



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO NORTE**  
**CENTRO DE BIOCÊNCIAS**  
**CURSO DE BIOMEDICINA**

**BRUNA BEZERRA DE OLIVEIRA**

**MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO PARA ESTRONGILOIDÍASE HUMANA: UMA  
REVISÃO LITERÁRIA**

NATAL- RN

JUNHO, 2019

MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO PARA ESTRONGILOIDÍASE HUMANA: UMA  
REVISÃO LITERÁRIA

POR

BRUNA BEZERRA DE OLIVEIRA

Trabalho de Conclusão de Curso  
apresentado à Universidade  
Federal do Rio Grande do Norte,  
Como Requisito Parcial à  
Obtenção do Título De Bacharel  
em Biomedicina.

Orientador (a): Profa. Dra. Louisianny Guerra da Rocha

Natal  
JUNHO, 2019

Universidade Federal do Rio Grande do Norte - UFRN  
Sistema de Bibliotecas - SISBI  
Catalogação de Publicação na Fonte. UFRN - Biblioteca Central Zila Mamede

Oliveira, Bruna Bezerra de.

Métodos de diagnóstico de estrogiloidíase humana: uma revisão literária / Bruna Bezerra de Oliveira. - 2019.

43 f.: il.

Monografia (graduação) - Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Centro de Biociências, Curso de Biomedicina, Natal, RN, 2019.

Orientadora: Profa. Dra. Louisianny Guerra da Rocha.

1. Doenças parasitárias - Monografia. 2. Strongyloides stercoralis - Monografia. 3. Diagnóstico - Monografia. 4. Estrogiloidíase - Monografia. I. Rocha, Louisianny Guerra da. II. Título.

RN/UF/BCZM

CDU 616.99



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO NORTE**  
**CENTRO DE BIOCÊNCIAS**  
**CURSO DE BIOMEDICINA**

**Trabalho de Conclusão de Curso:**

Métodos de Diagnóstico para Estrongiloidíase Humana: Uma Revisão Literária, elaborada por Bruna Bezerra de Oliveira e aprovada por todos os membros da Banca examinadora, aceita pelo curso de Biomedicina e homologada pelos membros da banca, como requisito parcial à obtenção do título de:

**BACHAREL EM BIOMEDICINA**

Natal, 05 de JUNHO de 2019

**BANCA EXAMINADORA**

---

Profa. Dra. Louisianny Guerra da Rocha

(Departamento de Microbiologia e Parasitologia da UFRN - DMP)

---

Profa. Dra. Cecília Maria Carvalho Xavier Holanda

(Departamento de Microbiologia e Parasitologia da UFRN – DMP)

---

Profa. Ms. Roseane Pereira da Silva (Examinador Externo)

## **AGRADECIMENTOS**

A agradeço a Deus por minha vida, por ter mantido minha fé para conseguir vencer barreiras até o presente momento, por estar comigo nos momentos mais difíceis durante esta graduação.

Aos meus pais, que mesmo diante de todas as dificuldades não abriram mão dos meus estudos, fazendo o possível e muitas das vezes o que seria impossível para aqueles que não acreditavam no meu desempenho. Agradeço a educação e esforço que tiveram para me tornar essa mulher. Ao meu esposo que se manteve ao meu lado nos momentos mais difíceis e continua me apoiando e me incentivando na carreira acadêmica. Além de acreditar que sou capaz, está sempre ao meu lado, não permitindo que desistisse dos meus sonhos e objetivos.

À minha orientadora Profa. Dra. Louisianny Guerra, da Rocha, pelo auxílio e apoio, em seu precioso tempo, pelas suas palavras de autoestima, ensinamento como humildade e paciência, direcionando o melhor caminho a ser trilhado com alegria e não esquecendo os princípios, para que este trabalho fosse concluído.

À Universidade Federal do Rio Grande do Norte, por proporcionar oportunidades no âmbito acadêmico, ao qual concluo a graduação em Biomedicina, ao corpo docente desta instituição que contribui com seus conhecimentos e experiências profissionais diretamente e indiretamente, para o crescimento intelectual.

Aos meus colegas de turma que fizeram presentes todos os dias desta graduação, onde unimos nosso sonho em comum para vencer nossos obstáculos diários. É graças a eles que superamos as nossas dificuldades interpessoais e estamos crescendo cada dia mais fortes.

## RESUMO

O *Strongyloides stercoralis* é um nematoide considerado uma das maiores espécies de importância clínica para o homem, devido a sua prevalência, responsável pela estrogiloidíase humana, e possui um amplo espectro de manifestações clínicas. Apresenta quadros assintomáticos, demonstrando estados clínicos como agudo, crônico e podendo evoluir para uma hiperinfecção. A forma mais severa da doença é conhecida como estrogiloidíase disseminada e, em pacientes imunossuprimidos, pode ser fatal. O diagnóstico da estrogiloidíase é desafiador, uma vez que é conduzido por suspeitas clínicas e epidemiológicas. Neste trabalho foi feita uma breve abordagem sobre os métodos de diagnóstico laboratorial para a estrogiloidíase humana entre o período de 2001 a 2019. Os resultados obtidos apontam que o diagnóstico parasitário ainda é realizado rotineiramente através de pesquisas das larvas nas fezes, porém quando sua eliminação é mínima e irregular torna os métodos laboratoriais rotineiros, inespecíficos e pouco sensíveis. Em razão disto, tem sido investido em diferentes métodos de diagnóstico para essa doença, visando o aumento da sensibilidade e especificidade. Os procedimentos laboratoriais que podem ser utilizados são os diretos, que concentram as larvas de *S. stercoralis*, tais como a técnica de Hoffmann, Pons e Janer (HPJ), o método de Baermann-Moraes, o de Rugai, a Coprocultura em placa de ágar sangue e o método de Harada-Mori. Os métodos indiretos incluem a reação em cadeia de polimerase (PCR), ensaios sorológicos como o ensaio imunoenzimático indireto (ELISA) e a reação de imunofluorescência indireta (RIFI). Diante das informações adquiridas se pode concluir que os métodos que utilizam amostras sorológicas são mais sensíveis e específicos quando comparados com as técnicas que utilizam amostras fecais. A PCR por sua vez, é uma das técnicas que utiliza fezes para sua realização e possui uma alta sensibilidade de detecção da presença do parasita, principalmente em infecções recentes.

**Palavras chaves:** Doenças Parasitárias, *Strongyloides stercoralis*, Diagnóstico, Estrogiloidíase.

## ABSTRACT

*Strongyloides stercoralis* is a nematode considered to be one of the largest species of clinical importance to humans because of its prevalence, responsible for human strongyloidiasis, and has a broad spectrum of clinical manifestations. It presents asymptomatic pictures, demonstrating clinical states as acute, chronic and may progress to hyperinfection. The most severe form of the disease is known as disseminated strongyloidiasis and, in immunosuppressed patients, can be fatal. The diagnosis of strongyloidiasis is challenging as it is driven by clinical and epidemiological suspicions. In this work, a brief approach was given to laboratory diagnostic methods for human strongyloidiasis between 2001 and 2019. The results obtained indicate that the parasitic diagnosis is still routinely performed through fecal larvae research, but when its elimination is minimal and irregular, makes routine laboratory methods non-specific and non-sensitive. Because of this, it has been invested in different diagnostic methods for this disease, aiming to increase sensitivity and specificity. The laboratory procedures that can be used are the direct ones, which concentrate the larvae of *S. stercoralis*, such as the Hoffmann, Pons and Janer (HPJ) technique, the Baermann-Moraes method, the Rugai method, the Coproculture plaque blood agar and the Harada-Mori method. Indirect methods include polymerase chain reaction (PCR), serological assays such as indirect enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) and indirect immunofluorescence (IFN). Based on the information acquired, it can be concluded that the methods using serological samples are more sensitive and specific when compared to the techniques that use faecal samples. PCR, in turn, is one of the techniques that uses feces for its accomplishment and has a high sensitivity of detection of the presence of the parasite, mainly in recent infections.

**Keywords:** Parasitic Diseases, *Strongyloides stercoralis*, diagnostic, strongyloidiasis.

## LISTA DE ABREVIATURAS

DTNs	Doenças Tropicais Negligenciadas
PCR	Reação em Cadeia da Polimerase
WGO	Organização Mundial de Gastroenterologia
ELISA	Ensaio Imunoenzimático Indireto
RIFI	Reação de Imunofluorescência indireta
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
AIDS	Síndrome da Imunodeficiência Adquirida
HPJ	Hoffmann, Pons e Janer



## LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Ovos de *Strongyloides stercoralis*

Figura 2: Larva rabditóide de *Strongyloides stercoralis*

Figura 3: Extremidade anterior da larva rabditóide de *Strongyloides stercoralis*

Figura 4: Larva filarióide de *Strongyloides stercoralis*

Figura 5: Cauda entalhada da larva filarióide de *Strongyloides. stercoralis*

Figura 6: Ciclo de vida de *Strongyloides stercoralis*

Figura 7. Cordão eritematoso de larva *currens*

Figura 8: Funil do método de Baermann-Moraes

Figura 9: Método de Rugai

Figura 10: Cultura de larvas de *S. stercoralis* em ágar sangue com 24 horas

Figura 11: Cultura de larvas de *S. stercoralis* em ágar sangue com 48 horas

Figura 12. Método de Harada-Mori.

Figura 13. Esquema de comparação dos métodos de diagnóstico.

## **LISTA DE TABELAS**

Tabela 1. Tratamento de estrogiloidíase humana.

