

Blastocystis – tajemniczy pasożyt

13 września 2018

Blastocystis to jednokomórkowy pasożyt jelitowy, pierwotniak występujący u ludzi zdrowych oraz u ludzi z dolegliwościami żołądkowo – jelitowymi i rzadziej skórnymi na całym świecie (Tan, 2008; Balint, 2014). Jest organizmem ściśle beztlenowym i bytuje w środowisku o małej dostępności tlenu jak przewód pokarmowy ludzi jak i zwierząt (Makiuchi i Nozaki, 2014). Z roku na rok prevalencja pasożyta zwiększa się w bardzo szybkim tempie, u osób zdrowych wynosi od 50 do 100 % w krajach rozwijających się (El Safadi i in., 2014; Bálint i in., 2014) oraz od 10 do 50 % w krajach rozwiniętych (Scanlan i in., 2014; Bálint, 2014). Organizm ten częściej występuje w przewodzie pokarmowym człowieka niż inne pierwotniaki, jak na przykład Giardia czy Entamoeba. Wyższa prevalencja odnotowana jest u osób z obniżoną odpornością – 38% w krajach rozwiniętych (zarażeni wirusem HIV) (Albrecht i in., 1995), u dzieci oraz u starszych (Tan i in., 2010; El Safadi i in., 2014), natomiast największą frekwencję Blastocystis wykazano u osób pomiędzy 30 a 50 rokiem życia (Lu i Sung, 2009).

Blastocystis jest rozpowszechnionym na całym świecie pasożytem wykrywanym zazwyczaj w badaniach parazytologicznych. Po 1900 roku został po raz pierwszy opisany (Tan, 2008), jednak dopiero w ostatnich dziesięciu latach poddano biologię pasożyta i kwestię jego patogeniczności głębszej analizie. Brak standaryzacji technik badawczych utrudnił dokładne scharakteryzowanie organizmu. Liczne badania dowiodły, że istnieje powiązanie między obecnością pasożyta a niektórymi dolegliwościami jelitowymi oraz skórnymi (pokrzywka). Najbardziej prawdopodobną drogą zarażenia jest droga oralno – fekalna. Wciąż niewyjaśniona została biologia organizmu. Wiele przeprowadzonych badań epidemiologicznych i mikrobiologicznych wspiera hipotezę patogenicznego wpływu na organizm człowieka

powodując liczne objawy jelitowe i pokrzywkę (Chen i in., 2003; Aguilar & Lucia, 2009). Z drugiej jednak strony odnotowano występowanie *Blastocystis* u osób bez jakichkolwiek objawów klinicznych (Raś – Noryńska i in., 2011; Kaneda i in., 2000). Jedynie morfologia pasożyta była szeroko badana i została szczegółowo opisana w literaturze, a taksonomicznie pasożyt został ostatecznie przydzielony do Stramenopiles. Inne aspekty, włączając sposób przenoszenia, patogeniczność, cykl życiowy czy biologia molekularna pozostały niedostatecznie niewyjaśnione.

Systematyka

Blastocystis jako pierwszy w literaturze opisał Alexeieff (Alexeieff, 1911) proponując nazwę *Blastocystis enterocola*. Przedstawiona została morfologia pasożyta, a także zaproponowano cykl życiowy. Brumpt w 1912 roku zasugerował nazwę *Blastocystis hominis*, która obowiązywała przez następne sto lat. Początkowo pierwotniak klasyfikowany był do nieszkodliwych drożdży, jednak w latach siedemdziesiątych XX wieku udowodniono jego przynależność do Protozoa (Zierdt, 1991; Arutchelvan i in., 2013) i na podstawie badań molekularnych umieszczono go w grupie Stramenopiles (Silberman i in., 1996; Hoevers i Snowden, 2005). Według ostatecznej systematyki (Tan, 2008; Stenzel, 1996) gatunek *Blastocystis* należy do Eukariontów, królestwa Chromista, podkrólestwa Chromobiota, grupy Stramenopiles (Heterokonta), typu Heterokontophyta, podtypu Blastocysta, klasy Blastocystae, rzędu Blastocystisda, rodziny Blastocystisdae, rodzaju *Blastocystis*. Nazewnictwo organizmu stało się jednak bardzo problematyczne, początkowo sugerowano się gatunkiem żywiciela (*Blastocystis hominis* – od człowieka, *Blastocystis ratti* – od szczura). Dzisiejsze badania filogenetyczne sugerują transmisję pasożyta pomiędzy różnymi gatunkami żywiciela, a tym samym proponowana jest jedna nazwa dla całej grupy – *Blastocystis* sp. (Parija & Jeremiah, 2013). Ze względu na występowanie różnych podtypów genetycznych różniących się

zarówno profilem genetycznym opierając się na podjednostce rDNA (SSU rDNA), typem żywiciela, wywoływaniem objawów czy też ich brakiem, a także różną aktywnością enzymatyczną zaproponowano dodanie do nazwy numeru (np. Blastocystis ST1). Pod względem morfologicznym są one zupełnie nierozróżnialne. Z siedemnastu zidentyfikowanych podtypów ST1 – ST4 występują tylko u człowieka, ST5 – ST9 – zarówno u ludzi jak i zwierząt, natomiast pozostałe ST10 – ST17 odnotowano jedynie u zwierząt takich jak inne ssaki, ptaki, gadów, a nawet owadów (Alfellani i in., 2013).

Biologia

Blastocystis jest pierwotniakiem polimorficznym, u którego odnotowano dotychczas sześć form morfologicznych – wakuolarną, granularną, ameboidalną – jako przyczynę objawów klinicznych, cystę – jako formę inwazyjną, oraz formy rzadziej występujące – awakuolarną i multiwakuolarną (Rajamanikam & Govind, 2013; Aguilar & Lucia, 2009). Forma wakuolarna (2 – 200 μm) charakteryzuje się obecnością od jednego do czterech jąder, wielkiej wakuoli centralnej, zajmującej około 90% objętości komórki pasożyta (Tan, 2008), przez co cytoplazma komórkowa wraz z organelami typowymi dla komórki eukariotycznej, jest spychana na obrzeża. Wakuola centralna pełni najprawdopodobniej funkcję magazynu odżywczego dla organeli i zawiera węglowodany, lipidy lub pozostaje pusta (Yoshikawa i in., 1995a; Yoshikawa i in., 1995b). Organizm otoczony jest włókienną warstwą, która jest grubsza u pasożyta wyizolowanego ze świeżego kału, a cienka z hodowli laboratoryjnych. Forma granularna (6,5 – 8 μm) przypomina formę wakuolarną, z tą różnicą, że w cytoplazmie lub w centralnej wakuoli zawieszone są ziarnistości. Forma ta częściej spotykana jest w warunkach nie sterylnych, w starszych hodowlach laboratoryjnych lub po dodaniu do nich antybiotyków. Forma ameboidalna (2,6 – 7,8 μm) jest rzadko spotykana, posiada centralną wakuolę, w której często obecne są pochłonięte bakterie, oraz pseudopodia do poruszania się

