

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS E NATURAIS DO PONTAL
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

TALES VINHAIS FERNANDES

***BALANTIDIUM COLI* EM AMOSTRAS DE FEZES SUÍNAS E HUMANAS: UM
ESTUDO MOLECULAR**

ITUIUTABA – MG

2024

TALES VINHAIS FERNANDES

***BALANTIDIUM COLI* EM AMOSTRAS DE FEZES SUÍNAS E HUMANAS: UM
ESTUDO MOLECULAR**

Trabalho de conclusão de curso como
requisito parcial para obter a formação de
Bacharel em Ciências Biológicas

Área de concentração: Parasitologia

Orientador (a): Karine Rezende de Oliveira

ITUIUTABA – MG

2024

Ficha Catalográfica Online do Sistema de Bibliotecas da UFU
com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

F363 2024	<p>Fernandes, Tales Vinhais, 2001- Balantidium coli em amostras de fezes suínas e humanas - Um estudo molecular [recurso eletrônico] / Tales Vinhais Fernandes. - 2024.</p> <p>Orientadora: Karine Rezende de Oliveira. Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) - Universidade Federal de Uberlândia, Graduação em Ciências Biológicas. Modo de acesso: Internet. Inclui bibliografia. Inclui ilustrações.</p> <p>1. Biologia. I. Oliveira, Karine Rezende de, 1978-, (Orient.). II. Universidade Federal de Uberlândia. Graduação em Ciências Biológicas. III. Título.</p> <p style="text-align: right;">CDU: 573</p>
--------------	---

Bibliotecários responsáveis pela estrutura de acordo com o AACR2:

Gizele Cristine Nunes do Couto - CRB6/2091
Nelson Marcos Ferreira - CRB6/3074

TALES VINHAIS FERNANDES

***BALANTIDIUM COLI* EM AMOSTRAS DE FEZES SUÍNAS E HUMANAS: UM
ESTUDO MOLECULAR**

Trabalho de conclusão de curso como
requisito parcial para obter a formação de
Bacharel em Ciências Biológicas

Área de concentração: Parasitologia

Ituiutaba, Abril de 2024.

Banca examinadora:

Profª. Dra. Deisy Vivian de Resende
ESTES/UFU

Profª. Dra. Sibeli Bonafé Santos Cembranelli
Faculdade Dom Alberto-Santa Cruz

Profª. Dra. Karine Rezende de Oliveira
ICENP/UFU

SUMÁRIO

RESUMO	10
INTRODUÇÃO	11
MATERIAIS E MÉTODOS	13
COLETA DAS AMOSTRAS BIOLÓGICAS	13
ARMAZENAMENTO DAS AMOSTRAS DE FEZES PARA ANÁLISE MOLECULAR	14
EXTRAÇÃO DO DNA DAS AMOSTRAS CONSERVADAS	14
ANÁLISE MOLECULAR DAS AMOSTRAS POSITIVAS PARA CISTOS E TROFOZOÍTOS DE <i>B. COLI</i>	15
CONSIDERAÇÕES ÉTICAS	15
RESULTADOS	16
DISCUSSÃO	16
REFERÊNCIAS	20

RESUMO

Balantidium coli é um protozoário ciliado, causador da balantidíase, encontrado principalmente em suínos. Infecções em humanos podem acontecer, em especial nos indivíduos que residem em países tropicais e em pessoas que possuem contato direto com suínos, como criadores de suínos. Ainda assim, é considerada uma doença negligenciada e de pouca importância no âmbito epidemiológico. Utilizando amostras de fezes coletadas de suínos e seus criadores na zona rural do município de Ituiutaba – MG, foi possível detectar a presença de material genético do agente etiológico em 53,8% (21/39) das amostras de fezes suínas e 15,7% (3/19) em amostras de seres humanos. Mediante análise filogenética utilizando o resultado do sequenciamento, foi possível identificar nossa amostra (ITUBAL-23) dentro do grupo de sequências procedentes de suínos. Este trabalho mostra a distribuição de isolado de *B. coli* em amostras biológicas e enfatiza a importância da colonização de microorganismos que podem atuar como oportunistas para os seres humanos, uma vez detectado o protozoário em amostras dos criadores.

Palavras-chave: *Balantidium coli*; epidemiologia; genótipo

ABSTRACT

Balantidium coli is a ciliate protozoary parasite that causes balantidiasis, found primarily in pigs. Human infections can happen, especially in those that live in tropical countries, and have direct contact with pigs, such as pig farmers. Still, balantidiasis is considered a neglected disease and has little to no relevance in the epidemiology study. Using fecal samples collected from pigs and their farmers in the rural zone of Ituiutaba – MG, Brazil, it was possible to detect the presence of genetic material of the etiologic agent in 53,8% (21/39) in the pigs fecal sample, and 15,7% (3/19) in the fecal sample of humans. Through phylogenetic analysis using the results of the genetic sequencing, it was possible to identify our sample (ITUBAL-23) inside the group containing sequences found in pigs. This article shows the distribution of *B. coli* in biological samples and emphasizes the importance of colonization by microorganisms that can act opportunists to humans, as shown by the protozoary detected in the farmers.

