



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

LARISSA RODRIGUES BOSQUI

**DIAGNÓSTICO COPROLÓGICO E IMUNOLÓGICO DA
ESTRONGILOIDÍASE HUMANA NO MUNICÍPIO DE
LONDRINA-PR**

Londrina
2015

LARISSA RODRIGUES BOSQUI

**DIAGNÓSTICO COPROLÓGICO E IMUNOLÓGICO DA
ESTRONGILOIDÍASE HUMANA NO MUNICÍPIO DE
LONDRINA-PR**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Patologia Experimental da Universidade Estadual de Londrina como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Patologia Experimental.

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Idessania Nazareth Costa.

Londrina
2015

**Catálogo elaborado pela Divisão de Processos Técnicos da Biblioteca Central da
Universidade Estadual de Londrina**

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)

B744d Bosqui, Larissa Rodrigues.

Diagnóstico coprológico e imunológico da estrogiloidíase humana no município de Londrina-PR / Larissa Rodrigues Bosqui. – Londrina, 2015. 137 f. : il.

Orientador: Idessania Nazareth da Costa.

Dissertação (Mestrado em Patologia Experimental) – Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Biológicas, Programa de Pós-Graduação em Patologia Experimental, 2015.

Inclui bibliografia.

1. Estrogiloidíase – Diagnóstico – Teses. 2. Imunodiagnóstico – Teses. 3. Intestinos – Parasitos – Teses. 4. Parasitologia – Teses. I. Costa, Idessania Nazareth da. II. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Patologia Experimental. III. Título.

CDU 616-092

LARISSA RODRIGUES BOSQUI

**DIAGNÓSTICO COPROLÓGICO E IMUNOLÓGICO DA
ESTRONGILOIDÍASE HUMANA NO MUNICÍPIO DE LONDRINA-PR**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Patologia Experimental da Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Patologia Experimental.

BANCA EXAMINADORA

Orientador: Prof^a. Dr^a. Idessania Nazareth
Costa
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Prof^a. Dr^a. Fabiana Martins de Paula
Universidade de São Paulo- USP

Prof^a. Dr^a. Ivete Conchon Costa
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Londrina, 10 abril de 2015.

Dedico este trabalho a todos pacientes e colegas que aceitaram voluntariamente participar desta pesquisa, com a esperança de que um dia, com todas as novidades do mundo científico, o avanço na medicina possa proporcioná-los melhores condições de vida.

AGRADECIMENTOS

Sou eternamente grata à Deus, por sempre iluminar meus caminhos, em especial meus estudos, e colocar em minha vida pessoas tão especiais.

À minha orientadora e amiga, Prof^a. Dr^a. Idessania Nazareth Costa, que aceitou o desafio de orientar sua primeira aluna de mestrado, agradeço pelos ricos ensinamentos, paciência e dedicada orientação. Obrigada por proporcionar meu crescimento pessoal e profissional.

Ao Prof. Dr. Wander R. Pavanelli, pela oportunidade e confiança durante toda essa jornada.

À Prof^a. Dr^a. Ivete Conchon Costa pela amizade, incentivo e correção deste trabalho.

Agradeço aos professores do Hospital de Clínicas – UEL, Vera Lúcia Hideko Tatakihara e Valter Abou Murad, por me abrirem as portas e acreditarem em nosso trabalho, agradeço em especial ao professor e amigo Dr. Luiz Antonio Custodio por todo ensinamento, encorajamento e paciência durante todo esse tempo.

Aos médicos Leandro Arthur Diehl e Zuleica Naomi Tano pela parceria e dedicação com os pacientes da clínica médica.

À Prof^a. Dr^a. Julia Maria Costa Cruz por ter cedido gentilmente todo material necessário para a realização do diagnóstico imunológico, e toda equipe do Laboratório de Imunologia e Parasitologia Aplicadas da Universidade Federal de Uberlândia – MG, em especial à técnica Maria do Rosário de Fátima Gonçalves Pires, pelo aprendizado adquirido.

Agradeço também à Dr^a. Ana Lúcia Ribeiro Gonçalves pela ajuda na realização das metodologias e análises estatísticas.

Ao Ms. Timothy Cavazzotto na colaboração com a análise estatística.

Ao Dr. Henrique Tomaz Gonzaga, por sua ajuda com a padronização e execução das metodologias desenvolvidas.

À Prof^a. Dr^a. Fabiana Martins de Paula, por sua parceria e dedicada correção.

Ao Prof. Dr. Ricardo Sérgio Couto Almeida pelas diversas colaborações, em especial a correção do inglês.

Aos secretários da Patologia, Sérgio e Tatiana, pela atenção e ajuda prestada.

Aos técnicos de departamento Pedro e Adernaldo por estarem sempre dispostos a ajudar.

Agradeço aos técnicos do setor de coleta do Hospital de Clínicas, Ruy, Ricardo, Severino, Neide, Roseli e Vera por toda ajuda, ensinamento e paciência.

À Prof^a. Dr^a. Maria Cláudia Noronha Dutra de Menezes, por nos permitir participar da rotina laboratorial do Laboratório de Extensão e Pesquisas em Enteroparasitoses (LEPEEn).

Ao trabalho de campo desenvolvido pelo Laboratório de Extensão e Pesquisas em Enteroparasitoses (LEPEEn) e aos técnicos: Vilma, Sérgio e Benedito por toda ajuda e ensinamento.

À toda equipe da Secretaria de Saúde e Unidade Básica de Saúde, por nos acolherem e acreditarem em nosso trabalho.

Ao Programa de Pós Graduação em Patologia Experimental, Universidade Estadual de Londrina e CAPES pelo incentivo à pesquisa e apoio institucional. E a todos os professores que ministraram as disciplinas do programa, meu muito obrigada por contribuírem com a minha formação.

Aos meus amigos do Laboratório de Parasitologia: Milena, Raquel, Suelen, Ana Paula, Tatiane, Allan, Fernanda, Juliana, Daniela, Jacqueline, Natalia, Cayo, Amanda, Débora, Natali, Adriano, Matheus, Alan, em especial, à Verônica, Gabriela, Naara, Bruna, Bruno, Agatha e Nathaly por não medirem esforços para a realização deste projeto, obrigada pelo apoio nas coletas e realização dos métodos parasitológicos.

Agradeço meu noivo Ricardo, por todo apoio e paciência, por gentilmente me ouvir nas horas de estresse e desabafo, pelo seu amor e companheirismo.

Por fim, gostaria de agradecer toda minha família, principalmente meus pais Regis e Marta, que não cessaram esforços para que tudo se concretizasse nessa minha jornada de estudos, o meu muitíssimo obrigada pela educação, exemplo e carinho que me proporcionam.

“Os ideais que iluminaram meu caminho, são a bondade, a beleza e a verdade”.

Albert Einstein

“A maravilhosa disposição e harmonia do universo só pode ter tido origem segundo o plano de um Ser que tudo sabe e tudo pode. Isso fica sendo minha última e mais elevada descoberta”.

Isaac Newton

BOSQUI, Larissa Rodrigues. **Diagnóstico coprológico e imunológico da estrogiloidíase humana no município de Londrina-PR**. 2015. 137 f. Dissertação apresentada ao programa de pós-graduação em Patologia Experimental – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, Brasil.

RESUMO

Estrongiloidíase é uma parasitose de prevalência mundial e está entre as seis primeiras dentre as infecções causadas por geohelminths. Os indivíduos infectados são assintomáticos na maioria dos casos, enquanto que os outros podem apresentar desconfortos gastrointestinais. Porém, em pacientes imunocomprometidos as manifestações promovem quadros graves potencialmente fatais. Nestes casos, o diagnóstico precoce e tratamento adequado são essenciais. O diagnóstico parasitológico da estrogiloidíase apresenta dificuldades uma vez que a liberação de larvas nas fezes é pequena e irregular, além de necessitar de análise por método e equipe especializada. Diante disso, nosso objetivo foi realizar a análise retrospectiva da prevalência de *Strongyloides stercoralis* e outros parasitos a partir da análise de 11.641 prontuários coproparasitológicos de indivíduos provenientes da cidade de Londrina-PR do período de fevereiro 2009 a dezembro de 2012. Além disso, realizamos um estudo prospectivo para pesquisa de *S. stercoralis* e outros parasitos em amostras de fezes de indivíduos provenientes da cidade de Londrina-PR no período de abril de 2013 a maio de 2014, utilizando quatro diferentes métodos parasitológicos (Hoffman, Pons e Janer, Faust, Kato-Katz e Rugai). Complementarmente realizamos o imunodiagnóstico através do método de ELISA para pesquisa de anticorpos IgG e IgA em amostras pareadas de soro e saliva, divididas em três grupos (Grupo I: positivos para *S. stercoralis*; Grupo II: indivíduos aparentemente saudáveis, com parasitológico negativo e Grupo III: parasitológico positivo para outras parasitoses). Para averiguar a afinidade funcional da IgG específica para *Strongyloides* em amostras de soro, foi realizado também o ensaio de avidéz como complemento ao ELISA clássico. O teste Qui-quadrado foi utilizado para realizar a análise estatística dos estudos retrospectivo e prospectivo. Para o diagnóstico imunológico utilizou-se variações estatísticas usando análise de variância, seguida pelo teste de Kruskal-Wallis onde valores $p < 0.05$ foram considerados significativos. Índice avidéz (IA) foi calculado para cada diluição considerando: IA triagem (diluição 1:80) e IA médio. Para diferenciar os grupos nos IAs de triagem e médio foi estabelecido o limiar de 75% ($p < 0,001$). Do total de 11.641 laudos analisados, 19,1% ($n=2.221$) indivíduos apresentaram-se positivos para diversos parasitos, dentre os protozoários patogênicos, *Giardia lamblia* foi mais prevalente com 19,1% ($n=425$) de positividade, enquanto que, ancilostomídeos foram os mais destacados entre os helmintos, com 7,8% ($n=174$) casos, com predominância de positividade de 27,1% ($n=601$) entre crianças de 0 a 10 anos. Para o estudo prospectivo foram analisados 2.315 amostras de fezes, sendo detectados parasitos em 19,3% ($n=447$) indivíduos, com maior ocorrência de *S. stercoralis* quando utilizado o método de Rugai. A região sul apresentou maior número de ocorrência de parasitos, com 61,3% ($p < 0,003$). No imunodiagnóstico observou-se que no G1, foram detectados anticorpos IgG no soro de 96,7% ($n=29$) amostras e em 6,7% ($n=2$) amostras de saliva ($p < 0,001$). Não foi detectado IgG no G2. No G3, observou-se reação cruzada em 26,7% ($n=8$) amostras para a presença

de IgG no soro, e 6,7% (n=2) para IgG na saliva. Em relação à detecção de IgA, no grupo *S. stercoralis* positivo, foi detectado IgA em 76,7% (n=23) amostras de soro e em 56,7% (n=17) amostras de saliva. No grupo controle negativo apenas 3,3% (n=1) se mostrou positivo para IgA no soro. O grupo outras parasitoses apresentou positividade em 6,7% (n=2) amostras de soro ($P < 0,05$) e em 26,7% (n=8) amostras de saliva. Para IA, foram analisadas amostras de soro de indivíduos copropositivos para outras parasitoses (G2) e indivíduos saudáveis (G3). IA para anticorpos no G2 variou de 17% a 33% (média 33%) nas diluições 1:80, 1:160, 1:320 e 1:640 e para G3 variou de 42% a 86% (média 58%) nas mesmas diluições. Amostras com IA > 75% (exclusão de infecção ativa) foram, predominantemente, detectadas em G3. Os parâmetros diagnóstico de sensibilidade e especificidade revelam 100% de sensibilidade para o G1 em IE, e um aumento na especificidade quando associado IE a IA, tanto para IA triagem (80%) quanto para IA médio (85%). Esses dados demonstram a importância tanto do diagnóstico parasitológico da estrongiloidíase por se tratar de um indicador de prevalência do parasito, e do diagnóstico imunológico utilizando amostras de soro e saliva que demonstrou ser importante ferramenta diagnóstica na estrongiloidíase. Além disso, IgG avidéz em amostras de soro pode ser utilizado para distinguir entre infecção ativa por *S. stercoralis* de casos suspeitos ou falsos positivos casos.

Palavras-chave: Estrongiloidíase. Parasitos intestinais. Diagnóstico parasitológico. Diagnóstico imunológico.

BOSQUI, Larissa Rodrigues. **Coprolological and immunological diagnosis of human strongyloidiasis in the Londrina municipality, PR.** 2015. 137 p. Dissertation presented to the post graduate program in Experimental Pathology – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, Brazil.

ABSTRACT

Strongyloidiasis is a parasitic disease of worldwide prevalence and is among the six first infections caused by geohelminth. Infected individuals are asymptomatic in 50% of the cases, while others may have intestinal discomfort. However, in immunocompromised patients the extra intestinal manifestations promote severe clinical conditions potentially fatal. In such cases, early diagnosis and appropriate treatment are essential. The parasitological diagnosis of strongyloidiasis presents complications and difficulties since the release of larvae in the feces is small and irregular besides requiring analysis method and specialized staff. Therefore, our objective was to perform the retrospective analysis of the prevalence of *Strongyloides stercoralis* and other parasites from the analysis of 11,641 fecal records of individuals from the periphery of the city of Londrina-PR from February 2009 to December 2012. Furthermore, we conducted a prospective study for researching *S. stercoralis* and other parasites in feces samples of individuals from the periphery of the city of Londrina from April 2013 to May 2014, using four different parasitological methods (Hoffman, Pons and Janer, Faust, Kato-Katz and Rugai). Complementary, we conducted the immunodiagnostic through the ELISA method for research of IgG and IgA antibodies in paired samples of serum and saliva, divided into three groups (Group I: positive for *S. stercoralis*; Group II: apparently healthy individuals with negative parasitological and Group III: positive parasitological for other parasitic diseases). To determine the functional affinity of specific IgG for *Strongyloides* in serum samples, the avidity assay was performed as a complement to classical ELISA. The chi-square test was used for statistical analysis of retrospective and prospective studies. For the immunological diagnosis, we used statistical variations using analysis of variance followed by Kruskal-Wallis test in which the *P* values < 0.05 were considered significant. Avidity index (AI) was calculated to each serum considering: screening AI (serum 1:80) and mean AI at different dilutions. In order to differentiate groups at screening and mean AI a value of 75% was established ($p < 0.001$). From the total of 11,641 reports analyzed, 19.1% ($n = 2,221$) individuals were positive for multiple parasites, among pathogenic protozoan, *Giardia lamblia* was the most reported with 19.1% ($n = 425$) of positivity, while, ancylostomids were the most prominent among the helminths, with 7.8% ($n = 174$) patients, with a predominance of positivity of 27.1% ($n = 601$) among 0-10 years children. In the prospective study were analyzed 2,315 samples of feces, parasites were detected in 19.3% ($n = 447$) of the individuals, in which most of *S. stercoralis* detection was observed when using the Rugai method. The southern region of the city of Londrina had a higher number of occurrences, with 61.3% ($P < 0.003$). In the immunodiagnostic it was observed that in the positive fecal group for *S. stercoralis*, IgG antibodies were detected in the serum of 96.7% ($n = 29$) samples and in 6.7% ($n = 2$) saliva samples ($P < 0.001$). IgG was not detected in the negative control group. In other parasitic diseases group, cross-reactivity was observed in 26.7% ($n = 8$) samples for the presence of IgG in serum, and 6.7% ($n = 2$) for IgG in saliva.

Regarding the detection of IgA in positive *S. stercoralis* group IgA was detected in 76.7% (n = 23) samples in serum and in 56.7% (n = 17) saliva samples. In the negative control group only 3.3% (n = 1) was positive for IgA in serum. The other parasitosis group was positive in 6.7% (n = 2) serum samples ($P < 0.05$) and in 26.7% (n = 8) saliva samples. For IA, were analyzed serum samples from copropositive individuals for other parasitic diseases (G2) and healthy individuals (G3). IA was higher in G3 in the four dilutions of the screening ranging from 42% to 86% (mean 58%). Samples with IA > 75% (exclusion of active infection) were, predominantly, detected in G3. The diagnostic parameters of sensitivity and specificity showed 100% sensitivity for the G1 in IE, and an increased specificity when IE and IA were associated, both for screening IA (80%) and for mean IA (85%). In group 2 IA antibody levels ranged from 17% to 33% (mean 33%) at dilutions 1:80, 1:160, 1:320 and 1:640. In G3 ranged from 42% to 86% (mean 58%) in the same dilutions. These data demonstrate not only the importance of parasitological diagnosis of strongyloidiasis like an indicator of parasite prevalence, but also as an immunological diagnosis using samples of serum and saliva which showed like a important diagnostic tool in strongyloidiasis. Furthermore, avidity IgG in serum samples can be used to distinguish active infection by *S. stercoralis* cases to suspected or false positives.

Keywords: Strongyloidiasis. Intestinal parasites. Parasitological diagnosis. Immunological diagnosis.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Interações celulares na resposta imune para helmintos	29
Figura 2 – Caminho que conduz à liberação de IgA secretora (SIgA) nas secreções de mucosas.....	34

ARTIGO 1

Gráfico 1 - Porcentagem dos 11.641 prontuários analisados e número de casos positivos para enteroparasitos durante o período de 2009 a 2012 na cidade de Londrina-PR.....	79
Tabela 1 - Número de casos positivos para enteroparasitos, prevalência e razão de chances, distribuídos por regiões, gênero e faixa etária	80
Tabela 2 - Número de casos positivos distribuídos por mês/ano, Londrina-PR	80
Gráfico 2 - Distribuição do número de casos positivos por mês/ano, Londrina-PR	81
Tabela 3 - Distribuição da frequência de enteroparasitos por ano, Londrina-PR	81
Tabela 4 - Razão de chances (OR) da ocorrência de enteroparasitos, distribuídos por mês/ano, Londrina-PR	82

ARTIGO 2

Tabela A - Distribuição do número de casos, prevalência e razão de chances de enteroparasitos por regiões, gênero e faixa etária de indivíduos provenientes de Londrina-PR, no período de abril de 2013 a maio de 2014.....	97
Figura A - Mapa da área de estudo representada pelo número e porcentagem de casos por região no período de abril de 2013 a maio de 2014 em Londrina-PR	98
Tabela B - Distribuição de enteroparasitos por regiões no período de abril de 2013 a maio de 2014, Londrina-PR.....	99

Tabela C - Distribuição do número de parasitos detectados utilizando diferentes métodos no período de abril de 2013 a maio de 2014, em indivíduos da cidade de Londrina-PR.....	100
--	-----

ARTIGO 3

Figura 1 - Detecção de anticorpos IgG e IgA anti- <i>S. stercoralis</i> em amostras de soro e saliva determinados por ensaio imunoenzimático utilizando extrato alcalino de larvas filariodes de <i>S. venezuelensis</i> e expressos como índice ELISA (IE).....	117
Tabela 1 - Eficiência de diagnóstico (ED), valor preditivo positivo (VPP) e teste preditivo negativo (VPN) em amostras de soro e saliva para detecção de IgG e IgA anti- <i>Strongyloides</i>	118

ARTIGO 4

Figura 1 - Detecção de IgG anti- <i>Strongyloides</i> por ELISA e ELISA avides.....	130
Tabela 1 - Parâmetros diagnóstico de sensibilidade e especificidade do ELISA e/ou combinado a avides	131

SUMÁRIO

1	Introdução	19
1.1	Aspectos taxonômicos e morfológicos da estrogiloidíase humana	19
1.2	Epidemiologia da estrogiloidíase humana	22
1.3	Imunopatogenicidade da estrogiloidíase e a Imunoglobulina A (IgA)	26
1.4	Diagnóstico da estrogiloidíase	37
1.4.1	Utilização da saliva como ferramenta no diagnóstico da estrogiloidíase	40
2	Objetivos	43
2.1	Objetivo geral	43
2.2	Objetivos específicos	43
3	Referências Bibliográficas	44
4	Produção Científica	61
4.1	Artigo 1: Parasitos Intestinais No Município De Londrina-Pr: Uma Análise Retrospectiva	61
	Resumo	62
1	Introdução	63
2	Material e métodos	64
2.1	Área de Estudo	64
2.2	Análise de Dados	65
2.3	Análise Estatística	65
3	Resultados	65
4	Discussão	67
5	Referências	72

4.2	Artigo 2: Ocorrência de <i>Strongyloides stercoralis</i> e outros parasitos intestinais utilizando diferentes métodos parasitológicos no município de Londrina-PR	83
	Resumo	84
1	Introdução	85
2	Material e métodos	86
2.1	Área de Estudo	86
2.2	População estudada	87
2.3	Processamento das amostras	87
2.4	Análise Estatística	87
3	Resultados	88
4	Discussão	89
5	Referências	94
4.3	Artigo 3: Detection of IgA in saliva as an alternative tool for diagnosis of human strongyloidiasis in northern Paraná	101
	Summary	102
1	Introduction	103
2	Materials and Methods	104
2.1	Study Groups	104
2.2	Samples	104
2.3	Parasite collection and preparation	105
2.4	<i>S. venezuelensis</i> alkaline extract	105
2.5	ELISA detection of IgG and IgA	105
2.6	Statistical Analysis	106
3	Results	107
4	Discussion	108
5	Referências	112
4.4	Artigo 4: IgG avidéz na avaliação da reatividade cruzada na infecção por <i>Strongyloides stercoralis</i>	119
	Resumo	120
1	Introdução	121
2	Material e Métodos	122

2.1	Pacientes.....	122
2.2	Obtenção de larvas filarioides de <i>S. venezuelensis</i>	122
2.3	Extrato salino total de <i>S. venezuelensis</i>	122
2.4	ELISA avidéz para IgG anti- <i>Strongyloides</i>	123
2.5	Análise estatística	124
3	Resultados	125
4	Discussão	125
5	Referências	127
5	Apêndice	132
5.1	Apêndice A – Parecer Consubstanciado do Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos da Universidade Estadual de Londrina	132
5.2	Apêndice B - Aquiescência da Direção da Unidade Básica de Saúde de Londrina para realização do estudo	135
5.3	Apêndice C - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE).....	136

1. Introdução

1.1. Aspectos taxonômicos e morfo-biológicos da estrogiloidíase humana

A estrogiloidíase, infecção causada pelo nematódeo *Strongyloides stercoralis* (BAVAY, 1876) infecta de 30 a 100 milhões de pessoas em 70 países, com predominância em regiões tropicais e subtropicais, podendo ser encontrada esporadicamente em regiões temperadas (SIDDIQUI; BERK, 2001; LAM et al., 2006; SUDRÉ et al., 2006; VERDONCK et al., 2007; VAIYAVATJAMAI et al., 2008).

A estrogiloidíase humana é considerada uma parasitose de condição negligenciada, e possui distribuição heterogênea, com áreas de predileção do sudoeste da Ásia, Brasil, Colômbia, Leste Europeu, Oeste da África e algumas ilhas do Caribe. Na Europa a infecção prevalece em agricultores, hortigranjeiros e trabalhadores rurais e nos países tropicais, ocorrendo principalmente em crianças pela frequente permanência em solos contaminados (PIRES; DREYER, 1993; RODRIGUEZ et al., 2001; Costa-Cruz IN: NEVES et al., 2005; BOULWARE et al., 2007; FARDET et al., 2007). Nas Américas, é encontrada desde o Canadá até Argentina e Chile. Focos com elevada endemicidade são encontrados em países como Colômbia com 20% de positividade e no Peru com 48% (REY, 2001; MERCADO et al., 2007).

No Brasil, a importância de *S. stercoralis* como agente etiológico da estrogiloidíase ou anguilulose, foi salientada primeiramente por Ribeiro da Luz em 1880. A partir de então, estudos têm sido realizados demonstrando variações na prevalência dessa parasitose em decorrência de vários fatores, tais como idade, diferenças geográficas e socioeconômicas (GENTA, 1989; PAULA; COSTA-CRUZ, 2011).

Strongyloides sp, pertence ao reino Metazoa, filo Nematoda, classe Secernentea, ordem Rhabditida, família Strongyloididae (YAMAGUT, 1961; NCBI, 2015). O gênero *Strongyloides* apresenta pelo menos 52 espécies das quais somente duas tem importância clínica para o homem: *S. stercoralis* e *S. fuelleborni* von Linstow (1905). A primeira espécie com distribuição mundial, também infecta

cães, gatos e macacos, a segunda é encontrada na África e nas Filipinas e além dos humanos, também infectam macacos (GROVE, 1996; SHARIATI et al., 2010).

Outras espécies têm sido utilizadas como modelo experimental em roedores, como *S. rattii* e *S. venezulensis*, auxiliando nos estudos da biologia, bem como na interação parasito-hospedeiro e ensaios terapêuticos, além de serem fontes de antígeno heterólogo, devido sua similaridade antigênica com *S. stercoralis*, para padronização de novas metodologias no imunodiagnóstico da estrogiloidíase humana (SATO et al., 1990; FERREIRA et al., 2007).

S. stercoralis apresenta seis formas evolutivas: fêmea partenogenética parasita e fêmea de vida livre, macho de vida livre, ovos e larvas rabditoide e filarioide (Costa-Cruz IN: NEVES et al., 2011).

No homem a infecção ocorre pela penetração ativa das larvas filarioides (L3) na pele íntegra, ou ocasionalmente, através das mucosas, principalmente da boca e do esôfago, quando são deglutidas acidentalmente através de alimentos contaminados, essas larvas secretam metaloproteases, enzimas que auxiliam na penetração e migração através dos tecidos (MARUYAMA et. al., 2006). Em seguida, as larvas ao atingirem a corrente sanguínea migram até os alvéolos pulmonares e destes ascendem pela traqueia onde são deglutidas, alcançando o intestino delgado onde irão completar seu desenvolvimento (GROVE, 1996; Costa-Cruz IN: NEVES et al., 2011).

As larvas se diferenciam em fêmeas partenogenéticas, alojando-se nas criptas de Lieberkühn e na porção superior do jejuno, onde fazem a postura. Os ovos liberados pelas fêmeas atingem rapidamente a maturidade e as larvas rabditoides (que eclodem dos ovos) migram para a luz intestinal, sendo desta forma eliminada nas fezes (PIRES; DREYER, 1993; FERREIRA; COSTA-CRUZ, 2003).

No ciclo direto, as larvas rabditoides presentes no solo ou na região perianal, se diferenciam em larvas filarioides infectantes, enquanto que, no ciclo indireto as larvas rabditoides passam por quatro diferenciações no solo, e após 18 a 24 horas produzem fêmeas e machos de vida livre (Costa-Cruz IN: NEVES et al., 2011).

A definição do sexo das larvas ocorre durante a oogênese, podendo sua constituição cromossômica n , $2n$ e $3n$ originar machos, fêmeas de vida livre ou larvas filarioides (L3), respectivamente. Infecções mais recentes garantem um grande número de larvas infectantes L3, que facilitam a reinfecção contínua do hospedeiro, já as infecções crônicas favorecem o ciclo indireto, garantindo uma fonte de L3 por longos períodos de tempo, embora a taxa de produção seja mais baixa (SHIWAKU et al., 1988).

A interação entre *S. stercoralis* e o hospedeiro humano é complexa em decorrência de sua capacidade intrínseca de reprodução, existindo em indivíduos infectados três possibilidades de evolução: a erradicação da infecção, a cronicidade decorrente da autoinfecção e a possibilidade de hiperinfecção ou disseminação (Costa-Cruz IN: NEVES et al., 2005; AHMAD et al., 2013).

Mecanismos de autoinfecção externa ou exógena e autoinfecção interna ou endógena são comuns na transmissão da estrogiloidíase, sendo que no primeiro as larvas rabditoides presentes na região perianal, diferenciam-se em larvas filarioides infectantes que aí penetram, completando o ciclo direto. No mecanismo de autoinfecção interna, larvas rabditoides, ainda presentes na luz intestinal (íleo ou cólon) de indivíduos infectados, transformam-se em larvas filarioides. Através desse mecanismo a doença pode manter-se crônica por meses ou anos (FERREIRA et al., 1999; SIDDIQUI; BERK, 2001; AHMAD et al., 2013).

A maioria dos indivíduos infectados são assintomáticos, porém, em casos mais graves da estrogiloidíase, pode ocorrer a Síndrome de Loeffler, resultando em edema pulmonar e insuficiência respiratória (PIRES; DREYER, 1993; Costa-Cruz IN: NEVES et al., 2011).

O tratamento da estrogiloidíase é limitado às formulações orais com Ivermectina, Albendazol e Tiabendazol. A Ivermectina foi aprovada pelo Food and Drug Administration (FDA) em 1997 para o tratamento da estrogiloidíase, visto que em vários estudos tem se mostrado com maior eficácia e segurança, além de apresentar menos efeitos colaterais e maior adesão do medicamento, sendo, portanto, o medicamento de primeira escolha para estrogiloidíase (DATRY et al.,

1994; HUGGINS et al., 2001; ZAHA et al., 2002; DE SOUZA et al., 2014; KHIEU et al., 2014).

1.2. Epidemiologia da estrogiloidíase humana

As helmintíases apresentam elevada prevalência mundial em continentes como Ásia, África e América Latina, onde aproximadamente 807 milhões de pessoas são acometidas por *Ascaris lumbricoides*, 604 milhões por *Trichuris trichiura* e 576 por ancilostomídeos (HOTEZ et al., 2008). Dentre as infecções causadas por geohelminhos, a estrogiloidíase está entre as seis primeiras. Esta posição refere-se apenas às infecções ativas, uma vez que o número de pessoas potencialmente expostas com quadro de infecção subclínico é muito maior (ELLIOT; SUMMERS; WEINSTOCK, 2007).

No Brasil, estima-se que 41,7 milhões de pessoas estão infectadas com *A. lumbricoides*, 18,9 milhões por *T. trichiura* e 32,3 milhões por ancilostomídeos (MASCARINI-SERRA et al., 2010). Na região de Ouro Verde em Minas Gerais, por exemplo, Carvalho e colaboradores (2012) analisaram 331 amostras de fezes de indivíduos utilizando diferentes métodos parasitológicos. Os autores relataram prevalência, em ordem decrescente, de *Giardia lamblia* (90%), *Entamoeba histolytica/E. dispar* (82,4%), *Schistosoma mansoni* (74,6%), ancilostomídeos (75%) seguido de *A. lumbricoides* (58,1%) e *S. stercoralis* (50%).

Embora essas doenças causadas por enteroparasitos, no Brasil, ainda possuem alta prevalência, podendo ser encontradas em áreas altamente desenvolvidas contrastando com áreas bastante pobres, de modo que a prevalência e o espectro parasitário variam muito. Pode-se dizer que esta variação se deve a diversos fatores observados nas diferentes áreas, como: socioeconômicos, educacionais, condições sanitárias e ambientais entre outros (MASCARINI-SERRA et al., 2010; PAULA; COSTA-CRUZ, 2011).

Com o objetivo de caracterizar as regiões quanto ao número de casos positivos, foi definido por Stuerchler (1981 apud PIRES; DREYER, 1993) as regiões mundiais de acordo com a prevalência da infecção por *S. stercoralis* em esporádica

(<1%), endêmica (1-5%) e hiperendêmica (>5%). As áreas hiperendêmicas estão situadas, principalmente, entre os trópicos, especialmente nos países em desenvolvimento da Ásia, América Latina e África Subsaariana (FARDET et al., 2007; DEVI; BORKAKOTY; MAHANTA, 2011).

Schar e colaboradores (2013) relataram as taxas de prevalência para *S. stercoralis* com base em dados de infecções publicados em todo o mundo. Na África, as taxas de infecção nas comunidades variam de 0,1 a 91,8%. No Sudeste da América e América Central, os dados evidenciam uma prevalência de 1,0%. O Brasil apresenta um número de 11% - 20% de prevalência para *S. stercoralis*, enquanto em refugiados e imigrantes do país é de aproximadamente 31% - 70%. Nas regiões desenvolvidas do mundo, como Sudeste da América do Norte e Europa, as infecções são frequentes em trabalhadores do campo e também tem origem não autóctone em razão dos imigrantes e visitantes de áreas endêmicas (SIDDIQUI; BERK, 2001; MARCOS et al., 2008; LUVIRA; WATTHANAKULPANICH; PITTISUTTITHUM, 2014).

No período entre 1990 a 2009, a ocorrência da infecção por *S. stercoralis* no Brasil foi de aproximadamente 5,5% nas cinco regiões brasileiras, o que caracteriza o país como uma área hiperendêmica (PAULA; COSTA-CRUZ, 2011).

Segundo Paula e Costa-Cruz (2011) e relatos do Ministério da Saúde (2005), os Estados de maior ocorrência da estrogiloidíase são Amazonas, Alagoas, Mato Grosso, São Paulo, Santa Catarina e Minas Gerais. Enquanto que no Estado do Paraná, utilizando técnicas parasitológicas específicas ou não para detecção de *S. stercoralis*, foi demonstrado que os índices desta parasitose variam de 0,9 a 3,3% na população em geral, podendo este dado estar subestimado, uma vez que, a notificação para esta helmintíase não é de obrigatoriedade (FALAVIGNA et al., 2008; TOLEDO et al., 2009).

Diante da elevada prevalência da infecção por *S. stercoralis* no país, o governo brasileiro, em 2005, incluiu a estrogiloidíase no “Plano Nacional de Vigilância e Controle das Enteroparasitoses” (BRASIL, 2005) e em 2007, no Programa de Aceleração do Crescimento (PAC) (MINISTÉRIO DA FAZENDA, 2007),

programas que fornecem ações em saneamento básico, objetivando a melhoria da qualidade de vida da população (PAULA; COSTA-CRUZ, 2011). Entretanto, para que esses programas sejam implementados em determinadas regiões, é preciso que se conheça a situação epidemiológica da mesma.

Sabe-se que a ocorrência da estrogiloidíase está diretamente relacionada com fatores ambientais, maior exposição a animais contaminados pela população, variações geográficas e condições relacionadas diretamente com o hospedeiro tais como imunidade, idade e fatores nutricionais. No entanto, os dados de prevalência são subestimados uma vez que os métodos de diagnóstico parasitológico utilizados na rotina laboratorial apresentam baixa sensibilidade e são, geralmente, inespecíficos para detecção desse parasito. Fato que limita as informações corretas sobre os índices epidemiológicos de determinadas regiões, além de, não realizar o diagnóstico precoce e confirmatório dessa infecção, sobretudo pela identificação das larvas que demandam métodos específicos baseados no hidrotropismo positivos das larvas e habilidade técnica para tal (HERNANDEZ-CHAVARRIA, 2001; OLSEN et al., 2009; POLANCO; GUTIÉRREZ; ARIAS, 2014).

Recentemente, estudo realizado pela nossa equipe na região de Londrina-PR, demonstrou que em um ano, analisando 2.315 amostras fecais, 447 (16,27%) destas se mostraram positivas para diferentes enteroparasitos por meio dos métodos de Faust (1939), Lutz (1919), Kato (KATO; MIURA, 1954) modificado por Katz (KATZ; CHAVES; PELLEGRINO, 1972) e Rugai (1954), e que dentre esse número, 28 (6,26%) indivíduos foram positivos para *S. stercoralis* (in press).

Estudos retrospectivos realizados nos municípios de Ibiporã e Rolândia, regiões próximas à Londrina, foram realizados a fim de melhores esclarecimentos a cerca da importância e prevalência das enteroparasitoses no norte do Paraná. Em Rolândia-PR no período de janeiro de 2010 a abril de 2014, foram analisados 9.924 prontuários de pacientes atendidos em Unidades Básicas de Saúde (UBS) e hospitais da cidade. Deste total, a maioria 77,26% (n=7.667) era pertencente ao gênero feminino e 22,74% (n=2.257) masculino. Foi observado 14,08% (n=1.397) prontuários com resultados positivos, com 146 casos de bi ou poliparasitismo. Dentre estes, 0,44% (n=7) casos foram confirmados para *S. stercoralis*. Enquanto

que, no município de Ibiporã-PR, foram analisados 5.419 prontuários de pacientes atendidos em UBS e hospitais regionais, no período de janeiro de 2010 a dezembro de 2013. Prontuários de 17,33% (n=939) indivíduos apresentaram teste parasitológico positivo para enteroparasitos, sendo 9,0% (n=103) casos positivos para *S. stercoralis* (BOSQUI et al., 2014). Entretanto, vale ressaltar que o método utilizado na rotina laboratorial para a detecção dos parasitos, não foi específico para detecção deste helminto, inferindo assim que esses dados possam estar subestimados.