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	<b>12</b>
<b>2. OBJETIVOS</b> .....	<b>14</b>
2.1 Objetivos gerais .....	14
2.2 Objetivos específicos .....	14
<b>3 MATERIAS E MÉTODOS</b> .....	<b>15</b>
3.1 Tipo de estudo .....	15
3.2 Obtenção dos dados .....	15
<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>16</b>
4.1 Aspectos gerais de Strongyloides stercoralis e a Estrongiloidíase Humana... 16	
4.1.1 Histórico .....	16
4.1.2 Morfologia .....	16
4.1.3 Ciclo evolutivo.....	18
4.1.4 Transmissão .....	20
4.1.5 Epidemiologia .....	22
4.2 Estrongiloidíase Humana .....	23
4.2.1 Tratamento.....	25
4.2.2 Medidas Preventivas.....	26
4.3 Diagnóstico de Estrongiloidíase Humana acrescentar métodos .....	27
4.3.1 Técnica de Hoffman, Pons e Janer (HPJ).....	28
4.3.2 Método de Baermann- Moraes .....	30
4.3.3 Método de Rugai.....	31
4.3.3 Método da Placa de Ágar sangue.....	32
4.3.4 Método de Harada- Mori .....	33
4.3.4 Métodos Imunológicos .....	33
4.3.5 Biologia molecular.....	36
4.3.5.1 Western Blotting .....	36
4.3.5.2 Reação em Cadeia de polimerase (PCR).....	36
<b>5. CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	<b>38</b>
<b>6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	<b>40</b>

## 1. INTRODUÇÃO

Estima-se que infecções causadas por agentes parasitários ainda no século XXI, possam causar 30 a 100 milhões de casos ao redor de todo mundo, sendo as crianças a maior parte da população afetada (SANTANA et al., 2017). Sem dúvida no Brasil as doenças parasitárias são as principais causas de grandes problemas de saúde pública, principalmente em habitantes de regiões em que possuem condições de saneamento básico precário ou até mesmo inexistente (MELLO et al., 2013). Essas doenças fazem parte do grupo de Doenças Tropicais Negligenciadas (DTNs), que afeta diretamente a população de condições socioeconômicas baixas, que vivem em áreas remotas, rurais, comunidades urbanas ou em zonas de conflito (HOTTEZ et al., 2009).

Os agentes causadores de doenças parasitárias estão diretamente relacionados e podem interagir entre si. Dessa forma, diversos fatores podem propiciar seu desenvolvimento, tais como: condições ambientais que podem incluir um clima tropical, favorecendo a disseminação de parasitoses intestinais em que a população se encontra, alimentação, fatores socioculturais, contatos com animais, ausência de saneamento básico, higienização precária e idade do hospedeiro são preocupantes para o desenvolvimento (MUNOZ et al 2012).

Diante das situações socioeconômicas existe um ciclo de pobreza e doença, onde a pobreza leva a população a morar em condições de precariedade, sem bens e serviços, sem alimentação adequada, o que leva a uma fragilidade e a torna mais suscetível a doenças. Os elementos básicos da cadeia de transmissão das doenças infecciosas e parasitárias são, os agentes etiológicos, hospedeiros e o ambiente. O agente infeccioso é um ser vivo que ao reconhecer seu hospedeiro, desenvolver-se, multiplicar-se e buscar novos hospedeiros. O hospedeiro em questão pode ser o homem ou um animal, sempre exposto aos microrganismos. E o ambiente por sua vez ocupa o papel de disseminar as doenças parasitárias ao homem ou animal (MUNOZ et al 2012).

Embora apresentem baixas taxas de mortalidade, as infecções parasitárias ainda continuam representando um significativo problema de saúde pública, haja vista o

grande número de indivíduos infectados e as várias alterações orgânicas que podem provocar inclusive sobre o estado nutricional (PRADO, M.L.E et al., 2010).

Uma das parasitoses que se encaixa no perfil de enteroparasitoses negligenciada em alguns países é a estrogiloidíase humana causada por um nematelminto intestinal denominado *Strongyloides stercoralis*, considerado uma das maiores espécies de importância clínica para o homem. Devido seu ciclo evolutivo ser peculiar, e dependendo do estado imunológico do paciente a sua sintomatologia pode ser ausente, tornado o diagnóstico extremamente difícil de ser realizado (PITTELLA, 2013)

O diagnóstico precoce das enteroparasitoses é importante devido aos danos causados ao hospedeiro, os quais podem ser evitados quando detectados laboratorialmente por exames coproparasitológicos. Nos últimos anos tem se investido em métodos de diagnósticos parasitológicos com intuito de facilitar esta investigação e assim realizar tratamentos adequados para cada quadro clínico (LODO et al., 2010).

Diante disso, observou-se a necessidade de relatar informações sobre os aperfeiçoamentos dos métodos já existentes para o diagnóstico de estrogiloidíase, visando descrever suas vantagens, desvantagens, sensibilidade e especificidade, além de mencionar as inovações no âmbito da biologia molecular.

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivos gerais**

Este trabalho teve como objetivo, realizar uma breve revisão da literatura através de bases de dados científicos sobre os métodos de diagnóstico para Estrongiloidíase Humana, visando descrever suas vantagens, desvantagens, sensibilidade e especificidade.

### **2.2 Objetivos específicos**

- Descrever os aspectos gerais do *Strongyloides stercoralis*;
- Realizar uma revisão bibliográfica sobre a Estrongiloidíase Humana desde sua epidemiologia, fisiopatologia da doença, medidas preventivas e tratamentos;
- Explanar os métodos existentes de diagnóstico da Estrongiloidíase Humana, discutindo as inovações dos métodos, relatando suas especificidades e sensibilidades;

### **3 MATERIAS E MÉTODOS**

#### **3.1 Tipo de estudo**

O presente estudo baseia-se em uma revisão literária que irá descrever sobre os métodos de diagnóstico da Estrongiloidíase Humana.

#### **3.2 Obtenção dos dados**

Para discorrer sobre os métodos de diagnóstico da estrongiloidíase, foram realizadas pesquisas em bases de dados científicos como as plataformas: *Pubmed*, *Google acadêmico*, *ScienceDirect* e *Scielo*, fazendo a utilização das palavras chaves em português e inglês. Após a consulta na plataforma *DeCs* foram escolhidas as seguintes palavras chaves em português: Doenças Parasitárias, *Strongyloides stercoralis*, diagnóstico e estrongiloidíase. Para a pesquisa em inglês foram utilizadas as palavras: *Parasitic Diseases*, *Strongyloides stercoralis*, *diagnostic and strongyloidiasis*.

A revisão literária teve como finalidade a utilização de dados entre os anos de 2001 a 2019. Foi realizada uma avaliação minuciosa dos artigos que tivessem a abordagem principal sobre *Strongyloides stercoralis*, estrongiloidíase e métodos de diagnósticos para essa doença, com suas características, utilizando informações relevantes e fundamentais para o desenvolvimento deste conteúdo.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Aspectos gerais de *Strongyloides stercoralis* e a Estrongiloidíase Humana

#### 4.1.1 Histórico

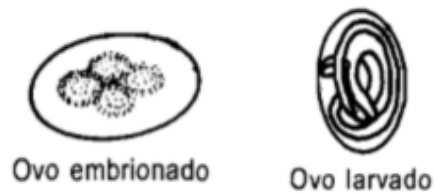
*Strongyloides stercoralis* foi descoberto pelo médico francês Louis Alexis Normand e descrito pelo farmacêutico Arthur René Jean Baptiste Bavay, em 1876. Ele se deparou com esta espécie ao analisar fezes de soldados de Toulon na França, que voltaram do Vietnã, apresentando uma diarreia intensa, conhecida durante anos como “diarreia da Cochinchina”, no sudeste da Ásia (TERASHIMA, 2011). Inicialmente Bavay denominou o nematoide como *Anguillula stercoralis*, recebendo o nome atual somente em 1902, quando o parasito foi caracterizado de forma completa (PITTELLA, 2013). Em 1880, no Brasil o *S. stercoralis* foi detectado e relatado pela primeira vez na cidade do Rio de Janeiro, por Ribeiro Cruz (ELIZABETE, 2011).

#### 4.1.2 Morfologia

*Strongyloides stercoralis* é um nematódeo classificado na Ordem Rhabditida, Família Strongyloididae e Gênero *Strongyloides spp.* Sua prevalência mundialmente se encontra nas regiões tropicais e subtropicais. As características morfológicas e morfométricas das formas parasitárias do agente são importantes para definição do diagnóstico. Os ovos apresentam uma casca fina (Figura 1), medem de 50-58 mm de comprimento por 33-34 mm de largura e em seu interior são encontradas as larvas de primeiro estágio (larvas rhabditoides). Como as larvas eclodem muito rapidamente, é difícil encontrar ovos nas fezes de um indivíduo parasitado. As larvas rhabditoides medem aproximadamente 385 mm de comprimento por 21 mm de largura, possuem esôfago do tipo rhabditóide, estrutura que dá nome a larva, o qual é dividido em três partes: corpo, istmo e bulbo, e ocupa 25% do comprimento total do seu corpo. A larva rhabditóide apresenta ainda vestíbulo bucal curto, primórdio genital evidente e a extremidade posterior (cauda) termina abruptamente (Figuras 2 e 3). As larvas filarióide (L3) são originadas da diferenciação das larvas do segundo estágio (Figura 4). Tem em média 505 mm de comprimento por 15 mm de largura,



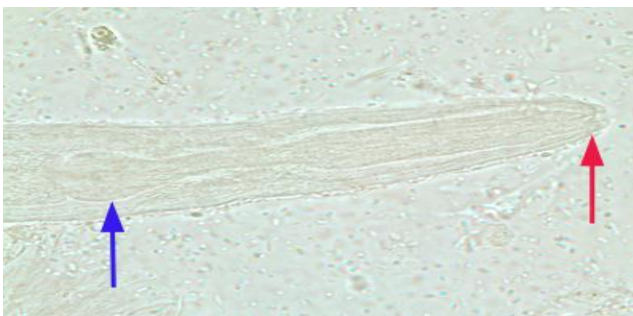
são mais finas e compridas do que as larvas rabditóides (L2). O esôfago é retilíneo e ocupa cerca de 40 a 45 % do tamanho da larva e a cauda apresenta a terminação bífida, conhecida como cauda entalhada (Figura 5) (ELIZABETE, 2011).