Keywords: *Balantidium coli*, epidemiology, genotype.

Este Trabalho foi escrito e formatado em acordo com as normas da Revista *Parasitology*, seguindo as orientações das normas complementares do Curso que solicita que o Trabalho de Conclusão do Curso seja apresentado na forma de artigo científico.

Não foi realizada a tradução para o inglês, uma vez que ficará no repositório da Instituição

Título: Balantidium coli em amostras de fezes suínas e humanas – um estudo molecular

Title: *Balantidium coli* in swine and human fecal samples – a molecular study

Karine Rezende de Oliveira¹, Tales Vinhais Fernandes¹,

¹Instituto de Ciências Exatas e Naturais do Pontal, Universidade Federal de Uberlândia, Minas Gerais, Brasil.

Autor correspondente: Tales Vinhais Fernandes, Email: tales.fernandes@ufu.br

Resumo

Balantidium coli é um protozoário ciliado emergente e de importância zoonótica, responsável pela balantidíase, uma infecção que acomete os suínos e, eventualmente, os humanos. Infecções humanas ocorrem principalmente em regiões tropicais e subtropicais e que possuem contato direto com suínos. Trata-se de uma doença negligenciada e de grande importância epidemiológica. Utilizando amostras de fezes coletadas de suínos e de seus criadores na zona rural do município de Ituiutaba – MG, foi possível detectar a presença de material genético do agente etiológico em 53,8% (21/39) das amostras de fezes suínas e em 15,7% (3/19) das amostras humanas. Análises genéticas dos fragmentos amplificados demonstraram 100% de identidade com sequências de *B. coli* presentes no *GenBank*. A presença de *B. coli* em amostras fecais humanas enfatiza a importância da colonização de microrganismos oportunistas em criadores de suínos.

ABSTRACT

Balantidium coli is a ciliate protozoary parasite that causes balantidiasis, found primarily in pigs. Human infections can happen, especially in those that live in tropical countries, and have direct contact with pigs, such as pig farmers. Still, balantidiasis is considered a neglected disease and has little to no relevance in the epidemiology study. Using fecal samples collected from pigs and their farmers in the rural zone of Ituiutaba – MG, Brazil, it was possible to detect the presence of genetic material of the etiologic agent in 53,8% (21/39) in the pigs fecal sample, and 15,7% (3/19) in the fecal sample of humans. Through phylogenetic analysis using the results of the genetic sequencing, it was possible to identify our sample (ITUBAL-23) inside the group containing sequences found in pigs. This article shows the distribution of *B. coli* in biological samples and emphasizes the importance of colonization by microorganisms that can act opportunists to humans, as shown by the protozoary detected in the farmers.

Introdução

Balantidium coli é um protozoário ciliado, causador da balantidíase, com um importante impacto econômico pois afeta a criação de animais de fazenda economicamente relevantes para o ser humano, como suínos, cavalos e ovelhas (Ahmed et al. 2019). *Balantidium coli* pertence à família Balantidiidae, ordem Vestibuliferida, classe Litostomatea, filo Ciliophora e reino Protista (Lee et al, 1895). A contaminação de pessoas pelo agente etiológico também é possível, mesmo que raras em países desenvolvidos e altamente industrializados. O primeiro caso documentado da infecção de *B. coli* em humanos foi no ano de 1857, por Malmsten, o qual na época nomeou de *Paramecium coli*. Este achado foi seguido pela descoberta de Leuckart de um protozoário de morfologia similar que habitava intestino de suínos, e posteriormente estes dois protozoários seriam agrupados em um mesmo gênero chamado de *Balantidium* (Schuster e Ramirez-Avila, 2008).

A transmissão de balantidíase ocorre de forma indireta, por meio da ingestão de cistos em água ou alimentos contaminados, ou pelo contato direto com hospedeiros infectados, tornando os tratadores de suínos um dos principais grupos de risco. O parasita se apresenta em dois estágios, sendo o trofozoíto ciliado, estágio móvel e o cisto, forma infectante encontrada no ambiente (Bellanger et al. 2013).

Após a contaminação pelo cisto, o mesmo se diferencia em trofozoítos no intestino grosso do hospedeiro, podendo em alguns casos provocar o aparecimento de úlceras por meio da secreção da enzima hialuronidase, capaz de degradar o epitélio e facilitar a entrada na mucosa intestinal. Em seguida podem ser observados episódios de diarreia mucosanguinolenta. Em seres humanos pode ainda ser notificadas dores abdominais, emagrecimento e febre (Parija, 2013; Kumar, et al., 2016).

Suínos e primatas não- humanos (em algumas regiões do velho mundo) são considerados reservatórios importantes que colaboram com a contaminação humana, o que pode sugerir

que *B. coli* seja capaz de desenvolver um ciclo zoonótico da doença (Nakauchi, 1999).

