

Artículo original

Comportamiento biológico de *Blastocystis hominis* en pacientes tratados con Secnidazol (Unidazol®)

Carmen Guzmán de Rondón^{a,*}, Maria Alejandra Vethencourt^a, Mónica Galindo Pérez^a, Nathalie Chacón^b, Carolina Wagner^a, Anaibeth Nessi Paduani^a

^aLaboratorio de Amibiasis, Cátedra de Parasitología, Escuela de Bioanálisis

^bSección de Geohelminthiasis, Instituto de Medicina Tropical
Facultad de Medicina, Universidad Central de Venezuela
Caracas - Venezuela

Recibido 10 de marzo de 2008; aceptado 05 de mayo de 2008

Resumen: *Blastocystis hominis*, clasificado como *Stramenopile*, es el parásito intestinal más frecuente en el hombre. En las heces y cultivos se observan formas con cuerpo central (FCC), granulosa (FGra), globulosa, ameboides, en división binaria y quistes. Su elevada prevalencia, asociación con síntomas en el humano y carencia de tratamiento efectivo, justificó la evaluación del Secnidazol (Unidazol® ZUOZ-PHARMA) en 14 individuos (7 varones y 7 hembras), infectados con *B. hominis*, con edades entre 5-79 años, quienes fueron evaluados clínica y parasitológicamente antes y después del tratamiento, con una dosis del medicamento: 2g (adultos) y 30 mg/Kg/peso (niños). En el examen seriado de heces (3 muestras), se evaluó la morfología, número por campo microscópico (400X), formas de reproducción y crecimiento en el cultivo. En 14,3% (2/14) de los pacientes se eliminó el parásito y en el resto, se observó disminución significativa del número por campo ($p < 0,05$), de la frecuencia de FCC ($p = 0,001$) y FGra ($p < 0,05$) y disminuyó la positividad del examen directo ($p < 0,001$). Estos resultados demuestran que el fármaco en dosis única, ocasionalmente erradicó a *B. hominis*, disminuyó la excreción de las formas vegetativas e indujo la aparición de quistes. Estos estudios deben continuarse.

Palabras claves: *Blastocystis hominis*, blastocistosis, secnidazol, antiprotozoarios

Biological behavior of *Blastocystis hominis* in patients treated with Secnidazol (Unidazol®)

Abstract: *Blastocystis hominis*, classified as *Stramenopile*, is the most frequent intestinal parasite in humans. In feces and cultures, forms with a central body (FCB), granule forms (GraF), as well as globulous and ameboid forms in binary division or in cysts are seen. Its elevated prevalence, association with symptoms in humans, and lack of effective treatment, justified the evaluation of secnidazol (Unidazol® ZOUZ-PHARMA) in 14 individuals (7 males and 7 females) infected with *B. hominis*, with ages between 5-79 years, who were clinically and parasitologically evaluated before and after treatment; with one dose of the drug: 2 g for adults and 30 mg/Kg body weight for children. In feces serial examinations we evaluated morphology, number of parasites per microscopic field (400X), reproductive forms, and growth in culture. The study showed that in 14.3% (2/14) of patients the parasite was eliminated, and there was a significant decrease of the number per field ($p < 0.05$), of the FCB ($p = 0.001$) and of GraF ($p < 0.05$) frequency in the rest, as well as a decrease of positive direct examinations ($p < 0.001$). These preliminary results show that the drug in a single dose occasionally eradicated *B. hominis*, decreased the excretion of vegetative forms and induced the occurrence of cysts. These studies should be continued.

Keywords: *Blastocystis hominis*, blastocytosis, secnidazol, antiprotozoa

* Correspondencia:
Email: carmen.guzman@ucv.ve

Introducción

Blastocystis hominis es el parásito intestinal humano de mayor prevalencia en regiones tropicales y subtropicales, encontrando cifras hasta del 60% [1-4]. Ha sido clasificado

dentro del grupo *Stramenopile*, y también infecta reptiles, anfibios, aves y diversos mamíferos, siendo propuesta una posible transmisión antroponótica [5-8]. Desde principios del siglo XX se ha reportado la presencia de *B. hominis* en individuos asintomáticos y en personas con sínto-

