



Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ANÁLISES CLÍNICAS

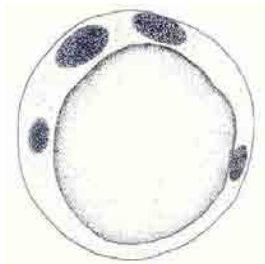
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO – PARASITOLOGIA

DIAGNÓSTICO LABORATORIAL DE BLASTOCISTOSE

HUMANA – OCORRÊNCIA DE *Blastocystis hominis* (BRUMPT, 1912)

EM HABITANTES DA REGIÃO DE ARARAQUARA – SP.

JÚLIO CÉSAR MINÉ



**Dissertação de Mestrado
apresentada à Faculdade de Ciências
Farmacêuticas da Universidade Estadual
Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP
– para obtenção do título de Mestre em
Análises Clínicas – Área de Parasitologia.**

ORIENTADOR: PROF. DR. JOÃO ARISTEU DA ROSA

Araraquara

2005

Este trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Parasitologia do Departamento de Ciências Biológicas e no Laboratório de Parasitologia Clínica do Núcleo de Atendimento à Comunidade, pertencentes à Faculdade de Ciências Farmacêuticas – UNESP – Araraquara, com apoio do CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico), através da concessão da bolsa de mestrado.

Dedico este trabalho aos meus pais José Carlos e Sônia e aos meus irmãos Neto e Tânia, pelo amor e pelo incentivo que me dão na trilha deste sonho.

Vocês são meus exemplos de vida!

AGRADECIMENTOS

Agradeço a todos que auxiliaram de alguma forma para que esse meu trabalho (que é apenas a primeira parte de um sonho) se tornasse real. De modo muito especial, agradeço aos 503 voluntários participantes deste trabalho de pesquisa, sem os quais nada seria possível.

Agradeço ainda...

- Ao Prof. Dr. João Aristeu da Rosa por abraçar a idéia deste trabalho comigo, dispondo-se a me orientar e a me incentivar na carreira acadêmica. Seus ensinamentos, postura, profissionalismo e principalmente a crença no bem das pessoas e no desenvolvimento de nosso país permanecerão sempre comigo.

- À Profa. Dra. Vera Lucy de Santi Alvarenga, da Disciplina de Parasitologia Clínica do Departamento de Análises Clínicas da Faculdade de Ciências Farmacêuticas - UNESP - Araraquara, pela participação e valiosas contribuições durante o Exame Geral de Qualificação, e, durante todo o decorrer desse trabalho. Agradeço pelas palavras amigas nos momentos de incertezas e pelo estímulo e incentivo, mostrando seu amor pela vida acadêmica que é um referencial para mim.

- À Profa. Dra. Silmara Marques Allegrette, da Disciplina de Parasitologia do Instituto de Biologia - UNICAMP, pela amizade e por fazer da Parasitologia a minha paixão. Agradeço pela contribuição durante o Exame Geral de Qualificação e pelas inúmeras conversas desde a época da graduação, sempre me mostrando caminhos e respostas aos meus questionamentos.

- À Maria Zenaide Tita Fernandes, a Zê, pela grandiosa amizade, pela alegria, carinho e ajuda durante o decorrer desse trabalho.

- À Dra. Isabel Martinez, a Bel, pelas dicas, conversas infindáveis, risadas, pelo carinho e ajuda durante o decorrer desse trabalho.

- À Profa. Dra. Márcia da Silva, da disciplina de Química Farmacêutica do Departamento de Fármacos e Medicamentos da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da UNESP - Araraquara, pela grande amizade, pela paciência em ouvir meus desabafos, pelo incentivo, por ser exemplo de competência, profissionalismo e referência, para mim, do que é ser PROFESSOR UNIVERSITÁRIO.

- À Profa. Msc. Rita Ap. David, do Departamento de Engenharia Civil da Faculdade de Engenharia - UNESP - Bauru, pela amizade e por sempre me fazer acreditar no meu sonho de ser docente universitário, que começou a ser planejado em Wenceslau Guimarães - Bahia, quando fizemos parte da equipe do programa Universidade Solidária. Sua postura como coordenadora da equipe, o carinho e a paciência são ainda exemplos para mim. Muito obrigado por tudo!

- À Profa. Dra. Mara Cristina Pinto, da Disciplina de Parasitologia do Departamento de Ciências Biológicas da Faculdade de Ciências Farmacêuticas - UNESP - Araraquara, pela amizade, pelo apoio, por ser exemplo de calma e serenidade e por me auxiliar na escrita do "abstract" deste trabalho.

- À Profa. Dra. Márcia Ap. Silva Graminha da Disciplina de Parasitologia Clínica do Departamento de Análises Clínicas da Faculdade de Ciências Farmacêuticas - UNESP - Araraquara, pela amizade e incentivo.

- Aos alunos do Grupo PET-Farmácia que me ajudaram na conversa com os voluntários desse trabalho no município de Rincão - SP.

- À amiga Marília Carnevali Assoni Cunha que me apresentou, num seminário no HCFMUSP, ao *Blastocystis hominis*, dizendo que faltavam estudos acerca desse protozoário. A partir daí comecei a pensar neste trabalho... Valeu!

- Aos meus amigos: Ana Cláudia Noboli, Stella de Medeiros Ivahy Badaró, Nícolas André Cleto Costa, Vanessa Zambrano, Vânia Hercília Talarico, Lucília Brochado Lepsch, Alexandra Hissae Rocha Shoshima, Daniela Luz Ambrosio, Luís Octávio Regasini, Letícia Marquez Anselmo pelo incentivo e pelo carinho com que sempre me tratam.

- Aos meus amigos de República: Marco Túlio Alves da Silva, Fabrício Ghiraldi, Emerson Tosco, José Roberto Mantoan Júnior e João Marcos Batista Júnior, pela alegria do dia-a-dia e pelo incentivo. Ahhh... o Nícolas sempre fará parte dessa República!

- Aos amigos de República da época de graduação (MASMORRA) que seguiram por outros caminhos no exercício da profissão farmacêutica e que sempre me incentivaram na minha escolha: Gustavo Silva Tavares, Marcos David Gomes de Lima e Jarbas Dercides Rosa Mingorance.

- Aos meus amigos do Programa Universidade Solidária: Carol, Priscila, Bilim, Bongô, Leandro, Urbano, Juliano, Ana Cláudia, Michele pela amizade.

- À Ivone S. Anno por me ensinar a trabalhar num Laboratório de Pesquisa e pela amizade e carinho.

- Aos amigos do Laboratório de Parasitologia do HCFMUSP, em especial à Elenice M. de Nascimento Gonçalves pela amizade, pelos ensinamentos e incentivo.

- Aos funcionários da Biblioteca da Faculdade de Ciências Farmacêuticas.

- À Aparecida Bernadete Rocateli Jesus, a Berna, secretária do Departamento de Ciências Biológicas da Faculdade de Ciências Farmacêuticas - UNESP - Araraquara, pela amizade e por me auxiliar com a parte burocrática da minha pesquisa

- Aos funcionários da recepção do Núcleo de Apoio à Comunidade da Faculdade de Ciências Farmacêuticas - UNESP - Araraquara: Aparecida Dalva C. dos Santos, Cristina Z. Gibran Di Nardo, Sônia Regina de Oliveira e José Germano da Silva, por me receberem tão bem fazendo com que a conversa com os voluntários se tornasse mais fácil.

- Às amigas da Seção de Pós-Graduação da Faculdade de Ciências Farmacêuticas: Cláudia Lúcia Molina, Laura Rosim e Sônia Ornellas Silva, por sempre estarem prontas a me ajudar no que precisei, sempre com muito carinho.

- Às amigas do Laboratório de Parasitologia Clínica do Núcleo de Apoio à Comunidade da Faculdade de Ciências Farmacêuticas - UNESP - Araraquara: Elza Moraes da Silva e Márcia Lúcia Pirasol Vanunci, pela ajuda durante a parte prática deste trabalho e pelo carinho que sempre tiveram comigo.

- Aos amigos, companheiros de pós-graduação do Laboratório de Parasitologia do Departamento de Ciências Biológicas da Faculdade de Ciências Farmacêuticas - UNESP - Araraquara: Hernany Henrique Garcia Justino (Juma), Marinaide Pereira Naegele (Mari) e Marcela Madrona Moretto de Paula pelas conversas, esclarecimentos de dúvidas, por compartilhar as dificuldades e pelas risadas... Essenciais nesse processo!

- Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq pela bolsa de estudos concedida.

- A Deus pela paz na condução desse trabalho e por sempre estar ao meu lado.

“A toda hora rola uma estória
Que é preciso estar atento
A todo instante rola um movimento
Que muda o rumo dos ventos
Quem sabe remar não estranha
Vem chegando a luz de um novo dia
O jeito é criar um novo samba
Sem rasgar a velha fantasia.”

(Paulinho da Viola, Rumos dos Ventos)

ÍNDICE

RESUMO	01
ABSTRACT	02
I – INTRODUÇÃO	03
I. 1. Considerações Gerais	03
I. 2. Parasitoses Emergentes	05
I. 3. <i>Blastocystis hominis</i>	09
II – OBJETIVOS	17
III – MATERIAIS E MÉTODOS	18
III. 1. Fluxograma de trabalho	18
III. 2. Caracterização da região de Araraquara	19
III. 3. População estudada	21
III. 4. Comitê de ética	21
III. 5. Material analisado	22
III. 6. Reagentes e Soluções	22
III. 7. Métodos coproparasitológicos utilizados	25
III. 7. 1. Exame direto a fresco com salina	25
III. 7. 1. 1. Microscopia de Contraste de Fase	26
III. 7. 2. Técnicas de concentração	26
III. 7. 2. 1. Técnica de FAUST e cols.	27
III. 7. 2. 2. Técnica de LUTZ	28
III. 7. 2. 3. Técnica de RUGAI, MATTOS E BRISOLA	29
III. 7. 3. Técnicas de coloração	30
III. 7. 3. 1. Coloração pelo método de tricrômio	30
III. 7. 3. 2. Coloração pela hematoxilina férrica	31
III. 7. 3. 3. Coloração de Kinyoun modificada	33
IV – RESULTADOS	34
V – DISCUSSÃO	46
VI – CONCLUSÃO	58
VII –REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	60
ANEXOS	80

RESUMO

Blastocystis hominis é protozoário causador da infecção intestinal denominada blastocistose humana, cujo diagnóstico é realizado pelo exame coproparasitológico e por meio de técnicas de colorações permanentes que foram utilizadas neste estudo para avaliar a prevalência de *Blastocystis hominis* nos espécimes fecais de habitantes da região de Araraquara – SP. Foram estudadas 503 amostras de fezes submetidas às técnicas de exame direto a fresco, de Faust e cols., de Lutz e de Rugai, Mattos e Brisola, além das colorações pela hematoxilina férrica, tricrômio e de Kinyoun modificada. Do total das amostras analisadas 174 (34,6%) apresentaram-se positivas para a presença de parasitas intestinais. O protozoário e helminto mais freqüentes foram respectivamente: *Entamoeba coli* (14,6%) e *Strongyloides stercoralis* (6,7%). *Blastocystis hominis* foi observado em 23 (4,6%) amostras fecais com consistência predominantemente pastosa, não caracterizando quadro diarréico. Apesar da baixa prevalência de *Blastocystis hominis* encontrada na região de Araraquara, comparativamente a outras regiões brasileiras, é importante a realização do diagnóstico laboratorial desse protozoário. O encontro de *Blastocystis hominis* em material fecal é indicativo de contaminação de alimentos e água de consumo, desde que se admita a rota de transmissão oral-fecal deste parasita, o que implica na orientação da população sobre as medidas de saneamento básico e higiene como meio para se controlar problemas de saúde ocasionados pelos enteroparasitas.

ABSTRACT

Blatocystis hominis is a protozoan which causes an intestinal infection called human blastocistosis. Its diagnosis is performed by stool examination and permanent staining techniques. Such methodologies were carried out on the present study in order to evaluate the prevalence of *Blastocystis hominis* in faecal specimens from the Araraquara region inhabitants. A total of 503 faecal samples were evaluated by the following techniques: examination of fresh specimens, Lutz, Faust et al. and Rugai et al. besides the iron hemotoxylin, trichrome and modified Kinyon staining. Out of 503 stool samples examined 174 (34,6%) were found to be positive for intestinal parasites. The most prevalent protozoan and helminth parasites were *Entamoeba coli* (14,6%) and *Strongyloides stercoralis* (6,7%) respectively. *Blatocystis hominis* was present in 23 (4,6%) stool samples, most of all of soft consistence and without diarrheic reports. *Blastocystis hominis* laboratorial diagnosis is important although its prevalence has been low in Araraquara region. *Blastocystis hominis* findings in faecal specimens indicates the food and water contamination and since the transmission of this parasite is oral-faecal it implies that the population needs orientation about hygiene and basic sanitation conditions in order to control health problems caused by enteroparasites.

I – INTRODUÇÃO

I. 1 – Considerações Gerais:

As enteroparasitoses representam um grave problema de Saúde Pública, sobretudo nos países em desenvolvimento (LUDWIG et al, 1999), em que o crescimento populacional não é acompanhado da melhoria das condições de vida da população (FERREIRA et al, 1997).

As infecções intestinais, determinadas por helmintos e protozoários, acompanham e caracterizam o subdesenvolvimento das populações no campo sanitário, embora, possam ser encontradas em comunidades que apresentem elevado padrão de vida e de cultura. O clima, associado à falta de informações à cerca das condições sanitárias favorece o aumento de casos de enteroparasitoses. (COSTA GURGEL et al, 1992).

Uma das principais fontes de contribuição para contaminação do homem pelos parasitas intestinais encontra-se no solo e na água. O homem parasitado contamina seu próprio ambiente com ovos, cistos, oocistos e larvas dos enteroparasitas quando não dá destino adequado aos seus dejetos, que contaminarão a água, o solo e, por conseguinte os alimentos. A água pode conservar as formas dos parasitas por longos períodos e veiculá-las por longas distâncias; o solo permite seu desenvolvimento a estádios infectantes e os alimentos, quando consumidos crus, trazem os parasitas de volta ao hospedeiro susceptível, o homem.

A falta de uma política de educação sanitária profunda, séria e eficaz, torna o problema das parasitoses intestinais no Brasil muito mais grave. A erradicação dessas parasitoses requer melhoria das condições socioeconômicas, no saneamento básico e na educação sanitária, além de mudanças de certos hábitos culturais (TAVARES-DIAS e GRANDINI, 1999).

No Brasil, as pesquisas sobre as enteroparasitoses demonstram distribuição de freqüências bastante diferentes, de acordo com as condições locais de saneamento, características da amostra analisada e faixa etária da população estudada. VINHA, 1971, cita três fatores principais intimamente relacionados com as infecções parasitárias: o parasito, o hospedeiro e o meio ambiente.

Em nosso país, grandes inquéritos epidemiológicos foram realizados até a década de 1980, e, a partir daí, trabalhos isolados vêm sendo conduzidos em diferentes regiões do Brasil.

Em trabalho desenvolvido em pacientes do Serviço de Cirurgia da cidade de Ribeirão Preto durante o ano de 1980, observou-se que 26,85% dos 1024 exames parasitológicos efetuados apresentaram-se positivos para algum parasita intestinal (KUNZLE et al, 1980).

GIAZZI et al, 1982, ao examinarem 261 amostras de fezes de crianças de 1 a 14 anos, de um núcleo populacional do município de Araraquara – SP e encontraram um total de 209 (80,0%) amostras positivas para a presença de enteroparasitas.

Num estudo multicêntrico conduzido com escolares de 7 a 14 anos de dez Estados brasileiros, foram encontrados 55,3% dos estudantes alguma parasitose, sendo que, a ascaridíase, a trichuriase e a giardíase apresentaram uma distribuição mais regular. Em Minas Gerais, de 5360 indivíduos examinados, 44,2% estavam infectados, sendo os parasitas mais freqüentes, *Ascaris lumbricoides* (59,5%), *Trichuris trichiura* (36,6%), *Giardia lamblia* (23,8%) e *Schistosoma mansoni* (11,6%) (CAMPOS et al, 1988).

Em 1999, TAVARES-DIAS e GRANDINI realizaram um estudo em São José da Bela Vista – SP e dos 1032 exames analisados 458 (44,4%) apresentaram-se positivos para alguma espécie de enteroparasita.

A elevada prevalência de parasitoses intestinais em populações brasileiras mostra a necessidade de diagnóstico laboratorial para determinar a espécie do parasita.

I. 2 – Parasitoses Emergentes:

O avanço científico trouxe valiosas contribuições para a saúde pública no que diz respeito à correta identificação dos agentes parasitários que causam as infecções intestinais. Desse modo, cresce o interesse em um tema que está em voga ultimamente: as parasitoses emergentes.

O termo “emergente” confunde-se, às vezes, com o termo “oportunista”. Diz-se que um parasita é emergente quando seu reconhecimento como patogênico ao homem é recente. Oportunista é aquele que já foi há muito

tempo reconhecido como patogênico, porém necessita de condições de fragilidade do hospedeiro para manifestação da doença parasitária (FERREIRA, et al, 2003).