Os dados elevados de prevalência parasitária, mesmo que subestimados, reforçam a importância dos mesmos na saúde pública uma vez que as infecções ocasionadas em decorrência do parasitismo, seja de forma isolada ou quando o paciente apresenta poliparasitismo ou mesmo outras infecções concomitantes, assume caráter grave especialmente em pacientes com quadro de imunossupressão onde o diagnóstico incorreto ou tardio, impede o tratamento adequado podendo o indivíduo evoluir para óbito (COSTA et al., 2003).

A importante relação dos parasitos com os quadros de imunossupressão tem sido demonstrada por diversos autores, Assefa e colaboradores (2009) analisando 378 amostras de fezes de pacientes com HIV-AIDS na Etiópia demonstravam que entre os helmintos, *A. lumbricoides*, nesses pacientes, apresentou maior positividade (12,4%) seguida de 7,4% de *S. stercoralis*. Em indivíduos imunocomprometidos a ocorrência da estrogiloidíase no Brasil no período de 1990 a 2009 foi de 11,8% quando utilizando métodos parasitológicos e de 19,5% por métodos imunológicos. Os autores relatam que a ocorrência da infecção aumenta com a idade e está diretamente relacionada com fatores e condições epidemiológicas da população, contudo, aspectos epidemiológicos da estrogiloidíase ainda são desconhecidos principalmente à associação com outras parasitoses (PAULA; COSTA-CRUZ, 2011).

A alta probabilidade de incidência de *S. stercoralis* e principalmente de casos de estrogiloidíase grave, tem gerado atenção maior para essa parasitose tanto para a pesquisa como também pela inserção desta em programas de controle e de vigilância epidemiológica associada ao ministério da saúde, já que é considerado um problema de saúde pública, principalmente nos últimos anos (PAULA; COSTA-

CRUZ, 2011). Apesar dos avanços científico-tecnológicos visando melhorias no tratamento e prevenção nesse âmbito, a estrogiloidíase é considerada ainda uma doença parasitária de grande importância no Brasil devido à abrangência e endemicidade e, principalmente, por assumir caráter grave, por vezes fatal, nesses indivíduos (KASSALIK; MONDEMULLER, 2011; MEJIA; NUTMAN, 2012).

1.3. Imunopatogenicidade da estrogiloidíase e a Imunoglobulina A (IgA)

A estrogiloidíase é assintomática na maioria dos casos, entretanto, alguns indivíduos podem apresentar desconfortos gastro intestinais. A presença de ovos, larvas e parasitos adultos na mucosa do intestino delgado resultam em uma reação inflamatória, o que pode ocasionar a síndrome de má absorção e consequentemente, diarreia crônica com perda proteica, dor abdominal, hemorragia com desenvolvimento de quadros de hipoalbuminemia e anemias (GROVE, 1996; BOULWARE et al., 2007; FARDET et al., 2007).

Nos sintomas mais graves, onde a carga parasitária é maior, a enterite é ulcerativa, resultante de uma inflamação com eosinofilia intensa e infecções secundárias associadas (pela invasão bacteriana) presentes nas ulcerações que, durante a evolução, serão substituídas por tecido fibrótico, levando a rigidez da mucosa intestinal. Observam-se ainda, diarreia persistente, náuseas e vômitos, síndromes disentéricas esteatorréicas, seguidas de desidratação e ocasionalmente, pode levar ao choque hipovolêmico, associado a vômitos, emagrecimento e acentuado comprometimento do estado geral do doente, muitas vezes fatal (FERREIRA; COSTA-CRUZ, 2003).

Os sintomas pulmonares apresentam intensidade variável, estando presentes em todos os indivíduos infectados, caracterizando-se por tosse com ou sem expectoração, dispneia, crises asmáticas pela presença das larvas filarioides e ocasionalmente de fêmeas parasitas, que aí podem atingir a maturidade liberando larvas rabditoides. A migração e a muda das larvas filarioides podem provocar rompimento dos capilares dos alvéolos causando hemorragias e infiltrado inflamatório, constituído de linfócitos e eosinófilos, podem ser limitados ou em casos

mais graves, provocar a Síndrome de Löffler, edema pulmonar e insuficiência respiratória (PIRES; DREYER, 1993; Costa-Cruz: IN NEVES et al., 2005).

A resposta imune do hospedeiro ao *S. stercoralis* é um fator importante no controle da disseminação da doença, em decorrência da complexidade da interação parasito-hospedeiro e da capacidade do parasito induzir diferentes formas clínicas de infecção no homem, porém pouco se sabe sobre quais são os mecanismos que este parasito utiliza para escapar da resposta imune tanto na estrogiloidíase humana quanto em modelos experimentais (NEGRÃO-CORRÊA, 2001; IRIEMENAM et al., 2010).

No epitélio intestinal, as mucinas produzidas localmente, constituem uma barreira luminal que é a primeira linha de defesa do hospedeiro contra patógenos invasores. Se o invasor vence a primeira linha de defesa no epitélio e lâmina própria os receptores *Toll-like* (TLRs) que fazem parte da resposta imune inata e reconhecem os parasitos via PAMPs (*pathogen-associated molecular patterns*) levam à produção de citocinas inflamatórias e moléculas coestimulatórias pelas células dendríticas e macrófagos. Dependendo do TLR estimulado, haverá polarização de uma resposta adaptativa de células T com perfil Th1 para Th2, por exemplo, a sinalização pelo TLR-2 induz a produção de IL-4, IL-5 e IL-13, resposta humoral mediada por IgE e resposta celular mediada por eosinófilos e mastócitos, que está relacionada com a habilidade do hospedeiro em expelir nematódeos intestinais (GAUSE et al., 2003; MONCADA et al., 2003; NEGRÃO-CORRÊA et al., 2006; FERREIRA et al., 2007; KEREPESI et al., 2007).

A produção de IL-4 que é necessária para proteção contra diversos helmintos, limita a gravidade da infecção e interfere na resposta imune diretamente na fisiologia do intestino, aumentando o conteúdo de fluido no trato digestivo. Este aumento de fluido é decorrente também do aumento da permeabilidade intestinal e redução da absorção de líquidos (GOLDHILL et al., 1997). Enquanto que as citocinas IL-12 e IL-18, produzidas primariamente pelos macrófagos e outras células acessórias, induzem a produção de Interferon-gama (INF- γ) favorecendo a proliferação e a ativação das células Th1, modulando a resposta imune protetora dependente de Th2 (MAcDONALD et al., 2002; ARIZONO et al., 2007; MAIZELS et al., 2009).

No mecanismo T-independente moléculas inflamatórias inespecíficas, secretadas por macrófagos, incluindo fator de necrose tumoral alfa ($TNF\alpha$) e interleucina 1 (IL-1), contribuem para a proliferação de células caliciformes estimulando o aumento na secreção de muco, que reveste os parasitos e levam à sua expulsão (MARUYAMA et al., 2000; NEGRÃO-CORRÊA, 2001; Costa-Cruz: IN NEVES et al., 2005; TEZUKA et al., 2007).

As células T auxiliares 17 (Th17) estão sendo estudadas em diversos modelos de camundongos infectados por helmintos. Sabe-se que as células Th17 são importantes na resposta inflamatória nos humanos, elas proporcionam imunidade antimicrobiana em barreiras epiteliais/mucosas e produzem citocinas inflamatórias como IL-17 e IL-22 (STEINMAN, 2007). As células Th17 mais a citocina $IFN-\gamma$ estão relacionadas com as principais doenças autoimunes, devido a inflamação causada e a enorme lesão tecidual que são capazes de provocar. Estudos demonstram que a maioria dos helmintos, como por exemplo, *Schistosoma mansoni*, são capazes de modular a resposta imune e prevalecer uma resposta Th2 com produção principalmente de IL-4, inibindo por vez uma resposta inflamatória Th1/Th17 (WYNN, 2007). Isso permite uma maior sobrevivência dos camundongos, e pode ajudar a explicar a baixa incidência de doenças autoimunes em regiões onde as infecções por helmintos são endêmicas (BAZZONE et al., 2008).

A figura 1 mostra essa modulação para uma resposta anti-inflamatória com perfil Th2 ocasionada pelo parasito. Esse tipo de resposta envolve a produção de citocinas como a linfopoiétina estromal tímica (TSLP) produzida na mucosa do intestino em resposta aos receptores TLR, que são capazes de inibir a produção de citocinas pró-inflamatórias como a IL-12. As células T reguladoras também são essenciais para a sobrevivência do parasito, pois permite o estabelecimento da infecção crônica. Outra célula que participa dessa resposta são os basófilos, os quais são ativados por IgE e possuem a função de secretar IL-4 podendo ativar os macrófagos alternativos (M2) (MAIZELS et al., 2009; YAZDANBAKHSH.; SACKS, 2010). Os macrófagos M2, também denominados de alternativamente ativados, são caracterizado por sua capacidade de secretar citocinas anti-inflamatórias e

imunossupressoras como IL-3, IL-4, IL-10 e TGF- β (GINDERACHTER et al., 2006; REZENDE et al., 2007).

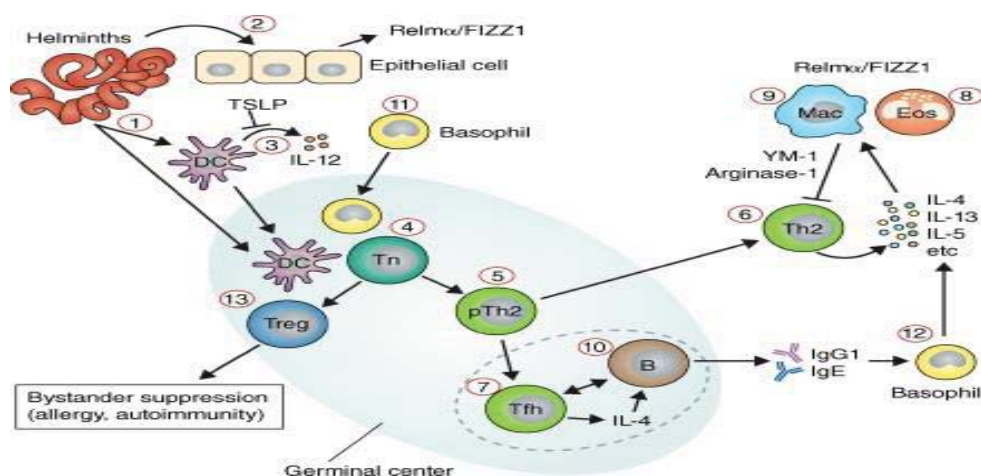


Figura 1. Interações celulares na resposta imune para helmintos. Antígenos derivados de helmintos podem ser drenados diretamente para os órgãos linfoides secundários, ou interagir com células no local da infecção, incluindo células dendríticas (DC) (1) ou células epiteliais (2). Muitos antígenos de helmintos são capazes de inibir a produção de citocinas pró-inflamatórias por DCs (3), e desencadear a produção de citocinas, tais como linfopietina do estroma do timo (TSLP) de células epiteliais, o que inibe a produção de IL-12 por DCs. DCs que transportam antígenos ativam as células Th naiva (4), que se proliferam e se diferenciam em células Th2 precursoras (5). As células pTh2 podem tornar-se, em seguida, as células Th2 (6) ou células T auxiliares foliculares (TFH) (7). As células Th2 liberam várias citocinas, incluindo IL-5, que conduz a eosinofilia (8), e IL-4/-13, que estimulam macrófagos alternativamente ativados (AAMs) (9). AAM, por sua vez produzem moléculas como arginase-1 e YM-1 (proteína expressa em células mieloides de camundongos), que minimizam as respostas Th2. Tfh produzem IL-4 e proporcionam ajuda às células B para a produção de IgG1 e IgE (10). Durante a resposta precoce de infecções helmínticas, MHC de classe II que são expressas em basófilos (11) introduzidas nos órgãos linfoides secundários, podem ajudar a polarizar a resposta Th2. IgE pode ativar basófilos (12), que por sua vez produzem citocinas que ativam macrófagos alternativos. As infecções por helmintos, também podem promover o desenvolvimento da resposta de células T reguladoras (13) (MAIZELS et al., 2009).

No homem, tanto a infecção na forma assintomática como na sintomática com a presença de sintomas leves, tem sido demonstrado aumento nos níveis de anticorpos das classes IgA, IgM, IgG, IgG1, IgG4 e IgE específicos (GENTA, 1989; ATKINS et al., 1997; HIRATA et al., 2006; RODRIGUES et al., 2007). A hipersensibilidade mediada pela IgE antígeno específica é a mais rápida resposta imune efetora contra os parasitos e inicia-se quando os mastócitos já sensibilizados,

liberam os mediadores pré-formados estocados em grânulos intracitoplasmáticos que incluem a histamina, heparina, proteases e fatores quimiotáticos para eosinófilos e neutrófilos (GALIOTO et al., 2006).

A eosinofilia é consequência comum nas infecções parasitárias, principalmente nas infecções por helmintos que invadem os tecidos durante a fase larvária do desenvolvimento. Entre os nematóides intestinais, ancilostomídeos e *Strongyloides* são os que apresentam eosinofilia mais elevada (MEEUSEN; BALIC, 2000). Os eosinófilos são capazes de eliminar os parasitos através da liberação de substâncias como proteínas tóxicas, bem como radicais livres, que podem destruir o parasito como também produzir lesões teciduais nas reações alérgicas (ORTIZ et al., 2000). Os eosinófilos produzem algumas moléculas como as prostaglandinas, leucotrienos e citocinas, que amplificam a resposta imune inflamatória, recrutam e ativam mais eosinófilos e outros leucócitos. Essas moléculas agem na superfície do parasito, através da citotoxicidade celular dependente de anticorpo, o qual facilita o processo de desgranulação (KEREPESI et al., 2007).

As manifestações extra intestinais promovem quadros graves, potencialmente fatais em indivíduos imunocomprometidos, seja pela desnutrição, corticoterapia (que acelera a diferenciação das larvas rabditóides em filarióides), agentes citostáticos, uso de raios X, leucemias, linfomas, insuficiência renal crônica, neoplasias, diabetes, lúpus eritematoso sistêmico, pela Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (SIDA) ou presença do HIV. Entre as inúmeras imunossupressão associadas com estrongiloidíase grave, a corticoterapia e a infecção pelo vírus T-linfotrópico humano tipo 1 (HTLV-1) são as mais frequentes (DEVAULT et al., 1990; FERREIRA et al., 1999; SAFDAR et al., 2004; KEISER; NUTMAN, 2004; MENDONÇA et al., 2006; MACHADO et al., 2008).

A imunossupressão induzida pelos corticosteróides reduz o número de eosinófilos em circulação por inibição de sua proliferação e na promoção da apoptose de células Th2. Os corticosteróides também podem causar a morte de linfócitos imaturos e perda da resposta celular contra *S. stercoralis*. O HTLV-1 também está envolvido nessas manifestações, principalmente em quadros de

hiperinfecção, pois o vírus parece diminuir a resposta imunológica do hospedeiro contra o parasita.

O HTLV-1 infecta as células T e induz uma forte resposta Th1, consequentemente diminuindo drasticamente a resposta Th2. Isto permite a secreção de níveis elevados de citocinas como IFN- α e IFN- β e a ativação de células T citotóxicas e células Natural Killer (NK). Com a diminuição dos níveis de citocinas anti-inflamatórias (IL-4, IL-5, IL-13), os baixos níveis de IL-4 e IgE levam à diminuição da função de células como os mastócitos e níveis reduzidos de IL-5 diminuem o recrutamento de eosinófilos dificultando a eliminação do parasito (MIRDHA, 2009; IRIEMENAM et al., 2010; MONTES; SAWHNEY; BARROS, 2010). Esses quadros graves são capazes de levar a uma hiperinfecção, como consequência da exacerbação do ciclo de autoinfecção, onde as larvas atingem os pulmões, ou ainda a estrogiloidíase disseminada, atingindo locais fora dos sítios usuais, como o sistema nervoso, rins e fígado, condições essas que apresentam elevada taxa de mortalidade, por serem difíceis de serem reconhecidas clinicamente (DE BONA, 2008; AGRAWAL; AGARWAL; GHOSHAL, 2009; PAULA; COSTA-CRUZ, 2011).

Os anticorpos IgG são os mais frequentemente detectados no soro, representando cerca de 75% das imunoglobulinas séricas, pois permanecem por um longo tempo, após a cura terapêutica (Costa-Cruz: IN NEVES et al., 2011). As subclasses de IgG podem exercer efeitos diferentes sobre a resposta alérgica. Os níveis basais de IgG1, são preditivos para uma resposta mais tardia após uma estimulação com um alérgeno, diferentemente da subclasse IgG4 a qual tem se atribuído uma atividade protetora, atuando como um fator inibitório da reação de hipersensibilidade mediada por IgE (MORI et al., 2001).

A autoinfecção e a contínua migração da larva filarioide pelos tecidos resultam em incessante exposição sistêmica aos antígenos parasitários, acarretando o aumento da resposta promovida por IgG4 que modula as reações alérgicas mediadas pela IgE por meio da competição ou inibição de sua ligação às células, principalmente mastócitos (MAcDONALD et al., 2002; Costa-Cruz: IN NEVES et al., 2005). Assim, a estrogiloidíase crônica pode ser resultado da diminuição das

respostas de hipersensibilidade (IgE mediadas) para a persistente autoinfecção, com consequente redução dos efeitos imunopatológicos da anafilaxia constante (ATKINS et al., 1997). No entanto, nos casos de doença disseminada e de imunossupressão, os níveis de IgE podem estar normais (MARCOS et al., 2008).

A IgA é o segundo anticorpo mais presente no soro e representa a classe mais frequente nas mucosas e secreções. Especificamente na estrogiloidíase, a IgA exerce importante função, uma vez que, o parasito envolve respostas pulmonares e intestinais do hospedeiro mediadas por esse anticorpo (ATKINS et al., 1999; COSTA et al., 2003; GONÇALVES et al., 2012a).

A descrição da Imunoglobulina A (IgA) sérica e suas propriedades por Heremans; Heremans e Schultze (1959), foi o ponto inicial para estudos de vários autores nas respostas desse anticorpo às parasitoses (LAN; WILLCOX; JACKSON, 1997; BRANDTZEG, 1985; DELACROIX, 1982; MESTECKY et al., 1987; CONLEY; DELACROIX, 1987). IgA sérica representa 10% a 15% do total de imunoglobulinas circulantes. A maioria das IgA sérica circulante (80-90%) é produzida na medula óssea e pertence à subclasse de IgA1, enquanto no trato intestinal predomina a subclasse dimérica IgA2 sintetizada principalmente em sítios da mucosa. A vida média da IgA sérica é de três a seis dias. Em relação ao catabolismo da imunoglobulina A, é relativamente rápido comparado à IgG, e isso pode resultar em baixos níveis séricos de IgA (WOOF; KERR, 2006; KADAOUJ; CORTHESEY, 2007; BENCKERT et al., 2011).

A IgA exibe quatro propriedades que facilitam a sua função nas superfícies das mucosas. A polimerização e a interação com o componente secretor (CS), uma proteína produzida pelas células epiteliais que atua como receptor de transporte para IgA e torna-se parte integrante da molécula IgA secretada, permite que a mesma tenha uma maior capacidade de ligar-se a antígenos e aglutiná-los (SANDERSON; WALKER, 1999; WOOF; KERR, 2006).

Outra propriedade trata-se da resistência à proteólise, a interação da molécula IgA com o CS para formar IgA secretora, torna a molécula menos susceptível à digestão proteolítica no ambiente intestinal rico em proteinase. Além

disso, podem apresentar propriedades anti-inflamatórias, bem como inflamatórias. As propriedades anti-inflamatórias consistem na porção Fc da IgA, que diferentemente de IgM ou IgG, não reage com componentes da via clássica ou da via alternativa do complemento, exceto, possivelmente, quando IgA está altamente polarizada ou encontra-se na forma de imunocomplexo, mesmo assim, ela não se liga ao C3b, portanto, não recruta células inflamatórias nem mediadores. A ligação de IgA a neutrófilos e outras células fagocíticas através do domínio Fc resulta em inibição das funções fagocíticas e líticas dessas células. O conjunto Fc/CS da IgA interfere na fixação de microrganismos às células epiteliais, aprisionando-os na camada de muco, impedindo assim, a colonização dos patógenos sem induzir inflamação. Em contrapartida, IgA pode e tem capacidade de mediar efeitos inflamatórios em determinadas circunstâncias, como é o caso do contato com partículas recobertas por IgA, levando à opsonização e ativação fagocítica através do receptor Fc (MESTECKY; MCGHEE, 1987; SANDERSON; WALKER, 1999; WOOF; KERR, 2006).

A Imunoglobulina A dimérica representa a classe mais proeminente nas mucosas e suas secreções, podendo estar presente no leite materno, suor, lágrimas, saliva, suco gástrico e muco (BENCKERT et al., 2011). O fato do ciclo biológico do parasito apresentar o envolvimento de mucosas pulmonar e intestinal possibilita ao hospedeiro elaborar resposta local e sistêmica mediada por IgA (ATKINS et al., 1999; GONÇALVES et al., 2012a). Pacientes com sintomatologia grave tem redução significativa da concentração de IgA e IgM, porém, não há alteração nos níveis de IgG, principalmente da subclasse IgG4, indicando proteção (Costa-Cruz: IN NEVES et al., 2005).

A forma dimérica da IgA secretória (IgAs) está ligada a outra proteína denominada peça secretora. Este componente facilita o transporte e impede a ação proteolítica sobre a IgA (SALVI; HOLGATE, 1999; BLAISE, 2013). Uma vez que a IgA tenha sido segregada pelas células plasmáticas da mucosa, ela se liga ao receptor de imunoglobulina polimérica (pIgR), o qual irá transportá-la para o interior de vesículas através de células epiteliais do intestino delgado, para a superfície luminal, onde o receptor é liberado por clivagem proteolítica do pIgR, deixando uma

quantidade do fragmento da proteína de transporte (chamado componente secretor) ligado e outra parte livre (figura 2) (BRANDTZAEG, 1973; BRANDTZAEG, 1974; MACPHERSON et al., 2008; BLAISE, 2013). A IgA é dimerizada por um componente J, que liga as cadeias pesadas de duas moléculas de IgA. O transporte de IgA tem função útil, podendo ser disseminada através da mucosa intestinal, permitindo a migração para diferentes tecidos linfoides associados a mucosas (Elia: In ELIA SOUZA, 2001; BRANDTZAEG, 2003).

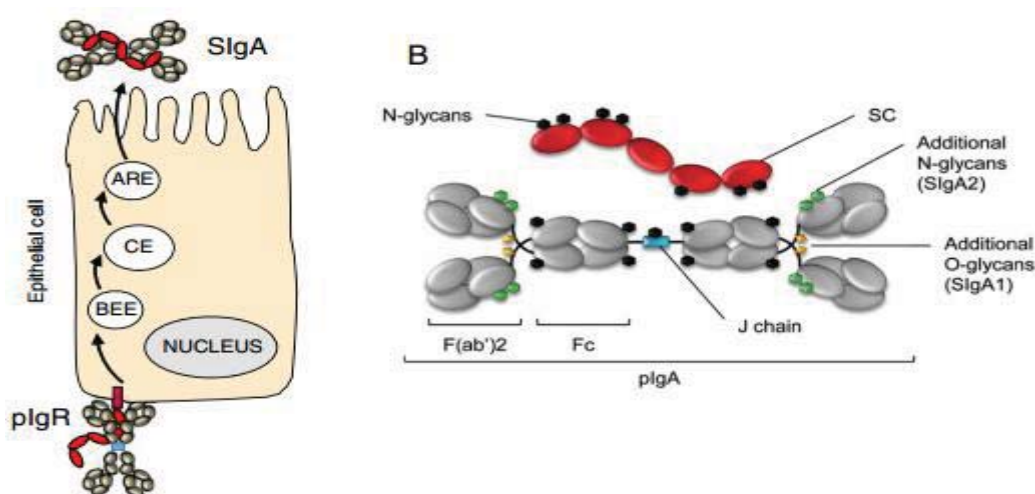


Figura 2. (A) Caminho que conduz à liberação de IgA secretora (SIgA) nas secreções de mucosas. (B) Componentes da IgA:., cadeias leves e pesadas, componente J, componente secretor (Blaise Corthésy, 2013).

A descoberta de que, a IgA é a classe predominante nas secreções intestinais, contribuiu para avanços no campo da imunologia de mucosa, isso pode ser explicado devido a maior quantidade de linfócitos B ativados, cerca de 80%, estarem presentes na mucosa intestinal, tornando o intestino o maior órgão produtor de anticorpos no organismo (CHODIRKER; TOMASI, 1963; BENCKERT et al., 2011).

Outras imunoglobulinas podem ser produzidas na mucosa, como é o caso da IgM, que também pode ser transportada através das células epiteliais pelo mecanismo do CS, em geral, serve como substituto adequado da IgA em indivíduos com deficiência seletiva de IgA. Por outro lado, a síntese de IgG é muito baixa na maioria das áreas da mucosa, e esta imunoglobulina não pode ser transportada através do epitélio. A IgE também pode ser sintetizada nos tecidos da mucosa,

particularmente durante infecções parasitárias ou em certos estados alérgicos, entretanto, as células B produtoras de IgE não se localizam preferencialmente na mucosa, e a proporção de células B presentes na mucosa que sintetizam IgE é pequena (McINTYRE; STROBER, 1999). Diante disso, IgA secretória é a imunoglobulina mais presente na mucosa do trato respiratório saudável, além de ser importante na defesa intestinal, sendo capaz de promover fagocitose, através da ligação nos receptores expressos na superfície de eosinófilos, neutrófilos e monócitos/macrófagos e neutralizar vírus em células epiteliais (MONTEIRO; VAN DE WINKEL, 2003).

A contribuição celular para a indução de IgA pode ser tanto via resposta T-dependente quanto T-independente. Nas respostas T-dependente, as subpopulações de células TCD4⁺ envolvidas nas placas de Peyer incluem T-helper 2 com produção das citocinas IL-4, IL-5, IL-6 e IL-10, células T-reguladoras produzindo fator beta transformador do crescimento (TGF- β) e as células T-foliculares que auxiliam as células B com a produção de TGF- β e IL-21 (DULLAERS et al., 2009).

A indução de IgA T-independente ocorre através da produção de TGF- β , BAFF (fator de ativação da célula B da família de citocinas TNF) e APRIL (ligante de indução de proliferação) de células dendríticas foliculares que exibem arranjos de antígeno de superfície da célula-alvo que recrutam linfócitos B (CERUTTI, 2008).

A base do desenvolvimento preferencial de células B produtoras de IgA nas placas de Peyer ainda não está totalmente elucidada. Um fator identificado é o fato de que a mudança para classe IgA exige a presença do TGF- β e que as células T capazes de produzir TGF- β desenvolvam-se na placa de Peyer. Embora TGF- β seja necessário para a diferenciação das células B produtoras de IgA, ele sozinho não é suficiente. Com efeito, a estimulação por CD40L ou por antígeno também é necessária, talvez para impedir a morte apoptótica das células B expostas a concentrações relativamente altas de TGF- β . Os efeitos das citocinas IL-4 e IL-5 também podem ser decisivos (McINTYRE; STROBER, 1999).

As células B produtoras de IgA são capazes de estabelecer residência no tecido mamário em lactação após a secreção de determinados hormônios gestacionais. A concentração de IgA nas secreções mamárias iniciais (colostró) é extremamente alta, cerca de 50 mg/mL, além da IgA outros componentes solúveis em seu conjunto atuam na defesa do hospedeiro no intestino do recém nascido (BUTLER, 1999).

Anticorpos IgA específicos para *Strongyloides* foram previamente detectados em amostras de soro e principalmente nos fluídos de mucosa, como leite materno e saliva, utilizando preparações de larvas homólogas ou heterólogas em imunoenaios (ATKINS et al., 1999; GONZAGA et al., 2011a; MOTA-FERREIRA et al., 2009; RIBEIRO et al., 2010a).

Rodrigues e colaboradores (2009) demonstraram que as moléculas MHC de classe II são essenciais para a imunidade protetora, induzindo a produção de anticorpos como IgA nas mucosas, e levando ao mecanismo de eliminação de *S. venezuelensis* em murinos. Esses resultados evidenciam o importante papel da IgA em casos de estrogiloidíase, tornando-a uma ferramenta importante no imunodiagnóstico.

O papel da resposta humoral na estrogiloidíase crônica, na detecção de diferentes imunoglobulinas aos antígenos de larvas filarioides de *S. stercoralis*, foi examinado também por Atkins e colaboradores (1999), onde observaram a resposta imune mediadas por IgA, inibem a fecundidade do verme e a viabilidades dos ovos na estrogiloidíase humana, enquanto que as respostas mediadas por IgE estão envolvidas na regulação da autoinfecção das larvas e que IgG4 bloqueia respostas alérgicas mediadas por IgE.

Diante das considerações acima citadas, observa-se que IgA produzidas localmente nas mucosas são importantes na defesa contra *S. stercoralis* e que a deficiência de IgA pode ter implicações clínicas em termos de uma lenta recuperação incompleta e infecção disseminada causada pelo helminto (WENMAN, 1987; SINGH et al., 2014). Além de promover o entendimento da resposta imune humoral desencadeada por *S.stercoralis*, a pesquisa de anticorpos principalmente

das classes IgM, IgA e IgG, é importante também para o diagnóstico complementar da estrogiloidíase (Costa-Cruz: IN NEVES et al., 2011).

1.4. Diagnóstico da estrogiloidíase

O diagnóstico da estrogiloidíase é confirmado pelo encontro das formas parasitárias de *S. stercoralis*. As larvas são usualmente visualizadas nas fezes, podendo ser vistas no fluído duodenal e ocasionalmente, em outros tecidos ou fluídos de pessoas infectadas. No entanto, na grande maioria dos indivíduos, o parasito é encontrado em número reduzido, devido à baixa e irregular eliminação das larvas nas fezes. Desta forma as técnicas de rotina para o exame coproparasitológico como Hoffmann, Pons e Janer (1934), Ritchie (1948) e Faust (1939), não são adequados para a detecção do mesmo. Os métodos parasitológicos de Baermann (1917), modificado por Moraes (1948) e de Rugai, Mattos e Brisola (1954) são indicados, pois se baseiam no hidro e termotropismo das larvas. Ainda assim, são necessárias várias amostras de fezes colhidas em dias alternados (SIDDQUI; BERK, 2001; FELICIANO et al., 2010).

São descritos também os métodos de cultura, utilizados com a finalidade de promover a diferenciação das larvas e tornar possível sua identificação, embora seja tecnicamente difícil pelo risco de infecção durante a manipulação das larvas infectantes e pela demora na obtenção dos resultados (STEINMANN et al., 2007; INÊS et al., 2013).

Em pacientes com estrogiloidíase grave, o exame da secreção do lavado brônquico ou biópsia da pele pode ser o método diagnóstico mais provável, porém na maioria das vezes o diagnóstico é realizado *post-mortem* (LEUNG; LIEW; SUNG, 1997). Há relatos de estrogiloidíase severa confirmada por métodos não usuais de diagnóstico, como biópsia do sistema digestivo, exame do fluído alveolar, análise da secreção respiratória por microscopia fluorescente, sangue periférico e fluído cerebrospinal (ONUIGBO; IBEACHUM, 1991; TAKAYANAGUI et al., 1995; NOMURA; REKRUT, 1996; VAN DOORN et al., 2007).

Métodos indiretos como o hemograma permite a visualização das variações hematológicas que ocorrem nas doenças parasitárias, como anemia e eosinofilia. Os eosinófilos compreendem 2 a 4% dos leucócitos em indivíduos não alérgicos, observa-se um aumento na taxa de eosinófilos de até 82% na fase aguda da doença, no entanto diminui na fase crônica 8 a 15%, desaparecendo nos casos de evolução grave ou fatal (TRAJMAN; MacDONALD; ELIA, 1997; ONAH; NAWA, 2000; LOUFTY et al., 2002; BOULWARE et al., 2007).

Os testes imunológicos têm sido úteis na avaliação da resposta imune do hospedeiro, nos casos de formas assintomáticas com a finalidade de esclarecimento do diagnóstico clínico, e em inquéritos soro epidemiológicos por apresentarem elevada sensibilidade em relação aos métodos parasitológicos (FOGAÇA et al., 1990; LINDO et al., 1996; Costa-Cruz: IN NEVES et al., 2005; SUDRÉ et al., 2006). O teste imunológico mais utilizado, por apresentar elevada sensibilidade e especificidade, é o *enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA) para pesquisa de anticorpos específicos do parasito, utilizando como antígeno extrato salino e alcalino de larvas filarioides, homólogas ou heterólogas (GENTA, 1988; CONWAY et al., 1993; LINDO et al., 1996; SATO; KOBAYASHI; SHIROMA, 1995; SCHAFFEL et al., 2001, MERCADO et al., 2002; YORI et al., 2006; VAN DOORN et al., 2007; RODRIGUES et al., 2007).

Com o intuito de auxiliar no diagnóstico precoce desta helmintíase, e pela dificuldade na obtenção de antígenos homólogos de *S. stercoralis*, estudos têm sido realizados utilizando o extrato antigênico heterólogo no imunodiagnóstico da estrogiloidíase humana. O emprego do extrato alcalino de larva filarioide de *S. venezuelensis*, visto que, Machado e colaboradores (2003) verificaram alta sensibilidade e especificidade na detecção de IgG específica em soro humano pelo teste de ELISA. Frações purificadas do extrato bruto de *S. venezuelensis* com triton X-114, a fração detergente do extrato salino demonstrou alta especificidade, para o imunodiagnóstico sorológico humano (FELICIANO et al., 2010). Além disso, Gonçalves e colaboradores (2012b) demonstraram que extratos alcalinos produzidos a partir de fêmeas partenogênicas, larvas filarioides e ovos de *S. venezuelensis* podem ser utilizados como ferramenta alternativa no imunodiagnóstico, embora o

melhor extrato antigênico continue sendo o extrato produzido a partir de larvas filarioides.

Ribeiro e colaboradores (2010a) utilizando extrato salino total de *S. venezuelensis* e fase detergente, relataram pela primeira vez, a detecção de anticorpos IgA e IgG em amostras pareadas de soro e saliva na estrogiloidíase humana, podendo também, ser uma alternativa na detecção de anticorpos nessas amostras.

O imunodiagnóstico é considerado um método auxiliar por apresentar elevada sensibilidade e especificidade, porém, nem sempre é capaz de distinguir entre uma infecção ativa por *S. stercoralis* daqueles casos negativos no exame coprológico e positivo no imunológico. Sendo assim, ensaios baseados na avidéz de anticorpos IgG em amostras de soro, tem sido propostos para avaliar infecções quanto à etiologia, infecção primária, identificação do período pré-patente e para a diferenciação entre fase aguda e crônica (GUITIERREZ; MAROTO, 1996).

Avidéz ou afinidade funcional é classificada como o conjunto de forças de ligação entre um anticorpo e um antígeno, e já vem sendo utilizada no diagnóstico imunológico de diferentes doenças, especialmente as parasitárias, como toxoplasmose (MARCOLINO et al., 2000; BÉLA et al., 2008), hidatidosis (STERLA et al., 2009), esquistossomose (VIANA et al., 2001), toxocaríase (DZIEMIAN et al., 2008) neurocisticercose (MANHANI et al., 2009) e estrogiloidíase (GONZAGA et al., 2011b).