mas gastrointestinales. Su presencia en las personas enfermas planteó la necesidad de considerarlo como patógeno [9-11]. Sin embargo, no fue sino hasta los numerosos estudios de Charles Zierdt [12-16] que se le prestó una mayor atención a los aspectos biológicos y la importancia clínica de este parásito. No obstante, a pesar de los adelantos obtenidos sobre este aspecto, no hay unanimidad de criterios sobre la patogenicidad de *B. hominis*, siendo reportadas manifestaciones clínicas que incluyen diarrea aguda con fiebre y malestar general, o diarrea leve con malestar epigástrico, náuseas y dolor abdominal [17-26]. En las heces se observan diferentes formas vegetativas que representan la capacidad del microorganismo de alimentarse y multiplicarse mediante eventos reproductivos dentro del intestino, las cuales tienen una diversidad morfológica y son identificadas como formas con cuerpo central (vacuolada) (FCC), granulosa (FGra) y ameboides (FAmeb) [5,16,27-30] formas globulosas (FGlob) [27] y formas lanceoladas e irregulares, observadas en cultivos [28]. Se transmite por medio de la forma quística [7,31] y la división binaria (DivB) es la forma de reproducción más frecuentemente observada en las heces y cultivos [28]. En cuanto a la frecuencia de aparición, las FCC y las FGra son las más frecuentes en las heces de personas asintomáticas; los quistes se encuentran principalmente en las heces de personas asintomáticas, las FAmeb y FGlob solamente se han visto en individuos sintomáticos [5,13,16,27-30] y todas estas variantes morfológicas también se observan en los cultivos [16,28,29]. Se han encontrado diferencias significativas en el número y formas observadas en las heces entre las personas sintomáticas y asintomáticas [32,33]. Las drogas más evaluadas contra *B. hominis* son los 5-nitroimidazoles, el trimetropin sulfametoxazole, el 5-cloro-8-hidroxi-7-yodo-quinolona, la pentamidina y la furazolidona [7,18,19,21,24-26,37-41]. Los 5-nitroimidazoles son productos que comparten propiedades terapéuticas antiparasitarias y antibacterianas, que tienen una toxicidad selectiva para los organismos anaerobios o microaerófilos y para las células anóxicas o hipóxicas [7]. El metronidazol es uno de los 5-nitroimidazoles más utilizados en el tratamiento contra *B. hominis*, pero se ha observado cierta ineficacia en algunos individuos [38-41]. La mayoría de los 5-nitroimidazoles (metronidazol, tinidazol, ornidazol, cardinazol) requieren varios días de tratamiento y presentan efectos secundarios estomacales, lo cual conduce al incumplimiento del tratamiento por parte del paciente [34-39]. El tratamiento de la blastocistosis requiere de la disponibilidad de una droga eficaz y bien tolerada, con el fin de eliminar el riesgo de efectos secundarios y el consiguiente abandono del mismo por parte de los pacientes. El secnidazol fue el primer nitroimidazol eficaz indicado en una sola toma, contra tres géneros de protozoarios: *Entamoeba*, *Giardia*, y *Trichomonas*. Su larga vida media asegura concentraciones séricas eficaces durante al menos 72 horas, lo cual permite la administración en una sola dosis para los pacientes infectados. Experimentos realizados en ratas naturalmente infectadas con *B. hominis* y tratadas con 225 mg de secnidazol por Kg de peso, permitieron demostrar la eliminación del parásito en las heces en un 92% y a

partir de 150 mg/Kg de peso, disminuyó significativamente el número de *B. hominis* observados en las muestras recolectadas [36]. En cultivos polixénicos de *B. hominis*, el secnidazol inhibió el crecimiento del mismo, demostrando mayor inhibición a medida que se aumentaba la concentración del fármaco [37]. La poca susceptibilidad del parásito a los medicamentos de elección para otros protozoarios y su elevada prevalencia en personas con o sin síntomas, justifican la realización de diversos estudios para conocer la eficacia de drogas como el Unidazol® (ZUOZ PHARMA) en la erradicación de este agente infeccioso.

El objetivo de esta investigación fue evaluar el efecto del secnidazol (Unidazol® ZUOZ PHARMA) en su presentación microgranulada, sobre el comportamiento biológico de *B. hominis* en personas con y sin síntomas gastrointestinales.