As parasitoses emergentes, conceitualmente são aquelas que apresentam aumento abrupto da incidência, as que aparecem em novas áreas geográficas ou aquelas que são descritas pela primeira vez (VILLELA, 2003).

Segundo REY, 1999, o termo “infecção oportunista” diz respeito àquelas doenças causadas por microrganismos que vivem no meio ambiente ou por aqueles pertencentes à microbiota humana que habitualmente não são patogênicos ou são pouco patogênicos, mas que se tornam causa de doença grave quando ocorre qualquer forma de enfraquecimento ou ruptura das defesas naturais do paciente contra as infecções.

Com o advento da aids, alguns agentes etiológicos assumem um lugar de destaque, deixando de ser simples comensais, para causarem doenças nos seres humanos, assumindo assim grande relevância como agentes de infecções oportunistas.

Portanto, pode-se entender que as parasitoses emergentes são doenças causadas por parasitas que têm características oportunistas, isto é, apresentam diferentes comportamentos frente à condição de higidez do hospedeiro humano.

Entre os parasitas emergentes, pode-se destacar os protozoários entéricos da Subclasse Coccidia e os do Filo Microspora relatados como responsáveis por inúmeros casos de infecções intestinais refratárias a

medicamentos, que levam o paciente imunodeprimido a reportar diarreia crônica, desidratação e óbito (MANZI e GARCIA-ZAPATA, 2000).

Os coccídeos intestinais *Cryptosporidium parvum* e *Cryptosporidium hominis*, ganharam grande destaque em decorrência de suas conseqüências letais em indivíduos imunodeprimidos (MEINHARDT et al, 1996). *Cyclospora cayetanensis* considerado até meados da década de 90 como sendo o “*Cryptosporidium grande*” é o agente etiológico da ciclosporose, doença caracterizada por diarreia auto-limitada em pacientes imunocompetentes, e, nos pacientes imunodeprimidos a diarreia pode ser prolongada e severa, com alto grau de recorrência, atenuada, porém, com a terapêutica (ORTEGA et al, 1998). *Isospora belli* é o causador da isosporose, cuja sintomatologia não difere daquela apresentada por pacientes parasitados por *Cryptosporidium* e *Cyclospora*, no entanto, mesmo tratando-se de um protozoário restrito ao intestino, há relatos de disseminação em indivíduos com AIDS (CURRY e SMITH, 1998).

Os microsporídeos são organismos intracelulares obrigatórios que, dependendo da espécie, podem parasitar o intestino delgado, trato respiratório, córnea, músculos e placenta. São treze as espécies que parasitam o homem (Quadro 01). Além da enteropatia, várias síndromes clínicas têm sido associadas com a microsporidiose, especialmente em pacientes infectados com HIV. (FERREIRA, et al, 2003).

Quadro 01 – Coccídeos Intestinais e Microsporídeos – diferenças e semelhanças.
Adaptado de FERREIRA, et al, 2003.

Coccídeos Intestinais			Microsporídeos
<i>Cryptosporidium parvum</i> <i>Cryptosporidium hominis</i>	<i>Cyclospora cayetanensis</i>	<i>Isospora belli</i>	<i>Enterocytozoon bieneusi</i> , <i>Encephalitozoon intestinalis</i> , <i>Encephalitozoon hellem</i> , <i>Encephalitozoon cuniculi</i> , <i>Nosema connori</i> , <i>Nosema oculorum</i> , <i>Nosema-símile sp</i> , <i>Trachipleistophora hominis</i> , <i>Trachipleistophora anthropophthera</i> , <i>Pleistophora sp.</i> , <i>Vittaforma córnea</i> , <i>Thelohania-símile sp</i> , <i>Brachiola vesicularum</i>
Ciclo de vida monoxênico			Ciclo de vida monoxênico
Transmissão oral-fecal e de pessoa-a-pessoa	Transmissão oral-fecal. Necessário tempo de esporulação no meio ambiente. Não pode ser de pessoa-a-pessoa		Transmissão oral-fecal, inalação, contato direto, trauma
Oocistos com 4 µm contendo 4 esporozoítas prontamente infectantes	Oocistos com 10 µm contendo 2 esporocistos com 2 esporozoítas cada	Oocistos com 25 µm contendo 2 esporocistos com 4 esporozoítas cada	Esporos com 1 a 2,5 µm

Nesse mesmo contexto está o *Blastocystis hominis*, causador de uma infecção intestinal chamada blastocistose humana.

I. 3 – *Blastocystis hominis*:

O primeiro relato documentado definindo o gênero *Blastocystis* como organismo distinto foi apresentado por ALEXEIEFF em 1911, que descreveu a espécie *Blastocystis enterocola* como um fungo. Porém, em 1909, BENSON já havia observado as formas descritas por ALEXEIEFF e considerou-as como cistos do protozoário *Trichomonas intestinalis*. Em 1912, BRUMPT, examinando fezes humanas, encontra organismos semelhantes aos descritos por ALEXEIEFF e os descreve como uma nova espécie, *Blastocystis hominis* (Figura 01).

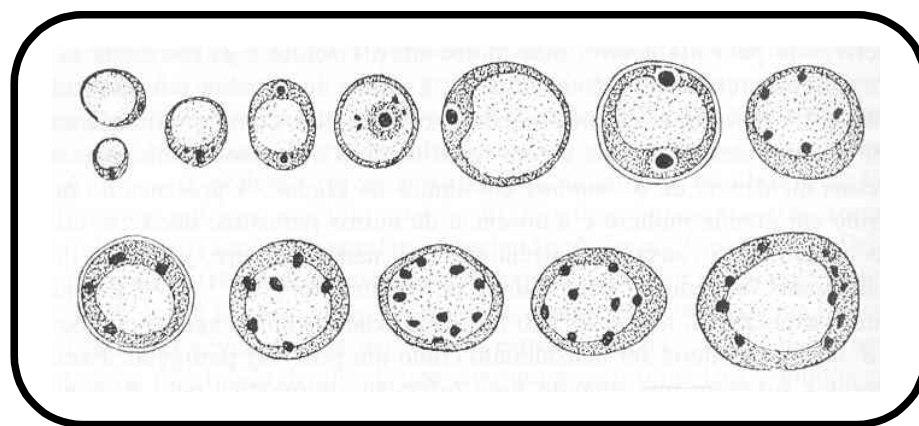


Figura 01 – Formas de *Blastocystis hominis* encontradas nas fezes, segundo Brumpt, 1912. Adaptado de De Carli, 2001.

Estudos sobre a classificação taxonômica do *Blastocystis hominis* têm levado alguns autores a considerá-lo como um protozoário, e como tal, um possível agente etiológico de diarreias em animais (porcos, ratos, aves e répteis) e humanos (TEIXEIRA et al, 1989).

STENZEL E BOREHAN, 1996 relatam a existência de quatro espécies de *Blastocystis* que parasitam hospedeiros não humanos: *Blastocystis galli*, *Blastocystis anatis*, *Blastocystis anseri* e *Blastocystis lapemi*. Não se sabe, no entanto, se estas espécies podem determinar parasitose no homem, sendo o *Blastocystis hominis* a única espécie desse gênero encontrada em fezes humanas.

Há mais de 80 anos se discute a verdadeira posição taxonômica do gênero *Blastocystis* (STENZEL e BOREHAM, 1996).

ZIERDT et al., em 1967, descrevem as primeiras características que definem esse organismo como pertencente ao sub-reino Protozoa, até então considerado como fungo, a saber:

- Estruturais: apresenta mitocôndria e aparelho de Golgi; não possui parede celular, mas uma fina membrana com vesículas e poros; apresenta uma atividade lenta dos pseudópodes; reprodução por divisão binária ou esporulação; núcleo eucariótico bem definido com um distinto cariossoma e uma membrana nuclear bem definida.
- Fisiológicas: anaeróbio restrito; necessita de bactérias para o crescimento sendo capaz de ingerir bactérias e outros detritos, não cresce em agar e nos meios usados para o cultivo das bactérias e fungos; apresenta

temperatura ótima de crescimento à 37°C e não se desenvolve à 24°C; apresenta preferência ao pH neutro, morrendo em pH ácido e é resistente a altas doses de anfotericina B.

Estudos ultraestruturais, fisiológicos e em cultura permitiram que se mudasse *Blastocystis hominis* do reino Fungi para o sub-reino Protozoa (ZIERDT e WILLIAMS, 1974; DE CARLI, 1994).

ZIERDT, em 1978 classificou o *Blastocystis hominis* no Subfilo Sporozoa com base nos métodos de divisão propostos para esse organismo (reprodução por esporulação) e mais tarde, em 1988, o mesmo autor muda a classificação e *Blastocystis hominis* passa a fazer parte do Subfilo Sarcodina, Ordem Amoebida, Subordem Blastocystina.

Estudos taxonômicos e de afinidade filogenética foram inferidos por comparação de seqüências de genes da subunidade menor do RNA ribossômico (ssrRNA) e do fator de alongação 1 α (EF-1 α), e observou-se que *Blastocystis hominis* não pertence à mesma linhagem de *Saccharomyces*, *Neurospora*, *Naegleria*, *Acanthamoeba*, *Dictyostelium*, *Sarcocystis* e *Toxoplasma* (JOHNSON et al, 1989).

JIANG e HE, em 1993, num estudo subsequente propuseram a classificação do *Blastocystis hominis* no novo Subfilo Blastocysta, classe Blastocystea, ordem Blastocystida, família Blastocystidae.

Através dos anos, alguns ciclos biológicos do *Blastocystis hominis* vêm sendo propostos levando em consideração seu modo de reprodução. O mais recente ciclo biológico proposto (STENZEL e BOREHAM, 1996) mostra

claramente o processo de divisão binária, em que a forma cística é transmitida pela via oral-fecal e no intestino do hospedeiro se desenvolve na forma vacuolar que se multiplica por divisão binária.

Não se conhece ainda a origem das outras formas de *Blastocystis hominis* que podem ser encontradas (amebóide e granular). A Figura 02 representa o ciclo biológico proposto para as espécies de *Blastocystis*.

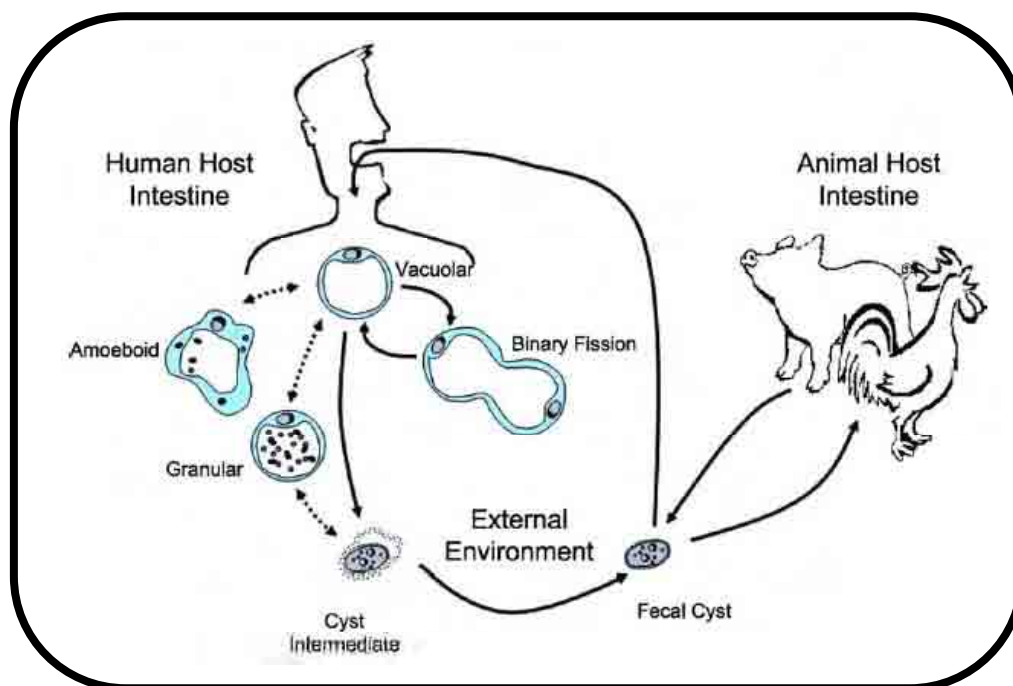


Figura 02 – Ciclo biológico proposto para espécies do gênero *Blastocystis*.

As setas contínuas representam o ciclo de transmissão oral-fecal e a forma de reprodução por divisão binária. As setas pontilhadas demonstram as formas transitórias entre a forma vacuolar e a forma cística, mas que ainda não se sabe como se originam. (TAN, 2004).

A sintomatologia da blastocistose humana não é específica e inclui diarreia, dores abdominais, cólicas, náuseas, febre, vômito, flatulência, entre outros sintomas (ZUCKERMAN et al, 1967; SHEEHAN et al, 1986; GUIRGUES e AL-WAILI, 1987; HUSSAIN QUADRI et al, 1989; DOYLE et al, 1990; ZIERDT, 1991; NIMRI e BATCHOUN, 1994).

Em estudo realizado por UDKOW e MARKELL, 1993, pode-se notar que a prevalência de *Blastocystis hominis* é a mesma em pacientes com e sem sintomatologia. No entanto, em outros estudos realizados por diferentes autores, são mostrados que tal parasita pode causar doença (SHEEHAN et al, 1986; BABB e WAGENER, 1989; NARKEWICZ, 1989; ROLSTON et al, 1989; DOYLE et al, 1990; EL MASRY et al, 1990; GARAVELLI et al, 1991; LAMBERT et al, 1992). Endoscopias e biópsias realizadas mostraram que *Blastocystis hominis* não invade a mucosa dos pacientes humanos, no entanto, edema e inflamação da mucosa intestinal podem estar presentes (DIACZOK e RIVAL, 1987; DOYLE et al, 1990).

Os sintomas devido à infecção por *Blastocystis hominis* têm sido relatados como mais severos nos pacientes com imunodeficiências devido à cirrose alcoólica, hepatite, diabetes, carcinoma e lúpus eritematoso sistêmico do que nos pacientes imunocompetentes (GARAVELLI et al, 1991).

Blastocystis hominis é detectado nas fezes por meio de técnicas corriqueiramente utilizadas nos laboratórios. Costuma-se não relatar no laudo do exame o encontro do *Blastocystis hominis* porque é valorizada a característica de ser um organismo não patogênico e ainda que seu diagnóstico

seja difícil de ser realizado, impondo-se repetição das análises (AMATO-NETO et al, 2003). Esse organismo pode ser visto nas fezes normalmente sob a forma vacuolar, medindo de 6 a 40 μm . É ainda sugerida a presença de formas císticas de parede fina e parede grossa. *Blastocystis hominis* pode ser quantificado (raros, poucos, moderados e muitos) quando reportados em laudos de exames parasitológicos (GARCIA, 1999).

A exigência para o tratamento de *Blastocystis hominis* permanece controversa. Há clínicos que acreditam que se deva proceder ao tratamento quando descartadas outras eventuais causas da sintomatologia apresentada pelo paciente. O metronidazol tem sido empregado comumente para o tratamento da blastocistose (NARKEWICZ ET AL, 1989; ROLSTON ET AL, 1989; ZIERDT, 1991).

Na literatura específica consultada, foram encontradas poucas publicações sobre a prevalência de *Blastocystis hominis* no Brasil.

Em estudo realizado por TEIXEIRA et al, em 1989, na cidade de Campinas – SP, 536 amostras de fezes humanas foram examinadas e a análise final dos resultados revelou uma prevalência de 22,5% de pessoas portadoras de *Blastocystis hominis*, das quais 15,1% revelaram somente a presença deste protozoário nas fezes, enquanto que 6,9% apresentaram-se poliparasitadas.

MOURA et al, em 1989, num estudo com pacientes imunodeprimidos da cidade do Rio de Janeiro, notaram uma prevalência de 2% de *Blastocystis hominis* na população examinada.

GUIMARÃES e SOGAYAR em 1993 encontraram uma prevalência de *Blastocystis hominis* em 34,7% das crianças e empregados de creches de Botucatu – SP submetidos a exames coproparasitológicos.

KOBAYASHI et al, 1995, analisando a prevalência de infecções intestinais causadas por parasitas na cidade de Holambra – SP, relataram positividade de 37,8% de *Blastocystis hominis* em 222 amostras de fezes.

BRITES et al, em 1997, relataram que o parasitismo por *Blastocystis hominis* é uma causa potencial de diarreia em pacientes com AIDS, em Salvador – BA.

AMATO-NETO et al, em 2003, examinaram 307 amostras de fezes de crianças de sete a doze anos de idade matriculadas em escola situada em bairro periférico da cidade de São Paulo – SP e residentes nessa região, contando com boas condições sob o ponto de vista sanitário, das quais fazem parte disponibilidade de água potável e rede de esgotos. Das amostras examinadas, 9,8% apresentaram-se positivas para *Blastocystis hominis*.

Em exame parasitológico de fezes de 227 alunos de uma escola pública de São Paulo – SP, AMATO-NETO et al, em 2004, encontraram 87 (38,3%) amostras positivas para *Blastocystis hominis*.