A afinidade dos sítios de ligação do anticorpo para a ligação ao antígeno aumenta com o tempo do desafio antigênico (KHAN et al., 2009; GONZAGA et al., 2011b). Durante as infecções primárias, o estímulo antigênico, primeiramente, induz uma baixa afinidade, enquanto que, em casos de infecções crônicas ou reinfecções, há produção de anticorpos específicos de alta avidéz (ABBAS; LICHTMAN; POBER, 2003). Protocolos utilizando métodos como aglutinação, fixação do complemento, Reação de imunofluorescência indireta (RIFI) e *Immunoblot* já foram padronizados, porém, ELISA é a técnica mais utilizada (GUITIERREZ; MAROTO, 1996; KHAN et al., 2009; GONZAGA et al., 2011b).

A reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI) também pode ser realizada utilizando antígenos de larvas filarioides para detecção de diferentes classes de imunoglobulinas, tanto no soro quanto na saliva. (GROVE; BLAIR, 1981; ROSSI et al., 1993; COSTA-CRUZ et al., 1997; COSTA et al., 2003; BOSCOLO et al., 2007; MACHADO et al., 2008; GOTTARDI et al., 2015).

Outro teste utilizado para o diagnóstico da estrogiloidíase é *Western blotting* ou *Immunoblotting* por ser uma técnica altamente sensível e específica no reconhecimento de frações proteicas da larva filarioide de *S. stercoralis* ou heterólogas (SATO et al., 1990; ATKINS et al., 1999; UPARANUKRAW; PHONGSRI; MARAKOTE, 1999; SILVA et al., 2003; RODRIGUES et al., 2004; SUDRÉ et al., 2007).

A biologia molecular também tem se mostrado uma ferramenta diagnóstica indicada na estrogiloidíase, principalmente pela produção de antígeno recombinante de larva filarioide o que tem sido utilizado em reação imunoenzimática (RAVI et al., 2002; PAULA et al., 2013; LEVENHAGEN; COSTA-CRUZ, 2014; PAK et al., 2014). Recentemente tem sido padronizado a reação em cadeia de polimerase em tempo real (RT-PCR) para detecção de DNA de *S. stercoralis* em material fecal humano (VERWEIJ et al., 2009; KRAMME et al., 2011; PAULA et al., 2015).

1.4.1. Utilização da saliva como ferramenta no diagnóstico da estrogiloidíase

Diante das citações acima e neste contexto, é fácil perceber os avanços nas pesquisas envolvendo anticorpos no diagnóstico da estrogiloidíase utilizando extratos heterólogos e também amostras biológicas diversificadas como, por exemplo, a saliva.

Nos últimos anos, houve aumento gradativo no número de pesquisas utilizando anticorpos salivares específicos em doenças infecciosas, bem como para pesquisa de biomarcadores na epidemiologia e toxicologia (RIBEIRO et al., 2010a). A quantificação de anticorpos em amostras de saliva tem sido realizada para

diferentes protozoários (LOYOLA et al., 1997; PINHO et al., 1999) e helmintos (BUENO et al., 2000; COSTA et al., 2003; Costa-Cruz: IN NEVES et al., 2005; RIBEIRO et al., 2010b; SHARIATI et al., 2010).

A saliva é caracterizada por uma secreção basal contínua, podendo chegar a um volume total de um a dois litros por dia em um homem adulto, e tem por função umedecer e proteger a mucosa oral, além de aumentar a demanda sobre as glândulas salivares principalmente durante a alimentação. Essas variações de fluxo envolvem não só o volume da saliva, como também os seus constituintes orgânicos e inorgânicos. Além de conter ar, que lhe dá o aspecto espumoso, a saliva tem como principais componentes químicos a água, amilase salivar, nitrogênio, enxofre, potássio, sódio, cloro, cálcio, magnésio, ácido úrico e ácido cítrico (KAUFMAN; LAMSTER, 2002). Além disso, a saliva possui na sua composição proteínas estruturais como mucinas, estaterina, aglutininas, lactoferrina, gustina e sialina que são capazes de auxiliar na formação de corpúsculos gustativos e aumentar o pH, e as proteínas enzimáticas como amilase, fosfatase ácida, esterase, lisozima, peroxidase, anidrase carbônica e calicreína que atuam principalmente na secreção salivar, bem como os componentes imunológicas tais como imunoglobulinas e imunoglobulinas secretoras (sIgA/sIgM) (KAUFMAN; LAMSTER, 2002; MAMTA et al., 2013).

A elevada quantidade de IgA (3g/dia) em seres humanos pode ser explicada pela necessidade de uma resposta imunológica presente nas superfícies de mucosa, por onde a maioria dos patógenos adentram o organismo, sendo exposto a um enorme desafio antigênico (WHITMAN et al., 1998). As glândulas submandibulares contém o dobro de IgA quando comparado com a glândula parótida, devido a sua exposição primária ao patógeno, e cerca de 77% de IgA monomérica presente na saliva é derivada do soro e não de células plasmáticas glandulares. Já maioria das imunoglobulinas IgG presente na saliva, é derivada da circulação sanguínea por difusão passiva, principalmente através do epitélio gengival, embora uma pequena quantidade possa ser produzida localmente pelas glândulas salivares (BRANDTZAEG, 2013).

Alguns indivíduos apresentam o fluxo salivar reduzido, levando a um quadro de xerostomia, sintoma relacionado à falta de saliva. A xerostomia pode ocorrer por conta de medicamentos como a atropina, medicamentos anorexígenos, radioterapia da cabeça e pescoço, deficiência de vitaminas do complexo B, pacientes diabéticos, menopausa, ansiedade, álcool e a cafeína, e nos idosos a saliva é mais viscosa e em menor quantidade, causando-lhes uma halitose característica (PALAMIN, 1999).

As vantagens das pesquisas realizadas em amostras de saliva são maior aceitabilidade, pois trata-se de coletas não invasivas e sem dor, maior proveito (baixo custo e colheita rápida) e oferece menor risco de contaminação ao manipulador (SMITH; BOWEN, 2000; SANCHEZ-MARTIN et al., 2001; COSTA et al., 2003; RIBEIRO et al., 2010a).

Por fim, os testes parasitológicos específicos para a detecção de *S. stercoralis*, não apresentam a sensibilidade adequada e dependem também de variáveis como capacidade técnica, utilização correta dos métodos de detecção, tempo de realização entre outros fatores, para que resultados falso-negativos sejam evitados. Nesse sentido, a utilização de testes mais sensíveis e específicos como os imunológicos utilizando amostras convencionais como o soro, e alternativas como a saliva, contribuem efetivamente no diagnóstico da estrogiloidíase além de ser considerada ferramenta importante principalmente em casos onde a confirmação precoce se faz necessária, permitindo análise do perfil imunológico apresentado pelos indivíduos da região.

Considerando que tanto nos aspectos parasitológicos quanto imunológicos a região norte do Paraná, especialmente Londrina, não apresentam dados publicados sobre os assuntos referidos acima, este trabalho visa contribuir efetivamente neste sentido possibilitando assim, informações importantes de ordem diversas e também por possibilitar novas investigações.

2. Objetivos

2.1. Objetivo geral

- Investigar ocorrência de diagnóstico da estrogiloidíase humana e demais parasitos no município de Londrina-PR.

2.2. Objetivos específicos

- Verificar no estudo retrospectivo a prevalência de parasitos a partir da análise de 11.641 laudos coproparasitológicos de indivíduos provenientes do município de Londrina-PR, no período de fevereiro 2009 a dezembro de 2012.

- Avaliar a prevalência de *S. stercoralis* e outros parasitos de abril de 2013 a maio de 2014, utilizando os métodos parasitológicos (Rugai, Kato-Katz, Hoffman Pons e Janer ou Lutz e Faust) em amostras de fezes de moradores do município de Londrina-PR.

- Detectar anticorpos das classes IgG e IgA em amostras pareadas de soro e saliva de indivíduos provenientes da cidade de Londrina-PR, por meio do teste imunoenzimático ELISA utilizando extrato alcalino de larvas de *S. venezuelensis* como antígeno heterólogo.

- Verificar índices de IgG avidéz de anticorpos IgG séricos anti- *Strongyloides*, em indivíduos copropositivos para outros parasitos e indivíduos saudáveis, por meio do teste imunoenzimático ELISA utilizando extrato salino de larvas de *S. venezuelensis*.

3. Referências Bibliográficas

Segundo normas da Associação Brasileira de Normas Técnicas: NBR 6023/2002

ABBAS, A. K.; LICHTMAN, A. H.; POBER, J. S. **Cellular and Molecular Immunology**, Philadelphia, 402 p, 2003.

AGRAWAL, V.; AGARWAL, T.; GHOSHAL, U. C. Intestinal strongyloidiasis: a diagnosis frequently missed in the tropics. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v.103, n. 3, p. 242-246, 2009.

AHMAD, A. F.; HADIP, F.; NGUI, R.; LIM, Y. A. L.; MAHMUD, R. Serological and molecular detection of *Strongyloides stercoralis* infection among an Orang Asli community in Malaysia. **Parasitol Research**, v. 112, n. 8, p. 2811–2816, 2013.

ARIZONO, N.; NAKANIHSI, K.; HORII, T.; TANABE, K. Progress in the molecular biology of malaria and the immunology of nematode infections. **Trends in Parasitology**, v. 23, n. 4, p. 175-181, 2007.

ASSEFA, S.; ERKO, B.; MEDHIN, G.; ASSEFA, Z.; SHIMELIS, T. Intestinal parasitic infections in relation to HIV/AIDS status, diarrhea and CD4 T-cell count. **BioMed Central Infection Diseases**, v. 9, n. 155, p.1-6, 2009.

ATKINS, N. S.; CONWAY, D. J.; LINDO, J. F.; BAILEY, J. W.; BUNDY, D. P. A. L3 antigen-specific antibody isotype responses in human strongyloidiasis: correlations with larval output. **Parasite Immunology**, v. 21, n. 10, p. 517-526, 1999.

ATKINS, N. S.; LINDO, J.F.; LEE, M. G.; CONWAY, D. J.; BAILEY, J. W.; ROBINSON, R. D.; BUNDY, D. P. A. Humoral responses in human strongyloidiasis: correlations with infection chronicity. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 9, n. 5, p. 609-613, 1997.

BAERMANN, G. Eine einfache methode zur auffindung von Ancklostomun (Nematodes) larven in Erdproben. Mededul. Nnith in, Geneesk. **Laboratories Weltreve Feestbundel**, p. 41-47, 1917.

BAVAY, A. Sur languilule intestinale (*Anguillula intestinalis*) nouveau ver nímatoide trove par le Dr. Normand chez les nalades atteints de diarrhea de Cochinchine. **Compose And Science Biologique**, v. 84, p. 258-266, 1876.

BAZZONE, L. E.; SMITH, P. M.; RUTITZKY, L. I.; SHAINHEIT, M. G.; URBAN, J. F.; SETIAWAN, T.; BLUM, A. M.; WEINSTOCK, J. V.; STADECKER, M. J. Coinfection with the intestinal nematode *Heligmosomoides polygyrus* markedly reduces hepatic egg-induced immunopathology and proinflammatory cytokines in mouse models of severe schistosomiasis. **Infection & immunity**, v. 76, n. 11, p. 5164–5172, 2008.

BÉLA, S.R.; SILVA, D. A. O.; CUNHA-JÚNIOR, J.; PIROVANI, C. P.; CHAVES-BORGES, F. A.; CARVALHO, F.; OLIVEIRA, T. C.; MINEO, J. R. Use of SAG2A recombinant *Toxoplasma gondii* surface antigen as a diagnostic marker for human acute toxoplasmosis: analysis of titers and avidity of IgG and IgG1 antibodies. **Diagnostic and Microbiology Infectious Disease**, v. 62, n. 3, p.245–254, 2008.

BENCKERT, J.; SCHMOLKA, N.; KRESCHL, C.; ZOLLER, M. J.; STURM, A.; WIEDENMANN, B.; WARDEMAN, H. The majority of intestinal IgA+ and IgG+ plasmablasts in the human gut are antigen-specific. **The Journal of clinical investigation**, v.121, n. 5, p.1946–5510, 2011.

BLAISE, C. Role of secretory IgA in infection and maintenance of homeostasis. **Autoimmunity Reviews**, v.12, n. 6, p. 661–665, 2013.

BOSCOLO, M.; GOBBO, M.; MANTOVANI, W.; DEGANI, M.; ANSEMI, M.; MONTEIRO, G. B.; MAROCCO, S.; ANGHEBEN, A.; MISTRETTA, M.; SANTACATTERINA, M.; TAIS, S.; BISOFFI, Z. Evaluation of an indirect immunofluorescence assay for strongyloidiasis as a tool for diagnosis and follow-up. **Clinical and Vaccine Immunology**, v.14, n. 2, p.129-133, 2007.

BOSQUI, L. R.; PEREIRA, V. L.; LUCAS, B. B.; DALAVEDO, G. A.; SANTOS, N. C. C.; FREIRE, A. C. A. R. B.; LUIS, N. C. O.; MURAD, V. A.; CUSTÓDIO, L. A.; ALMEIDA, R. S.; CONCHON-COSTA, I.; PAVANELLI, W. R.; COSTA, I. N. Ocorrência de *Strongyloides stercoralis* e demais enteroparasitos em indivíduos provenientes de municípios da região norte do Paraná. **Revista Biosáude, Londrina**, v. 16, n. 1, p. 8-18, 2014.

BOULWARE, D. R.; STAUFFER, W. M.; HENDEL-PATERSON, B. R.; ROCHA, J. L. L.; SEET, R. C. S.; SUMMER, A. P.; NIELD, L. S.; SUPPARATPINYO, K.; CHAIWARITH, R.; WALKER, P. F. Maltreatment of *Strongyloides* infection: case series and worldwide physicians in training survey. **The American Journal of Medicine**, v.120, n. 6, p. 545-551, 2007.

BRANDTZAEG, P. Secretory immunity with special reference to the oral cavity. **Journal of Oral Microbiology**, v. 5, p. 1-24, 2013.

BRANDTZAEG, P. Structure, synthesis and external transfer of mucosal immunoglobulins. **Annales d'immunologie (Paris)**, v. 124, n. 3, p. 417-438, 1973.

BRANDTZAEG, P. Mucosal and glandular distribution of immunoglobulin components. Immunohistochemistry with a cold ethanol-fixation technique. **Immunology**, v. 26, n. 6, p. 1101–1114, 1974.

BRANDTZAEG, P. Mucosal immunity: integration between mother and the breast-fed infant. **Vaccine**, v. 21, n. 24, p. 3382–3388, 2003.

BRANDTZAEG, P. The role J chain and secretory component in a receptor-mediated glandular and hepatic transport of immunoglobulins in man. **Scandinavian journal of immunology**, v. 22, n. 2, p. 111-146, 1985.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Plano Nacional de Vigilância e Controle das Enteroparasitoses**. Brasília, DF, 2005.

BUENO, E. C.; VAZ, A. J.; MACHADO, L. D.; LIVRAMENTO, J. A. Neurocysticercosis: detection of IgG, IgA and IgE antibodies in cerebrospinal fluid, serum and saliva samples by ELISA with *Taenia solium* and *Taenia crassiceps* antigens. **Arquivos de neuro-psiquiatria**, v. 58, n. 1, p. 18-24, 2000.

BUTLER, J. E. Immunoglobulins and immunocytes in animal milks. In: **Mucosal Immunology**, 1999.

CARVALHO, G. L. X.; MOREIRA, L. E.; PENA, J. L.; MARINHO, C. C.; BAHIA, M. T.; MACHADO-COELHO, G. L. L. A comparative study of the TF-Test[®], Kato-Katz, Hoffman-Pons-Janer, Willis and Baermann-Moraes coprologic methods for the detection of human parasitosis. **Memórias Instituto Oswaldo Cruz**, v.107, n. 1, p. 80-4, 2012.

CERUTTI, A. The regulation of IgA class switching. **Nature reviews. Immunology**, v. 8, n. 6, p. 421–434, 2008.

CHODIRKER, W. B.; TOMASI, T. B. Jr Low-molecular-weight rheumatoid factor. **The Journal of clinical investigation**, v. 42, n. 6, p. 876–884, 1963.

CONLEY, M. E.; DELACROIX, D. L. Intravascular and mucosal immunoglobulin A: two separate but related systems of immune defense. **Annals of Internal Medicine**, v. 106, n. 6, p. 892-899, 1987.

CONWAY, D. J.; ATKINS, N. S.; LILLYWHITE, J. E.; BAILEY, J. W.; ROSBSON, R. D.; LINDO, J. F.; BUNDY, D. A.; BIANCO, A. E. Immunodiagnosis of *Strongyloides stercoralis* infection: a method for increasing the specificity of indirect ELISA. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 87, n. 2, p. 173-176, 1993.

COSTA, I. N.; SOPELETE, M. C.; GONÇALVES-PIRES, M. R. F.; COSTA-CRUZ, J. M. IgA and IgG antibodies in paired serum and saliva samples in human strongyloidiasis. **Acta Parasitologica**, v. 48, n. 4, p. 306-311, 2003.

COSTA-CRUZ, J. M. *Strongyloides stercoralis* In: NEVES, D. P.; de MELO, A. L.; LINARDI, P. M.; ALMEIDA VITOR, R. W. **Parasitologia Humana**, 11 ed., p. 295-305, São Paulo: Atheneu, 2005.

COSTA-CRUZ, J. M. *Strongyloides stercoralis* In: NEVES, D. P.; de MELO, A. L.; LINARDI, P. M.; ALMEIDA VITOR, R. W. **Parasitologia Humana**, 12 ed., p. 295-305, São Paulo: Atheneu, 2011.

COSTA-CRUZ, J. M.; BULLAMAH, C. B.; GONÇALVES-PIRES, M. R. F.; CAMPOS, D. M. B.; VIEIRA, M. A. Cryo-microtome cuts of coproculture larvae of *Strongyloides stercoralis* and *Strongyloides ratti* as antigen source for the immunodiagnosis of human strongyloidiasis. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 39, n. 6, p. 313-317, 1997.

DATRY, A.; HILMARSDOTTIR, I.; MAYORGA-SAGASTUME, R. ; LYAGOUBI, M.; GAXOTTE, P.; BILIGUI, S.; CHODAKEWITZ, J.; NEU, D.; DANIS, M.; GENTILINI, M. Treatment of *Strongyloides stercoralis* infection with ivermectin compared with albendazole: results of an open study of 60 cases. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**; v. 88, n. 3, p. 344-345, 1994.

DE BONA, S.; BASSO, R. M. C. Hiperinfecção por *Strongyloides stercoralis* associada ao uso crônico de corticosteroide. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, v. 40, n. 4, p. 247-250, 2008.

DE SOUZA, J. N.; MACHADO, P. R.; TEIXEIRA, M. C.; SOARES, N. M. Recurrence of *Strongyloides stercoralis* infection in a patient with Hansen's disease: a case report. **Leprosy review**, v. 85, n. 1, p. 58-62, 2014.

DELACROIX, D. L.; HODGSON, H. J.; MCPHERSON, A.; DIVE, C.; VAERMAN, J. P. Selective transport of polymeric immunoglobulin A in bile. Quantitative relationships of monomeric and polymeric immunoglobulin A, immunoglobulin M, and other proteins in serum, bile, and saliva. **The Journal of clinical investigation**, v. 70, n. 2, p. 230-241, 1982.

DEVAULT, G. A. JR.; KING, J. W.; ROHR, M. S.; LANDRENEAU, M. D.; BROWN, S. T.; Mc DONALD, J. C. Opportunistic infection with *Strongyloides stercoralis* in renal transplantation. **Reviews of Infectious Diseases**, v. 12, n. 4, p. 653 -671, 1990.

DEVI, U.; BORKAKOTY, B.; MAHANTA, J. Strongyloidiasis in Assam, India: a community-based study. **Tropical Parasitology**, v. 1, n. 1, p. 30-32, 2011.

DULLAERS, M.; LI, D.; XUE, Y.; NI, L.; GAYET, I.; MORITA, R.; UENO, H.; PALUCKA, K. A.; BANCHEREAU, J.; OH, S. A. T. cell-dependent mechanism for the induction of human mucosal homing immunoglobulin A-secreting plasmablasts. **Immunity**, v. 30, n. 1, p. 120-129, 2009.

DZIEMIAN, E.; ARNOWSKA, H.; KOLODZIEJ-SOBOCINSKA, M.; MACHNICKA, B. Determination of the relative avidity of the specific IgG antibodies in human toxocariasis. **Parasite Immunology**, v. 30, n. 3, p. 187-190, 2008.

ELIA, C. C. S. Parasitoses intestinais. In: ELIA, C. C. S.; SOUZA, H. S. P. Imunologia da mucosa intestinal: da bancada ao leito. **Atheneu 1 ed**, cap. 7.5, p. 137-140, 2001.

ELLIOT, D. E.; SUMMERS, R. W.; WEINSTOCK, J. V. Helminths as governors of immune-mediated inflammation. **International Journal for Parasitology**, v. 37, n. 5, p. 457-464, 2007.

FALAVIGNA, D. L. M.; ALMEIDA, A. A.; IWAZAKI, R. S.; ARAÚJO, S. M. Intestinal parasites in ecotourism region of the state of Paraná, Brazil. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 51, n. 4, p. 693-699, 2008.

FARDET, L.; GENEREAU, T.; POIROT, J. L.; GUIDET, B.; KETTANEH, A.; CABANE, J. Severe strongyloidiasis in corticosteroid-treated patients: case series and literature review. **Journal of Infection**, v. 54, n. 1, p.18-27, 2007.

FAUST, E. C.; SAWITZ, W.; TOBIE, J. Comparative efficiency of various techniques for diagnosis of protozoa and helminthes in feces. **Journal of Parasitology**, v. 25, n. 3, p. 241-262, 1939.

FELICIANO, N. D.; GONZAGA, H.T.; GONÇALVES-PIRES, M. R. F.; GONÇALVES, A. L. R.; RODRIGUES, R. M.; UETA, M. T.; COSTA-CRUZ, J. M. Hydrophobic fractions from *Strongyloides venezuelensis* for use in the human immunodiagnosis of strongyloidiasis. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, v. 67, n. 2, p.153-161, 2010.

FERREIRA, C. M.; PEREIRA, A. T. M.; SOUZA, R. S.; CASSALI, G. D.; SOUZA, D. G.; LEMOS, V. S.; TEIXEIRA, M. M.; NEGRÃO-CORRÊA, D. Prevention of changes in airway function facilitates *Strongyloides venezuelensis* infection in rats. **Microbes and Infection**, v. 9, n. 7, p. 813-820, 2007.

FERREIRA, M. S.; COSTA-CRUZ, J. M. Estrongiloidíase. IN: CIMERMAN, S.; CIMERMAN, B. **Medicina Tropical**, Rio de Janeiro, v. 22, p.241-251, 2003.

FERREIRA, M. S.; NISHIOKA, A. S.; BORGES, A. S.; COSTA-CRUZ, J. M.; ROSSIN, I. R.; ROCHA, A.; SILVESTRE, M. T. A.; ARAÚJO, F. F. N. Strongyloidiasis and infection due to human immunodeficiency virus: 25 cases of hyperinfection syndrome. **Clinical Infectious Diseases**, v. 28, n. 1, p. 154-155, 1999.

FOGAÇA, H. S.; ELIA, C. C. S.; MADI, K.; OLIVEIRA, A. Estudo das imunoglobulinas intestinais na estrongiloidíase. **A Folha Médica**, v. 101, n. 4, p. 229-235, 1990.

GALIOTO, A. M.; HESS, J. A.; NOLAN, T. J.; SCHAD, G. A.; LEE, J. J.; ABRAHAM, D. Role of eosinophils and neutrophils in innate and adaptive protective immunity to larval *Strongyloides stercoralis* in mice. **Infection and Immunity**, v.74, n. 10, p.5730-5738, 2006.

GAUSE, W. C.; URBAN, J. F.; STADECKER, M. J. The immune response to parasitic helminthes: insights from murine model. **Trends in Immunology**, v. 24, n. 5, p. 269-277, 2003.

GENTA, R. M. Global prevalence of strongyloidiasis: critical review with epidemiologic insights into prevention of disseminated disease. **Journal of Infectious Diseases**, v. 11, n. 5, p. 755-767, 1989.

GENTA, R. M. Predictive value of an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for the serodiagnosis of strongyloidiasis. **American Journal of Clinical Pathology**, v.89, n. 3, p.391-394, 1988.

GINDERACHTER, J. A.; MOVAHEDI, K.; GHASSABEH, G. H.; MEERSCHAUT, S.; BESCHIM, A.; RAES, G.; BAETSELIER, P. D. Classical and alternative activation of mononuclear phagocytes: Picking the best of both worlds for tumor promotion. **Immunobiology**, v. 211, n. 6-8, p. 487-501, 2006.

GOLDHILL, J.; MORRIS, S. C.; MALISZEWSKI, C.; URBAN-JR. J. F.; FUNK, C. D.; FINKELMAN, F. D.; DONOHUE, T. S. Interleukin-4 modulates cholinergic neural control of mouse small intestinal longitudinal muscle. **American Journal Physiology**, v. 272, p. 1135-1140, 1997.

GONÇALVES, A. L. R.; ROCHA, C. A.; GONZAGA, H. T.; GONÇALVES-PIRES, M. R. F.; UETA, M. T.; COSTA-CRUZ, J. M. Specific IgG and IgA to larvae, parthenogenetic females and eggs of *Strongyloides venezuelensis* in the immunodiagnosis of human strongyloidiasis. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, v. 72, n. 1, p. 79-84, 2012a.

GONÇALVES, A. L. R.; NUNES, D. S.; GONÇALVES-PIRES, M. R. F.; UETA, M. T.; COSTA-CRUZ, J. M. Use of larval, parasitic female and egg antigens from *Strongyloides venezuelensis* to detect parasite-specific IgG and immune complexes in immunodiagnosis of human strongyloidiasis. **Parasitology**, v.139, n. 7, p. 956–961, 2012b.

GONZAGA, H. T.; RIBEIRO, V. S.; CUNHA-JÚNIOR, J. P.; UETA, M. T.; COSTA-CRUZ, J. M. Usefulness of concanavalin-A non-binding fraction of *Strongyloides venezuelensis* larvae to detect IgG and IgA in human strongyloidiasis. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, v. 70, n. 1, p.78–84, 2011a.

GONZAGA, H. T.; RIBEIRO, V. S.; FELICIANO, N. D.; M.N. MANHANI, M. N.; SILVA, D. A.; UETA, M. T.; COSTA-CRUZ, J. M. IgG avidity in differential serodiagnosis of human strongyloidiasis active infection. **Immunology letters**, v. 39, p. 87–92, 2011b.

GOTTARDI, M.; PAULA, F. M.;CORRAL, M. A.; MEISEL, D. M. C.; COSTA, S. F.; ABDALA, E.; PIERROTTI, L. C.; YAMASHIRO, J.; CHIEFFI, P. P.; GRYSCHKEK, R. C. B. Immunofluorescence assay for diagnosis of strongyloidiasis in immunocompromised patients. **Infectious Diseases**, p. 1-5, 2015.

GROVE, D. I. Human strongyloidiasis. **Advances in Parasitology**, v. 38, p. 251-309, 1996.

GROVE, D. I.; BLAIR, A. J. Diagnosis of human strongyloidiasis by immunofluorescence, using *Strongyloides ratti* and *Strongyloides stercoralis* larvae. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 30, n. 2, p. 344-349, 1981.

GUTIERREZ, J.; MAROTO, C. Are IgG antibody avidity assays useful in the diagnostic of infectious diseases? **Microbios**, v. 87, p. 112-113, 1996.

HEREMANS, J. F.; HEREMANS, M. T.; SCHULTZE, H. E. Isolation and description of a few properties of the beta 2A-globulin of humana serum. **Revista Clinica Chimica Acta** v. 4, p. 96-102, 1959.

HERNANDEZ-CHAVARRIA, F. *Strongyloides stercoralis*: um parasito subestimado. **Parasitologia** v. 25, n. 1-2, p. 40-49, 2001.

HIRATA, T.; UCHIMA, N.; KISHIMOTO, K.; ZAHA, O.; KINJO, N.; HOKAMA, A.; SAKUGAWA, H.; KINJO, F.; FUJITA, J. Impairment of host immune response against *Strongyloides stercoralis* by human T cell lymphotropic virus type 1 infection. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 74, n. 2, p. 246-249, 2006.

HOFFMANN, W. A.; PONS, J. A.; JANER, J. L. The sedimentation concentration method in *Schistosomiasis mansoni*, Puerto Rico. **Journal Public Health of Tropical Medicine**, v. 9, p. 283-291, 1934.

HOTEZ, P. J.; BRINDLEY, P. J.; BETHONY, J. M.; KING, C. H.; PEARCE, E. J.; JACOBSON, J. Helminth infections: the great neglected tropical diseases. **The Journal of Clinical Investigation**, v. 118, n. 4, p. 1311-1321, 2008.

HUGGINS, D.; MEDEIROS, L. B.; TAVARES, E.; MALTA, L. B. L.; AGUIAR, T. C. Tratamento da estrogiloidíase humana e outras parasitoses intestinais com dose única de ivermectina. **Revista Brasileira de Medicina**, v. 58. p. 168-170, 2001.

INÊS, E. J.; SILVA, M. L. S.; SOUZA, J. N.; TEIXEIRA, M. C. A.; SOARES, N. M. The role of glycosylated epitopes in the serodiagnosis of *Strongyloides stercoralis* infection. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, v. 76, n. 1, p. 31-35, 2013.

IRIEMENAM, N. C.; SANYAOLU, A. O.; OYIBO, W. A.; FAGBENRO-BEYIOKU, A. F. *Strongyloides stercoralis* and the immune response. **Parasitology International**, v. 59, n. 1, p. 9-14, 2010.

KADAOU, K. A.; CORTHESEY, B. Secretory IgA mediates bacterial translocation to dendritic cells in mouse Peyer's patches with restriction to mucosal compartment. **Journal Immunol**, v. 179, n. 11, p. 7751-7, 2007.

KHAN, M. N.; DASS, P. D.; LEETE, J. H.; SCHUMAN, R. F.; GUNSIOR, M. I. C. H. E. L. E.; SADHU, C. H. A. N. C. H. A. L. Development of ligand-binding assays for

drug development support. Ligand-binding assays: development, validation, and implementation in the drug development Arena. **Hoboken: Wiley**, p. 39-79, 2009.

KASSALIK, M.; MONKEMULLER, K. *Strongyloides stercoralis* hyperinfection syndrome and disseminated disease. **Gastroenterology & Hepatology**, v. 7, n. 11, p. 766-768, 2011.

KATO, K.; MIURA, M. Comparative examinations. **Japanese Journal of Parasitology**, v. 3, n. 35, 1954.

KATZ N.; CHAVES, A.; PELLEGRINO, J. A simple device for quantitative stool thick-smear technique in *Schistosomiasis mansoni*. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v.14, n. 6, p. 397- 400, 1972.

KAUFMAN, E.; IRA, B.; LAMSTER, I. B. The diagnostic applications of saliva— a review. **Critical Reviews in Oral Biology & Medicine**, v. 13, n. 2, p. 197-212, 2002.

KEISER, P. B.; NUTMAN, T. B. *Strongyloides stercoralis* in the immunocompromised population. **Reviews of Clinical Microbiology**, v. 17, n. 1, p. 208-217, 2004.

KEREPESI, L. A.; HESS, J. A.; LEON, O.; NOLAN, T. J.; SCHAD, G. A.; ABRAHAM, D. Toll-like receptor 4 (TLR4) is required for protective immunity to larval *Strongyloides stercoralis* in mice. **Microbes and Infection**, v.9, n. 1, p. 28-34, 2007.

KHIEU, V.; HATTENDORF, J.; SCHÄR, F.; MARTI, H.; CHAR, M. C.; MUTH, S.; ODERMATT, P. *Strongyloides stercoralis* infection and re-infection in a cohort of children in Cambodia. **Parasitology International**, v. 63, n. 63(5), p. 708–712, 2014.

KRAMME, S.; NISSEN, N.; SOBLIK, H.; ERTTMANN, K., TANNICH, E.; FLEISCHER, B.; PANNING, M.; BRATTING, N. Novel real-time PCR for the universal detection of *Strongyloides* species. **Journal of Medical Microbiology**, v. 60, n. 4, p. 454-458, 2011.

LAM, C. S.; TONG, M. K.; CHAN, K. M.; SIU, Y. P. Disseminated strongyloidiasis: a retrospective study of clinical course and outcome. **European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases**, v. 25, n. 1, p. 14-18, 2006.

LAN, J.; WILLCOX, M. D.; JACKSON, G. D. Detection and specificity of ant staphylococcus intermedius secretory IgA in human tears. **Australian and New Zealand journal of ophthalmology**, v. 25, n.1, p. 17-19, 1997.

LEUNG, V. K.; LIEW, C. T.; SUNG, J. J. Fatal strongyloidiasis in a patient with ulcerative colitis after corticosteroid therapy. **American Journal of Gastroenterology**, v. 92, n. 8, p. 1383-1384, 1997.

LEVENHAGEN, M. A.; COSTA-CRUZ, J. M. Update on immunologic and molecular diagnosis of human strongyloidiasis. **Acta Tropica**, v. 135, p. 33-43, 2014.

LINDO, J. F.; ATKINS, N. S.; LEE, M. G.; ROBINSON, R. D.; BUNDY, D. A. Long-term serum antibody isotype responses to *Strongyloides stercoralis* filiform antigens in eight patients treated with ivermectin. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 55, n. 5, p. 474-476, 1996.

LOUFTY, M. R.; WILSON, M.; KEYSTONE, J. S.; KAIN, K. C. Serology and eosinophil count in the diagnosis and management of strongyloidiasis in a non-endemic area. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 66, n. 6, p. 749-752, 2002.

LOYOLA, A. M.; DURIGHETTO, A. F. JR.; SILVA, D. A.; MINEO, J. R. Anti-*Toxoplasma gondii* immunoglobulins A and G in human saliva and serum. **Journal of Oral Pathology & Medicine**, v. 26, n. 4, p. 187-191, 1997.

LUTZ, A. V. *Schistosoma mansoni* e a schistosomose, Segundo observações feitas no Brasil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 11, p. 121-125, 1919.

LUVIRA, V.; WATTHANAKULPANICH, D.; PITTISUTTITHUM, P. Management of *Strongyloides stercoralis*: a puzzling parasite. **International Health**, v. 6, n. 4, p. 273-281, 2014.

Mac DONALD, A. S.; ARAUJO, M. I.; PEARCE, E. J. Immunology of parasitic helminth infections. **Infection and Immunity**, v. 70, n. 2, p. 427-433, 2002.

MACHADO E. R.; UETA, M. T.; GONÇALVES-PIRES M. R. F.; ALVES DE OLIVEIRA J. B.; FACCIOLI L. H.; COSTA-CRUZ J. M. *Strongyloides venezuelensis* alkaline extract for the diagnosis of human strongyloidiasis by enzyme-linked immunosorbent assay. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 98, n. 6, p. 849-851, 2003.

MACHADO, E. R.; TEIXEIRA, E. M.; GONÇALVES-PIRES, M. R. F.; LOUREIRO, Z. M.; ARAÚJO, R. A.; COSTA-CRUZ, J. M. Parasitological and immunological diagnosis of *Strongyloides stercoralis* in patients with gastrointestinal cancer. **Scandinavian Journal of Infectious Diseases**, v. 40, n. 2, p. 154-158, 2008.

MACPHERSON, A. J.; MCCOY, K. D.; JOHANSEN, F. E.; BRANDTZAEG, P. The immune geography of IgA induction and function. **Mucosal immunology**, v.1, n. 1, p. 11-22, 2008.

MAIZELS, R. M.; PEARCE, E. J.; ARTIS, D.; YAZDANBAKHS, M.; WYNN, T. A. Regulation of pathogenesis and immunity in helminth infections. **The Journal of Experimental Medicine**, v. 206, n. 2, p. 2059-2066, 2009.