(Tan & Zierdt, 1973). Autorzy licznych publikacji sugerują powiązanie tej formy z występowaniem objawów, biorącą czynny udział w patogenezie (Tan i Suresh, 2006a; Tan i Suresh, 2006b; Katsarou-Katsari i in., 2008). Ze względu na małe rozmiary (2 – 5 μm) najpóźniej w literaturze opisana została cysta. Forma ta jest rzadko widoczna zarówno w świeżych próbach kału jak i w hodowlach laboratoryjnych (Chen i in., 1999; Moe i in., 1999; Moe i in., 1996), najczęściej o owalnym kształcie, chroniona kilkuwarstwową ścianą komórkową oraz często luźną otoczką (Moe i in., 1999; Zaman i in., 1995; Zaman i in., 1997). Cysta zawiera od jednego do czterech jąder, organella i drobne wakuole. Są w stanie przeżyć w środowisku wodnym o normalnej temperaturze 19 dni, natomiast są wrażliwe na ekstremalnie wysokie lub niskie temperatury czy środki dezynfekcyjne (Moe i in., 1996). Badania dowiodły, iż cysty mogą przetrwać około miesiąca w temperaturze 25°C oraz około dwóch miesięcy w temperaturze 4°C (Yoshikawa i in., 2004), w przeciwieństwie do formy wakuolarnej i granularnej, które są wysoce wrażliwe na zmiany temperatury, szok osmotyczny, i ekspozycję na powietrze (Matsumoto i in., 1987; Zierdt 1991). Liczne eksperymenty na myszach, szczurach i ptakach potwierdzają fakt, że cysta jest formą inwazyjną *Blastocystis* spp. (Suresh i in., 1993; Villar i in., 1998). W literaturze opisano również dwie pozostałe formy: multiwakuolarną (5 – 8 μm) i awakuolarną (~ 5 μm) (Stenzel i Boreham, 1996; Stenzel i in., 1991), które są formami przejściowymi w cyklu rozwojowym, stąd ich niewielkie rozmiary. Pierwsza z nich posiada liczne drobne wakuole, podczas gdy forma awakuolarna nie posiada ich w ogóle. Formy te zaobserwowane zostały w hodowlach laboratoryjnych, jednak sugeruje się, że występują również *in vivo*.

Wiele aspektów w badaniach nad *Blastocystis* nie zostało jeszcze wystarczająco wyjaśnionych – cykl życiowy, mechanizm patogeniczności, drogi transmisji. *Blastocystis* najprawdopodobniej zarazić można się poprzez zanieczyszczoną wodę, pożywienie, niski poziom higieny osobistej czy też drogę

odzwierzęcą (Leelayoova i in., 2008; Lee i in., 2012; Wang i in., 2014; Nagel i in., 2012). Istnieją dwie drogi rozmnażania się *Blastocystis*: bezpłciowa przez binarny lub wielokrotny podział (schizogonia) i płciowo poprzez autogamię (Basak i in., 2014) (Ryc. 3.). Grubościenne cysta jest jedyną formą, która wydostaje się do środowiska zewnętrznego wraz z kałem i jest zdolna do zarażenia człowieka na drodze fekalno – oralnej (Yoshikawa i in., 2004). Po przedostaniu się do światła jelita grubego cysta (Zierdt, 1991; Stenzel i Boreham, 1996; Tan i in., 2002) ewoluuje do formy wakuolarnej lub granularnej a potem wakuolarnej, po czym multiwakuolarnej lub ameboidalnej. Forma ameboidalna przekształca się w precystę, po czym staje się cienkościenne cystą, która może zarażać kolejne osoby. Cienkościenne cysta jest najprawdopodobniej odpowiedzialna za autoinfekcję (Parija i Jeremiah, 2013). Przekształcanie w stadium cysty odbywa się podczas przemieszczania się masy kałowej w jelicie grubym, a cysty składane są i wydalone wraz z kałem (Moe i in., 1997).

Różnorodność genetyczna

Blastocystis spp. izolowany z prób kału zwierząt oraz ludzi morfologicznie są prawie nierozróżnialne. Na podstawie analizy regionu SSU rDNA o długości 600 par zasad do dnia dzisiejszego zsekwencjonowano 17 genetycznych podtypów pasożyta (ST), które zarażają zarówno człowieka jak i wiele gatunków zwierząt: ssaków, ptaków, gadów czy owadów. Pewne podtypy wykazują specyficzność żywicielską. Człowiek może zarazić się podtypami od ST1 – ST9, z czego podtypy ST1 – ST4 są izolowane prawie wyłącznie z prób kału ludzkiego, podtypy ST5 – ST9 obserwuje się zarówno u ludzi jak i u zwierząt, natomiast pozostałe od ST10 – ST17 tylko u zwierząt (Alfellani i in., 2013a), aczkolwiek najnowsza publikacja Ramíreza i współpracowników (2016) wspomina o wystąpieniu ST12 wśród populacji ludzkiej Ameryki Południowej. Podtypy od ST1 – ST4 występują mniej więcej z podobną częstością na świecie, z wyjątkiem podtypu 4, który notowany jest najczęściej w Europie (Alfellani i in.,

2013a). Występowanie wymienionych podtypów prawdopodobnie jest uzależnione od regionu geograficznego, klimatu, przyzwyczajęń personalnych, ekspozycji na rezerwuary, oraz sposobu transmisji. Wyizolowane podtypy różnią się najprawdopodobniej charakterem wywoływanych objawów oraz różną wrażliwością na leki przeciwpasożytnicze (Tan, 2008).

Mimo iż podtypy powszechnie występujące u ludzi (ST1-ST4) są również wykrywane u zwierząt, analiza ich alleli pokazała, że ST3 izolowany z kału ludzkiego i innych ssaków z rzędu naczelnych różni się genetycznie (Alfellani i in., 2013b), co może prowadzić do hipotezy specyficzności żywicielskiej wśród podtypów. Wang i inni (2014) sugeruje jednak, że bliski kontakt jaki mają hodowcy ze zwierzętami może być przyczyną odzwierzęcej transmisji pasożyta. Ich badania wykazały wysoką częstość występowania podtypu 5 wśród świń na terenie Queensland w Australii, podczas gdy wśród hodowców podtyp wystąpił sporadycznie (Wang i in., 2014). Badania nad różnorodnością genetyczną *Blastocystis*, a w szczególności porównanie podtypów izolowanych od różnych żywicieli w tym samym regionie na poziomie alleli, pozwoli sprecyzować drogi transmisji pasożyta, zwłaszcza drogę odzwierzęcą (Lee i Stensvold, 2016).