Materiales y Metodos

Población

Se incluyeron en el estudio 14 personas, 7 del género masculino y 7 del femenino, con edades comprendidas entre 5 a 79 años a las cuales se les detectó la infección con *B. hominis*, sólo o asociado con protozoarios comensales, mediante un examen parasitológico seriado en tres muestras de heces. Los criterios de inclusión fueron: presentar o no síntomas gastrointestinales, peso mayor de 15 kg y haber aceptado participar en el estudio de forma voluntaria y a través del consentimiento informado [42]. Los criterios de exclusión fueron: valores elevados de transaminasas, niveles de hemoglobina por debajo de los valores normales de referencia, embarazo, madres que amamantan, tratamiento con anticoagulantes o la presencia de enfermedades crónicas como: cáncer, enfermedades hepáticas, alcoholismo, diabetes, enfermedad renal y rectocolitis ulcerosa.

Medicamento y dosificación

UNIDAZOL® (secnidazol de ZUOZ PHARMA), es una presentación del secnidazol en forma de microgránulos recubiertos de nitrocelulosa para su administración oral, que logra enmascarar el sabor metálico del principio activo, lo cual junto a su presentación granulada y en dosis única favorece la administración y permite utilizarlo tanto en niños como en adultos [35]. Fue administrado por el médico durante la consulta respectiva: 2 gr para los adultos y 30 mg/kg para los niños. El medicamento fue administrado en combinación simultánea con yogurt firme, de acuerdo a la recomendación de la casa comercial, para enmascarar la presencia del medicamento.

Evaluación parasitológica

Se analizaron muestras de heces en tres días consecutivos una semana antes del tratamiento. Quince días después del tratamiento se repitió la evaluación, tomando en cuenta las recomendaciones del Subcommittee on Laboratory

Standard, Committee on Education, American Society of Parasitologist [43] y los criterios establecidos en el Laboratorio de Amibiasis de la Cátedra de Parasitología, Escuela de Bioanálisis, Universidad Central de Venezuela (UCV). A cada una de las muestras se le realizó examen directo en solución salina 0,85%, coloración con lugol, Quensel, Hematoxilina férrica y Ziehl-Neelsen (modificado), métodos de concentración de Kato y Rugai, así como cultivo en medio de Boeck-Drbohlav (modificado) [44]. Este es un medio bifásico para cultivo polixénico, con una fase sólida constituida por huevo y sangre humana desfibrinada y una fase líquida que es un ringer; se esteriliza mediante tindalización y después de sembrar la muestra de heces se le agrega almidón de arroz estéril [44]. Los exámenes post-tratamiento permitieron evidenciar el efecto parasiticida del medicamento y el comportamiento biológico de *B. hominis*, el cual fue evaluado considerando las variantes morfológicas, número por campo de 400X y las formas de reproducción observadas en las heces y en el cultivo.

La acción del medicamento sobre el comportamiento biológico de *B. hominis* fue evaluada después del tratamiento, considerando el efecto sobre las diferentes variantes morfológicas observadas en las heces, ya que éstas son el reflejo del desarrollo del parásito dentro del intestino. Los parámetros fueron, detección del microorganismo en las heces mediante métodos parasitológicos (directo y cultivo), frecuencia de aparición de cada variante morfológica en las heces, número de parásitos por campo (400X) y reproducción en el cultivo a las 24, 48 y 72 hs.

Obtención de los datos y análisis estadístico

A los efectos de este trabajo, para evaluar el efecto del medicamento sobre el comportamiento biológico del parásito, el análisis estadístico y la representación gráfica de los mismos fue realizado considerando las observaciones de cada uno de los exámenes de heces realizados a los 14 pacientes, es decir 41 exámenes pretratamiento y 40 post-tratamiento.

Determinación del número de parásitos por campo

Para calcular el promedio de excreción de *B. hominis* a cada paciente, antes y después del tratamiento, en cada examen de heces se contó el número de formas vistas en diez campos de 400x y se reportó el promedio observado. Luego, se sumó cada uno de los promedios por examen y se dividió entre el número de ellos.