MAMTA, S.; UDITA, S.; RAJESH, P.; AGGARWAL, S. K. Oral fluid: Biochemical composition and functions: A review. **Journal of pharmaceutical and biomedical sciences**, v. 37, n. 37, p. 1932-1941, 2013.

MANHANI, M. N.; RIBEIRO, V. S.; SILVA, D. A. O.; COSTA-CRUZ, J. M. Specific IgG avidity in active and inactive human neurocysticercosis. **Diagnostic Microbiology Infection Disease**, v. 65, n. 2, p. 211-213, 2009.

MARCOLINO, P. T.; SILVA, D. A. O.; LESER, P. G.; CAMARGO, M. E.; MINEO, J. R. Molecular markers in acute and chronic phases of human toxoplasmosis: determination of immunoglobulin G avidity by *Western blotting*. **Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology**, v. 7, n. 3, p. 384–389, 2000.

MARCOS, L. A.; TERASHIMA, A.; DUPONT, H. L.; GOTUZZO, E. *Strongyloides* hyperinfection syndrome: an emerging global infectious disease. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v.102, n. 4, p. 314-318, 2008.

MARUYAMA, H.; NISHIMAKI, A.; TAKUMA, Y.; KURIMOTO, M.; SUZUKI, T.; SAKATOKU, Y.; ISHIKAWA, M.; OHT, N. Successive changes in tissue migration capacity of developing larvae of an intestinal nematode *Strongyloides venezuelensis*. **Parasitology**, v.132, n. 3, p. 411-418, 2006.

MARUYAMA, H.; YABU, Y.; YOSHIDA, A.; NAWA, Y.; OHTA, N. A role of mast cell glycosaminoglycans for the immunological expulsion of intestinal nematode, *Strongyloides venezuelensis*. **Journal of Immunology**, v. 164, n. 7, p. 3749-3759, 2000.

MASCARINI-SERRA, L. M.; TELLES, C. A.; PRADO, M. S.; MATTOS, S. A.; STRINA, A.; ALCANTARA-NEVES, N. M.; BARRETO, M. L. Reductions in the prevalence and incidence of geohelminth infections following a city-wide sanitation program in a Brazilian Urban Centre. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 4, n. 2, p. 558, 2010.

Mc INTYRE, T. M.; STROBER, W. Gut-associated lymphoid tissue: Regulation of IgA B cell development. In: **Mucosal Immunology**, ed. 2, p. 319-356, 1999.

MEEUSEN, E. N. T.; BALIC, A. Do eosinophils have a role in the killing of helminth parasites? **Parasitology Today**, v. 16, n. 3, p. 95-101, 2000.

MEJIA, R.; NUTMAN, T. B. Screening, prevention and treatment for hyperinfection syndrome and disseminated infections caused by *Strongyloides stercoralis*. **Current opinion in infectious diseases**, v. 25, n. 4, p. 458-463, 2012.

MENDONÇA, S. C.; GONÇALVES-PIRES, M. D. O. R.; RODRIGUES, R. M.; FERREIRA, A. JR.; COSTA-CRUZ, J. M. Is there an association between positive *Strongyloides stercoralis* serology and diabetes mellitus? **Acta Tropica**, v. 99, n. 1, p. 102-105, 2006.

MERCADO, R.; JERCIC, M. I.; ALCAYAGA, S.; PAULA, F. M.; UETA, M. T.; COSTA-CRUZ, J. M. Seroepidemiological aspects of human *Strongyloides stercoralis* infections in Chile. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 49, n. 4, p. 247-249, 2007.

MERCADO, R.; JERCIC, M. I.; TORRES, P.; ALCAYAGA, S.; PAULA, F. M.; COSTA-CRUZ, J. M.; UETA, M. T. Immunodiagnosis of *Strongyloides stercoralis* infection in Chile using ELISA test. **Revista Medica Chilena**, v. 130, n. 12, p. 1358-1364, 2002.

MESTECKY, J.; McGEHEE, JR. Immunoglobulin A (IgA): molecular and cellular interactions involved in IgA biosynthesis and immune responses. **Advances in Immunology**, v. 40, p. 153, 1987.

MINISTÉRIO DA FAZENDA. PAC. **Programa de Aceleração do Crescimento, 2007**. Disponível em www.fazenda.gov.br. Acessado em: 10 de outubro de 2014.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Secretaria de Vigilância Epidemiológica**, 6° edição, 2005. Disponível em: www.saude.gov.br/svs, 2005. Acessado em: 10 de outubro de 2014.

MIRDHA, B. R. Human strongyloidiasis: often brushed under the carpet. **Tropical Gastroenterology**, v. 30, n. 1, p. 1-4, 2009.

MONCADA, D. M.; KAMMANADIMINTI, S. J.; CHADEE, K. Mucin and Toll-like receptors in host defense against intestinal parasites. **Trends in Parasitology**, v. 19, n. 7, p. 305-311, 2003.

MONTEIRO, R. C.; VAN DE WINKEL, J. G. J. IgA Fc Receptors. **Annual Review of Immunology**, v. 21, p. 177-204, 2003.

MONTES, M.; SAWHNEY, C.; BARROS, N. *Strongyloides stercoralis*: there but not seen. **Journal List Current Opinion in Infectious Diseases**, v. 23, n. 5, p. 500–504, 2010.

MORAES, R. G. Contribuição para o estudo do *Strongyloides stercoralis* e da estrogiloidíase no Brasil. **Revista do Serviço Especial em Saúde Pública**, v. 1, p. 507-624, 1948.

MORI, J. C.; PIRES, M. C.; GALVÃO, C. E. S.; MONTEALEGRE, F. Determination of *Blomia tropicalis* – specific IgE and IgG subclasses in atopic dermatitis patients. **Allergy**, v. 56, n. 2, p. 180-184, 2001.

MOTA-FERREIRA, D. M. L.; GONÇALVES-PIRES, M. R. F.; FERREIRA-JÚNIOR, A.; SOPELETE, M. C.; ABDALLAH, VOS.; COSTA-CRUZ, J. M. Specific IgA and IgG antibodies in paired serum breast milk samples in human strongyloidiasis. **Acta Tropica**, v. 109, n. 2, p. 103–107, 2009.

NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION – **NCBI**. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/>. Acesso em: 10 de janeiro de 2015.

NEGRÃO-CORRÊA, D. Importance of immunoglobulin E (IgE) in the protective mechanism against gastrointestinal nematode infection: looking at the intestinal mucosae. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 43, n. 5, p. 291-299, 2001.

NEGRÃO-CORRÊA, D.; TEIXEIRA, M. M. The mutual influence of nematode infection and allergy. **Chemical Immunology and Allergy**, v. 90, p.14-28, 2006.

NOMURA, J.; REKRUT, K. *Strongyloides stercoralis* hyperinfection syndrome in a patient with AIDS: diagnosis by fluorescent microscopy. **Clinical Infectious Diseases**, v. 22, n. 4, p. 736, 1996.

OLSEN, A.; VAN LIESHOUT, L.; MARTI, H.; POLDERMAN, T.; POLMAN, K.; STEINMANN, P.; STOTHARD, R.; THYBO, S.; VERWEIJ, J. J.; MAGNUSSEN, P. Strongyloidiasis – the most neglected of the neglected tropical diseases? **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 103, n. 10, p. 967-972, 2009.

ONAH, D. N.; NAWA, Y. Mucosal immunity against parasitic gastrointestinal nematodes. **The Korean Journal of Parasitology**, v. 38, n. 12, p. 209-236, 2000.

ONUIGBO, M. A. C.; IBEACHUM, G. I. *Strongyloides stercoralis* larvae in peripheral blood. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 85, n. 1, p. 97, 1991.

ORTIZ, D.; AFONSO, C.; HAGEL, I.; RODRIGUEZ, O.; ORTIZ, C.; PALENQUE, M.; LYNCH, N. R. Influencia de lãs infecciones helmínticas y estado nutricional em la respuesta inmunitaria de niños venezolanos. **Revista Panamericana de Salud Pública**, v. 8, n. 3, p. 3-8, 2000.

PAK, B. J.; VASQUEZ-CAMARGO, F.; KALINICHENKO, E.; CHIODINI, P. L.; NUTMAN, T. B.; TANOWITZ, H. B.; MCAULIFFE, I.; WILKINS, P.; SMITH, P. T.; WARD, B. J.; LIBMAN, M. D.; NDAO, M. Development of a Rapid Serological Assay for the Diagnosis of Strongyloidiasis Using a Novel Diffraction-Based Biosensor Technology. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 8, n. 8, e. 3002, 2014.

PALAMIN, M. R. L. Funções da saliva para a cavidade oral: aspectos relacionados à mastigação, à deglutição e à fala. **Fonoatual, São Paulo**, v. 3, n. 8, p. 19-26, 1999.

PAULA, F. M.; COSTA-CRUZ, J. M. Epidemiological aspects of strongyloidiasis in Brazil. **Parasitology**, v. 138, n. 11, p. 1331-1340, 2011.

PAULA, F. M.; SITTA, R. B.; MALTA, F. M.; GOTTARDI, M.; CORRAL, M. A.; GRYSCHKE, R. C. B.; CHIEFFI, P. P. (2013). Parasitological and Molecular Diagnosis in Experimental *Strongyloides venezuelensis* infection. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 55, n. 2, p. 141-143, 2013.

PAULA, F. M.; MALTA, F. M.; MARQUES, P. D.; SITTA, R. B.; PINHO, J. R. R.; GRYSCHKEK, R. C. B.; CHIEFFI, P. P. Molecular diagnosis of strongyloidiasis in tropical areas: a comparison of conventional and real-time polymerase chain reaction with parasitological methods. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, p. 1-3, 2015.

PINHO, R. T.; PEDROSA, R. C.; COSTA-MARTINS, P.; CASTELLO-BRANCO, L. R. Saliva ELISA: a method for the diagnosis of chronic Chagas disease in endemic areas. **Acta Tropica**, v. 72, n. 1, p.31-38, 1999.

PIRES, M. L.; DREYER, G. Revendo a importância do *Strongyloides stercoralis*. **Revista do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de São Paulo**, v. 48, n. 4, p. 175-182, 1993.

POLANCO. L. C.; GUTIÉRREZ, L. A.; ARIAS, J. C. Diagnosis of *Strongyloides Stercoralis* infection. Meta-analysis on evaluation of conventional parasitological methods (1980-2013). **Revista Española de Salud Pública**, v. 88, n. 5, 2014.

RAVI, V.; RAMACHANDRAN, S.; THOMPSON, R. W.; ANDERSEN, J. F.; NEVA, F. A. Characterization of a recombinant immunodiagnostic antigen (NIE) from *Strongyloides stercoralis* L3-stage larvae. **Molecular and Biochemical Parasitology**, v. 125, n. 1-2, p. 73-81, 2002.

REY, L. Parasitologia. Parasitos e doenças parasitárias do homem nas Américas e na África. Rio de Janeiro: **Guanabara Koogan**, ed. 3, p. 581-590, 2001.

REZENDE, T. M. B.; VIEIRA, L. Q.; CARDOSO, F. P.; OLIVEIRA, R. R.; OLIVEIRA, M. S. T.; JORGE, M. L. R.; RIBEIRO SOBRINHO, A. P. The effect of mineral trioxide aggregate on phagocytic activity and production of reactive oxygen, nitrogen species and arginase activity by M1 and M2 macrophages. **International Endodontic Journal**, v. 40, n. 8, p. 603-611, 2007.

RIBEIRO, V. S.; FELICIANO, N. D.; GONZAGA, H. T.; COSTA, I. N.; GONÇALVES-PIRES, M. R.; UETA, M. T.; COSTA-CRUZ, J. M. Detergent fraction of heterologous antigen to detect IgA and IgG in strongyloidiasis using saliva and serum paired samples. **Immunology Letters**, v. 134, n. 1, p. 69–74, 2010a.

RIBEIRO, V. S.; MANHANI, M. N.; COSTA-CRUZ, J. M. IgA detection in human neurocysticercosis using different preparations of heterologous antigen. **Parasitology Research**, v. 107 n. 1, p. 221–5, 2010b.

RITCHIE, L. S. Ether sedimentation technique for routine stool examination. **Bulletin of the National Service of Army-Medical Department**, v. 8, n. 4, p. 326-334, 1948.

RODRIGUES R. M.; SILVA, N. M.; GONÇALVES, A. L. R.; CARDOSO, C. R.; ALVES, R.; GONÇALVES, F. A.; BELETTI, M. E.; UETA, M. T.; SILVA, J.; COSTA-CRUZ, J. M. Major histocompatibility complex (MHC) class II but not MHC class I molecules are required for efficient control of *Strongyloides venezuelensis* infection in mice, **Immunology**, v.128, n. 1, p. 432–441, 2009.

RODRIGUES, R. M.; DE OLIVEIRA, M. C.; SOPELETE, M.C.; SILVA, D. A.; CAMPOS, D. M.; TAKETOMI, E. A.; COSTA-CRUZ, J. M. IgG1, IgG4, and IgE antibody responses in human strongyloidiasis by ELISA using *Strongyloides ratti* saline extract as heterologous antigen. **Parasitology Research**, v. 101, n. 5, p.1209-1214, 2007.

RODRIGUES, R. M.; SOPELETE, M. C.; SILVA, D. A. O.; CUNHA-JUNIOR, J. P.; TAKETOMI, E. A.; COSTA-CRUZ, J. M. *Strongyloides ratti* antigenic components recognized by IgE antibodies in immunoblotting as an additional tool for improving the immunodiagnosis in human strongyloidiasis. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 99, n. 1, p. 89-93, 2004.

RODRIGUEZ, C. D.; IGUAL, A. R.; OLTRA, A. C.; SANCHEZ, S. P.; BUSTAMANTE, B. M.; PARRA, G. F.; NAGORE, E. E. Agricultural occupation in strongyloidiasis. A case-control study. **Revista Clínica Espanhola**, v. 201, n. 2, p. 81-84, 2001.

ROSSI, C. L.; TAKAHASHI, E. E.; PARTEL, C. D.; TEODORO, L. G. V. L.; SILVA, L. J. Total serum IgE and parasite-specific IgG and IgA antibodies in human strongyloidiasis. **Revista do Instituto Medicina Tropical de São Paulo**, v. 35, n. 4, p. 361-365, 1993.

RUGAI, E.; MATTOS, T.; BRISOLA, A. P. Nova técnica para isolar larvas de nematóides das fezes: modificações do método de Baermann. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 14, p. 5-8, 1954.

SAFDAR, A.; MALATHUM, K.; RODRIGUEZ, S. J.; ROLA, H.; KENNETH, V. I. R. Strongyloidiasis in patients at a comprehensive cancer center United States. **Cancer**, v. 100, n. 7, p. 1531–1536, 2004.

SALVI, S.; HOLGATE, S. T. Could the airway epithelium play an important role in mucosal immunoglobulin A production?. **Clinical & Experimental Allergy**, v. 29, n. 12. p. 1597-1605, 1999.

SANCHEZ-MARTIN, JR.; CARDAS, J.; AHEDO, L.; FANO, E.; ECHEBARRIA, A.; AZPIROZ, A. Social behavior, cortisol, and sIgA levels in preschool children. **Journal of psychosomatic research**, v. 50, n. 4, p. 221-227, 2001.

SANDERSON, I. R.; WALKER, W. A. Mucosal barrier. In: **Mucosal Immunology**. Academic Press, ed. 2, v. 5, p. 17, 1999.

SATO, Y.; KOBAYASHI, J.; SHIROMA, Y. Serodiagnosis of strongyloidiasis. The application and significance. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 37, n. 1, p. 35-41, 1995.

SATO, Y.; TOMA, H. *Strongyloides venezuelensis* infection in mice. **International Parasitology**, v. 20, n. 1, p. 57-62, 1990.

SCHAFFEL, R.; NUCCI M.; CARVALHO, E.; BRAGA, M.; ALMEIDA, L.; PORTUGAL, R.; PULCHERI, W. The value of in immunoenzymatic test (Enzyme-linked immunosorbent assay) for the diagnosis of strongyloidiasis in patients

immunosuppressed by hematologic malignancies. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 65, n. 4, p. 346–350, 2001.

SCHAR, F.; TROSTDORF, U.; GIARDINA, F.; KHIEU, V.; MUTH, S.; MARTI2, H.; VOUNATSOU, P.; ODERMAT, P. *Strongyloides stercoralis*: Global Distribution and Risk Factors. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 7, n. 7, p. 2288, 2013.

SHARIATI, F.; PÉREZ-ARELLANO, J. L.; LÓPEZ-ABÁN, J.; EL BEHAIRY, A. M.; MURO, A. Role of angiogenic factors in acute experimental *Strongyloides venezuelensis* infection. **Parasite Immunology**, v. 32, n. 6, p. 430-439, 2010.

SHIWAKU, K.; CHIGUSA, Y.; KADOSAKA, T.; KANEKO, K. Factors influencing development of free-living generations of *Strongyloides stercoralis*. **Parasitology**, v. 97, n. 1, p.1-129-38, 1988.

SIDDIQUI, A. A.; BERCK S. L. Diagnosis of *Strongyloides stercoralis* infection. **Clinical Infection Diseases**, v. 33, n. 7, p. 1040–1047, 2001.

SILVA, L. P.; BARCELOS, I. S.; PASSOS-LIMA, A. B.; ESPINDOLA, F. S.; CAMPOS, D. M.; COSTA-CRUZ, J. M.; Western blotting using *Strongyloides ratti* antigen for the detection of IgG antibodies as confirmatory test in human strongyloidiasis. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 98, n. 5, p. 687-691, 2003.

SINGH, R. P.; HASAN, S.; SHARMA, S.; SARANPREET, N.; DEAN, T.Y.; DAVID, T. W. W.; BEVRA, H. H.; AWLAD, H. Th17 cells in inflammation and autoimmunity. **Autoimmunity Reviews**, v. 13, n. 12, p. 1174–1181, 2014.

SMITH, A. M. V.; BOWEN, W. H. In situ studies of pellicle formation on hydroxyapatite discs. **Archives of Oral Biology**, v. 45, n. 4, p. 277-291, 2000.

STEINMAN, L. "A brief history of T(H)17, the first major revision in the T(H)1/T(H)2 hypothesis of T cell-mediated tissue damage". **Nature medicine**, v. 13, n. 2, p. 139–145, 2007.

STEINMANN, P.; ZHOU, X. N.; DU, Z. W.; JIANG, J. Y.; WANG, L. B.; WANG, X. Z.; LI, L. H.; MARTI, H.; UTZINGER, J. Occurrence of *Strongyloides stercoralis* in Yunnan Province, China, and comparison of diagnostic methods **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 1, n. 1, p. 75, 2007.

SUDRÉ, A. P.; MACEDO, H. W.; PERALTA, R. H. S.; PERALTA, J. M. Diagnóstico da estrogiloidíase humana: importância e técnicas. **Revista de Patologia Tropical**, v. 35, n. 3, p. 174-184, 2006.

STERLA, S.; SATO, H.; NIETO, A. *Echinococcus granulosus* human infection stimulates low avidity anticarbohydrate IgG2 and high avidity antipeptide IgG4 antibodies. **Parasite Immunology**, v. 21, n. 1, p. 27–34, 1999.

SUDRÉ, A. P.; SIQUEIRA, R. C.; BARRETO, M. G.; PERALTA, R. H.; MACEDO H. W.; PERALTA, J. M. Identification of a 26-kDa protein fraction as an important antigen for application in the immunodiagnosis of strongyloidiasis. **Parasitology Research**, v. 101, n. 4, p. 1117-1123, 2007.

TAKAYANAGUI, O. M.; LOFRANO, M. D.; ARAÚJO, M. D.; CHIMELLI, M. D. Detection of *Strongyloides stercoralis* in the cerebrospinal fluid of a patient with acquired immunodeficiency syndrome. **Neurology**. v. 45, n. 1, p. 193-194, 1995.

TEZUKA, H.; ABE, Y.; IWATA, M.; TAKEUCHI, H.; ISHIKAWA, H.; MATSUSHITA, M.; SHIOHARA, T.; AKIRA, S.; OHTEKI, T. Regulation of IgA production by naturally occurring TNF/iNOS-producing dendritic cells. **Nature**, v. 448, n. 7156, p. 929-933, 2007.

TOLEDO, M. J. O.; PALUDETTO, A. W.; MOURA, F. T.; NASCIMENTO, E. S.; CHAVES, M.; ARAUJO, S. M.; MOTA, L. T. Avaliação de atividades de controle para enteroparasitoses em aldeia Kaingáng do Paraná. **Revista de Saúde Pública**, v. 43, n. 6, p. 981-990, 2009.

TRAJMAN, A.; MacDONALD, T. T.; ELIA, C. C. S. Intestinal immune cells in *Strongyloides stercoralis* infection. **Journal of Clinical Pathologic**, v. 50, n. 12, p. 991-995, 1997.

UPARANUKRAW, P.; PHONGSRI, S.; MARAKOTE, N. Fluctuations of larval excretion in *Strongyloides stercoralis* infection. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 60, n. 6, p. 967-973, 1999.

VAIYAVATJAMAI, P.; BOITANO, J. J.; TECHASINTANA, P.; TUNGTRONGCHITR, A. Immunocompromised group differences in the presentation. **Japanese Journal of Infectious Diseases**, v. 61, n. 1, p. 5-8, 2008.

VAN DOORN, H. R.; KOELEWIJN, R.; HOFWEGEN, H.; GILIS, H.; WETSTEYN, J. C. F. M.; WISMANS, P. J.; SARFATI, C.; VERVOORT, T.; GOOL, T. Use of enzyme linked immunosorbent assay and dipstick assay for detection of *Strongyloides stercoralis* infection in humans. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 45, n. 2, p. 438-442, 2007.

VERDONCK, K.; GONZALÉZ, E.; VAN DOOREN, S.; VANDAMME, A. M.; VANHAM, G.; GOTUZZO, E. Human T-lymphotropic virus 1: recent knowledge about an ancient infection. **Lancet Infectious Diseases**, v. 7, n. 4, p. 266-281, 2007.

VERWEIJ, J. J.; CANALES, M.; POLMAN, K.; ZIEM, J.; BRIENEN, E. A.; POLDERMAN, A. M.; VAN LIESHOUT, L. Molecular diagnosis of *Strongyloides stercoralis* in fecal samples using real-time PCR. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 103, n. 4, p. 342-346, 2009.

VIANA, L. G.; RABELLO, A.; KATZ, N. Antibody subclass profile and avidity during acute and chronic human *Schistosoma mansoni* infection. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 95, n. 5, p. 550-556, 2001.

WENMAN, W. M. Human immune response to *Giardia lamblia* infection. **Journal Infection Diseases**, v. 155, p. 137-140, 1987.

WHITMAN, W. B.; COLEMAN, D. C.; WIEBE, W. J. Prokaryotes: the unseen majority. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 95, n. 12, p. 6578–6583, 1998.

WOOF, J. M.; KERR, M. A. The function of Immunoglobulin A in immunity. **The Journal of Pathology**, v. 82. n. 2, p. 208-270, 2006.

WYNN, T. A. 2007. Common and unique mechanisms regulate fibrosis in various fibroproliferative diseases. **The Journal of Clinical Investigation**, v. 117, n. 3, p. 524–529, 2007.

YAMAGUTI, S. The nematodes of vertebrates. System Helminthum. **Interscience Publishers**, v. 3, n. 1-2, 1961.

YAZDANBAKHSI, M.; SACKS, D. L. Why does immunity to parasites take so long to develop?. **Nature Reviews Immunology**, v. 10, n. 2, p. 80–81, 2010.

YORI, P. P.; KOSEK, M.; GILMAN, R. H.; CORDOVA, J.; BERN, C.; CHAVEZ, C. B.; OLORTEGUI, M. P.; MONTALVAN, C., SANCHEZ, G. M.; WORTHEN, J.; LEUNG, F.; ORE, C. V. Seroepidemiology of strongyloidiasis in the peruvian amazon. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 74, n.1, p. 97-102, 2006.

ZAHA, Ó; HIRATA, T.; KINJO, F.; SAITO, U. M.; FUKUHARA, H. Efficacy of ivermectin for chronic strongyloidiasis: two single doses given 2 weeks apart. **Journal of Infection and Chemotherapy**, Tokio, v. 8, n. 1, p. 94-98, 2002.

4. Produção Científica

4.1. Artigo 1

PARASITOS INTESTINAIS NO MUNICÍPIO DE LONDRINA-PR: UMA ANÁLISE RETROSPECTIVA

Larissa Rodrigues Bosqui¹; Raquel Arruda da Silva-Sanfelize¹; Luiz Antonio Custódio²; Maria Cláudia Noronha Dutra de Menezes¹; Valter Abou Murad²; Leandro Arthur Diehl²; Zuleica Naomi Tano²; Ricardo S. C. Almeida³; Wander Rogério Pavanelli¹; Ivete Conchon-Costa¹; Idessania Nazareth Costa¹.

¹Departamento de Ciências Patológicas, CCB, Laboratório de Parasitologia Experimental, Universidade Estadual de Londrina, PR, Brasil.

²Ambulatório de Especialidades do Hospital Universitário de Londrina-PR

³Laboratório de Micologia Médica e Microbiologia Bucal, Universidade Estadual de Londrina, PR, Brasil.

*Autor Correspondente:

Idessania Nazareth Costa

Departamento de Patologia Experimental – Laboratório de Parasitologia

Universidade Estadual de Londrina-UEL-Rodovia Celso Garcia Cid

Campus Universitário, Cx. Postal 6001, CEP 86051-990 - Londrina – PR.

Tel: +055-43-3371-4539

Email: idessania@hotmail.com

Resumo:

As parasitoses intestinais constituem um importante problema de saúde pública, principalmente em populações cujas condições de higiene e moradia são precárias, sendo importante informar e conscientizar a população a cerca dessas infecções, principalmente onde esses dados são escassos. Este trabalho teve como objetivo verificar a prevalência de enteroparasitos a partir da análise de prontuários de indivíduos provenientes da cidade de Londrina-PR. Foram analisados 11.641 laudos coproparasitológicos do período de fevereiro 2009 a dezembro de 2012. Os dados foram catalogados após a realização dos testes parasitológicos de Hoffmann, Pons & Janer, Faust e Kato-Katz. O teste Qui quadrado foi utilizado para realizar a análise estatística. Do total de 11.641 laudos, 19,1% (n=2.221) indivíduos apresentaram-se positivos para enteroparasitos, sendo 52,1% (n=1.157) pertencentes ao gênero feminino e 47,9% (n=1.064) ao gênero masculino, com predominância de positividade de 27,1% (n=601) entre crianças de 0 a 10 anos. Em relação às regiões estudadas, a região norte destacou-se com 35,4% (n=786) casos e prevalência de 6,8%. Entre os protozoários patogênicos, *Giardia lamblia* foi mais relatado com 19,1% (n=425) de positividade, enquanto que, ancilostomídeos foram os mais destacados entre os helmintos, com 7,8% (n=174) casos. Conclui-se que as condições precárias de saneamento básico contribuem para a evolução favorável dessas parasitoses, e que é necessária a divulgação destes dados visando maiores esclarecimentos e providências em âmbito sócio-educacional e de saúde uma vez que a identificação precoce de enteroparasitos contribui para o tratamento rápido e adequado e principalmente que estas informações possam diminuir os riscos de transmissão dos mesmos.

Palavras-chave: enteroparasitos, diagnóstico parasitológico.

1. Introdução

O parasitismo é um dos mais graves problemas de saúde no mundo. Estima-se que aproximadamente 200 milhões de pessoas no continente americano estejam parasitadas, sobretudo as populações de baixo nível socioeconômico e que vivem em condições precárias de saneamento, higiene e educação [1]. No Brasil, as enteroparasitoses constituem um sério problema de saúde pública ocupando lugar de destaque no cenário das doenças tropicais, decorrente da interação de inúmeros fatores (presença de animais no peridomicílio, contaminação do solo, da água, dos alimentos e seus manipuladores), assumindo um papel relevante não só quanto ao seu aspecto epidemiológico, mas principalmente sob o ponto de vista médico-social [2,3,4].

As manifestações oriundas das infecções por enteroparasitos podem gerar sérios agravos à saúde, sobretudo, pelo elevado número de indivíduos afetados e pelas alterações geradas por estes parasitos incluindo, efeitos sobre o estado nutricional como a má absorção, diarreia crônica, anemia, desnutrição, dor abdominal e distúrbios no crescimento, além de alterações na função cognitiva principalmente em escolares [5,6]. O prejuízo funcional de alguns órgãos e a rápida replicação dos parasitos pode levar o indivíduo a óbito, principalmente os imunocomprometidos [7]. Na maioria dos casos o comprometimento funcional é decorrente da obstrução do intestino, de vasos sanguíneos e canais secretores, bem como pela compressão de órgãos e tecidos [8,4].

Em decorrência dos efeitos deletérios à saúde dos indivíduos e, sobretudo, das repercussões econômicas, vários programas têm sido dirigidos para o controle das parasitoses intestinais em diferentes países, mas, infelizmente, constata-se um descompasso entre o êxito alcançado nos países mais desenvolvidos e aquele verificado nas economias mais pobres [9,10]. A maioria das doenças parasitárias não pode ser diagnosticada apenas pela avaliação médica, as investigações laboratoriais tornam-se necessárias para o diagnóstico preciso. É fundamental avaliar quais métodos laboratoriais apresentam maior especificidade, maior sensibilidade e que demandam menos recursos financeiros [11].

Em decorrência da existência de diferentes classes sócio-econômico-culturais na população de uma mesma cidade, é importante conhecer a prevalência de enteroparasitoses e as principais espécies encontradas em cada região, para que sejam estabelecidas medidas profiláticas e de tratamento visando a diminuição no número de casos [12,13,14]. A Organização Mundial de Saúde (OMS) estima que as doenças parasitárias associadas com a pobreza acometam 45% do total de todas as doenças presentes em países em desenvolvimento. Estudos têm sido realizados no sul do Brasil, a fim de identificar os agentes etiológicos associados com as características epidemiológicas destas infecções apresentadas pela população [15,16,6]. Entretanto, em muitas regiões do Estado do Paraná, trabalhos neste sentido ainda são escassos.

Nesse contexto, em decorrência da importância para a saúde pública, e devido à precariedade de dados na literatura quanto à prevalência de enteroparasitos em determinadas regiões, nosso objetivo foi verificar a prevalência destes a partir de prontuários de indivíduos provenientes da cidade de Londrina-PR.

2. Material e métodos

2.1. Área de Estudo

Este estudo foi aprovado pelo comitê de ética em pesquisa em seres humanos da Universidade Estadual de Londrina, nº 1494.2013-56.

A área de estudo foi a cidade de Londrina no Estado do Paraná, região norte do Estado e Sul do Brasil. Trata-se de um município com 537.566 habitantes, com aproximadamente 13.181 habitantes da zona rural, sendo que 41,76% da população total é composta por idosos. É a segunda cidade mais populosa do Estado. Situada entre 23°08'47" e 23°55'46" latitude sul e longitude entre 50°52'23" e 51°19'11" oeste. O clima é classificado com subtropical úmido (temperatura média de 22°C), com chuvas o ano todo [17].

2.2. Análise de Dados

Os dados do número de casos levantados nos últimos quatro anos (fevereiro de 2009 a dezembro 2012), foram obtidos a partir da análise de laudos coproparasitológicos de indivíduos provenientes das regiões Norte, Sul, Leste, Centro e Rural de Londrina e encaminhados ao Laboratório de Enteroparasitos do Hospital das Clínicas da Universidade Estadual de Londrina, onde as amostras de fezes eram analisadas pelos métodos de Hoffmann, Pons & Janer [18], Faust e colaboradores [19] e Kato e Miura [20] e Katz e colaboradores [21] (Kato-Katz).

O estudo retrospectivo foi efetuado com base em trabalhos anteriormente realizados onde a coleta das amostras biológicas eram feitas na cidade de Londrina por agentes de saúde pertencentes à Secretaria Municipal de Saúde em parceria com a Universidade Estadual de Londrina, e para tal, eram distribuídos coletores para todos os membros das famílias visitadas após aceite na participação da pesquisa. Foram considerados idade e gênero e presença de parasitos.

2.3. Análise Estatística

A análise estatística foi realizada com auxílio do software SPSS versão 20.0. Os dados foram apresentados em frequência absoluta e relativa. Os testes aplicados para verificar a associação entre as variáveis foram: teste Qui-Quadrado, exato de Fisher e razão de verossimilhança. A partir das associações encontradas um modelo de regressão logística foi estipulado. As variáveis: tempo em meses, região, gênero e faixa etária foram inseridas no modelo como preditoras enquanto a ocorrência de infecção como desfecho, os resultados indicam a razão de chances (ODDS RATIO) de acordo com as características propostas e considerando um grupo de referência, apresentado como valor 1 nas tabelas. O nível de significância adotado foi $p < 0,05$.

3. Resultados

Dos 11.641 prontuários analisados, 19,1% ($n=2.221$) apresentaram-se positivos para enteroparasitos (Gráfico 1). Destes, 52,1% ($n=1.157$) eram pertencentes ao gênero feminino e 1.064 (47,9%) ao gênero masculino, com idades variando de zero a maior de 80 anos. Não houve diferença significativa entre os

gêneros, porém quanto à idade, a razão de chances (OR) de apresentar parasitos foi 1,8 vezes maior em crianças de 0-10 anos (Tabela 1).

Em relação às regiões analisadas, foi possível constatar que o aparecimento de novos casos de enteroparasitos, independente da faixa etária e gênero, quando comparadas à região rural, foram maiores nas regiões centrais com razão de chance de 1,8, e Norte 1,2. Entretanto a região Norte foi a que mais se destacou com 786 (35,4%) casos de parasitismo, com prevalência de 6,8% (Tabela 1).

Quando analisamos o período de coleta das amostras e a possível relação com a ocorrência de parasitos, observou-se maior prevalência de parasitos nos meses de maio a setembro para os anos de 2009, 2010 e 2011. Entretanto, no ano de 2012 esses índices diminuíram drasticamente em todos os meses como demonstrado na Tabela 2 e Gráfico 2.

Dentre os protozoários, em ordem decrescente de ocorrência destacaram-se: *Endolimax nana* 44,7% (n=993), seguido por *Entamoeba coli* 40,4% (n=898) e *Giardia lamblia* com 19,1% (n=425). Para os helmintos os maiores números de ocorrência foram para ancilostomídeos 7,8% (n=174) seguido por *Enterobius vermiculares* com 3,8% (n=84) casos (Tabela 3). Vale dizer que, houve 4,1% (n=472) de laudos com biparasitismo e 0,7% (n=77) poliparasitados (dados não mostrados).

A Tabela 4 mostra a ocorrência de enteroparasitos em relação à razão de chances (OR) de acordo com o período (mês e ano), independente da faixa etária, gênero e região. Nota-se que, o ano de 2011 apresentou 1,9 vezes mais chance de aparecimento de enteroparasitos, quando comparado a 2009. Já no ano de 2010 houve 20% menos chance de aparecimento de parasito comparado a 2009 como confirma a Tabela 4. Na análise mensal (Gráfico 2) foi observado que nos meses de março a novembro, com exceção de abril e dezembro, apresentaram razão de chances significantes, variando de 1,3 a 1,8, quando comparado à fevereiro em todos os anos. Porém no ano de 2012 o índice de OR foi menor que nos demais anos (Tabela 4).

4. Discussão

As enteroparasitoses representam grave problema de saúde pública. A prevalência destas infecções dependem do grau de exposição às formas infectantes dos parasitos e a fatores como condições de moradia e de saneamento [22,23]. No Brasil, em decorrência da diversidade geográfica, climática e da existência de diferentes classes socioeconômicas na população de uma mesma cidade, é importante que se conheça a prevalência das principais espécies encontradas em cada região, o que possibilita estabelecer as medidas profiláticas e curativas necessárias [13].