Prewalencja *Blastocystis* w Europie i na świecie

Liczne sondaże epidemiologiczne w różnych krajach ujawniły *Blastocystis* jako często występujący organizm eukariotyczny w ludzkich próbach kału. W krajach rozwijających się występuje wyższa prewalencja aniżeli w krajach rozwiniętych. Prawdopodobnie wiąże się to z brakiem higieny, stanem układu immunologicznego, kontaktem ze zwierzętami oraz konsumpcją zanieczyszczonej żywności czy wody (Tan, 2008), jak na przykład w Indonezji (60%), Egipcie (33,3%), Brazylii (41%), Argentynie (27,2%) i na Kubie (38,5%) (Pegelow i in., 1997;

Rayan i in., 2007; Aguiar i in., 2007; Basualdo i in., 2007; Escobedo i in., 2007). Mniej przypadków blastocystozy odnotowano w Japoni (0,5-1%) czy też w Singapurze (3,3%) (Hirata i in., 2007; Wong i in., 2008). Poza tym pierwotniak pojawia się w literaturze z krajów całego świata. Wśród nich są jedynie dwie publikacje dotyczące badań, w których odnotowano wystąpienie Blastocystis w Polsce (Wołyńska i Soroczan, 1972; Raś – Noryńska i in., 2011). Pasożyt występuje zarówno u osób z dolegliwościami jelitowymi jak i bez objawów. Obecność Blastocystis częściej wykrywana jest wśród osób z alergiami skórными (Özcakır i in., 2007), osób zarażonych wirusem HIV lub z pełnoobjawowym AIDS (Gassama i in., 2001; Zali i in., 2004), poddawanych terapii immunosupresyjnej, gdzie hamowany jest proces wytwarzania przeciwciał i komórek odpornościowych, po transplantacji nerki (Rao i in., 2003) oraz u dzieci z syndromem nerczycowym przyjmujących kortykosteroidy (Nourelidin i in., 1999).

Rozmieszczenie podtypów genetycznych Blastocystis w różnych regionach świata przedstawia się następująco: w Afryce najczęściej występuje ST3, ST1 i ST6, natomiast w Ameryce podtypy ST1, ST2, i ST3. W Azji częstość występowania podtypów ST1, ST3 i ST2 okazała się być największa, w Australii natomiast przodował ST1, ST3 oraz ST4. W Europie najczęściej spotykanym podtypem jest ST3, lecz także w znacznym stopniu odnotowywany jest ST4, ST1 i ST2. Podtypem który występuje w każdym regionie geograficznym w dużym procencie jest podtyp 3 (nawet do 50% populacji ludzkiej). Podtypy ST5, ST8 i ST9 występowały w znikomych ilościach (Alfellani i in., 2013). Do dnia dzisiejszego nie przeprowadzono badań mających na celu określenie występowania podtypów Blastocystis w Polsce.

Patogeniczność

Najnowsze badania epidemiologiczne sugerują, iż obecność Blastocystis jest powiązana z występowaniem różnych dolegliwości (Tan, 2008) takich jak biegunka, bóle brzucha,

zmęczenie, zaparcia, wzdęcia (Clark i in., 2013), oraz chroniczne dolegliwości żołądkowo – jelitowe (syndrom drażliwego jelita) (Giacometti i in., 1999), a także wysypka, pokrzywka (Vogelberg i in., 2010; Vassalos i in., 2010; Casero i in., 2015). Mimo to, kwestia określenia patogeniczności *Blastocystis* pozostaje wciąż kontrowersyjna (Moosavi i in., 2012; Wawrzyniak i in., 2013; Basak i in., 2014) z kilku powodów: 1) pierwotniak często występuje bezobjawowo; 2) dowody na patogeny potencjał *Blastocystis* pochodzą w większości z badań *in vitro* (Wawrzyniak i in., 2013; Roberts i in., 2014); 3) w porównaniu do innych pasożytów jak *Giardia*, *Cryptosporidium* czy *Entamoeba*, nie występują tu żadne fenotypowe właściwości wirulencji – wici, lektyny, organella wydzielające enzymy, a fagocytoza opisana została jedynie w jednej publikacji (Dunn i in., 1989); 4) nie zweryfikowano żadnej nagłej fali zachorowań powiązanych z *Blastocystis*; 5) istnieją sporadyczne doniesienia udowodnione klinicznie dotyczące powiązania wystąpienia dolegliwości żołądkowo-jelitowych z *Blastocystis*.

W literaturze wielu autorów sugeruje, że nagłe ataki bólu brzucha i biegunek (El-Shazly i in., 2005; Kaya i in., 2007; Moghaddam i in., 2005), a także niektóre alergię skórne (Giacometti i in., 2003) występują przy ilości komórek *Blastocystis* większej niż 5 na pole widzenia przy powiększeniu x400. Innymi objawami występującymi podczas zarażenia *Blastocystis* są: obecność leukocytów w kale (Kaya i in., 2007; Sadek i in., 1997), eozynofilia (Nassir i in., 2004; Sheehan i in., 1986), oraz wysypka skórna, częściowo pokrzywka (Armentia i in., 1993; Biedermann i in., 2002; Valsecchi i in., 2004).

W 1997 roku Clark zasugerował jako pierwszy powiązanie poszczególnych podtypów z różnymi objawami. Jak sugeruje Stensvold i inni (2007), *Blastocystis* jest kompleksem gatunków, a rodzaj zawiera wiele genetycznie zróżnicowanych podtypów, z czego każdy wykazuje różny poziom patogeniczności w stosunku do komórek żywiciela. Ostatecznie ST3 można

powiązać z występowaniem dolegliwości układu pokarmowego, a także objawów skórnych (Hameed i in., 2011; Vassalos i in., 2010; Katsarou – Katsari i in., 2007), natomiast ST2 powiązany został z pokrzywką (Vogelberg i in., 2010). Kaneda i inni w 2000 roku opublikowali wyniki wiążące Blastocystis ST1, ST2 i ST4 z dolegliwościami żołądkowo – jelitowymi. Poirier i inni (2012) natomiast zasugerował ST7 jako przyczynę syndromu drażliwego jelita. Prawdopodobnie jest to związane z różną aktywnością enzymatyczną poszczególnych podtypów (Abdel-Hameed i Hussanin, 2011; Wawrzyniak i in., 2012).

