

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

YASMIN FONSECA DA SILVA

***Blastocystis hominis*: Uma revisão da literatura sobre um parasito controverso**

MACEIÓ

2024

YASMIN FONSECA DA SILVA

***Blastocystis hominis*: Uma revisão da literatura sobre um parasito controverso**

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao curso de Farmácia da Universidade Federal de Alagoas, como requisito parcial à obtenção do título de Bacharelado em Farmácia.

Orientador: Prof. Dr. Müller Ribeiro Andrade

MACEIÓ
2024

Catálogo na Fonte
Universidade Federal de Alagoas
Biblioteca Central
Divisão de Tratamento Técnico

Bibliotecário: Marcelino de Carvalho Freitas Neto – CRB-4 – 1767

S586r Silva, Yasmin Fonseca da.

Blastocystis hominis : uma revisão da literatura sobre um parasito
controverso / Yasmin Fonseca da Silva. – 2024.
27 f. : il.

Orientador: Müller Ribeiro Andrade.
Monografia (Trabalho de Conclusão de Curso em Farmácia) –
Universidade Federal de Alagoas. Instituto de Ciências Farmacêuticas. Maceió,
2024.

Bibliografia: f. 23-27.

1. *Blastocystis hominis*. 2. Epidemiologia. 3. Diagnóstico. 4. Virulência. I.
Título.

CDU: 615.283



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
CURSO DE FARMÁCIA**

Campus A.C. Simões, Av. Lourival Melo Mota, s/n, Tabuleiro dos Martins
CEP:57072-900 Maceió – AL
Coordenação do curso de Farmácia
Telefone: (82) 3214.1170; e-mail: tccfarmaciaufal@gmail.com



ATA DE DEFESA DE TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO (TCC)

Em **29 de novembro de 2024** às 14:06 horas foi dado início à apresentação do TCC do(a) candidato(a) **YASMIN FONSECA DA SILVA** intitulado **Blastocystis hominis: Uma revisão da literatura sobre um parasito controverso**. A apresentação teve duração de 28 minutos.

Ao final, cada membro da banca avaliadora atribuiu notas individuais de 0 (zero) à 10 (dez) aos parâmetros enumerados pelas normas aprovadas em **17/04/2023** pelo Colegiado do Curso de Farmácia (**Trabalho escrito, Apresentação oral, Arguição**):

AVALIADOR 1:	Prof. Dr. Müller Ribeiro Andrade (Orientador)	NOTA:	10,0
AVALIADOR 2:	Prof. Dra. Camilla Camerino Santana	NOTA:	10,0
AVALIADOR 3:	Prof. Dra. Sabrina Joany Felizardo Neves	NOTA:	10,0

Assim, o candidato foi classificado como **APROVADO** com média final igual a 10,0 (dez), mediante entrega da versão final.

Assinatura da banca avaliadora

AVALIADOR 1:  Documento assinado digitalmente
MULLER RIBEIRO ANDRADE
Data: 02/12/2024 12:00:13-0300
verifique em <https://validar.itl.gov.br>

AVALIADOR 2:  Documento assinado digitalmente
CAMILA CAMERINO SANTANA
Data: 30/11/2024 20:41:16-0300
verifique em <https://validar.itl.gov.br>

AVALIADOR 3:  Documento assinado digitalmente
SABRINA JOANY FELIZARDO NEVES
Data: 29/11/2024 15:33:25-0300
verifique em <https://validar.itl.gov.br>

Dedico este trabalho às mulheres que me cercam.

À minha avó, que, em meio às adversidades da vida, sempre soube se reerguer e transmitir os valores que moldaram a minha mãe.

À minha mãe, que desde a infância enfrentou muitas pedras no caminho, mas soube colhê-las e construir uma bela estrada para que eu pudesse caminhar até aqui.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente gostaria de agradecer aos meus pais, que me proporcionaram uma vida inteira de oportunidades e privilégios que contribuíram para que a minha corrida acadêmica chegasse à linha final. Rosa e Sirleandro, vocês foram a minha luz, o meu braço direito e o meu ombro amigo. Sem o esforço e renúncia de vocês eu não teria aprendido nada do que me trouxe até aqui. Obrigada por nunca terem desistido de me mostrar o melhor caminho a seguir. Vocês serão os responsáveis por tudo que um dia eu venha a conquistar.

Agradeço às Farmamigas, Beatriz, Bianca, Kathylen, Natália, Rebeca, Shirley e Vanessa por dividirem comigo as angústias e felicidades desses 5 anos de graduação. Vocês me fizeram acreditar que, ao final, tudo daria certo. E deu!

Agradeço à Ashley, que por tantas vezes me ouviu falar “eu não sei escrever”, até que cansou, ficou do meu lado e me “obrigou” a só sair da Biblioteca Central da UFAL quando esse trabalho estivesse pronto.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Müller Ribeiro, que me orientou com excelência, me tranquilizou e me incentivou desde o início do processo. As letras do seu “alfabeto de incentivos” formaram cada palavra deste trabalho.

RESUMO

A presente investigação objetivou realizar uma revisão de literatura sobre o microrganismo *Blastocystis hominis*, abordando sua epidemiologia, diversidade genética, métodos de diagnóstico e possíveis associações clínicas. Esse protozoário intestinal apresenta ampla distribuição geográfica, com prevalência particularmente elevada em regiões em desenvolvimento, mas apesar de sua ampla distribuição, a patogenicidade de *B. hominis* permanece controversa, dado que o parasito é encontrado tanto em indivíduos saudáveis quanto em pacientes sintomáticos. A pesquisa bibliográfica foi realizada entre fevereiro e novembro de 2024, utilizando as bases PubMed e SciELO, com descritores relacionados a *Blastocystis hominis* e sua patogenicidade, diagnóstico e epidemiologia. Foram selecionados artigos dos últimos 30 anos, publicados nos idiomas português e inglês. O processo incluiu leitura exploratória, seleção de artigos relevantes e análise detalhada para a elaboração deste documento. Verificou-se que há lacunas significativas nas informações sobre *Blastocystis*, principalmente nos dados epidemiológicos. O protozoário apresenta significativa diversidade genética que está relacionada a diferentes manifestações clínicas, que variam desde infecções assintomáticas até quadros sintomáticos, como dor abdominal e síndrome do intestino irritável. O diagnóstico apresenta desafios, especialmente devido ao polimorfismo do microrganismo, o que limita a eficiência de métodos tradicionais, como o exame fecal direto. Em contraste, técnicas moleculares, como a reação em cadeia da polimerase (PCR), têm demonstrado maior sensibilidade e precisão, permitindo também a subtipagem, contribuindo para o aprofundamento do conhecimento sobre sua epidemiologia. Há uma necessidade urgente de estudos adicionais para elucidar os mecanismos de patogenicidade e aperfeiçoar os métodos diagnósticos, sobretudo em áreas com infraestrutura sanitária precária, que afetam desproporcionalmente populações vulneráveis. Pesquisas com foco em avanços nessa área são essenciais para o desenvolvimento de estratégias eficazes de controle, diagnóstico e tratamento das infecções por *Blastocystis hominis*.

