan. *European Journal of Clinical Microbiology*, v.31, n.10, p. 2706-2708, 1993.

NOEL, 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, n.1, p.119-123, 2003.

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, n. 2, p. 641-645, 2005.

OLSON, E. M.; GUSELLE, N. Are Pigs Parasites a human Health Risk?. Gastrointestinal Sciences Research Group, Faculty of Medicine, University Of Calgary, Calgary, AB 2000.

PAKANDL, M., Occurrence of *Blastocystis* sp. in pigs. *Folia Parasitologica*, v. 38, n. 4, p. 297-301, 1991.

PANKANDL, M.; PECKA, J. A domestic duck as a new host for *Blastocystis* sp. *Folia Parasitologica*, v. 39, n.1, p. 59-60, 1992.

PESSÔA, S. B.; MARTINS, A. V. *Parasitologia Médica* Guanabara Koogan, Rio de Janeiro. 11ª edição. 1988. 872 p.

PHILLIPS, B. P.; ZIERDT, C. H. *Blastocystis hominis*: pathogenic potential in human patients and in gnotobiotics. *Experimental Parasitology*, v. 39, n. 3, p. 358-364, 1976.

PINEL, C.; REJASSE, C.; PICOT, S.; BRENIER-PINCHART, M. P.; GRILLOT, R.; AMBROISE-THOMAS, P. *Blastocystis hominis*: epidemiological and clinical remarks

from more than 3,500 stool examinations. *Annales de Biologie Clinique*, v. 57, n. 5, p. 601-604, 1999.

QUILEZ, J., CLAVEL, A., SANCHEZ, A., C., CAUSAPE, A. C. Detection of *Blastocystis* sp. in pigs in Aragón (Spain). *Veterinary Parasitology*, v. 56, n. 4, p. 345-348, 1995.

RAJAH, S. H.; KUMAR, S. G.; VELLAYAN, S.; MARK, J.W.; KHAIRUL, A.; INIT, I.; VENNILA, G.D.; SAMINATHAN, R.; RAMAKRISHNAN, K. *Blastocystis* in animal handlers. *Parasitology Research*, v.85, n. 12, p.1032-1033, 1999.

RICCI, N.; TOMA, P.; FURLANI, N.; CASELLI, M.; GULLINI, S. *Blastocystis hominis*: a neglected cause of diarrhoea?. *Lancet*, v.1, n.8383, p.966, 1984.

ROSENBUCH, F. *Blastocystis* en los animales. Rectification etiologica de la Typhlohepatitis en los pavos. *Boletin do. Insituto de. Clinica Quirurgia*, v. 3, n.6, p. 352-354, 1927.

RUSSO, A. R.; STONE, S. L.; TAPLIN, M. E. Presumptive evidence for *Blastocystis hominis* as a cause of colitis. *Archives of Internal Medicine*, v.148, n. 5, p. 1064, 1988.

SALAVERT, M.; ROIO, P.; NIETO, A.; NAVARRO, V.; BORRAS, R. Enterocolitis caused by *Blastocystis hominis* and HIV infection. *Enfermedades Infecciosas y Microbiologia Clinica*, v.8, n. 1, p. 63-64, 1990.

SAMPAIO, I. B. M. Estatística aplicada á experimentação animal. 2^o ed.- Belo Horizonte: Fundação de estudo e pesquisa em medicina veterinária e zootecnia. 265p. 2002.

SHEENAN, D. J.; RAUCHER, B. G.; MCKITICK, J. C. Association of *Blastocystis hominis* with signs and symptoms of human disease. *European Journal of Clinical Microbiology*, v.24, n. 4, p.548-550, 1986.

SILARD, R.; PETROVICI, M.; PANAITESCU, D.; STOICESCU, V. *Blastocystis hominis* in the liver of *Cricetus auratus*. *Archives Roumaines de Pathologie Experimentales et de Microbiologie*, v. 36, n. 1, p. 55-60, 1977.

SILBERMAN, J. D.; SOGIN, M. L.; LEIPE, D. D.; CLARCK, C. G. Human parasite finds taxonomic home. *Nature*, v. 6573, n.380, p. 398, 1996.

SINGH, M.; SURESH, K.; HO, L. C.; NG, G. C.; YAP, E. H. Elucidação of the life cycle of the intestinal protozoan *Blastocystis hominis*. *Parasitology Research*. v. 81, n. 5. p. 446-450. 1995.