Jak wspomniano wyżej, występowanie Blastocystis sięga od 50 do 100% w niektórych krajach rozwijających się, co daje nam około biliona osób zarażonych (Scanlan i in., 2014; El Safadi i in., 2014). Niektórzy autorzy sugerują długoletnie nosicielstwo Blastocystis, jak Scanlan i inni (2014), którzy wykryli u tych samych osób ten sam podtyp nawet po 10 latach. Nasuwa się wniosek o bezobjawowym występowaniu, przez co Lee i Stensvold (2016) proponują rozróżnić terminy: kolonizacja bezobjawowa i zakażenie. Pojęcie „zakażenie” odnosi się do choroby wywołanej przez Blastocystis – blastocystozy, przy czym występują objawy.

Puthia i inni (2008) zaobserwowali, że ST4 w enterocytach jelita szczura może indukować apoptozę, co prowadzi do większej przepuszczalności nabłonka jelita. ST7 natomiast jest w stanie zaatakować tkanki żywiciela wydzielając hydrolazy (Poirier i in., 2012). Na podstawie badań in vitro jak i in vivo (El Safadi i in., 2013; Stensvold i in., 2011) nasuwają się wnioski o różnicach w aktywności enzymów podtypów Blastocystis i ich ilości – mianowicie hydrolazy, proteazy cysteinowej oraz serynowej (Abdel-Hameed i Hussanin, 2011). Doskonałym przykładem są podtypy 4 i 7, które produkują proteazę cysteinową zdolną do rozrywania ludzkich immunoglobulin A (IgA) (Mirza i Tan, 2009) oraz do pobudzania wytwarzania interleukiny 8 (IL-8) (Puthia i in., 2008), dzięki czemu wzrasta przepuszczalność komórek nabłonkowych jelita

(Wawrzyniak i in., 2012).

Według ostatnich badań naukowych pewne formy morfologiczne odgrywają większą rolę w nasileniu objawów chorobowych aniżeli pozostałe (Arutchelvan & Suresh, 2013). Dzieje się tak przy zarażeniu podtypem 3, gdzie forma ameboidalna dzięki nieregularnym kształtom komórki łatwiej przylega do epitelium jelita, wyścielając je, co wpływa na homeostazę i indukuje reakcję immunologiczną przeciw antygenom pasożyta i ostatecznie stan zapalny (Valsecchi i in., 2004). Innym powodem większej wirulentności poszczególnych podtypów może być ekspozycja na stres oksydacyjny (Chandramathi i in., 2010).

Wpływ diet

Blastocystis jest pierwotniakiem jelitowym, na którego obecność, przetrwanie i rozwój w jelicie człowieka mają wpływ różne czynniki: dieta żywiciela, przyjmowanie leków, suplementów diety. Najnowsze publikacje potwierdzają zahamowanie rozwoju *Blastocystis* w kulturach in vitro w obecności czosnku, imbiru, białego kminku, czarnego pieprzu czy też rośliny Tongkat Ali (*Eurycoma longifolia*) (Yakoob i in., 2011; Girish i in., 2015). Badania sugerują również działanie inhibitorów pompy protonowej (PPI – proton pump inhibitor) w błonie śluzowej żołądka na pasożyta poprzez zmianę jakości flory bakteryjnej przewodu pokarmowego (Tsuda i in., 2015; Yakoob i in., 2011; Girish i in., 2015). Podczas przyjmowania pewnych suplementów diety (probiotyki, makro- i mikroelementy, witaminy), bądź leków gastroenterologicznych (wspomagających perystaltykę jelit – metoclopramid, lub hamujących wydzielanie kwasów żołądkowych – pantoprazol) zmienia się naturalna flora bakteryjna jelita, od której w znacznym stopniu zależy prawidłowy rozwój *Blastocystis* (Scanlan i in., 2014; Lukes i in., 2015). Obecność *Blastocystis* w jelicie może być przyczyną nie tylko dolegliwości żołądkowo – jelitowych, ale również jest wiązana

z anemią (El Deeb i in., 2012; Yavasoglu i in., 2008). U osób z anemią, które przyjmują żelazo jako suplement często na krótki okres czasu ustępowały biegunki i inne dolegliwości ze strony układu pokarmowego – wzdęcia, bóle brzucha, zmęczenie, przelewanie się w brzuchu (badania własne). W związku z tym, iż udowodniono zmianę flory bakteryjnej jelita przez inhibitory pompy protonowej (PPI) oraz żelazo, a także udowodniono wpływ tej zmiany flory bakteryjnej na rozwój Blastocystis, należy przeprowadzić badania In vitro nad wpływem bezpośrednim wyżej wymienionych leków na Blastocystis.

Autorstwo: BlastoCiasto

Źródło: WolneMedia.net

Bibliografia

1. Tan K. S. W., 2008. New Insights on Classification, Identification, and Clinical Relevance of Blastocystis spp. Clinical Microbiology Review 21: 639-665.
2. Bálint A., Dóczy I., Bereczki L., Gyulai R., Sűcs M., Farkas K., Urbán E., Naqy F., Szepes Z., Wittmann T., Molnár T. 2014. Do not forget the stool examination! – cutaneous and gastrointestinal manifestations of Blastocystis sp. infection. Parasitol Research 113: 1585-1590.
3. Makiuchi T., Nozaki. 2014. Highly divergent mitochondrion-related organelles in anaerobic parasitic protozoa. Biochemie 100: 3 – 17.
4. El Safadi D., Gaayeb L., Meloni D., Cian A., Poirier P., Wawrzyniak I., Delbac F., Dabboussi F., Delhaes L., Seck M., Hamze M., Riveau G., Viscogliosi E. 2014. Children of Senegal River Basin show the highest prevalence of Blastocystis sp. ever observed worldwide. BMC Infect Dis 14: 164.
5. Albrecht H., Stellbrink H. J., Koperski K., Greten H. 1995. Blastocystis hominis in human immunodeficiency virus-related

diarrhea. Scand J Gastroenterol 30: 909-914.

6. Tan K. S. W., Mirya H., Teo J. D. W., Wu B., Macaraz P. A. 2010. Current views on the clinical relevance of *Blastocystis* spp. Curr Infect Dis Rep. 12(1): 28-35.

7. Lu C. T. L., Sung Y. J. 2009. Epidemiology of *Blastocystis hominis* and other intestinal parasites among the immigrant population in northeastern Taiwan by routine physical examination for resistance approval. J Microbiol Immunol Infect 42:505-509.

8. Arutchelvan R., Suresh K. G. 2013. Amoebic forms of *Blastocystis* spp. – evidence for a pathogenic role. Parasit Vectors 6: 295-303.

9. Silberman J. D., Sogin M. L., Leipe D. D., Clark C. G. 1996. Human parasite finds taxonomic home. Nature 380:398.

10. Hoevers J. D., Snowden K. F. 2005. Analysis of the ITS region and partial ssu and lsu rRNA genes of *Blastocystis* and *Proteromonas lacerate*. Parasitology 131: 187 – 196.