Palavras-chave: *Blastocystis hominis*, epidemiologia, diagnóstico, patogenicidade

ABSTRACT

This study conducted a literature review on the microorganism *Blastocystis hominis*, addressing its epidemiology, genetic diversity, diagnostic methods, and potential clinical associations. This intestinal protozoan is widely distributed, with particularly high prevalence in developing regions, where it can reach up to 60%. The analysis revealed remarkable genetic variability in the parasite, with approximately 17 subtypes identified, at least 10 of which can infect humans. This genetic diversity is associated with different clinical manifestations, ranging from asymptomatic infections to symptomatic cases, such as abdominal pain and irritable bowel syndrome. Despite its widespread distribution, the pathogenicity of *B. hominis* remains controversial, as the parasite is found in both healthy individuals and symptomatic patients. Diagnosis is challenging, especially due to the polymorphic nature of the microorganism, which limits the effectiveness of traditional methods such as direct fecal examination. In contrast, molecular techniques, such as polymerase chain reaction (PCR), have demonstrated greater sensitivity and accuracy, enabling subtype identification and contributing to a deeper understanding of its epidemiology. The study concludes that further research is urgently needed to clarify the mechanisms of pathogenicity and to improve diagnostic methods, particularly in areas with poor sanitation infrastructure, which disproportionately affect vulnerable populations. Research focused on advancements in this field is essential for developing effective strategies for the control, diagnosis, and treatment of *Blastocystis hominis* infections.

Palavras-chave: *Blastocystis hominis*, epidemiology, diagnosis, pathogenicity

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	9
2	OBJETIVOS	10
2.1	Objetivo Geral.....	10
2.2	Objetivos Específicos.....	10
3	METODOLOGIA	11
4	Blastocystis hominis: TAXONOMIA E ASPECTOS BIOLÓGICOS	12
4.1	Morfologia	13
4.2	Ciclo de vida	14
4.3	Caracterização genética de Blastocystis hominis	15
5	BLASTOCISTOSE	17
5.1	Manifestações clínicas	17
5.2	Epidemiologia da blastocistose no mundo e no Brasil	18
6	DIAGNÓSTICO DA INFECÇÃO POR Blastocystis hominis	19
6.1	Identificação de parasito em amostras fecais.....	20
6.2	Reação em cadeia de polimerase	20
6.3	Frequência de diagnóstico.....	21
7	CONCLUSÃO	22
8	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	23

1 INTRODUÇÃO

Blastocystis hominis é um protozoário unicelular, eucariótico e anaeróbio estrito amplamente disseminado no trato gastrointestinal de humanos e animais. Desde a sua primeira descrição como fungo (Alexeieff, 1911; Brumpt, 1912), e sua posterior reclassificação como parte do reino Protista (Zierd et al., 1967), esse microrganismo tem sido um objeto de estudo científico que desperta interesse devido ao seu papel patogênico controverso e à sua variação genética, além de ser um organismo que apresenta facilidade de adaptação às condições do ambiente, apresentando um polimorfismo que pode estar associado à sua sobrevivência e transmissão (Stenzel, Boreham, 1996; Tan et al., 2008).

Adicionalmente aos aspectos relacionados à sua biologia, a grande distribuição e prevalência não somente em áreas com infraestrutura sanitária precária (Menounos, 2008; Neto et al., 2003), mas também em áreas desenvolvidas, fazem com que o interesse em estudar este organismo seja ainda maior.

A variabilidade morfológica e genética associadas ao *B. hominis* afetam também a definição de um diagnóstico preciso. Os métodos tradicionais nem sempre são eficazes, e isso se deve especialmente à possibilidade de confusão com outros microrganismos ou artefatos presentes nas amostras (Stenzel, Boreham, 1996). Apesar dos avanços conseguidos com o desenvolvimento e aplicação de métodos moleculares, que melhoram a precisão do diagnóstico, ainda são necessárias abordagens mais acessíveis e eficazes para a identificação em larga escala (Stensvold et al., 2006; Nascimento et al., 2005).

Além de todos esses fatores, a patogenicidade ainda é um dos maiores desafios a serem enfrentados quando se trata do *Blastocystis hominis*. Embora seja frequentemente identificado em pacientes sintomáticos, a infecção também pode se desenvolver de forma assintomática, o que potencializa as divergências e dúvidas sobre ser um patógeno oportunista ou se é realmente um organismo colonizador do trato gastrointestinal. (Scanlan et al., 2012).

Com todas as inconsistências encontradas quando se trata de *Blastocystis hominis*, investigar, identificar e preencher essas lacunas é importante para esclarecer a influência deste parasito para a saúde humana. Desenvolver e aprimorar técnicas diagnósticas precisas e eficazes pode ser o início do esclarecimento da patogenicidade do microrganismo em questão, o que traz efeitos significativamente positivos relacionado aos aspectos de controle de transmissão e tratamento da blastocistose.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Realizar uma revisão o estado da arte sobre a biologia, epidemiologia e aspectos clínicos da infecção por *Blastocystis hominis*.

2.2 Objetivos Específicos

- Caracterizar o ciclo de vida, formas de transmissão e a diversidade genética de *Blastocystis hominis* em populações humanas;
- Sumarizar as frequências de infecção por *Blastocystis hominis* em diferentes regiões geográficas, com ênfase no Brasil.
- Descrever os métodos de diagnósticos, clássicos e inovações, utilizados para a detecção de *Blastocystis hominis*;
- Identificar lacunas no conhecimento atual sobre o parasito em questão e áreas para futuras pesquisas.

3 METODOLOGIA

O levantamento bibliográfico foi realizado entre fevereiro e novembro de 2024. As bases de dados utilizadas para a busca de artigos foram PubMed e SciELO, reconhecidas por sua vasta coleção de publicações científicas na área de saúde.

Os descritores utilizados para a pesquisa foram: *Blastocystis hominis*, epidemiologia, diagnóstico de parasitoses, detecção de *Blastocystis hominis*, infecção por *Blastocystis*, patogenicidade de *Blastocystis*, microbiota intestinal, métodos diagnósticos parasitológicos, PCR em parasitologia, epidemiologia no Brasil, entre outros relacionados ao tema central.

Foram selecionados, por conveniência, artigos com uma abordagem sobre a biologia, epidemiologia e aspectos clínicos, diagnósticos e terapêuticos de *Blastocystis hominis*. A pesquisa foi restrita aos artigos publicados nos últimos 30 anos, com foco em publicações nos idiomas português e inglês.

Após a busca e seleção dos artigos, o processo metodológico seguiu os seguintes passos: a leitura exploratória inicial para familiarização com o conteúdo, seguida da leitura seletiva para identificar os artigos mais relevantes. A escolha do material foi feita com base na adequação ao escopo do estudo, abrangendo aspectos técnicos de interesse. Em seguida, realizou-se a análise detalhada dos textos, com a elaboração de resumos que facilitassem a leitura e, por fim, a escrita do presente documento, que buscou integrar e interpretar as informações encontradas.

4 *Blastocystis hominis*: TAXONOMIA E ASPECTOS BIOLÓGICOS

Blastocystis hominis é um protista unicelular eucariótico, classificado como anaeróbio estrito. Este microrganismo é importante por sua capacidade de assumir várias formas, incluindo as morfologias vacuolar, ameboide e cística. Interessantemente, *Blastocystis hominis* possui múltiplos núcleos e organelas celulares, não cresce em meios fúngicos e é resistente a agentes antifúngicos, mas é suscetível a drogas antiprotozoárias. Por apresentar essas características diversas, esse microrganismo foi inicialmente descrito e classificado como fungo (Alexeieff, 1911; Brumpt, 1912), posteriormente sendo incluído no reino Protista (Zierd et al., 1967).

Segundo dados disponibilizados pelo *National Center for Biotechnology Information* (NCBI), que integra o *National Institutes of Health* (NIH) dos Estados Unidos da América, a taxonomia atualizada para esse agente o classifica no domínio Eukaryota, reino Chromista, supergrupo Sar, grupo Stramenopiles, filo Bigyra, classe Blastocystea, ordem Blastocystida, família Blastocystidae e gênero *Blastocystis* (Schoch et al, 2020). Essa classificação é pautada em análises moleculares do RNA ribossômico de subunidade pequena (SSU-rRNA) (Silberman et al., 1996).