**Figura 1.** Ovos de *Strongyloides stercoralis*. Fonte: Livro de Parasitologia Humana, Neves, 2016. Imagem adaptada.



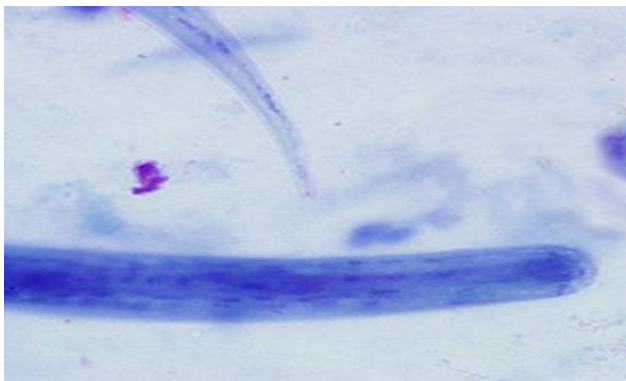
**Figura 2.** Larva rabditoide de *S. stercoralis*, em sedimento fecal. Observe o primórdio genital (seta vermelha). Fonte: Laboratório de identificação de parasitas de preocupação de saúde pública. Disponível em: <https://www.cdc.gov/dpdx/strongyloidiasis/index.html>



**Figura 3.** Extremidade anterior de uma larva rabditoide de *S. stercoralis*. Observe o canal bucal curto (Seta vermelha) e o esôfago rabditoide (Seta azul). Fonte: Laboratório de identificação de parasitas de preocupação de saúde pública. Disponível em: <https://www.cdc.gov/dpdx/strongyloidiasis/index.html>.



**Figura 4.** Larva filarióide de *S. stercoralis*. Fonte: Laboratório de identificação de parasitas de preocupação de saúde pública. Disponível em: <https://www.cdc.gov/dpdx/strongyloidiasis/index.html>.



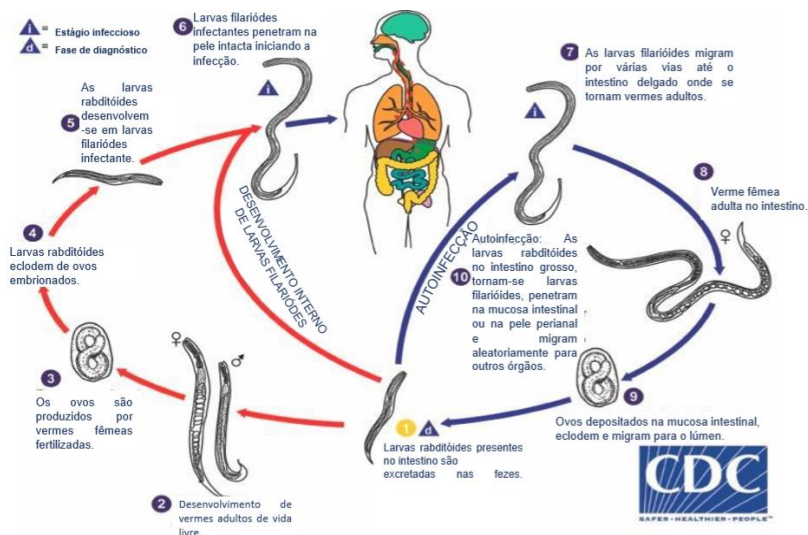
**Figura 5.** Cauda entalhada da larva filarióide de *S. stercoralis*. Fonte: Laboratório de identificação de parasitas de preocupação de saúde pública. Disponível em: <https://www.cdc.gov/dpdx/strongyloidiasis/index.html>

#### 4.1.3 Ciclo evolutivo

*S. stercoralis* é o principal agente etiológico da estrogiloidíase humana. Distingue-se entre os helmintos intestinais por vários fatores de sua biologia, tendo um impressionante pelo seu ciclo de vida, levando ao potencial de infecção ao longo da vida e capacidade para matar seu hospedeiro (Figura 6).

O ciclo de vida de *S. stercoralis* é peculiar, na medida em que inclui reprodução sexual no ambiente e multiplicação por partenogênese no hospedeiro vertebrado, onde apenas fêmeas adultas estão presentes no intestino (VINEY, 2017). As larvas rãbitóides eliminadas nas fezes do indivíduo parasitado podem seguir dois ciclos: (1) o de vida livre ou indireto (solo), (2) o ciclo patogênico ou direto (ser humano) (NEVES, 2016). Isto ocorre devido à constituição genética das fêmeas partenogenéticas parasitas, que são triploides (3n), e podem produzir, simultaneamente, três tipos de ovos, dando origem três tipos de larvas rãbitóides: 1) *larvas rãbitóides triploides* (3n) que se transformam em larvas filarióides

triploides infectantes, completando o ciclo direto; 2) *larvas rabditóides diplóides* (2n) que originam as fêmeas de vida livre; e 3) *larvas rabditóides haplóides* (1n) que evoluem para macho de vida livre, estas duas últimas completam um ciclo indireto (NEVES, 2016).



**Figura 6.** O ciclo de vida de *Strongyloides stercoralis*. Características distintas incluem (a) migração aleatória de larvas autoinfecção, (b) embrionados ovos escotilhas rapidamente a larvas rabditóides e (c) geração de vida livre adultos masculinos e femininos. Fonte: CDC DPDx: (<https://www.cdc.gov/dpdx/>), adaptada.

O seu ciclo de vida livre inicia-se quando as larvas rabditóides, que foram eliminadas nas fezes chegam ao meio externo e em condições favoráveis de temperatura, alta umidade, ausência de luz solar direta e de solo, continuam o ciclo. Essas larvas podem transformar-se em larvas filarióides infectantes (desenvolvimento direto), ou evoluírem para machos e fêmeas adultos de vida livre que iram se acasalar e produzir ovos dos quais nascem larvas rabditóides (WGO, 2018). Em condições ambientais desfavoráveis as larvas rabditóides podem morrer rapidamente ou retardar expressivamente o ciclo, especialmente sob baixas temperaturas. Essas larvas passam a se alimentar e sofrem duas ecdises. Após 24 horas a 36 horas se transformam em larvas filarióides infectantes. Estas não se alimentam, vivendo na dependência de reservas de glicogênio, permanecendo na superfície do solo por uma a três semanas e aguardando o momento de penetrar em algum novo hospedeiro. (PITTELLA, 2013).

O ciclo parasitário inicia-se por ação mecânica e química, onde as larvas filarióides infectantes que estavam presentes em solo contaminado, penetram na pele através dos espaços interdigitais dos pés, mas pode ocorrer em qualquer local que esteja exposto ao solo infectado, recebendo auxílio de enzimas proteolíticas que facilitam a entrada no tecido. No local de entrada, acarreta uma inflamação, eritema e exsudação, que pode infectar secundariamente. A erupção cutânea deste parasito se caracteriza por um trajeto irregular, que migra a uma taxa de cinco a 15 cm/h e é resultante de reações alérgicas devido às larvas estarem em movimento. Essas lesões dermatológicas podem durar horas ou dias, mas podem se repetir, se houver reinfecções. Além disso, o hospedeiro pode ser contaminado após a deglutição de alimentos contaminados. (PITTELLA, 2013).

O parasita secreta metaloproteases que auxiliam na penetração e na migração das larvas pelos tecidos, atingindo os pequenos vasos, sendo levados pela circulação venosa até o pulmão. Ao ganhar a circulação sistêmica, as larvas chegam até os capilares alveolares, aderem os alvéolos, bronquíolos, onde os movimentos do epitélio ciliado promovem seu transporte passivo junto com as secreções bronquiais, até a traqueia e a laringe (DILLARD et al., 2007; NEVES, 2016).

Durante essa migração, ocorre uma muda para o estágio L4 e nesse ponto podem ser expelidas com a secreção produzida ou ser deglutidas (ELIZABETE, 2011). Deslocando-se para o intestino delgado, alojam-se na mucosa intestinal, no duodeno. Mergulhadas nas glândulas de Lieberkluhn e na porção superior do jejuno, transformam-se em fêmeas partenogenéticas. Inicia-se então a oviposição, dando origem às larvas rabaditóides (RABELLO, 2011). Três a quatro semanas após a penetração das formas infectantes, o hospedeiro começa a eliminar as larvas através das fezes (NEVES, 2016).

#### **4.1.4 Transmissão**

Existem três principais formas de ocorrer infecção por *Strongyloides stercoralis*: a heteroinfecção, autoinfecção externa e autoinfecção interna. Na heteroinfecção, as larvas filarióides penetram através da pele do hospedeiro, podendo também apresentar penetração pelas mucosas oral, esofágica e gástrica.

