

**BLASTOCYSTIS HOMINIS'İN IN VITRO KÜLTÜRÜ VE ANTİPROTOZOAL İLAÇLARIN IN VITRO ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI\***  
**In vitro Culture of Blastocystis hominis and Investigation of in vitro Effects of Antiprotozoal Drugs**

**Berna HAMAMCI<sup>1</sup>, Süleyman YAZAR<sup>2</sup>, İzzet ŞAHİN<sup>3</sup>**

**Özet :** *Blastocystis hominis*, özellikle tropikal ve subtropikal bölgelerde olmak üzere bütün dünyada yaygın olarak bulunan bir protozoon; potansiyel patojen olarak düşünülen bu protozoon, çeşitli gastrointestinal şikayetlere sebep olabilmektedir. Çalışmada, Anabilim Dalı laboratuvarına müracaat eden hastalardan izole edilen *Blastocystis hominis* izolatları Robinson besiyerine ekilerek üretilmesi sağlanmış ve oluşturulan ana besiyerinde izolatların üretilmesine devam edilmiştir. Ana besiyerinde üreyen izolatlar ayrı ayrı tüplere bölünmüş ve parazit üzerine ornidazol, metronidazol, azitromisin, itraconazol ve trimetoprim-sülfametoksazol'un (TMP-SMX) in vitro etkileri araştırılmıştır. Söz konusu ilaçlar içinde en etkili ilacın ornidazol olduğu ve bunu metronidazol, azitromisin, itraconazol ve trimetoprim-sülfametoksazol'un izlediği gözlenmiştir.

**Anahtar kelimeler:** *Blastocystis hominis*, In vitro kültür, ornidazol, metronidazol, azitromisin, itraconazol ve trimetoprim-sülfametoksazol

*Blastocystis hominis* insan dışkısında ilk kez 1912 yılında Brumpt tarafından isimlendirilmiş ve son zamanlarda yapılan çalışmalarda *Blastocystea* sınıfı içerisine yerleştirilmiştir. Bütün dünyada kozmopolit bir dağılım gösteren parazitin prevalansı gelişmiş ülkelerde %1,5-10 arasında olup, gelişmekte olan ülkelerde ise %50 veya daha yüksek olabilmektedir. Çocuk veya yetişkinlerde, uzun süreli ishal şikayetleri olanlarda ve immun-yetmezlikli hastalarda oldukça sık rastlanılmaktadır (1-3).

<sup>1</sup> Bilim Uzm. Erc. Ün. Sağlık Bil. Ens., Parazitoloji AD, Kayseri

<sup>2</sup> Yrd. Doç. Dr. Erc. Ün. Tıp Fak., Parazitoloji AD, Kayseri

<sup>3</sup> Prof. Dr. Erc. Ün. Tıp Fak., Parazitoloji AD, Kayseri

**Summary :** *Blastocystis hominis* is worldwide in distribution particularly in tropical and subtropical regions. This parasite thought as a potential pathogen may cause various gastrointestinal symptoms. In this study, *Blastocystis hominis* isolated from the patients applying to Parasitology Department of Erciyes University has been cultured in Robinson's medium and continued to develop the isolates in the mother culture. The isolates developed in mother culture have been divided into separate tubes and in vitro effects of ornidazole, metronidazole, azitromisine, itraconazole and trimetoprim-sulphametoxazole have been investigated. Considering mentioned drugs, it was observed that the most effective drug was ornidazole and then metronidazole, azitromisine, itraconazole and trimetoprim-sulphametoxazole, respectively.

**Key words:** *Blastocystis hominis*, In vitro culture, ornidazole, metronidazole, azitromisine, itraconazole and trimetoprim-sulphametoxazole

Parazit, değişik morfolojik şekillere sahiptir. Bunlardan; vakuolar form, yaklaşık %90'nını teşkil eden büyük santral vakuülüyle karakterizedir. Granüler form, merkezi vakuolar içerikleri dışında, ince yapıları açısından vakuolar forma benzerlik göstermektedir fakat biraz daha büyüktür. Vakuolar formdan granüler forma dönüşmeyi sağlayan koşulların kültür ortamları olduğu belirtilmektedir. *B. hominis*'in amoeboid formuna çok az rastlanılmaktadır. Bu formun, vakuolar ve kalın duvarlı kistler arasında bir dönem olduğu, vakuolar formlardan meydana geldiği ve mitoz ile çoğaldığı belirtilmektedir. Diğer bir form da santral vakuülü olmayan avakuolar formdur. Kültür