O papel patogênico de *Blastocystis hominis* permanece controverso, pois ele pode ser detectado tanto em indivíduos assintomáticos quanto em pacientes com sintomas gastrointestinais (Scanlan et al., 2012). Esse parasito tem atraído crescente interesse devido a seu potencial de interação com a microbiota intestinal e o sistema imunológico, além de seu impacto na saúde humana e animal, sendo que a diversidade genética entre os subtipos reforça a necessidade de mais estudos sobre suas vias de transmissão, mecanismos de patogenicidade e variações genéticas (Gentekaki et al., 2017; Stensvold etl a., 2020).

É um microrganismo colonizador do trato gastrointestinal de vários hospedeiros, incluindo o homem. A especificidade do hospedeiro e do local a ser colonizado pode estar relacionada com o seu subtipo (ST) (Noel et al, 2005). Por ser anaeróbio estrito, quando presente em ambiente aeróbio, o organismo sofre apoptose, processo que também acontece quando está exposto a agentes antiparasitários (Tan et al., 2001), o que reforça a ideia de ser um protozoário.

4.1 Morfologia

Os fatores ambientais, como o controle osmótico, por exemplo, podem influenciar na sua aparência, o que pode ser uma justificativa para a sua característica polimórfica (Figura 1) (Stenzel, Boreham, 1996).

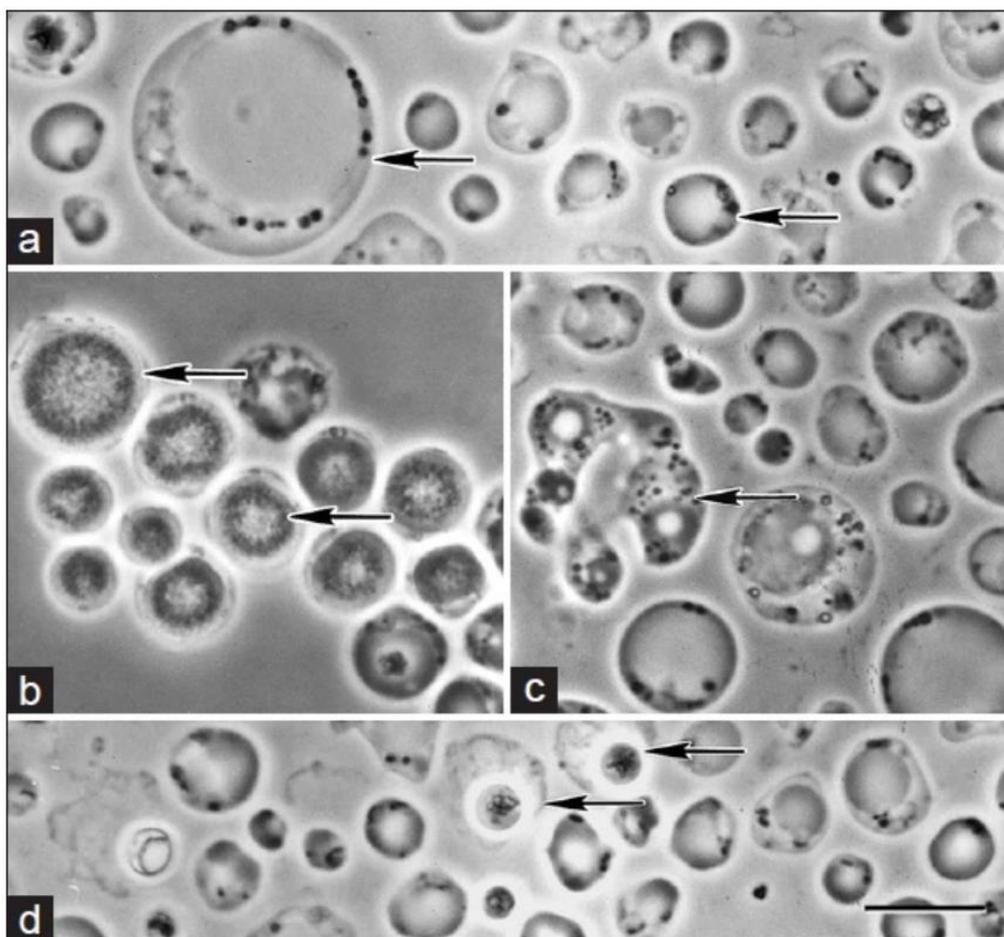
Em forma vacuolar, possui um corpo central que ocupa grande parte da célula (MG Lee e DJ Stenzel, 1999). Esses vacúolos se apresentam como corpos ligados à membrana com material granular composto de carboidratos e lipídios e com função de armazenamento (Dunn, Doreham, Stenzel 1989) e papel integral na morte celular programada (Nasirudeen et al, 2001). Essa forma tem mitocôndrias ao redor do núcleo com formato parecido ao de rosetas, o que causa uma protuberância para dentro do corpo central (Zierdt, 1991).

A forma granular, apesar de ter estrutura semelhante à forma vacuolar, se diferencia por apresentar grânulos no corpo central e no citoplasma. Essa semelhança faz com que as duas formas sejam confundidas ou descritas em conjunto (Stenzel, Boreham, 1996). A forma granular tem três tipos, o primeiro deles, que possui grânulos metabólicos, é encontrado no citoplasma e está envolvido na realização das vias metabólicas. O segundo, que possui grânulos reprodutivos, pode ser encontrado no corpo central (Suresh et al, 1994). O que possui grânulos lipídicos, terceiro tipo, têm função de armazenamento e pode ser encontrado tanto no citoplasma quanto no corpo central (Tan, Zierdt, 1973).

A forma ameboide é encontrada com maior frequência e tem formato irregular (Tan, Zierdt 1973). Apesar de ter pseudópodes, é uma forma imóvel (Tan, 2008) que pode conter um único vacúolo grande ou vários menores (Tan, Suresh, 1996). É a forma que está mais associada à infecções sintomáticas, o que sugere que ela seja patogênica (Zhang et al, 2012). A forma cística, por sua vez, tem formato variável entre esférico e ovoide, apresentando um cisto com parede e múltiplas camadas. É a forma que protege o parasito quando exposto a condições adversas, como a presença do ar. Quando entra em contato com hospedeiros susceptíveis, essa forma se torna infecciosa e transmissível (Moe et al, 1999).

A variação morfológica que *B. hominis* apresenta é de grande importância e deve ser perfeitamente identificada, já que a observação microscópica das amostras de fezes pode se tornar complicada e de visualização e identificação confusas, contribuindo para que a espécie passe despercebida no processo de diagnóstico (Stenzel, Boreham, 1996) e resultando em uma subnotificação.

Figura 1. Formas de vida de *Blastocystis. hominis*.