Para el análisis de la variación en el número antes y después del tratamiento se realizó la evaluación con la prueba no paramétrica de los rangos con signo de Wilcoxon. Los datos expresados en frecuencias (%), se analizaron con la prueba exacta de Fisher.

Resultados y Discusión

Aunque muchos autores reportan que *B. hominis* puede ocasionar síntomas [9-12,18-26], ha sido difícil confirmarlo ya que la sintomatología es similar a la producida por otros agentes.

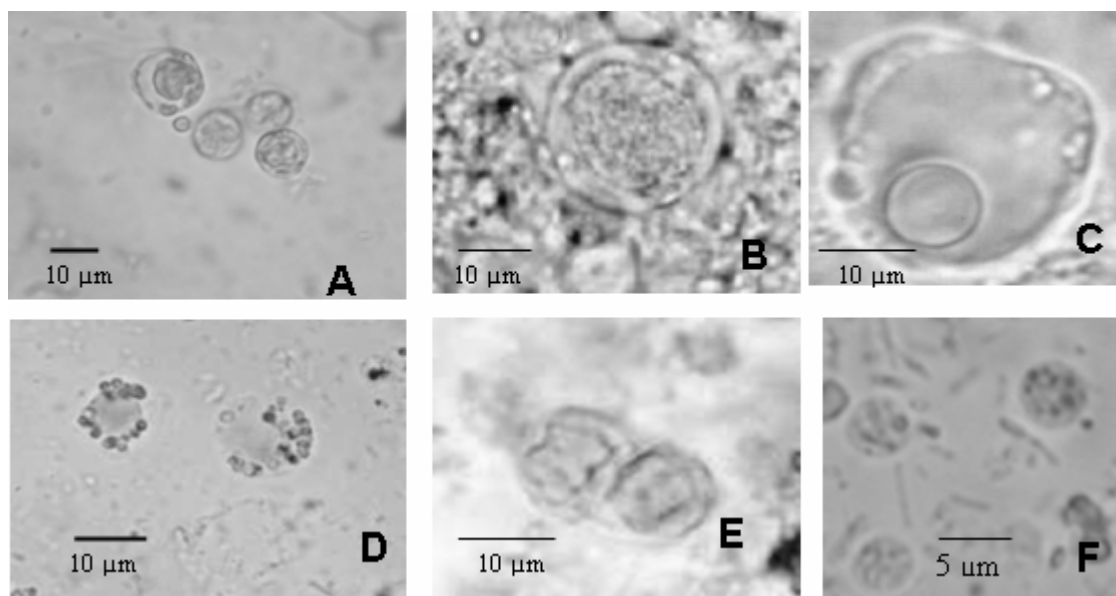


Figura 1. Variantes morfológicas de *B. hominis* observadas en heces de pacientes infectados. A. Formas con cuerpo central (Lugol, 400X). B. Forma granulosa (Lugol, 1000X). C. Forma amebode. (SS 0,85%, 1000X). D. Formas globulosas (SS 0,85%, 400X). E. División binaria (Lugol, 400X). F. Quistes (Lugol, 1000X).

Uno de los criterios para considerar a *B. hominis* como un patógeno intestinal en pacientes sintomáticos, ha sido la presencia de 5 o más parásitos por campo de 400X en el

examen microscópico directo de las heces, en ausencia de otro patógeno intestinal [16], así como la observación de las FAmeb, FGlob y DivB [27,32,35]. En los exámenes

directos y cultivos de las heces de los pacientes antes del tratamiento, se observó una mayor frecuencia de las diferentes formas vegetativas de *B. hominis* (FCC, FGra, FGlob, FAmeb), lo cual ha sido previamente reportado [5,16,27,28,32] y a diferencia de otros reportes [30], los quistes (Figura 1) se observaron en baja proporción. Después del tratamiento, se observó una disminución de la frecuencia de aparición de las FCC ($p=0,001$) y FGra ($p<0,05$) asociadas con la desaparición de FAmeb, FGlob, DivB y el aumento de los quistes, sin ser estadísticamente significativo (Figura 2).