SINGH, M.; HO, L. C.; NG, G. C.; TAN, S. W.; MOE, K. T.; YAP, E. H. Axenic culture of reptilian *Blastocystis* isolates in monophasic medium and speciation by karyotypic typing. *Parasitology Research*, v. 82, n. 2, p.165-169, 1996.

SCHAEFER, F. W. Methodos for excystation of Giardia. In "*Giardiasis*". ed. Meyer, E. A., v. 3, n.3, p. 111- 136, 1990.

SNOWDEN, K.; LOGAN, K.; BLOZINSKI, C.; HOEVERS, J.; HOLMAN, P. Restriction-fragment-length polymorphism analysis of small-subunit rRNA genes of *Blastocystis* isolates from animal hosts. *Parasitology Research*, v. 86, n. 1, p. 62-66, 2000.

SOLAYMANI-MOHAMMADI, S.; REZAIAN, M.; HOOSHYAR, H.; MOWLAVI, R.G.; BABAEI, Z.; ANWAR, A. M. Intestinal Protozoa in Wild Boars (*Sus scrofa*) in western Iran. *Journal fo Wildlife Diseases*, v. 40, n. 4, p. 801-803, 2004.

SUAREZ, P. de, E.; GUZMAN de RONDON, C. Morphology of *Blastocystis hominis* in feces and evaluation of parasitological methods. *GEN*, V. 48, N. 4, P. 226-231, 1994.

STENZEL, D. J.; CASSIDY, M. F.; BOREHAM, P. F. L. Morphology of *Blastocystis* sp. isolated from circus animals. *International Journal for Parasitology*, v. 23, n. 5, p.685-687, 1993.

STENZEL, D. J.; BOREHAM, P. F. L. *Blastocystis hominis* revisited. *Clinical Microbiology Reviews*, v. 9, n. 4, p. 563-584.1996.

SUN, T.; KATZ, S.; TANENBAUM, B.; SCHENONE, C. Questionable clinical significance of *Blastocystis hominis* infection. *American Journal of Gastroenterology*, v 84, n.12, p. 1543-1547. 1989.

SURESH, K.; HOWE, J.; N. G, G. C.; HO, L. C.; YAP, , E. H.; SINGH, M. Differentiation of the various stages of *Blastocystis hominis* by acridine orange staining. *International Journal for Parasitology*, v.24, n. 4, p. 605-606, 1994.

SURESH, K.; SMITH, H. V.; TAN, T. C. Viable *Blastocystis* cysts in Scottish and Malaysian sewage samples. *Applied and Environmental Microbiology*. 2005 v.71. n. 9 p. 5619-5620. 2005.

TAASMARI, P.; MUNGTHIN, M.; RANGSIN, R.; TONGUPPRAKARN, B.; AREEKUL, W.; LEELAYOVA, S. Transmission of intestinal blastocystosis related to the quality of drinking water. *Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health*, v. 31, n. 1, p. 112-117, 2000.

TAN, K. S. W.; SINGH, M.; YAN, E. H. Recent advances in *Blastocystis hominis* research: hot spots in terra incognita. *International Journal for Parasitology*, Rewien, v.32, n. 7, p.789-804, 2002.

TAN, K. S. *Blastocystis* in humans and animal: new insights using modern methodologies. *Veterinary Parasitology*, Rewien, v. 126, n. 1-2, p. 121-144. 2004.

TAN, T. C.; SURESH, K. G. Predominance of amoeboid forms of *Blastocystis hominis* in isolates from symptomatic patients. *Parasitology Research*, v. 98, n. 3, p. 1-5, 2005.

TEOW, W. H.; NG, G.C.; CHAN, P. P.; CHAN, Y. C.; YAP, E. H.; ZAMAN, V.; SINGH, M., A survey of *Blastocystis* in reptiles. *Parasitology research*, v.78, n. 5, p. 453-455, 1992.

TEOW, W. L.; ZAMAN, V.; NG, G. C.; CHAN, Y. C.; YAP, E. H.; HOWE, J.; GOPALAKRISHNAKONE, P.; SINGH, M., *Blastocystis* especies from the sea-snake, *Lapemis hardwickii* (serpentes: Hydeophiidae). *International Journal for Parasitology*, v. 21, n.6, p. 723-726, 1991.