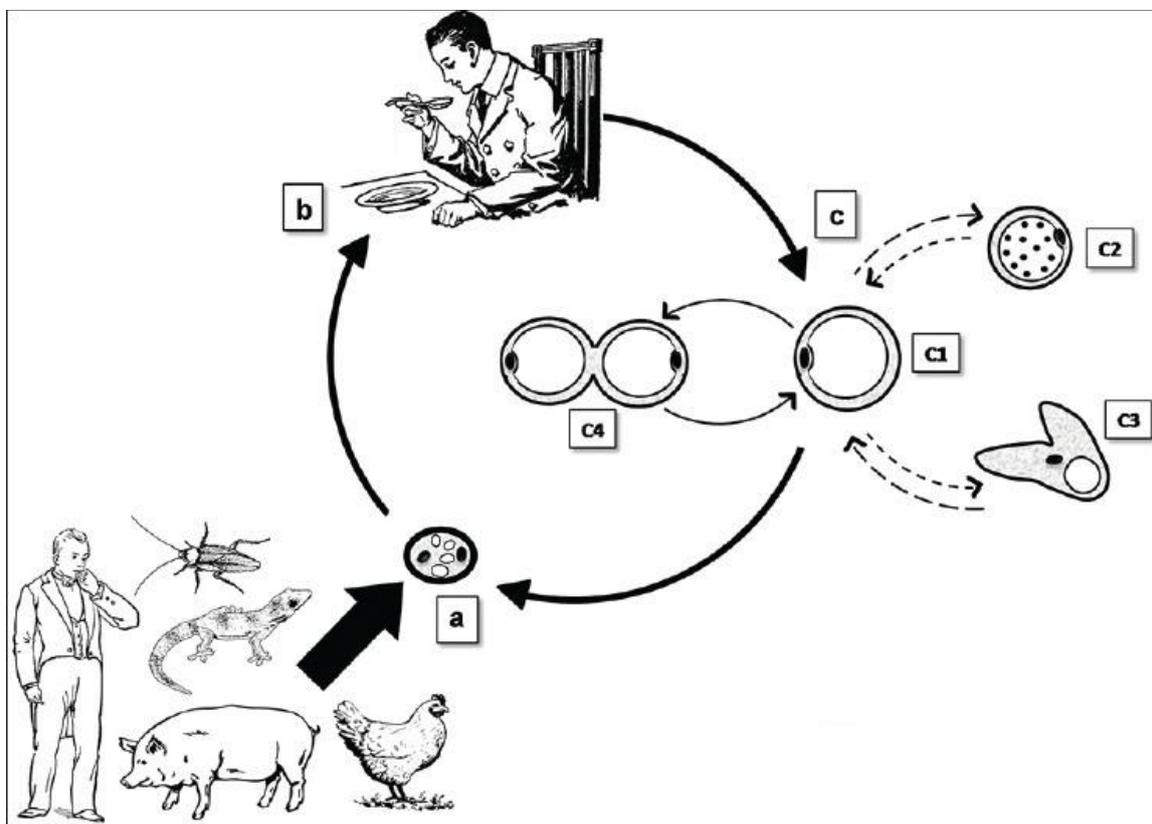
Fonte: Parija et al. (2013). a) Forma vacuolar, onde as setas indicam o vacúolo. b) Forma granular, onde as setas evidenciam os grânulos que envolvem o corpo central. c) Forma ameboide, com formato irregular. d) Forma cística, que apresenta cisto com parede.

4.2 Ciclo de vida

O hospedeiro pode contrair a infecção por *B. hominis* pela via fecal-oral (Yoshikawa et al, 2004) ou através da ingestão de água não tratada e plantas aquáticas contaminadas, especialmente em áreas com infraestrutura sanitária inadequada (Lee et al, 2012). A forma de vida transmissível é a cística (Yoshikawa et al, 2004), que é excretada nas fezes do hospedeiro infectado e contamina alimentos ou água. Outro hospedeiro entra em contato com a água e/ou alimentos contaminados e é infectado. Em seu intestino grosso ocorre a excitação, liberação de uma forma vacuolar (podendo ser transformada em outras formas) que se multiplica rapidamente (Zhang et al, 2007). Ao chegar no lúmen do intestino grosso do hospedeiro, a forma vacuolar se transforma em forma cística novamente para ser eliminada nas fezes e assim

repetir seu ciclo de vida (Figura 2), que é dependente da compatibilidade do subtipo com o hospedeiro (Moe et al, 1999).

Figura 2. Ciclo de vida completo do microrganismo *Blastocystis hominis*



Fonte: Parija SC, Jeremiah S (2013). a) hospedeiro portador de blastocistose contamina o ambiente através das fezes; b) outro hospedeiro contrai a infecção por via fecal-oral ou alimentos/água contaminados c) excitação e reprodução dos cistos.

4.3 Caracterização genética de *Blastocystis hominis*

A gama de informações acerca do parasito *Blastocystis hominis* também se estende para a sua caracterização genética. Este organismo apresenta uma grande diversidade em isolados tanto de humanos quanto de animais (Tan et al., 2008)¹, o que tem sido amplamente demonstrado em estudos que destacam a variação de espécies conforme o hospedeiro em que habita (Parijah et al., 2013). Além da diversidade entre espécies, também se observa uma variação significativa de subtipos dentro de cada uma dessas espécies identificadas, os quais podem, possivelmente, influenciar na patogenicidade do *B. hominis* (Suresh; Smith, 2004).

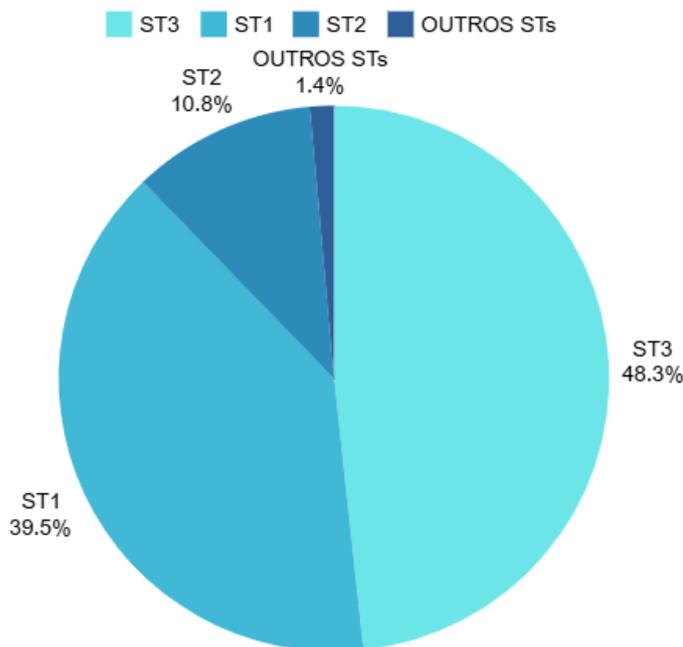
Embora formalmente se conheça apenas uma espécie que infecta humanos, a diversidade genética dentro dessa espécie é ampla, levando à identificação de pelo menos 17 subtipos (STs), denominados ST1 a ST17 (Melo et al., 2019), dos quais cerca de 10 são capazes de infectar humanos, enquanto os demais são comumente encontrados em animais (Tan et al., 2008; Stensvold et al., 2009). Esta variação reforça a complexidade e a heterogeneidade genética de *B. hominis* nas populações humana e animal. Dentre a diversidade de subtipos capazes de infectar humanos, um estudo realizado no ano de 2023, no Egito, conseguiu destrinchar os infectantes mais prevalentes, tendo o ST3 como o primeiro deles (48,3%), seguido pelo ST1 (39,5%) e o ST2 em terceiro lugar (10,8%) (Naguib et al. 2023). Dentre os 17 STs de *Blastocystis sp.* já identificados, no Brasil, apenas 6 foram encontrados (ST1-ST5, ST8) variando entre os hospedeiros humanos e animais (Zanetti et al. 2020).

A diversidade genética de *Blastocystis hominis* levanta questões importantes sobre sua patogenicidade. Alguns estudos indicam que a presença de certos subtipos, como ST1, ST3 e ST4, pode estar mais fortemente associada aos sintomas gastrointestinais, enquanto outros subtipos podem ser mais frequentemente encontrados em indivíduos assintomáticos (Scanlan, 2012; Gentekaki et al., 2017). Essa variabilidade genética sugere que o impacto clínico da blastocistose depende não somente do subtipo presente, mas também da interação entre o parasita, a microbiota intestinal e o sistema imunológico do hospedeiro (Stensvold et al., 2020).

Apesar de ainda não se ter conclusões concretas quando se trata do *Blastocystis hominis*, há uma grande probabilidade de que a patogenicidade e a virulência deste parasito estejam relacionadas ao seu subtipo (Tan et al, 2010)², mesmo que nem todas as cepas de um subtipo sejam patogênicas (Scanlan, 2012).