**\*Bu çalışma, Erciyes Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından 01.11.02 nolu proje ile desteklenmiştir.**

formlarında bulunan, çok küçük (5 µm) olan bu formun tanımlanması oldukça güçtür. Diğer bir form ise multivakuolar formdur ve dışkı materyalleri içerisinde tek olarak bulunmazlar. Bu formun dışkı kistlerinin gelişmesinde rol aldığı belirtilmektedir. Kültür ortamlarında organizmaların üremelerinin 48 saat boyunca nötr veya alkaliye yakın pH'da, 37 °C'de inkübasyon ile redüklendiğinde optimum düzeyde gerçekleştiği, 30 °C'de veya oda sıcaklığında herhangi bir üremenin olmadığını bildirilmiştir (3-5).

*B. hominis* ishal, karın ağrısı, şişkinlik, gaz, huzursuzluk, anoreksi, kramp, kusma, dehidratasyon, uykusuzluk, bulantı, iştahsızlık, kilo kaybı, yorgunluk, kaşıntı, tenezmus gibi semptomlara sebep olabilmektedir. Bundan dolayı da bir çok araştırmacı tarafından potansiyel bir patojen olduğu ve tedavi edilmenin gerektiği bildirilmektedir. Yapılan çalışmalar genellikle parazitolojik iyileştirme, parazit sayısının azalması ve semptomların ortadan kaldırılması üzerinedir. Bu nedenle araştırmacılar ilaçların etkisinin ölçülmesinde bir standart getirilmesi gerektiğini düşünmektedirler (3-4). Blastocystosis üzerine in vitro ve in vivo çalışmalarda; sonucunda başarılı oldukları rapor edilen ilaçlar arasında emetin (6), furazolidon (7), ketokonazol (8), metronidazol (1,3), ornidazol, quinacrin, tinidazol (3,6), TMP-SMX (9), entereviaform (4) ve ko-trimaksazol (3) kullanılmıştır.

Klinik çalışmalarda da sözü edilen ilaçlar kullanılmış fakat Blastocystosis tedavisinde etkili bir tedavi protokolü oluşturulmamıştır. Buradan yol çıkararak da çalışmamızın amacı, *B. hominis*'in kültürünü yaparak değişik ilaçların in vitro ortamda parazit üzerine etkilerinin araştırılmasıdır.

## GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmada kullanılan dışkı örnekleri, Erciyes Üniversitesi Parazitoloji Anabilim Dalı'na başvuran hastalardan temin edilmiştir. *B. hominis* tanısı konmuş örneklerden Robinson besiyerine ekimler yapılmış ve burada *B. hominis* sayısı  $5 \times 10^4/\text{mm}^3$ 'e ulaşıncaya kadar üretilmiştir. Daha sonra bir mezürde ana besiyeri oluşturulmuş ve pasajlarla elde edilen izolatların üretilmesine bu

besiyerinde devam edilmiştir. Ana besiyerinde yapılan kültürde üremenin fazla olduğu 3. günde Thoma lamında sayımları yapılmış ve  $\text{mm}^3$ 'de  $1,1 \times 10^5$  olduğu saptanmıştır. Buradan alınan iki pastör pipeti (~6 ml) pasajlar için hazırlanan 20 ml'lik vida kapaklı 85 tüp içerisine konmuş olan 6 ml Robinson besiyeri üzerine aktarılmıştır. Çalışmada, *B. hominis* üzerine in vitro etkilerini araştırmak istediğimiz ornidazol (Biteral 500 mg amp.), metronidazol (Nidazol 250 mg tab.), trimetoprim-sülfametaksazol (Bactrim tab.), azitromisin (Azitro 250 mg şurup), itrokonazol (Funit 100 mg cap.) DMSO ve potassium fitalate solüsyonu içerisinde çözülürerek 5 farklı konsantrasyonları (100, 50, 25, 12.5 ve 6 µg/ml) hazırlanmıştır. İlaç konsantrasyonlarından 3'er seri hazırlanmış ve daha önceki çalışmalar göz önünde bulundurularak (10) besiyerleri üzerine 60'ar µl eklenmiştir (5 µl ilaçlı solüsyon / ml besiyeri). On kontrol tüpüne ise 60'ar µl ilaçsız DMSO eklenerek inkübasyon için 37 °C'lik etüve konmuştur. Toplam 85 besiyerindeki üreme 36, 48, 72, 168, 216 saatlerde ve bundan sonra üçer gün arayla iki kez kontrol edilerek ışık mikroskopunda Thoma lamında sayılarak  $\text{mm}^3$  deki parazit sayısı bulunmuştur. İstatistiksel değerlendirme için SPSS 11.0 paket programında, gruplar arası farklar için varyans analizi, post hoc testi olarak LSD (Fisher's Least significant different test) testi kullanılmıştır.