A maior parte das infecções humanas por *Balantidium coli* ocorre em países tropicais, como os da América Latina. O principal reservatório deste parasita é o suíno, representando uma grande porção dos animais afetados, sendo muitas das infecções humanas relacionadas à área de criação e abatedouro de suínos (Anargyrou et al. 2003). Em indivíduos imunocompetentes, a balantidíase é assintomática, uma vez que *B. coli* mantém uma relação comensal no intestino grosso, especificamente no ceco. Entretanto, fatores como desnutrição, alcoolismo e imunodepressão podem ocasionar um desbalanço na relação parasito-hospedeiro, culminando em grave quadro clínico. Nestes casos, os trofozoítos atravessam a parede intestinal promovendo micro lesões no epitélio alcançando o sistema linfático e distribuindo-se para outros órgãos (Cho et al. 2006; Headley et al. 2008). Outra possibilidade de ação oportunista, é caso ocorra a infecção por outros parasitas, como a *Entamoeba histolytica*, que provoca lesões no intestino que podem ser usados pelo *Balantidium coli* para entrar no sistema linfático (Fortes, 1997).

Embora cosmopolita, a balantidíase é uma infecção incomum em humanos, possivelmente em virtude da baixa virulência de *B. coli*. Acredita-se que a prevalência mundial da balantidíase varie de 0,2 a 1%, sendo mais frequente em regiões tropicais e subtropicais como América Latina, Filipinas e Papua Nova Guiné (Schuster & Ramirez-Avila, 2008). Um estudo realizado por Steffen et al. (2010) com suínos provenientes de várias regiões do Brasil demonstrou que cistos de *B. coli* estiveram presentes em 54,7% dos animais avaliados, evidenciando uma alta incidência deste parasita.

Balantidíase é uma doença considerada negligenciada – mesmo identificada em vários países, como: México, Brasil, Panamá, Jamaica, Estados Unidos, Colômbia e Chile (Areán e Koppisch, 1956). No Brasil, um estudo realizado por Machado et al (1969), constatou a presença de *B. coli* em nove dos 1214 pacientes estudados na cidade de Niterói – uma

frequência de 0,74%. Pelo porco ser o principal animal portador do *B. coli*, as pessoas de risco são quaisquer que possuam contato diário, seja com a criação ou manipulação de suínos (Schuster e Ramirez-Ávila, 2008). Este fato é corroborado pelo estudo realizado em Papua Nova Guiné, onde Covree e Rijpstra (1961) observaram que a incidência de casos de balantidíase humana coincidiam com os locais onde havia criações de suínos em uma altitude elevada, com o clima frio influenciando os animais a procurarem abrigos em instalações humanas, o que aumentaria o contato entre seres humanos e suínos e facilitando a transmissão do agente etiológico.

Em relação à sintomatologia em humanos, a balantidíase pode manifestar-se de forma assintomática, aguda ou crônica. A forma crônica caracteriza-se pela alternância entre diarreia e constipação, e a forma aguda com perda de peso e desidratação (Arean e Koppish, 1956). Em um estudo realizado por Yang et al (1995), verificou-se que o período de incubação do parasita em primatas não humanos foi de 3 a 6 dias. Alguns outros sintomas observados foram: na fase aguda – abscesso hepático, infecção pulmonar, perfuração do cólon, apendicite e infecção urinária. Na fase crônica – fraqueza muscular e perda de peso. Em casos mais sérios foi documentada necrose da mucosa do intestino grosso (Ichhpujani e Bathia, 1994; Roberts e Janovy, 2005).

Em virtude da escassez de informações sobre a epidemiologia molecular e a dinâmica de transmissão da balantidíase, o objetivo do presente estudo foi determinar o perfil genético de isolados de *B. coli* provenientes de fezes de suínos e de seus criadores e avaliar a relação filogenética entre as mesmas por meio da construção de dendogramas com as sequências geradas.

Material e Métodos

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP/UFU), por registro CAAE:

52131721.5.0000.5152, parecer nº 5.059.444.

Coleta das amostras biológicas

As amostras de fezes de suínos e seres humanos utilizadas neste estudo são oriundas de um trabalho previamente realizado pelo nosso grupo (Santos, B. 2022 – Dados não publicados), que analisou por meio da microscopia de luz a presença de cistos e/ou trofozoítos de *B. coli*, em material coletado durante o período de fevereiro de 2022 e março de 2022 em diferentes regiões da zona rural do município de Ituiutaba - MG (latitude 18° 57' 55" Sul e longitude 49° 27' 49" Oeste). Em todos os locais, a criação e o manejo de suínos ocorriam próximos à casa onde residiam os moradores responsáveis pela criação dos animais.

As técnicas parasitológicas de diagnóstico foram realizadas no Laboratório de Ciências Biomédicas (LACBIM) da Universidade Federal de Uberlândia – Campus Pontal. Após a coleta, as amostras foram armazenadas em frascos coletores específicos, previamente identificados, e mantidas sob refrigeração até o momento da análise coproparasitológica. Para a pesquisa de cistos ou trofozoítos de *B. coli*, as amostras fecais foram submetidas, em duplicata, às técnicas de sedimentação por centrifugação em solução de formol-éter (Ritchie, 1984), sedimentação espontânea ou Hoffman, Pons e Janer (HPJ). Após a análise microscópica e identificação das formas evolutivas, todas as amostras foram armazenadas em tubos de coleta para preservação de DNA/RNA provenientes de amostras fecais (*DNA/RNA Shield Fecal Collection Tube, Pangea Laboratory, CA, USA*), a 4°C, para posterior análise molecular.