Tendo em conta que nesses estudos realizados nas cidades de Campinas – SP, Rio de Janeiro – RJ, Botucatu – SP, Holambra – SP, Salvador – BA e São Paulo – SP, foram encontradas formas de *Blastocystis hominis* nas fezes examinadas, que este parasita pode ser causador de patologia humana em pacientes com ou sem sintomatologia, imunodeprimidos ou não e que o

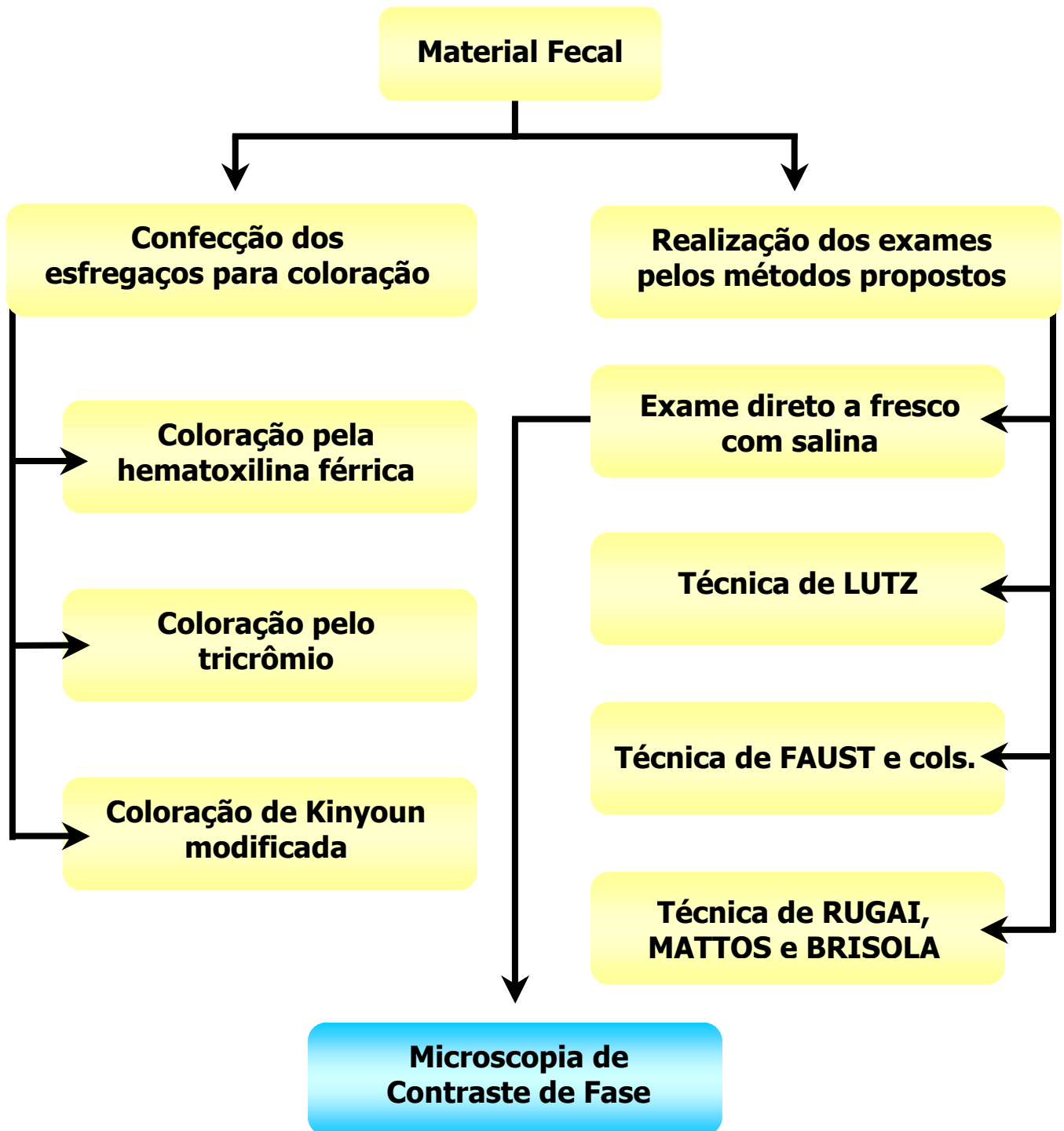
diagnóstico do referido parasita não é realizado corriqueiramente nos Laboratórios de Parasitologia, realizou-se este trabalho, com intuito de contribuir para um melhor entendimento dessa parasitose.

II – OBJETIVOS

- Estudar a prevalência de formas de *Blastocystis hominis* na região da cidade de Araraquara – SP por meio de exame parasitológico de fezes utilizando as técnicas de concentração de LUTZ ou HOFFMAN, PONS e JANER, FAUST e cols. e RUGAI, MATTOS e BRIZOLA, técnicas de colorações permanentes – Hematoxilina férrica (HEIDENHAIN, 1908; FERREIRA, 2003), Tricrômico (GOMORI, 1950) e Kinyoun – Modificado (MARTINEZ e BELDA NETO, 2001) e pelo exame direto a fresco do material fecal (DE CARLI, 2001).
- Verificar a ocorrência de outros parasitas (protozoários e helmintos) que podem eventualmente estar presentes nas fezes.
- Verificar a possível relação entre os achados coproparasitológicos com a característica das fezes examinadas.
- Determinar alguns caracteres epidemiológicos (idade, sexo, procedência) tendo como parâmetro os resultados dos exames realizados.

III - MATERIAIS E MÉTODOS

III. 1- Fluxograma de trabalho:



III. 2- Caracterização da região de Araraquara:

Neste estudo foram examinadas amostras fecais de pessoas provenientes de Américo Brasiliense, Gavião Peixoto, Motuca, Rincão e Araraquara, esta última faz divisa com as demais cidades sendo a maior em território, como se nota na Figura 03.

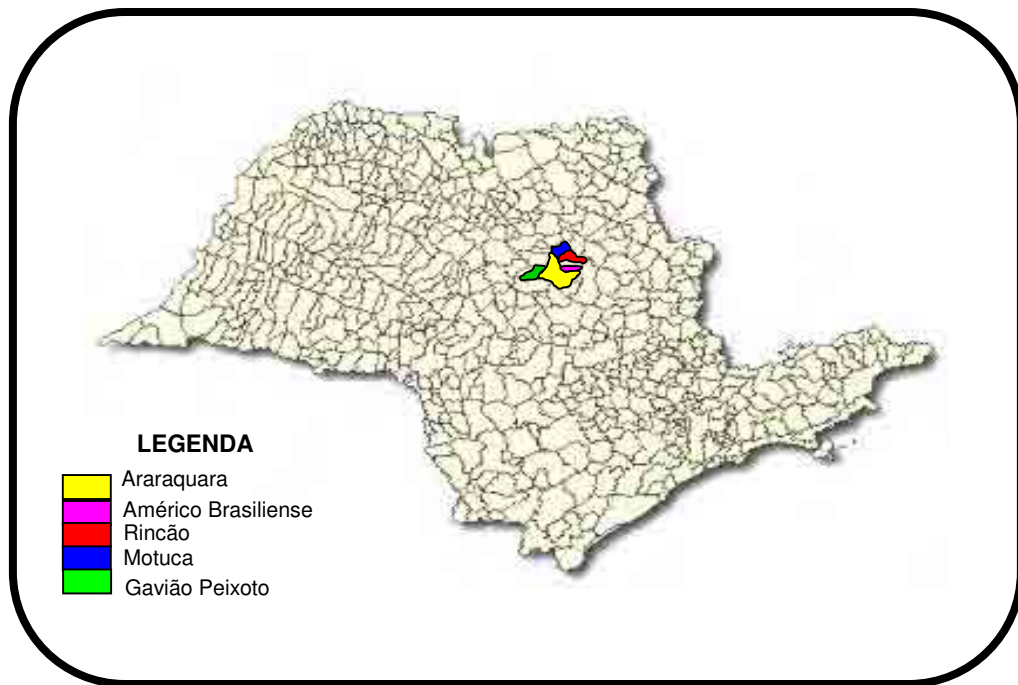


Figura 03 – Limites municipais do Estado de São Paulo. A área colorida delimita os municípios de onde os voluntários da pesquisa são oriundos; todos fronteiros à cidade de Araraquara (em amarelo). Adaptado de IBGE, 2004.

Araraquara é sede da 12ª Região Administrativa do Estado de São Paulo, com área territorial de 1006 Km², tem uma população de cerca de

182500 pessoas, das quais mais de 173500 moram na zona urbana. Cerca de 52000 domicílios possuem abastecimento de água ligado à rede geral, esgoto e lixo coletado. O sistema de abastecimento de água da cidade atende 100% da população por meio da captação de águas superficiais e de poços profundos. As ligações de esgoto atendem a 99% da população araraquarense. Com base nesses dados pode-se inferir que se trata de uma cidade em que os problemas atrelados as parasitoses humanas estão devidamente controlados, porém há dados que mostram cerca de 75 óbitos por ano, devido às doenças infecciosas e parasitárias na cidade (IBGE, 2004).

Américo Brasiliense, município que dista 13 Km de Araraquara, tem área territorial de 123 Km² e população de cerca de 28300 pessoas das quais mais de 97% moram na zona urbana. Cerca de 7300 domicílios possuem abastecimento de água ligado à rede geral, esgoto e lixo coletado. No período de 2000 a 2001 foram registrados no município 17 óbitos por doenças infecciosas e parasitárias (IBGE, 2004).

Distante 43 Km de Araraquara, o município de Gavião Peixoto apresenta área territorial de 244 Km² e população de mais ou menos 4120 pessoas. Somente cerca de 33% da população mora na zona urbana da cidade e por volta de 800 domicílios possuem abastecimento de água ligado à rede geral, esgoto e lixo coletado (IBGE, 2004).

O município de Motuca dista 38 Km de Araraquara e apresenta área territorial de 229 Km². A população residente é de 3871 pessoas das quais

2446 moram em domicílios da zona urbana e por volta de 715 domicílios possuem lixo coletado e são atendidos pela rede de água e esgoto (IBGE, 2004).

Rincão, cidade situada a 31 Km de Araraquara, possui uma população de cerca de 10300 pessoas. A área territorial é de 313 Km². Mais de 75% da população moram na zona urbana e cerca de 2300 domicílios possuem abastecimento de água ligado à rede geral, esgoto e lixo coletado (IBGE, 2004).

III. 3- População estudada:

Foram examinadas 503 amostras de fezes de pessoas de diferentes faixas etárias, sexo e localidades, que procuraram o Laboratório de Parasitologia ou o Núcleo de Atendimento à Comunidade da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade Estadual Paulista – Campus de Araraquara, com base na premissa de que *Blastocystis hominis* é, freqüentemente, relatado em amostras fecais humanas, tanto de pacientes com algum tipo de sintomatologia quanto de pacientes assintomáticos (ASHFORD e ATKINSON, 1992; UDKOW e MARKELL, 1993).

III. 4- Comitê de ética:

O projeto referente a este trabalho (protocolo nº 27/2003) foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de

Ciências Farmacêuticas da Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho / UNESP – Campus de Araraquara (Anexo).

III. 5- Material analisado:

Após explicação prévia sobre a finalidade do trabalho e com a devida autorização por parte das pessoas e dos responsáveis pelas crianças que dele participaram como voluntários, foi realizado o exame coproparasitológico no Laboratório de Parasitologia da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade Estadual Paulista – UNESP – Campus de Araraquara.

Para a colheita das amostras de fezes foram utilizados frascos descartáveis (coletor universal), devidamente identificados com o nome e a idade dos voluntários.

Os resultados foram expedidos em formulários próprios e entregues aos voluntários da pesquisa para imediata avaliação e controle médico.

III. 6- Reagentes e Soluções:

- **Solução Fisiológica:**

Cloreto de Sódio puro	0,90g
Água destilada q.s.p.	100,0 mL

- **Solução de Lugol:**

Iodo	0,5 g
Iodeto de Potássio (puro cristalizado)	1,0 g
Água destilada q.s.p.	100,0 mL

- **Solução de Sulfato de Zinco a 33% (d= 1,180g/ml):**

Sulfato de Zinco	33,0 g
Água destilada aquecida q.s.p.	100,0 mL

- **Fucsina Carbólica de Kinyoun:**

Fucsina básica	4,0 g
Cristais de fenol	8,0 g
Álcool etílico 95%	20,0 mL
Água destilada	100,0 mL

- **Solução de Azul de metileno a 1%:**

Azul de metileno	1,0 g
Água destilada	100,0 mL

- **Solução de álcool-ácido:**

Ácido clorídrico concentrado	0,5mL
Álcool etílico 70%	100,0 mL

- **GOMORI (Corante Tricrômico):**

Chromotrope 2R	0,6g
Light green SF	0,15g
Fast green FCF	0,15g
Ácido fosfotungstico	0,7g
Ácido acético glacial	1,0 mL
Água destilada	100,0 mL

- **Fixador de Schaudinn:**

Preparo da solução saturada de bicloreto de mercúrio (sublimado corrosivo):

Em um balão de vidro pyrex, com capacidade de 2,0 L, aqueceu-se 1,0 litro de água destilada, até à ebulição. Retirou-se o balão de vidro pyrex da fonte de calor e acrescentou-se 70g de bicloreto de mercúrio (Sublimado corrosivo) com o cuidado de não aspirar os vapores. Agitou-se até a dissolução, deixou-se resfriar a temperatura ambiente. Após o resfriamento, o excesso de cloreto de mercúrio precipitou-se sob a forma de cristal, no fundo do balão. A solução sobrenadante foi decantada.

Solução Estoque de bicloreto de mercúrio em etanol:

Bicloreto de Mercúrio (em solução saturada)	200,0 mL (2 partes)
Álcool etílico a 95%	100,0 mL (1 parte)

No momento do uso, misturar:

Solução estoque de bicloreto de mercúrio em etanol 95%	100,0 mL
Ácido acético glacial	5,0 mL

- **Solução de Álcool Iodado:**

Álcool a 70%	98,0 mL
Tintura de iodo 2%	2,0 mL

A tintura de iodo foi preparada dissolvendo-se 2 g de iodo ressublimado em 100 mL de álcool a 95%, acrescentando-se alguns cristais de iodeto de potássio (cerca de 0,2 g).

- **Solução de Alúmen Férnico:**

Sulfato de amônio e ferro III	2,0 g
Água destilada q.s.p.	100,0 mL

- **Solução de Hematoxilina:**

Cristais purificados de Hematoxilina	0,25 g
Álcool a 95%	10,0 mL
Água destilada q.s.p.	100,0 mL

III. 7- Métodos coproparasitológicos utilizados:

Com vistas ao diagnóstico laboratorial da blastocistose humana, foram utilizados métodos de concentração, de coloração permanente e o exame direto a fresco do material fecal. Tais métodos são empregados corriqueiramente em Laboratórios de Parasitologia visando a detecção protozoários e helmintos, que podem ser encontrados nas fezes humanas.

III. 7. 1 – Exame direto a fresco com salina:

Método simples e eficiente para exame de fezes, que permite observar trofozoítos vivos dos protozoários e também permite ao microscopista ter uma visão geral do material que será analisado. Várias formas de desenvolvimento dos parasitas, pelo uso de diferentes soluções, podem ser determinadas e identificadas.

Procedimento:

1. Obteve-se pequena porção de fezes, de vários pontos da amostra fecal, colocou-se sobre uma lâmina de microscopia e homogeneizou-se com solução fisiológica.
2. Observou-se ao microscópio.

III. 7. 1. 1 – Microscopia de Contraste de Fase:

Após a realização do exame direto a fresco, para os casos em que havia uma sugestão de positividade para *Blastocystis hominis*, a mesma lâmina era submetida à microscopia de contraste de fase, em que as estruturas mais densas aparecem claras, enquanto que outras estruturas de densidades próximas a da água aparecem escuras (REY, 2001).

III. 7. 2 – Técnicas de concentração:

As técnicas de concentração figuram entre os procedimentos de rotina, como parte de um exame completo das fezes, para a pesquisa de parasitos e o diagnóstico de um pequeno número de organismos que podem não ter sido vistos, quando se utiliza apenas o exame direto a fresco. Os três objetivos principais das técnicas de concentração são:

1. Aumentar o número de cistos, oocistos, ovos ou larvas nas preparações;

2. Eliminar a maioria dos detritos fecais;
3. Apresentar os organismos em um estado inalterado, facilitando sua identificação.

Essas técnicas são indicadas para separar cistos e oocistos de protozoários, ovos e larvas de helmintos do excesso de detritos fecais por meio de diferenças específicas de densidade (FAUST et al, 1938).

III. 7. 2. 1 – Técnica de FAUST e cols.:

Técnica de centrífugo-flutuação que se fundamenta no princípio da diferença de densidade específica entre ovos de helmintos, cistos e oocistos de protozoários e o material fecal, a fim de que esses organismos flutuem na superfície dos reagentes com densidade específica. Nesse caso, utiliza-se solução de sulfato de zinco a 33%, cuja densidade é 1,180 g/mL.