As larvas filarióides infectantes contam com a ação de melanoproteases, que auxiliam tanto na penetração quanto na migração das larvas pelos tecidos. Na autoinfecção externa, as larvas rabditóides presentes na região perianal evoluem para a forma infectante através da pele (ANDRADE et al, 2010).

A autoinfecção interna é a principal forma de transmissão responsável pela manutenção da doença e pode levar ao desenvolvimento das formas graves, a hiperinfecção, onde se observou a elevação do número de parasitas no intestino e nos pulmões. Em algumas situações esse fenômeno pode evoluir para uma estrogiloidíase disseminada, onde ocorre uma aceleração do ciclo biológico do parasita e invasão pelas larvas filarióides, de órgãos como pele, sistema nervoso central (SNC), rins, fígado, com alta mobilidade. Essas situações ocorrem com maior frequência em indivíduos imunossuprimidos. (ANDRADE et al, 2010).

Em pacientes com o sistema imunológico debilitante, é fundamental que tanto o médico como o laboratório de microbiologia fiquem atentos ao crescimento de microrganismos que geralmente não são observados em culturas de pacientes imunocompetentes. Na estrogiloidíase disseminada, os parasitas podem ser encontrados em diferentes órgãos, incluindo SNC, fígado, coração, rins, próstata, apêndice, dentre outros. Tais condições são responsáveis por elevado índice de mortalidade (PITTELLA, 2013).

O auto contágio pode ser de maneira externa quando as larvas rabditóides sofrem transformações e originam larvas filarióides infectantes na região anal. As larvas podem então penetrar na mucosa da região perianal contaminada com fezes, e invadir a rede venosa e do ciclo pulmonar. A penetração de larvas na região perianal dá origem ao quadro clínico conhecido como "larvas currens", que é a migração das larvas pelo tecido cutâneo. (Figura 7). A autoinfecção interna se dá quando as condições locais do intestino propiciam a evolução do parasita na luz das porções delgadas e grossa, com invasão direta da mucosa por larvas que não saíram para o meio externo. Assim, uma falta de regulação desta autoinfecção acarretaria uma hiperinfecção com disseminação do parasito por diversos órgãos. (RABELLO, 2011).

#### 4.1.5 Epidemiologia

Informações epidemiológicas na estrogiloidíase são relativamente escassas e a doença é severamente subestimada devido á variabilidade da distribuição da doença mundialmente (SCHAR et al., 2013), sendo encontrada com maior intensidade em países de clima tropical (ANDRADE et al, 2010; MONTES et al, 2010). Nos últimos anos a prevalência de estrogiloidíase tem aumentado, particularmente na Europa Central, Oriental e Meridional, Ilhas do Caribe, Sudeste da Ásia, América Latina e África Subsaariana (COSTA, MA et al., 2014).

Nos países desenvolvidos, a infecção por *S. stercoralis* prevalece em agricultores, hortigranjeiros, trabalhadores rurais, imigrantes e os viajantes que visitam áreas endêmicas. Enquanto nos países em desenvolvimento, a prevalência coincidem com as áreas endêmicas, e a doença atinge principalmente crianças, pela frequente permanência em solos contaminados. Além da falta de higiene pessoal e fontes de água potável insuficiente (PUTHIYAKUNNON et al., 2014).

No Brasil, a estrogiloidíase é uma doença parasitária de grande importância em saúde pública, cujas taxas de infecção variam de acordo com as regiões (NEVES, 2014). Segunda a Organização Mundial de Gastroenterologia (WGO), existem aproximadamente 370 milhões de pessoas infectadas no mundo. Não há dados preciosos sobre a prevalência nos países onde seja endêmica, assim eles se tornam subestimados, uma vez que o métodos parasitários empregados para detecção de parasitos apresentam baixa sensibilidade e muitas vezes não são empregados, na rotina laboratorial (WGO,2018).

A estrogiloidíase está frequentemente subdiagnosticada, porque muitos casos são assintomáticos; além disso, os métodos utilizados carecem de sensibilidade. Assim, há uma necessidade urgente de melhorar o diagnóstico da estrogiloidíase, em particular, para o uso em áreas com pouca infraestrutura e recursos humanos qualificados e o desenvolvimento de estratégias de saúde pública para controlar a doença em nível mundial (WGO, 2018).

## 4.2 Estrongiloidíase Humana

A estrongiloidíase Humana é uma geohelmintose causada pelo *Strongyloides stercoralis*. (WGO, 2018). É frequentemente encontrada em viajantes e ex-veteranos de guerra, imigrantes, habitantes imunocomprometidos e pessoas expostas ao solo. A estrongiloidíase tem amplo espectro de manifestações que variam de doenças assintomáticas, agudas, crônicas até hiperinfecção que podem desenvolver a estrongiloidíase disseminada. Quadros clínicos graves desta infecção podem ser fatais para o indivíduo contaminado e imunossuprimido (VINEY E LOK, 2015).

As manifestações agudas da estrongiloidíase humana podem ocorrer precocemente desde o contato inicial, após a penetração das larvas filarióides na pele e da sua migração pelos tecidos. Os sintomas observados são: eritemas serpentinicos onde houve contato da larva com a pele, tosse mimetizando asma devido á migração da larva pelos pulmões, dor abdominal, diarreia aquosa, cólicas, inchaços abdominais e, em alguns casos, constipação, devido ao alojamento e maturação das larvas no intestino delgado. (SANTANA et al, 2017).

A estrongiloidíase crônica cursa de maneira assintomática ou oligossintomática. É caracterizada por não-específica, podendo variar entre as formas leves, moderadas ou graves. Sua forma leve geralmente é assintomática, enquanto a moderada e a grave apresentam manifestações com sintomas que envolvem o trato gastrintestinal, apresentando dores abdominais, vômitos intermitentes, desnutrição em crianças e adolescentes, causando retardo no crescimento, anorexia, diarréia e constipação intestinal, além de envolver o sistema respiratórios e áreas cutâneas, e causando principalmente a diminuição na resistência orgânica. (GREAVES et al., 2013; WGO,2018).



**Figura 7.** Cordão eritematoso de larva currens na região glútea de um paciente. Fonte: WGO, 2018.

O intenso parasitismo intestinal pode causar lesões mecânicas, como espessamento da parede intestinal, secundário a resposta inflamatória, podendo causar atrofia, ulcerações e conseqüentemente má absorção e diarreia. Este quadro pode evoluir para enteropatia perdedora de proteína, hipocalcemia e outros hidro eletrólitos (ELIZABETE, 2011).

Entre as manifestações cutâneas, podem surgir lesões que desaparecem em alguns dias sendo o mais característico, ou ainda, aparecer prurido intenso e reações inflamatórias. Como as larvas são geralmente encontradas no solo, é muito comum essas lesões estarem localizadas nos pés. (TIMON 2014.)

A estrogiloidíase geralmente cursa sem sintomas em indivíduos imunocompetentes, mas, em indivíduos com o sistema imunocomprometido como portadores de vírus da imunodeficiência adquirida, esta infecção pode se tornar fatal, devido a hiperinfecção e disseminação da doença. (ELIZABETE, .2011). Em pacientes imunocomprometidos, A exacerbação do ciclo de autoinfecção torna a infecção severa, onde as larvas invadem maciçamente a parede do intestino causando obstruções intestinais, íleo parálitico, insuficiência respiratória devido a presença das larvas nos pulmões (BENINCASA, 2007; DE BONA, 2008). A forma que se espalha para todos os órgãos e tecidos viscerais é conhecida como “estrogiloidíase disseminada” (ANSCHAU, 2013). Essa condição apresenta elevadas taxas de mortalidade devido os critérios de diagnósticos não serem específicos e os tratamentos com eficácia limitada (GREAVES et al., 2013). Desta forma a contribuição para o crescimento dessa taxa pode chegar a 87% e está frequentemente associada a infecções bacterianas secundárias (VINEY E LOK, 2015).



#### 4.2.1 Tratamento

O tratamento da estrogiloidíase é considerado difícil, pois diferente de outras infecções helmínticas, a carga do *Strongyloides stercoralis* deve ser erradicada completamente. Essa confirmação torna-se difícil devido à baixa carga do parasita e sua eliminação ser irregular (WGO, 2018).

Para se realizar o tratamento de estrogiloidíase humana é necessário realizar uma intervenção utilizando medicamentos adequados para o quadro clínico. Tendo em vista que o seu ciclo parasitário pode ocasionar autoinfecção, caso não seja tratado de maneira adequada. Diante disso devem-se tratar os pacientes com estrogiloidíase, mesmo aqueles que são assintomáticos, para evitar o risco de hiperinfecção, até mesmo uma complicação potencialmente mortal. Como qualquer outra infecção parasitária é necessário um diagnóstico confiável dos pacientes em risco para um correto reconhecimento e tratamento (WGO,2018).

Para realizar o tratamento são utilizados fármacos do grupo dos Benzimidazólicos, sendo eles o Tiabendazol, Cambendazol e Albendazol. Além desses a Ivermectina é empregado no tratamento específico da estrogiloidíase. (Tabela 1). O Mebendazol não é utilizado no tratamento de estrogiloidíase, pois não atua sobre o *S. stercoralis* como em outros parasitas (NEVES, 2016).