Extração do DNA das amostras conservadas

Todos os sedimentos fecais foram descongelados e submetidos ao processo de extração de DNA genômico de acordo com o protocolo de Nguyen et al (2017) e Nilles-Bije and Rivera (2010), e utilizando-se um kit comercial de extração (ZymoBiomics™ DNA Miniprep Kit,

USA), conforme as orientações do fabricante. Após a extração, para a verificação da presença de DNA e sua quantidade, utilizou-se NanoDrop™. Por último, as alíquotas foram reservadas e preparadas para realizar a PCR.

Amplificação do gene da subunidade ribossômica menor 18 S (SSU-rDNA) de B. coli

A PCR destinou-se a amplificar um fragmento de 1543pb do gene que codifica a subunidade ribossômica menor de *B. coli*, utilizando-se os iniciadores *B. coli* forward (5'-AAC_CTG_GTT_GAT_CCT_GCC_AGT-3') e *B. coli* reverse (5'-TGA_TCC_TTC_TGC_AGG_TTC_ACC_TAC-3'), de acordo com os protocolos de (Nilles-Bije and Rivera, 2010 e Nguyen et al., 2017)

A reação ocorreu em volume final de 25 µL de uma solução contendo 50ng de DNA de cada amostra, 0,2µM de cada iniciador, 100mM dNTPs, 1,25 U de Taq polymerase (Promega, USA). O programa de amplificação consistiu de uma desnaturação inicial a 95 °C (5 min), 35 ciclos de desnaturação a 95 °C(1 min) associação a 58 °C (1 min), e extensão a 72 °C (1 min e 45 seg), seguida de uma extensão final a 72 °C por 10 min, em um termociclador da Loccus TC-9639. Os produtos amplificados foram aplicados em gel de poliacrilamida a 6%, submetidos à eletroforese por 180 minutos a 80V, visualizados por meio da coloração com nitrato de prata.

Em seguida, algumas amostras sabidamente positivas foram selecionadas e encaminhadas para o sequenciamento genético. O sequenciamento foi realizado pela ACTGene Análises Moleculares pelo método derivado de Sanger (desoxi-terminal). As sequências nucleotídicas obtidas nas direções direta e reversa foram editadas e alinhadas pelo programa Chromas Pro 2.1.6 para obtenção das sequências *consensu*. A análise da identidade das sequências foi realizada pelo BLAST N (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov>) e o alinhamento destas com as sequências de *Balantidium coli* depositadas no *Genbank* foi realizado por meio do programa

SeaView 4.5.2, utilizando-se o método ClustalW 1.8. A análise filogenética e a construção dos dendogramas foi realizada utilizando-se o programa Mega 7.0, por meio do método Maximum Composite Likelihood (Timura-3 parâmetros com 100 bootstrap). As sequências resultantes serão depositadas no GenBank.

Resultados

Na análise por microscopia de luz (observado em trabalho anterior feito pela equipe), 50% (10/20) dos indivíduos voluntários encontravam-se parasitados por helmintos intestinais ou protozoários, embora não tenha detectado cistos ou trofozoíto de *B. coli*. Ressalta-se ainda que 70% (14/20) eram indivíduos do gênero masculino, com idade média de 81 anos ($\pm 13,6$) e 30% (6/20) eram do gênero feminino, com idade média de 65 anos ($\pm 9,25$).

Em relação aos suínos, a avaliação microscópica demonstrou que 86,5% (32/37) das amostras foram positivas para helmintos ou protozoários intestinais, sendo que em 43% (16/37) foram observados cistos de *B. coli*, e em 5% (2/37) foram encontrados trofozoítos deste parasito.

Por meio da análise molecular, foi possível identificar 56,7% (21/37) amostras positivas para *B. coli* nas fezes suínas. A figura 01 representa algumas destas amostras suínas positivas.

Em humanos, 15% (3/20) das amostras foram positivas para *B. coli*. A figura 02 representa duas destas amostras positivas. Ressalta-se que destes humanos, um deles tinha dois suínos que também testaram positivo para *B. coli*.

Mediante análise filogenética utilizando o resultado do sequenciamento, foi possível identificar nossa amostra (ITUBAL-23) dentro do grupo de sequências procedentes de suíno (Figura 03).

As amostras de fezes humanas positivas serão enviadas para sequenciamento a fim de obter a análise filogenética do *B. coli* encontrado na amostra.

Discussão

Balantidíase é uma zoonose de caráter endêmico, e que está relacionada ao contato com fezes de suínos contaminadas por cistos e/ou trofozoítos de *B. coli*. Muitas vezes negligenciada, por não apresentar risco eminente de morte do hospedeiro, em condições favoráveis ao parasita pode vir a desenvolver graves problemas de saúde em pessoas em condições de imunomodulação ou úlceras intestinais.