## BULGULAR

Çalışmamızda, *B. hominis* üzerine in vitro ortamda 5 farklı ilacın, 5 farklı konsantrasyondaki (100, 50, 25, 12.5 ve 6 µg/ml) etkileri araştırılmıştır. 100, 50, 25, 12.5 ve 6 µg/ml konsantrasyonlardaki her bir ilacın denendiği besiyeri için söz konusu saatlerdeki üreme sonuçları ve istatistiksel yöntemlerle yapılan değerlendirmeler Tablo I-V ve Şekil 1-5'de gösterilmiştir.

100 µg/ml de kullanılan ilaçların etkileri saatlere göre karşılaştırıldığında; 36. saatte *B. hominis* üzerine en etkin ilacın ornidazol olduğu bunu metronidazol ve azitromisin'in izlediği gözlenmiş ve bu ilaçlarla trimetoprim-sülfametaksazol (TMP-SMX) ve itrokonazol arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptanmıştır ( $p < 0.05$ , F: 6.528). 48. saatte, ornidazol ve metronidazol'un daha etkili olduğu ve bu ilaçlarla TMP-SMX arasındaki farkın

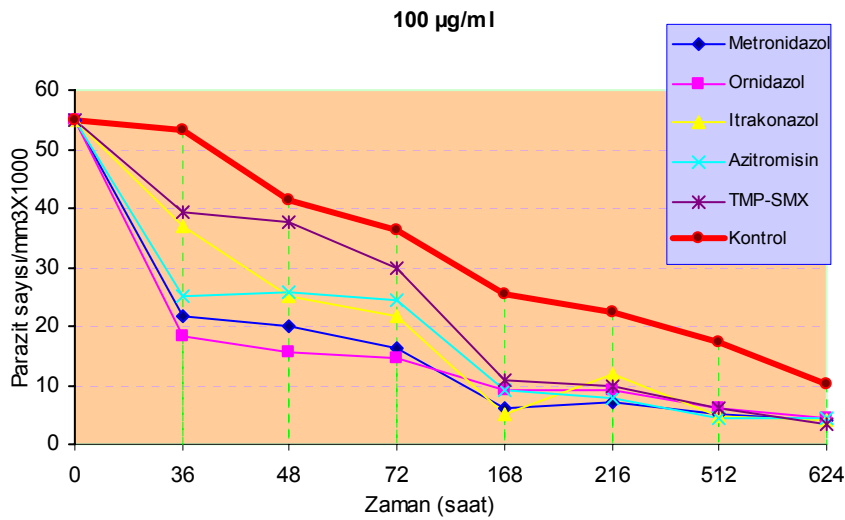
istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulunmuştur ( $p<0.05$ , F: 4.028). 72. saatte ise ornidazol ve metronidazol'un diğerlerinden daha etkili olduğu bulunurken, bu ilaçlarla TMP-SMX ve azitromisin arasında istatistiksel olarak farkın anlamlı olduğu ve aynı zamanda TMP-SMX ve itrakonazol arasında da istatistiksel olarak anlamlı bir farkın olduğu saptanmıştır ( $p<0.05$ , F: 6.331). 168. saatte,

metronidazol ile itrakonazol'un etkili olduğu saptanırken, metronidazol ile TMP-SMX arasında, itrakonazol ile azitromisin ve TMP-SMX arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulunmuştur ( $p<0.05$ , F: 3.664). 168. saatten sonraki saatlerde ilaçların etkileri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır.