O Tiabendazol atua sobre a fêmea adulta, inibindo o desencadeamento das vias metabólicas do parasita. A sua eficácia é maior que 90%, demonstrando efeitos adversos como, náuseas, vômitos, diarreia, tonturas, cefaleias, sonolência e erupções cutâneas, que regridem ao final do tratamento (NEVES, 2016).

O Cambendazol, atua sobre as fêmeas adultas e sobre as larvas. Demonstra uma eficácia maior que 90%. Os efeitos adversos desse fármaco são raros, mas quando presentes são observados quadros de cólicas, náuseas, vômitos, diarreia e sonolência (NEVES, 2016).

O Albendazol, atua sobre as fêmeas e as larvas de *S. Stercoralis*. Esse medicamento possui uma variação de eficácia conforme as doses administradas. Doses de 400mg/ dia durante três dias, apresentam uma eficácia em torno de 50%, quando se administra uma dose de 800mg/ dia, no período de três dias, a sua

eficácia é maior que 90%. Esse fármaco não deve ser utilizado na forma disseminada. Apresenta como efeito adverso, cefaleia, tonturas e desconforto gastrointestinal (NEVES, 2016).

A Ivermectina foi uma droga utilizada inicialmente para tratamento veterinário, e posteriormente foi introduzida para o tratamento em humanos, compondo a lista das drogas essenciais para o tratamento de *S. stercoralis*. No tratamento de estrogiloidíase utilizando a Ivermectina é recomendado uma dose única oral apresentando uma eficácia acima de 80%. Em pacientes que se encontram com a forma severa da estrogiloidíase, como em pacientes com AIDS, é recomendado repetição das doses nos dias 1, 2, 15 e 16 de tratamento. A indicação de repetição do tratamento é devido á possibilidade de reinfecção ou de algumas fêmeas ainda sobreviverem propiciando a eliminação de larvas. Esse medicamento apresenta leves efeitos adversos, sendo observado, diarreia, anorexia e prurido (NEVES, 2016).

FÁRMACOS	TIABENDAZOL	CAMBENDAZOL	ALBENDAZOL	IVERMECTINA
Mecanismo de Ação	Fêmeas adultas.	Larvas e Fêmeas Adulta	Larvas e Fêmeas Adulta	Larvas e Fêmeas Adulta
Eficácia	90%	90%	Doses de 400mg – 50%; 800mg – 90%	80%
Efeitos Adversos	Náuseas, Vômitos, Diarreia, Tonturas, Cefaleias, Sonolência e erupções cutâneas;	Cólicas, náuseas, vômitos, diarreia e sonolência;	Cefaleia, tonturas e desconforto gastrointestinal;	Diarreia, anorexia e prurido;

Tabela 1. Tratamento para estrogiloidíase humana.

#### 4.2.2 Medidas Preventivas

A estrogiloidíase humana não é uma doença de notificação obrigatória e para minimizar a ocorrência do complexo ciclo de transmissão, as equipes de saúde das regiões endêmicas elaboram programas de controles adotando as medidas preconizadas para as geohelmintoses, ressaltando a atenção aos hábitos higiênicos principalmente a lavagem adequadas dos alimentos, utilização de calçados, educação e saneamento sanitário básico, além da melhoria da alimentação (NEVES, 2016). Realizar periodicamente consultas médicas para a realização de exames de rotina (SBI, 2019), para assim comprovar o diagnóstico e proceder ao tratamento específico de todos os indivíduos parasitados. Faz necessário o

tratamento também de paciente mesmo assintomático, bem como animais domésticos infectados, para a eliminação da fonte de infecções (NEVES, 2016).

### **4.3 Diagnóstico de Estrongiloidíase Humana acrescentar métodos**

O diagnóstico clínico da estrongiloidíase é presuntivo, sendo conduzido pela suspeita clínica e epidemiológica, porém os sinais e sintomas são inespecíficos e podem ser confundidos com outras enteroparasitoses. A tríade clássica de diarreia, dor abdominal e urticária é sugestiva e a eosinofilia e os achados radiográficos e sorológicos podem auxiliar na suspeita do diagnóstico (NEVES, 2016).

O diagnóstico laboratorial de estrongiloidíase possui suas dificuldades. Devido aos parasitas adultos habitarem o interior do tecido intestinal e não o lúmen, eles não são detectáveis nas fezes, apenas em biópsia ou, ocasionalmente, em aspirados duodenais. Assim como os parasitas adultos, as larvas filarióides são raramente vistas nas fezes, com exceção dos casos de hiperinfecção e de constipação intestinal e mais raro ainda é a eliminação de ovos, pois eles eclodem logo após a eliminação ainda no duodeno (LUNA et al., 2007). Por essa razão a eliminação de larvas é mínima e irregular. Assim, o diagnóstico desta infecção por exames parasitológicos torna-se extremamente difícil, e os métodos utilizados possuem baixa sensibilidade e especificidade (LEVENHAGEN MA et al., 2014; KEARNS et al., 2017).

O Diagnóstico de estrongiloidíase disseminada é dado através do alto índice de suspeitas clínicas, especialmente na presença de imunossupressão. Os sinais clínicos são inespecíficos, mas sintomas gastrintestinais ou pulmonares inexplicados em pacientes susceptíveis devem ser sinais de alerta, tais como dor e distensão abdominal, desconforto respiratório agudo, tosse, hemoptise, hipoxemia e choque são manifestações mais frequentes das formas disseminadas da doença. Sepsis por germes Gram-negativos pode ocorrer, pois o *S. stercoralis* facilita a translocação de enterobactérias através da mucosa intestinal. Além de apresentar febre, infiltrado pulmonar, dor abdominal e diarreia. O diagnóstico definitivo de estrongiloidíase disseminada é baseado nos achados de larvas nas fezes, na secreção traqueal, no

lavado brônquico, no aspirado gástrico ou nas biópsias gástricas, jejunal, cutânea e pulmonar. (LUNA 2007).

Em estudos recentes foi visto que testes de microscopia de fezes, que são comumente utilizados nos diagnósticos de outras doenças parasitárias apresentam uma baixa sensibilidade para a detecção de *S. stercoralis*, sendo os testes sorológicos atualmente os eficazes, mas também podem ter resultados falso-positivos devido às reações cruzadas e persistência ao longo prazo de anticorpos após um tratamento (BISOFFI et al, 2014, FORMENTI et al., 2018).

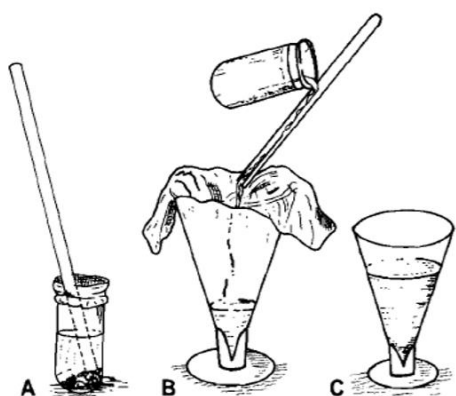
Atualmente tem se realizado grandes investimentos em pesquisas de métodos que detectem infecções parasitárias, sendo o objetivo desses investimentos são para aumentar a sensibilidade e a especificidade do diagnóstico (FORMENTI et al., 2018). Os métodos de diagnóstico que foram desenvolvidos incluem, os diretos que se fundamentam no encontro de formas evolutivas de *S. stercoralis*, sendo eles, a técnica de rotina Hoffmann, Pons e Janer (HPJ), que consiste em sedimentação espontânea. Esse, porém, não é o adequado, devido à irregularidade de eliminação das larvas nas amostras fecais. Há o método de concentração como do Baermann-Moraes e, atualmente, os laboratórios de parasitologia realizam um método modificado de Baermann-Moraes, conhecido por Picanço. Nesse utiliza-se um cálice de sedimentação de Hoffmann, água a 42°C e menor quantidade de fezes formadas. Temos ainda a Coprocultura como os métodos de Harada-Mori (papel de filtro em tubos) e Cultura em placa de ágar sangue. Os métodos indiretos por sua vez incluem a reação de cadeia da polimerase (PCR), Western Blotting. Os ensaios sorológicos, são geralmente nos formatos de ensaio imunoenzimático indireto (ELISA) e a reação de imunofluorescência indireta (RIFI) (FORMENTI et al., 2018).

#### **4.3.1 Técnica de Hoffman, Pons e Janer (HPJ)**

A técnica de sedimentação espontânea pelo método de Hoffmann, Pons e Janer foi desenvolvida para o diagnóstico das enteroparasitoses. Constitui-se por ser uma técnica microscópica qualitativa de baixa sensibilidade. Os principais objetivos das técnicas de sedimentação são o aumento da concentração de ovos operculados

e não-operculados, larvas ou cistos e o isolamentos de óleos e gorduras da maior parte dos detritos (Figura 8). Nessa técnica, os organismos são sedimentados por igual pela gravidade ou quando centrifugados. A sedimentação apresenta uma ação contrária quando comparada com a flutuação. Os cistos, oocistos, ovos e larvas são retidos no fundo do recipiente, enquanto os detritos são suspensos para a superfície, não interferindo no diagnóstico final com ela podem ser encontrados ovos e larvas de helmintos, bem como cistos (SANT'ANNA ET AL., 2012).