Anteriormente, nosso grupo realizou um estudo prévio de presença de *B. coli* em amostras de fezes de suínos e pessoas na área rural de Ituiutaba, MG. Neste estudo encontramos amostras suínas positivas para o agente etiológico, o que não foi visualizado em amostras humanas. A técnica utilizada (microscopia de luz) pode não ter favorecido a detecção, o que levou a necessidade de realizar a análise molecular, visto que a sensibilidade e especificidade da técnica poderia possibilitar o encontro de material genético do parasita.

A amplificação com os iniciadores *B. coli forward* e *B. coli reverse* permitiu a detecção do fragmento gênico da SSU-rRNA de *B. coli* em três amostras de fezes humanas previamente negativas pela análise microscópica. Ressalta-se que os indivíduos cujas amostras foram positivas na PCR mantinham contato direto com suínos que também estavam infectados com *B. coli* (duas amostras). Tal fato está de acordo com dados da literatura que demonstram que o principal fator de risco para a aquisição da balantidíase é o contato direto com suínos, principalmente por meio da criação destes animais (Schuster e Ramirez-Avila, 2008).

Entretanto, como evidenciado por Ghadimi et al (2020), os reservatórios de *B. coli* não se limitam apenas aos suínos de criação, pois mesmo em países islâmicos – em que a criação de suínos é proibida – há a infecção de humanos pela balantidíase por meio de javalis selvagens.

No presente estudo foram detectadas três amostras positivas sendo de indivíduos do gênero masculino e idade entre 57 e 75 anos. Estes dados corroboram os achados da literatura

que demonstram uma maior prevalência de infecção por *B. coli* em homens em comparação com as mulheres (Asif et al., 2007; Islam et al., 2000; Mamun et al., 2011; Wisesa et al., 2015). Adicionalmente, em trabalho de revisão realizado pelo nosso grupo (Silva de Oliveira, et al., 2022), foi possível verificar que a presença do parasita e o estabelecimento da balantidiose pode influenciar no estágio clínico de doenças autoimunes, considerando a modulação da resposta imune na presença do *B. coli*.

Neste trabalho detectaram-se 21 amostras suínas positivas para *B. coli*. Os animais deste estudo eram mantidos livres, em chiqueiros, muitas vezes cheio de lama e fezes. O hábito coprofágico destes animais possibilita que os mesmos sejam contaminados por outras fontes (fezes animais silvestres que podem ser reservatórios) ou fezes humanas.

Outros fatores podem colaborar com a contaminação, infecção e desenvolvimento de quadro clínico, como por exemplo a virulência, patogenicidade, imunogenicidade e viabilidade de *B. coli*. Quando se considera os fatores relacionados ao hospedeiro temos espécie, idade, sexo, resistência, sistema imunológico e estado nutricional do animal. Além disso, as condições de manutenção dos animais como umidade, temperatura, forma de alimentação fazem parte do fator ambiental e que favorecem a permanência de *B. coli* no local onde os animais são criados (Budiharta e Suardana, 2007).

Este patógeno pode crescer e sobreviver em uma ampla faixa de temperatura de 25 a 40 °C (Clark e Diamante, 2002). O sistema de manutenção também é considerado um fator. Como mencionado anteriormente, os suínos estavam em chiqueiros, cheios de lama e fezes, o que favorece a contaminação, tanto dos animais quanto dos criadores, que muitas vezes estão em contato direto com esse material (Wisesa et al., 2015). Um trabalho com bubalinos demonstrou que a prevalência de *B. coli* em búfalos criados em solo com lama e fezes é maior quando comparado a búfalos criados em piso de concreto (Roy et al., 2011).

Assim, conclui-se que o fato destes animais estarem em ambientes com falta de

saneamento adequado, condições climáticas quentes e úmidas de regiões subtropicais e regiões tropicais favoráveis para manutenção das formas parasitárias viáveis no solo, presença de animais infectados com *B. coli*, doenças debilitantes e desnutrição de alguns animais podem ser consideradas fatores relevantes para aumento da prevalência deste protozoário em suínos e até mesmo seres humanos (Giacometti et al., 1997; Solaymani-Mohammadi e Petri, 2006)

Portanto, o fato de animais saudáveis não apresentarem sintomas, mesmo infectados com o *B. coli*, torna-se um problema de Saúde Pública, considerando que os criadores não observando sintomas característicos da doença podem realizar o manejo dos suínos e não considerar o risco eminente de contaminação pelos dejetos. Sabe-se que *B. coli* afeta a região cecal dos suínos causando diarreia grave e a morte do animal. (Schuster and Ramirez-Avila, 2008; Lazar et al., 2004).

A homogeneidade das sequências geradas pela PCR corrobora o dito pela literatura: genes que codificam o RNA ribossômico são bastante conservados ao longo da evolução e, por isso, são úteis para inferir relações filogenéticas (Olsen and Woese, 1993).