11. Stenzel D. J., Boreham P. F. 1996. *Blastocystis hominis* revisited. Clin Microbiol Rev 9: 563-584.

12. Yoshikawa H., Kuwayama N., Enose Y. 1995. Histochemical detection of carbohydrates of *Blastocystis hominis*. J. Eukaryot. Microbiol. 42: 70-74.

13. Yoshikawa H., Satoh J., Enose Y. 1995. Light and electron microscopic localization of lipids on *Blastocystis hominis*. J. Electron Microsc. (Tokyo) 44: 100-103.

14. Tan H. K., Zierdt C. H. 1973. Ultrastructure of *Blastocystis hominis*. Z. Parasitenkd. 42: 315-324.

15. Tan K. S., Singh M., Yap E. H. 2002. Recent advances in *Blastocystis hominis* research: hot spot in terra incognita. Int J Parasitol 32: 789-804.

16. Moe K. T., Singh M., Howe J., Ho L. C., Tan S. W., Chen X. Q., Ng G. C., Yap E. H. 1997. Experimental Blastocystis hominis infection in laboratory mice. Parasitol Res. 83: 319-325.
17. Alfellani M. A., Stensvold C. R., Vidal-Lapiedra A., Onuoha E. S., Fagbenro-Beyioku A. F., Clark C. G. 2013. Variable geographic distribution of Blastocystis subtypes and its potential implications. Acta Trop. 126: 11-18.
18. Andersen L. O., Stensvold C. R. 2016. Blastocystis in health and disease – are we moving from a clinical to a public health perspective? J Clin Microbiol 54(3): 524-528.
19. Pegelow K., Gross R., Pietrzik K., Lukito W., Richards A. L., Fryauff D. J. 1997. Parasitological and nutritional situation of school children in the Sukaraja district, West Java, Indonesia. Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health 28: 173-190.
20. Rayan H. Z., Ismail O. A., El Gayar E. K. 2007. Prevalence and clinical features of Dientamoeba fragilis infections in patients suspected to have intestinal parasitic infection. J. Egypt. Soc. Parasitol. 37: 599-608.
21. Aguiar J. I., Goncalves A. Q., Sodre F. C., Pereira Sdos R., Boia M. N., de Lemos E. R., Daher R. R. 2007. Intestinal protozoa and helminths among Terena Indians in the State of Mato Grosso do Sul: high prevalence of Blastocystis hominis. Rev. Soc. Bras. Med. Trop. 40: 631-634.
22. Basualdo J. A., Cordoba M. A., de Luca M. M., Ciarmela M. L., Pezzani B. C., Grenovero M. S., Minvielle M. C. 2007. Intestinal parasitoses and environmental factors in a rural population of Argentina, 2002 – 2003. Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo 49: 251-255.
23. Escobedo A. A., Canete R., Nunez F. A. 2007. Intestinal protozoan and heminth infections in the Municipality San Juan

y Martinez, Pinar del Rio. Cuba. Trop. Doct. 37: 236-238.

24. Hirata T., Nakamura H., Kinjo N., Hokama A., Kinjo F., Yamane N., Fujita J. 2007. Prevalence of Blastocystis hominis and Strongyloides stercoralis infection in Okinawa, Japan. Parasitol Res. 101: 1717-1719.

25. Wong K. H., Ng G. C., Lin R. T., Yoshikawa H., Taylor M. B., Tan K. S. 2008. Predominance of subtype 3 among Blastocystis isolates from a major hospital in Singapore. Parasitol Res. 102: 75-77.

26. Özcakir O., Güreser S., Ergüven S., Yilmaz Y. A., Topaloğlu R., Hasçelik G. 2007. Characteristics of Blastocystis hominis infection in a Turkish university hospital. Türkiye Parazitol. Derg. 31: 277-282.

27. Gassama A., Sow P. S., Fall F., Camara P., Gueye-N'diaye A., Seng R., Samb B., M'Boup S., Aidara-Kane A. 2001. Ordinary and opportunistic enterophages associated with diarrhea in Senegalese adults in relation to human immunodeficiency virus serostatus. Int. J. Infect. Dis. 5: 192-198.

28. Zali M. R., Mehr A. J., Rezaian M., Meamar R., Vaziri S., Mohraz M. 2004. Prevalence of intestinal parasitic pathogens among HIV – positive individuals in Iran. Jpn. J. Infect. Dis. 5: 268-270.

29. Rao K., Sekar U., Iraivan K. T., Abraham G., Soundararajan P. 2003. Blastocystis hominis – an emerging cause of diarrhea in renal transplant recipients. J. Assoc. Physicians India 51: 719-721.

30. Nouredin M. S., Shaltout A. A., El Hamshary E. M., Ali M. E. 1999. Opportunistic intestinal protozoal infections in immunocompromised children. J. Egypt. Soc. Parasitol. 29: 951-961.

31. Roberts T., Stark D., Harkness J., Ellis J. 2014. Update

on the pathogenic potential and treatment options for *Blastocystis* sp. Gut Patholog 28: 6-17.

32. Dunn L. A., Boreham P. F., Stenzel D. J. 1989. Ultrastructural variation of *Blastocystis hominis* stocks in culture. Int J. Parasitol. 19: 43-56.

33. El – Shazly A. M., Abdel – Magied A. A., El – Beshbishi S. N., El – Nahas H. A., Fouad M. A., Monib M. S. 2005. *Blastocystis hominis* among symptomatic and asymptomatic individuals in Talkha Center, Dakahlia Governorate, Egypt. J. Egypt. Soc. Parasitol. 35: 653-666.

34. Kaya S., Cetin E. S., Aridogan B. C., Arikan S., Demirci M. 2007. Pathogenicity of *Blastocystis hominis*, a clinical reevaluation. Turkiye Parazitol. Derg. 31: 184-187.

35. Moghaddam D. D., Ghadirian E., Azami M. 2005. *Blastocystis hominis* and the evaluation of efficacy of metronidazole and trimethoprim/sulfamethoxazole. Parasitol Res. 96: 273-275.

36. Giacometti A., Cirioni O., Antonicelli L., D'Amato G., Silvestri C., Del Prete M. S., Scalise G. 2003. Prevalence of intestinal parasites among individuals with allergic skin diseases. J. Parasitol. 89: 490-492.

37. Sadek Y., el-Fakahany A. F., Lashin A. H., el-Salam F. A. 1997. Intestinal parasites among food – handlers in Qalyobia Governorate, with reference to the pathogenic parasite *Blastocystis hominis*. J. Egypt. Soc. Parasitol. 27: 471-478.