Esse método tem como vantagens por ser barato e fácil de ser preparado, porém é inespecífico e demorado. Para sua realização é necessário microscópio, cálices cônicos, funis, lâmina, lamínula, gazes, bastões de vidros e fezes frescas de preferência (Atlas de Parasitologia 2019). Para iniciar homogeniza uma porção da amostra fecal com água destilada em um béquer ou recipientes similar ate total dissolução. Filtra-se a suspensão com uma gaze dobrada quatro vezes sobre um béquer, descarta a gaze com os detritos fecais em lixo biológico. Homogeniza o filtrado e então transfere para o cálice de fundo cônico, completa o volume do cálice com água destilada até aproximadamente 1 cm da borda. Deixa em repouso por 1 a 24 horas para formação do sedimento. Após esse periodo de sedimentação, decanta o sobrenadante e coleta o sedimento com auxílio de pipeta de Pasteur. Deposita uma gota de sedimento sobre a lâmina para microscopia, cobre com uma lamínula. Realiza-se a leitura na objetiva de 40x (NAKASHIMA ET AL., 2018).



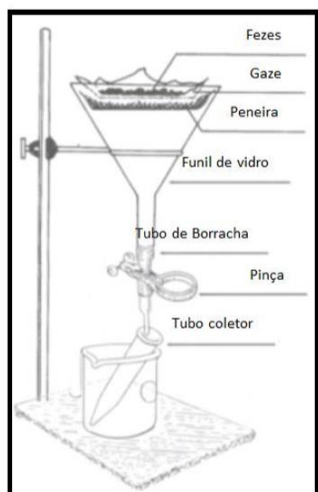
**Figura 8.** Método de Hoffmann, Pons e Janer. Procedimento técnico. Fonte: Roteiro de aulas práticas da Universidade Federal Fluminense.

#### 4.3.2 Método de Baermann- Moraes

O método de Baermann-Moraes, foi originalmente descrito por Baermann em 1917 com o objetivo de isolar as larvas de *Strongyloides stercoralis* do solo, mas Moraes (1948) realizou uma modificação onde se identificava as larvas em fezes. Este método é baseado no fato em que as larvas deste parasita possuem termotropismo e hidrotropismo positivo migrando para água aquecidas (RABELLO, 2011).

O diagnóstico definitivo é realizado pela pesquisa das larvas nas fezes, utilizando o método de Baermann-Moraes, no entanto a liberação das larvas de maneira intermitente torna este método pouco sensível, requerendo múltiplos testes para demonstrar a presença das larvas nas fezes (BUONFRATE et al., 2015). Este método é mais laboratorial, o que envolve maiores riscos de contaminação acidental, por depender da manipulação das larvas infectantes. Pois pode haver presença de larvas L3 filarióides infectantes nos casos de pacientes com constipação intestinal ou nas altas autoinfecções internas nos casos mais graves da doença (ELIZABETE, 2011).

Para a realização deste método é importante que se obtenha três amostras de fezes formadas para aumentar a sensibilidade e elas devem estar frescas, para que as larvas estejam vivas. Inicialmente utiliza-se um funil acoplado a um tubo de borracha fechado com uma pinça de Mohr (Figura 8). As fezes são depositadas em uma gaze ou em uma tela metálica de modo que possam ficar em contato com água aquecida colocada no funil. São utilizadas aproximadamente cerca de 8 a 10 g de fezes, colocadas sobre uma gaze dobrada que é posta em contato com água aquecida a 42° C. As larvas vivas, devido ao termohidrotropismo, migram para água do funil, acumulando-se, por sedimentação espontânea, na sua parte estreita e dentro do tubo de borracha a ela acoplado. Após uma hora e trinta minutos, as larvas são transferidas para um tubo, através do afrouxamento de pinça de Mohr. Em seguida se centrifuga o sedimento em baixa rotação para então ser examinado microscopicamente (RABELLO, 2011). Essa é uma das modificações do método original de Baermann-Moraes que utiliza um vidro de relógio para coleta das larvas e depois a identificação das mesmas ao microscópio óptico.



**Figura 9.** Funil utilizado para realizar o método de Baermann-Moraes. Fonte: Google Imagens.

### 4.3.3 Método de Rugai

Este método é uma adaptação do método de Baermann-Moraes, sendo mais simples. Ele tem como objetivo a pesquisa de larvas de *S. stercoralis*. Para sua realização os materiais necessários são gaze, cálice de sedimentação, água aquecida, pipeta, lâmina, lamínula, lugol, e o microscópio. Seu procedimento inicia-se quando se adiciona a amostra de fezes nas gazes transformando em uma espécie de “trouxa” (Figura). Em seguida coloca esse material dentro de um cálice de sedimentação contendo água aquecida, em quantidade suficiente para entrar em contato com a fezes, e aguarda em repouso por uma hora. Após o período de repouso, retira-se cuidadosamente este material do cálice, e colhe o sedimento presente no fundo do cálice com auxílio de uma pipeta, então se analisa ao microscópio (CARVALHO ET AL., 2005).



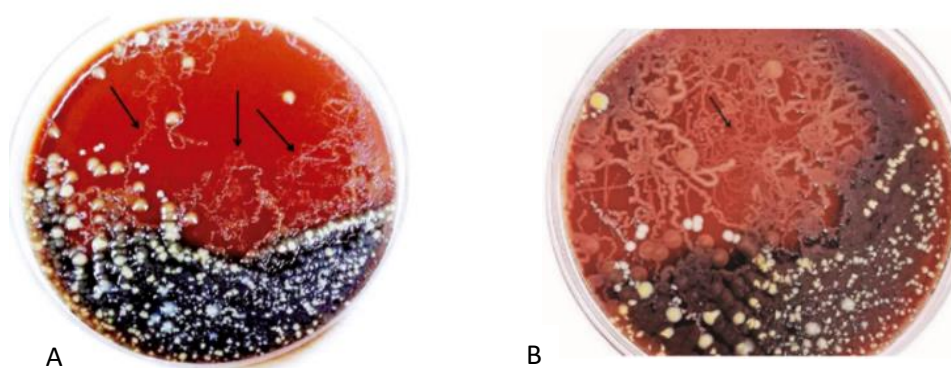
**Figura 10.** Método de Rugai. Fezes dentro da gaze em contato com a água morna contida no cálice de sedimentação. Fonte: Google Imagens.

### 4.3.3 Método da Placa de Ágar sangue

O método da placa de Ágar foi introduzido por Arakaki em 1988 e modificado por Koga et al., 1991. Baseando-se no fato de que as larvas rhabditóides migram facilmente no ágar, arrastam bactérias que formam colônias marcando o seu trajeto que fica facilmente identificável (RABELLO, 2011).

Para a realização deste método se utiliza 3 a 4 g de fezes frescas, sendo colocadas no centro de uma placa de Petri com ágar nutriente e incubada pelo menos 2 dias (ERICSSON, 2001). As larvas migram no Ágar formando túneis facilmente visíveis com microscópio de dissecação devido ao crescimento das colônias bacterianas. A leitura é realizada entre 24 a 48 horas após a realização da cultura das fezes (ELIZABETTE, 2011).

Nas culturas em placas de ágar, as larvas dos nematódeos deixam caminhos facilmente visíveis a olho nu, devido a presença de colônias de bactérias que formam padrões ondulatórios no ágar. Estes padrões, quando visualizados ao microscópio, demonstram que as larvas apresentam diferentes trajetórias de migração no gel, os movimentos do *S. stercoralis* é forma de chicote, retilíneo com mudanças suaves de direção. Na figura ... observa-se o fenômeno se trilhas, sugerindo que algo se movia entre as colônias no ágar. Nesta cultura, foi realizada pesquisa a fresco, tendo sido confirmada a presença de larvas de *Strongyloides stercoralis* (EINSTEIN, 2019).



**Figura 11.** Cultura de larvas de *S. stercoralis* em ágar sangue. A) Cultura com 24 horas de incubação. B) Cultura com 48 horas. Desenho de “trilhas” entre as colônias bacterianas (setas). Fonte: Jornal do Instituto israelita de Ensino e pesquisa Albert Einstein, 2019.



#### 4.3.4 Método de Harada- Mori

Este método de Harada-Mori se baseia em colocar 1 a 2 g de fezes espalhadas em uma tira de papel filtro de cerca de 150 x 15 mm que é colocado em tubo de ensaio de 18 x 180 mm ou de 20 x 200 mm, contendo 7 ml de água destilada ou fervida, de maneira que água não toque nas fezes. Posteriormente, obtura-se o tubo com papel celofane, preso por meio de um anel de borracha, conservando-se o tubo em posição vertical durante 24 a 48h em temperatura ambiente em torno de 24 a 28° C. Ao término do procedimento observa-se com o auxílio de uma lupa o sedimento no fundo do tubo, em busca de larvas (ELIZABETTE, 2011).



Figura 12. Método de Harada-Mori. Fonte: Dissertação de pós graduação

#### 4.3.4 Métodos Imunológicos

As dificuldades encontradas na identificação das larvas nas fezes, por sua escassez ou pela flutuação na sua eliminação, fazem com que a sensibilidade dos exames coproparasitológicos não seja eficaz, mesmo realizando repetições. Por esse motivo, os métodos indiretos de identificação de parasita têm sido testados, para a detecção de anticorpos de parasitas específicos no soro (RABELLO, 2011).

Os métodos imunológicos têm sido pouco utilizados para o diagnóstico de estrogiloidíase, devido às dificuldades na produção e padronização de um antígeno capaz de fornecer boa responsabilidade dos ensaios. Além da frequente presença de reação falso-positivas por reações cruzadas com antígenos de outros parasitos presentes no soro do paciente infectado. Mas é uma detecção indiscutivelmente

melhor como método de triagem de detecção de casos agudos no início de estrogiloidíase (ELIZABETE, 2011).