Não há uma relação direta entre a possibilidade de compartilhamento entre os genótipos de *B. coli* circulantes entre animais e seres humanos (Barbosa, et al., 2017), entretanto, a análise genética do material oriundo de seres humanos (sequenciamento) poderá definir as variantes que porventura estejam envolvidas no processo de contaminação e infecção entre os suínos e seus criadores, o que comprovaria o caráter zoonótico da balantídiase.

Contribuição dos autores.

Rezende-Oliveira, K: execução, orientação e finalização dos experimentos; elaboração do artigo.

Fernandes, T.V: Execução dos experimentos; elaboração do artigo.

Suporte Financeiro. Este artigo não recebeu fundos de nenhuma agência, comercial ou governamental.

Interesses conflitantes. Os autores declaram que não há conflito de interesse.

Consideração ética. O estudo foi realizado após aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa (CEP/UFU), por registro CAAE: 52131721.5.0000.5152, aprovação nº 5.059.444

Referências

- Ahmed, A.** et al (2020). *Balantidium coli* in domestic animals: An emerging protozoan pathogen of zoonotic significance. *Acta Tropica*.
- Anargyrou, K.** et al (2003). Pulmonary *Balantidium coli* Infection in a Leukemic Patient. *American Journal of Hematology*, 1-4.
- Asif, M, R, Iqbal, Z, Jabbar, A and Yaseen, M** (2007). Point prevalence of gastrointestinal helminthiasis in ruminants in southern Punjab, Pakistan. *Journal of Helminthology*, 81, 323–328.
- Arean V, M and Koppisch, E** (1956). Balantidiasis; a review and report of cases. *The American Journal of Pathology*, 32, 1089-1115.
- Bachal, B, Sharif, P, Rahamatullah, R and Aijaz, H.S** (2002). Prevalence of gastro-intestinal helminths in Buffalo calves. *Journal of Biological Sciences*, 2, 43–45.
- Baker, J. R** (1973) *Parasitic protozoa*, Hutchinson University Library, London, United Kingdom.
- Barbosa, A, S.** et al (2015). Isolation and maintenance of *Balantidium coli* (Malmsteim, 1857) cultured from fecal samples of pigs and non-human primates. *Veterinary Parasitology*, 210, 240–245.
- Bellanger, A, P.** et al (2013) Dysenteric syndrome due to *Balantidium coli*: a case report. *New Microbiologica*, 203-205.
- Budiharta, S and Suardana, I, W** (2007). Multifactorial causality. *Textbook of Epidemiology and Veterinary Economy*. Faculty of Veterinary Medicine, Udayana University., Denpasar.
- Cho, H, Shin, S, and Park, N** (2006). Balantidiasis in the gastric lymph nodes of Barbary sheep (*Ammotragus lervia*): an incidental finding. *Journal of Veterinary Science*, 207-209.
- Clark, C, G and Diamond, L, S** (2002). Methods for cultivation of luminal parasitic protists of clinical importance. *Clinical Microbiology Reviews*, 15, 329–341.

- Covree, L, M, J and Rijpstra, A, C** (1961). The prevalence of *Balantidium coli* in the central highlands of Western New Guinea. *Tropical and Geographical Medicine*, 13:284-286.
- Fortes, E** (1997). *Parasitologia Veterinária*. 3ª ed. São Paulo: Cone.
- Ghadimi, S, N. et al** (2020). Neo*Balantidium coli*: First molecular identification from the Eurasian wild boar, *Sus Scrofa* in Bushehr Province, Southwestern Iran. *Veterinary Medicine and Science*, 142-146.
- Giacometti, C, O. et al** (1997). Epidemiologic Features of Intestinal Parasitic Infections in Italian Mental Institutions. *European Journal of Epidemiology*, 13, 825–830.
- Hackstein, J, H, P, R, H, de Graaf, J, J, van Hellemond and Tielens, A, G, M** (2008). Hydrogenosomes of anaerobic ciliates. *Microbiology Monographs*, 9:97–112.
- Headley, S, A, Kummala, E and Sukura, A** (2008). *Balantidium coli*-infection in a Finnish horse. *Veterinary Parasitology*.
- Ichhpujani and Bhatia** (1994). *Medical Parasitology*. Jaypee Brothers Medical Publishers, India.
- Islam, M, R, Haque, A, K, M, F, Khan, M, A, H, N and Talukder, M, R, I** (2000). Balantidiasis in water buffaloes: Incidences and Therapeutics Trial. *Bangladesh Journal of Agriculture*, 143– 146.
- Kumar, M, Rajkumari, N, Mandal, J and Parija S, C** (2016). A case report of an uncommon parasitic infection of human balantidiasis. *Tropical Parasitology*, 6(1):82-4.
- Lazar, S, Altuntas, F, Sahin, I and Atambay, M** (2004). Dysentery caused by *Balantidium coli* in a patient with non Hodgkin's lymphoma from Turkey. *World Journal of Gastroenterology*, 10, 458–459.
- Lee, J, Hutner, S and Bovee, E** (1985). *An Illustrated Guide to the Protozoa*. Society of Protozoologists, Lawrence, KS.
- Machado O, Pinho AL and Silva S** (1969). Aspectos parasitológicos na balantidiose humana. *O Hospital*, 75: 1969-76.
- Mamun, M, Begum, N and Mondal, M** (2011). A coprological survey of gastro-intestinal parasites of water buffaloes (*Bubalus bubalis*) in Kurigram district of Bangladesh. *Journal of the Bangladesh Agricultural University*, 9, 103–110.
- Nakauchi, K** (1999). The prevalence of *Balantidium coli* infection in fifty-six mammalian species. *Journal of Veterinary Medicine*, 63-65
- Neves, D, P, Linardi, P, M, and Vitor, R, W, A** (2005). *Parasitologia Humana*. 11ª edição. Editora: Atheneu.