THATHISONG U.; WORAPONG, J.; MUNGTHIN, M.; TAN-ARIYA, P.; VIPUTTIGUL, K.; SUDATIS, A.; NOONAI, A.; LEEYOOVA, S. *Blastocystis* isolates from a pig and a horse are closely related to *Blastocystis hominis*. *European Journal of Clinical Microbiology*, v. 41, n. 3, p. 967-975, 2003.

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 of the Valdivia River basin, Chile *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*.v.34. n. 6. p.557-564. 1992.

VANATTA, J. B. ; ADAMSON, D. ; MULLICAN, K. *Blastocystis hominis* infection presenting as recurrent diarrhea.*Annals of Internal Medicine*, v. 102, n. 4, p. 495-496, 1985.

WILAIRATANA, P.; RADOMYOS, P.; RADOMYOS, B.; PHRAEVANISCH, R.; PLOOKSAWASDI, W.; CHANTHAVANICH, P.; VIRAVAN,C.; LOOAREESUWAN, S., Intestinal Sarcocystosis in Thai laborers. Southeast Asian. *Journal Tropical Medical Public Health*, v.27, n. 1, p. 43-46, 1996.

YAMADA, M.; YOSHIKAWA, H.; TEGOSHI, T.; MATSUMOTO, Y.; YOSHIKAWA, T.; SHIOTA, T.; YOSHIDA, Y. Light microscopical study of *Blastocystis* spp. In monkey and fowls. *Parasitology Research*, v.73, n. 6, p.527-531, 1987.

YAKIMOFF, W.; L., WASSILEWSKY, W. I. Au sujet de la blastocystose. *Bulletin Society Pathologic Exotic*, v. 18, n.4, p. 130-132, 1925.

YOSHIKAWA, H.; NAGONO, I.; WU, Z.; YAO, 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, n. 3, p. 153-159, 1998.

YOSHIKAWA, H.; ABE, N.; IWASSAWA, M.; KITANO, S.; NAGANO, I.; WU, Z.; TAKAHASHI, Y. Genomic analysis of *Blastocystis hominis* strains isolated from two long-term health care facilities. *European Journal of Clinical Microbiology*, v. 38, n. 4, p. 1324-1330, 2000.

YOUHANA, S. A.; MARK, A. G.; GOPALAKRISNA, G. S.; CLAIRE, L.; BOMMER, K. E. Invasive *Blastocystis hominis* infection in a child. *Archive Pediatric Adolescent Medicine*, v. 148, n.4, p. 882-885, 1994.

ZAMAN, V.; NG,G.C.; SURESH, K.; YAP, E. H.; SINGH, M., Isoaltion of *Blastocystis* from the cockroach (Dictyoptera: Blattidae). *Parasitology Research*, v. 79, n. 1, p. 73-74, 1993.

ZIERDT, C.H.; RUDE, S. W.; BULL. B. S. Protozoan characteristics of *Blastocystis hominis*. *American journal of clinical pathology*, v. 48, n.5, p. 495-501, 1967.

ZIERDT, C. H. Studies of *Blastocystis hominis*. *Journal of Protozoology*, v. 20, n.1, p. 114-121,1973.

ZIERDT, C. H.; TAN, H. K. Utrastructure and light microscope appearance of *Blastocystis hominis* in a patient with enteric disease. *Zeitscheif für. Parasitenkunde*, v. 50, n.3, p. 277-283, 1976.

ZIERDT, C. H. Pathogenicity of *Blastocystis hominis*. *European Journal of Clinical Microbiology*, v. 29, n. 3. p, 662-663, 1991.

ZIERDT, C. H.; NAGI, B. Antibody response to *Blastocystis hominis* infections. *Annals of Internal Medicine*, v. 118, n. 12, p. 985-986, 1993.

ZUCKERMAN, N. J.; HO, H.; HOOPER, L.; ANDERSON, B.; POLLY, S. M. Frequency of recovery of *Blastocystis hominis* in clinical practice. *Journal of Clinical Gastroenterology*, v. 12, n. 5, p. 525-532, 1990.

Anexo A.