**Tablo I.** 100 µg/ml konsantrasyondaki ilaçların *B. hominis* üzerine etkilerinin saatlere göre karşılaştırılması (S1,2,3=Seri 1,2,3)

Saat	Metronidazol			Ornidazol			Itrakonazol			Azitromisin			TMP-SMX			Kontrol
	S1	S2	S3	S1	S2	S3	S1	S2	S3	S1	S2	S3	S1	S2	S3	
36	23	25	17	12	18	25	35	39	37	21	17	37	38	35	45	53,1
48	24	21	15	11	15	21	40	14	21	23	24	30	38	34	41	41,3
72	16	19	14	12	15	17	25	20	20	23	22	28	22	30	37	36,2
168	7	8	3	9	11	7	5	4	6	7	8	13	12	12	9	25,5
216	7	8	6	7	12	9	15	8	12	7	6	10	9	11	9	22,3
512	6	4	5	5	8	5	6	1	7	4	3	6	5	9	4	17,2
624	6	4	2	3	7	3	4	1	7	3	3	7	5	4	1	10,3

[36. saatte ( $p<0.05$ , F: 6.528), 48. saatte ( $p<0.05$ , F: 4.028), 72. saatte ( $p<0.05$ , F: 6.331), 168. saatte ( $p<0.05$ , F: 3.664)].



**Şekil 1.** 100 µg/ml konsantrasyondaki ilaçlar ve zamana göre parazit sayısı

İlaçlar 50 µg/ml konsantrasyonda kullanılarak *B. hominis* üzerine etkileri araştırılmıştır (Tablo II, Şekil 2).

50 µg/ml konsantrasyonda kullanılan ilaçların parazit üzerine etkileri kontrole göre kendi aralarında ve saatlere göre karşılaştırıldığında, yine

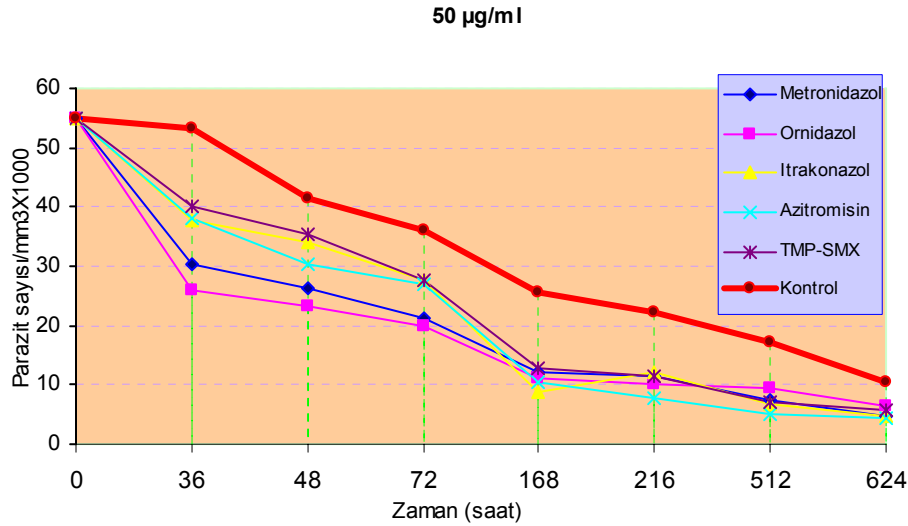
en etkili ilacın ornidazol olmasına rağmen, ilaçların etkileri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı saptanmıştır ( $p>0.05$ ).

İlaçlar 25 µg/ml konsantrasyonda kullanılarak *B. hominis* üzerine etkileri araştırılmış ve ornidazol ve metronidazol'un daha etkili olduğu saptanmıştır (Tablo III, Şekil 3).

**Tablo II.** 50 µg/ml konsantrasyonda uygulanan ilaçların *B. hominis* üzerine etkilerinin saatlere göre karşılaştırılması

Saat	<u>Metronidazol</u>			<u>Ornidazol</u>			<u>Itrakonazol</u>			<u>Azitromisin</u>			<u>TMP-SMX</u>			Kontrol
	S1	S2	S3	S1	S2	S3	S1	S2	S3	S1	S2	S3	S1	S2	S3	
36	33	32	26	23	28	27	40	38	35	45	29	40	51	30	39	53,1
48	28	27	24	23	24	23	36	37	29	41	21	29	44	26	36	41,3
72	17	26	21	25	20	15	30	30	23	30	27	24	30	26	27	36,2
168	12	11	13	15	10	8	8	9	9	8	9	14	10	13	15	25,5
216	12	10	12	15	9	6	11	13	12	6	6	11	11	11	12	22,3
512	13	4	5	15	9	4	5	6	9	4	3	8	7	8	6	17,2
624	6	4	4	8	8	3	1	7	6	5	2	6	6	8	3	10,3