Procedimento:

1. Preparou-se uma suspensão de 1 parte de fezes para 10 partes de solução fisiológica.
2. Filtrou-se em gaze dobrada 4 vezes.
3. Recolheu-se o filtrado em tubo de centrifugação.
4. Centrifugou-se por 1 minuto a 2.500 rpm.
5. Decantou-se o sobrenadante e ressuspendeu-se o sedimento em \pm 1 mL de solução fisiológica. Completou-se o volume com solução fisiológica.
6. Centrifugou-se novamente, até o sobrenadante tornar-se transparente.

7. Decantou-se o sobrenadante da última lavagem e ressuspendeu-se o sedimento em ± 1 mL de solução de sulfato de zinco a 1,180 g/mL de densidade e completou-se o volume com a mesma solução.
8. Centrifugou-se 1 minuto a 2.500 rpm.
9. O material a examinar foi retirado da película superficial, empregando-se uma alça de platina dobrada em anel. Faz-se 3-4 tomadas, a fim de se obter maior quantidade de material a ser examinado.

III. 7. 2. 2 – Técnica de LUTZ:

O princípio desse método baseia-se na sedimentação espontânea em água ou solução fisiológica, de cistos, oocistos, ovos e larvas. O uso de uma maior quantidade de material fecal nesse processo, propicia a visualização das formas parasitárias.

Procedimento:

1. Em cálice graduado ou copo descartável, homogeneizou-se, com auxílio de bastão de vidro ou palito de madeira, cerca de 2 – 4 g de fezes em ± 20 mL de solução fisiológica;
2. Filtrou-se a suspensão por meio de gaze dobrada 4 vezes, em cálice de fundo cônico apropriado, com capacidade de 125 mL;
3. Completou-se o volume com solução fisiológica e deixou-se em repouso por 2 horas para que ocorra sedimentação espontânea;

4. Após, com auxílio de canudinho (refrigerante), recolheu-se do fundo do cálice, amostra da porção inferior do sedimento, depositou-se sobre lâmina, adicionou-se 1 gota de lugol, cobriu-se com lamínula e a leitura foi realizada em microscópio.

III. 7. 2. 3 – Técnica de RUGAI, MATTOS E BRISOLA:

É fundamentado no hidro e termotropismo das larvas dos nematóides e na sua tendência de sedimentar espontaneamente, quando se encontram em água aquecida a 42° C (40 a 45° C).

Procedimento:

1. Estendeu-se sobre a boca da latinha contendo as fezes um pedaço de gaze dobrada 2 a 4 vezes, conforme a consistência das fezes, e repuxou-se as extremidades da gaze para trás da lata, formando uma "trouxinha".
2. Emborcou-se a "trouxinha" com a abertura voltada para baixo em cálice cônico com capacidade de 125 mL, fixando-a por pressão contra as paredes, em posição levemente inclinada.
3. Encheu-se o cálice com água aquecida a 45° C (42° C no interior do cálice), até que o nível de água alcance as fezes contidas na "trouxinha" emborcada.
4. Deixou-se em repouso cerca de 90 minutos. As larvas, quando presentes, dirigiam-se para o fundo do cálice.

5. Sem retirar a trouxinha”, introduziu-se até o fundo do cálice um canudinho; deixou-se penetrar rapidamente no canudinho cerca de 3 mL de líquido, fechou-se novamente o canudo e depositou-se o material coletado em vidro de relógio.
6. Observou-se em microscópio com pequeno aumento (objetiva de 4 a 5 vezes).

III. 7. 3 – Técnicas de coloração:

Para realizar as técnicas de colorações, primeiramente as amostras foram centrifugadas a fim de se obter um esfregaço com maior quantidade de formas parasitárias.

III. 7. 3. 1 – Coloração pelo método de tricrômio:

A coloração tricrômica é recomendada para os trabalhos de rotina. Tal método demonstra detalhes do citoplasma e do núcleo. O citoplasma dos cistos e trofozoítas, realmente fixados, e bem corados tomam a cor verde-azulada, com um matiz purpúreo. O fundo usualmente cora-se em verde, contrastando com o protozoário (DE CARLI, 1994).

Procedimento:

1. Confeccionou-se esfregaço delgado em lâmina e imergiu-se no fixador de Schaudinn por 5 minutos.

2. Imersão em álcool 70% por 5 minutos.
3. Imersão em álcool-iodado por 2 a 5 minutos.
4. Imersão em álcool 70% por 5 minutos.
5. Imersão no corante de Tricrômico (GOMORI) por 10 minutos.
6. Imersão em solução de álcool-ácido (álcool 90% + ácido acético 1%) por 5 a 10 minutos.
7. Imersão em álcool 70% por 5 minutos.
8. Imersão em álcool 90% por 5 minutos.
9. Montou-se com resina sintética e observou-se o esfregaço corado ao microscópio.

III. 7. 3. 2 – Coloração pela hematoxilina férrica:

Recomendada nos trabalhos de rotina para pesquisa de protozoários intestinais. Tal método demonstra organismos corados em azul ou cinza com estruturas nucleares pretas. O material de fundo usualmente cora-se em azul-acinzentado.

A hematoxilina é um corante natural, extraído de *Hematoxylon campechianum*, da família Leguminosae. Antes do uso ela deve transformar-se, por oxidação, em hemateína, que reage com o sulfato férrico-amônio para produzir a laca férrica (hematoxilina férrica), um corante básico. (FERREIRA, 2003).

Nessa técnica é utilizada a hematoxilina como corante e a solução de sulfato férrico amoniacal como mordente e diferenciador.

Procedimento:

1. Confeccionou-se esfregaço delgado em lâmina e imergiu-se no fixador de Schaudinn por 5 minutos.
2. Álcool iodado por 1 minuto.
3. Álcool a 95% por 1 minuto.
4. Lavagem em água corrente por 1 minuto.
5. Imersão no mordente, alúmen de ferro 2%, por 3 minutos.
6. Lavagem em água corrente por 1 minuto.
7. Imersão em solução de Hematoxilina por 5 minutos.
8. Lavagem em água corrente por 1 minuto.
9. Diferenciação em alúmen de ferro 2%: Tempo variável, até que o esfregaço adquira uma coloração cinzento-azulada clara.
10. Lavagem em água corrente por 2 minutos.
11. Álcool a 95% por 2 minutos.
12. Álcool (absoluto) por 2 minutos.
13. Montou-se com resina sintética e observou-se o esfregaço corado ao microscópio.

III. 7. 3. 3 – Coloração de KINYOUN modificada:

Recomendada para a pesquisa de coccídeos parasitas intestinais. Os oocistos apresentam coloração do rosa ao vermelho e o fundo da preparação é corado em verde-azulado.

Procedimento:

1. Realizou-se procedimento de concentração por meio da técnica de Coprotest[®], que consiste na centrífugo-sedimentação do material fecal em solução de acetato de etila.
2. Confeccionou-se esfregaço fino e deixou-se secar à temperatura ambiente.
3. Imersão em metanol (fixador) por 5 minutos.
4. Corou-se com Fucsina Carbólica de Kinyoun por 3 minutos.
5. Lavou-se cuidadosamente com água destilada.
6. Gotejou-se solução álcool-ácida sobre o esfregaço, até que esta solução escorresse pela lâmina e se tornasse incolor.
7. Lavou-se cuidadosamente com água destilada.
8. Contra-corou-se com solução de Azul de metileno a 1% por 1 minuto.
9. Lavou-se com água corrente, secou-se à temperatura ambiente.
10. Examinou-se ao microscópio óptico comum em objetiva de imersão (1000X)

IV – RESULTADOS

Foram examinadas 503 amostras de fezes trazidas ao Laboratório de Parasitologia da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da UNESP – Campus de Araraquara de pacientes de ambos os sexos, de diferentes idades e procedências, no período de janeiro a dezembro de 2004.

O material fecal foi submetido às técnicas de concentração de Faust e cols., de Lutz e de Rugai e cols. e observado por microscopia óptica comum. Foram confeccionados esfregaços fecais para proceder técnicas de colorações permanentes (hematoxilina férrica, tricrômio e Kinyoun modificada). Também foi realizado o exame direto do material fecal e quando havia sugestão de positividade para *Blastocystis hominis* a lâmina era submetida à microscopia de contraste de fase, totalizando mais de 3500 exames.

Dentre as 503 amostras fecais analisadas, 325 eram de pessoas do sexo feminino e 178 do sexo masculino, correspondendo a 64,6% e 35,4% do total de voluntários da pesquisa, respectivamente.

A distribuição das diferentes faixas etárias pode ser visualizada na Tabela 01:

Tabela 01 – Distribuição das faixas etárias dos voluntários submetidos a exames coproparasitológicos, Araraquara, 2004.

Faixa etária (em anos)	Frequência	%
< 1	10	1,9
1 – 4	87	17,3
5 – 14	80	15,9
15 – 24	96	19,1
25 – 34	98	19,5
35 – 44	60	11,9
45 – 54	27	5,4
55 – 64	25	5,0
64 – 74	11	2,2
75 e mais	9	1,8
TOTAL	503	100,0

Avaliando a variável faixa etária, observou-se que a grande maioria dos pacientes que procuraram o Laboratório de Parasitologia da Faculdade de Ciências Farmacêuticas – UNESP, Araraquara para realizar o exame parasitológico e aceitaram participar desta pesquisa 421 (83,7%) tinham idade entre 1 e 44 anos, e dentro desse intervalo de idade, 254 (50,5%) pertencem ao intervalo etário de 15 a 44 anos, representando a camada economicamente ativa da população e também mulheres grávidas, em que a possibilidade de estar parasitado por algum protozoário ou helminto, representa um déficit na saúde que pode atrapalhar a produção no trabalho e trazer problemas às gestantes.

O Laboratório de Parasitologia da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da UNESP – Araraquara atende freqüentemente pacientes de

diferentes cidades da região da cidade de Araraquara. Na Figura 04 pode-se observar a procedência das amostras de fezes trazidas ao referido Laboratório e que foram objeto deste trabalho:

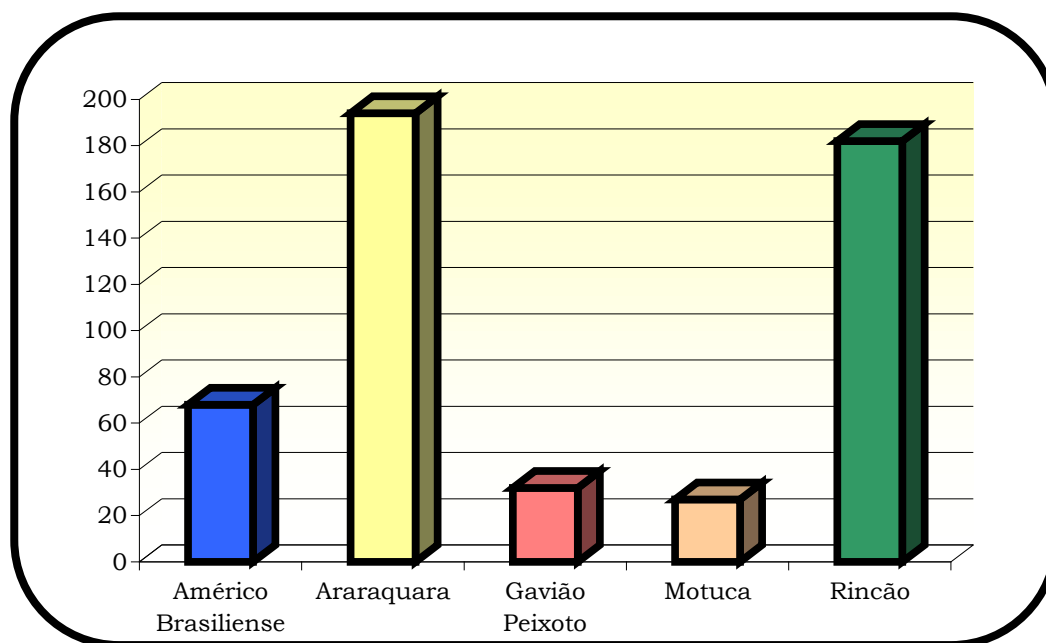


Figura 04 – Procedência das amostras enviadas para realização de exames coproparasitológicos deste trabalho. Araraquara, 2004.

Das 503 amostras examinadas, 68 (13,5%) eram de pacientes procedentes do município de Américo Brasiliense, sendo 44 de um hospital dessa cidade. A maioria das amostras (194 ou 38,6%) foram trazidas por pacientes residentes em Araraquara devido a maior facilidade de locomoção até o laboratório. As amostras procedentes dos municípios de Gavião Peixoto e Motuca, 32 (6,4%) e 27 (5,4%), respectivamente, foram trazidas esporadicamente, por isso o pequeno número de amostras. Do município de Rincão, analisaram-se 182 amostras (36,2%), uma vez que o Laboratório de

Parasitologia da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da UNESP – Araraquara foi procurado pela secretaria de saúde do referido município para que fossem examinadas as fezes de pacientes de um assentamento e de uma creche do centro da cidade.

Os exames parasitológicos foram realizados segundo os procedimentos anteriormente descritos e o resultado pode ser visto nas Tabelas 02 e 03:

Tabela 02 – Resultado dos exames coproparasitológicos realizados. Araraquara, 2004.

Resultados dos Exames	Frequência	%
Positivo	174	34,6
Negativo	329	65,4
TOTAL	503	100,0

Tabela 03 – Relação entre o resultado dos exames coproparasitológicos realizados e a procedência das amostras enviadas ao Laboratório de Parasitologia da Faculdade de Ciências Farmacêuticas – UNESP – Araraquara. Araraquara, 2004.

Resultado dos exames	Procedência dos voluntários submetidos ao exame coproparasitológico					TOTAL
	Araraquara	Américo Brasiliense	Gavião Peixoto	Rincão	Motuca	
Negativos	111 (57,2%)	35 (51,5%)	19 (59,4%)	141 (77,8%)	23 (85,2%)	329 (65,4%)
Positivos	83 (42,8%)	33 (48,5%)	13 (40,6%)	41 (22,5%)	04 (14,8%)	174 (34,5%)
TOTAL	194	68	32	182	27	503

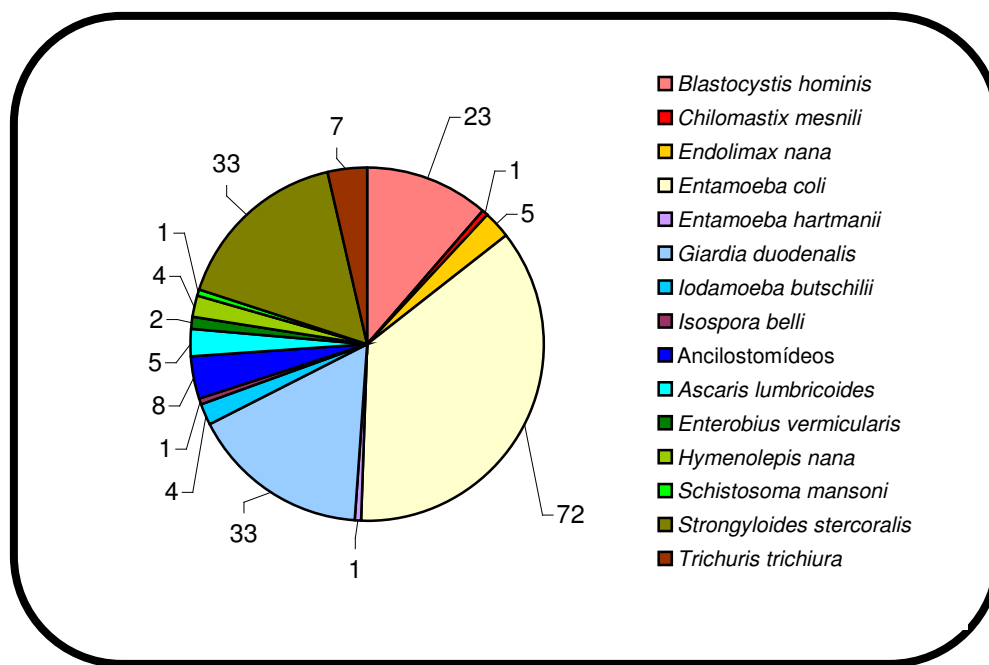


Figura 05 - Frequência dos parasitas encontrados nas amostras examinadas. Araraquara, 2004.

Tabela 04 - Parasitas encontrados em 503 amostras fecais examinadas. Araraquara, 2004.