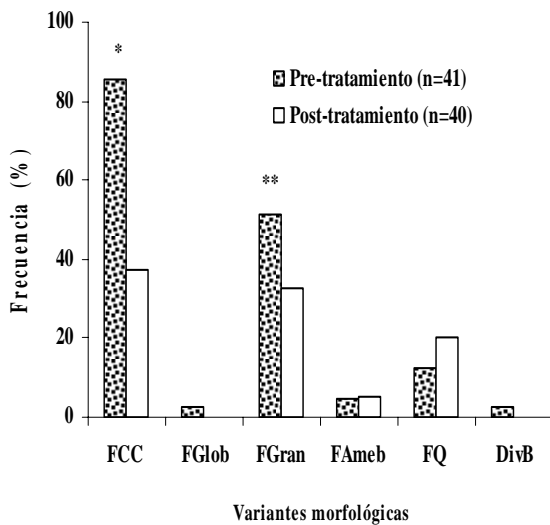


Figura 2. Frecuencia de las variantes morfológicas de *B. hominis* observadas en los exámenes directos de las heces de 14 pacientes, antes (n= 41) y después (n=40) del tratamiento con secnidazol. * $p < 0,001$; ** $p = 0,042$ (Prueba exacta de Fisher) (FCC: forma con cuerpo central, FGlob: forma globulosa, FGra: forma granulosa, FAmeb: forma ameboide, FQ: forma quística, DivB: forma en división binaria).

Al evaluar el efecto parasiticida del secnidazol sobre *B. hominis* se encontró que sólo en el 14,3% (2/14) de los pacientes, no se observó el parásito en las heces después del tratamiento, por lo cual en las condiciones en que se realizó este trabajo, se evidencia la ineficacia para erradicar el parásito, como ha sido reportado para otros 5-nitroimidazoles [7,38-41]. Sin embargo, hubo una disminución significativa ($p=0,035$) de *B. hominis* al cuantificar el número de elementos por campo de 400X, en el examen directo de las heces de cada paciente después del tratamiento (Figura 3), siendo el promedio de 5,5 parásitos \pm 6,1 antes del tratamiento y 2,7 parásitos \pm 3,1 después del mismo. De acuerdo con estos resultados y en las condiciones del estudio, podríamos suponer que aunque el medicamento no induce una acción parasiticida significativa sobre *B. hominis*, si pudiera estar afectando el comportamiento biológico del parásito, probablemente actuando sobre su reproducción dentro del intestino, lo cual se demuestra en los cambios de las proporciones de las variantes morfológicas observadas en las heces. No obstante, para poder confirmar o negar la acción específica del medicamento sobre el parásito es necesario realizar estudios *in vitro*.

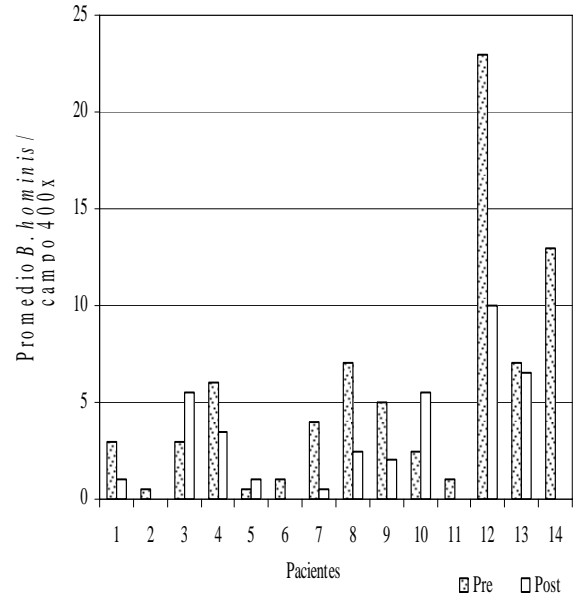


Figura 3. Promedio de *B. hominis* por campo de 400x, en las heces de cada uno de los 14 pacientes, antes y después del tratamiento con secnidazol. * $p=0,035$ (Prueba Rango de Signos de Wilcoxon).