[ ( $p>0.05$ ) ]



**Şekil 2.** 50 µg/ml konsantrasyonda uygulanan ilaçlar ve zamana göre parazit sayısı

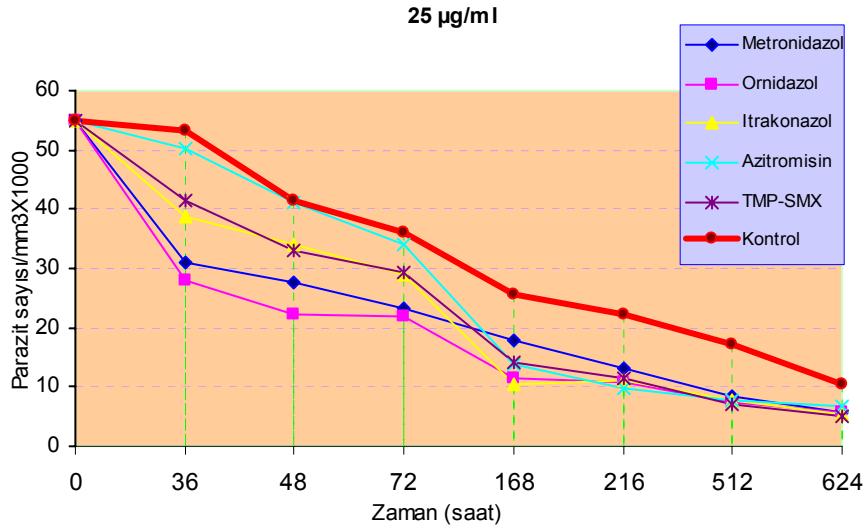
25 µg/ml da kullanılan ilaçların etkileri saatlere göre araştırıldığında; 36. saatte, ornidazol, metronidazol daha etkili olduğu gözlenirken bu ilaçlarla en az etkili olan azitromisin arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farkın bulunduğu

saptanmıştır ( $p < 0.05$ , F: 3.745). 36. saatten sonraki saatlerde ilaçların etkileri arasında bazı farklılıklar olmasına rağmen bu farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görülmüştür.

**Tablo III.** 25 µg/ml konsantrasyonda uygulanan ilaçların *B. hominis* üzerine etkilerinin saatlere göre karşılaştırılması

Saat	Metronidazol			Ornidazol			Itrakonazol			Azitromisin			TMP-SMX			Kontrol
	S1	S2	S3	S1	S2	S3	S1	S2	S3	S1	S2	S3	S1	S2	S3	
36	32	34	27	29	31	24	40	30	46	47	54	50	34	32	58	53,1
48	25	31	27	26	27	20	32	25	45	42	40	41	40	37	22	41,3
72	20	30	20	23	22	21	24	27	36	27	37	38	35	32	21	36,2
168	21	19	13	10	16	8	7	9	15	14	13	14	11	15	17	25,5
216	12	15	12	10	14	8	12	9	12	11	6	12	9	10	15	22,3
512	7	10	8	8	10	4	7	6	10	8	4	11	6	4	11	17,2
624	5	2	8	8	7	2	5	2	9	4	5	11	6	3	6	10,3

[36. saatte ( $p < 0.05$ , F: 3.745)]



**Şekil 3.** 25 µg/ml konsantrasyonda uygulanan ilaçlar ve zamana göre parazit sayısı

12,5 µg/ml konsantrasyonda kullanıldığında, *B. hominis* üzerine ornidazol ve metronidazol'un daha etkili olduğu saptanmıştır (Tablo IV, Şekil 4).