- Nguyen, A, H, L. et al** (2017). Optimizing the PCR protocol to detect *Balantidium coli* infected in pigs. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 20-27.
- Olsen, G, J and Woese. C. R** (1993). Ribosomal RNA: a key to phylogeny. *FASEB Journal*, 113-123.
- Parija, SC** (2023). The ciliate protozoan, protozoan of undetermined taxonomic status. *Textbook of medical parasitology*, 4th ed. New Dheli: All India Publishers and Distributors.
- Pomajbi'kova, K. et al** (2010). Discrepancies in the occurrence of *Balantidium coli* between wild and captive African great apes. *Journal of Parasitology*, 1139–1144.
- Roberts, L, S and Janovy, J** (2005). *Foundations of Parasitology*, s" Ed. ed. McGraw Higher Education, N.YUSA.
- Roy, B, C, Mondal, M, M, H, Talukder, M, H and Majumder, S** (2011). Prevalence of *Balantidium coli* in Buffaloes at different areas of Mymensingh. *Journal of the Bangladesh Agricultural University*, 9, 67–72.
- Schuster, F, L and Ramirez-Avila, L** (2008). Current World Status of *Balantidium coli*. *American Society of Microbiology*, 21, 1-13.
- Silva, A, O, Gómez-Hernández, C and Rezende-Oliveira, K** (2022). *Balantidium coli*: infection, immune status and comorbidities: literature review. *Journal of Tropical Pathology*, Goiânia, 50, n. 4, 265–284.
- Solaymani-Mohammadi, S, Rezaian, M, Hooshyar, H, Mowlavi, GR, Babaei, Z and Anwar, MA** (2004). Intestinal Protozoa in Wild Boars (*Sus scrofa*) in Western Iran. *Journal of Wildlife Diseases*, 40, 801–803
- Steffen, R, P, B. et al** (2010). Prevalência de *Balantidium coli* nas fezes de suínos na fase de terminação em abatedouro. *Revista Agrarian*, 3, n. 10, 301-304.
- Walzer, PD, Judson, FN, Murphy, KB, Healy, GR, English, DK and Schultz MG** (1973). Balantidiasis outbreak in Truk. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 22:33-41
- Weyher, A, H, Ross, C and Semple, S** (2006). Gastrointestinal Parasites in Crop Raiding and Wild Foraging *Papio anubis* in Nigeria. *International Journal of Primatology*, 27. no. 6.
- Wisesa, I, B, G, R, Siswanto, F, M, Putra, T, A, Oka, I, B, M and Suratma, N, A** (2015). Prevalence of *Balantidium* sp in Bali cattle at different areas of Bali. *International Journal of Agriculture and Plant Science*, 1, 49–53.
- Woody, NC, Woody, HB** (1960). Balantidiasis in infancy: Review of the literature and reporto fa case. *The Journal of Pediatrics*, (4):485-489.

Yang, Y, Zeng, L, Li, M and Zhou, J (1995). Diarrhea in piglets and Monkeys experimentally infected with *Balantidium coli* isolated from human faeces. *Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 98, 69–72.

Zaman, V (1978). *Balantidium coli*, p. 633–653. In J. P. Kreier (ed.), *Parasitic protozoa*, vol. 2. Academic Press, New York, NY.

FIGURAS ARTIGO

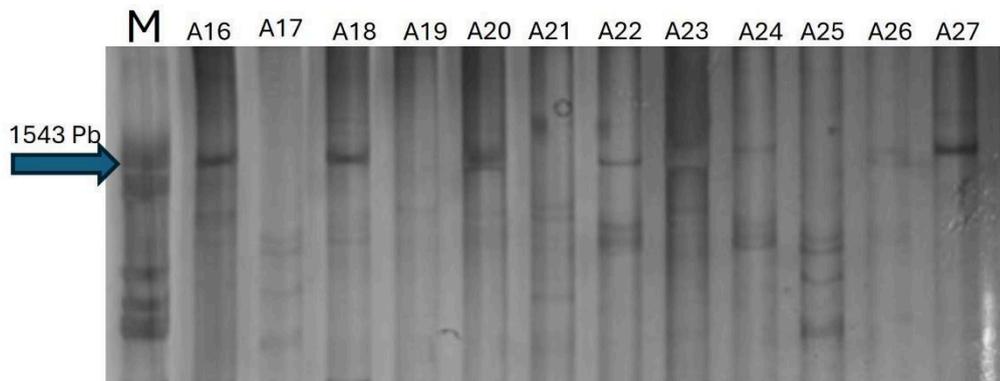


Figura 01- Representação eletroforética de amostras de fezes de suínos positivas para DNA de *B. coli* em gel de poliacrilamida 6% corado com nitrato de Prata. M- Marcador molecular (Pb), Amostras positiva A16, A18, A20, A22, A23, A24, A26 e A27 procedentes de suínos. Seta indica posição das bandas referentes ao peso molecular de 1543pb.