En relación con los métodos empleados para el diagnóstico parasitológico de *B. hominis*, se observó que realizando el examen directo y cultivo en tres muestras, la positividad disminuyó después del tratamiento, siendo sólo estadísticamente significativo para el examen directo ($p<0,001$) (Figura 4). Se ha reportado que el examen directo de heces es sensible para el diagnóstico de este parásito [7,16,27,28,32,53] y en esta evaluación se observó como este método pierde eficacia cuando se examinan las muestras de heces después del tratamiento con una dosis de secnidazol, ya que hay una disminución del número de *B. hominis* por campo, a expensas de las formas vegetativas (FCC y FGra), y se incrementan las formas quísticas, que por ser muy pequeñas y poco conocidas presentan mayor dificultad para su identificación, lo cual podría conducir a una inadecuada interpretación del efecto de un medicamento contra *B. hominis*, al utilizar sólo el examen directo para la evaluación. Por ello es necesario utilizar el cultivo, el cual resultó ser un método más sensible para detectar la presencia de *B. hominis* en pacientes después del tratamiento.

Con estos resultados preliminares en estos 14 pacientes, se puede afirmar que el secnidazol en dosis única, ocasionalmente erradicó a *B. hominis* y disminuyó la excreción del parásito bajo sus formas vegetativas, e indujo la aparición de quistes, por lo cual en esta situación se convierte en una fuente de infección para otros hospederos. De acuerdo a estos resultados, se recomienda la evaluación parasitológica post-tratamiento, con un mínimo de tres muestras de heces, mediante el examen directo y el cultivo en el medio de Boeck-Drbohlav (modificado) y adicionalmente se sugiere que el bioanalista responsable del diagnóstico microscópico se entrene en la morfología de *B.*

hominis, para evaluar con certeza la persistencia o no del parásito después del tratamiento.

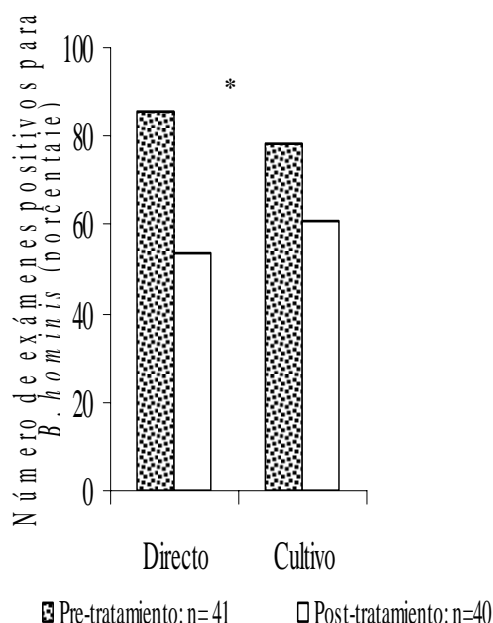


Figura 4. Detección de *B. hominis* en las heces de 14 pacientes pre y post-tratamiento con Secnidazol, mediante examen directo y cultivo en el medio Boeck-Drbohlav (mod). *: Diferencia estadística entre el examen directo pre y post- tratamiento; $p=0,001$ (Prueba Exacta de Fisher).

Agradecimiento

Agradecimiento especial a la profesora Eva Pérez de Suárez por la asesoría al proyecto y las correcciones y sugerencias hechas al presente artículo. Al Dr. Oswaldo Carmona por su valiosa colaboración en la revisión del artículo y por las oportunas sugerencias.

Financiamiento: CDCH-UCV PI-090058002005 y parcialmente por LABORATORIO ZUOZ PHARMA.

Referencias

1. Biolley MA, Oberg C. Blastocystosis en pacientes sintomáticos del hospital regional de Temuco-Chile. *Bol Chil Parasitol* 1993; 48:25-7.
2. Pérez de Suárez E, Nessi Paduani A, Pérez Schael I, Mariño M, Niño E, Römer H, Gerardi García A. *Blastocystis hominis* en niños con gastroenteritis estudiados en dos centros hospitalarios pediátricos de Caracas. Junio 1993- Julio 1994. *Arch Ven Puericul Ped* 1997; 60:160-7.
3. Requena I, Hernández Y, Ramsay M, Salazar C, Devera R. Prevalencia de *Blastocystis hominis* en vendedores ambulantes de comida del municipio Caroní, estado Bolívar, Venezuela. *Cuad Salud Pública* 2003; 19:1721-7.
4. Amato Neto V, Rodríguez Alarcón RS, Gakiya E, Ferreira CS, Bezerra RC, Dos Santos AG. *Blastocystis*: a high proportion of cases found in schoolchildren of Sao Paulo, state of Sao Paulo, Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop* 2004; 37:354-6.