38. Nassir E., Awad J., Abel A. B., Khoury J., Shay M., Lejbkowitz F. 2004. *Blastocystis hominis* as a cause of hypoalbuminemia and anasacra. Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. 23: 399-402.

39. Sheehan D. J., Raucher B. G., McKittrick J. C. 1986. Association of *Blastocystis hominis* with signs and symptoms of human disease. J. Clin. Microbiol. 24: 548-550.

40. Armentia A., Mendez J., Gomez A., Sanchis E., Fernandez A., de la Fuente R., Sanchez P. 1993. Urticaria by *Blastocystis hominis*. Successful treatment with paramomycin. *Allergol. Immunopathol. (Madrid)* 2: 149-151.
41. Biedermann T., Hartmann K., Sing A., Przybilla B. 2002. Hypersensitivity to non – steroidal anti – inflammatory drugs and chronic urticaria cured by treatment of *Blastocystis hominis* infection. *Br. J. Dermatol.* 146: 1113-1114.
42. Clark C. G. 1997. Extensive genetic diversity in *Blastocystis hominis*. *Mol. Bioch. Parasitol.* 87: 79-83.
43. Poirier P., Wawrzyniak I., Vivarès C. P., Delbac F., El Alaoui H. 2012. New insights into *Blastocystis* spp.: a potential link with the irritable bowel syndrome. *PLoS Pathog* 8: e1002545.
44. Puthia M. K., Lu J., Tan K. S. W. 2008. *Blastocystis ratti* contains cysteine proteases that mediate interleukin-8 response from human intestinal epithelial cells in an NF- κ B-dependent manner. *Eukaryot Cell.* 7: 435-443.
45. Mirza H., Tan K. S. W. 2009. *Blastocystis* exhibits inter – and intra – subtype variation in cysteine pro tease activity. *Parasitol Res.* 104: 355-361.
46. Chandramathi S., Suresh K., Shuba S., Mahmood A., Kuppusamy U. R. 2010. High levels of oxidative stress in rats infected with *Blastocystis hominis*. *Parasitology* 137: 605-611.
47. Casero R. D., Mongi F., Sánchez A., Ramírez J. D. 2015. *Blastocystis* and urticaria: Examination of subtypes and morphotypes in an unusual clinical manifestation. *Acta Tropica* 18: 156-161.
48. Kaneda Y., Horiki N., Cheng X., Tachibana H., Tsutsumi Y., 2000. Serologic Response to *Blastocystis hominis* Infection in Asymptomatic Individuals. *The Tokai Journal of Experimental*

and Clinical Medicine 25: 51-56.

49. Chen T., Chan C., Chen H., Fung C., Lin C., Chan W., Liu C., 2003. Clinical characteristics and endoscopic findings associated with *Blastocystis hominis* in healthy adults. The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene 69: 213-216.

50. Souppart L., Sancier G., Cian A., Wawrzyniak I., Delbac F., Capron M., Dei – Cas E., Boorom K., Delhaes L., Viscogliosi E., 2009. Molecular epidemiology of human *Blastocystis* isolates in France. Parasitology Research 105: 43-421.

51. Moosavi A., Haghighi A., Nazemalhosseini Mojarad E., Zayeri F., Alebouyeh M., Khazan H., Kazemi B., Zali M. R. 2012. Genetic variability of *Blastocystis* sp. isolated from symptomatic and asymptomatic individuals in Iran. Parasitology Research 11(6): 2311-2315.

52. Valsecchi R., Leghissa P., Greco V., 2004. Cutaneous Lesions in *Blastocystis hominis* infection. Acta Dermat – Venereology 84. Case report.

53. Menounos P. G., Spanakos G., Tegos N., Vassalos C. M., Papadopoulou C., Vakalis N. C. 2007. Direct detection of *Blastocystis* sp. in human faecal samples and subtype assignment using single strand conformational polymorphism and sequencing. Molecular and Cellular Probes 22: 24-29.

54. Hameed D. M., Hassanin O. M., Zuel – Fakar N. M., 2010. Association of *Blastocystis hominis* genetic subtypes with urticaria. Parasitology Research 108: 553-560.

55. Yoshikawa H., Wu Z., Pandey B. D., Sherchand J. B., Yanagi T., Kanbara H. 2009. Molecular characterization of *Blastocystis* isolates from children and rhesus monkeys in Kathmandu, Nepal. Veterinary Parasitology 160: 295-300.

56. Boorom K. F., Smith H., Nimri L., Viscogliosi E., Spanakos G., Parkar U., Li L. H., Zhou X. N., Ok Ü. Z., Leelayoova S.,

Jones M. S. 2008. Oh my aching gut: irritable bowel syndrome, Blastocystis, and asymptomatic infection. *Parasites & Vectors* 1: 40.

57. Wawrzyniak I., Poirier P., Viscogliosi E., Meloni D., Texier C., Delbac F., El Alaoui H. 2013. Blastocystis, an unrecognized parasite: an overview of pathogenesis and diagnosis. *Therapeutic Advances in Infectious Disease* 1: 167-178.

58. Basak S., Rajurkar M. N., Mallick S.K. 2014. Detection of Blastocystis hominis: a controversial human pathogen. *Parasitology Research* 113: 261-265.

59. Forsell J, Granlund M, Stensvold CR, et al. Subtype analysis of Blastocystis isolates in Swedish patients. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2012; 31: 1689-1696.

60. Alfellani M. A., Taner – Mulla D., Jacob A.S., Imeede C. A., Yoshikawa H., Stensvold C. R., Clark C. G. 2013. Genetic diversity of Blastocystis in Livestock and Zoo animals. *Protist*; 164: 497-509.

61. Parija S. C., Jeremiah S.S. 2013. Blastocystis: Taxonomy, biology and virulence. *Tropical Parasitology* 3: 17-25.

62. Clark C. G., van der Giezen M., Afellani M. A., Stensvold C. R. 2013. Recent development in Blastocystis research. *Advances in Parasitology* 82: 1-32.

63. Chen X. Q., Singh M., Howe J., Ho L. C., Tan S. W., Yap E. H. 1999. In vitro encystation and excystation of Blastocystis ratti. *Parasitology* 118: 151-160.

64. Moe K. T., Singh M., Howe J., Ho L. C., Tan S. W., Chen X. Q., Yap E. H. 1999. Development of Blastocystis hominis cyst into vacuolar forms in vitro. *Parasitol. Res.* 85: 103-108.

65. Moe K. T., Singh M., Howe J., Ho L. C., Tan S. W., Ng G. C., Chen X. Q., Yap E. H. 1996. Observations of the

ultrastructure and viability of the cystic stage of *Blastocystis hominis* from human feces. *Parasitol Res.* 82: 439-444.