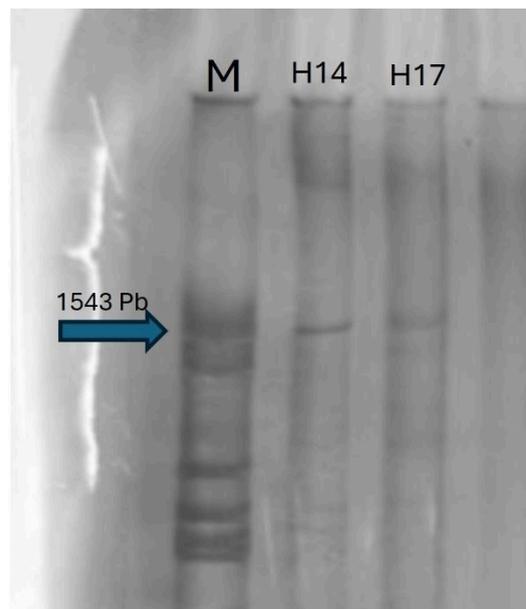


Figura 02- Representação eletroforética de amostras de fezes de seres humanos positivas para DNA de *B. coli* em gel de poliacrilamida 6% corado com nitrato de Prata. M- Marcador molecular (Pb), Amostra H14 e H17 procedentes de Humano. Seta indica posição das bandas referentes ao peso molecular de 1543pb.

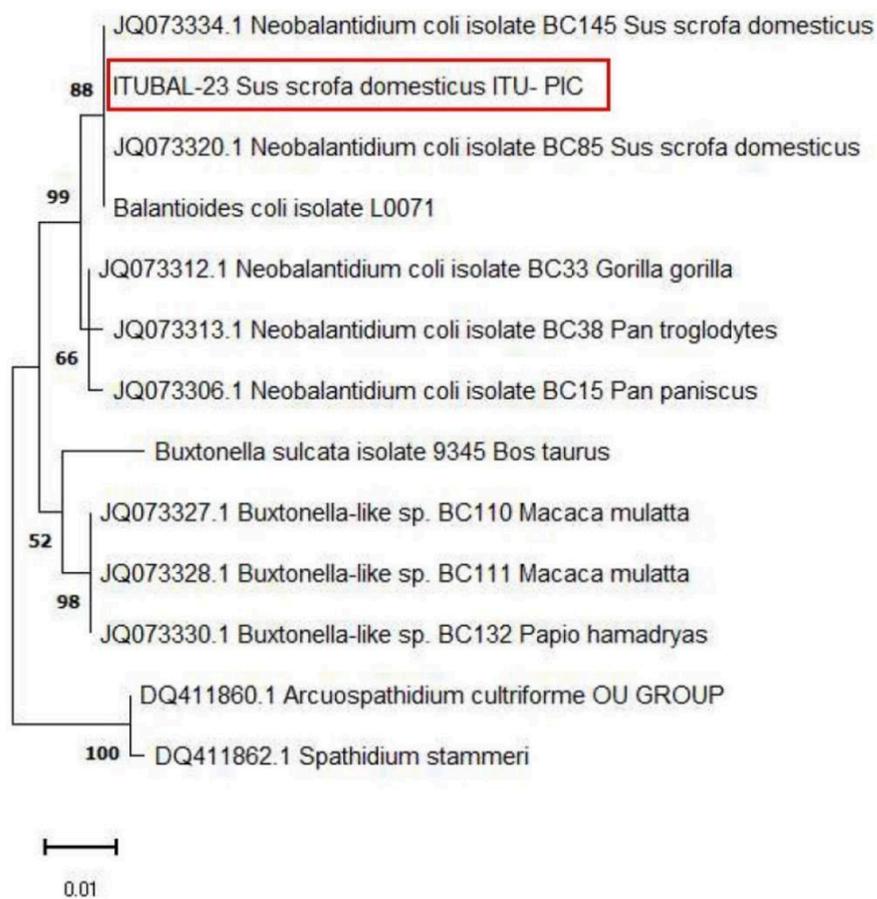


Figura 3- Análise filogenética da região 18S (SSU) do rDNA utilizando o *Maximum Composite Likelihood* (MCL) e *Bootstrap* de 1000. Observa-se dentro do grupo *Neobalantidium coli* dois principais grupos de acordo a procedência biológica

Normas

Revista

Parasitology:

<https://www.cambridge.org/core/journals/parasitology/information/author-instructions/preparing-your-materials>