Parasitas Encontrados	Número de Amostras Positivas	% em Relação ao total (n=503)	% em Relação aos Positivos (n=174)
<i>Blastocystis hominis</i>	23	4,6	13,2
<i>Chilomastix mesnili</i>	1	0,2	0,6
<i>Endolimax nana</i>	5	1,0	2,9
<i>Entamoeba coli</i>	72	14,3	41,4
<i>Entamoeba hartmanii</i>	1	0,2	0,6
<i>Giardia duodenalis</i>	33	6,7	19,0
<i>Iodamoeba butschilii</i>	4	0,8	2,3
<i>Isospora belli</i>	1	0,2	0,6
Ancilostomídeos	8	1,6	4,6
<i>Ascaris lumbricoides</i>	5	1,0	2,9
<i>Enterobius vermicularis</i>	2	0,4	1,1
<i>Hymenolepis nana</i>	4	0,8	2,3
<i>Schistosoma mansoni</i>	1	0,2	0,6
<i>Strongyloides stercoralis</i>	33	6,7	19,0
<i>Trichuris trichiura</i>	7	1,4	4,0

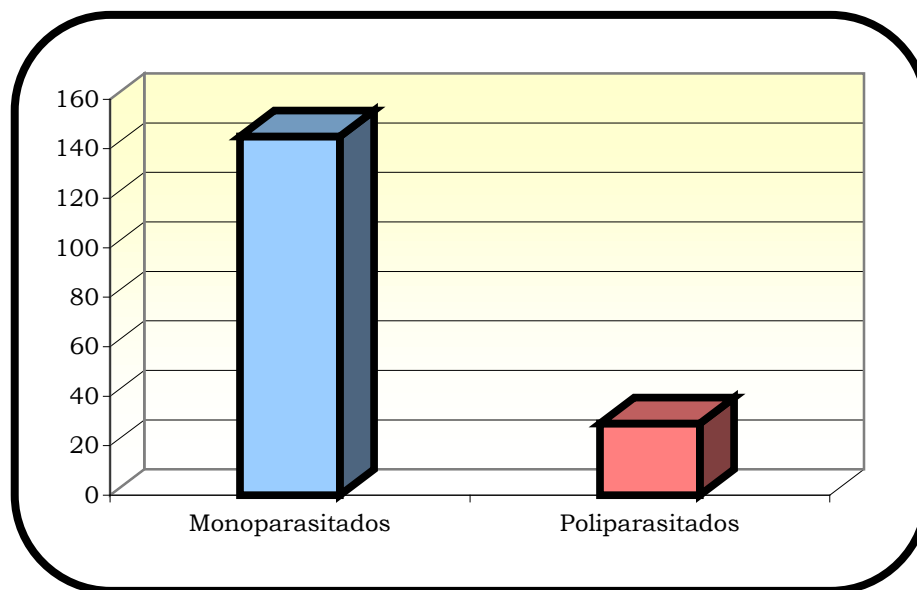


Figura 06 – Distribuição dos resultados positivos dos exames coproparasitológicos. Araraquara, 2004.

Os resultados dos exames parasitológicos de fezes realizados nesse trabalho estão expressos nas Tabelas 02 e 03. Das 503 amostras, 174 (34,6%) apresentaram-se positivas para algum parasita intestinal e 329 (65,4%) apresentaram-se negativas. A elevada freqüência de positividade para as amostras de fezes trazidas dos diferentes municípios pode ser observada na Tabela 04.

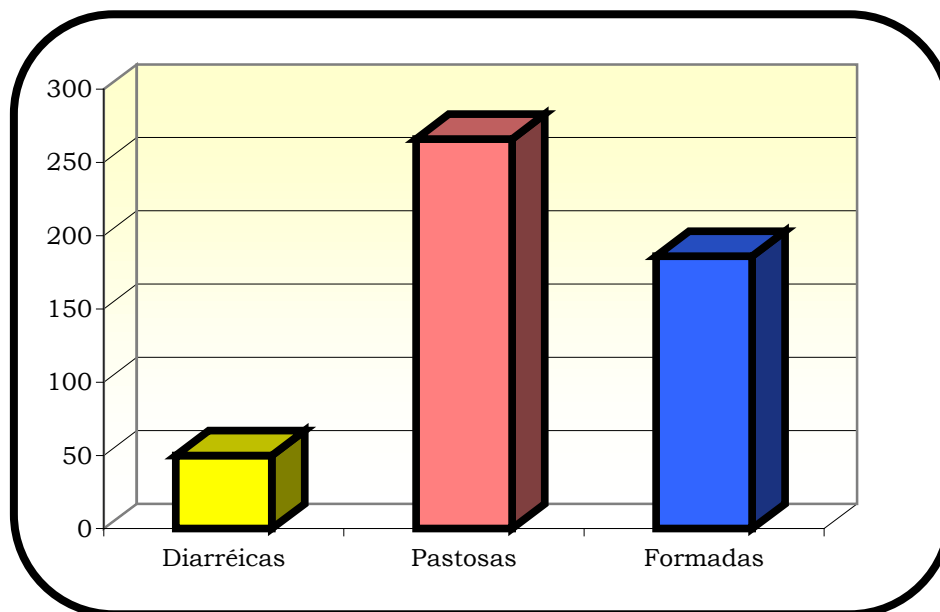
Considerando apenas as 174 amostras positivas para os parasitas encontrados, como se observa na Figura 05 e na Tabela 04, o protozoário *Entamoeba coli* foi observado em 72 amostras (41,4%). Observou-se em 33 amostras (19,0%), cistos de *Giardia duodenalis*. *Blastocystis hominis* foi visualizado em 23 (13,2%) das amostras examinadas. O protozoário *Endolimax nana* apareceu em 5 (2,9%) amostras positivas para parasitas intestinais.

Iodamoeba butschilii em 4 (2,3%) das amostras e os protozoários *Isospora belli*, *Chilomastix mesnili* e *Entamoeba hartmanii* apareceram em apenas 1 (0,6%) amostra. Dentre os helmintos, o mais prevalente foi *Strongyloides stercoralis*, em 33 (19,0%) amostras, seguido pelos Ancilostomídeos, presentes em 8 (4,6%) amostras, *Trichuris trichiura* em 7 (4,0%) amostras, *Ascaris lumbricoides* em 5 (2,9%), *Hymenolepis nana* em 4 (2,3%), *Enterobius vermicularis* em 2 (1,1%) amostras e *Schistosoma mansoni* em apenas 1 (0,6%) amostra.

O protozoário *Isospora belli* foi diagnosticado pela coloração de Kinyoun modificada numa amostra de fezes diarréicas proveniente de paciente hospitalizado do município de Américo Brasiliense.

Dentre as 174 amostras positivas 145 apresentaram apenas um parasita intestinal e 29 apresentaram dois ou mais parasitas (Figura 06).

A consistência das fezes analisadas foi observada e notou-se que das 503 amostras trazidas ao Laboratório 50 (9,9%) apresentaram-se diarréicas; 267 (53,1%) pastosas e 186 (37,0%) formadas, como se pode observar na Figura 07:



**Figura 07 - Consistência das fezes examinadas (n=503).
Araraquara, 2004.**

As amostras positivas para *Blastocystis hominis* foram 23 (4,6%), sendo evidenciado pelo exame direto a fresco com salina e confirmado na microscopia de contraste de fase, em esfregaços fecais corados pela hematoxilina férrica e pela coloração tricrômica. Pela técnica de Faust e cols. e pela técnica de Lutz apenas 3 amostras positivas para *Blastocystis hominis* foram diagnosticadas.

Dos 23 pacientes parasitados por *Blatocystis hominis*, oito trouxeram nova amostra (que não foram contabilizadas no total das amostras examinadas neste trabalho). Nas oito amostras, cujo exame foi repetido, não foi observada nenhuma forma de *Blastocystis hominis*.

Todas as amostras positivas para *Blastocystis hominis* apresentaram raras formas desse protozoário.

Os parâmetros avaliados (sexo, idade, procedência da amostra, consistência das fezes e presença concomitante de outro parasita) para as amostras positivas para *Blastocystis hominis* são mostrados na Tabela 05.

Tabela 05 – Parâmetros avaliados para as amostras positivas para *Blastocystis hominis*. Araraquara, 2004.

Parâmetros Analisados	Ocorrência
Sexo	
Masculino	8 amostras
Feminino	15 amostras
Faixa Etária	
1 – 4	2 amostras
5 – 14	5 amostras
15 – 24	5 amostras
25 – 34	4 amostras
35 – 44	4 amostras
45 – 54	1 amostra
55 – 64	1 amostra
64 – 74	1 amostra
Procedência Da Amostra	
Américo Brasileiro	2 amostras
Araraquara	18 amostras
Rincão	3 amostras
Consistência Das Fezes	
Diarréicas	2 amostras
Pastosas	15 amostras
Formadas	6 amostras
Presença Concomitante De Outro Parasita	
<i>B. hominis</i> + <i>E. coli</i> + <i>I. butschilii</i>	1 amostra
<i>B. hominis</i> + <i>G. duodenalis</i>	1 amostra
<i>B. hominis</i> + <i>T. trichiura</i> + <i>E. nana</i> + <i>S. stercoralis</i>	1 amostra
<i>B. hominis</i> + Ancilostomídeos + <i>S. stercoralis</i>	1 amostra
<i>B. hominis</i> + <i>E. coli</i> + Ancilostomídeos + <i>S. stercoralis</i>	1 amostra
<i>B. hominis</i> + <i>E. vermicularis</i>	1 amostra

Das 23 amostras positivas para *Blastocystis hominis*, a maioria delas eram de mulheres. A faixa etária que compreende pessoas com idade entre 15 e 44 anos apresentou a maioria dos casos diagnosticados de blastocistose (13 casos), em crianças e adolescentes de 1 a 14 anos observou-se 7 casos, e, 3 casos foram observados nos maiores de 45 anos.

Das amostras provenientes do município de Araraquara, 18 apresentaram-se positivas para *Blastocystis hominis*. As amostras de pessoas provenientes de Rincão revelaram apenas 3 casos de blastocistose e daquelas provenientes do município de Américo Brasiliense, observou-se 2 casos.

Não houve queixa de nenhuma sintomatologia por parte dos pacientes que apresentaram *Blastocystis hominis* em suas fezes. Apenas 2 pessoas apresentaram fezes diarréicas, porém outros parasitas foram encontrados nessas fezes. Houve predominância de consistência pastosa entre as fezes com *Blastocystis hominis*.

As associações parasitárias com *Blastocystis hominis* foram observadas em 6 amostras examinadas e 17 amostras revelaram apenas o protozoário *Blastocystis hominis*, porém as consistências dessas amostras eram predominantemente pastosas e formadas, não caracterizando quadro diarréico.

Formas vacuolares de *Blastocystis hominis* após realização do exame direto a fresco com salina, pela coloração de hematoxilina férrica e na microscopia de contraste de fase podem ser observadas nas Figuras 08, 09 e 10 A e B:

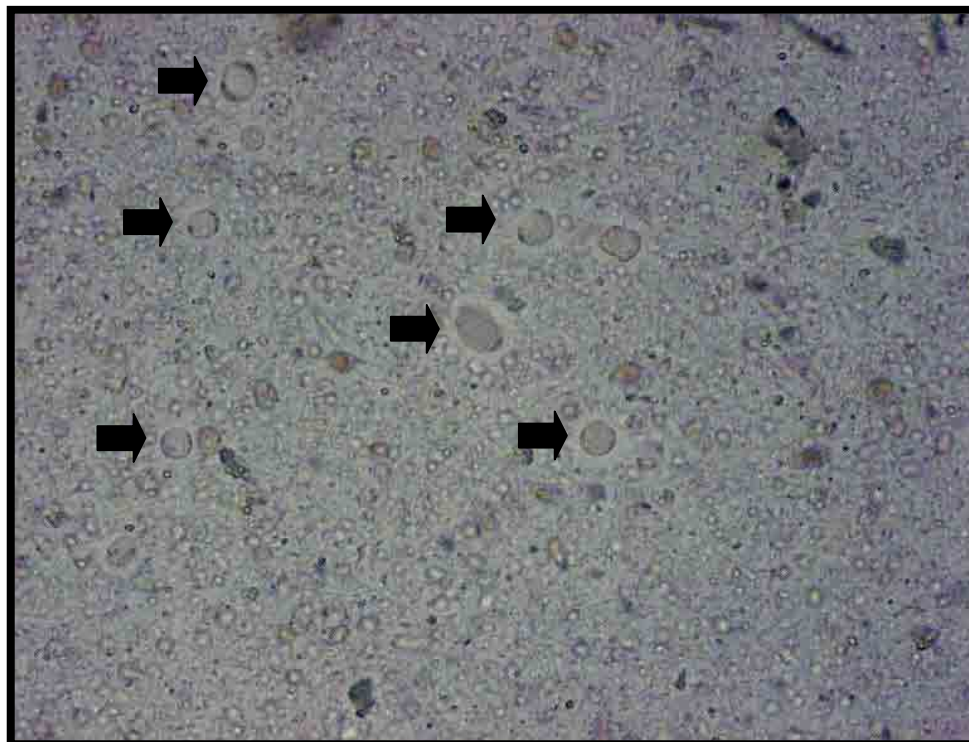


Figura 08 – Formas vacuolares de *Blastocystis hominis* no Exame direto a fresco. Aumento de 400X.



Figura 09 – *Blastocystis hominis* na Coloração por Hematoxilina Férrica. Aumento de 1000X.

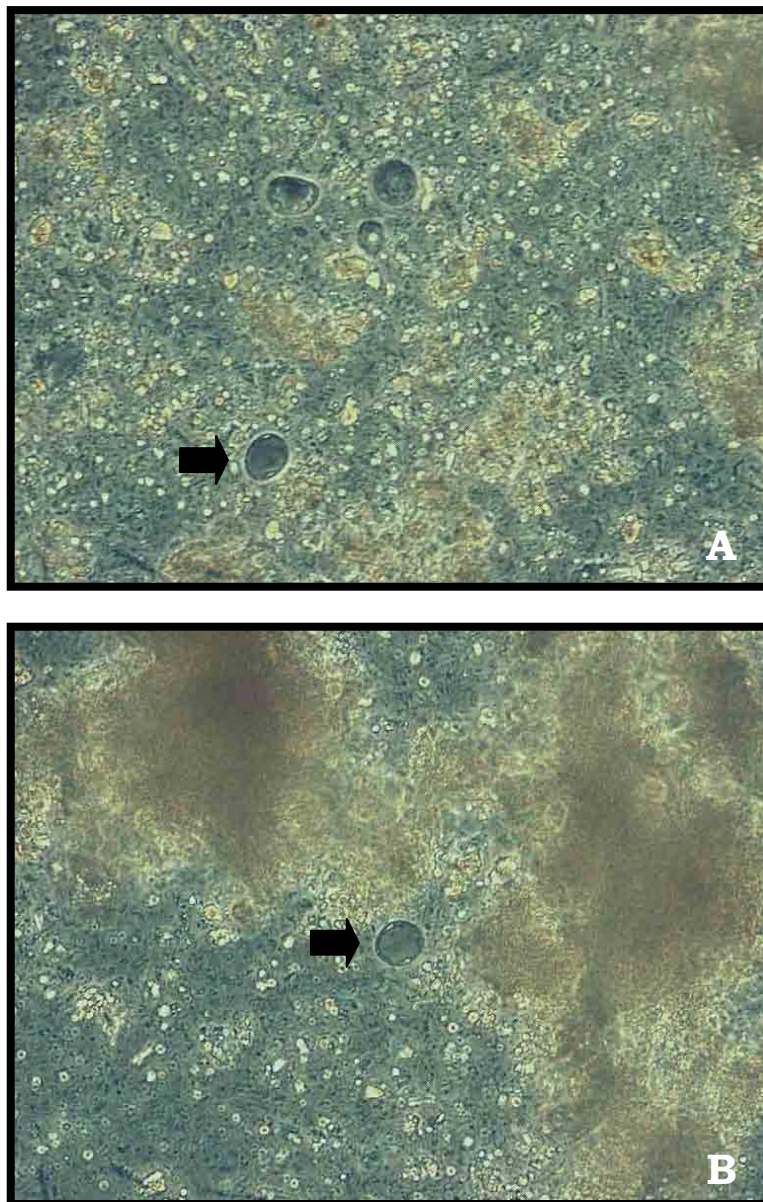


Figura 10 – A e B: *Blastocystis hominis* visualizados em Microscopia de Contraste de Fase. Aumento de 400X.

V – DISCUSSÃO

Inquéritos coproparasitológicos são realizados nos dias atuais de forma isolada, por isso se observa resultados muito variáveis no que tange ao aparecimento de *Blastocystis hominis* e dos demais parasitas intestinais nas fezes de pessoas de diferentes regiões do mundo. (BOREHAN e STENZEL, 1993; REQUENA, 2003).

As parasitoses intestinais são de grande importância em nosso meio, uma vez que se constituem num grave problema de saúde pública e são mais evidentes em regiões com problemas econômicos, sociais e sanitários, como os países em desenvolvimento. As doenças parasitárias importam pela mortalidade resultante e pela frequência com que produzem déficits orgânicos, sendo um dos principais fatores debilitantes da população, associando-se frequentemente a quadros de diarreia crônica e desnutrição, comprometendo assim, o desenvolvimento físico e intelectual, particularmente das faixas etárias mais jovens da população (PEDRAZZANI et al, 1988; SALATA et al, 1972; SIGULEM et al, 1985; AMATO et al, 1969).

Nesse sentido, procuramos, com o presente trabalho, determinar, através de exames coproparasitológicos, se na região de Araraquara há ocorrência de *Blastocystis hominis*, bem como, avaliar o aparecimento de outros enteroparasitas.

Neste trabalho analisaram-se fezes de pessoas de ambos os sexos e de 0 a 96 anos, porém, a grande maioria (83,7%) dos indivíduos que

procuraram o Laboratório de Parasitologia da FCF – UNESP tinham idade entre 1 e 44 anos (Tabela 01).