Em um estudo do ano de 2006, realizado na Malásia, que comparou isolados do parasito em pacientes sintomáticos e assintomáticos, houve predominância da forma ameboide nos pacientes sintomáticos (Tan, Suresh, 2006)³, assim como também foi sugerido por Zhang et. al (2012). A secreção de protease e outras enzimas hidrolíticas foi detectada por *Blastocystis hominis*, o que pode estar associado à patogenicidade dos sintomas gastrointestinais (Abdel-Hameed et al, 2011). É possível caracterizar, de acordo com Tan et al, 2008, as cepas virulentas através das suas características, como seu tamanho grande, superfície rugosa, taxa de crescimento lenta e maior afinidade de ligação a lectinas.

Figura 3. Prevalência dos subtipos de *Blastocystis hominis*



Fonte: Autoral

5 BLASTOCISTOSE

A blastocistose, doença causada quando há infecção por *B. hominis*, pode ser assintomática ou sintomática, geralmente apresentando sintomas inespecíficos e comuns a outras parasitoses, que variam desde dor abdominal até o aparecimento de febre, sintoma principalmente associado aos casos de infecção aguda.

5.1 Manifestações clínicas

Os casos de infecção assintomática onde há investigação das formas de vida de *B. hominis* mostram, em sua maioria, achados da forma granular (Tan, et al. 2006). Em casos sintomáticos, por outro lado, a forma de vida mais comumente encontrada é a ameboide (Tan, Suresh, 2006)⁴ e os sintomas são geralmente gastrointestinais, mas ainda assim, variáveis e inespecíficos, tendo início com desconforto abdominal e sendo continuado por náuseas, vômitos, flatulência e/ou diarreia (Stenzel, Boreham, 1996). Nesses casos, estes sintomas podem ter duração entre um dia a duas semanas (Tan, 2008). O mecanismo de patogenicidade da infecção por *B. hominis* ainda não está claramente definido, mas o caminho percorrido até hoje na ciência sugere que o desenvolvimento de sintomas pode estar associado ao seu subtipo

e a compatibilidade dele com o hospedeiro (Tan, et al, 2010), além das condições clínicas associadas e do estado do paciente, como, possivelmente, a presença de imunossupressão (Stenzel, Boreham, 1996).

5.2 Epidemiologia da blastocistose no mundo e no Brasil

A infecção por *Blastocystis hominis* tem distribuição mundial, sendo comumente encontrado em fezes humanas. É frequentemente encontrada nos países em desenvolvimento (Menounos, 2008), tendo cerca de 76% de prevalência (David, et. al, 2015), e com clima tropical ou subtropical (Neto et. al, 2003). Em países desenvolvidos, a prevalência é consideravelmente menor, variando entre 1,5% e 10%, o que pode estar associada ao ciclo de vida e às melhores condições sanitárias e infraestrutura (Scanlan, 2012; Mahmoud et al., 2023).

Blastocystis hominis também é prevalente em diversas regiões do Brasil, especialmente em áreas com condições sanitárias precárias. A infecção ocorre possivelmente por ingestão de água ou alimentos contaminados, que é mais comum em regiões com saneamento básico deficiente (David et al, 2015).

Diversos estudos epidemiológicos realizados no Brasil demonstram uma prevalência elevada da infecção, especialmente em populações que vivem em situações de vulnerabilidade social e econômica. A prevalência em áreas rurais e periféricas pode chegar a 60%, enquanto em regiões urbanas com melhores condições de saneamento, essa taxa é reduzida, variando de 10% a 30% (Devera, 1999). A maior parte das infecções ocorre de forma assintomática, mas algumas evidências sugerem que *B. hominis* pode estar associada a doenças intestinais como a síndrome do intestino irritável, além de distúrbios como urticária e, em alguns casos, diabetes (Melo, 2019).

Além disso, um estudo realizado no Hospital das Clínicas de São Paulo, entre 2016 e 2021, mostrou a persistente presença do parasito entre os pacientes, com destaque para a diversidade genética do *Blastocystis sp.* em diferentes subtipos circulantes. A diversidade genética encontrada no Brasil é um fator que aumenta a complexidade de sua detecção e possível patogenicidade, reforçando a necessidade de estudos que explorem suas variáveis clínicas e epidemiológicas (Borges et al., 2009). O aumento da utilização de métodos de diagnóstico mais sensíveis, como PCR e cultura, tem contribuído para uma melhor detecção do parasito, que anteriormente era muitas vezes negligenciado devido à dificuldade na sua visualização em métodos convencionais, como o exame de fezes direto (Nascimento et al., 2005).

6 DIAGNÓSTICO DA INFECÇÃO POR *Blastocystis hominis*

Para a detecção de infecções parasitárias existem dois tipos de diagnóstico: o direto e o indireto. O método direto se baseia em achados morfológicos, de DNA do parasito ou antígenos na amostra, enquanto o método indireto se baseia em achados de anticorpos (Verweij, Stensvold, 2014). A técnica tradicional mais utilizada nos laboratórios para a investigação dessas infecções é a microscopia de esfregaço de fezes, um método direto que se baseia em encontrar as formas de vida do organismo em questão (Süli et al, 2018).

Assim como as controvérsias encontradas em diversos aspectos relacionados ao *B. hominis*, ainda existem dificuldades significativas para a definição da melhor técnica diagnóstica. Sua extensa morfologia, possibilidade de infecções concomitantes por outros parasitos e ausência de sintomas específicos podem contribuir negativamente para a padronização do diagnóstico assertivo (Stenzel e Boreham, 1996). Além disso, a gama de técnicas existentes, a sensibilidade variável entre elas e a extensão de informações sobre a blastocistose que ainda não foram elucidadas podem adiar ainda mais a conclusão de uma técnica totalmente apropriada para a investigação da infecção (Süli et al, 2018).

Apesar do esfregaço de fezes ser uma das técnicas mais empregadas para a investigação e diagnóstico da infecção por *B. hominis*, o método ainda não é um dos mais seguros e eficazes, mesmo que a equipe do laboratório seja bem treinada e experiente (Süli, 2018). A baixa precisão e confiabilidade na aplicação desse tipo de técnica direta se relaciona, principalmente, com a característica polimórfica do parasito, que pode gerar dúvidas e confusão com outros microrganismos ou artefatos presentes na amostra (Tan, 2008).

O uso da cultura *in vitro* xênica (XIVC) em meio Jones, técnica utilizada por Süli et al (2018) em um estudo que comparou alguns dos métodos de diagnóstico de *B. hominis* em fezes de suínos, se mostrou eficaz, fácil e econômico. Por outro lado, nesse mesmo estudo, os autores indicam que quando se trata de amostras de fezes humanas é inevitável o uso da técnica da reação em cadeia polimerase (PCR), técnica molecular direta que apresentou maior sensibilidade ao parasito quando comparada aos outros métodos diagnósticos, além da possibilidade de amplificação gênica dos achados na amostra na utilização desse método diagnóstico. Além disso, a técnica de PCR tem a vantagem de não exigir amostras de fezes frescas, já que ela também consegue detectar os microrganismos que não estão intactos ou vivos (Stensvold, et al, 2006).

6.1 Identificação de parasito em amostras fecais

O método coproparasitológico com centrifugação é amplamente utilizado para a detecção de *Blastocystis hominis* e outros parasitos intestinais, baseando-se na concentração das amostras fecais por centrifugação. Esse processo aumenta a sensibilidade da técnica, sendo especialmente útil para infecções com baixa carga parasitária, onde há dificuldade de detecção dos parasitos por microscopia direta.