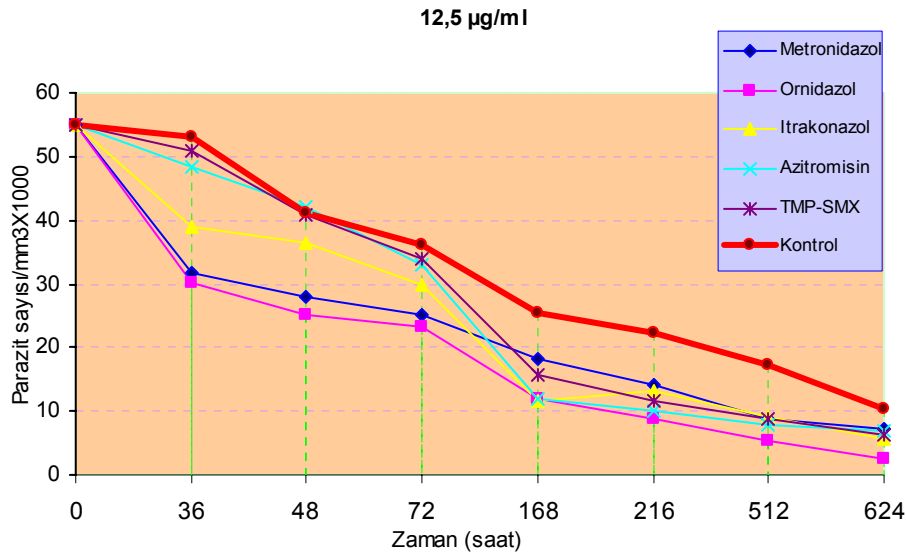
12,5 µg/ml da kullanılan ilaçların etkileri saatlere göre karşılaştırıldığında; 36. saatte daha etkili olan

ilaçların ornidazol ve metronidazol olduğu, bu ilaçlarla daha az etkili olan azitromisin ve TMP-SMX arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptanmıştır ( $p < 0.05$ , F: 4.039). 36. saatten sonraki saatlerde ilaçların etkileri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır.

**Tablo IV.** 12,5 µg/ml konsantrasyonda uygulanan ilaçların *B. hominis* üzerine etkilerinin saatlere göre karşılaştırılması

Saat	Metronidazol			Ornidazol			Itrakonazol			Azitromisin			TMP-SMX			Kontrol
	S1	S2	S3	S1	S2	S3	S1	S2	S3	S1	S2	S3	S1	S2	S3	
36	33	37	25	36	31	24	48	45	24	41	53	51	45	50	58	53,1
48	29	32	23	28	27	20	46	40	23	36	44	46	48	32	42	41,3
72	24	31	20	27	28	15	33	34	22	26	30	43	33	34	35	36,2
168	14	20	21	13	15	8	13	9	13	11	10	15	12	14	21	25,5
216	14	18	10	6	13	7	14	9	17	10	6	14	13	8	14	22,3
512	6	11	9	4	8	4	11	3	13	8	4	12	11	4	11	17,2
624	5	10	7	4	2	2	5	2	10	7	4	10	11	3	5	10,3

[36. saatte ( $p < 0.05$ , F: 4.039)]



**Şekil 4.** 12,5 µg/ml konsantrasyonda uygulanan ilaçlar ve zamana göre parazit sayısı

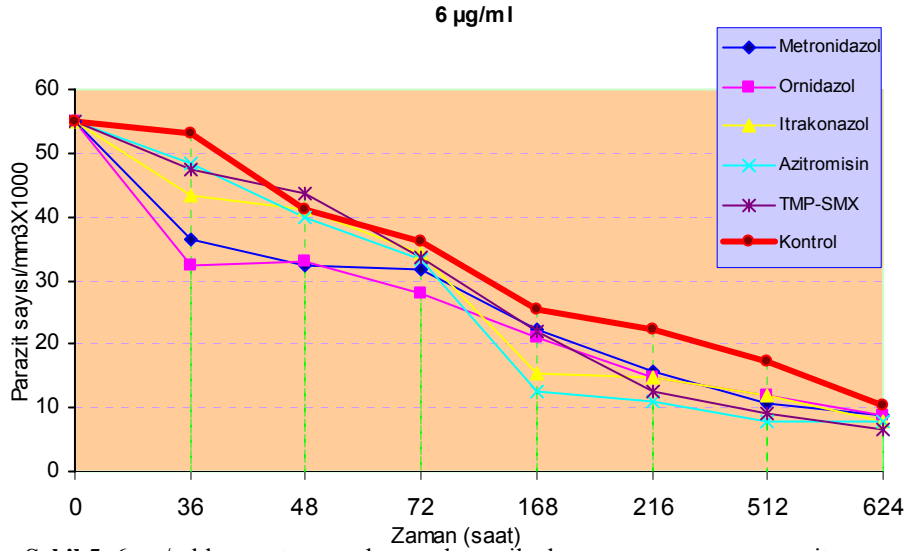
İlaçlar 6 µg/ml konsantrasyonda kullanılarak *B. hominis* üzerine etkileri araştırılmıştır ve burada en etkili ilacın ornidazol olduğu saptanmıştır (Tablo V, Şekil 5).