66. Zaman V., Howe J., Ng M. 1995. Ultrastructure of *Blastocystis hominis* cyst. *Parasitol Res.* 81: 465-469.

67. Zaman V., Howe J., Ng M. 1997. Variation of the cyst morphology of *Blastocystis hominis*. *Parasitol Res.* 83: 306-308.

68. Yoshikawa H., Yoshida K., Nakajima A., Yamanari K., Iwatani S., Kimata I. 2004. Fecal-oral transmission of the cyst form of *Blastocystis hominis* in rats. *Parasitol Res.* 94: 391-396.

69. Matsumoto Y., Yamada M., Yoshida Y. 1987. Light-microscopical appearance and ultrastructure of *Blastocystis hominis*, an intestinal parasite of man. *Zentralbl. Bakteriол. Mikrobiol. Hyg. A.* 264: 379-385.

70. Zierdt C. H. 1991. *Blastocystis hominis* – past and future. *Clin. Microbiol. Rev.* 4: 61-79.

71. Suresh K., Ng G. C., Ramachandran N. P., Ho L. C., Yap E. H., Singh M. In vitro encystment and experimental infections of *Blastocystis hominis*. *Parasitol Res.* 79: 456-460.

72. Villar J., Carbajal J. A., Lanuza M. D., Muñoz C., Borrás R. 1998. In vitro encystations of *Blastocystis hominis*: a kinetics and cytochemistry study. *Parasitol Res.* 84: 54-58.

73. Vogelberg C., Stensvold C. R., Monecke S., Ditzen A., Stopsack K., Heinrich – Gräfe U., Pöhlmann C. 2010. *Blastocystis* sp. subtype 2 detection during recurrence of gastrointestinal and urticarial symptoms. *Parasitology International* 59: 469-471.

74. Vassalos C. M., Spanakos G., Vassalou E., Papadopoulou C., Vakalis N. 2010. Differences in clinical significance and

- morphologic features of *Blastocystis* sp. subtype 3. *Americal Journal of Clinical Pathology* 133: 251-258.
75. Hameed D. M., Hussanin O. M., Zuel – Fakar N. M. 2011. Association of *Blastocystis hominis* genetic subtypes with urticaria. *Parasitology Research* 108: 553-560.
76. Stensvold C. R., Christiansen D. B., Olsen K. E. P., Nielsen H. V. 2011. *Blastocystis* sp. subtypes is common in Danish *Blastocystis*-positive patients presenting with acute diarrhea. *Am J Trop Med Hyg* 84: 883-885.
77. Wołyńska M., Soroczyn W. 1972. *Blastocystis hominis*, Brumpt 1912 (Phycomycetes) w narządzie rodnym kobiety. *Polski Tygodnik Lekarski (Poland)*; 27: 788 – 791.
78. Katsarou – Katsari A., Vassalos C. M., Tzanetou K., Spanakos G., Papadopoulou C., Vakalis N. 2008. Acute urticaria associated with amoeboid forms of *Blastocystis* sp. subtype 3. *Acta Dermato- Venereologica* 88: 80-81.
79. Abdel – Hameed D. M., Hassanin O. M. 2011. Protease activity of *Blastocystis hominis* subtype 3 in symptomatic and asymptomatic patients. *Parasitol Research* 109: 321-327.
80. Özyurt M., Kurt Ö., Mølbak K., Nielsen H. V., Haznedaroglu T., Stensvold C. R. 2008. Molecular epidemiology of *Blastocystis* infections in Turkey. *Parasitology International* 57: 300-306.
81. Cheng H. S., Haung Z. F., Lan W. H., Kuo T. C., Shin J. W. 2006. Epidemiology of *Blastocystis hominis* and other intestinal parasites in a Vietnamese female immigrant population in Southern Taiwan. *Medical Science* 22: 166-170.
82. Wawrzyniak I., Texier C., Poirier P., Viscogliosi E., Tan K. S., Delbac F., El Alaoui H. 2012. Characterization of two cysteine proteases secrete by *Blastocystis* ST7, a human intestinal parasite. *Parasitology International* 61: 437-442.

83. Leelayoova S., Siripattanapipong S., Thathaisong U., Naaglor T., Taamasri P., Piyaraj P., Mungthin M. 2008. Drinking water: a possible source of *Blastocystis* spp. subtype 1 infection in schoolchildren of a rural community in central Thailand. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 79: 401–406.
84. Lee L., Chye T., Karmacharya B., Govind S. 2012. *Blastocystis* sp.: waterborne zoonotic organism, a possibility? *Parasites & Vectors* 5: 130–130.
85. Wang W., Owen H., Traub R. J., Cuttell L., Inpankaew T., Bielefeldt-Ohmann H. 2014. Molecular epidemiology of *Blastocystis* in pigs and their in-contact humans in Southeast Queensland, Australia, and Cambodia. *Veterinary Parasitology*. 203(3-4): 264-269.
86. Nagel R., Cuttell L., Stensvold C. R., Mills P. C., Bielefeldt-Ohmann H., Traub R. J. 2012. *Blastocystis* subtypes in symptomatic and asymptomatic family members and pets and response to therapy. *Internal Medicine Journal* 42(11):1187-1195.
87. Wołyńska M., Soroczyn W. 1972. *Blastocystis hominis*, Brumpt 1912 (Phycomycetes) w narzędzie rodnym kobiety. *Polski Tygodnik Lekarski* (Poland); 27: 788-791.
88. Raś – Noryńska M., Białkowska J., Sokół R., Piskorz – Ogórek K. 2011. Parasitological stool examination from children without the typical symptoms of parasitic disease. *Przegląd epidemiologiczny* 65: 599-603.
89. Dogruman-Al F., Turk S., Adiyaman-Korkmaz G., Hananel A., Levi L., Kopelowitz J., Babai O., Gross S., Greenberg Z., Herschkovitz Y., Mumcuoglu I. 2015. A novel ELISA test for laboratory diagnostics of *Blastocystis* spp. in human stool specimens. *Parasitol Research* 114(2): 495-500.
90. Stensvold C. R., Suresh G. K., Tan K. S., Thompson R. C., Traub R. J., Viscogliosi E., Yoshikawa H., Clark C. G. 2007.

Terminology for Blastocystis subtypes—a consensus. Trends in Parasitology 23(3):93-96.

91. Stensvold C. R., Ahmed U. N., Andersen L. O., Nielsen H. V. 2012. Development and evaluation of a genus-specific, probe-based, internal-process-controlled real-time PCR assay for sensitive and specific detection of Blastocystis spp. Journal of Clinical Microbiology 50(6):1847-1851.

92. Scicluna S. M., Tawari B., Clark C. G. 2006. DNA Barcoding of Blastocystis. Protist. 157 (1), 77-85.

93. Rajamanikam A., Govind S. K. 2013. Amoebic forms of Blastocystis spp. – evidence for a pathogenic role. Parasites & Vectors. 11;6(1):295.