A amostra fecal é misturada com soluções como formol-salina, seguida de centrifugação para separar os parasitos das demais substâncias. A amostra concentrada é então analisada em microscópio para identificação das formas parasitárias, especialmente as vacuolares e císticas, que são as mais comuns em amostras de fezes (Miné et al., 2008).

Embora o método de esfregaço direto fecal ainda seja amplamente utilizado em todo o mundo para a identificação e diagnóstico de parasitoses, ele exige um alto nível de experiência profissional, o que pode comprometer a qualidade do diagnóstico, principalmente em casos de baixa carga parasitária ou infecções assintomáticas. A centrifugação melhora a visualização e a detecção dos parasitos, especialmente quando a infecção é leve ou as fezes têm baixa consistência. A técnica de centrifugação, ao concentrar os parasitos, oferece uma vantagem significativa, pois permite detectar *Blastocystis hominis* em amostras que poderiam ser negligenciadas na microscopia direta (Abdellatif et al., 2023).

Apesar da eficácia, o método coproparasitológico com centrifugação e esfregaço de fezes também apresenta limitações, como a necessidade de habilidade técnica para a correta interpretação dos resultados e a possibilidade de falhas na preservação das amostras. Além disso, enquanto a centrifugação melhora a sensibilidade, ela não exclui a necessidade de métodos complementares, como a PCR (reação em cadeia de polimerase) para confirmar a presença do parasito (Nourrisson et al., 2020).

6.2 Reação em cadeia de polimerase

A técnica de PCR é amplamente utilizada para a detecção de *Blastocystis hominis*, especialmente devido à sua alta sensibilidade para identificar o parasito em amostras de fezes com baixa carga parasitária. Este método amplifica regiões específicas do DNA do parasito, permitindo identificar e subtipar *B. hominis* de forma mais precisa. Primers que miram o gene do RNA ribossomal 18S são comumente utilizados, como os descritos por Scicluna e colaboradores e aplicados em estudos subsequentes, incluindo Stensvold et al., que

recomendam a PCR para investigar infecções de *Blastocystis sp.* em amostras fecais humanas (Scicluna et al., 2006).

Além disso, a PCR pode ser complementada por técnicas de sequenciamento para uma subtipagem mais detalhada do parasito, o que ajuda a entender as possíveis diferenças de patogenicidade entre os subtipos. Estudos como o de Alfellani et al. (2013), demonstram que a PCR pode ser integrada com a análise de sequências para diferenciar subtipos de *Blastocystis sp.* presentes em várias populações, avaliação essencial para a definição da epidemiologia molecular e o entendimento da variabilidade genética deste parasito.

6.3 Frequência de diagnóstico

A frequência de diagnóstico de infecções por *Blastocystis hominis* em humanos varia amplamente de acordo com fatores geográficos, socioeconômicos e com os métodos de detecção empregados. Estudos indicam que a prevalência desse protozoário em humanos pode chegar a 60% em regiões de menor desenvolvimento, especialmente em áreas com menor qualidade de saneamento e higiene (Scanlan, 2012; Stensvold et al., 2009). Por outro lado, em países desenvolvidos, a prevalência tende a ser mais baixa, variando entre 1,5% e 10%, mas existem registros crescentes em diversos contextos, possivelmente associados ao aumento na sensibilidade de métodos diagnósticos avançados, como a PCR e o sequenciamento de RNA ribossômico (Marili et al., 2021).

A utilização de técnicas moleculares, como a PCR, tem contribuído significativamente para o aumento da detecção e identificação de subtipos de *Blastocystis sp.*, revelando uma diversidade genética que sugere variações no potencial patogênico e na transmissão (Alfellani et al., 2013; Fusaro et al., 2024). Esses avanços destacam a necessidade de estudos consistentes, que utilizem métodos sensíveis, para uma compreensão mais precisa da distribuição da blastocistose em populações humanas, especialmente em áreas onde o protozoário é endêmico.

Estudos recentes indicam que a prevalência de infecções assintomáticas por *B. hominis* continua a ser alta, com a detecção do parasito em populações de diferentes faixas etárias, especialmente em crianças de países em desenvolvimento, onde fatores como condições sanitárias inadequadas e a falta de acesso a água potável elevam o risco de infecção (Zaman et al., 2023). Isso, no entanto, não significa que o parasito esteja ausente, ele pode ser encontrado em casos isolados ou em infecções assintomáticas (Mahmmoud et al., 2023).

7 CONCLUSÃO

O protozoário *Blastocystis* está entre os enteroparasitos mais frequentemente detectados em amostras fecais de humanos em todo o mundo, particularmente em regiões com saneamento básico precário e acesso limitado à água potável, um fenômeno predominante em países em desenvolvimento. O fato da principal via de transmissão de blastocistose ser fecal-oral pode ser uma justificativa para que as regiões com melhores condições de saneamento tenham menores taxas de infecção quando comparadas às regiões em desenvolvimento.

Apesar de sua alta prevalência, o potencial patogênico do *Blastocystis* permanece ambíguo, com evidências sugerindo que ele pode atuar tanto como organismo comensal quanto como patógeno, assim, essa dualidade reforça as dúvidas existentes sobre seu papel exato como agente causal em doenças ou se reflete apenas a colonização oportunista. A falta de sintomas específicos e a variação epidemiológica entre a população sintomática e assintomática também dificultam o esclarecimento da patogenicidade deste organismo.

A complexidade associada à definição de um método diagnóstico preciso, ao manejo clínico e à compreensão da patogenicidade de *Blastocystis hominis* ainda são incógnitas a serem esclarecidas na ciência. Apesar dos avanços nas técnicas moleculares de detecção, ainda existem lacunas significativas no conhecimento sobre a diversidade genética e impacto na saúde humana. Compreender melhor essas variáveis são essenciais para o desenvolvimento de estratégias eficazes de controle e tratamento, especialmente em contextos em que o saneamento básico é limitado, agravando a vulnerabilidade das populações expostas às infecções parasitárias.

Após a revisão de literatura detalhada, pode-se observar claramente que as lacunas acerca das características de *Blastocystis hominis* estão principalmente relacionadas aos critérios diagnósticos, à sua patogenicidade e aos sintomas associados à infecção.

O entendimento dessas características pode trazer contribuições importantes tanto para a ciência quanto para a população em geral. Novas descobertas resultam em uma cadeia de melhorias, podendo trazer avanço nas técnicas diagnósticas, que pode, por sua vez, implicar no desenvolvimento de tratamento eficaz, e por fim, na prevenção e controle epidemiológico. Diante disso, torna-se evidente a necessidade do desenvolvimento de mais pesquisas relacionadas a todos os aspectos de *Blastocystis hominis*, com foco em entender seus mecanismos moleculares, patogênicos e efeitos na saúde humana, o que impacta diretamente na melhoria das condições de saúde da população.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDEL-HAMEED, D. M.; HASSANIN, O. M. Protease activity of *Blastocystis hominis* subtype 3 in symptomatic and asymptomatic patients. **Parasitol Res**, v. 109, n. 2, p. 321-327, 2011. doi: 10.1007/s00436-011-2259-x.

ALEXIEFF, A. Sur la nature des formations dites "Kystes de *Trichomonas intestinalis* C R Soc Biol. 71:296-98, 1911.

ALFELLANI, M. A.; TANER-MULLA, D.; JACOB, A. S.; IMEEDE, C. A.; YOSHIKAWA, H.; STENZVOLD, C. R.; CLARK, C. G. Genetic diversity of *Blastocystis* in livestock and zoo animals. **Protist**, v. 164, n. 4, p. 497-509, 2013. doi: 10.1016/j.protis.2013.05.003.

ALFELLANI, M. A. et al. Variable geographic distribution of *Blastocystis* subtypes and its potential implications. **Acta tropica**, v. 126, n. 1, p. 11-18, 2013.