Dentre os métodos sorológicos para detecção de anticorpos *Anti-S. stercoralis*, o mais conveniente e utilizado é o ELISA, o qual é considerado superior aos outros testes sorológicos por ter alta sensibilidade, que varia de 57% a 100% e especificidade de 60% a 100%, dependendo das características da amostra de soro e preparações antigênicas (LEVENHAGEM MA, et al., 2014). Suas dificuldades que limitam seu uso é a produção de uma padronização de um antígeno com capacidade de reprodutividade dos ensaios. Porém esses métodos imunológicos são promissores como ferramentas de triagem para estudos clínicos e epidemiológicos. Tem se observado que nos locais em que as infecções parasitárias causadas por *S. stercoralis* são incomuns a pesquisa de anticorpos presentes no soro dos pacientes infectados tem demonstrado resultados mais fidedignos (OMS, 2017).

O teste ELISA para diagnóstico de *S. stercoralis* vem sendo realizado desde a década de 1980. Ele é considerado superior aos outros testes sorológicos no que diz respeito a praticidade, a segurança e a disponibilidade de reagentes. Os testes ELISA têm sido utilizados para identificação de isótipos de anticorpos que reconhecem epítomos de parasita, especialmente para detecção de anticorpos das classes de imunoglobulinas IgG (IgG1, IgG3 e IgG4), de IgE, IgM e IgA, específicos para o parasito, mas não confere um valor quantitativo da carga parasitária. (RABELLO, 2011). Mas, ele nem sempre pode distinguir entre infecções recentes e antigas. Esse teste tem sido indicado para laboratórios que possuem uma grande quantidade de amostras de soros de pacientes com suspeita de infecções parasitárias. Pois, as mesmas são testadas simultaneamente e em poucas horas (LAIGNIER, 2011).

Normalmente, as preparações antigênicas de *S. stercoralis*, resultantes de extração de antígenos solúveis totais em solução salina, tem sido utilizada nas técnicas sorológicas padronizadas. Entretanto, essas preparações não possuem adequada especificidade, pois representam o extrato bruto do parasita com antígenos comuns a outros parasitas. Em contrapartida, uma das principais limitações encontradas no desenvolvimento de testes sorológicos mais sensíveis e

específicos é a dificuldade de se obter quantidades suficientes de antígenos que permitam seu posterior fracionamento e sua análise. (SUDRÉ et al., 2007).

Também tem se utilizado antígenos recombinantes do *S. stercoralis* para melhorar a especificidade dos testes ELISA. Eles são produzidos a partir de ácido desoxirribonucleico (DNA), presentes em bibliotecas formadas a partir de larvas filarióides de *S. stercoralis*. Mostram ter uma reatividade semelhante aos antígenos somáticos das larvas, sendo alguns mais específicos. Alguns peptídeos recombinantes, ricos em prolina, tem mostrado alta especificidade, sendo reconhecidos por anticorpos IgG4 e IgE, sem reações cruzadas com outros helmintos. Outros antígenos de superfície e de secreção e excreção de larvas filarióides de *S. stercoralis* tem sido também obtidos com finalidade de obter frações reconhecidas por anticorpos citotrópicos, para serem utilizados em testes intradérmicos para diagnóstico de infecção com *S. stercoralis* (RABELLO,2011).

Além do ELISA, é possível realizar o diagnóstico através de aglutinação e da reação de imunofluorescência indireta (RIFI), utilizando antígenos das diversas formas do parasita (ELIZABETTE, 2011). Para realizar o teste de aglutinação indireta é utilizado um antígeno com uma fração solúvel do extrato de larvas filarióide de *S. stercoralis* obtidas previamente de culturas de fezes em papel de filtro, partículas aglutinantes e partículas de gelatina disponíveis no comércio. Este método tem apresentado boa taxa de sensibilidade e especificidade ao se comparar com o ELISA (SITHITHAWORN et al., 2005).

A RIFI utiliza larvas vivas ou partículas de larvas de *Strongyloides stercoralis*. A pesquisa de anticorpos *Anti-S. stercoralis* pela RIFI foi inicialmente proposta utilizando como substrato para identificação dos anticorpos larvas vivas de *S. rattii* e do *S. stercoralis*. A reação de imunofluorescência indireta tem se mostrado com uma boa sensibilidade e especificidade para identificação de IgA e IgG no leite e no soro de mulheres infectadas com *S. stercoralis* (RABELLO, 2011).

### **4.3.5 Biologia molecular**

#### **4.3.5.1 Western Blotting**

O diagnóstico pela técnica de Western Blotting pode ser utilizado para confirmar o diagnóstico sorológico da estrogiloidíase em casos de testes sorológicos discordantes, onde evidencia a infecção através da presença do anticorpo da classe IgA específica (RABELLO, 2011).

Estudos que utilizaram antígenos de *S. stercoralis* na técnica de Western Blotting mostraram existir componentes antigênicos distintos, que podem ser utilizados como métodos adicional no diagnóstico de estrogiloidíase. Sendo assim, pode-se considerar que esta técnica tem possibilitado o reconhecimento de moléculas com uso potencial em diagnóstico (RABELLO, 2011).

O uso do western blotting, utilizando as frações solúveis de larvas filarióides contra soro de pacientes com parasita, tem identificado frações que são mais especificamente reconhecidas pelas imunoglobulinas parasita-específicas produzidas pelo hospedeiro. Estudos mostram que as frações melhores identificadas foram 41, 31 e 28 KD de *S. stercoralis* por soros IgG de pacientes com o parasita ou com suspeita de ter o parasita, do que por soros de pacientes com outras helmintoses (RABELLO, 2011).

#### **4.3.5.2 Reação em Cadeia de polimerase (PCR)**

Vários métodos de diagnóstico moleculares têm sido utilizados e entre eles a reação em cadeia da polimerase. Esse método tem se mostrado ser mais sensível para detecção de agentes patogênicos em infecções (NUÑEZ, et al., 2001).

A PCR vem sendo progressivamente utilizada para o diagnóstico de parasitoses intestinais através da detecção de DNA dos parasitas nas fezes. Mostrou ser muito mais sensível que os métodos parasitológicos convencionais durante infecções menos agravantes, demonstrando ser uma alternativa útil em relação ao método de Baermann-Moraes (MARRA et al., 2010).

A utilização dessa técnica pode facilitar o controle da prevalência e intensidade de infecções por *S. stercoralis* (RAYAN et al., 2010). Muitos laboratórios têm validado como teste interno, sendo usado habitualmente, juntamente com outros métodos (WGO, 2018). A tecnologia da PCR têm se tornado disponível em centros de pesquisas de países desenvolvidos por ter a capacidade de detectar patógenos simultâneos, levando uma economia de tempo, esforço e custo. (RAYAN et al., 2010). Apesar da PCR ser uma técnica prometedora, ainda não foi estabelecido um padrão de execução. Além disso a sua variação de sensibilidade entre diferentes estudos desperta um fator preocupante quando falamos de resultados confiáveis (WGO, 2018).

## 5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Conforme tem se realizado estudos sobre o diagnóstico de estrogiloidíase, vimos neste trabalho que há diversas técnicas já descritas com diferentes aspectos. Podemos concluir que as reações de RIFI, ELISA e WB, por terem alta sensibilidade e especificidade, provaram ser eficazes como testes complementares para o diagnóstico e monitoramento da resposta imune do paciente, principalmente em áreas endêmicas, em que o diagnóstico precoce contribui diretamente com o tratamento da infecção. Os testes sorológicos possuem uma limitação, pois não conseguem diferenciar infecções passadas e presentes, mesmo com a titulação de IgG decaindo conforme a erradicação do parasita. Isso ocorre devido alguns indivíduos permanecerem soropositivos por um longo período, mesmo após a cura da infecção. Embora apresentem tais limitações, os testes sorológicos têm sido utilizados como triagem principalmente em populações de risco, tendo em vista que os exames que utilizam amostras fecais possuem baixa sensibilidade, por dependerem diretamente da eliminação das formas evolutivas nas fezes (Figura 13).

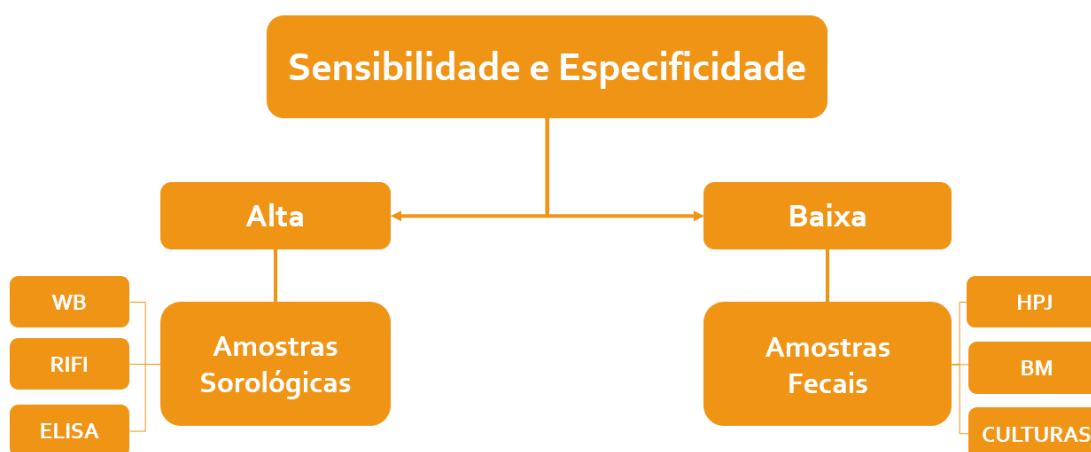


Figura 13. Esquema de comparação dos métodos de diagnóstico.