Neste trabalho foi observado ocorrência de 19,1% de positividade para enteroparasitoses, com maior predominância nas regiões centro, norte e leste da cidade de Londrina. Na visão de Cunha (1993) [24], o principal ponto para se combater a maioria das doenças infectocontagiosas, incluindo as infecções parasitárias, é a educação, pessoas melhores informadas sobre higiene pessoal, correm menos riscos de contraí-las. As crianças, principalmente em idade pré-escolar e escolar e os adolescentes são os mais acometidos, por estarem mais frequentemente expostos às condições de infecção, em ambientes favoráveis à transmissão e pela imaturidade do sistema imunológico [25,26]. Isso pode explicar o maior acometimento das crianças de 0-10 anos em nosso estudo, com 5,2% de prevalência e com OR de 1,8 vezes comparado a faixa etária acima de 81 anos. Segundo a Organização Mundial de Saúde (WHO) (2006) [27], estima-se que aproximadamente 3,5 bilhões de pessoas em todo o mundo estão infectadas por alguma espécie de parasito intestinal, sendo que, cerca de 450 milhões estão doentes, a maioria crianças residentes em áreas tropicais de países em desenvolvimento.

Nossos dados demonstram elevada prevalência de espécies não patogênicas como *Entamoeba coli*, *Endolimax nana* e *Iodamoeba butschilli* (Tabela 3). Dados similares foram descritos por Lodo e colaboradores (2010) [23] em um estudo realizado para verificar a prevalência de enteroparasitos em usuários da Unidade de Saúde, no qual o maior número de casos encontrados foi de parasitos comensais, evidenciando que esses parasitos sinalizam contaminação fecal-oral [28,29].

O quadro patogênico provocado pela presença de parasitos no intestino humano pode determinar o subdesenvolvimento do indivíduo pela depleção de suas reservas nutricionais e má absorção sistêmica, bem como prejuízos funcionais e o desenvolvimento exacerbado de parasitos pode levar o indivíduo a óbito [30]. Para Menezes e colaboradores (2008) [31], a elevada prevalência de parasitoses intestinais está relacionada à precariedade do saneamento básico e da cultura higiênico-pessoal, juntamente com a existência de fatores ambientais favoráveis. A prevalência de doenças parasitárias de veiculação hídrica no Brasil reflete a deficiência do sistema público e a fragilidade desses sistemas ao atendimento à comunidade [32]. Em Londrina-PR existe um grande número de ocupações irregulares, localizadas na maioria dos casos em regiões de fundos de vale nas áreas de preservação ambiental, com pouco ou nenhum tratamento de rede de coleta [33].

Os relatos acima justificam, em parte, o que foi demonstrado neste trabalho, onde a região com maior prevalência (6,8%) de casos foram os bairros da região Norte, com OR de 1,2 vezes maior que a região Rural. Além da natureza demográfica, pode-se inferir que o parasitismo está estreitamente relacionado com a piora do nível socioeconômico da população, se mostrando inversamente proporcional ao aumento do poder econômico [6,30,34]. Fato esse que se confirma no presente estudo, principalmente por se tratar de bairros onde os indivíduos estão mais expostos às formas de contaminação, que pode ocorrer tanto por contato com o solo e animais ou ingestão de água contaminada [35].

Outro fato que merece destaque foi a positividade encontrada na área rural com 23,4% de casos. O Brasil possui clima e situação socioeconômica favorável às ocorrências de doenças parasitárias. Tanto nas áreas rurais quanto nas urbanas, as parasitoses intestinais são amplamente difundidas devido às condições sanitárias e as hortaliças, podendo estes serem os principais veículos de transmissão, uma vez que a maioria das parasitoses intestinais possui mecanismos de infecção passivo oral e/ou ativo cutâneo [36,37]. Belo e colaboradores (2012) [38] relataram a ocorrência de parasitoses intestinais em escolares da zona rural e urbana de um município de Minas Gerais, e constaram que a maior prevalência de positividade foi

em escolares da zona rural, devido à precariedade das condições básicas de saneamento existente na maior parte das regiões rurais. Por outro lado, alguns autores defendem a ideia de que, uma vez que existam condições socioeconômicas, ambientais e educacionais adequadas, a prevalência nestas regiões rurais poderá ser similar ou mesmo inferior à de áreas urbanizadas [39].

Segundo Pedrazzani e colaboradores (1988) [40], as enteroparasitoses, isoladamente, não geram alta letalidade. No entanto, sob certas circunstâncias, essas infecções podem comprometer a qualidade de vida na infância, principalmente em países em desenvolvimento, onde a desnutrição é um dos grandes problemas de saúde pública, tornando-se as infecções por parasitas intestinais um fator agravante. Dados revelam que cerca de 400 milhões de pessoas em todo o mundo estão infectados por *Giardia lamblia* e 200 milhões por *Entamoeba histolytica/ E. dispar*, protozoários patogênicos ao homem [30,41]. A frequência de giardíase sofre variações quanto à distribuição mundial, com incidência de 11% a 30% [42]. No Brasil, a frequência de infecção por giardíase varia de acordo com a população e a região estudada [41].

Nossos resultados demonstram a ocorrência de 19,1% para *G. lamblia*. Marquez e colaboradores (2002) [14], também relataram alta positividade de enteroparasitos em escolares de um bairro periférico da cidade de Londrina, com prevalência, principalmente para *G. lamblia* (22,8%). Da mesma forma, outro estudo realizado pela nossa equipe evidenciou elevado índice de *G. lamblia*, principalmente na cidade de Rolândia-PR com 12,06% de ocorrência e na cidade de Ibiporã-PR com 24,48% [43].

A maior prevalência de helmintos no município de Londrina-PR foi principalmente para os ancilostomídeos e *Enterobius vermiculares* em todos os anos analisados. No Brasil, a elevada ocorrência de helmintos é encontrada tanto na zona rural quanto na zona urbana, geralmente em regiões de condições socioeconômicas mais precárias [44,45,46]. Miranda e colaboradores (1999) [47], Rios e colaboradores (2007) [48] e Menezes e colaboradores (2013) [30], demonstraram resultados semelhantes, onde a prevalência de helmintos foi maior para ancilostomídeos. Uma das principais justificativas para esta alta ocorrência é que os

ovos e larvas desses helmintos são liberados juntamente com as fezes humanas, contaminando o ambiente e o solo, e são carregados pelo vento e água contaminando os alimentos. As infecções helmínticas, na maioria, ocorrem via ingestão desses ovos viáveis ou pela penetração ativa de larvas através da pele ou mucosa [30,49]. Outro helminto que também se destaca no número de casos é *E. vermiculares*, tendo em vista as diversas formas de disseminação destes ovos associadas à facilidade de sua transmissão e à sua prolongada resistência, principalmente em locais onde existe grande fluxo de pessoas [50].

Ainda há um grande número de ocorrência de helmintos relatados por vários autores em diferentes regiões do Brasil. *Ascaris lumbricoides* é um parasita intestinal cosmopolita, bem como, a espécie mais prevalente de todos os enteroparasitos que acometem o homem [51,52].

Quanto à frequência de *Strongyloides stercoralis*, em todo o período de análise houve descrição de cinco (0,2%) casos deste parasito. Acredita-se que estes dados estejam subestimados, uma vez que, em nenhum dos trabalhos citados e bem como no presente levantamento, não foram realizados métodos específicos para a detecção das larvas desse parasito, métodos estes, baseados no hidrotermotropismo das mesmas e de, no mínimo, três amostras de fezes por indivíduo para o diagnóstico confiável. Diante destas informações pode-se presumir que estes índices de positividade poderiam apresentar-se mais elevados [53].

A caracterização conforme o tempo de coleta aponta maior ocorrência para os anos de 2009 e 2011, principalmente entre os meses de agosto e setembro. A influência da sazonalidade pode contribuir na prevalência das enteroparasitoses, notando-se em vários estudos que a ocorrência pode estar aumentada no verão, muito possivelmente pela maior exposição da população susceptível ao ambiente contaminado [30]. Entretanto, a OR para que se ocorra novos casos foram maiores nos anos de 2010 e 2011 quando comparados a 2009, e nos meses de março e maio a novembro, comparados a fevereiro, significativamente, com valores de OR variando entre 1,3 e 1,8.

É possível observar diminuição significativa na ocorrência de casos em relação ao ano de 2012. Acredita-se que o decréscimo na ocorrência para diversos parasitos, está relacionado não só com mudanças de hábitos, principalmente por parte das crianças, mas também ao desenvolvimento da imunidade progressiva e duradoura, bem como pela implementação de programas de controle [52,54], onde sabe-se que nos últimos anos, são realizados estudos com a população periférica de Londrina coordenados por docentes e alunos em parceria com o hospital de clínicas da Universidade Estadual da cidade e neste sentido, após a detecção de parasitos, os indivíduos são encaminhados para tratamento por profissional especializado.

Diante da elevada ocorrência de parasitos na região estudada, percebe-se a necessidade da divulgação epidemiológica destes dados visando maiores esclarecimentos e providências em âmbito sócio-educacional e de saúde uma vez que a identificação precoce de enteroparasitos pode contribuir para o pronto tratamento e principalmente que estas informações possam diminuir os riscos de transmissão.

Agradecimentos

Ao Laboratório de Extensão e Pesquisas em Enteroparasitoses (LEPEn), no Ambulatório do Hospital de Clínicas da Universidade Estadual de Londrina, em parceria da Universidade Estadual de Londrina com a Fundação Nacional de Saúde (FUNASA). À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e aos alunos Verônica L. Pereira, Naara C. C. Santos, Bruno B. Lucas, Agatha C. A. Freire e Nathaly C. O. Luis pela dedicação e desempenho nas coletas de dados.

5. Referências

- [1] Macedo HS. Prevalence of intestinal parasites and commensals in children of public schools of Paracatu (MG). *Rev Bras Anal Clin* 2005; 37: 209-13.
- [2] Aidar Sobrinho T, Coelho LMPS, Oliveira MS, Martins JT, Rabello Júnior JA, Oliveira CRP, et al. Estudo da Frequência de Ovos de Helmintos Intestinais em Sanitários de uso Público de Sorocaba, SP. *Rev Soc Bras Med Trop* 1995; 28: 33-7.
- [3] Abraham RS, Tashima NT, Silva MA. Prevalência de enteroparasitoses em reeducandos da Penitenciária “Maurício Henrique Guimarães Pereira” de Presidente Venceslau – SP. *Rev Bras Anál Clín* 2007; 39: 39-42.
- [4] David TG, Macedo CL, De Sá FMP, Júnior NPS. Prevalence of the enteroparasites in the municipality of Ariquemes, Rondônia, Brazil. *Rev Cie Fac Edu e Mei Amb* 2013; 4: 39-48.
- [5] Prado MS, Barreto ML, Strina A, Faria JAS, Nobre AA, Jesus SR. Prevalência e intensidade da infecção por parasitas intestinais em crianças na idade escolar na Cidade de Salvador (Bahia, Brasil). *Rev Soc Bras Med Trop* 2001; 34: 99-101.
- [6] Buschini MLT, Pittner E, Czervinski T, Moraes IF, Moreira MM, Sanches FH, et al. Spacial distribution of enteroparasites among school children from Guarapuava, State of Paraná, Brazil. *Rev Bras Epidemiol* v. 10, n. 4, p. 568-78, 2007; 10: 568-78.
- [7] Brum JWA, Conceição AS, Gonçalves FVC, Maximiano LHS, Diniz LBMPV, Pereira MN, et al. Parasitoses oportunistas em pacientes com o vírus da imunodeficiência humana. *Rev Soc Bras Clín Med São Paulo* 2013; 11: 280-8.
- [8] Melo EM, Ferraz FN, Aleixo LD. Importância do estudo da prevalência de parasitos intestinais de crianças em idade escolar. *Rev. Saúde e Biol* 2010; 5: 43-7.
- [9] Ludwig MK, Frei F, Alvares Filho F, Ribeiro-Paes JT. Correlação entre condições de saneamento básico e parasitoses na população de Assis, estado de São Paulo. *Rev Soc Bras Med Trop Minas Gerais* 1999; 32: 547-55.

- [10] Silva EF, Silva EB, Almeida KS, Sousa JJN, Freitas FLC. Enteroparasitoses em crianças de áreas rurais do município de Coari, Amazonas, Brasil. *Rev Patol Tropic* 2009; 38: 155-60.
- [11] Machado ER, Santos DS, Costa-Cruz JM. Enteroparasites and commensal among children in four peripheral districts of Uberlândia, State of Minas Gerais. *Rev Soc Bras Med Trop Minas Gerais* 2008; 41: 581-85.
- [12] Marques PB, Mylius LC, Ponte CIRV. Prevalência de parasitoses intestinais em crianças dos núcleos da FEBEM de vilas periféricas de Porto Alegre, RS. *Rev Bras Anál Clín Rio de Janeiro* 2001; 33: 31-3.
- [13] Oliveira MF, Costa STCB, Bezerra FSM. Incidência de enteroparasitoses na zona rural do Município de Parnaíba, Piauí. *Rev Bras Anál Clín Rio de Janeiro* 2001; 33: 45-8.
- [14] Marquez AS, Marquez AS, Hasenack BS, Trapp EH, Guilherme RL. Prevalência de enteroparasitoses em crianças de um bairro de baixa renda de Londrina – Paraná. *Rev Ciênc Biol Saúde Londrina* 2002; 4: 55-9.
- [15] Scolari C, Torti C, Beltrame A, Matteelli A, Castelli F, Gulletta M, et al. Prevalence and distribution of soil-transmitted helminth (STH) infections in urban and indigenous schoolchildren in Ortigueira, State of Paraná, Brasil: implications for control. *Rev Trop Med Int Health* 2000; 5: 302-7.
- [16] Ferreira H, Lala ERP, Czaikoski PG, Buschini MLT, Monteiro MC. Enteroparasitoses e déficit nutricional em crianças hospitalizadas, Guarapuava, Estado do Paraná, Brasil. *Rev Acta Sci Health Sci Maringa* 2006; 28: 113-17.
- [17] IBGE Cidades. Dados do município de Londrina-PR - Censo 2013. Disponível em: <http://cidades.ibge.gov.br/xtras/perfil.php?codmun=411370>.
- [18] Hoffmann WA, Pons JA, Janer JL. The sedimentation concentration method in *Schistosomiasis mansoni*, Puerto Rico. *J Pub Heal Trop Med* 1934; 9: 283-91.
- [19] Faust EC, Sawitz W, Tobie J. Comparative efficiency of various techniques for diagnosis of protozoa and helminthes in feces. *J Parasitol* 1939; 25: 241-62.

- [20] Kato K, Miura M. Comparative examination. *Jap J Parasit.* 1954; 3:35.
- [21] Katz N, Chaves A, Pellegrino J. A simple device for quantitative stool thick-smear technique in *Schistosomiasis mansoni*. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 1972; 14: 397-400.
- [22] Basso RMC, Silva-Ribeiro RT, Soligo DS, Ribacki SI, Callegari-Jacques SM, Zoppas BCA. Evolução da prevalência de parasitoses intestinais em escolares em Caxias do Sul, RS. *Rev Soc Bras Med Trop* 2008; 41: 263-8.
- [23] Lodo M, Oliveira CGB, Fonseca ALA, Caputto LZ, Packer MLT, Valenti VE, et al. Prevalência de enteroparasitas na cidade de Bom Jesus dos Perdões. *Rev Bras Cres Des Hum* 2010; 20: 769-77.
- [24] Cunha AMO. Educação e Saúde: um estudo das explicações das crianças, adolescentes e adultos para doenças infecciosas. São Paulo. Dissertação (Mestrado) – Fac Edu - USP 1993: 1-291 (dados não publicados).
- [25] Saturnino ACRD, Nunes JFL, Silva EMA. Relação entre a ocorrência de parasitas intestinais e sintomatologia observada em crianças de uma comunidade carente de Cidade Nova, em Natal – Rio Grande do Norte, Brasil. *Rev Bras Anál Clín* 2003; 35: 85-7.
- [26] Pezzi NC, Tavares RG. Relação de aspectos sócio-econômicos e ambientais com parasitoses intestinais e eosinofilia em crianças da enca, Caxias do Sul-RS. *Rev Est Goiânia* 2007; 34: 11-2.
- [27] WHO. Division of Control of Tropical Diseases; intestinal Parasites Control, Geographical Distribution. WORLD HEALTH ORGANIZATION 2006.
- [28] Jombo GT, Egah DZ, Akosu JT. Intestinal parasitism, potable water availability and methods of sewage disposal in three communities in Benue State, Nigeria: a survey. *Rev Ann Afr Med* 2007; 6: 17-21.
- [29] Vasconcelos IAB, Oliveira JW, Cabral FRF, Coutinho HDM, Menezes IRA. Prevalência de parasitoses intestinais entre crianças de 4-12 anos no Crato, Estado

do Ceará: um problema recorrente de saúde pública. *Rev Acta Scien Health Scien* 2011; 33: 35-41.

[30] Menezes RAO, Gomes MSM, Barbosa FHF, Brito GCM, Proietti Junior AA, Couto AARD'A. Parasitas intestinais na população residente em áreas úmidas em Macapá, Amapá, Brasil. *Rev Bio Cien Ter* 2013; 13: 10-8.

[31] Menezes AL, Lima VMP, Freitas MTS, Rocha MO, Silva EF, Dolabella SS. Prevalence of intestinal parasites in children from public daycare centers in The city of Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 2008; 1: 57-9.

[32] Ferrete JA, Borges EA, Rosolen VS, Lemos JC. Risco de Contaminação Ambiental por Esgotos Domésticos e Resíduos Sólidos em Lotes do Assentamento de Reforma Agrária Ezequias Dos Reis, Município De Araguari. 24º Cong Bras Eng Sanit e Amb Minas Gerais, 2007. Disponível em: http://www.geografiaememoria.ig.ufu.br/downloads/VANIA_ROSOLEN3.pdf.

[33] Barros MVF, Scomparim A, Kishi CS, Caviglione JH, Arantes MRL, Nakashima SY, et al. Identificação das ocupações irregulares nos fundos de vale da cidade de Londrina-PR por meio de imagem landsat 7. *Rev RA'E GA Curitiba* 2003: 47-54.

[34] Monteiro CA, Szarfarc SC. Estudo das condições de saúde das crianças do município de São Paulo (Brasil), 1984/1985. VII – Parasitoses intestinais. *Rev Saúde Púb São Paulo* 1987; 22: 8-15.

[35] Rocha TJM, Braz JC, Calheiros CML. Parasitismo intestinal em uma comunidade carente do município de barra de Santo Antônio, estado de Alagoas. *Rev Eletr Farm Goiás* 2010; 2: 28-33.

[36] Hotez PJ, Bottazzi ME, Franco-Paredes C, Ault SK, Roses Periago M. The neglected tropical diseases of Latin America and the Caribbean: Review of estimated disease burden and distribution and a roadmap for control and elimination. *PLoS Negl Trop Dis* 2008; 2: 1-11.

- [37] Silva LP, Silva EJ, Silva RMG. Parasitological diagnosis of horticulturist in monitoring parasitic contamination in rural environments. Rev Biosci J Minas Gerais 2010; 26: 648-52.
- [38] Belo VS, Oliveira RB, Fernandes PC, Nascimento BWL, Fernandes FV, Castro CLF, et al. Factors associated with intestinal parasitosis in a population of children and adolescents. Rev Paul Pediatr 2012; 30: 195-201.
- [39] Martins LP, Serapião AA, Valenciano RF, Oliveira GT, Santos KJ, Castanho RE. Initial evaluation of some enteroparasitosis prevalence in the community of Palmital, Berilo, MG. Rev Med Minas Gerais 2009; 19: 26-31.
- [40] Pedrazzani ES, Mello DA, Pripas S, Fucci M, Barbosa CAA, Santoro MCM. Helmintosos intestinais. II – Prevalência e correlação com renda tamanho da família, anemia e estado nutricional. Rev Saúde Púb São Paulo 1988; 22: 384-89.
- [41] Borges WF, Marciano FM, Oliveira HB. Parasitos intestinais: elevada prevalência de *Giardia lamblia* em pacientes atendidos pelo serviço público de saúde da região sudeste de Goiás, Brasil. Rev Pat Trop 2011; 40: 149-57.
- [42] Mbuh JV, Ntonifor HN, Ojongo JT. The incidence, intensity and host morbidity of human parasitic protozoan infections in gastrointestinal disorder outpatients in Buea Sub division, Cameroon. Rev J Infect Dev Ctries 2009; 4: 38-43.
- [43] Bosqui LR, Pereira VL, Lucas BB, Dalavedo GA, Santos NCC, Freire ACARB, et al. Ocorrência de *Strongyloides stercoralis* e demais enteroparasitos em indivíduos provenientes de municípios da região norte do Paraná. Rev Biosaúde Londrina 2014; 16: 8-18.
- [44] Costa-Macedo LM, Costa MCE, Almeida LM. Parasitismo por *Ascaris lumbricoides* em crianças menores de dois anos: estudo populacional em comunidade do Estado do Rio de Janeiro. Cad Saude Pub 1999; 15: 173-78.
- [45] Silva CG, Santos HA. Ocorrência de parasitoses intestinais da área de abrangência do Centro de Saúde Cícero Idelfonso da Regional Oeste da Prefeitura

Municipal de Belo Horizonte, Minas Gerais. Rev Biol e Ciên Ter, Campina Grande – Paraíba 2001; 1: 1-11.

[46] El Fatni C, Olmo F, El Fatni H, Romero D, Rosales MJ. First genotyping of *Giardia duodenalis* and prevalence of enteroparasites in children from Tetouan (Morocco). Rev Parasite 2014; 21: 48-54.

[47] Miranda RAM, Xavier FB, Nascimento JRL, Menezes RC. Prevalência de parasitismo intestinal nas aldeias indígenas da tribo Tembê, Amazônia Oriental Brasileira. Rev Soc Bras Med Trop Minas Gerais 1999; 32: 389-93.

[48] Rios L, Cutolo SA, Giatti LL, Castro M, Rocha AA, Toledo RF, et al. Prevalência de parasitos intestinais e aspectos socioambientais em comunidade indígena no Distrito de Lauaretê, município de São Gabriel da Cachoeira (AM), Brasil. Rev Saúde Soc São Paulo 2007; 16: 76-86.

[49] Sá-Silva JR, Porto MJF, Sousa CEB, Almeida FVP. Escola, Educação em Saúde e Representações Sociais: problematizando as parasitoses intestinais. Rev Pesq Foco Maranhão 2010; 18: 82-95.

[50] Silva AT, Massara CL, Murta FGL, Oliveira AA, Lara-Silva FO. Ovos de *Enterobius vermicularis* em salas de espera e banheiros de unidades básicas de saúde (ubs) do município de nova serrana-mg: contribuições para o controle. Rev Patol Trop 2013; 42: 425-33.

[51] Carrilo MRG, Lima AA, Nicolato RLC. Prevalência de Enteroparasitoses em Escolares do Bairro Morro de Santana no Município de Ouro Preto, MG. Rev Bras Anal Clin 2005; 37: 191-93.

[52] Dias DS, Menezes RAO, Souza MJC, Barbosa FHF, Andrade RF, Picanço Souto RNP. Fatores de riscos que contribuem para as parasitoses intestinais em crianças de 0 a 5 anos em Macapá – Amapá, Brasil. Rev Cie Equat 2013; 3: 19-28.

[53] Olsen A, Van Lieshout L, Marti H, Polderman T, Polman K, Steinmann P. et al. Strongyloidiasis – the most neglected of the neglected tropical diseases? Trans R Soc Trop Med Hyg 2009; 103: 967-72.

[54] Nolla AC, Cantos GA. Relação entre a ocorrência de enteroparasitoses em manipuladores de alimentos e aspectos epidemiológicos em Florianópolis, Santa Catarina, Brasil. Cad Saúde Púb 2005; 21: 641-45.

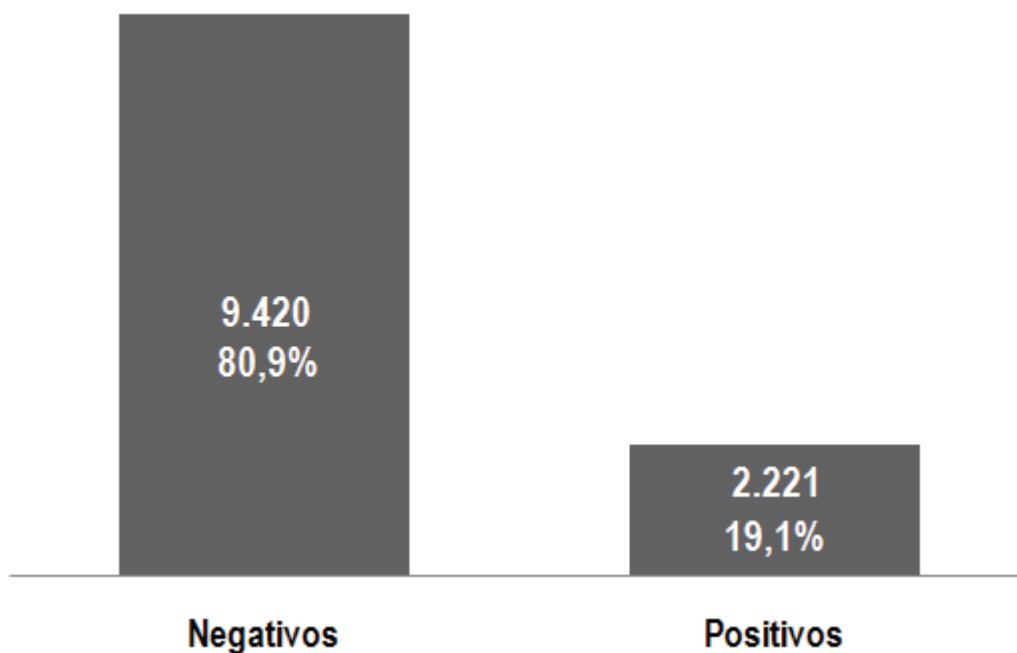
Número de Casos (2009 - 2012)

Gráfico 1. Número e porcentagem de casos positivos e negativos em 11.641 prontuários analisados durante o período de 2009 a 2012 na cidade de Londrina-PR.

Tabela 1. Número de casos positivos para enteroparasitos, prevalência e razão de chances, distribuídos por regiões, gênero e faixa etária.

	n	CASOS	PREVALÊNCIA	OR (IC 95)	P
Rural	520	23,4	4,5	1	
Norte	786	35,4	6,8	1,2 (1,1-1,4)*	0,000
Leste	461	20,8	4,0	0,8 (0,7-0,9)*	0,000
Sul	318	14,3	2,7	1,1 (0,9-1,4)	0,082
Centro	136	6,1	1,2	1,8 (1,4-2,3)*	0,003
F	1157	52,1	9,9	1	
M	1064	47,9	9,1	0,9 (0,8-1,1)	0,414
>80 anos	16	0,7	0,1	1	
0-10 Anos	601	27,1	5,2	1,8 (1,1-3,0)*	0,000
11-20 Anos	385	17,3	3,3	1,2 (0,6-2,0)	0,240
21-30 Anos	277	12,5	2,4	1,1 (0,6-1,9)	0,468
31-40 Anos	269	12,1	2,3	1,1 (0,6-1,9)	0,343
41-50 Anos	243	10,9	2,1	1,2 (0,7-2,1)	0,596
51-60 Anos	185	8,3	1,6	1,2 (0,6-2,0)	0,242
61-70 Anos	171	7,7	1,5	1,5 (0,8-2,6)	0,138
71-80 Anos	74	3,3	0,6	1,3 (0,7-2,3)	0,144

Tabela 2. Número de casos positivos distribuídos por mês/ano, Londrina-PR.

	GERAL	2009	2010	2011	2012
Fev	82 (3,7)	00 (0,0)	37 (5,6)	39 (5,6)	06 (3,6)
Mar	220 (9,9)	39 (5,6)	84 (12,7)	79 (11,4)	18 (10,7)
Abr	174 (7,8)	85 (12,2)	34 (5,1)	30 (4,3)	25 (14,8)
Mai	256 (11,5)	99 (14,2)	71 (10,7)	44 (6,3)	42 (24,9)
Jun	233 (10,5)	55 (7,9)	81 (12,2)	81 (11,7)	16 (9,5)
Jul	250 (11,3)	72 (10,3)	98 (14,8)	80 (11,5)	00 (0,0)
Ago	271 (12,2)	57 (8,2)	98 (14,8)	116 (16,7)	00 (0,0)
Set	243 (10,9)	125 (18,0)	32 (4,8)	86 (12,4)	00 (0,0)
Out	199 (9,0)	57 (8,2)	50 (7,6)	64 (9,2)	28 (16,6)
Nov	209 (9,4)	76 (10,9)	54 (8,2)	54 (7,8)	25 (14,8)
Dez	84 (3,8)	31 (4,5)	23 (3,5)	21 (3,0)	09 (5,3)
TOTAL	2221 (100)	696 (100)	662 (100)	694 (100)	169 (100)

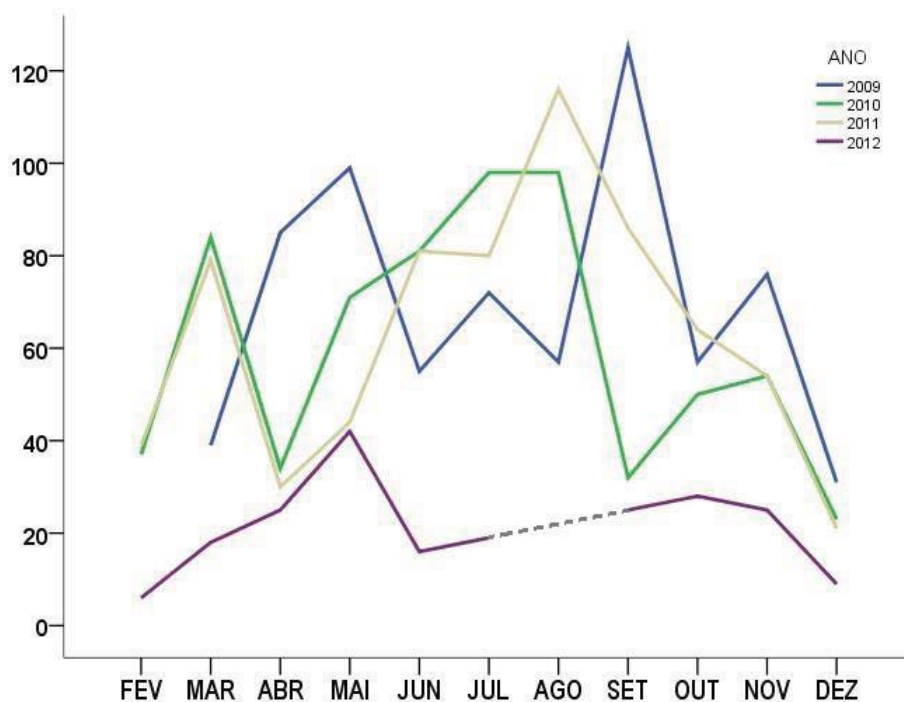


Gráfico 2. Distribuição do número de casos positivos por mês/ano, Londrina-PR.

Tabela 3. Distribuição da frequência de enteroparasitos por ano, Londrina-PR.

	GERAL		2009		2010		2011		2012	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
PROTOZOÁRIOS										
<i>Endolimax nana</i>	993	(44,7)	363	(16,3)	314	(14,1)	254	(11,4)	62	(2,8)
<i>Entamoeba coli</i>	898	(40,4)	278	(12,5)	245	(11,0)	297	(13,4)	78	(3,5)
<i>Giardia lamblia</i>	425	(19,1)	116	(5,2)	132	(5,9)	147	(6,6)	30	(1,4)
<i>Entamoeba histolytica/E. dispar</i>	61	(2,7)	21	(0,9)	19	(0,9)	18	(0,8)	03	(0,1)
<i>Iodamoeba butschilli</i>	37	(1,7)	06	(0,3)	09	(0,4)	19	(0,9)	03	(0,1)
HELMINTOS										
Ancilostomídeos	174	(7,8)	56	(2,5)	42	(1,9)	65	(2,9)	11	(0,5)
<i>Enterobius vermiculares</i>	84	(3,8)	30	(1,4)	31	(1,4)	18	(0,8)	05	(0,2)
<i>Ascaris lumbricoides</i>	54	(2,4)	08	(0,4)	11	(0,5)	34	(1,5)	01	(0,0)
<i>Hymenolepis nana</i>	52	(2,3)	13	(0,1)	14	(0,6)	20	(0,9)	05	(0,2)
<i>Trichuris trichiura</i>	45	(2,0)	08	(0,4)	13	(0,6)	24	(1,1)	00	(0,0)
<i>Schistosoma mansoni</i>	18	(0,8)	04	(0,2)	08	(0,4)	03	(0,1)	03	(0,1)
<i>Strongyloides stercoralis</i>	05	(0,2)	02	(0,1)	00	(0,0)	02	(0,1)	01	(0,0)
<i>Trichostrongylus sp.</i>	03	(0,1)	00	(0,0)	03	(0,1)	03	(0,1)	00	(0,0)

Tabela 4. Razão de chances (OR) da ocorrência de enteroparasitos, distribuídos por mês/ano, Londrina-PR.

	OR (IC 95%)
2009	1
2010	0,8 (0,7-0,9)*
2011	1,9 (1,6-2,3)*
2012	0,9 (0,7-1,1)
FEV	1
MAR	1,5 (1,1-2,0)*
ABR	1,2 (0,9-1,6)
MAI	1,3 (1,1-1,8)*
JUN	1,5 (1,1-2,0)*
JUL	1,8 (1,4-2,4)*
AGO	1,7 (1,3-2,2)*
SET	1,6 (1,2-2,2)*
OUT	1,5 (1,1-1,9)*
NOV	1,5 (1,1-2,0)*
DEZ	1,3 (0,9-1,8)

4.2. Artigo 2

Ocorrência de *Strongyloides stercoralis* e outros parasitos intestinais utilizando diferentes métodos parasitológicos no município de Londrina-PR

Larissa R. Bosqui^a; Verônica L. Pereira^a; Luiz A. Custódio^b; Maria Cláudia N. D. Menezes^a; Valter A. Murad^b; Ricardo Sergio Couto de Almeida^d; Wander R. Pavanelli^a; Ivete Conchon-Costa^a; Julia M. Costa-Cruz^c; *Idessania N. Costa^a.

^aDepartamento de Ciências Patológicas, CCB, Laboratório de Parasitologia Experimental, Universidade Estadual de Londrina, PR, Brasil.

^bAmbulatório de Especialidades do Hospital Universitário de Londrina, Paraná, Brasil.

^cLaboratório de Imunologia e Parasitologia Aplicadas da Universidade Federal de Uberlândia, MG, Brasil.

^dLaboratório de Micologia Médica e Microbiologia Bucal, Universidade Estadual de Londrina, PR, Brasil.

*Autor Correspondente:

Idessania Nazareth Costa

Departamento de Patologia Experimental – Laboratório de Parasitologia

Universidade Estadual de Londrina-UEL-Rodovia Celso Garcia Cid

Campus Universitário, Cx. Postal 6001, CEP 86051-990 - Londrina – PR.