O presente estudo mostrou que dos 503 espécimes fecais examinados, 34,6% apresentavam-se positivos para algum enteroparasita (Tabela 02).

Os protozoários *Entamoeba coli*, *Giardia duodenalis* e *Blastocystis hominis* e os helmintos *Strongyloides stercoralis*, Ancilostomídeos, *Trichuris trichiura* e *Ascaris lumbricoides* foram os parasitas mais freqüentes, porém, como se pode observar na Figura 05, 15 diferentes espécies de enteroparasitas foram encontrados nos exames coproparasitológicos realizados.

Todavia, os resultados encontrados podem estar subestimados, uma vez que foi analisada apenas uma amostra de cada paciente. SAWITZ e FAUST, 1942, destacam que um único exame parasitológico de fezes é insuficiente para diagnosticar cistos de *Giardia duodenalis*. A baixa freqüência de *Enterobius vermicularis* (0,4%) e o não aparecimento de ovos de *Taenia* sp. se deve ao fato de que não foram utilizadas metodologias específicas para o diagnóstico desses helmintos. (GIAZZI et al, 1974).

Outro fato que merece destaque é o não aparecimento de oocistos de *Cryptosporidium* sp. nas fezes examinadas. A metodologia de concentração utilizada antes de se realizar a coloração de Kinyoun modificada (MARTINEZ e BELDA-NETO, 2001) foi a do sistema Coprotest[®] (CERQUEIRA, 1988) que não foi desenvolvido com o propósito de concentrar oocistos de *Cryptosporidium* sp.

O Coprotest[®] foi desenvolvido de modo a facilitar todo o trabalho técnico, desde a coleta até a concentração do exame. AMATO-NETO et al, 1989, avaliaram tal sistema confrontando-o com os métodos de LUTZ e RUGAI e cols. e concluíram que o Coprotest[®] têm méritos para ser utilizado na rotina de um laboratório de Parasitologia Clínica, porém alertaram para o fato de que mais um método diferente deve ser utilizado.

Esse sistema concentra, por meio de centrífugo-sedimentação em solução de acetato de etila, cistos dos protozoários e os ovos e larvas dos helmintos. Quanto à concentração de oocistos de *Cryptosporidium* sp., o que se preconiza é uma centrifugação de 500 x g por 10 minutos para que se tenha a concentração dos oocistos no sedimento (RIGO e FRANCO, 2002). Pela técnica utilizada, a centrifugação foi realizada num menor tempo em velocidade semelhante, o que pode explicar a ausência de oocistos desse coccídio dentre os pacientes examinados. É necessário, para tanto, que estudos sejam realizados para determinar se o simples aumento no tempo de centrifugação pela metodologia aplicada no Coprotest[®] pode concentrar os referidos oocistos.

Os pacientes que trouxeram fezes ao laboratório eram procedentes de 5 cidades diferentes do Estado de São Paulo: Rincão, Américo Brasiliense, Motuca, Gavião Peixoto e Araraquara, cujo índice de positividade para enteroparasitas pode ser visualizado na Tabela 03 e varia de 14,8% a 48,5%.

Em estudos coproparasitológicos realizados na região do município de Araraquara – SP, percebe-se uma variação na prevalência dos

enteroparasitas encontrada. BUAINAIN e GIAZZI, 1970 ao examinarem fezes de 151 pacientes internados num educandário de Araraquara de idade entre 4 e 17 anos verificaram 98% de positividade sendo os protozoários mais freqüentes a *Entamoeba coli* e *Giardia duodenalis* e o helminto mais freqüente o *Trichuris trichiura* seguido por Ancilostomídeos, *Ascaris lumbricoides* e *Strongyloides stercoralis*.

GIAZZI et al, em 1974, encontraram 74,9% de casos positivos para parasitas intestinais, ao analisarem fezes de 162 moradores da Vila Vieira em Araraquara.

Em 1976, BELDA NETO et al, analisaram fezes de 290 crianças da cidade de Américo Brasiliense encontrando 66,9% das crianças albergando uma ou mais espécies de enteroparasitas, sendo os mais prevalentes: *Giardia duodenalis*, *Ascaris lumbricoides*, Ancilostomídeos, *Trichuris trichiura*, *Strongyloides stercoralis*, *Hymenolepis nana* e *Entamoeba coli*. Nesse mesmo ano, MARTINI et al, realizaram 247 exames coproparasitológicos no Laboratório de Parasitologia da Faculdade de Farmácia e Odontologia de Araraquara e observaram *Ascaris lumbricoides*, Ancilostomídeos, *Trichuris trichiura* e *Strongyloides stercoralis* como os helmintos mais freqüentes e *Giardia duodenalis* e *Entamoeba coli* como os protozoários que mais apareceram.

Em 1982, GIAZZI et al, examinaram 261 amostras fecais de crianças de 1 a 14 anos da cidade de Araraquara, encontrando 80% de positividade para os parasitas intestinais, sendo *Giardia duodenalis*, *Entamoeba coli*, *Ascaris lumbricoides*, Ancilostomídeos, *Trichuris trichiura* e *Strongyloides*

stercoralis os mais freqüentes. Em 1984, MENDONÇA et al, analisaram fezes de 38 merendeiras de 22 unidades escolares do município de Araraquara e encontraram 21% de positividade para enteroparasitas sendo os mais freqüentes a *Entamoeba coli* e *Giardia duodenalis*.

Em 1995, CUPUANO et al, encontraram dentre os 876 espécimes fecais de escolares de Araraquara avaliados, 32,8% de parasitados: *Giardia duodenalis*, *Entamoeba coli* e *Ascaris lumbricoides* foram os parasitas intestinais mais freqüentes nas fezes desses indivíduos. Vale destacar que nesse estudo não foi realizada nenhuma metodologia para pesquisa de larvas de nematóides.

Em estudo mais recente, MINÉ et al, 2004, avaliaram os resultados dos exames parasitológicos de fezes de 1043 pacientes que procuraram o Laboratório de Parasitologia da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da UNESP – Araraquara, e encontraram 28,1% de indivíduos parasitados. Os parasitas intestinais mais detectados foram *Entamoeba coli*, *Giardia duodenalis*, *Ascaris lumbricoides*, Ancilostomídeos, *Trichuris trichiura* e *Strongyloides stercoralis*.

Os enteroparasitas mais observados neste trabalho foram *Entamoeba coli*, *Giardia duodenalis*, *Strongyloides stercoralis*, *Trichuris trichiura*, Ancilostomídeos e *Ascaris lumbricoides* (figura 05), resultado este que se coaduna com o dos estudos anteriormente descritos para a mesma região.

Segundo COX, 1993, *Entamoeba coli* é a ameba mais comum em fezes humanas. Esse protozoário, neste estudo, foi o mais freqüente naquelas fezes que se encontraram parasitadas (41,4%).

O protozoário *Giardia duodenalis* foi o segundo protozoário mais freqüente (19%) dentre as amostras fecais positivas para enteroparasitas. Tal resultado é bastante semelhante ao encontrado em Presidente Prudente - SP por TASHIMA e SIMÕES, 2004.

O helminto mais freqüente no presente trabalho foi o *Strongyloides stercoralis* (19% dentre os indivíduos parasitados), que segundo alguns estudos é um parasita endêmico nos trópicos e sub-trópicos e o Brasil e juntamente com a Tailândia, são os países que tem as maiores taxas de prevalência documentadas. (BANK et al, 1990; CARVALHO, 1978; NUCCI et al, 1995). As taxas de prevalência de infecção por *Strongyloides stercoralis* no Brasil variam de 15-82%. No presente estudo o aparecimento desse helminto foi mais evidente em fezes diarréicas de pacientes adultos.

O expressivo aparecimento de enteroparasitas no presente estudo chama a atenção pelo fato de que Araraquara (que foi a cidade com maior número de pessoas examinadas) possui sistema de coleta e tratamento de água e esgoto que atende praticamente 100% dos domicílios (IBGE, 2004; CAMPOS, et al, 2002). Um problema que pode existir e que este trabalho tem o objetivo de alertar é que a educação sanitária pode estar deficiente na região estudada, uma vez que a prevalência de parasitas intestinais encontrada foi semelhante a de estudos feitos no decorrer dos últimos 30 anos.

Quanto à faixa etária dos indivíduos participantes da pesquisa pôde-se observar que dentre aqueles parasitados (174), crianças de 0 a 14 anos foram mais predominantemente acometidas por *Giardia duodenalis*, muito por

conta de hábitos de higiene e alimentares deficientes, bastantes comuns nessa faixa etária, assim como relatam ROCHA et al., 2000; GOIA, 1992; GUIMARÃES e SOGAYAR, 1995; KOBAYASHI, 1995.

Apenas 50 amostras (9,9%) apresentaram-se diarréicas e dessas, 35 contavam com algum parasita onde predominava *Strongyloides stercoralis* (18 amostras). A grande maioria dos espécimes fecais que albergavam algum tipo de parasita apresentaram consistência pastosa e formada e nessas fezes predominaram o aparecimento de protozoários não patogênicos.

Em 1911 e 1912 ALEXEIEFF e BRUMPT fazem os primeiros relatos sobre o *Blastocystis hominis*. O primeiro autor o descreve como fungo atribuindo-lhe o nome de *Blastocystis enterocola* e o segundo o classifica como sendo uma levedura de elevada incidência em amostras de fezes de indivíduos originários de países tropicais e subtropicais, atribuindo a essa levedura o nome de *Blastocystis hominis*. Portanto, ALEXEIEFF e BRUMPT denominaram distintamente um organismo do mesmo gênero, que, atualmente (2005) pelas descrições feitas pelos autores, seriam classificados no Reino Fungi.

Durante cerca de 70 anos, as conclusões de BRUMPT permaneceram inalteradas, até que em 1967, ZIERDT descreve as primeiras características de protozoário do *Blastocystis hominis* com base em estudos ultraestruturais, fisiológicos e de cultura desse organismo. No final da década de 1970, esse mesmo autor classificou o *Blastocystis hominis* no Subfilo Sporozoa, tomando como base a reprodução por esporulação e, mais tarde, no

final da década de 1980, há uma mudança da classificação, ficando o *Blastocystis hominis* alocado no Subfilo Sarcodina.

Com o advento das técnicas de biologia molecular pôde-se chegar à conclusão de que o *Blastocystis hominis* deve ser incluído no novo Subfilo Blastocysta. (JIANG e HE, 1993).

Durante muito tempo, o *Blastocystis hominis* foi considerado um protozoário que nada causa ao homem, porém, atualmente, esse protozoário é considerado um parasita intestinal de prevalência bastante elevada de patogenicidade e aspectos epidemiológicos desconhecidos (BOREHAN e STENZEL, 1993; PONCE-DE-LEON et al, 1991; SHEEHAN et al, 1986).

Dentre as espécies dos parasitas encontrados neste trabalho, cinco são considerados não patogênicos (*Entamoeba coli*, *Iodamoeba butschili*, *Entamoeba hartmani*, *Chilomastix mesnili* e *Endolimax nana*) e estavam presentes em 47,7% do total das amostras fecais positivas e nove espécies são sabidamente patogênicas (*Giardia duodenalis*, *Isospora belli*, *Strongyloides stercoralis*, Ancilostomídeos, *Trichuris trichiura*, *Ascaris lumbricoides*, *Hymenolepis nana*, *Enterobius vermicularis* e *Schistosoma mansoni*) e estavam presentes em 39,1% das amostras positivas. 13,2% das amostras positivas continham o parasita *Blastocystis hominis* cuja patogenicidade é ainda incerta (CHEN et al, 1987; KUKOSCHKE, et al, 1990; MILLER e MINSHEW, 1988).

Dentre os 23 espécimes fecais positivos para *Blastocystis hominis* não se observou diferença significativa entre homens e mulheres parasitados por esse protozoário, coincidindo com dados de outros autores (DE ABREU et

al, 1990, DEVERA et al, 1998 a; DEVERA et al, 1998 b; TORRES et al, 1992; WANG et al, 2002).

Blastocystis hominis é geralmente encontrado associado com *Giardia duodenalis*, sendo esse, um fato que leva alguns autores a acreditarem que esses protozoários devam ter a mesma rota de transmissão(PONCE-DE-LEON et al, 1991). No presente estudo verificou-se associação entre *Blastocystis hominis* e *Giardia duodenalis* em apenas 1 amostra.

A prevalência de *Blastocystis hominis* é bastante variada de região para região e para se determinar o aparecimento desse protozoário nas fezes é necessário que se saiba realizar o diagnóstico (AMATO-NETO et al, 2004).

No Brasil há alguns estudos que relatam o aparecimento de *Blastocystis hominis* em diferentes populações de diversas regiões do país: em Campinas – SP, TEIXEIRA et al, encontraram 22,5% de indivíduos portadores de blastocistose; no Rio de Janeiro em 1989, MOURA et al, encontraram 2% de prevalência examinando indivíduos com aids; GUIMARÃES e SOGAYAR, 1993, analisaram fezes de crianças de uma creche no município de Botucatu – SP e encontraram 34,7% das amostras positivas para *Blastocystis hominis*; KOBAYASHI et al, em 1995, verificaram prevalência de 37,8% para esse protozoário em fezes de moradores da cidade de Holambra – SP; AMATO-NETO, et al, examinando fezes de crianças do município de SP em 2003 e 2004 encontraram 9,8% e 38,3% de positividade para *Blastocystis hominis* nos respectivos anos.

Na região estudada neste trabalho observou-se 4,6% de positividade para *Blastocystis hominis*, sendo este o terceiro protozoário mais freqüente nas fezes examinadas. Em estudos realizados na Itália (CIRIONI, et al, 1999), Irã (ZALI, et al, 2004), Argentina (MINVIELLE, et al, 2004), Eslovênia (LOGAR, et al, 1994), Peru (MARCOS, et al, 2003), Venezuela (REQUENA, et al, 2003), Austrália (HELLARD, et al, 2000), China (WANG et al, 2002) e Índia (MOHANDAS et al, 2002) observaram o aparecimento de *Blastocystis hominis* em 13,6%, 4,4%, 22,9%, 3,7%, 36,1%, 25,8%, 5,9%, 3,7% e 3,3% respectivamente. Nesses estudos foram examinadas amostras de fezes de pessoas de diferentes sexos, idades e situação imunológica e o que se observa é uma enorme variação no aparecimento de *Blastocystis hominis*.

DOYLE et al e SENAY e MACPHERSON no ano de 1990 mostram em seus estudos, que países desenvolvidos apresentam prevalência de *Blastocystis hominis* entre 1,5% e 10% e que países em desenvolvimento as taxas de prevalências variam de 30% a 50%. Os dados sobre prevalência desse protozoário no Brasil vão de encontro ao observado por esses autores nos países em desenvolvimento, porém há alguns trabalhos que ficam no intervalo atribuído à prevalência de países desenvolvidos.

A qualidade da água para consumo humano na região de Araraquara é muito boa quando comparada a outras regiões do Estado de São Paulo e do Brasil (CAMPOS et al, 2002) e esse fato pode ser determinante da baixa freqüência de *Blastocystis hominis* encontrada nesse estudo, levando em

consideração que a via de transmissão desse protozoário obedeça a rota oral-fecal e que sua disseminação possa ser feita por meio da água.

Blastocystis hominis foi encontrado em 23 (4,6%) das 503 amostras de fezes examinadas, dado esse, até então inexistente na região estudada, onde os Laboratórios de Análises Clínicas não reportam seu achado nos laudos dos pacientes, talvez por falta de conhecimento sobre esse protozoário ou por considerarem-no comensal, assim como alertam AMATONETO et al, 2004, e, paradoxalmente, protozoários sabidamente não patogênicos, como *Entamoeba coli*, *Endolimax nana*, *Chilomastix mesnili* e *Iodamoeba bütschilii*, são reportados nos resultados dos exames parasitológicos de fezes.

Quanto à consistência das fezes positivas para *Blastocystis hominis*, apenas duas apresentaram-se diarreicas e 21 formadas e pastosas. Esse dado é semelhante ao encontrado por CASTILHO et al, 2004, em que a maioria das amostras fecais positivas para *Blastocystis hominis* eram de consistência pastosa.

O *Blastocystis hominis* foi observado após a realização das seguintes técnicas coproparasitológicas: exame direto a fresco, técnica de FAUST e cols., técnica de LUTZ, colorações de Hematoxilina Férrica e pelo Tricrômio e também pela Microscopia de Contraste de Fase.

Pelas técnicas de LUTZ e FAUST e cols., observou-se apenas três amostras das 23 positivas para o protozoário *Blastocystis hominis*. Todas essas 23 amostras foram observadas pelas colorações de hematoxilina férrica,

tricroômio e pelo exame direto a fresco com salina com posterior observação em microscopia de contraste de fase, em que as formas de *Blastocystis hominis* se tornam bem evidentes.

Dentre as amostras positivas para *Blastocystis hominis* observou-se em sua totalidade menos de cinco células do protozoário a cada 10 campos microscópicos de 400X observados, o que pode explicar a ausência de queixas de alguma sintomatologia por parte dos pacientes. Estudos mostram que quanto maior a carga parasitária, maior a probabilidade do indivíduo que alberga esse parasita apresentar sintomatologia (DE CARLI e ROTT, 1994; DEVERA et al, 1998; DOYLE et al, 1990; GARCÍA et al, 1984; KAIN et al, 1987, PONCE-DE-LEON et al, 1991, SHEEHAN et al, 1986, VANNATTA et al, 1985).