Desta forma há um longo caminho ainda para ser percorrido em busca de aperfeiçoamento dos métodos mais comuns que possuem baixa especificidade e sensibilidade. Do ponto de vista promissor os métodos que envolvem biologia molecular estão em destaque para investimentos que possam contribuir no diagnóstico com maior precisão da estrogiloidíase humana. Em compensação não

podemos esquecer que a melhor forma de diminuir a disseminação de geohelmintoses como essa, ainda é a prevenção, sendo necessário a implantação de saneamento básico em locais com alta incidência dessas infecções. O tratamento dos indivíduos infectados, para que não seja uma fonte de infecção. Além de investimentos em conscientização com ênfase em bons hábitos higiênicos nas comunidades mais carentes dos países afetados. Proporcionando uma qualidade de vida digna para população de risco.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDRADE, E. C.; LEITE, I.C.G.; RODRIGUES, V. O.; CESCA; M.G. Parasitoses Intestinais: Uma Revisão Sobre Seus Aspectos Sociais. Epidemiológicos, Clínicos e Terapêuticos Revista APS, Juiz de Fora.Vol.13,n. 2, p. 231-240; 2010

BISOFFI Z, BUONFRATE D, SEQUI M, MEJIA R, CIMINO RO, KROLEWIECKI AJ et al acurácia diagnóstica de cinco testes sorológicos para infecção de *Strongyloides stercoralis*. PLoS Negl Trop Dis. 2014; 8: e2640 10.1371/journal.pntd.0002640

BUONFRATE, D., FORMENTI, F., PERANDIN, F., BISOFFI, Z., 2015. Novel approaches to the diagnosis of *Strongyloides stercoralis* infection. Clin. Microbiol. Infect. 21 (6), 543–552. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2015.04.001>.

CARVALHO S, GONÇALVES FA, CAMPOS FILHO P, GUIMARÃES E, GONZÁLEZ Y CÁCERES A, et al. Adaptation of the Rugai et al. method for analysis of soil parasites. Rev Soc Bras Med Trop 2005; 38:270-271.

DILLARD, K., SAARI, S.A.M., ANTITILA, M., 2007. STRONGYLOIDES STERCORALIS INFECTION IN A FINNISH KENNEL. ACTA VET. SCAND. 49 (37). <https://doi.org/10.1186/1751-0147-49-37>. Epe, C., Ising-Volmer, S., Stoye, M., 1993. Parasitological fecal studies of equids, dogs, cats, and hedgehogs during the years 1984-1991. Deutsche tierärztliche Wochenschrift 100, 426–428.

ERICSSON CHARLES D., ROBERT STEFFEN, AFZAL A. SIDDIQUI, STEVEN L. BERK, diagnóstico de infecção de *Strongyloides stercoralis* , *Clínica de doenças infecciosas*, Volume 33, edição 7, 1 de outubro de 2001, páginas 1040 – 1047, <https://doi.org/10.1086/322707>

GREAVES D, COGGLE S C POLLARD, ALIYU SH, EM MOORE (2013) infecção de *Strongyloides stercoralis* . BMJ 347: f4610 doi: 10.1136/bmj.f4610 [PubMed]

FERNANDES, S. et al. Protocolo de parasitoses intestinais. Acta Pediátrica Portuguesa, V. 43, n.1, p. 35-41, 2012.

GROVE DI. Human strongyloidiasis. Adv Parasitol. 1996;38:251–309.



HOTEZ, PETER J ET AL. Rescuing the bottom billion through control of neglected tropical diseases. *The Lancet*, [s.l.], v. 373, n. 9674, p.1570-1575, maio 2009. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s0140-6736\(09\)60233-6](http://dx.doi.org/10.1016/s0140-6736(09)60233-6).

INÊS, ELIZABETE DE JESUS. Avaliação de métodos parasitológicos e imunológicos para o diagnóstico da estrogiloidíase. 2011. 73 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Farmácia, Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2011.

LEVENHAGEN MA, COSTA-CRUZ JM. Atualização em diagnóstico imunológico e molecular de Estrogiloidíase humana. *Acta tropical* 2014; 135:33-43.

LODO M, et al., Prevalência de enteroparasitas em município do interior paulista. *Rev. bras. crescimento desenvolv. hum.* 2010;20(3):769-77.

LUNA, O.B. et al. Estrogiloidíase disseminada: diagnóstico e tratamento. *Revista brasileira terapia intensiva*, São Paulo, SP, v. 19, n. 4, dec.2007.

MARRA, N.M.; CHIUSO-MINICUCCI, F.; MACHADO,G. C.: ZORZELLA-PEZAVENTO, S. F. F.; FRANÇA, T.G.: ISHIKAWA,L.L.;AMARANTE, A.F.: SARTORI, A. AMARANTE, M. R. Faecal examination and PCR to detect strongyloides venezuelensis in experimentally infected Lewis rats. *Mémórias do instituto Oswaldo Cruz*, v. 150. P. 57-61, 2010.

MARCOS LA, TERASHIMA A, CANALES M, GOTUZZO E. Update on strongyloidiasis in the immunocompromised host. *Curr Infect Dis Rep.* 2011;13:35-46.

MELLO, F. C. S. et al. Prevalência de Parasitoses em Escolares da Escola Estadual de Ensino Fundamental Paso de los Libres no Município de Uruguaiiana, RS. *NewsLab*. São Paulo, nº. 116, p. 104-115, 2013.

MUÑOZ, SUSANA SEGURA; FERNANDES, ANA PAULA MORAES. Principais Doenças causadas por Protozoários. Principais doenças infecciosas e parasitárias e seus condicionantes em populações humanas. São Paulo: Univesp, 2013. p. 132-153.

NAKASHIMA Universidade Federal Fluminense - Instituto Biomédico – Departamento de Microbiologia e Parasitologia. Disponível em:

<<http://ter.sites.uff.br/wp-content/uploads/sites/41/2018/08/Técnica-Lutz.pdf>>.

Acesso em 4 de Maio de 2019.

NEVES, DAVID PEREIRA. Parasitologia humana. 13. ed. São Paulo: Atheneu, 2016.

NUÑEZ, Y. O.; FERNÁNDEZ, M. A.; TORRES-NUÑEZ, D.; SILVA, J.A; MONTANO, I.; MAESTRE, J.L. FONTE, L. Multiplex polymerase chain reaction amplification and differentiation of *Entamoeba histolytica* and *Entamoeba díspar* DNA from stool samples. *The American Journal of Tropical Medicine and Higyene*. V 64 p. 293-297,2001.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE (OMS). Infecções de geohelminthoses. Quem; 2017b. WHO Fact folha N ° 366. Genebra. Atualizado setembro de 2017.

PRADO, M.L.E, et al. Prevalência de parasitoses intestinais em crianças do Parque Indígena do Xingu. *Jornal de Pediatria* 2010; 86.

RABELLO, LAIGNIER ELISA. Diagnostico de strongyloides stercoralis a partir da análises de sedimento obtido com dez ou mais gramas de fezes. Universidade federal do Espírito Santo. 2011.

RAYAN, H. Z.; SOLIMAN, R.H; GALAL, N. M. Derection of *Strongyloides stercoralis* in faecal samples using conventional Parasitological techniques and real – time PCR: a Comparative estudy. *Reserach Article*. V. 5. P. 27-34,2012.

SANTANA ATT, LOUREIRO M. Síndrome de hiperinfecção e/ou disseminação por *Strongyloides stercoralis* em pacientes imunodeprimidos. Universidade Federal do Rio Grande do Norte – UFRN – Natal- RN, Brasil. *Revista brasileira de Análises clínicas (RBAC)*. 2017

SANT'ANNA, L. M. L.; OLIVEIRA, F. J.; MELO, C. M.. Estudo comparativo de técnicas parasitológicas baseada no princípio de sedimentação espontânea (Hoffman) e Parasitokit®. *Scire Salutis, Aquidabã*, v.3, n.1, p.615, 2013. DOI: <http://dx.doi.org/10.6008/ESS22369600.2013.001.0001>.

SCHAR, U. TROSTDORF, F. GIARDINA, V. MARTI DE KHIEU, S. MUTH, H., *et al* *Strongyloides stercoralis*: distribuição global e fatores de risco *PLoS Neglected Trop Dis*, 7 (7) (2013), p. e2288

SOCIEDADE BRASILEIRA DE INFECTOLOGIA, (SBI). Disponível em: <<https://www.infectologia.org.br/pg/980/estrongiloidiase>> Acesso em 13 de Maio de 2019.

SUDRÉ AP, MACEDO HW, PERALTA RHS, PERALTA JM 2006. Diagnóstico da estrongiloidíase humana: importância e técnicas. *Trop de Patol Rev* 35: 173-184.

PUTHIYAKUNNON, S. Joao, Y. Li, X. Zhou, C. Wang, Li J., *et al* Estrongiloidíase - uma visão sobre a sua prevalência global e gestão PLoS Neglected Trop Dis, 8 (8) (2014), p. e3018)

VINEY, M., 2017. Strongyloides. *Parasitology* 144 (3), 259–262. <https://doi.org/10.1017/S0031182016001773>. Yang, M., Gebeyehu, E.B., Jung, S.J.,

WORLD GASTROENTEROLOGY ORGANISATION. WGO. Manejo da estrongiloidíase. 2018