Estudo Prospectivo – *Blastocystis hominis*

Data:/...../.....	Registro:
Nome do Proprietário:	
Endereço:	Bairro:
Município:	Estado: RJ
Nº de Pessoas residentes: () 1; () 2; () 4; () 5; () 6; () mais de 6	
Faixa etária:/...../...../...../...../...../.....	
Dados do Animal:	
Número de animais: () 1; () 2; () 3; () 4; () 5; () 6;	
Espécie: () Felis catus () Canis Familiares Outros Especificar:	
Nome:	
Raça: SRD () Sexo () M () F Idade:	
Tipo de utilidade: () guarda () companhia guarda/companhia () abandonado	
Frequência de Higienização no habitat do animal: () diária () semanal () 15 dias () 20 dias	
Tipo de alimentação: () ração Qual? () ração+ comida cas. () resto alimentar	
Local de Defecação/Urinar: () Peri domiciliar: () Intra- domiciliar: () () Areia () cimentados () rua	
Que frequência o animal vai á rua? () diário () semanal () regularmente	
Fonte de água: () Água/CEDAE () Poço Artesiano () outros	
Apresentou alguma patologia: sim () não () Qual?	
Frequência de vacinações: () Vac. Rotina () Vac. Esp. () Apenas campanha da Raiva	

Anexo B

Tricrômio de Gomori

Os esfregaços das fezes foram fixados em metanol durante 5 minutos e, em seguida, após secarem ao ar; as lâminas foram imersas em álcool a 70° GL iodado (iodo metálico) por um período de 10 minutos. A seguir foram imersas em álcool a 80° GL por 8 minutos. Posteriormente as lâminas foram cobertas com Tricrômio de Gomori por 10 minutos em álcool a 90° GL acidificado (ácido acético glacial) por 30 segundos. Em seguida foram desidratadas em álcool 100⁰ GL durante 6 minutos. Posteriormente foram clarificadas em xilol durante 10 minutos, e montadas com lamínula 24x24mm e resina de secagem rápida (Entelan - Merck) ao final da coloração.

Protocolo: Coloração pela Hematoxilina Férrica

Os esfregaços foram feitos em lamínulas presas por uma das bordas a um pedaço de borracha de forma semicircular, de cerca de 15mm de diâmetro e 3mm de espessura; a lamínula foi presa por este suporte, encaixando-a um entalhe, que se faz na parte plana do mesmo, por meio de bisturi ou lâmina de gilete; a finalidade do suporte de borracha foi facilitar a manipulação do preparado durante os diferentes tempos de fixação e coloração, e permitir a identificação do material mediante a gravação de um número numa das partes do fragmento de borracha; os esfregaços não devem ser muito espessos; se as fezes forem muito líquidas, de modo a não aderirem à lamínula, ou se tratar de cistos retirados com uma metálica de solução de sulfato de zinco, os quais também não aderem ao vidro, deve-se conseguir a aderência emulsionando o material numa gota de soro sanguíneo humano, bovino ou equino. Sem deixar secar os esfregaços, coloca-los com a face contendo o material sobre o fixador de Schaudin com 5% de ácido acético. Os esfregaços devem permanecer no fixador por 15 minutos. Após esse tempo, passar os esfregaços para o álcool a 50% por 10 minutos. Nessa etapa, os esfregaços serão imersos na solução alcoólica com a face contendo o material fecal voltada para cima. Em seguida, transferir os esfregaços para o álcool a 95% por 10 minutos. Findo esse tempo, colocar os esfregaços no álcool iodado, por 15 minutos. Após, transferir os esfregaços para os álcoois a 70 e 50% por 2 minutos cada. Em seguida, lavá-los em água corrente por 2 minutos. Retirar da água, e mordencá-los no alúmen de ferro a 2% a frio por 5 minutos. A seguir, lavá-los na água corrente por 2 minutos. Após a lavagem, cora-los numa solução aquosa de hematoxilina a 0,5% por 5 minutos. Em seguida, lavá-los em água corrente por 2 minutos. Colocar os esfregaços em

solução acética a 7% por 5 minutos. A seguir, diferenciá-los no alúmen de ferro a 2%, até que os esfregaços adquiram uma coloração cinzento-azulada. Lavam-se os esfregaços em água corrente por 15 minutos e, em seguida, eles são desidratados nos álcoois 70, 80, 90% e absoluto, permanecendo 2 minutos em cada um deles. A clarificação é feita em creosoto ligeiramente aquecido e para a montagem definitiva é utilizado o Bálsamo do Canadá. Em seguida foram examinados ao microscópio óptico com auxílio de objetiva de 40X.