As controvérsias e indefinições que persistem a respeito da blastocistose humana precisam ser superadas e cabe aos profissionais de saúde tentar elucidar essas dúvidas ou, pelo menos, atenuá-las, com intuito de evitar contratempos no âmbito da saúde pública e das atenções médico-assistenciais (BRANCO JÚNIOR, 1999; LUDWIG et al, 1999; VINHA, 1971).

VI – CONCLUSÃO

- *Blastocystis hominis* foi encontrado em 23 (4,6%) das 503 amostras examinadas, por meio dos métodos de exame direto a fresco, microscopia de contraste de fase, coloração pela hematoxilina férrica e tricrômio.
- Pelas técnicas de FAUST e cols. e de LUTZ somente três amostras foram positivas para *Blastocystis hominis*.
- Pelo exame direto a fresco foi possível visualizar o protozoário *Blastocystis hominis* com maior facilidade e rapidez.
- Não se observou diferença marcante entre o percentual de homens e mulheres parasitados por *Blastocystis hominis*, porém, houve predominância de indivíduos na idade economicamente ativa.
- Dentre os pacientes parasitados por *Blastocystis hominis*, apenas dois apresentaram fezes diarréicas, porém, juntamente com outros parasitas intestinais.
- Houve predominância de consistência pastosa entre as fezes com *Blastocystis hominis*.

- Das 503 amostras examinadas, 174 (34,6%) apresentaram-se positivas para presença de enteroparasitas.
- O protozoário mais freqüente foi *Entamoeba coli* (14,3%) seguida de *Giardia duodenalis* (6,7%). O helminto mais freqüente foi *Strongyloides stercoralis* (6,7%).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALEXEIEFF, A. Sur la nature des formations dites kystes de *Trichomonas intestinalis*. **C. R. Soc. Bi.**, v. 71, p. 296-8, 1911.
- AMATO NETO, V. **Tratamento das parasitoses intestinais**. 3 ed. São Paulo Artes Médicas, 1969.
- AMATO NETO, V.; ALARCÓN, 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. 515-7, 2003.
- AMATO NETO, V.; ALARCÓN, 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. 354-6, 2004.
- AMATO NETO, V.; CAMPOS, R.; PINTO, P. L. S.; MATSUBARA, L.; BRAZ, L. M. A.; MIYAMOTO, A.; FOSTER, R.; NASCIMENTO, S. A. B.; SOUZA, H. B. W. T.; MOREIRA, A. A. B. Avaliação da Utilidade do “Coprotest” para exame parasitológico das fezes. **Rev. Hosp. Clín. Fac. Med. São Paulo**, v. 44, n. 4, p. 153-5, 1989.

- ASHFORD, R. W.; ATKINSON, E. A. Epidemiology of *Blastocystis hominis* infection in Papua New Guinea: age-prevalence and associations with other parasites. **Ann. Trop. Med. Parasitol.**, v. 86, p. 129-136, 1992.
- BABB, R. R.; WAGENER, S. *Blastocystis hominis* – a potential intestinal pathogen. **West J. Med.**, v. 151, p. 518-9, 1989.
- BANK, D. E. The thumbprint sign: rapid diagnosis of disseminated strongyloidiasis. **J. Am. Acad. Dermatol.**, v. 23, n. 2, p. 324-6, 1990.
- BELDA NETO, F. M.; TRONCON, C. A. A.; BELLENZANI, J. R. L.; LAUAND, A. T. Prevalência de Enteroparasitas em Crianças da Cidade de Américo Brasiliense, Estado de São Paulo. **Rev. Fac. Farm. Odont.**, v. 10, suppl. 2, p. 275-9, 1976.
- BENSEN, W. *Trichomonas intestinalis* und vaginalis des Menschen. **Arch. Protistenkd.**, v. 18, p.115-127, 1909.
- BOREHAM, L. P. F.; STENZEL, D. L. *Blastocystis* in humans and animals: morphology, biology and epizootology. **Advances in Parasitology**, v. 32, p. 1-70, 1993.

- BRANCO JUNIOR, H. C. Importância de aspectos sanitários e educacionais na epidemiologia de enteroparasitoses em ambientes rurais. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, v. 31, p. 87-90, 1999.
- BRITES, C.; BARBERINO, M. G.; BASTOS, M. A.; SÁ, M. S.; SILVA, N. *Blastocystis hominis* as a Potencial Cause of Diarrhea in AIDS Patients: a Report of Six Cases in Bahia, **Brazil. Braz. J. Infect Dis.**, v. 1, n. 2, p. 91-4, 1997.
- BRUMPT, E. *Blastocystis hominis* n. sp. et formes voisines. Bull. **Soc. Pathol. EXOT.**, v. 5, p. 725-30, 1912.
- BUAINAIN, A.; GIAZZI, J. F. Determinação da Incidência de Enteroparasitas em Internados no Educandário “Domingos Sávio” de Araraquara. **Rev. Farm. Odont.**, v. 36, p. 263-6, 1970.
- CAMPOS, J. A. D. B.; FARACHE FILHO, A.; FARIA, J. B. Qualidade Sanitária da Água Distribuída para Consumo Humano pelo Sistema de Abastecimento Público da Cidade de Araraquara – SP. **Alim. Nutr.**, v. 13, p. 117-29, 2002.
- CAMPOS, R.; BRIQUES, W.; BELDA NETO, F. M.; SOUZA, J. M.; KATZ, N.; SALATA, E.; DACAL, A. R. G.; DOURADO, H.; CASTANHO, R. E. P.;

- GURVTZ, R.; ZINGANO, A.; PEREIRA, G. J. M.; FERRIOLI FILHO, F.; CAMILO-COURA, L.; FARIA, J. A. S.; CIMERMAN, B.; SIQUEIRA FILHO, J. B.; PRATA, A. **Levantamento multicêntrico de parasitoses intestinais no Brasil**. São Paulo: Rhodia-Group Rhône-Poulenc, 1988. 7p.
- CAPUANO, D. M.; OKINO, M. T.; BETTINI, M. J. C. B.; LIMA, L. R. O. Prevalência de Enteroparasitoses e sua Correlação com o Nível Sócio-Econômico e Hábitos de Higiene entre Escolares do Município de Araraquara, SP, Brasil. In: **VII Congresso Paulista de Saúde Pública, 2003, Ribeirão Preto - SP**. Anais.
 - CARVALHO, E. Strongyloidiasis. **Clin. Gastroenterol.**, v. 7, p. 179-200, 1978.
 - CASTILHO, V. L. P.; UEMURA, I. H.; GONCALVES, E. M. N.; BURATTINI, M. N. Incidência de *Blastocystis hominis* em amostras líquidas, semi-líquidas e pastosas de pacientes HIV+, internados no Hospital das Clínicas da FMUSP e no Hospital Emílio Ribas. In: **38º Congresso Brasileiro de Patologia Clínica / Medicina Laboratorial, 2004, Florianópolis – SC**. CD-Room.

- CERQUEIRA, F. L. Coprotest: metodologia confiável para o exame parasitológico de fezes. **Laes**, v. 9, n. 51, p. 5-12, 1988.
- CHEN, J.; VAUDRY, W. L.; KOWALEWSKA, K.; WENMAN, W. M. Lack of serum immune response to *Blastocystis hominis*. **Lancet**, p. 1021, 1987.
- CIRIONI, O.; GIACOMETTI, A.; DRENAGGI, D.; ANCARINI, F.; SCALISE, G. Prevalence and clinical relevance of *Blastocystis hominis* in diverse patient cohorts. **European Journal of Epidemiology**, v. 15, p. 389-93, 1999.
- COSTA-GURGEL, M. S.; NUNES, M. P. O.; NUNES, J. F. L.; SILVA, E. M. A. Prevalência de enteroparasitoses em Natal: Rotina coproscópica da parasitologia clínica – UFRN. **Rev. Bras. Anál. Clín.**, v.24, p.103-7, 1992.
- COX, F. E. G. Parasitic Amoebae. In: Modern Parasitology: A Textbook of Parasitology. 2nd. Ed., 1993.
- CURRY, A.; SMITH, H. V. Emerging pathogens: *Isoospora*, *Cyclospora* and Microsporidia. **Parasitology**, v. 117, p. 143-159, 1998.
- DE ABREU, A.; GALINDO, G.; MARTINEZ, D.; NUÑEZ, C.; BASTIDAS, E.; PACHECO, M.; AGUILAR, C. M. Infección por *Blastocystis hominis* en el

Caserio Lãs Rosas Comunidad Rural Del Estado Cojedes. **Acta Científica Venezolana**, v. 41, suppl. 1, p. 276, 1990.

- DE CARLI, G. A. **Parasitologia Clínica: seleção de métodos e técnicas de laboratório para o diagnóstico das parasitoses humanas**. São Paulo: Atheneu, 2001. 810 p.
- DE CARLI, G. A.; ROTT, M. B. *Blastocystis hominis* e o exame parasitológico de fezes. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, v. 26, n. 3, p.89-90, 1994.
- DEVERA, R. *Blastocystis hominis*: O enigma continua. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 31, p. 491-2, 1998.
- DEVERA, R.; NIEBLA-PUNOS, G.; NASTASI, J. A.; VELÁSQUEZ, V. J.; GONZÁLEZ-MENEZES, R. Prevalencia de infección por *Blastocystis hominis* en niños del Estado Bolívar: Valor del examen directo de heces en el diagnostico. In: **XV Jornadas Científicas, Tecnológicas y Educativas de Guayana, Ciudad Bolívar: Asociación para el avance de la Ciência, Memórias**, p. 28-9, 1998 a.

- DEVERA, R.; VELÁSQUEZ, V. J.; VÁSQUEZ, M. J. Blastocystosis en pré-escolares de Ciudad Bolívar, Venezuela. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 14, p. 401-7, 1998 b.
- DIACZOK, B. J.; RIVAL, J. Diarrhea due to *Blastocystis hominis*: an old organism revisited. **South Med. J.**, v.80, p. 931-2, 1987.
- DOYLE, P. W.; HELGASON, H. H.; MATHIAS, R. G.; PROCTOR, E. M. Epidemiology and pathogenicity of *Blastocystis hominis*. **J. Clin. Microbiol.**, v. 28, p. 116-21, 1990.
- EL MASRY, N. A.; BASSILY, S.; FARID, Z.; AZIZ, A. G. Potential clinical significance of *Blastocystis hominis* in Egypt. **Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.**, v. 84, p. 695, 1990.
- FAUST, E. C.; D'ANTONI, J.S.; ODON, V. et al. A critical study of clinical laboratory technics for the diagnosis of protozoan cysts and helminth eggs in feces. **Am. J. Trop. Med.**, v. 18, p. 169-83, 1938.
- FERREIRA, C. B.; JUNIOR, O. M. Enteroparasitoses em escolares do Distrito de Martinésia, Uberlândia, MG: um estudo piloto. **Rev. Soc. Bras. Medicina Tropical**, v. 30, n. 5, p. 373-7, 1997.

- FERREIRA, C. S. Staining of intestinal protozoa with Heidenhain's iron hematoxylin. **Rev. Inst. Med. Trop.**, v. 45, n. 1, p. 43-4, 2003.
- FERREIRA, M. U.; FORONDA, A. S.; SCHUMAKER, T. T. S. **Fundamentos Biológicos da Parasitologia Humana**. São Paulo: Manole, 2003. 156p.
- GARAVELLI, P. I.; SCAGLIONE, I.; BIOCCHI, R.; LIBANORE, M. Pathogenicity of *Blastocystis hominis*. **Infection**, v. 19, p.185, 1991.
- GARCIA, L. S. **Practical Guide to Diagnostic Parasitology**. Washington, D. C.: ASM PRESS, 1999. 349 p.
- GARCIA, L. S.; BRUCKNER, D. A.; CLANAY, M. N. Clinical relevance of *Blastocystis hominis*. **Lancet**, p. 1233-4, 1984.
- GIAZZI, J. F.; MARTINI, A. S.; BUAINAIM, A.; MENDONÇA, C. P.; BELDA NETO, F. M.; SANTOS, J. L. Levantamento de Protozoários e Helmintos em Crianças de um Núcleo Populacional de Araraquara. **Revista Brasileira de Farmácia**, v. 43, p. 49-52, 1982.

- GIAZZI, J. F.; FONSECA, L. M.; MORETTI, L. A.; GOMES, M. E. Prevalência de Enteroparasitas em habitantes da Vila Vieira da Cidade de Araraquara. **Rev. Fac. Farm. Odont.**, v. 8, n. 1, p. 53-8, 1974.
- GOIA, I. Prevalência de enteroparasitoses intestinais entre os usuários do Centro de Saúde do distrito de Sousas, Campinas, SP (1986-1990). **Rev. Soc. Brás. Med. Trop. São Paulo**, v. 25, p. 177-82, 1992.
- GOMORI, G. A rapid one-step trichrome stain. **Am. J. Clin. Pathol.**, v. 20, p. 661-3, 1950.
- GUIMARÃES, S.; SOGAYAR, M. I. *Blastocystis hominis*: occurrence in children and staff members of municipal day-care centers from Botucatu, Sao Paulo State, Brazil. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz.**, v. 88, n. 3, p. 427-9, 1993.
- GUIMARÃES, S.; SOGAYAR, M. I. Occurrence of *Giardia lamblia* in children of municipal day-care centers from Botucatu, São Paulo state, Brazil. **Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo**, v. 37, p. 501-6, 1995.
- GUIRGUES, S. Y.; AL-WAILI, N. S. *Blastocystis hominis* evidence for human pathogenicity and effectiveness of metronidazole therapy. **Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.**, v. 14, p. 333-5, 1987.

- HEIDENHAIN, M. Uber Vanadiumhaematoxylin, Pikroblauschwarz und Kongo-Korinth. **Zischr. F. Wiss. Mikr.**, v. 25, p. 401-10, 1908.
- HELLARD, M.; SINCLAIR, M. I.; HOGG, G.G.; FAIRLEY, C. K. Prevalence of enteric pathogens among community based asymptomatic individuals. **Journal of Gastroenterology and Hepatology**, v. 15, p. 290-3, 2000.
- HOFFMAN, W. A.; PONS, J. A.; JANER, J. L. The Sedimentation method in schistosomiasis mansoni. **Puerto Rico J. Publ. Hlth.**, v. 9, p. 281-98, 1934.
- HUSSAIN QUADRI, S. M.; AL-OKAILI, G. A.; AL-DAYET, F. Clinical significance of *Blastocystis hominis*. **J. Clin. Microbiol.**, v. 27, p.2407-9, 1989.
- **IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística**. Disponível em: < <http://www.ibge.gov.br> >. Acesso em 15 de agosto de 2004.
- JIANG, J. B.; HE, J. G. Taxonomic status of *Blastocystis hominis*. **Parasitol. Today**, v. 9, p. 2-3, 1993.

- JOHNSON, A. M.; THANOU, A.; BOREHAM, P. F. L.; BAVERSTOCK, P. R. *Blastocystis hominis*: phylogenetic affinities determined by rRNA sequence comparison. **Exp. Parasitol.**, v. 68, p. 283-8, 1989.
- 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, p. 235-44, 1987.
- KOBAYASHI, J.; HASEGAWA, H.; FORLI, A. A.; NISHIMURA, N. F.; YAMANAKA, A.; SHIMABUKURO, T.; SATO, Y. Prevalence of intestinal parasitic infection in five farms in Holambra, São Paulo, Brazil. **Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo**, v. 37, n. 1, p. 13-8, 1995.
- KUKOSCHKE, K. G.; NECKER, A.; MÜLLER, H. E. Detection of *Blastocystis hominis* by direct microscopy and culture. **Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.**, v. 9, p. 305-7, 1990.
- KUNZLE, J. E.; ZILIOFFO JÚNIOR, A.; VIEIRA, A. J. B. Parasitose Intestinal: Avaliação da Prevalência e Métodos Diagnósticos numa Amostra da População de Ribeirão Preto. **Rev. Bras. Pat. Clín.**, v. 16, n. 1, p. 63-8, 1980.