6 µg/ml da kullanılan ilaçların etkileri saatlere göre araştırıldığında 168. saatte ornidazol ve metronidazol'un diğerlerinden daha etkili olduğu ve istatistiksel olarak aralarında önemli bir farkın bulunduğu saptanmıştır ( $p<0.05$ , F: 6.572).

**Tablo V.** 6 µg/ml konsantrasyonda uygulanan ilaçların *B. hominis* üzerine etkilerinin saatlere göre karşılaştırılması

Saat	<u>Metronidazol</u>			<u>Ornidazol</u>			<u>Itrakonazol</u>			<u>Azitromisin</u>			<u>TMP-SMX</u>			Kontrol
	S1	S2	S3	S1	S2	S3	S1	S2	S3	S1	S2	S3	S1	S2	S3	
36	38	35	36	30	34	33	44	34	52	56	35	54	61	50	31	53,1
48	38	34	25	32	34	33	41	32	50	46	25	49	54	42	34	41,3
72	38	32	25	31	25	28	35	24	44	36	22	42	36	36	29	36,2
168	25	23	19	20	25	18	14	14	18	13	9	16	24	22	20	25,5
216	13	15	19	14	16	14	11	15	18	13	7	13	13	16	9	22,3
512	6	13	13	13	12	11	10	11	15	12	3	9	8	12	7	17,2
624	3	13	10	7	9	10	4	6	13	10	4	9	3	11	6	10,3

[168. saatte ( $p<0.05$ , F: 6.572)]



**Şekil 5.** 6 µg/ml konsantrasyonda uygulanan ilaçlar ve zamana göre parazit sayısı

## TARTIŞMA

*Blastocystis hominis* üzerine yapılan araştırmaların büyük bir bölümünde parazitin patojenitesi tartışılmakta ve birçok araştırıcı etkenin patojen olduğunu savunmaktadır (6,9-12).

Zierdt ve ark. (12), in vitro ortamda antiprotozoal ilaçların *B. hominis*'e karşı etkisini araştırmışlardır. Çalışmada, 72 saatte parazit sayısını 50-100 kat azaltan inhibitör ilaçların emetin, metronidazol, furazilidon, trimethoprim-sülfametaksazol, Entero-vioform ve pentamidin olduğunu, 5-50 kat düşüren orta derecede inhibitör ilaçların iodoquinol, chloroquin olduğunu, 5 kattan daha az oranda azaltan non-inhibitör ilaçların diloxanide furoate ve paromomycin sülfat olduğunu belirtilmiştir.

Dunn ve ark. (6), yaptıkları çalışmada *B. hominis*'i aksenik kültürde üretmişler ve in vitro ortamda çeşitli ilaçların etkinliğini kalitatif olarak değerlendirmişlerdir. Çalışmada 5-nitroimidazol içerikli 12 adet ilacın sekiz tanesinin iyi aktivite gösterdiğini belirlemişler ve stranidazol, S750400A, flunidazol ve ronidazol'un metronidazol'den daha etkili olduğunu saptamışlardır. Çalışmada, ilaçlar etki sırasına göre; emetin, satranidazol, furazilidon, quinacrin, metronidazol, ornidazol, tinidazol, trimethoprim, enterovioform, ketokonazol, amfoterisin ve iodoquinol olarak sıralanmıştır.

Vdovenko ve ark. (10), yaptıkları çalışmada, *B. hominis*'i monofazik Robinson besiyerinde üretmişler ve farklı konsantrasyonlarda (100, 50, 25, 12.5 ve 6 µg/ml) antiprotozoal ilaçların *B. hominis* üzerine etkisini araştırmışlardır. Çalışmada; trimethoprim, deacetyl-nitazoxanid, nitazoxanid, metronidazol, quinacrin ve tetrasiklin'in *B. hominis* üzerine etkili olduğu, sülfametaksazol ve chloroquine'in ise etkisiz olduğu saptanmıştır. Çalışmada aynı zamanda iki yeni antiprotozoal ilaç olan deacetyl-nitazoxanid ve nitazoxanid *B. hominis* üzerine etkili oldukları fakat nitazoxanid'nin deacetyl-nitazoxanid'den daha etkili olduğunu saptamışlardır.