94. Aguilar C, Lucia JF. An overview of Blastocystis hominis infection and published experience in hemophilic population. Review article. J Coagul Disord 2009; 000: (000). (www.slm-hematology.com).

95. Tan K. S. W., 2008. New Insights on Classification, Identification, and Clinical Reveance of Blastocystis spp. Clinical Microbiology Review 21: 639 – 665.

96. Giacometti A., Cirioni O., Fiorentini A., Fortuna M., Scalise G. 1999. Irritable bowel syndrome in patients with Blastocystis hominis infection. European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases 18: 436-439.

97. Fayer R., Elsasser T., Gould R., Solano G., Urban J. Jr., Santin M. 2014. Blastocystis tropism in the pig intestine. Parasitology Research 113(4):1465-1472.

98. Tan T. C., Suresh K. G. 2006a. Predominance of amoeboid forms of Blastocystis hominis in isolates from symptomatic patients. Parasitol Research 98: 189-193.

99. Tan T. C., Suresh K. G. 2006b. Amoeboid form of Blastocystis hominis – a detailed ultrastructural insight.

Parasitology Research 99(6):737-742.

100. El Safadi D., Meloni D., Poirier P., Osman M., Cian A., Gaayeb L., Wawrzyniak I., Delbac F., El Alaoui H., Delhaes L., Dei-Cas E., Mallat H., Dabboussi F., Hamze M., Viscogliosi E. 2013. Molecular epidemiology of *Blastocystis* in Lebanon and correlation between subtype 1 and gastrointestinal symptoms. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 88: 1203-1206.

101. Pasqui A. L., Savini E., Saletti E., Guzzo C., Puccetti L., Auteri A. 2004. Chronic urticaria and *Blastocystis hominis* infection. A case report. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences* 8: 117-120.

102. Zierdt C. H., 1991. *Blastocystis hominis* – Past and Future. *Clinical Microbiology Review* 4: 61-79.

103. Stensvold C. R. 2013. *Blastocystis*: Genetic diversity and molecular methods for diagnosis and epidemiology. *Tropical Parasitology* 3: 26-34.

104. Yakoob J., Abbas Z., Beg M. A., Naz S., Awan S., Hamid S., Jafri W. 2011. In vitro sensitivity of *Blastocystis hominis* to garlic, ginger, white cumin, and black pepper used in diet. *Parasitol Res* 109: 379-385.

105. Girish S., Kumar S., Aminudin N. 2015. Tongkat Ali (*Eurycoma longifolia*): a possible therapeutic candidate against *Blastocystis* sp. *Parasites & Vectors* 8: 332.

106. Tsuda A., Suda W., Morita H., Takanashi K., Takagi A., Koga Y., Hattori M. 2015. Influence of Proton – Pump Inhibitors on the Luminal Microbiota in the Gastrointestinal Tract. *Clin Transl Gastroenterol* doi: 10.1038/ctg.2015.20.

107. Scanlan P. D., Stensvold C. R., Rajilić – Stojanović M., Heilig H. G. H. J., De Vos W. M., O'Toole P. W., Cotter P. D. 2014. The microbial eukaryote *Blastocystis* is a prevalent and

- diverse member of the healthy human gut microbiota. *FEMS Microbiol Ecol* 90: 326-330.
108. Lukes J., Stensvold C. R., Jirku- Pomajbikova K., Parfrey L. W. 2015. Are human intestinal eukaryotes beneficial or commensals? *PLoS Pathogens*.
109. El Deeb H. K., Salah-Eldin H., Khodeer S. 2012. *Blastocystis hominis* as a contributing risk factor for development of iron deficiency anemia in pregnant women. *Parasitol Res* 110: 2167- 2174.
110. Yavasoglu I., Kadikoylu G., Uysal H., Ertug S., Bolaman Z. 2008. Is *Blastocystis hominis* a new etiologic factor or a coincidence in iron deficiency anemia? *Eur J Haematol* 81: 47-50).
111. Bazo A. P., Rodrigues M. A. M., Sforcin J. M., Camargo J. L. V., Ribeiro L. R., Salvadori D. M. F. 2002. Protective action of propolis on the rat colon carcinogenesis. *Teratog. Carcinog. Mutagen* 122: 183-194.
112. Ayres D. C., Marcucci M. C., Giorgio S. 2007. Effects of Brazilian propolis on *Leishmania amazonensis*. *Memórias Instituto Oswaldo Cruz* 102: 215-220.
113. Cunha I. B. S., Salomão K., Shimizu M., Bankova V. S., Custódio A. R., De Castro S. L., Marcuci M. C. 2004. Antitrypanosomal activity of Brazilian propolis from *Apis mellifera*. *Chem Pharm Bull.* 5: 602-604.
114. Khayyal M. T., el-Ghazaly M. A., el-Khatib A. S. 1993. Mechanisms involved in the antiinflammatory effect of propolis extract. *Drug Exp Clin Res.* 19: 197-203.
115. Sforcin J. M., Fernandes J. R. A., Lopes C. A. M., Bankova V. 2000. Seasonal effect on Brazilian propolis antibacterial activity. *J. Ethnopharmacol.* 73: 243-249.
116. Sforcin J. M., Kaneno R., Funari S. R. C. 2002. Absence

of seasonal effect on the immunomodulatory action of Brazilian propolis on natural killer activity. *J Venoms Anim. Toxins*. 8: 19-29.

117. Starzyk J., Scheller S., Szflarki J., Moskwa M., Stojko A. 1977. Biological properties and clinical application of propolis. II. Studies on the antiprotozoan activity of ethanol extract of propolis. *Arzneimittelforschung* 27: 1198-1199.

118. Freitas S. F., Shinohara L., Sforcin J. M., Guimarães S. 2006. In vitro effects of propolis on *Giardia duodenalis* trophozoites. *Phytomedicine* 13: 170-175.

119. Ferron G. M., Ku S., Abell M., Unruh M., Getsy J., Mayer P. R., Paul J. 2003. Oral bioavailability of pantoprazole suspended in sodium bicarbonate solution. *Am J Health Syst Pharm*. 60: 1324-1329.

120. Boyanova L., Koarov R., Gergova G., Mitov I. In vitro activity of Bulgarian propolis against 94 clinical isolates of anaerobic bacteria. *Anaerobe* 12: 173-177.

121. Oda H., Nakagava T., Maruyama K., Dono Y., Katsuragi H. Sato S. Effect of Brazilian green propolis on oral pathogens and human periodontal fibroblasts. *Journal of oral Biosciences* doi.org/10.1016/j.job.2015.11.001i.