5. Boreham PFL, Stenzel DJ. *Blastocystis* in humans and animals: morphology, biology and epizootiology. *Adv Parasitol* 1993; 32:1-70.
6. Abe N, Nagoshi M, Takami K, Sawano Y, Yoshikawa H. A survey of *Blastocystis* sp. in livestock, pets, and zoo animals. *Vet Parasitol* 2002; 106:203-12.
7. Tan K. *Blastocystis* in humans and animals: new insights using modern methodologies. *Parasitol Vet* 2004; 126:121-44. Silberman JD, Sogin ML, Leipe DD, Clark CJ. Human parasite finds taxonomic home. *Nature* 1996; 380:398.
8. Yakimoff WL, Wassilewsky WJ. Ausejet de la Blastocystose. *Bull Soc Pathol Exot* 1925; 18:130-2.
9. Panayotatou Par, NME. Sur la Blastocystose. Trois cas d'enterite a *Blastocystis hominis*. *Bull Soc Pathol Exot* 1928; 21:755-60.
10. Maplestone PA. Human intestinal protozoa in North Queensland. *Ann Trop Med Parasitol* 1920; XIV:283-93.
11. Zierdt CH, Rude W, Bull B. Protozoan characteristics of *Blastocystis hominis*. *Am J Clin Pathol* 1967; 48:465-501.
12. Zierdt CH, Tan HZ. Ultrastructure and light microscope appearance of *Blastocystis hominis* in a patient with enteric disease. *Parasitenk* 1976; 50:277-83.
13. Phillips BP, Zierdt CH. *Blastocystis hominis*: pathogenic potential in human patients and in gnotobiotics. *Exp Parasitol* 1976; 39:358-64.
14. Zierdt CH. *Blastocystis hominis* a long misunderstood intestinal parasite. *Parasitol Today* 1988; 4:15-7.
15. Zierdt CH. *Blastocystis hominis*. Past and Future. *Clin Microbiol Rev* 1991; 4:61-79.
16. Mc Clure HM, Strobert EA, Healy GR. *Blastocystis hominis* in a pig tailed macaque: a potential enteric pathogen for nonhuman primates. *Lab Animals Sci* 1980; 30:890-4.
17. Vannatta JB, Adamson D, Mullican K. *Blastocystis hominis* infection presenting as recurrent diarrhea. *Ann Intern Med* 1985; 102:495-6.
18. Sheehan DJ, Rauch ER, Mac Kitric JC. Association of *Blastocystis hominis* with signs and symptoms of human disease. *J Clin Microbiol* 1986; 24:548-50.
19. Diaczok BJ, Rival J. Diarrhoea due to *Blastocystis hominis*: an old organism revisited. *South Med J* 1987; 80:1-32.
20. Gallager LG, Vanglarsick JS. *Blastocystis hominis* enteritis. *J Ped Infect Dis* 1987; 4:556-7.
21. Russo AR, Stone SL, Taplin ME, Snapper HJ, Doern GV. Presumptive evidence for *Blastocystis hominis* as a cause of colitis. *Arch Inter Med* 1988; 148:1064.
22. Roseblatt JE. *Blastocystis hominis*. *J Clin Microbiol* 1990; 28:2379-80.
23. Wilson KW, Winget D, Wilks S. *Blastocystis hominis* infection: Signs and symptoms in patients at Wilford Hall Medical Center. *Mil Med* 1990; 155:394-6.
24. Tungtranchitr A, Manatsathit S, Kositchaiwat C, Ongrotchanakun J, Munkong N, Chinabutr P. *Blastocystis hominis* infection in irritable bowel syndrome patients. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 2004; 35:705-10.
25. Guglielmetti P, Cellesi C, Figura N, Rossolini A. Family outbreak of *Blastocystis hominis* associated gastroenteritis. *Lancet* 1989; 2:1394.
26. Pérez de Suárez E, Guzmán de Rondón C. La morfología del *Blastocystis hominis* en las heces y evaluación de métodos parasitológicos. *GEN* 1994; 48:226-31.
27. Guzmán de Rondón C. Variantes morfológicas de *Blastocystis hominis* en heces humanas y cultivos xénicos. Descripción y morfometría. Trabajo de ascenso presentado ante la Facultad de Medicina para optar al escalafón universitario de Profesor Asistente. 1995.