Tel: +055-43-3371-4539

Email: idessania@hotmail.com

Resumo:

As enteroparasitoses representam grave problema de saúde pública. Dentre estas, destaca-se a estrogiloidíase humana com distribuição mundial, porém dados de prevalência destas ainda são escassos em determinadas regiões. Nosso objetivo foi verificar a prevalência de *S. stercoralis* e outros enteroparasitos em amostras de fezes de indivíduos provenientes do município de Londrina-PR (abril de 2013 a maio de 2014) utilizando quatro diferentes métodos parasitológicos. Amostras de fezes frescas foram processadas para realização dos métodos de Hoffman, Pons e Janer, Faust, Kato-Katz e Rugai. A análise estatística foi realizada pelo teste Qui-quadrado. Foram analisados 2.315 amostras de indivíduos, com faixa etária de zero a maior de 80 anos. Foram detectados parasitos em 19,31% (n=447). A região Sul apresentou o maior número de casos 61,3% (n=274) e razão de chances (OR) de 2,4 ($P < 0,003$). A faixa etária de maior prevalência foi entre crianças de 0-10 anos (4,4%). Os métodos Faust e Rugai foram os que mais detectaram parasitos, principalmente o protozoário *Entamoeba coli* 36,8% (n=196) e em destaque *S. stercoralis* com 5,3% (n=28) quando utilizado o método de Rugai. Ressalta-se a importância da utilização de diferentes métodos parasitológicos para a detecção precisa dos parasitos e que a pesquisa epidemiológica fornece dados relevantes sobre determinada região e assim, subsídios para implementação de programas de controle para minimizar danos à saúde.

Palavras- chave: estrogiloidíase, parasitos intestinais, diagnóstico parasitológico.

1. Introdução

As parasitoses intestinais representam um grave problema de saúde pública no Brasil. Acometem mais de 30% da população mundial, visto que a falta de conhecimento e profilaxia associados à ausência do saneamento básico, nível socioeconômico, o grau de escolaridade, a idade e os hábitos de higiene de cada indivíduo contribuem para os altos índices de positividade dos parasitos.^{1,2}

No Brasil, as enteroparasitoses ainda apresentam elevada prevalência. Entretanto, como em um mesmo país podemos encontrar áreas altamente desenvolvidas contrastando com áreas precárias, a prevalência e o espectro parasitário variam muito. Estima-se que, 41,7 milhões de pessoas estão infectadas com *Ascaris lumbricoides*, 18,9 milhões por *Trichuris trichiura* e 32,3 milhões por ancilostomídeos.^{3,4}

Dentre as infecções causadas por geohelmintos, a estrogiloidíase, infecção ocasionada pelo nematódeo *Strongyloides stercoralis*, está entre as seis primeiras principalmente em regiões tropicais e subtropicais do mundo. Esta posição refere-se apenas às infecções ativas, uma vez que o número de pessoas potencialmente expostas com quadro de infecção sub-clínico é muito maior.⁵

S. stercoralis apresenta ciclo monoxênico, onde a larva filarioide atravessa a pele, alcança os pulmões e migra até o trato gastrointestinal do hospedeiro. Em casos de hiperinfecção, a larva se prolifera rapidamente e atinge intestino e pulmões, enquanto que, em quadros graves de infecção disseminada, as larvas podem ser encontradas em diversos órgãos, como cérebro e rins. Enquanto a hiperinfecção pode acometer qualquer indivíduo, a forma disseminada é frequentemente vista em indivíduos imunocomprometidos, podendo por vezes, ser fatal.²

No período de 1990 a 2009, a ocorrência relatada da infecção por *S. stercoralis* no Brasil foi de aproximadamente 5,5% nas cinco regiões brasileiras, o que caracteriza o país como uma área hiperendêmica.⁴ No estado do Paraná, foi demonstrado que os índices desta parasitose variam de 0,9 a 3,3% na população

em geral,^{6,7} no entanto, são necessários trabalhos que relatem estes dados, visto que os dados são escassos, especificamente na região norte do Paraná.

O diagnóstico ideal para a detecção de *S. stercoralis* é baseado no hidrotermotropismo, entretanto, estes não são empregados na rotina laboratorial. Diante disso, acredita-se que os dados de prevalência deste parasito ainda sejam subestimados e pouco elucidados.⁸ Esses fatores contribuem para o diagnóstico incorreto ou tardio, o que dificulta o tratamento adequado.

Diante da importância dos estudos de prevalência envolvendo enteroparasitos e, principalmente *S. stercoralis*, pelo caráter grave que assume em muitas situações e considerando ainda, a escassez de dados que relatem essa prevalência em determinadas áreas da região norte do Paraná, nosso objetivo foi analisar a ocorrência de parasitos no município de Londrina-PR a partir da análise de amostras coproparasitológicas da população utilizando quatro diferentes métodos parasitológicos.

2. Material e métodos

2.1. Área de Estudo

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos da Universidade Estadual de Londrina, nº 1494.2013-56.

Londrina está situada no Norte do Estado do Paraná, região Sul do Brasil. Trata-se de um município com 537.566 habitantes, com aproximadamente 13.181 habitantes da zona rural, sendo que 41,76% da população total é composta por idosos. É a segunda cidade mais populosa do Estado. Situada entre 23°08'47" e 23°55'46" latitude sul e longitude entre 50°52'23" e 51°19'11" oeste. O clima é classificado com subtropical úmido (temperatura média de 22°C), com chuvas o ano todo.⁹

Segundo dados do Censo (2010),¹⁰ dentre as regiões Norte, Sul, Leste, Oeste, Centro e Rural, a região Sul da cidade, destaca-se como a maior área residencial, apresentando uma grande concentração de conjuntos habitacionais, seguida da região Central, como a segunda região mais populosa de Londrina-PR.

2.2. População estudada

Foram colhidas amostras fecais frescas de indivíduos provenientes das regiões sul, leste, centro e rural da cidade de Londrina no período de abril de 2013 a maio de 2014.

As amostras foram processadas no Laboratório de Extensão e Pesquisa de Enteroparasitoses (LEPEEn), do Hospital de Clínicas da Universidade Estadual de Londrina, após a assinatura do termo de consentimento do participante ou responsável.

2.3. Processamento das amostras

As amostras fecais sem conservantes foram processadas utilizando quatro métodos parasitológicos diferentes: Hoffmann, Pons & Janer,¹¹ Faust e colaboradores,¹² Kato e Miura¹³ modificado por Katz e colaboradores¹⁴ e Rugai e colaboradores.¹⁵ Para cada amostra foram preparadas três lâminas para posterior leitura por no mínimo dois examinadores em microscópio de luz (Olympus, CH-2, Japão) em aumentos de 40, 100 e 400x.

Após a leitura, os resultados dos exames foram encaminhados para as unidades básicas de saúde (UBS) responsáveis por cada bairro, para posterior encaminhamento ao profissional especializado para um tratamento, quando necessário.

2.4. Análise Estatística

A análise estatística foi realizada com auxílio do software SPSS versão 20.0. Os dados foram apresentados em frequência absoluta e relativa. Os testes aplicados para verificar a associação entre as variáveis foram: teste Qui-Quadrado, exato de Fisher e razão de verossimilhança. A partir das associações encontradas um modelo de regressão logística foi estipulado. As variáveis: tempo em meses, região, gênero e faixa etária foram inseridas no modelo como preditoras enquanto a ocorrência de infecção como desfecho, os resultados indicam a chance de ocorrência (ODDS RATIO) de acordo com as características propostas e considerando um grupo de

referência, apresentado como valor 1 nas tabelas. O nível de significância adotado foi $p < 0,05$.

3. Resultados

Em 2.315 amostras de fezes, de indivíduos de zero a maior de 80 anos, foram detectados parasitos em amostras de 19,31% (n=447) indivíduos onde 50,3% (n=225) eram pertencentes ao gênero feminino e 49,7% (n=222) ao gênero masculino, com maior prevalência em crianças de 0-10 anos (4,4%) seguida de 11-20 anos (3,8%) como demonstrado na Tabela A.

Foi observado que a região com maior concentração de casos positivos para enteroparasitos foi a região sul, com 61,3% ($p < 0,003$) (Figura A), dado este, significativamente diferente das demais regiões, além de apresentar razão de chances (OR) 2,4 vezes maior que a região central (Tabela A).

A Tabela B demonstra o número de parasitos detectados (n=532), sendo que, muitos dos indivíduos apresentaram quadro de poliparasitismo. Dentre os protozoários, os que apresentaram maior ocorrência em relação aos demais enteroparasitos encontrados nas regiões analisadas foram: *Entamoeba coli* 36,8% (n=196), *Endolimax nana* 141 (26,5%) ($P < 0,05$). Para os helmintos: *S. stercoralis* 5,3% (n=28) e ancilostomídeos 3,8% (n=20) seguido de *Ascaris lumbricoides* 3,4% (n=18). Porém, apresentam significância estatística, de acordo com a população distribuída nas regiões estudadas, os parasitos *A. lumbricoides* e *Enterobius vermiculares* 13 (2,4%) ($P < 0,05$). Os bairros pertencentes à região Sul se destacaram por apresentarem o maior número de parasitos detectados, com um total de 328 (61,7%).

Segundo a análise comparativa entre os testes parasitológicos aplicados, o método de Faust apresentou o maior número de detecção 70,2% (n=394), tanto para o diagnóstico de protozoários, quanto de helmintos, seguido pelo método de Rugai com 20,9% (n=117), principalmente na detecção de larvas de *S. stercoralis*. Estes dois métodos também apresentaram concordâncias com a detecção dos parasitos, como na identificação de *Entamoeba histolytica*/ *E. dispar* (Tabela C).

4. Discussão

As parasitoses intestinais, sendo um problema de saúde pública, principalmente em países em desenvolvimento, dependem de múltiplos fatores que colaboram para o aumento de sua prevalência tendo como questão chave as condições de saneamento básico.¹⁶ De acordo com os resultados obtidos neste trabalho, a positividade de indivíduos parasitados foi de 19,31%, índice bastante elevado quando se compara o período da análise em questão. Nossos resultados estão de acordo com El Fatni e colaboradores (2014)¹⁷ quando se observa os índices de prevalência de enteroparasitos no Brasil tanto nas áreas rurais quanto nas urbanas.

Vários fatores contribuem para os índices de positividade e disseminação de parasitos. Animais domésticos são importante veículo de contaminação, principalmente em crianças já que geralmente estão mais expostas.¹⁸ Além disso, apesar das ações de saneamento terem avançado nas últimas quatro décadas, ainda persiste em determinadas regiões do Brasil os agravos à saúde pertinentes à insalubridade do meio ambiente, especialmente os de veiculação hídrica. Alguns autores acreditam que, o saneamento básico aliado à educação, são os principais meios de minimizar os riscos de contaminação dos parasitos.¹⁶

Dados da Companhia de Habitação de Londrina (COHAB-LD) mostram que existem 23 ocupações irregulares espalhadas pela cidade de Londrina-PR, localizadas na maioria dos casos em regiões de fundos de vale nas áreas de preservação permanente.¹⁹ No presente estudo, das regiões estudadas, foi possível notar que a região sul de Londrina-PR, destacou-se quanto ao número de indivíduos parasitados 61,3% ($P < 0,003$). A região sul possui 16 aglomerados, com a concentração de 1.450 famílias, representando 25,36% do total de famílias do município. Trata-se de uma região com um grande número de valetas de esgoto a céu aberto, acúmulo de lixo nos terrenos e córrego, sinais de odores e gases.²⁰

Desse modo, o número elevado de indivíduos parasitados encontrados nos bairros da região sul pode ser explicado pela deficiência ou mesmo inexistência de rede de coleta e tratamento de resíduos.¹⁹ Segundo Aguiar-Santos e colaboradores (2013)²¹ a falta de saneamento ambiental é um dos principais fatores relacionados

às doenças humanas no mundo, principalmente as de veiculação hídrica.¹⁶ Por outro lado, a erradicação de parasitos requer melhorias principalmente nas condições socioeconômicas e nas mudanças de hábitos.²²

Outro fator importante que está intimamente relacionado ao elevado índice de parasitoses é a falta de instrução da população.^{21,22} Segundo a Secretaria Municipal de Assistência Social/Instituto de Pesquisa e Planejamento Urbano de Londrina – IPPULA (2008), a região Sul apresenta alto índice de analfabetismo (12 a 17%). Acredita-se que a educação seja o principal fator para minimizar os graves problemas de saúde pública onde o grau de instrução contribui no entendimento do processo de educação e saúde, especialmente nas medidas preventivas quanto às formas de transmissão parasitária.²³

Neste trabalho, a ocorrência de enteroparasitos foi semelhante para ambos os gêneros, não demonstrando, portanto, diferença entre eles. Apesar dos resultados não apontarem hipóteses que possam justificar maior frequência entre os gêneros, vale ressaltar que os cuidados adotados por homens e mulheres são diferenciados, sendo as mulheres as que mais procuram os serviços de saúde para a realização de exames de rotina.²⁴

Quanto à ocorrência de helmintos e protozoários em relação à faixa etária, foi observado mesmo sem diferença significativa, que o grupo de crianças de 0-10 anos de idade apresentou o maior número de casos, representado por 101 (22,6%) e com razão de chance 2,158 vezes maior que os idosos acima de 80 anos. As crianças e os adolescentes são os grupos mais vulneráveis ao contato com enteroparasitos,²⁵ estando mais expostos à contaminação em função do pouco ou nenhum conhecimento dos princípios básicos de higiene pessoal, do maior contato com o solo e com animais.²²

Entre os protozoários que são capazes de causar infecção grave, principalmente em crianças, destacou-se, neste trabalho, *Giardia lamblia* com frequência de 14,1%. Dados similares foram observados pela análise de 9.924 laudos no município de Rolândia (janeiro 2010 – abril 2014) e de 5.419 no município de Iporã (janeiro 2010 – dezembro 2013) no estado do Paraná, onde a ocorrência

de *G. lamblia* foi de 12,06% e de 24,48% respectivamente.²⁶ Fato preocupante já que as enteroparasitoses, principalmente em escolares, são capazes de comprometer a produtividade, a capacidade física e mental além de exercerem efeitos patológicos de forma direta sobre a saúde, agravando o estado nutricional do hospedeiro.^{23,27}

Nossos resultados demonstram uma maior detecção de protozoários (80,8%) em relação aos helmintos (19,2%). Este alto índice de protozoários pode ser multifatorial, podendo ser um bioindicador de contaminação fecal-oral e de condições sanitárias, visto que, a água de consumo é o maior destaque para tal infecção.²⁷

Com relação à frequência de infecções por geohelmintos sabe-se que é influenciada por variáveis de natureza ambiental, podendo ser adquiridas por alimentos cultivados em solos contaminados, ausência de água de boa qualidade e de fossas, dejetos e detritos a céu aberto, solo úmido, altas temperaturas e até mesmo por meio dos animais domésticos.²⁸ Entre os helmintos encontrados, a maior prevalência 28 (5,27%), foi observada para *S. stercoralis*. A estrogiloidíase no homem ocorre principalmente pela penetração ativa das larvas filarioides na pele íntegra, ou ocasionalmente, através das mucosas, quando são deglutidas acidentalmente através de alimentos contaminados.²⁹ A elevada prevalência da estrogiloidíase em regiões tropicais e subtropicais facilitam a transmissão e o caráter de cronicidade, o que pode originar formas graves de infecções, sobretudo em indivíduos imunocomprometidos.⁴

No município de Ibiporã, estudo retrospectivo (janeiro de 2010 a dezembro de 2013) realizado pela nossa equipe, demonstrou a ocorrência de 103 (9%) casos positivos para *S. stercoralis* demonstrando a importância da estrogiloidíase na região norte do Paraná²⁶. Já na cidade de Londrina, a análise retrospectiva de 11.641 laudos realizada pela mesma equipe, em quatro anos (2009-2012) apontou apenas cinco (0,2%) casos de estrogiloidíase. Cabe enfatizar que o método utilizado na rotina laboratorial para esta detecção não era baseado no hidrotermotropismo das larvas (dados não mostrados). Diferentemente, no presente trabalho a ocorrência de *S. stercoralis* foi de 28 casos em um ano realçando a

importância da utilização de métodos específicos para o diagnóstico desta helmintíase. Esses casos foram detectados principalmente na região sul, como citado anteriormente, esta é uma região com condições precárias de moradias. Apesar de *S. stercoralis* ser um geohelminto, o número de casos detectados nas áreas rurais foram menores, o que pode ser justificado pelo avanço nas melhorias habitacionais de infraestrutura o que reflete conseqüentemente, nas práticas de higiene pessoal e doméstica. A diminuição do número de infecções por helmintos pode ser possivelmente compreendida pelo uso indiscriminado de drogas anti-helmínticas por parte da população em geral, que por vezes se automedicam.

Devido aos inúmeros métodos propostos para o exame parasitológico, é preciso que se conheça as limitações, complexidade da técnica e baixa sensibilidade para o diagnóstico de determinados parasitos,²⁹ o que é justificado por De Carli (2011),³⁰ onde em laboratórios de rotina, é necessário empregar mais de um método de diagnóstico para detectar as formas parasitárias de protozoários e helmintos, principalmente quando há baixa carga parasitária.

Nos últimos anos, para trabalhos coprológicos realizados na cidade de Londrina-PR, são empregados, além do método de Hofmann, Pons e Janer, outros métodos como Kato-Katz e Faust. Kato-Katz é muito utilizado nos Programas de Controle da Esquistossomose para detecção de *Schistosoma mansoni*, porém não é indicada para a detecção de larvas de helmintos e protozoários intestinais.³⁰ Faust é indicado para cistos de protozoários e ovos de ancilostomídeos.²⁸ Este método mostrou-se bastante sensível neste estudo, sendo responsável pelo maior número de detecção de parasitos no geral 70,2% (n=394). Já o método de Hoffman-Pons-Janer é a técnica mais utilizada em laboratórios de análises clínicas onde sua utilização é justificada por abranger o diagnóstico de protozoários e helmintos, além de apresentar baixo custo.²⁹

Sabendo que a estrogiloidíase humana é uma infecção de condição negligenciada, sendo relatada com diferentes prevalências no Brasil, nós propusemos para este trabalho, além das técnicas já citadas acima, a realização de uma quarta, a técnica de Rugai, especialmente para averiguar os casos positivos para *S. stercoralis*. Como citado anteriormente, e em concordância com a literatura,

o método de Rugai apresentou maior sensibilidade para a detecção da larva deste parasito. Esta informação é de relevante importância pelo fato de evitar resultados falso-negativos para o helminto quando utilizando apenas técnicas ditas padrão na rotina. É fato que a utilização de água aquecida permite a captura de larvas devido ao termotropismo e hidrotropismo positivos, além disso, esse método possui baixo custo quando comparado a outros, podendo ser perfeitamente viável na rotina laboratorial.

É preciso destacar também que, em nossa pesquisa, houve detecção de 78 casos de coinfeção, sendo que 66 indivíduos estavam biparasitados e mais de 10 indivíduos poliparasitados (dados não mostrados), o que frequentemente é relatado por outros autores da área onde a ocorrência de indivíduos poliparasitados, em estudos epidemiológicos, são comuns devido à disseminação desses parasitos e pela facilidade com que são transmitidos.^{23,29}

Por fim, diante dos resultados apresentados, *S. stercoralis* foi o mais detectado dentre os helmintos pelo método de Rugai na cidade de Londrina-PR. Com isso, ressalta-se a importância da utilização de diferentes métodos para que ocorra o diagnóstico mais preciso e conseqüentemente o tratamento adequado dos infectados. Além disso, dados de ocorrência de enteroparasitos são importantes para a avaliação da saúde pública de uma região, fornecendo subsídio para a implementação de programas de controle e conseqüentemente, minimizar os danos que estes podem gerar à população.

Conflito de interesses

Os autores declararam não ter interesses conflitantes.

Aprovação ética

Todos os indivíduos assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido, e foram avaliados, investigados e tratados de acordo com o padrão clínico e procedimentos de cada Unidade Básica de Saúde responsável pelos bairros da cidade de Londrina-PR-Brasil.

Agradecimentos

Laboratório de Extensão e Pesquisas em Enteroparasitoses (LEPEEn), do Ambulatório do Hospital de Clínicas da Universidade Estadual de Londrina.

Financiamento: Nenhum

5. Referências

- [1] Melo EM, Ferraz FN, Aleixo LD. Importância do estudo da prevalência de parasitos intestinais de crianças em idade escolar. *Rev Saúde e Biol* 2010; **5**: 43-7.
- [2] Brum JWA, Conceição AS, Gonçalves FVC, et al. Parasitoses oportunistas em pacientes com o vírus da imunodeficiência humana. *Rev Bras Clin Med* 2013; **11**: 280-88.
- [3] Mascarini-Serra LM, Telles CA, Prado MS, et al. Reductions in the prevalence and incidence of geohelminth infections following a city-wide sanitation program in a Brazilian Urban Centre. *PLoS Negl Trop Dis* 2010; **4**: 558-65.
- [4] Paula FM, Costa-Cruz JM. Epidemiological aspects of strongyloidiasis in Brazil. *Parasitology* 2011; **138**: 1331-40.
- [5] Luvira V, Watthanakulpanich D, Pittisuttithum P. Management of *Strongyloides stercoralis*: a puzzling parasite. *HiTh Firs Pub* 2014; **6**: 273-81.
- [6] Falavigna DLM, Almeida AA, Iwazaki RS, et al. Intestinal parasites in ecotourism region of the state of Paraná, Brazil. *Braz Arch of Bio Tech* 2008; **51**: 693-99.
- [7] Toledo MJO, Paludetto AW, Moura FT, et al. Avaliação de atividades de controle para enteroparasitoses em aldeia Kaingáng do Paraná. *Rev Saúde Pública* 2009; **43**: 981-90.
- [8] Olsen A, Van Lieshout L, Marti H, et al. Strongyloidiasis – the most neglected of the neglected tropical diseases? *Trans R Soc Trop Med Hyg* 2009; **103**: 967-72.
- [9] Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - IBGE Cidades. Dados do município de Londrina-PR - Censo 2013. Disponível em: <http://cidades.ibge.gov.br/xtras/perfil.php?codmun=411370>. [Acessado em: 12/12/2014].
- [10] Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - IBGE Cidades. Dados do município de Londrina-PR - Censo 2010. Disponível em: <http://cidades.ibge.gov.br/xtras/perfil.php?codmun=411370>. [Acessado em: 12/12/2014].

- [11] Hoffmann WA, Pons JA, Janer JL. The sedimentation concentration method in *Schistosomiasis mansoni*, Puerto Rico. J Pub Hlth of Trop Med 1934; **9**: 283-91.
- [12] Faust EC, Sawitz W, Tobie J. Comparative efficiency of various techniques for diagnosis of protozoa and helminthes in feces. J Parasit 1939; **25**: 241-62.
- [13] Kato K, Miura M. Comparative examination. Jap J Parasit 1954; **3**: 35.
- [14] Katz N, Chaves A, Pellegrino J. A simple device for quantitative stool thick-smear technique in *Schistosomiasis mansoni*. Rev Inst Med Trop 1972; **14**: 397-400.
- [15] Rugai E, Mattos T, Brisola AP. Nova técnica para isolar larvas de nematóides das fezes: modificações do método de Baermann. Rev Inst Adolfo Lutz 1954; **14**: 5-8.
- [16] David TG, Macedo CL, De Sá FMP, et al. Prevalence of the enteroparasites in the municipality of Ariquemes, Rondônia, Brazil. Rev Cien Facul Edu e Meio Amb 2013; **4**: 39-48.
- [17] El Fatni C, Olmo F, El Fatni H, et al. First genotyping of *Giardia duodenalis* and prevalence of enteroparasites in children from Tetouan (Morocco). Rev Parasite 2014; **21**: 48-54.
- [18] Rocha TJ, Braz JC, Calheiros CML. Parasitismo intestinal em uma comunidade carente do município de barra de Santo Antônio, estado de Alagoas. Rev Elet Farmácia 2010; **2**: 28-33.
- [19] Ribeiro WS, Melchior L. Estruturação Urbana sob o Contexto da Mobilidade Populacional em Londrina-Brasil. Rev Bib Geo e Ciên Soc 2002; **7**.
- [20] Barros MVF, Scomparim A, Kishi CS, et al. Identificação das ocupações irregulares nos fundos de vale da cidade de Londrina-PR por meio de imagem landsat 7. Rev Ra'e GA 2003: 47-54.
- [21] Aguiar-Santos AM, Medeiros Z, Bonfim C, et al. Epidemiological assessment of neglected diseases in children: lymphatic filariasis and soil transmitted helminthiasis. Rev J Ped 2013; **89**: 250-55.

- [22] Menezes RAO, Gomes MSM, Barbosa, FHF, et al. Parasitas intestinais na população residente em áreas úmidas em Macapá, Amapá, Brasil. Rev Bio e Ciên da Terra 2013; **13**: 10-8.
- [23] Andrade EC, Leite ICG, Rodrigues VO, et al. Parasitoses intestinais: uma revisão sobre seus aspectos sociais, epidemiológicos, clínicos e terapêuticos. Rev APS 2010; **13**: 231-40.
- [24] Brunton LL, Knollman BC, Chabner BA. As Bases Farmacológicas da Terapêutica de Goodman e Gilman. Artmed 2012; **12ed**.
- [25] Bosqui LR, Pereira VL, Lucas BB, et al. Ocorrência de *Strongyloides stercoralis* e demais enteroparasitos em indivíduos provenientes de municípios da região norte do Paraná. Rev Biosaúde 2014; **16**: 8-18.
- [26] Oliveira VF, Amor ALM. Associação entre a ocorrência de parasitos intestinais e diferentes variáveis clínicas e epidemiológicas em moradores da comunidade Ribeira I, Araci, Bahia, Brasil. Rev Bras Anal Clin 2012; **44**: 15-25.
- [27] Freitas BQ, Mesquita MJS, Neto NJP, et al. Levantamento dos principais parasitas presentes no município de Barra do Garças-MT. Rev Eletr Interdisc: UNIVAR 2014; **2**: 32-36.
- [28] Ferreira MU. Parasitologia Contemporânea. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan 2012; **1ed**.
- [29] Carvalho GLX, Moreira LE, Pena JL, et al. A comparative study of the TF-Test®, Kato-Katz, Hoffman-Pons-Janer, Willis and Baermann-Moraes coprologic methods for the detection of human parasitosis. Mem Inst Oswaldo Cruz 2012; **107**: 80-4.
- [30] De Carli GA. Diagnóstico laboratorial das parasitoses humanas, métodos e técnicas. Medsi 2011; **3ed**: 455-59.

Tabela A. Distribuição do número de casos, prevalência e razão de chances de enteroparasitos por regiões, gênero e faixa etária de indivíduos provenientes de Londrina-PR, no período de abril de 2013 a maio de 2014.

	(n) % Casos	Prevalência	OR (IC 95%)	<i>P</i>
Centro	36 (8,1%)	1,6%	1	
Sul	274(61,3%)	11,8%	2,4 (1,3-4,4)	0,003
Rural	74 (16,6%)	3,2%	0,6 (0,3-1,2)	0,186
Leste	63 (14,1%)	2,7%	1,7 (1,0-2,8)	0,027
Feminino	225 (50,3%)	9,7%	1	
Masculino	222 (49,7%)	9,6%	1,0 (0,8-1,3)	0,461
>80	3 (0,7%)	0,1%	1	
0-10	101 (22,6%)	4,4%	2,158 (0,6-7,3)	0,221
11-20	89 (19,9%)	3,8%	2,293 (0,6-7,8)	0,188
21-30	58 (13,0%)	2,5%	1,843 (0,5-6,3)	0,335
31-40	39 (8,7%)	1,7%	1,329 (0,3-4,6)	0,657
51-50	55 (12,3%)	2,4%	1,622 (0,4-5,6)	0,446
51-60	35 (7,8%)	1,5%	1,097 (0,3-3,8)	0,886
60-70	43 (9,6%)	1,9%	1,879 (0,5-6,5)	0,324
71-80	24 (5,4%)	1,0%	2,519 (0,6-9,2)	0,162

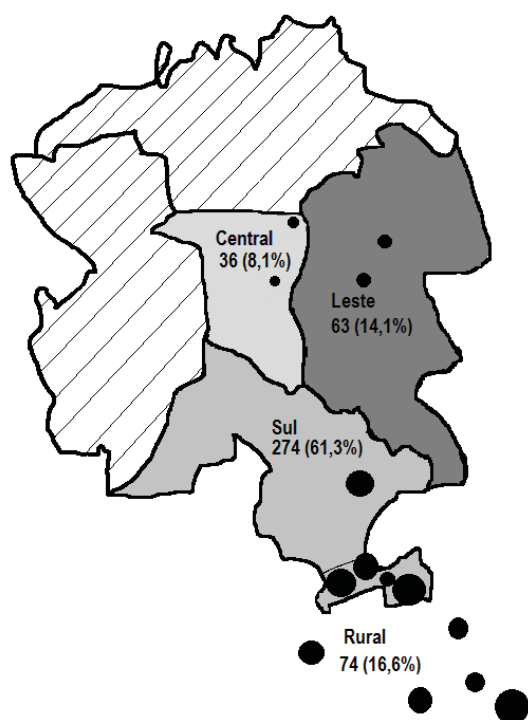


Figura A. Mapa da área de estudo representada pelo número e percentagem de casos por região no período de abril de 2013 a maio de 2014 em Londrina-Paraná, Brasil.

Tabela B. Distribuição de enteroparasitos por regiões no período de abril de 2013 a maio de 2014, Londrina-PR.

	CENTRAL	LESTE	SUL	RURAL	TOTAL
	n(%)**	n(%)**	n(%)**	n(%)**	n(%)#
PROTOZOÁRIOS					
<i>Entamoeba coli</i>	15 (7,7)	25 (12,8)	131 (66,8)	25 (12,8)	196(36,8)*
<i>Endolimax nana</i>	07 (5,0)	26 (18,4)	70 (49,6)	38 (27,0)	141(26,5)*
<i>Giardia lamblia</i>	05 (6,7)	08 (10,7)	53 (70,7)	09 (12,0)	75(14,1)
<i>Entamoeba histolytica/E. dispar</i>	00 (0,0)	01 (6,7)	12 (80,0)	02 (13,3)	15(2,8)
<i>Iodamoeba butschilli</i>	00 (0,0)	02 (66,7)	01 (33,3)	00 (0,0)	03(0,6)*
HELMINTOS					
<i>Strongyloides stercoralis</i>	07 (22,6)	03 (9,7)	13 (51,6)	05 (16,1)	28(5,3)
Ancilostomídeos	02 (10,0)	01 (5,0)	12 (60,0)	05 (25,0)	20(3,8)
<i>Ascaris lumbricoides</i>	02 (11,1)	00 (0,0)	16 (88,9)	00 (0,0)	18(3,4)*
<i>Enterobius vermiculares</i>	04 (30,8)	03 (23,1)	05 (38,5)	01 (7,7)	13 (2,4)*
<i>Hymenolepis nana</i>	00 (0,0)	01 (14,3)	05 (71,4)	01 (14,3)	07 (1,3)
<i>Fasciola hepatica</i>	01 (100,0)	00 (0,0)	00 (0,0)	00 (0,0)	01(0,2)
<i>Trichuris trichiura</i>	00 (0,0)	01 (12,5)	07 (87,5)	00 (0,0)	08(1,5)
<i>Schistosoma mansoni</i>	00 (0,0)	02 (28,6)	03 (42,9)	02 (28,6)	07(1,3)
TOTAL	43	73	328	88	532

**n (% casos do parasito); *P<0,05; #n(% do total de parasitos 532)

Tabela C. Distribuição do número de parasitos detectados utilizando diferentes métodos no período de abril de 2013 a maio de 2014, em indivíduos da cidade de Londrina-PR.

	FAUST*	HOFFMANN*	KATO*	RUGAI*	TOTAL DE CASOS (COM CONCORDÂNCIA)	Nº DE INDIVÍDUOS POSITIVOS
PROTOZOÁRIOS						
<i>Entamoeba coli</i>	169 (51,5)	12 (32,4)	0 (0,0)	25 (27,2)	206 (36,7)	196 (36,8)
<i>Endolimax nana</i>	96 (29,3)	5 (13,5)	0 (0,0)	46 (50,0)	147 (26,2)	141 (26,5)
<i>Giardia lamblia</i>	69 (21,0)	3 (8,1)	0 (0,0)	9 (9,8)	81 (14,4)	75 (14,1)
<i>Entamoeba histolytica/E. dispar</i>	12 (3,7)	0 (0,0)	0 (0,0)	3 (3,3)	15 (2,7)	15 (2,8)
<i>Iodamoeba butschilli</i>	3 (0,9)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	3 (0,5)	03 (0,6)
HELMINTOS						
<i>Strongyloides stercoralis</i>	1 (0,3)	5 (13,5)	0 (0,0)	27(29,3)	33 (5,9)	28 (5,3)
Ancilostomídeos	5 (1,5)	12 (32,4)	1 (14,3)	3 (3,3)	21 (3,7)	20 (3,8)
<i>Ascaris lumbricoides</i>	16 (4,9)	1 (2,7)	0 (0,0)	1 (1,1)	18 (3,2)	18 (3,4)
<i>Enterobius vermiculares</i>	7 (2,1)	4 (10,8)	0 (0,0)	2 (2,2)	13 (2,3)	13 (2,4)
<i>Hymenolepis nana</i>	8 (2,4)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	8 (1,4)	07 (1,3)
<i>Fasciola hepatica</i>	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	1 (1,1)	1 (0,2)	01 (0,2)
<i>Trichuris trichiura</i>	8 (2,4)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	8 (1,4)	08 (1,5)
<i>Schistosoma mansoni</i>	0 (0,0)	1 (2,7)	6 (85,7)	0 (0,0)	7 (1,2)	07 (1,3)
TOTAL DE CASOS (INFECÇÃO + CO-INFECÇÃO)	394	43	7	117	--	--

*n (% sujeitos detectados por método)

4.3. Artigo 3

Detection of IgA in saliva as an alternative tool for diagnosis of human strongyloidiasis in northern Paraná

Larissa Rodrigues Bosqui¹; Ana Lúcia Ribeiro Gonçalves²; Maria do Rosário de Fátima Gonçalves-Pires²; Luiz Antonio Custodio³; Maria Cláudia Noronha Dutra de Menezes¹; Valter Abou Murad³; Fabiana Martins de Paula⁴; Wander Rogério Pavanelli¹; Ivete Conchon-Costa¹; Julia Maria Costa-Cruz²; Idessania Nazareth Costa¹

¹ Departamento de Ciências Patológicas, Laboratório de Parasitologia, Universidade Estadual de Londrina – Paraná – Brazil

² Departamento de Imunologia, Microbiologia e Parasitologia, Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade Federal de Uberlândia – Minas Gerais – Brazil

³ Ambulatório de Especialidades do Hospital Universitário de Londrina, Paraná, Brazil

⁴ Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo – São Paulo – Brazil

**Corresponding Author:*

Idessania Nazareth Costa

Departamento de Patologia Experimental – Laboratório de Parasitologia

Universidade Estadual de Londrina-UEL-Rodovia Celso Garcia Cid

Campus Universitário, Cx. Postal 6001, CEP 86051-990 - Londrina – PR.

Tel: +055-43-3371-4539

Email: idessania@hotmail.com

Summary:

Human strongyloidiasis is an infection caused by the helminth *Strongyloides stercoralis* that can be fatal, especially in immunosuppressed patients. Our main objective was to evaluate IgG and IgA levels in paired serum and saliva samples from patients in northern Paraná state, using *Strongyloides venezuelensis* alkaline extracts and ELISA. Patients were divided into three groups: 30 individuals copropositive for *S. stercoralis* (Group I); 30 clinically healthy individuals (Group II); or 30 individuals copropositive for other parasites (Group III). Data were analyzed by ANOVA followed by a Kruskal-Wallis test, with p values <0.05 considered significant. IgG was detected in 96.7% of serum samples from Group I, while IgA was detected in 76.7%. IgA was only detected in 3.3% of serum samples in Group II. In Group III, cross-reactivity occurred in 26.7% of serum samples tested for IgG and in 6.7% of serum samples tested for IgA. Elevated levels of IgA were detected in Group I saliva (56.67%), while IgG was comparatively diminished (6.7%). IgA was detected in 26.7% of the saliva samples from Group III, while IgG was detected in only 6.7% of saliva samples ($p < 0.05$). The sensitivity values for detection of IgG and IgA in serum samples were 100% and 56.7%, respectively. The specificity value was 100% for the detection of IgG in serum and for detection of IgA in saliva. Saliva is thus considered an important alternative tool for immunological diagnosis of strongyloidiasis. The proper choice of immunological diagnosis to supplement parasitological methods is essential for estimation of the true prevalence of the parasite, and will permit analysis of population immune response profiles, particularly in northern Paraná state where there are no previous reports.