- LAMBERT, M.; GIGI, J.; BUGHIN, C. Persistent diarrhoea and *Blastocystis hominis*. **Acta Clin. Belg.**, v. 47, p. 129-30, 1992.
- LOGAR, J.; ANDLOVIC, A.; POLJSAK-PRIJATELJ, M. Incidence of *Blastocystis hominis* in patients with diarrhoea. **Journal of Infection**, v. 28, p. 151-4, 1994.
- LUDWIG, K. M.; FREI, F.; FILHO, F. A.; PAES, T. R. Correlação entre condições de saneamento básico e parasitoses intestinais na população de Assis, Estado de São Paulo. **Rev. Soc. Bras. Medicina Tropical**, v. 32, n. 5, p. 547-55, 1999.
- LUTZ, A. O.; *Schistosomum mansoni* e a schistosomose, segundo observações feitas no Brasil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 11, p. 121-155, 1919.
- MANZI, R. S.; GARCIA ZAPATA, M. T. A. Diagnóstico laboratorial dos protozoários entéricos oportunistas em Goiânia – GO. **Rev. Soc. Bras. Medicina Tropical**, v. 33, n. 6, p. 597-8, 2000.
- MARCOS, L.; MACO, V.; TERASHIMA, A.; SAMALVIDES, F.; MIRANDA, E.; GOTUZZO, E. Parasitosis intestinal en poblaciones urbana y rural en

- Sandia, Departamento de Puno, Perú. **Parasitol. Latinoam.**, v. 58, p. 35-40, 2003.
- MARTINEZ, I.; BELDA NETO, F. M. Contribution to the Laboratory Diagnosis of Human Cryptosporidiosis. **Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo**, v. 43, n. 2, p. 79-82, 2001.
 - MARTINI, A. S.; GIAZZI, J. F.; BELDA NETO, F. M.; SANTOS, J. L. Levantamento Coproparasitológico no Laboratório de Parasitologia da Faculdade de Farmácia e Odontologia de Araraquara. **Rev. Fac. Farm. Odont.**, v. 10, suppl. 2, p. 247-51, 1976.
 - MEINHARDT, P. L.; CASEMORE, D. P.; MILLER, K. B. Epidemiologic Aspects of Human Cryptosporidiosis and the Role of Waterborne Transmission. **Epidemiol. Rev.**, v. 18, p. 118-36, 1996.
 - MENDONÇA, C. P.; MARTINI, A. S.; LEITE, C. Q. F.; SALAME, M. A. L. Estudo Bacteriológico e Parasitológico em Merendeiras de Unidades Escolares da Rede Estadual de Ensino da Cidade de Araraquara. **Rev. Ciênc. Farmac.**, v. 6, p. 9-12, 1984.
 - MILLER, R. A.; MINSHEW, B. H. *Blastocystis hominis*: an organism in search of a disease. **Res. Infect. Dis.**, v. 10, p. 930-8, 1988.

- MINÉ, J. C.; FERNANDES, M. Z. T.; MARTINEZ, I.; ROSA, J. A. Prevalência de enteroparasitas na região de Araraquara – SP. In: **38º Congresso Brasileiro de Patologia Clínica / Medicina Laboratorial, 2004, Florianópolis – SC**. CD-Room.
- 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. **The Korean Journal of Parasitology**, v. 42, n. 3, p. 121-7, 2004.
- MOHANDAS, K.; SEHGAL, R.; SUD, A.; MALLA, N. Prevalence of intestinal parasitic pathogens in HIV-seropositive individuals in Northern India. **Jpn. J. Infect. Dis.**, v. 55, p. 83-4, 2002.
- MOURA H, FERNANDEZ O, VIOLA JPB, SILVA SP, PASSOS RH, LIMA DB. Enteric parasites and HIV infection: Occurrence in AIDS patient in Rio de Janeiro, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 84, p. 527-33, 1989.
- NARKEWICZ, M. R.; JANOFF, E. N.; SOKOL, R. J.; LEVIN, M. J. *Blastocystis hominis*: gastroenteritis in a hemophiliac with acquired immune deficiency syndrome. **J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.**, v. 8, p. 125-8, 1989.

- NIMRI, L.; BATCHOUN, R. Intestinal colonization of symptomatic, asymptomatic schoolchildren with *Blastocystis hominis*. **J. Clin. Microbiol.**, v. 32, p. 2865-6, 1994.
- NUCCI, M. Strongyloidiasis in patients with hematologic malignancies. **Cl. Inf. Dis.**, v. 21, p. 675-77, 1995.
- ORTEGA, Y. R.; STERLING, C. R.; GILMAN, R. N. *Cyclospora cayetanensis*. **Advances in Parasitology**, v. 40, p. 399-418, 1998.
- PEDRAZZANI, E. S.; MELLO, D. A.; PIZZIGAT, C.P.; PRIPAS, S.; FUCCI, M.; SANTORO, M. C. M. Helmintoses Intestinais. III – Programa de Educação e Saúde em Verminoses. **Revista de Saúde Pública**, v. 23, p. 189-95, 1989.
- PONCE-DE-LEON, P.; SVETAZ, M. J.; ZEDERO, M. Importância Del diagnostico de *Blastocystis hominis* en el examen parasitologico de heces. **Revista Latino-Americana de Microbiologia**, v. 33, p. 156-64, 1991.
- REQUENA, I.; HERNÁNDEZ, Y.; RAMSAY, M.; SALAZAR, C.; DEVERA, R. Prevalencia de *Blastocystis hominis* en vendedores de comida del municipio Carioní, Estado Bolívar, Venezuela. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 19, n. 6, p. 1721-7, 2003.

- RIGO, C. R.; FRANCO, R. M. B. Comparação entre os métodos de Ziehl-Neelsen modificado e Acid-Fast-Trichrome para a pesquisa fecal de *Cryptosporidium parvum* e *Isospora belli*. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 35, n. 3, p. 209-14, 2002.
- REY, L. **Dicionário de Termos Técnicos de Medicina e Saúde**. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 1999. 825p.
- ROCHA, R. S.; SILVA, J. G.; PEIXOTO, S. V.; CALDEIRA, R. L.; FIRMO, J. O. A.; CARVALHO, O. S.; KATZ, N. Avaliação da Esquistossomose e de outras parasitoses intestinais, em escolares do município de Bambuí, Minas Gerais, Brasil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 35, p. 431-6, 2000.
- ROLSTON, K. V. I.; WINANS, R.; RODRIGUEZ, S. *Blastocystis hominis*: pathogen or not? **Rev. Infect Dis.**, v. 11, p. 661-2, 1989.
- RUGAI, E.; MATTOS, T.; BRISOLA, A. P. Nova técnica para isolar larvas de nematoides de fezes - Modificação do método de Baermann. **Rev. Instituto Adolfo Lutz**, v. 14, p. 5-8, 1954.

- SALATA, E.; CORRÊA, F. M. A.; SOGAYAR, R.; BARBOSA, M. A. Inquérito Parasitológico na Cecap. Distrito sede de Botucatu, Estado de São Paulo, Brasil. **Revista de Saúde Pública**, v. 6, p. 385-92, 1972.
- SAWITZ, W. G.; FAUST, E. C. The probability of detecting intestinal protozoa by successive stool examinations. **Am. J. Trop. Med.**, v. 22, p. 131-6, 1942.
- SENAY, H.; MacPHERSON, D. *Blastocystis hominis* with signs and symptoms of human disease. **Journal of Clinical Microbiology**, 24: 548-50, 1990.
- SHEEHAN, D. J.; RAUCHER, B. G.; MCKITRICK, J. C. Association of *Blastocystis hominis* with signs and symptoms of human disease. **J. Clin. Microbiol.**, v. 24, p. 548-50, 1986.
- SIGULEM, D. M.; TUDISCO, E. S.; PAIVA, E. R. Anemia Nutricional e Parasitose Intestinal em Menores de 5 anos. **Revista Paulista de Medicina**, v. 103, p. 308-12, 1985.
- STENZEL, D. J.; BOREHAM, P. F. L. *Blastocystis hominis* Revisited. **Clin. Microbiol. Rev.**, v. 9, n. 4, p. 563-84, 1996.

- TAN, K. S. W. *Blastocystis* in human and animals: new using modern methodologies. **Veterinary Parasitology**, v. 126, p. 121-44, 2004.
- TAVARES-DIAS, M.; GRANDINI, A. A. Prevalência e aspecto epidemiológicos de enteroparasitoses na população de São José da Bela Vista, São Paulo. **Rev. Soc. Bras. Medicina Tropical**, v. 32, n. 1, p. 63-5, 1999.
- TASHIMA, N. T.; SIMÕES, M. J. S. Enteroparasitic Occurrence in fecal samples analyzed at the University of Western São Paulo – UNOESTE Clinical Laboratory, Presidente Prudente, São Paulo State, Brazil. **Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo**, v. 46, n. 5, p. 243-8, 2004.
- TEIXEIRA, A. T. L. S.; GARLIPP, C. R.; BOTTINI, P. V.; SOUZA, R. *Blastocystis hominis*: prevalência e patogenicidade. **Revista Brasileira de Patologia Clínica**, v. 25, n. 1, p. 7-9, 1989.
- TORRES, P.; MIRANDA, J.; FLORES, L.; RIQUELME, J.; FRANJOLA, R.; PÉREZ, J. *Blastocystis* y otras infecciones por protozoarios intestinales en comunidades humanas ribereñas de la cuenca del ría Valdivia, Chile. **Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo**, v. 34, p. 557-64, 1992.

- UDKOW, M. P.; MARKELL, E. K. *Blastocystis hominis*: Prevalence in Asymptomatic versus Symptomatic Hosts. **The Journal of Infectious Disease**, v. 168, p. 242-4, 1993.
- VANNATTA, J.; ADAMSON, D.; MULLIGAN, K. *Blastocystis hominis* infection presenting as recorrente diarrhea. **Annals of Internal Medicine**, v. 102, p. 495-6, 1985.
- VILLELA, M. S. H. **Doenças Parasitárias Emergentes do Trato Gastrintestinal**. Disponível em: < <http://www.fleury.com.br> >. Acesso em 08 de abril de 2003.
- VINHA, C. Incidência no Brasil, de helmintos transmitidos pelo solo – Rotina coproscópica do Ex-Departamento Nacional de Endemias Rurais. **Revista Brasileira de Malariologia e Doenças Tropicais**, v. 23, p. 3-9, 1971.
- WANG, K. X.; LI, C. P.; WANG, J.; CUI, Y. B. Epidemiological survey of *Blastocystis hominis* in Huainan City, Anhui Province, Chine. **World Journal of Gastroenterology**, v. 8, p. 928-32.

- ZALI, M. R.; MEHR, A. J.; REZAIN, M.; MEAMAR, A. R.; VAZIRI, S.; MOHRAZ, M. Prevalence of Intestinal Parasitic Pathogens among HIV-Positive Individuals in Iran. **Jpn. J. Infect. Dis.**, v. 57, p. 268-70, 2004.
- ZIERDT, C. H. *Blastocystis hominis*, a long-misunderstood intestinal parasite. **Parasitol. Today**, v. 4, p. 15-7, 1988.
- ZIERDT, C. H. *Blastocystis hominis*, an intestinal protozoan parasite of man. **Public Health Lab.**, v. 36, p. 147-60, 1978.
- ZIERDT, C. H. *Blastocystis hominis* – Past and Future. **Clin. Microbiol. Rev.**, v. 4, n. 1, p. 61-79, 1991.
- ZIERDT, C. H.; RUDE, W. S.; BULL, B. S. Protozoan characteristics of *Blastocystis hominis*. **Am. J. Clin. Pathol.**, v. 48, n. 5, p. 495-501, 1967.
- ZIERDT, C. H.; WILLIAMS, R. *Blastocystis hominis*: Axenic cultivation. **Exp. Parasitol.**, v. 36, p. 233-43, 1974.
- ZUCKERMAN, M. J.; WATTS, M. T.; HO, H.; MERIANO, F. V. *Blastocystis hominis* infection and intestinal injury. **Am. J. Clin. Pathol.**, v. 48, p. 495-501, 1967.

ANEXOS



CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Eu, _____, portador(a) do R.G. nº _____, com _____ anos, residente na _____ (Rua, Av...) _____; Bairro: _____, Cidade: _____ CEP: _____, Fone: _____, declaro ter sido esclarecido sob os seguintes pontos:

- Que estarei fornecendo material fecal para diagnóstico laboratorial de *Blastocystis hominis* e estou ciente de que este diagnóstico será utilizado para o desenvolvimento do projeto “**Diagnóstico Laboratorial da Blastocistose Humana - Estudo da Prevalência de Formas de *Blastocystis hominis* em Fezes Diarréicas ou não Diarréicas de Habitantes da Região de Araraquara - SP**”, sob responsabilidade de Júlio César Miné;
- De que serão analisadas amostras biológicas de fezes, cuja coleta não é invasiva;
- Que parte da amostra entregue ao Laboratório de Parasitologia da Faculdade de Ciências Farmacêuticas – UNESP será utilizada para o diagnóstico de *Blastocystis hominis*, e que esta poderá ser usada na tentativa de isolamento em meio de cultura;
- Que deverei coletar nova amostra e encaminhar ao laboratório, quando houver solicitação do médico ou do pesquisador responsável pelo projeto;
- Que os procedimentos aos quais serei submetido não provocarão danos físicos ou financeiros e por isso não haverá a necessidade de ser indenizado por parte da equipe responsável por esse trabalho ou da Instituição (FCF/UNESP);
- Que meu nome será mantido em sigilo, assegurando assim a minha privacidade e se desejar, deverei ser informado sobre os resultados desta pesquisa;
- De que não serei submetido a nenhum tipo de risco, podendo, recusar-me a participar ou mesmo retirar meu consentimento a qualquer momento da realização desta pesquisa, sem nenhum prejuízo ou penalização, isto é, sem interrupção do meu tratamento;
- De que além da colaboração para a pesquisa científica e estudo da prevalência de uma possível parasitose na região de Araraquara, estarei recebendo um laudo do exame parasitológico realizado para que tenha a possibilidade de tratamento em caso de positividade no exame.
- De que qualquer dúvida poderá ser esclarecida com o autor do projeto, Júlio César Miné, através do endereço: Rodovia Araraquara/Jaú Km 1 - CP 502, CEP: 14801-902 - Araraquara - S.P. Fone: (016) 3301-6945 (Laboratório de Parasitologia), e-mail: juliomineunesp@yahoo.com.br.
- Para notificação de qualquer situação de anormalidade que não puder ser resolvida pelo pesquisador deverei entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências Farmacêuticas do Câmpus de Araraquara da UNESP, pelo telefone (0XX16) 3301-6897.

Diante dos esclarecimentos prestados, concordo em participar do projeto “**Diagnóstico Laboratorial da Blastocistose Humana - Estudo da Prevalência de Formas de *Blastocystis hominis* em Fezes Diarréicas ou não Diarréicas de Habitantes da Região de Araraquara - SP**”, na qualidade de voluntário(a).

Assinatura do voluntário



CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Eu, _____, portador(a) do R.G. nº _____, com _____ anos, residente na _____ (Rua, Av...) _____; Bairro: _____; Cidade: _____ CEP: _____, Fone: _____, declaro ter sido esclarecido sob os seguintes pontos:

- Que estarei fornecendo material fecal para diagnóstico laboratorial de *Blastocystis hominis* e estou ciente de que este diagnóstico será utilizado para o desenvolvimento do projeto “**Diagnóstico Laboratorial da Blastocistose Humana - Estudo da Prevalência de Formas de *Blastocystis hominis* em Fezes Diarréicas ou não Diarréicas de Habitantes da Região de Araraquara - SP**”, sob responsabilidade de Júlio César Miné;
- De que serão analisadas amostras biológicas de fezes, cuja coleta não é invasiva;
- Que parte da amostra entregue ao Laboratório de Parasitologia da Faculdade de Ciências Farmacêuticas – UNESP será utilizada para o diagnóstico de *Blastocystis hominis*, e que esta poderá ser usada na tentativa de isolamento em meio de cultura;
- Que deverei coletar nova amostra e encaminhar ao laboratório, quando houver solicitação do médico ou do pesquisador responsável pelo projeto;
- Que os procedimentos aos quais serei submetido não provocarão danos físicos ou financeiros e por isso não haverá a necessidade de ser indenizado por parte da equipe responsável por esse trabalho ou da Instituição (FCF/UNESP);
- Que meu nome será mantido em sigilo, assegurando assim a minha privacidade e se desejar, deverei ser informado sobre os resultados desta pesquisa;
- De que não serei submetido a nenhum tipo de risco, podendo, recusar-me a participar ou mesmo retirar meu consentimento a qualquer momento da realização desta pesquisa, sem nenhum prejuízo ou penalização, isto é, sem interrupção do meu tratamento;
- De que além da colaboração para a pesquisa científica e estudo da prevalência de uma possível parasitose na região de Araraquara, estarei recebendo um laudo do exame parasitológico realizado para que tenha a possibilidade de tratamento em caso de positividade no exame.
- De que qualquer dúvida poderá ser esclarecida com o autor do projeto, Júlio César Miné, através do endereço: Rodovia Araraquara/Jaú Km 1 - CP 502, CEP: 14801-902 - Araraquara - S.P. Fone: (016) 3301-6945 (Laboratório de Parasitologia), e-mail: juliomineunesp@yahoo.com.br.
- Para notificação de qualquer situação de anormalidade que não puder ser resolvida pelo pesquisador deverei entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências Farmacêuticas do Câmpus de Araraquara da UNESP, pelo telefone (0XX16) 3301-6897.

Diante dos esclarecimentos prestados, autorizo meu filho(a) _____, impúbere, nascido aos ___/___/_____, a participar como voluntário(a) do projeto. “**Diagnóstico Laboratorial da Blastocistose Humana - Estudo da Prevalência de Formas de *Blastocystis hominis* em Fezes Diarréicas ou não Diarréicas de Habitantes da Região de Araraquara - SP**”.

Assinatura do voluntário