28. Guzmán de Rondón C, Arrechdera H, Pérez de Suárez E. Ultraestructura de *Blastocystis hominis* y su enquistamiento en cultivo polixénico. *Vitae. Academia Biomédica Digital* 2007; 30. En: <http://vitae.ucv.ve/?module=articulo&rv=15-&n=382>. Acceso: 30 de enero de 2008.
29. Zaman V, Howe D. Ultrastructure of *Blastocystis hominis*. *Parasitol Res* 1995; 81:465-9.
30. Yoshikawa H, Yoshida K, Nakajima A, Yamanari K, Iwatani S, Kimata I. Fecal-oral transmission of the cyst form of *Blastocystis hominis* in rats. *Parasitol Res* 2004; 94:391-6.
31. Guzmán de Rondón C, Nessi PA, Dorta A, Galindo M, Rodrigues A, Figueroa A, y col. Significado biológico y clínico de las variantes morfológicas de *Blastocystis hominis*. *J Bras Patol* 2001; 37:27.
32. Figueroa A, Quiroz G. Relación entre los hallazgos morfológicos de *Blastocystis hominis* en pacientes con y sin síntomas gastrointestinales. Trabajo especial de investigación, presentado ante la Facultad de Medicina de la UCV, para obtener el título de Licenciado en Bioanálisis. 1999.
33. El Masry NA, Basily S, Farid Z. *Blastocystis hominis*: Clinical and therapeutic aspects. *Trans Roy Soc Trop Med Hyg* 1988; 82:173.
34. Gillis JC, Wiseman LR. Secnidazole: a review of its antimicrobial activity, pharmacokinetic properties and therapeutic use in the management of protozoa infections and bacterial vaginosis. *Drugs* 1996; 51:621-38.
35. Barrios E, Cruz N, Jiménez J. Acción del Secnidazol 1'(Hidroxil 2-Propil) 2 Metil-5-Nitro Imidazol sobre el *Blastocystis hominis* en ratas infectadas en su medio ambiente: estudio preliminar. Trabajo especial de investigación, presentado ante la Facultad de Medicina de la UCV, para obtener el título de Licenciado en Bioanálisis. 1996.
36. Suárez JG. Acción del Secnidazol [1'(hidroxi 2- propil) 2 metil- 5 nitro-imidazol] sobre el *Blastocystis hominis* en cultivos polixénicos. Trabajo especial de investigación, Escuela de Bioanálisis, UCV, para optar al título de Bachiller en Ciencias. 1997.
37. Garavelli PL. The therapy of Blastocystosis. *J Chemother* 1991; 3:245-6.
38. Nigro L, Larocca L, Massarelli L, Patamia I, Minniti S, Palermo F, et al. A placebo-controlled treatment trial of *Blastocystis hominis* infection with metronidazole. *J Travel Med* 2003; 10:128-30.
39. Yakoob J, Jafri W, Jafri N, Islam M, Asim Beg M. *In vitro* susceptibility of *Blastocystis hominis* isolated from patients with irritable bowel syndrome. *Br J Biomed Sci* 2004; 61:75-7.
40. Moghadam DD, Ghadirian E, Azami M. *Blastocystis hominis* and the evaluation of efficacy of metronidazol and thrimethoprim/sulfamethoxazole. *Parasitol Res* 2005; 96:273-5.
41. Código de Bioética y Bioseguridad. FONACIT-MCT. Segunda edición. 2003.
42. Subcommittee on Laboratory Standards, Committee on Education, American Society of Parasitologists. Procedures suggested for use in examination of clinical specimens for parasitic infection. *J Parasitol* 1977; 63:959-60.
43. Pérez de Suárez E, Guzmán de Rondón C. Protozoarios intestinales: Manual de laboratorio. Criterios para su diagnóstico. Coedición Fuvesin/Insalud. 1999.