Yaptığımız çalışmada, Robinson besiyeri kullanılarak in vitro ortamda ornidazol, metronidazol, azitromisin, itrakonazol ve TMP-SMX'ün 5 farklı konsantrasyonda (100, 50, 25, 12.5 ve 6 µg/ml) *B. hominis* üzerine etkileri saatlere ve kontrollere göre karşılaştırıldığında, özellikle 100 µg/ml konsantrasyonda ornidazol ve metronidazol'un diğer ilaçlara göre daha etkili olduğu ve diğer ilaçlarla aralarındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptanmıştır ( $p<0,005$ ). Etki bakımında bu iki ilacı sırasıyla azitromisin, itrakonazol ve TMP-SMX'in izlendiği saptanmıştır. Elde ettiğimiz bu sonuçlar diğer bir çok araştırmacının sonuçlarıyla uyumluluk gösterirken (6,10), bazı araştırmacıların sonuçlarıyla farklılık arz etmektedir (9,12). Bu farklılık, Haresh ve arkadaşlarının da (11) iddia ettiği gibi farklı coğrafik bölgelerde bulunan *B. hominis*'in farklı izolatlarının olabileceği, bundan dolayı da ilaçlara karşı duyarlılığın değişebileceğini düşündürmektedir.

Sonuç olarak; *B. hominis* üzerine çeşitli ilaçların in vitro etkilerinin araştırıldığı bu çalışmada, en etkili ilaçların ornidazol ve metronidazol olduğu ve bunları sırasıyla azitromisin, itrakonazol ve TMP-SMX'in izlediği saptanmıştır. In vitro etkileri araştırılan ve parazit üzerine etkili olarak bulunan bu ilaçların in vitro ve in vivo etkilerinin yapılacak başka çalışmalarla desteklenmesinin önemli olduğu düşünülmektedir.

## KAYNAKLAR

1. Garcia LS, Bruckner DA. Diagnostic Medical Parasitology. Third Edition In: Intestinal Protozoa Amebae. Third Edition American Society for Microbiology, DC Press, Washington 1997, 25-30.
2. Zierdt CH. Taxonomic status of *Blastocystis hominis*: Reply. Parazitol Today. 1993, 9:18.
3. Boreham PFL and Stenzel DJ. *Blastocystis* in humans and animals: morphology, biology and epizootiology. Adv. Parasitol 1993, 32: 1-70.



4. Zierdt CH. *Blastocystis hominis* past and future. *Clin Microbiol Rev* 1991; 4: 61-79.
5. Stenzel DJ, Boreham PFL and McDougall R. Ultrastructure of *Blastocystis hominis* in human stool samples. *Int J Parasitol* 1991, 21: 807-812.
6. Dunn LA and Boreham PFL. The In vitro activity of drugs against *Blastocystis hominis*. *J Antimicrobial Chemotherapy* 1991, 27: 507-516.
7. El Masry NA, Bassily SB, Farid Z, Mansour NS, Sabry AG and Kilpatrick ME. *Blastocystis hominis* eradication therapy for a probable pathogen. *Am J Trop Med Hyg* 1991, 45: 95-96.
8. Zaki M, Daoud AS, Augh RNH, Al- Ali F, Al-Mutairi G and Al- Salch Q. Clinical report of *Blastocystis hominis* infection in children. *J Trop Med Hyg* 1991, 94: 118-122.
9. Ok ÜZ, Girginkardeş N, Balçioğlu C, Ertan P, Pirildar T and Kilimcioğlu AA. Effect of Trimethoprim-Sulfamethaxazole in *Blastocystis hominis* Infection. *The American J Gastroenterol* 1999, 94(11): 3245-3247.
10. Vdovenko AA and Williams JE. *Blastocystis hominis*: neutral red supravital staining and its application to in-vitro drug sensitivity testing. *Parasitol Res* 2000, 86: 573-581.
11. Haresh K, Suresh K, Anuar KA and Saminathan S. Isolate resistance of *Blastocystis hominis* to metronidazole. *Trop Med Int Health* 1999,4: 274-277
12. Zierdt CH, Swan JC and Hosseini J. In-vitro response of *Blastocystis hominis* to antiprotozoal drugs. *J Protozool* 1983, 30(2): 332-334.