Key Words: Strongyloidiasis, immunodiagnostic, saliva, northern Paraná.

1. Introduction

Human strongyloidiasis is an infection caused by the intestinal worm *Strongyloides stercoralis* (Bavay 1876) affecting 30 to 100 million people in 70 countries, predominantly in tropical and subtropical regions (Paula and Costa-Cruz 2011; Olsen et al., 2009). The interaction between *S. stercoralis* and the human host is complex, due to the parasite's intrinsic capacity for reproduction. There are three possibilities for progression of infection in hosts: eradication of infection; chronic infection resulting from autoinfection; and the possibility of hyperinfection or dissemination (Ahmad et al., 2013). Most infected individuals are asymptomatic, while others may have mild, moderate, or serious intestinal discomfort. In immunocompromised individuals, disseminated infection is common and can be fatal without correct diagnosis and early treatment (De Bona and Basso 2008; Levenhagen and Costa-Cruz 2014). However, the symptoms resulting from strongyloidiasis infection processes are similar to those of other parasitic diseases, which can complicate clinical diagnosis (Siddiqui and Berk 2001; Agrawal et al., 2009). Diagnosis is generally based on identification of larvae in fecal samples, which can be difficult due to low and irregular larval output in most subclinical infections (Schar et al., 2013), and due to the lack of use of specific techniques for parasite detection (David et al., 2013).

To improve parasitological methods for diagnosis of human strongyloidiasis, immunological assays such as enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) have been increasingly used due to high assay sensitivity and wide applicability (Sithithaworn et al., 2003; Gonçalves et al., 2012). However, immunological methods for *S. stercoralis* diagnosis remain challenging, mainly due to the difficulty in obtaining sufficient quantities of larvae for use in assays (Ribeiro et al., 2010a). Instead, heterologous antigens from other species (e.g., *Strongyloides ratti* and *Strongyloides venezuelensis*) have frequently been used, yielding promising results (Costa et al., 2003; Gonzaga et al., 2011).

Patients with strongyloidiasis develop specific IgG, IgA, IgM and IgE antibodies, however methods used for detection and diagnosis primarily involve IgG (Genta, 1989; Grove 1996). IgA is the second most present type in serum immunoglobulin, and the most prominent type on surface mucosa and mucosal

secretions such as saliva (Mestecky and Russell 2009; Ribeiro et al., 2010a; Levenhagen and Costa-Cruz 2014). In addition to serum samples, saliva samples may be used as alternative sources for quantification of antibodies in protozoa (Ignatius et al., 1997; Borges and Figueiredo 2004; Guimaraes et al., 2010) and helminths, including *S. stercoralis* (Costa et al. 2003; Ribeiro et al, 2010b; Shariati et al., 2010). The advantage of using saliva as an alternative diagnostic tool is that it is readily available, and because the collection process for saliva is less invasive and reflects both the secretory and systemic immune responses (Mestecky and Russell 2009; Ribeiro et al., 2010a).

Given the clinical importance of early diagnosis of strongyloidiasis, the aim of this study was to evaluate and optimize detection of IgG and IgA antibodies in paired serum and saliva samples from patients with human strongyloidiasis via ELISA, using *S. venezuelensis* alkaline extract as heterologous antigen.

2. Materials and Methods

2.1. Study Groups

We analyzed a total of 90 paired-serum and saliva samples from individuals from the peripheral region of Londrina, Paraná, Brazil. Subjects were divided into three groups: Group I consisted of 30 individuals copropositive for *S. stercoralis*; group II consisted of 30 apparently healthy individuals (i.e., based on clinical observation), with no evidence of *S. stercoralis* infection in fecal tests and no history of strongyloidiasis; and group III consisted of 30 individuals copropositive for other parasites, including *Giardia lamblia* (n = 10), Ancylostomatidae (n = 6), *Ascaris lumbricoides* (n = 1), *Enterobius vermicularis* (n = 5), *Hymenolepis nana* (n = 5) and *Entamoeba histolytica/E. dispar* (n = 3). This study was approved by the ethics committee on human studies at the State University of Londrina (protocol number 1494.2013-56).

2.2. Samples

Stool, blood and saliva samples were collected from each individual for parasitological and immunological tests. Stool samples were processed by parasitological methods according to Hoffmann et al. (1934), Faust et al. (1939), Kato

and Miura (1954), as modified by Katz et al. (1972) and Rugai et al. (1954). Nine ml of blood was collected from each patient, after which samples were centrifuged for collection of serum. The material was stored at -20 °C until use.

Saliva samples were obtained at room temperature by oral swab with a clean piece of cotton wool. Prior to collection, patients were examined for oral candidiasis, oral herpes, gingivitis, gum recession and oral lesions and the oral cavity was cleansed by rinsing with water. Approximately 3 mL of saliva per subject was collected, after which samples were centrifuged at 12,400 x g for 15 minutes at 4 °C, and stored in aliquots at -20 °C (Sorvall RC 5C plus, USA) (Costa et al., 2003; Ribeiro et al., 2010a). Serum and saliva samples were used for detection of IgG and IgA antibodies.

2.3. Parasite collection and preparation

Strongyloides venezuelensis third-stage (infective) larvae (L3s) were obtained from feces of infected Wistar rats (*Rattus norvegicus*) and maintained in charcoal culture at 28 °C for 48 h. Larvae were recovered and concentrated using the Rugai method, washed five times with phosphate buffered saline (PBS, 0.01 mol/L, pH 7.2) and stored at -20 °C until use.

2.4. *S. venezuelensis* alkaline extract

Antigenic extracts were prepared according to Machado et al. (2003). Briefly, 300,000 *S. venezuelensis* filariform larvae were added to 1 mL NaOH 0.15 M (Merck, Germany) with protease inhibitors; the solution was gently stirred for 6 hours at 4 °C. HCl 0.3 M (Merck) was then added to the solution to attain neutral pH (7.0), after which the solution was centrifuged at 10,000 x g for 30 min at 4 °C. The supernatant (alkaline extract) was analyzed for protein content according to Lowry et al. (1951), divided into aliquots and stored at -20 °C until use.

2.5. ELISA detection of IgG and IgA

Preliminary experiments were performed to determine optimal conditions for ELISA by titration of reagents (antigenic extract, serum and saliva samples, controls and conjugate). Briefly, microtiter plates with low affinity (BioAgency Laboratories, São Paulo, Brazil) were incubated for 18h at 4 °C with 5 ug/ml *S. venezuelensis*

alkaline extract in 0.06 mol/L of carbonate-bicarbonate buffer (pH 9.6). The plates were washed three times with PBS containing 0.05% Tween 20. After washing, plates were prepared with serum samples (50 μ l/well) at 1:80 dilution (IgG detection) or 1:20 dilution (IgA detection), or with saliva samples (50 μ l/well) at 1:2 dilution (IgG and IgA detection) and incubated for 45 minutes at 37 °C. Plates were then coated with peroxidase-conjugated goat anti-human IgG secondary antibody (Sigma) at a dilution of 1:2000 for serum sample and 1:1000 for saliva sample, or peroxidase labeled goat anti-human IgA conjugate (Sigma) at the ideal dilution of 1:1000 for serum sample and 1:500 for saliva sample, a final volume of 50 μ l/well, and incubated for 45 minutes at 37 °C. The reaction was visualized by addition of the enzyme substrate (5 μ l 30% H₂O₂ Merck) with 5 mg o-phenylenediamine (OPD) in 12.5 ml of citrate-phosphate buffer (0.1 M) pH 5.0. The plates were incubated for 15 min at room temperature. The reaction was stopped by adding 25 μ l 2N H₂SO₄ to each well. The optical density (OD) was determined at 492 nm using a Titertek Multiskan plate reader (Flow Laboratories, McLean, VA). Results were expressed as ELISA index (EI) as follows: EI = absorbance of test samples divided by the cut-off value, where the cut-off value was mean absorbance of 15 negative control serum or saliva samples, plus two standard deviations. EI values > 1.0 were considered positive.

2.6. Statistical Analysis

Statistical analysis was performed using Graph Pad Prism version 5.0 software (GraphPad Software Inc., San Diego, USA). Data were analyzed using analysis of variance (ANOVA) followed by a Kruskal-Wallis test. The threshold for significance was set at $p < 0.05$.

Sensitivity, specificity and diagnostic efficiency (DE) were calculated according to Mineo et al. (2005). Tests performances were assessed based on positive and negative samples (P and N), true and false positive results (TP and FP) and true and false negative results (TN and FN). Each immunoglobulin class detected, biological sample and antigenic preparation, were analyzed in terms of: sensitivity (Se) – probability of ELISA to detect *S. stercoralis* patients – $Se = [TP \div (TP + FN)] \times 100$; specificity (Sp) – probability of ELISA being negative in apparently healthy individuals

and other parasitosis patients – $Sp = [TN \div (TN + FP)] \times 100$; and diagnostic efficiency (DE) – agreement of ELISA results with stool tests – $DE = [P \div (P + N)] \times Se + \{1 - [P \div (P + N)]\} \times Sp$. These indexes of test efficiency express general performance of studied ELISA protocol. Positive predictive value – $PPV = TP \div (P) \times 100$ – and negative predictive value – $NPV = TN \div (N) \times 100$ – have more clinical implications since they represent patients with positive or negative test results correctly diagnosed.

3. Results

IgG and IgA levels in serum and saliva samples from the three study groups are shown in Table 1. In the *S. stercoralis* copropositive group, IgG antibodies were detected in serum from 29 individuals (96.7%) and in saliva from two individuals (6.7%) with the groups significantly differing in percentage detection ($p < 0.001$). IgG was not detected in Group II (Figure 1A).

In Group III, cross-reactivity was observed for sera IgG in eight individuals (26.7%) and for salivary IgG in two individuals (6.7%) ($p < 0.001$, Figure 1A). Samples with cross-reaction for IgG in serum samples came from patients positive for ancylostomids (3), *E. vermicularis* (3) and *E. histolytica/E. dispar* (2), whereas cross-reactivity in saliva samples was from patients harboring *E. vermicularis* (1) and *G. lamblia* (1) (Figure 1A).

Figure 1B shows the IgA levels detected in serum and saliva samples. In *S. stercoralis*-positive individuals (Group I), IgA was detected in 23 (76.7%) serum samples and 17 (56.7%) saliva samples. In Group II, only one individual (3.3%) was positive for IgA in serum, whereas IgA was not detected in any saliva samples. Group III had two positive serum samples (6.7%) and eight positive saliva samples (26.7%), with parasite cross-reactivity in serum samples from patients with *E. vermicularis* (1) and *G. lamblia* (1) and in saliva samples of patients with ancylostomids (1), *E. vermicularis* (2), *H. nana* (1), *G. lamblia* (2) and *E. histolytica/E. dispar* (2).

The sensitivity value for detection of serum IgG was 100%, with a DE of 98%, a Positive Predictive Value (PPV) of 1.00, and a Negative Predictive Value (NPV) of 0.97; for detection of saliva IgG, sensitivity was 6.7% with a DE value of 53%, a PPV value of 1.0 and a NPV value of 0.52, showing decreased detection compared to

sera samples. Tests of serum IgA had a sensitivity of 76.7% with a DE of 87%, a PPV of 0.96 and a NPV of 0.81; sensitivity in saliva samples was 56.7% with a DE of 78%, a PPV of 1.00, and a NPV of 0.70. The positive and negative predictive values and efficiency of IgG and IgA detection in paired serum and saliva samples are presented in Table 1. Specificity values were 100% for detection of IgG in serum and saliva samples, and 96.7% for IgA in serum samples and 100% in saliva sample (data not shown).

4. Discussion

Definitive diagnosis of strongyloidiasis is usually via detection of larvae in stool samples, however larval abundance in feces is typically low (Sudré et al., 2006; Gonzaga et al, 2011), particularly in cases of subclinical infection. This issue justifies the use of serological tests as complementary diagnostic methods, especially in cases of disseminated disease and/or hyperinfection, in which case early treatment is essential for avoidance of serious consequences of this helminthiasis, including death (Siddiqui and Berk 2001). The use of *Strongyloides* larval alkaline extract in immunodiagnosis has produced excellent results, and the technique has the advantages of high sensitivity, low cost, and ease of extraction with high efficiency in the laboratory, thereby increasing its appeal as a reliable diagnostic tool (Gonzaga et al., 2011; Levenhagen and Costa-Cruz 2014).

In this study, use of *S. venezuelensis* alkaline extract yielded 96.7% positivity for IgG and 76.7% for IgA in serum samples; this is a marked improvement over other studies such as Costa et al. (2003), in which *S. ratti* heterologous antigen use in serum samples resulted in 77.1% and 66.7% positivity for IgG and IgA, respectively. There was no detection, however, of IgG or IgA in serum from Group II. The half-life of serum IgA ranges from three to six days and its catabolism is relatively fast compared to IgG, which may explain the low level of detection compared to IgG (Kadaoui and Corthesy, 2007; Benckert et al, 2011).

IgG is the major immunoglobulin class present in serum, accounting for 70-75% of total serum antibodies, it provides important protective immunity against *S. stercoralis*, and remains for a long period of time after treatment is completed (Carvalho et al., 1983; Iriemenam et al., 2010). The detection of serum IgG for

diagnosis of strongyloidiasis is well established. Studies using crude extract of *S. stercoralis* filariform larvae for IgG detection in serum have produced various results, with sensitivity values ranging from 82-95% and specificity from 29-99% (Siddiqui and Berk 2001; Agrawal et al., 2009). Machado et al. (2008) emphasize the use of *S. venezuelensis* antigen because their results showed no changes in the antigenic profile of infectious larvae (L3) when isolated from different *S. venezuelensis* strains. Gonçalves et al. (2012) successfully used alkaline extracts produced from *S. venezuelensis* parthenogenetic female parasites and eggs as alternative sources for immunodiagnosis, although antigenic extract derived from infective larvae continues to produce the best results.

Saliva is considered an important tool for the immunological diagnosis of strongyloidiasis because it acts as a major immunological barrier to contain pathogens, and contains a high abundance of immunoglobulins (Costa et al., 2003). Saliva is currently being used for diagnosis of helminth infections such as *Schistosoma japonicum* (Zhou et al., 2009), as well as for fascioliasis (Sabry and Taher, 2008), cystic echinococcosis (Sunita et al., 2007), and neurocysticercosis (Bueno et al., 2000). Our results demonstrate a high percentage of IgA detection in saliva samples (56.7%), with comparatively diminished detection of IgG (6.7%). These data agree with results from other studies in which IgA is the most prominent class in mucosal secretions, and is the second most present antibody type in serum (Atkins et al., 1999; Mota-Ferreira et al., 2009; Ribeiro et al., 2010a).

There may be a relationship between IgA level and the parasite life cycle, because this response occurs in the pulmonary and intestinal mucosa, which involves both secretory and systemic responses. McGhee and Mestecky (1990) believe that the presence of IgA in salivary secretions may be due to either recent contact with the parasite, active infection, or re-infection. These factors justify the use of saliva as an alternative diagnostic tool for strongyloidiasis diagnosis (Costa et al. 2003; Mestecky and Russel 2009; Ribeiro et al, 2010a).

One of the biggest clinical challenges faced with detection of anti-*S. stercoralis* antibodies is cross-reactivity with antigens of different parasites, especially in endemic areas (Liu and Weller 1993). When ELISA is used for IgG detection in serum, the percentage of cross-reaction in Group III was 26.7%, in agreement with

published data showing values ranging from 10 to 77.8% (Yori et al., 2006; Inês et al., 2013). Only 6.7% of saliva samples were positive for IgG, whereas IgA was detected in 6.7% of serum samples and 26.7% in saliva samples. Positive samples using ELISA method in Group III were from patients infected with ancylostomids, *E. vermicularis*, *H. nana*, *G. lamblia* and *E. histolytica*/*E. dispar*, a diagnostic pattern similar to that found by other authors (Machado and Costa-Cruz 1998; Mota-Ferreira et al., 2009; Ribeiro et al., 2010a; Gonçalves et al., 2012).

The level of persistence of antibodies in Group III may be the result of past infection that was eliminated naturally, or after antihelminthic treatment (Yori et al., 2006; Ahmad et al., 2013). The observed cross-reactivity may be associated with antigenic similarity between helminth species, undiagnosed infection due to low release of larvae, and/or previous exposure in individuals living in areas with high prevalence of intestinal helminths (Schaffel et al., 2001; Santos et al., 2007). Moreover, diagnosis via IgG detection does not differ in recent infection versus chronic infection or prior exposure (Liu and Weller, 1993), because antigen-specific IgG levels persist for an extended period of time after infection (Karunajeewa et al., 2006; Maizels et al., 2009).

The sensitivity values for detection of specific anti-*S. stercoralis* varied from 6.67 to 96.7%, while specificity varied from 96.7 to 100%. According to Johnston et al. (2005), these differences are probably due to the different populations studied and the different stage(s) of disease. False-negative results in ELISA, mainly in the *S. stercoralis* positive group, can be attributed to undetectably low antibody levels due to low parasite load in chronic infections (Hayashi et al., 1997; Atkins et al., 1997; Inês et al., 2013). Our results also demonstrated a diagnostic efficiency ranging from 0.53-0.98, indicating an informative test (Table 1).

The choice of an appropriate immunological method that complements parasitological results is essential for estimation of the true prevalence of strongyloidiasis, and permits analysis of the immune response profile in a population. We highlight the importance and novelty of the current study to this effect, the first of its kind in Paraná state. In conclusion, biological samples such as saliva may potentially be used as an alternative tool for *Strongyloides* diagnosis via detection of

antibodies due to advantages it provides, such as ease of collection and use of less invasive procedures.

Acknowledgements

Our sincere thanks to the patients and volunteers who agreed to participate in this study. We also thank the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), and we extend our thanks to the Extension and Research in Enteroparasitosis Laboratory (Lepen) for performing fieldwork, and to the Outpatient Hospital Clinic of the State University of Londrina, as well as its technicians and dedicated students.

5. Referências

- Agrawal, V., Agarwal, T., Ghoshal, U.C., 2009. Intestinal strongyloidiasis: a diagnosis frequently missed in the tropics. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 103, 242-246.
- Ahmad, A.F., Hadip, F., Ngui, R., Lim, Y.A.L., Mahmud, R., 2013. Serological and molecular detection of *Strongyloides stercoralis* infection among an Orang Asli community in Malaysia. *J. Parasitol Research* 112, 2811–2816.
- Atkins, N.S., Conway, D.J., Lindo, J.F., Bailey, J.W., Bundy, D.P.A., 1999. L3 antigen-specific antibody isotype responses in human strongyloidiasis: correlations with larval output. *Parasite Immunol.* 21, 517-526.
- Atkins, N.S., Lindo, J.F., Lee, M.G., Conway, D.J., Bailey, J.W., Robinson, R.D., Bundy, D.P.A., 1997. Humoral responses in human strongyloidiasis: correlations with infection chronicity. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 9, 609-613.
- Bavay, A., 1876. Sur languilule intestinale (*Anguillulla intestinalis*) nouveau ver nímatoide trove par le Dr. Normand chez les nalades atteints de diarrhea de Cochinchine. *Comp. and Scie. Bio.* 84, 258-266.
- Benckert, J., Schmolka, N., Kreschel, C., Zoller, M.J., Sturm, A., Wiedenmann, B., Wardemann, H., 2011. The majority of intestinal IgA+ and IgG+ plasmablasts in the human gut are antigen-specific. *J. Clin Investig.* 121, 1946–5510.
- Borges, A.S., Figueiredo, J.F.C., 2004. Detecção de imunoglobulinas IgG, IgM e IgA anti-*Toxoplasma gondii* no soro, líquor e saliva de pacientes com síndrome da imunodeficiência adquirida e neurotoxoplasmose. *Arq. Neuropsiquiatr.* 62, 1033-1037.
- Bueno, E.C., Vaz, A.J., Machado, L.D., Livramento, J.A., 2000. Neurocysticercosis: detection of IgG, IgA and IgE antibodies in cerebrospinal fluid, serum and saliva samples by ELISA with *Taenia solium* and *Taenia crassiceps* antigens. *Arq. Neuropsiquiatr.* 58, 18-24.
- Carvalho, E.M., Andrade, T.M., Andrade, J.A., Rocha, H., 1983. Immunological features in different clinical forms of strongyloidiasis. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 77, 346-349.
- Costa, I.N., Sopelete, M.C., Gonçalves-Pires, M.R.F., Costa-Cruz, J.M., 2003. IgA and IgG antibodies in paired serum and saliva samples in human strongyloidiasis. *Acta Parasitol.* 48, 306-311.
- David, T.G., Macedo, C.L., De Sá, F.M.P., Júnior, N.P.S., 2013. Prevalence of the enteroparasites in the municipality of Ariquemes, Rondônia, Brazil. *Rev. Cien. Facul. Edu. e Meio Amb.* 4, 39-48.
- De Bona, S., Basso, R.M.C., 2008. Hiperinfecção por *Strongyloides stercoralis* associada ao uso crônico de corticosteroide. *Rev. Bras. Anál. Clín.* 40, 247-250.

Faust, E.C., Sawitz, W., Tobie, J., 1939. Comparative efficiency of various techniques for diagnosis of protozoa and helminthes in feces. *J. Parasitol.* 25, 241-262.

Genta, R.M., 1989. Global prevalence of strongyloidiasis: critical review with epidemiologic insights into prevention of disseminated disease. *J. Infect. Dis.* 11, 755-767.

Gonçalves, A.L.R., Rocha, C.A., Gonzaga, H.T., Gonçalves-Pires, M.R.F., Ueta, M.T., Costa-Cruz, J.M., 2012. Specific IgG and IgA to larvae, parthenogenetic females and eggs of *Strongyloides venezuelensis* in the immunodiagnosis of human strongyloidiasis. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 72, 79-84.

Gonzaga, H.T., Ribeiro, V.S., Cunha-Júnior, J.P., Ueta, M.T., Costa-Cruz, J.M., 2011. Usefulness of concanavalin-A non-binding fraction of *Strongyloides venezuelensis* larvae to detect IgG and IgA in human strongyloidiasis. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 70, 78–84.

Grove, D.I., 1996. Human strongyloidiasis. *Adv. Parasitol.* 38, 251-309.

Guimarães, L.R., Rodrigues, A.P., Marinho, P.S., Muller, A.H., Guilhon, G.M., Santos, L.S., Do Nascimento, J.L., Silva, E.O., 2010. Activity of the julocrotine, a glutarimide alkaloid from *Croton pullei* var. *glabrior*, on *Leishmania (L.) amazonensis*. *Parasitol. Res.* 107, 1075-1081.

Hayashi, J., Kishihara, Y., Yoshimura, E., Furusyo, N., Yamaji, K., Kawakami, Y., Murakami, H., Kashiwagi, S., 1997. Correlation between human T cell lymphotropic virus type-1 and *Strongyloides stercoralis* infections and serum immunoglobulin E responses in residents of Okinawa, Japan. *Am. J. Trop. Med. Hygiene.* 56, 71-75.

Hoffmann, W.A., Pons, J.A., Janer, J.L., 1934. The sedimentation concentration method in *Schistosomiasis mansoni*, Puerto Rico. *Puerto Rico J. publ. Hlth.* 9, 283-291.

Inês, E.J., Silva, M.L.S., Souza, J.N., Teixeira, M.C.A., Soares, N.M., 2013. The role of glycosylated epitopes in the serodiagnosis of *Strongyloides stercoralis* infection. *Microbiol. Infect. Dis.* 76, 31–35.

Iriemenam, N.C., Sanyaolu, A.O., Oyibo, W.A., Fagbenro-Beyioku, A.F., 2010. *Strongyloides stercoralis* and the immune response. *Parasitol. Intern.* 59, 9-14.

Johnston, F.H., Morris, P.S., Speare, R., Mccarthy, J., Currie, B., Ewald, D., Page, W., Dempsey, K., 2005. Strongyloidiasis: A review of the evidence for Australian practitioners. *Aust. J. Rural. Hlth.* 13, 247-254.

Kadaoui, K. A., Corthesy, B., 2007. Secretory IgA mediates bacterial translocation to dendritic cells in mouse Peyer's patches with restriction to mucosal compartment. *J. Immunol*, 179, 7751–7757.

Karunajeewa, H., Kelly, H., Leslie, D., Leydon, J., Saykao, P., Biggs, B.A., 2006. Parasite-specific IgG response and peripheral blood eosinophil count following albendazole treatment for presumed chronic strongyloidiasis. *J. Travel. Med.* 13, 84-91.

Kato, K., Miura, M., 1954. Comparative examinations. *Jap. J. Parasitol.* 3.

Katz, N., Chaves, A., Pellegrino, J., 1972. A simple device for quantitative stool thick-smear technique in *Schistosomiasis mansoni*. *Rev. Inst. Med. Trop.* 14, 397- 400.

Levenhagen, M.A., Costa-Cruz, J.M., 2014. Update on immunologic and molecular diagnosis of human strongyloidiasis. *Acta Trop.* 135, 33-43.

Liu, L.X., Weller, P.F., 1993. Strongyloidiasis and other intestinal nematode infections. *Infect. Dis. Clin. North. Am.* 7, 655-682.

Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L., Randall, R.J., 1951. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 29, 265–275.

Machado, E.R., Costa-Cruz, J.M., 1998. *Strongyloides stercoralis* and other enteroparasites in children at Uberlândia city, state of Minas Gerais, Brazil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 93, 161-164.

Machado, E.R., Ueta, M.T., Gonçalves-Pires, M.R.F., Alves de Oliveira, J.B., Faccioli, L.H., Costa-Cruz, J.M. *Strongyloides venezuelensis* alkaline extract for the diagnosis of human strongyloidiasis by enzyme-linked immunosorbent assay. 2003. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 98, 849-851.

Machado, E.R., Teixeira, E.M., Gonçalves-Pires, M.R.F., Loureiro, Z.M., Araújo, R.A., Costa-Cruz, J.M., 2008. Parasitological and immunological diagnosis of *Strongyloides stercoralis* in patients with gastrointestinal cancer. *Scan. J. Infec. Dis.* 40, 154-158.

Maizels, R.M., Pearce, E.J., Artis, D., Yazdanbakhsh, M., Wynn, T.A., 2009. Regulation of pathogenesis and immunity in helminth infections. *J. Exp. Med.* 206, 2059-2066.

McGhee, J.R., Mestecky, J., 1990. In defense of mucosal surfaces. Development of novel vaccines for IgA responses protective at the portals of entry of microbial pathogens *Infectious. Dis. Clin. North America* 4, 315–341.

Mestecky, J., Russell, M.W., 2009. Specific antibody activity, glycan heterogeneity and polyreactivity contribute to the protective activity of S-IgA at mucosal surfaces.

Immunol. Lett. 124, 57–62.

Mineo, S.R., Silva, D.A.O., Sopelete, M.C., Leal, G.S., Vidigal, L.H.G., Tápia, L.E.R., Bacchin, M.I., 2005. Pesquisa na área biomédica: do planejamento à publicação. *EDUFU* 1, 215-238.

Mota-Ferreira, D.M.L., Gonçalves-Pires, M.R.F., Ferreira-Júnior, A., Sopelete, M.C., Abdallah, V.O.S., Costa-Cruz, J.M., 2009. Specific IgA and IgG antibodies in paired serum breast milk samples in human strongyloidiasis. *Acta Trop.* 109, 103–107.

Olsen, A., Van Lieshout, L., Marti, H., Polderman, T., Polman, K., Steinmann, P., Stothard, R., Thybo, S., Verweij, J.J., Magnussen, P., 2009. Strongyloidiasis – the most neglected of the neglected tropical diseases? *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 103, 967-972.

Paula, F.M., Costa-Cruz, J.M., 2011. Epidemiological aspects of strongyloidiasis in Brazil. *Parasitol.* 138, 1331-1340.

Pinho, R.T., Pedrosa, R.C., Costa-Martins, P., Castello-Branco, L.R., 1999. Saliva ELISA: a method for the diagnosis of chronic Chagas disease in endemic areas. *Acta Trop.* 72, 31-38.

Ribeiro, V.S., Feliciano, N.D., Gonzaga, H.T., Costa, I.N., Gonçalves-Pires, M.R., Ueta, M.T., Costa-Cruz, J.M., 2010a. Detergent fraction of heterologous antigen to detect IgA and IgG in strongyloidiasis using saliva and serum paired samples. *Immunol. Lett.* 134, 69–74.

Ribeiro, V.S., Manhani, M.N., Costa-Cruz, J.M., 2010b. IgA detection in human neurocysticercosis using different preparations of heterologous antigen. *Parasitol. Res.* 107, 221–225.

Rugai, E., Mattos, T., Brisola, A.P., 1954. Nova técnica para isolar larvas de nematóides das fezes: modificações do método de Baermann. *Rev. Inst. Adolfo Lutz* 14, 5-8.

Sabry, M.A., Taher, E.S., 2008. Saliva as an easy specimen for diagnosis of human and animal fascioliasis. *Egypt J. Immunol.* 15, 43–51.

Santos, L.P., Santos, F.L.P., Soares, N.M., 2007. Prevalência de parasitoses intestinais em pacientes atendidos no hospital universitário professor Edgar Santos, Salvador – Bahia. *Ver. Patol. Trop.* 36, 237-246.

Schaffel, R., Nucci M., Carvalho, E., Braga, M., Almeida, L., Portugal, R., Pulcheri, W., 2001. The value of in immunoenzymatic test (Enzyme-linked immunosorbent assay) for the diagnosis of strongyloidiasis in patients immunosuppressed by hematologic malignancies. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 65, 346 –350.

Schar, F., Trostorf, U., Giardina, F., Khieu, V., Muth, S., Martiz, H., Vounatsou, P., Odermat, P., 2013. *Strongyloides stercoralis*: Global Distribution and Risk Factors. PLoS Neg. Trop. Dis. 7, e2288.

Shariati, F., Pérez-Arellano, J.L., López-Abán, J., El Behairy, A.M., Muro, A., 2010. Role of angiogenic factors in acute experimental *Strongyloides venezuelensis* infection. Parasite Immunol. 32, 430-439.

Siddiqui, A.A., Berck, S.L., 2001. Diagnosis of *Strongyloides stercoralis* infection. Clin. Infec. Dis. 33, 1040–1047.

Sithithaworn, P., Srisawangwong, T., Tesana, S., Daenseekaew, W., Siththaworn, J., Fujimaki, Y., Ando, K., 2003. Epidemiology of *Strongyloides stercoralis* in north-east Thailand: application of the agar plate culture technique compared with the enzyme-linked immunosorbent assay. Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg. 97, 398-402.

Sudré, A.P., Macedo, H.W., Peralta, R.H.S., Peralta, J.M., 2006. Diagnóstico da estrogiloidíase humana: importância e técnicas. Rev. Patol. Trop. 35, 174-184.

Sunita, T., Dubey, M.L., Khurana, S., Malla, N., 2007. Specific antibody detection in serum, urine and saliva samples for the diagnosis of cystic echinococcosis. Acta Trop. 101, 187–191.

Yori, P.P., Kosek, M., Gilman, R.H., Cordova, J., Bern, C., Chavez, C.B., Olortegui, M.P., Montalvan, C., Sanchez, G.M., Worthen, J., Leung, F., Ore, C.V., 2006. Seroepidemiology of strongyloidiasis in the peruvian amazon. Am. J. Trop. Med. Hyg. 74, 97-102.

Zhou, Y.P., Wu, Z.D., Yang, L.L., Sun, X., You, X., Yu, X.B., Hu, W., Zheng, H.Q., Lv, Z.Y., 2009. Cloning, molecular characterization of a 13-kDa antigen from *Schistosoma japonicum*, Sj13, a putative salivary diagnosis candidate for *Schistosomiasis japonica*. Parasitol. Res. 105, 1435–1444.

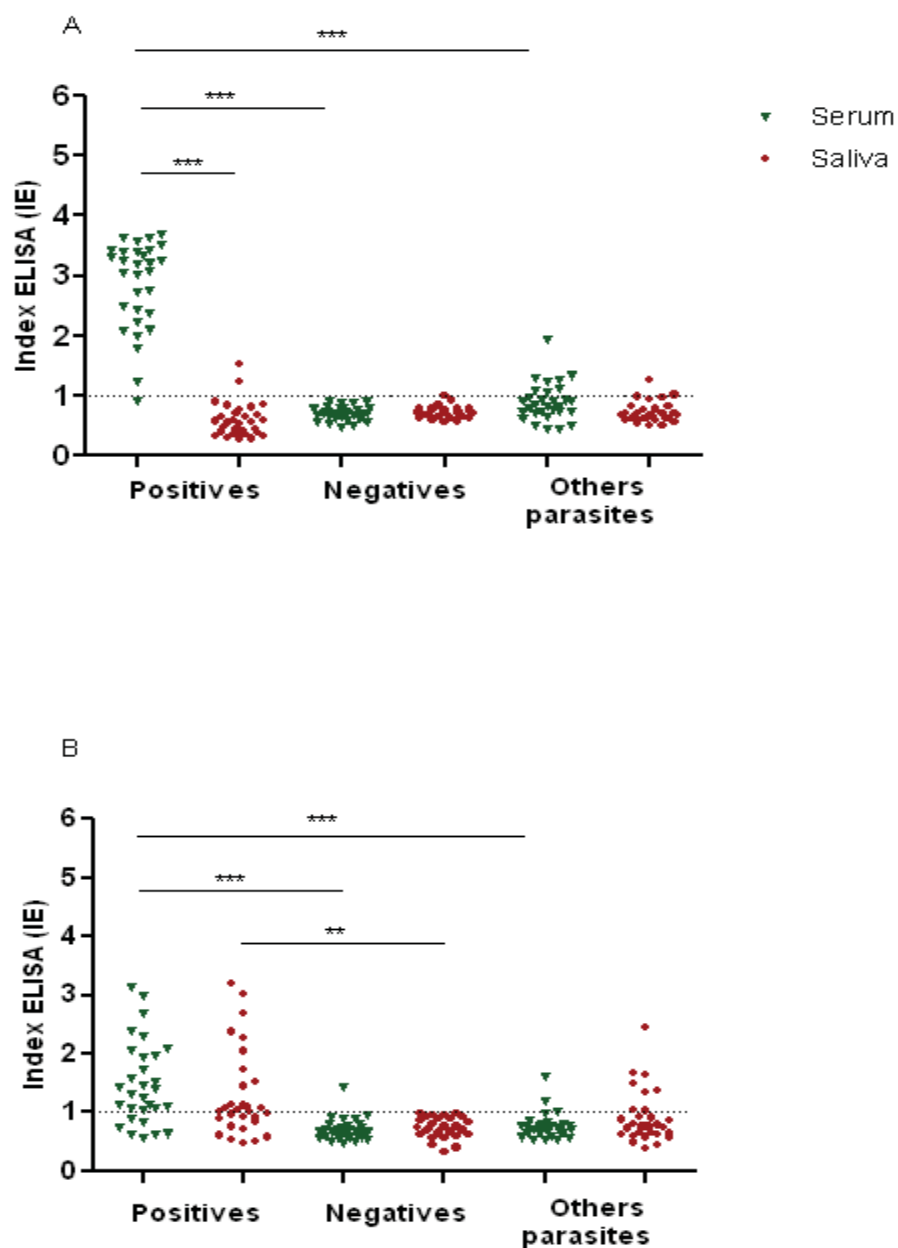


Figure 1. Detection of IgG and IgA anti *S. stercoralis* in serum and saliva samples determined by enzyme immunoassay using *S. venezuelensis* alkaline extract filarioides larvae and expressed as ELISA index (IE). Copropositive *S. stercoralis* (Group I, n = 30), negative control, apparently healthy individuals (Group II, n = 30) and individuals with other parasites (Group III, n = 30). A) IgG detection in paired serum and saliva samples for all three groups. B) IgA levels in paired serum and saliva samples for all three groups. Dashed line indicates the positivity threshold of the reaction (IE > 1.0).