BASAK, S.; RAJURKAR, M. N.; MALLICK, S. K. Detection of *Blastocystis hominis*: a controversial human pathogen. **Parasite Research**, v. 113, n. 1, p. 261-265, 2014. doi: 10.1007/s00436-013-3652-4.

BOREHAM, P. F.; UPCROFT, J. A.; DUNN, L. A. Protein and DNA evidence for two demes of *Blastocystis hominis* from humans. **International Journal for Parasitology**, v. 22, n. 1, p. 49-53, 1992. doi: 10.1016/0020-7519(92)90079-z.

BRUMPT, É.. *Blastocystis hominis* n. sp. et formes voisines. **Bulletin de la Société de Pathologie exotique** 5(9): 725-730, 1912

DAVID, É. B.; GUIMARÃES, S.; DE OLIVEIRA, A. P.; et al. Molecular characterization of intestinal protozoa in two poor communities in the State of São Paulo, Brazil. **Parasites & Vectors**, v. 8, p. 1-12, 2015.. doi: 10.1186/s13071-015-0714

DUNN, L. A.; BOREHAM, P. F.; STENZEL, D. J. Ultrastructural variation of *Blastocystis hominis* stocks in culture. **International Journal for Parasitology**, v. 19, n. 1, p. 43-56, 1989. doi: 10.1016/0020-7519(89)90020-9.

ELGHAREEB, A. S.; YOUNIS, M. S.; EL FAKAHANY, A. F.; NAGATY, I. M.; NAGIB, M. M. Laboratory diagnosis of *Blastocystis spp.* in diarrheic patients. **Tropical Parasitology**, v. 5, n. 1, p. 36-41, 2015. doi: 10.4103/2229-5070.149919.

EYMAEL, D.; SCHUH, G. M.; TAVARES, R. G. Padronização do diagnóstico de *Blastocystis hominis* por diferentes técnicas de coloração. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 43, n. 3, p. 309-312, 2010. doi: 10.1590/S0037-86822010000300019.

FARIA, C. P. et al. Geospatial distribution of intestinal parasitic infections in Rio de Janeiro (Brazil) and its association with social determinants. **PLoS neglected tropical diseases**, v. 11, n. 3, p. e0005445, 2017.

- FUSARO, C. et al. Molecular Prevalence and Subtypes Distribution of *Blastocystis spp.* in Humans of Latin America: A Systematic Review. **Tropical Medicine and Infectious Disease**, v. 9, n. 2, p. 38, 2024.
- GENTEKAKI, E. et al. Extreme genome diversity in the hyper-prevalent parasitic eukaryote *Blastocystis*. **PLoS biology**, v. 15, n. 9, p. e2003769, 2017.
- IRIKOV, O. A.; ANTOKHIN, A. I.; ROMANOV, Y. A. Study of the dynamics of *Blastocystis hominis* reproduction in vitro. **Bulletin of Experimental Biology and Medicine**, v. 148, n. 1, p. 99-102, 2009. doi: 10.1007/s10517-009-0651-7.
- LANUZA, M. D.; CARBAJAL, J. A.; VILLAR, J.; BORRÁS, R. Description of an improved method for *Blastocystis hominis* culture and axenization. **Parasitol Res**, v. 83, n. 1, p. 60-63, 1997. doi: 10.1007/s004360050209.
- LEE, M. G.; STENZEL, D. J. A survey of *Blastocystis* in domestic chickens. **Parasitol Res**, v. 85, n. 2, p. 109-117, 1999. doi: 10.1007/s004360050518.
- MARALI, F. et al. Prevalence and characterization of *Blastocystis spp.* in central southwest of Iran. **Annals of Parasitology**, v. 67, n. 2, 2021.
- MELO, G. B. et al. Characterization of subtypes of *Blastocystis sp.* isolated from patients with urticaria, São Paulo, Brazil. **Parasite Epidemiology and Control**, v. 7, 2019. doi: 10.1016/j.parepi.2019.e00124.
- MENOUNOS, P. G.; SPANAKOS, G.; TEGOS, N.; VASSALOS, C. M.; PAPAPOPOULOU, C.; VAKALIS, N. C. Direct detection of *Blastocystis sp.* in human fecal samples and subtype assignment using single strand conformational polymorphism and sequencing. **Molecular and Cellular Probes**, v. 22, n. 1, p. 24-29, 2008. doi: 10.1016/j.mcp.2007.06.007. doi: 10.1016/j.mcp.2007.06.007.
- MINÉ, J. C.; ROSA, J. A. Frequência de *Blastocystis hominis* e outros parasitas intestinais em amostras de fezes examinadas no Laboratório de Parasitologia da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade Estadual Paulista, Araraquara. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 41, n. 6, p. 565-569, 2008. doi: 10.1590/S0037-86822008000600004.
- MOE, K. T.; SINGH, M.; HOWE, J.; HO, L. C.; TAN, S. W.; CHEN, X. Q.; YAP, E. H. Development of *Blastocystis hominis* cysts into vacuolar forms in vitro. **Parasite Research**, v. 85, n. 2, p. 103-108, 1999. doi: 10.1007/s004360050517.
- MOHAMMED, A.; ZAKI, M.; et al. Detection of *Blastocystis* species in the stool of immuno-compromised patients by using two different diagnostic techniques. **Minia Journal of Medical Research**, v. 34, n. 3, p. 103-110, 2023.
- NAGUIB, D.; GANTOIS, N.; DESRAMAUT, J.; ARAFAT, N.; MANDOUR, M.; ABDELMAOGOOD, A. K. K.; MOSA, A. F.; DENOYELLE, C.; EVEN, G.; CERTAD, G.; CHABÉ, M.; VISCOGLIOSI, E. Molecular epidemiology and genetic diversity of the enteric protozoan parasite *Blastocystis sp.* in the Northern Egypt population. **Pathogens**, v. 12, p. 1359, 2023. doi: 10.3390/pathogens12111359.

NASCIMENTO, S. A.; MOITINHO, M. da L. *Blastocystis hominis* e outros parasitas intestinais em uma comunidade da cidade de Pitanga, Paraná, Brasil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 47, n. 4, p. 213-217, 2005. doi: 10.1590/s0036-46652005000400007.

NOËL, C.; DUFRERNEZ, F.; GERBOD, D.; EDGCOMB, V. P.; DELGADO-VISCOGLIOSI, P.; HO, L. C.; SINGH, M.; WINTJENS, R.; SOGIN, M. L.; CAPRON, M.; PIERCE, R.; ZENNER, L.; VISCOLGIOSI, E. Molecular phylogenies of *Blastocystis* isolates from different hosts: implications for genetic diversity, identification of species, and zoonosis. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 43, n. 1, p. 348-355, 2005. doi: 10.1128/JCM.43.1.348-355.2005.

NOURRISSON, Céline et al. Comparison of DNA extraction methods and real-time PCR assays for the detection of *Blastocystis* sp. in stool specimens. **Microorganisms**, v. 8, n. 11, p. 1768, 2020.

PARIJA, S. C.; JEREMIAH, S. *Blastocystis*: taxonomy, biology and virulence. **Tropical Parasitology**, v. 3, n. 1, p. 17-25, 2013. doi: 10.4103/2229-5070.113894.

PARKAR, U. et al. Direct characterization of *Blastocystis* from faeces by PCR and evidence of zoonotic potential. **Parasitology**, v. 134, n. 3, p. 359-367, 2007.

SCANLAN, P. D. *Blastocystis*: past pitfalls and future perspectives. **Trends in parasitology**, v. 28, n. 8, p. 327-334, 2012.

SCHOCH CL, et al. NCBI Taxonomy: a comprehensive update on curation, resources and tools. **Database (Oxford)**. 2020.

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

STENSVOLD, C. R.; CLARK, C. G. Pre-empting Pandora's box: *Blastocystis* subtypes revisited. **Trends in parasitology**, v. 36, n. 3, p. 229-232, 2020.

STENSVOLD, C. R.; CLARK, C. G. Current status of *Blastocystis*: a personal view. **Parasitology International**, v. 65, n. 6, p. 763-771, 2016.

STENSVOLD, C. R.; LEWIS, H. C.; HAMMERUM, A. M.; PORSBO, L. J.; NIELSEN, S. S.; OLSEN, K. E.; ARENDRUP, M. C.; NIELSEN, H. V.; MØLBAK, K. *Blastocystis*: unravelling potential risk factors and clinical significance of a common but neglected parasite. **Epidemiology and Infection**, v. 137, n. 11, p. 1655-1663, 2009. doi: 10.1017/S0950268809002672.

STENSVOLD, C. R.; SURESH, G. K.; TAN, K. S.; THOMPSON, R. C.; TRAUB, R. J.; VISCOLGIOSI, E.; YOSHIKAWA, H.; CLARK, C. G. Terminology for *Blastocystis* subtypes—a consensus. **Trends in Parasitology**, v. 23, n. 3, p. 93-96, 2007. doi: 10.1016/j.pt.2007.01.004.

STENSVOLD, R.; ARENDRUP, M. C.; JESPERGAARD, C.; MØLBAK, K.; NIELSEN, H. V. Detecting *Blastocystis* using parasitologic and DNA-based methods: a comparative study. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, v. 59, n. 3, p. 303-307, 2007. doi: 10.1016/j.diagmicrobio.2007.06.003.

- STENZEL, D. J.; BOREHAM, P. F. *Blastocystis hominis* revisited. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 9, n. 4, p. 563-584, 1996. doi: 10.1128/CMR.9.4.563.
- STENZEL, D. J.; DUNN, L. A.; BOREHAM, P. F. Endocytosis in cultures of *Blastocystis hominis*. **International Journal for Parasitology**, v. 19, n. 7, p. 787-791, 1989. doi: 10.1016/0020-7519(89)90067-2.
- STENZEL, R.; BRILLOWSKA-DABROWSKA, A.; NIELSEN, H. V.; ARENDRUP, M. C. Detection of *Blastocystis hominis* in unpreserved stool specimens by using polymerase chain reaction. **Journal of Parasitology**, v. 92, n. 5, p. 1081-1087, 2006. doi: 10.1645/GE-840R.1.
- SÜLI, T.; KOZODEROVIĆ, G.; POTKONJAK, A.; SIMIN, S.; SIMIN, V.; LALOŠEVIĆ, V. Comparison of conventional and molecular diagnostic techniques for detection of *Blastocystis* sp. in pig faeces. **Iranian Journal of Parasitology**, v. 13, n. 4, p. 594-601, out.-dez. 2018. PMID: 30697313; PMCID: PMC6348225.
- SURESH, K.; HOWE, J.; NG, G. C.; HO, L. C.; RAMACHANDRAN, N. P.; LOH, A. K.; YAP, E. H.; SINGH, M. A multiple fission-like mode of asexual reproduction in *Blastocystis hominis*. **Parasite Research**, v. 80, n. 6, p. 523-527, 1994. doi: 10.1007/BF00932701.
- SURESH, K.; SMITH, H. Comparison of methods for detecting *Blastocystis hominis*. **European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases**, v. 23, p. 509-511, 2004. doi: 10.1007/s10096-004-1123-7.
- TAN, H. K.; ZIERDT, C. H. Ultrastructure of *Blastocystis hominis*. **Zeitschrift für Parasitenkunde**, v. 42, n. 4, p. 315-324, 23 1973. doi: 10.1007/BF00328892.
- TAN, K. S. New insights on classification, identification, and clinical relevance of *Blastocystis* spp. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 21, n. 4, p. 639-665, 2008. doi: 10.1128/CMR.00022-08.
- TAN, K. S.; HOWE, J.; YAP, E. H.; SINGH, M. Do *Blastocystis hominis* colony forms undergo programmed cell death? **Parasitol Res**, v. 87, n. 5, p. 362-367, 2001. doi: 10.1007/s004360000364.
- ²TAN, K. S.; MIRZA, H.; TEO, J. D.; WU, B.; MACARY, P. A. Current views on the clinical relevance of *Blastocystis* spp. **Current Infectious Disease Reports**, v. 12, n. 1, p. 28-35, 2010. doi: 10.1007/s11908-009-0073-8.
- ⁴TAN, T. C.; SURESH, K. G. Amoeboid form of *Blastocystis hominis* - a detailed ultrastructural insight. **Parasite Research**, v. 99, n. 6, p. 737-742, 2006. doi: 10.1007/s00436-006-0214-z.
- ³TAN, T. C.; SURESH, K. G. Predominance of amoeboid forms of *Blastocystis hominis* in isolates from symptomatic patients. **Parasite Research**, v. 98, n. 3, p. 189-193, fev. 2006. doi: 10.1007/s00436-005-0033-7.
- ¹TAN, T. C.; SURESH, K. G.; SMITH, H. V. Phenotypic and genotypic characterisation of *Blastocystis hominis* isolates implicates subtype 3 as a subtype with pathogenic potential. **Parasitol Res**, v. 104, n. 1, p. 85-93, 2008. doi: 10.1007/s00436-008-1163-5.

TAN, T. C.; SURESH, K. G.; THONG, K. L.; SMITH, H. V. PCR fingerprinting of *Blastocystis* isolated from symptomatic and asymptomatic human hosts. **Parasitol Res**, v. 99, n. 4, p. 459-465, 2006. DOI: 10.1007/s00436-006-0177-0.

YOSHIKAWA, H.; YOSHIDA, K.; NAKAJIMA, A.; YAMANARI, K.; IWATANI, S.; KIMATA, I. Fecal-oral transmission of the cyst form of *Blastocystis hominis* in rats. **Parasite Research**, v. 94, n. 6, p. 391-396, 2004. doi: 10.1007/s00436-004-1230-5.

ZANETTI, A. D.; MALHEIROS, A. F.; DE MATOS, T. A.; et al. Prevalência de infecção por *Blastocystis* sp. em diversos hospedeiros no Brasil: uma revisão sistemática e meta-análise. **Parasites & Vectors**, v. 13, p. 30, 2020. <https://doi.org/10.1186/s13071-020-3900-0>.

ZHANG, X.; QIAO, J. Y.; ZHOU, X. J.; YAO, F. R.; WEI, Z. C. Morphology and reproductive mode of *Blastocystis hominis* in diarrhea and in vitro. **Parasite Research**, v. 101, n. 1, p. 43-51, 2007. doi: 10.1007/s00436-006-0439-x.

ZHANG, X.; ZHANG, S.; QIAO, J.; WU, X.; ZHAO, L.; LIU, Y.; FAN, X. Ultrastructural insights into morphology and reproductive mode of *Blastocystis hominis*. **Parasitol Res**, v. 110, n. 3, p. 1165-1172, 2012. doi: 10.1007/s00436-011-2607-x.

ZIERDT, C. H. *Blastocystis hominis*—past and future. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 4, n. 1, p. 61-79, 1991. doi: 10.1128/CMR.4.1.61.

ZIERDT, C. H. Cytochrome-free mitochondria of an anaerobic protozoan—*Blastocystis hominis*. **Journal of Protozoology**, v. 33, n. 1, p. 67-69, 1986. doi: 10.1111/j.1550-7408.1986.tb05559.x.

ZIERDT, C. H. Studies of *Blastocystis hominis*. **Journal of Protozoology**, v. 20, n. 1, p. 114-121, 1973. doi: 10.1111/j.1550-7408.1973.tb06013.x.