Table 1. Diagnostic efficiency (DE), positive predictive value (PPV) and negative predictive test (NPV) in serum and saliva samples for IgG and IgA anti-*Strongyloides* detection.

	Serum			Saliva		
	DE (%)	VPP	VPN	DE (%)	VPP	VPN
IgG	98.0	1.00	0.97	53.0	1.00	0.52
IgA	87.0	0.96	0.81	78.0	1.00	0.70

4.4. Artigo 4

IgG avidéz na avaliação da reatividade cruzada na infecção por *Strongyloides stercoralis*

Larissa Rodrigues Bosqui¹, Henrique Tomaz Gonzaga², Maria do Rosário de Fátima Gonçalves Pires², Fabiana Martins de Paula³; Wander Rogério Pavanelli¹, Ivete Conchon-Costa¹, Julia Maria Costa-Cruz², Idessania Nazareth Costa¹.

¹ Departamento de Ciências Patológicas, Laboratório de Parasitologia, Universidade Estadual de Londrina – Paraná – Brasil

² Departamento de Imunologia, Microbiologia e Parasitologia, Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade Federal de Uberlândia – Minas Gerais – Brasil

³ Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo – São Paulo – Brasil

*Autor correspondente:

Idessania Nazareth Costa

Departamento de Patologia Experimental – Laboratório de Parasitologia

Universidade Estadual de Londrina-UEL-Rodovia Celso Garcia Cid

Campus Universitário, Cx. Postal 6001, CEP 86051-990 - Londrina – PR.

Tel: +055-43-3371-4539

Email: idessania@hotmail.com

Resumo:

O objetivo deste trabalho foi verificar índices de IgG avidéz em indivíduos positivos para *S. stercoralis* com possível distinção entre casos de infecção ativa de suspeitos ou resultados sorológicos positivos falsos. O índice de avidéz (IA) para anticorpos no grupo 2 (indivíduos copropositivos para outros parasitos) variou de 17% a 33% (média 33%) nas diluições 1:80, 1:160, 1:320 e 1:640. No grupo 3 (indivíduos aparentemente saudáveis) IA variou de 42% a 86% (média 58%) nas mesmas diluições. O índice ELISA (IE) na diluição 1:80 revelou 100% de sensibilidade e 70% especificidade no grupo 1 (indivíduos com diagnóstico parasitológico confirmado para *S. stercoralis*) e para G2 e G3 em IA a sensibilidade foi de 100% e especificidade 80%. O presente trabalho foi pioneiro na utilização de IgG avidéz em indivíduos copropositivos para outros parasitos demonstrando ser importante ferramenta complementar em exames de triagem e estudos soropidemiológicos e no diagnóstico de infecção ativa por *S. stercoralis*.

Palavras-chave: estrogiloidíase, reação cruzada, ELISA avidéz.

1. Introdução

A estrogiloidíase humana, infecção causada pelo nematódeo *Strongyloides stercoralis* (Bavay, 1876), é considerada uma parasitose de condição negligenciada, e possui distribuição heterogênea, sendo encontrada principalmente em regiões tropicais e subtropicais (Vaiyavatjamai et al., 2008).

O diagnóstico da estrogiloidíase é confirmado pelo encontro das formas parasitárias de *S. stercoralis*, no entanto, na maioria dos indivíduos, o parasito é encontrado em número reduzido, devido à baixa e irregular eliminação das larvas nas fezes, sendo assim, resultados negativos não podem ser interpretados como ausência de infecção (Siddiqui; Berk, 2001). Diante disso, o teste imunológico ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) para pesquisa de anticorpos específicos, usando como antígeno o extrato de larvas filarioides heterólogas de *S. venezuelensis* apresentam elevada sensibilidade e especificidade (Gonçalves et al., 2012; Levenhagen; Costa-Cruz, 2014; Silva et al., 2014). Entretanto este diagnóstico não permite distinção entre infecção ativa com *S. stercoralis* e casos suspeitos ou resultados falso positivos no sorológico (Liu; Weller, 1993; Manhani et al., 2009).

Os ensaios de avidéz têm sido desenvolvidos como uma ferramenta complementar ao ELISA clássico para determinar a afinidade funcional da imunoglobulina G (IgG) específica para diversas doenças, como as parasitárias, incluindo toxoplasmose (Marcolino et al., 2000; Béla et al., 2008), hidatidose (Sterla et al., 1999), esquistossomose (Viana et al., 2001), toxocaríase (Dziemian et al., 2008), neurocisticercose (Manhani et al., 2009) e estrogiloidíase (Gonzaga et al., 2011).

Neste contexto, a determinação da avidéz de IgG pode ser útil para permitir discriminação entre uma infecção aguda e crônica, principalmente na estrogiloidíase, devido à complexidade do diagnóstico parasitológico. Sendo assim, nosso objetivo foi verificar índices de IgG avidéz em indivíduos positivos para *S. stercoralis* com possível distinção entre casos de infecção ativa de casos suspeitos ou resultados sorológicos positivos falsos.

2. Material e Métodos

2.1. Pacientes

As amostras de soro foram obtidas de 90 indivíduos provenientes do município de Londrina, Estado do Paraná, Brasil. As amostras foram divididas em três grupos: Grupo 1, 30 indivíduos com diagnóstico parasitológico confirmado para *S. stercoralis* pelos métodos de Rugai et al. (1954), Hoffmann, Pons & Janer (1934), Faust et al. (1939), Kato e Miura (1954) modificado por Katz et al. (1972). Grupo 2, formado por 30 indivíduos copropositivos para outros parasitos, incluindo *Giardia lamblia* (n=10), ancilostomídeos (n=6), *Ascaris lumbricoides* (n=1), *Enterobius vermicularis* (n=5), *Hymenolepis nana* (n=5) e *Entamoeba histolytica*/ *E. dispar* (n=3) e o Grupo 3, com 30 indivíduos aparentemente saudáveis, sem histórico clínico e com teste coproparasitológico negativo.

Este estudo recebeu aprovação do comitê de ética em pesquisa em seres humanos nº 1494.2013-56.

2.2. Obtenção de larvas filarioides de *S. venezuelensis*

Larvas infectantes de terceiro estágio (L3) de *Strongyloides venezuelensis* foram obtidas a partir de culturas de carvão de fezes de ratos (*Rattus norvegicus*-Wistar) infectados experimentalmente (Looss 1905 apud Neves et al., 2005).

Amostras de fezes foram misturadas com partes iguais de carvão mineral umedecidos com água, distribuídos em camadas uniformes em placas de Petri, e incubados a 28°C por 72 h. Posteriormente, as larvas infectantes foram recolhidas e concentradas utilizando o método de Rugai et al. (1954). A quantidade de larvas L3 recuperadas (≈ 300.000) foram lavadas cinco vezes em solução salina de fosfato tamponada (PBS, 0,01 mol/L, pH 7,2) e armazenada a -20°C em PBS até à sua utilização na preparação antigênica.

2.3. Extrato salino total de *S. venezuelensis*

Para a preparação antigênica, larvas L3 de *S. venezuelensis* foram ressuspensas em PBS (0,01 mol/L, pH 7,2) contendo coquetel de inibidores de protease (aprotinina, 1 g/mL, benzamidina 1 mM, ácido etilenodiaminotetracético 1 mM, leupeptina 2 g/ml, e fluoreto de fenilmetilsulfonil 1 mM) foram submetidas a

ciclos de criólise (1 min, -196°C) seguido de descongelamento/sonicação (5 min, 40 kHz, 37°C). Após a incubação durante a noite a 4°C sob agitação suave, a suspensão foi centrifugada a 12400 × g durante 30 min a 4°C e o sobrenadante (extrato salino, ES) foi analisado quanto ao teor de proteína (Lowry et al., 1951) distribuído em alíquotas e armazenado a -20°C até o momento do uso.

2.4. ELISA avidéz para IgG anti-*Strongyloides*

Experimentos preliminares foram realizados para determinar as condições ideais para o ELISA avidéz IgG, por meio de titulações em bloco de reagentes (antígeno, soros e conjugado), seguindo o protocolo previamente descrito por Gonzaga et al. (2011).

Resumidamente, placas de microtitulação de poliestireno foram revestidos com ES (5 µg/mL em 0,06 M de tampão carbonato-bicarbonato, pH 9,6) durante a noite a 4°C e, em seguida, lavada três vezes com PBS contendo 0,05% de Tween 20 (PBS-T). As amostras de soro diluído em PBS-T (1:80, 1:160, 1:320, 1:640) foram adicionadas em quadruplicata e incubadas durante 45 min a 37°C. Em seguida, metade das amostras de soro quadruplicadas foram tratados com ureia (6 M) diluído em PBS (PBS-U+), durante 10 minutos à temperatura ambiente, e os soros restantes foram incubadas com PBS-T para o mesmo tempo, seguido por 3 passos de lavagem como anteriormente mencionado. Subsequentemente, conjugado de enzima de anticorpo (IgG peroxidase de cabra anti-humano, Fc específico, Sigma Chemical Co., St. Louis, EUA), diluída 1: 2000 em PBS-T foi adicionada e as placas foram incubadas durante 45 minutos a 37°C.

O ensaio foi desenvolvido por adição de 0,03% de peróxido de hidrogênio e O-fenilenodiamina (0,5 mg/mL em 0,1 mol/L de tampão citrato-fosfato tampão, pH 5,5) durante 15 minutos, seguido por adição de H₂SO₄ (2 N) para interromper a reação. As densidades ópticas (DO) foram determinadas a 492 nm, em um leitor de ELISA. O *cut off* foi calculado com a média da DO_U de três controles negativos, acrescido de dois desvios padrão, para cada diluição (Bassi et al., 1991). Os resultados da reatividade dos soros foram expressos em índice ELISA (IE) – valores IE > 1,0 foram considerados positivos e utilizados na análise de avidéz.

A avidéz para IgG foi expressa como índice de avidéz (IA), calculado com base na triagem para cada diluição positiva, de acordo com a seguinte fórmula: IA

triagem = (média DO de soros tratados com ureia / média DO de soros não tratados com ureia) × 100%. Alternativamente, IA foi calculada para cada diluição de amostras de soro com resultado positivo após a fórmula acima, e a média das determinações de IAs obtido em diferentes diluições do soro foi calculada e expressa como IA médio, como proposto anteriormente, para isso utilizou-se a fórmula: $IA = \text{média}(IA \text{ diluição}_x) \times 100\%$ (Wiuuff et al., 2002).

Valores com baixa avidéz (IA < 75,0%) e alta avidéz (IA > 75,0%) foram definidos arbitrariamente para distinção entre as amostras de soro de indivíduos copropositivos para *S. stercoralis* dos indivíduos com sorologia positiva para estrogiloidíase e negativos nos exames coproparasitológicos (Gonzaga et al., 2011).

2.5. Análise estatística

As análises foram realizadas utilizando o pacote estatístico GraphPad Prism software 5.0 (GraphPad Software Inc., San Diego, EUA).

Os dados foram submetidos à análise pela curva *receiver operating characteristic curv* (ROC) que avaliou os valores de sensibilidade e de especificidade para obtenção com precisão do ponto ótimo (*cut off*) da reação para cada amostra analisada (Greiner et al., 1995).

Para sensibilidade e especificidade foram utilizadas as terminologias: verdadeiro positivo (a), verdadeiro negativo (d), falso positivo (b) e falso negativo (c) e as seguintes fórmulas: $Se = [a/(a+c)] \times 100\%$; $Es = [d/(b+d)] \times 100\%$ (Youden, 1950).

O painel de amostras utilizado no ELISA-IgG foi utilizado na análise do índice avidéz (IA). O resultado positivo do ELISA-IgG para o grupo de pacientes com estrogiloidíase foi aplicado como critério diagnóstico definitivo, acompanhado do resultado de IA para G2 e G3 como ferramenta complementar. O IA em G2 foi pela primeira vez avaliado. Foram estabelecidos os seguintes critérios para avaliação do IA: (1) seleção do ponto de *cut-off* para obtenção de 100% de sensibilidade e o máximo de especificidade; (2) cálculo do IA para as amostras positivas de G2 e G3, obedecendo a menor diluição positiva. Para o grupo de pacientes com outras

parasitoses e saudáveis manteve-se o critério de IA > 75% como de exclusão de infecção ativa (Gonzaga et al., 2011).

3. Resultados

A Figura 1 mostra a detecção de IgG anti-*S. venezuelensis* por ELISA e ELISA avides dividido em três grupos. É possível observar que no índice ELISA (IE) o G1 apresentou 100% de positividade em todas as diluições, enquanto que o G2 demonstrou reação cruzada na diluição 1:640 para: ancilostomídeo (n=2), *Enterobius vermicularis* (n=1), *Hymenolepis nana* (n=1) (Figura 1A).

Para a análise de avides, foram analisadas amostras de soro de indivíduos com coproparasitológico positivo para outros parasitos (G2) e indivíduos negativos (G3).

O índice de avides (IA) para anticorpos IgG foi maior no G3 nas quatro diluições da triagem, neste ponto, o IA variou de 42% a 86% (média 58%). Também o IA médio obtido nas diferentes diluições foi maior em G3 do que em G2 (Figura 1B).

Foi estabelecido que valores IA > 75% sugere exclusão de infecção ativa. Amostras com IA > 75% foram, predominantemente, detectadas em G3 (Figura 1B).

Na Tabela 1, é possível observar os parâmetros de sensibilidade e especificidade para o teste de ELISA e/ou combinado com a avides de anticorpos IgG nos grupos G2 e G3.

4. Discussão

Testes sorológicos como o método ELISA para detecção de anticorpos séricos anti-*S. stercoralis* são importante ferramenta complementar ao diagnóstico parasitológico, especialmente para a avaliação laboratorial em casos graves como nos indivíduos imunocomprometidos (Sato et al., 1995).

Avides de anticorpos utilizados nos testes sorológicos são conhecidos por discriminarem entre infecções ativas e crônicas, porém é necessário analisar cada infecção de forma particular, devido à maturação da resposta IgG após a infecção primária variar consideravelmente entre os indivíduos (Béla et al., 2008; Gonzaga et al., 2011). Estas variações podem ser explicadas pelas diferenças na gravidade da

infecção, grau de excreção larval, interação parasito-hospedeiro e fatores ambientais (Uparanukraw et al., 1999).

O cálculo de IA triagem e médio em diferentes diluições séricas positivas para IgG, reduz as diferenças da intensidade da resposta dos anticorpos e a concentração de IgG de cada amostra de soro, o que pôde ser observado no gráfico 1B, onde o cálculo de IA à primeira diluição (1:80) foi minimizado com a melhor performance diagnóstica de IA triagem na quarta diluição (1:640). Diluições são necessárias, pois na presença excessiva de anticorpos, somente uma pequena parcela de anticorpos de maior avides se ligará ao antígeno testado, o que acaba levando a uma superestimativa dos IAs, perdendo dados relativos dos anticorpos de baixa avides (Butler, 2000; Kahn et al., 2009).

Desta forma, a associação dos exames de fezes negativos para *S. stercoralis* com sorologia positiva, associados com os dados da avides (IA>75%), apontam que, os altos índices de avides observados nos grupos G2 e G3 indicam possível exclusão de uma infecção ativa o que pode ser justificado por Gonzaga et al. (2011), onde citam que, provavelmente, indivíduos após contato prévio com o parasito, o eliminaram de forma natural ou até mesmo pelo tratamento anti-helmíntico.

Neste trabalho, os parâmetros de diagnóstico de sensibilidade e especificidade apresentado na Tabela 1, revelaram 100% de sensibilidade para o grupo G1 em IE. Com relação ao IA houve 100% de sensibilidade para os grupos G2 e G3 com especificidade de IA triagem (80%) e IA médio (85%), demonstrando que a elevada sensibilidade e especificidade apresentada por ensaio ELISA associado à avides sugere que a infecção por *S. stercoralis* é pouco provável em indivíduos com resultados negativos no teste.

O presente trabalho foi pioneiro na utilização de IgG avides em indivíduos copropositivos para outros parasitos demonstrando ser importante ferramenta complementar em exames de triagem e estudos soropidemiológicos e no diagnóstico de infecção ativa por *S. stercoralis* com eliminação das larvas nas fezes, por discriminar casos suspeitos ou falsos positivos, assim como casos de infecção por outros parasitos.

5. Referências

- Bassi GE, Ishiki DK, Ferreira AW, Camargo ME. A reação imunoenzimática para cisticercose no líquido cefalorraquiano – considerações sobre o limiar de reatividade. *Rev Bras patol Clin* 1991; 27: 49-52.
- Bavay A. Sur languilule intestinale (*Anguillula intestinalis*) nouveau ver nímatoide trove par le Dr. Normand chez les nalades atteints de diarrhea de Cochinchine. *Comp Sci Biolog* 1876; 84: 258-66.
- Béla SR, Silva DAO, Cunha-Júnior J, Pirovani CP, Chaves-Borges FA, Carvalho F, et al. Use of SAG2A recombinant *Toxoplasma gondii* surface antigen as a diagnostic marker for human acute toxoplasmosis: analysis of titers and avidity of IgG and IgG1 antibodies. *Diag Microb Infec Dis* 2008; 62(3): 245-54.
- Butler JE. Solid supports in enzyme-linked immunosorbent assay and other solid-phase immunossays. *Methods* 2000; 22: 4–23.
- Dziemian E, Arnowska H, Kolodziej-Sobocinska M, Machnicka B. Determination of the relative avidity of the specific IgG antibodies in human toxocariasis. *Parasite Immunol* 2008; 30(3): 187-90.
- Faust EC, Sawitz W, Tobie J. Comparative efficiency of various techniques for diagnosis of protozoa and helminthes in feces. *J Parasit* 1939; 25(3): 241-62.
- Gonçalves ALR, Rocha CA, Gonzaga HT, Gonçalves-Pires MRF, Ueta MT, Costa-Cruz JM. Specific IgG and IgA to larvae, parthenogenetic females and eggs of *Strongyloides venezuelensis* in the immunodiagnosis of human strongyloidiasis. *Diag Microb Infec Dis* 2012; 72(1): 79-84.
- Gonzaga HT, Ribeiro VS, Feliciano ND, Manhani MN, Silva DA, Ueta MT, et al. IgG avidity in differential serodiagnosis of human strongyloidiasis active infection. *Immunol letters* 2011; 39: 87-92.
- Greiner M, Sohr D, Gobel P. A modified ROC analysis for the selection of *cut-off* values and the definition of intermediate results of serodiagnostic tests. *J Immunol Methods* 1995; 185: 123-32.
- Hoffmann WA, Pons JA, Janer JL. The sedimentation concentration method in *Schistosomiasis mansoni*, Puerto Rico. *J Public Health of Trop Med* 1934; 9: 283-91.
- Kahn MN, Dass PD, Leete JH, Shuman RF, Gunsior M, Sadhu C. Development of ligand-binding assay for drug development support. In: Kahn MN, Findlay JW. *Ligand-binding assay: development, validation and implementation in the drug development arena*. 1 ed. John Wiley and Sons 2009: 39-58.
- Kato K, Miura M. Comparative examinations. *Jap J of Parasit* 1954; 3(35).

Katz N, Chaves A, Pellegrino J. A simple device for quantitative stool thick-smear technique in *Schistosomiasis mansoni*. Rev Inst Med Trop São Paulo 1972; 14(6): 397-400.

Levenhagen MA, Costa-Cruz JM. Update on immunologic and molecular diagnosis of human strongyloidiasis. Acta Tropica 2014; 135: 33-43.

Liu LX, Weller PF. Strongyloidiasis and other intestinal nematode infections. Infect Dis Clin North Am 1993; 7: 655-82.

Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the Folin phenol reagent. J Biol Chem 1951; 29: 265–75.

Manhani MN, Ribeiro VS, Silva DAO, Costa-Cruz JM. Specific IgG avidity in active and inactive human neurocysticercosis. Diag Microb Infec Dis 2009; 65(2): 211-13.

Marcolino PT, Silva DAO, Leser PG, Camargo ME, Mineo JR. Molecular markers in acute and chronic phases of human toxoplasmosis: determination of immunoglobulin G avidity by *Western blotting*. Clin Diag Lab Immunol 2000; 7(3): 384-89.

Neves DP, de Melo AL, Linardi PM, Almeida Vitor RW. Parasitologia Humana, 11 ed. Atheneu 2005: 295-305.

Rugai E, Mattos T, Brisola AP. Nova técnica para isolar larvas de nematóides das fezes: modificações do método de Baermann. Rev Inst Adolfo Lutz 1954; 14: 5-8.

Sato Y, Kobayashi J, Toma H, Shiroma Y. Efficacy of stool examination for detection of *Strongyloides* infection. Am J Trop Med Hyg 1995; 53: 248–50.

Siddiqui AA, Berck SL. Diagnosis of *Strongyloides stercoralis* infection. Clin Infec Dis 2001; 33(7): 1040-47.

Silva H, Carvalho CJV, Levenhagen MA, Costa-Cruz JM. The detergent fraction is effective in the detection of IgG anti-*Strongyloides stercoralis* in serum samples from immunocompromised individuals. Parasitology International 2014; 63: 790–93.

Sterla S, Sato H, Nieto A. *Echinococcus granulosus* human infection stimulates low avidity anticarbohydrate IgG2 and high avidity antipeptide IgG4 antibodies. Parasite Immunol 1999; 21(1): 27-34.

Uparanukraw P, Phongsri S, Morakote N. Fluctuations of larval excretion in *Strongyloides stercoralis* infection. Am J Trop Med Hyg 1999; 60: 967–73.

Vaiyavatjamai P, Boitano JJ, Techasintana P, Tungtrongchitr A. Immunocompromised group differences in the presentation. Jap J Infec Dis 2008; 61(1): 5-8.

Viana LG, Rabello A, Katz N. Antibody subclass profile and avidity during acute and chronic human *Schistosoma mansoni* infection. *Trans Royal Soc Trop Med and Hyg* 2001; 95(5): 550-56.

Wiuff C, Thorberg BM, Engvall A, Lind P. Immunochemical analyses of serum antibodies from pig herds in a Salmonella non-endemic region. *Vet Microbiol* 2002; 85: 69-82.

Youden WJ. Index for rating diagnostic tests. *Cancer* 1950; 3: 32-35.

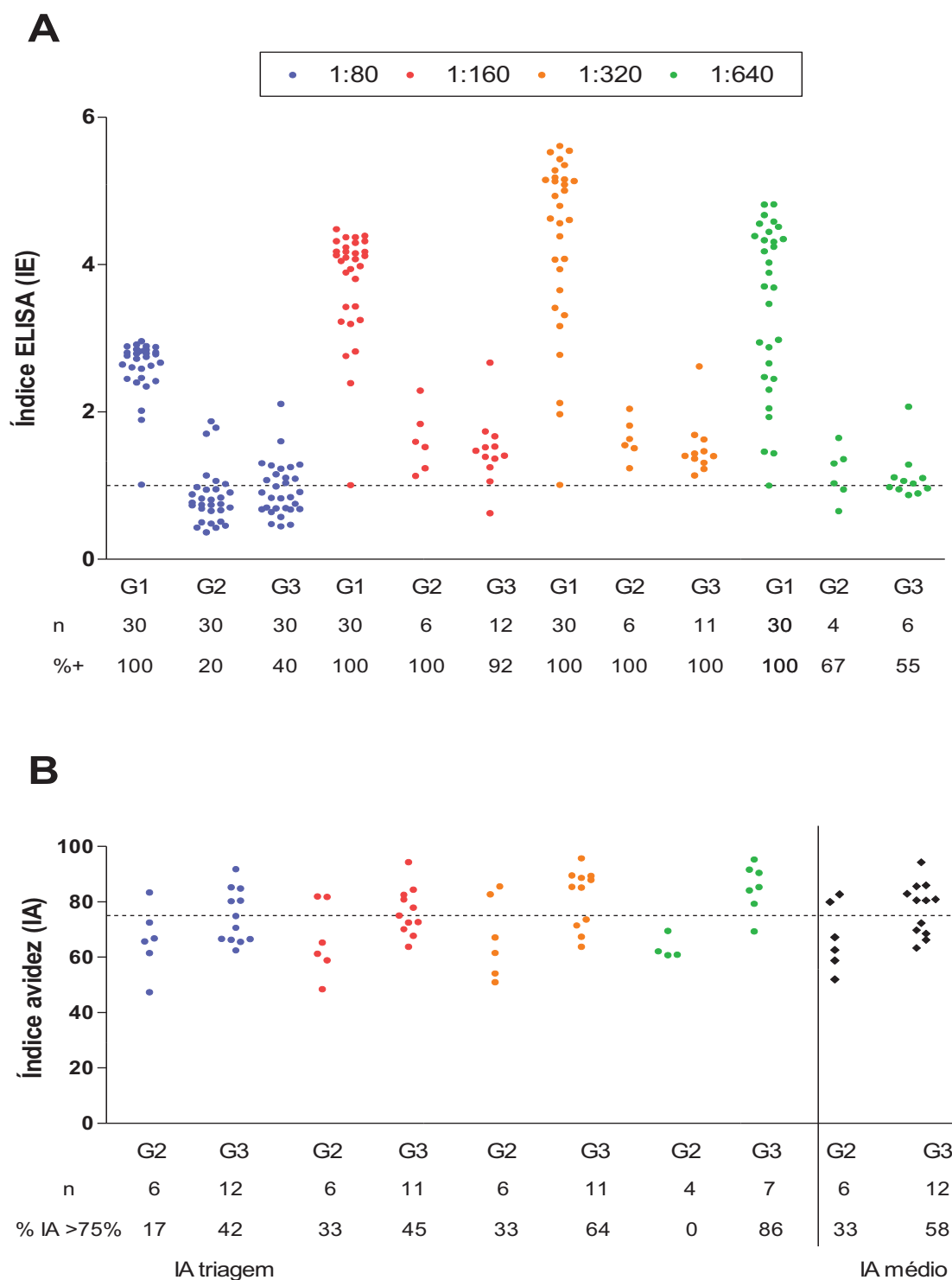


Figura 1. Detecção de IgG anti-*Strongyloides* por ELISA e/ou combinado com avidéz. (A) ELISA-IgG nos grupos de pacientes com estrogiloidíase (G1), com outras parasitoses (G2) e saudáveis (G3). Índice ELISA (IE) calculado a partir do *cut-off* de densidades ótica, estabelecido por curvas ROC, para 100 % de sensibilidade. %+ = porcentagem de amostras positivas (IE > 1). (B) Índice de avidéz de IgG calculado para amostras de G2 e G3 positivas no ELISA-IgG. % IA > 75% = porcentagem de amostras com exclusão da infecção ativa por *S. stercoralis* (IA > 75%). n = tamanho da amostra.

Tabela 1. Parâmetros diagnóstico de sensibilidade e especificidade do ELISA com *cut-off* selecionado, para atender critério definitivo de diagnóstico (encontro de larvas de *Strongyloides stercoralis* nas fezes), e/ou combinado a avides de anticorpos IgG nos grupos de pacientes com outras parasitoses e saudáveis.

Diluição do soro 1:80	Sensibilidade	Especificidade
ELISA IgG (IE > 1)	100 %	70 %
ELISA IgG + IA (IA < 75%)		
IA de triagem	100 %	80 %
IA médio	100 %	85 %

IE – índice ELISA; IA – índice avides

5. Apêndice

5.1. Apêndice A

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE
LONDRINA - UEL/ HOSPITAL
REGIONAL DO NORTE DO



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: ESTUDO CLÍNICO-EPIDEMIOLÓGICO E DE DIAGNÓSTICO DA ESTRONGILOIDÍASE HUMANA E INFECÇÕES ASSOCIADAS

Pesquisador: Idessania Nazareth da Costa

Área Temática:

Versão: 3

CAAE: 12615513.0.0000.5231

Instituição Proponente: Programa de PG em Patologia Experimental

Patrocinador Principal: Programa de PG em Patologia Experimental

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 310.893

Data da Relatoria: 21/06/2013

Apresentação do Projeto:

Pesquisa com o título "Estudo clínico-epidemiológico e de diagnóstico da estrogiloidíase humana e infecções associadas", justifica-se em razão de que, conforme asseveram os autores, a estrogiloidíase é uma parasitose de prevalência mundial e está entre as seis primeiras dentre as infecções causadas por geohelmintos. Os mesmos referem que os indivíduos infectados são assintomáticos em 50% dos casos, enquanto que os outros podem apresentar desconfortos intestinais; entretanto, manifestações extra intestinais promovem quadros graves potencialmente fatais em pacientes imunocomprometidos, situação de expressiva relevância para a produção de conhecimentos na área da saúde.

O estudo tem por objetivo determinar os aspectos epidemiológicos e de diagnóstico da estrogiloidíase. Trata-se de análise retrospectiva de prontuários de pacientes atendidos no Hospital Universitário da Universidade Estadual de Londrina, na cidade de Londrina-PR (HU-Uel - últimos 10 anos) estabelecendo relações dos pacientes com fatores de procedência, idade, gênero, diagnóstico, uso de medicamentos e presença ou não de parasitoses associadas, além de investigar possíveis situações de imunossupressão. Também será realizado um estudo prospectivo a partir da coleta de 500 amostras de sangue, saliva e fezes de pacientes provenientes do setor ambulatorial de moléstias infecciosas do HU- UEL.

Endereço: AVENIDA ROBERT KOCH, 60

Bairro: VILA OPERÁRIA

CEP: 86.038-440

UF: PR

Município: LONDRINA

Telefone: (43)3371-2490

E-mail: cep268@uel.br

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE
LONDRINA - UEL/ HOSPITAL
REGIONAL DO NORTE DO



Continuação do Parecer: 310.893

Ainda, a investigação tem como meta contribuir para o desenvolvimento e fortalecimento da pesquisa científico-tecnológica no estado do Paraná, bem como no Brasil.

Objetivo da Pesquisa:

1. Objetivo geral

- Determinar os aspectos clínico-epidemiológicos e de diagnóstico da estrogiloidíase humana por meio de estudo retrospectivo (últimos 10 anos) e prospectivo (500 amostras) de pacientes atendidos no Hospital Universitário da Universidade Estadual de Londrina, provenientes da cidade de Londrina-PR e região.

2. Objetivos específicos

2.1. Estudo retrospectivo: estabelecer a relação dos pacientes com estrogiloidíase com fatores como procedência, idade, gênero, aspectos clínicos, diagnóstico, uso de medicamentos e presença ou não de parasitoses associadas, além de investigar possíveis situações de imunossupressão.

2.2. Estudo prospectivo:

- Realizar a colheita de 500 amostras de sangue, saliva e fezes de pacientes atendidos no setor ambulatorial de moléstias infecciosas.
- Realização dos testes parasitológicos por meio dos métodos de Baermann-Moraes e Lutz para pesquisa de ovos e larvas de helmintos ou cistos de protozoários.
- Pesquisa de anticorpos IgG e IgA em amostras de soro e saliva dos indivíduos com diagnóstico parasitológico confirmado para *Strongyloides stercoralis*.
- Análise comparativa da sensibilidade e especificidade entre os testes parasitológicos, imunológicos bem como entre as amostras.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Segundo os autores, não será oferecido risco nenhum aos participantes do projeto uma vez que todo o material da coleta será de uso individual e esterilizado. A equipe de coleta e realização dos exames laboratoriais utilizarão os procedimentos laboratoriais adequados. Ainda, será respeitado o anonimato dos participantes.

Quanto aos benefícios, os pesquisadores informam que a pesquisa deverá contribuir com o desenvolvimento da pesquisa e conhecimento científico na área. Também, comprometem-se a informar os participantes sobre os resultados dos exames.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Estudo apresentado de maneira comprometida com pesquisa científica de acordo com Resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde - Ministério da Saúde.

Endereço: AVENIDA ROBERT KOCH, 60
Bairro: VILA OPERÁRIA CEP: 86.038-440
UF: PR Município: LONDRINA
Telefone: (43)3371-2490 E-mail: cep268@uel.br

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE
LONDRINA - UEL/ HOSPITAL
REGIONAL DO NORTE DO



Continuação do Parecer: 310.893

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Pesquisa científica de acordo com Resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde - Ministério da Saúde.

Recomendações:

Projeto aprovado.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Projeto aprovado.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

Projeto aprovado.

LONDRINA, 20 de Junho de 2013

Assinador por:
Paula Mariza Zedu Alliprandini
(Coordenador)

Endereço: AVENIDA ROBERT KOCH, 60
Bairro: VILA OPERÁRIA
UF: PR **Município:** LONDRINA **CEP:** 86.038-440
Telefone: (43)3371-2490 **E-mail:** cep268@uel.br

5.2. Apêndice B**PREFEITURA DO MUNICÍPIO DE LONDRINA**

AUTARQUIA MUNICIPAL DE SAÚDE
ESTADO DO PARANÁ


A U T O R I Z A Ç Ã O D E P E S Q U I S A

C.D.03/2014/CEEPC/GPQS/AMS/PML.

Informamos para fins de realização da pesquisa:

“ESTUDO CLÍNICO-EPIDEMIOLÓGICO E DE DIAGNÓSTICO DA ESTRONGILOIDÍASE HUMANA E INFECÇÕES ASSOCIADAS” na Autarquia Municipal de Saúde da Prefeitura de Londrina pela aluna do curso de Mestrado em Patologia Experimental da Universidade Estadual de Londrina, Larissa Rodrigues Bosqui, orientada pela Professora Idessania Nazareth da Costa, docente em Parasitologia da mesma Universidade e que por tratar-se de pesquisa com seres humanos, deverá seguir as orientações da Res. CNS Nº. 466/12. Desta forma, sua execução nesta Autarquia está autorizada considerando o parecer favorável do Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos nº 310.893/2013.

Londrina, 08 de abril de 2014.


Maria Aparecida da Costa Penni
Coord. Estágio/Educação Permanente e Continuada
GPQS/DGTES/AMS/PML

5.3. Apêndice C

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

“DIAGNÓSTICO COPROLÓGICO E IMUNOLÓGICO DA ESTRONGILOIDÍASE HUMANA E OUTRAS PARASITOSES NO MUNICÍPIO DE LONDRINA-PR”

Prezado(a) Senhor(a):

Gostaríamos de convidá-lo (a) a participar da pesquisa **“DIAGNÓSTICO COPROLÓGICO E IMUNOLÓGICO DA ESTRONGILOIDÍASE HUMANA E OUTRAS PARASITOSES NO MUNICÍPIO DE LONDRINA-PR”**, realizada em “laboratório de Parasitologia da Universidade Estadual de Londrina-PR”. O objetivo da pesquisa é “identificar a presença ou não de parasitos em amostras de fezes e de anticorpos em amostras de sangue e saliva”. A sua participação é muito importante e ela se daria da seguinte forma (doação de amostras de fezes, saliva e sangue, que serão coletadas no Hospital Universitário de Londrina). Gostaríamos de esclarecer que sua participação é totalmente voluntária, podendo você: recusar-se a participar, ou mesmo desistir a qualquer momento sem que isto acarrete qualquer ônus ou prejuízo à sua pessoa. Informamos ainda que as informações serão utilizadas somente para os fins desta pesquisa e serão tratadas com o mais absoluto sigilo e confidencialidade, de modo a preservar a sua identidade. As informações serão utilizadas somente para os fins desta pesquisa e serão tratadas com o mais absoluto sigilo e confidencialidade, de modo a preservar a sua identidade.

Os benefícios esperados são o controle de parasitoses da população de londrina e região atendidas pelo Hospital Universitário de Londrina, bem como seu tratamento. Informamos que o(a) senhor(a) não pagará nem será remunerado por sua participação. Garantimos, no entanto, que todas as despesas decorrentes da pesquisa serão ressarcidas, quando devidas e decorrentes especificamente de sua participação na pesquisa. Caso você tenha dúvidas ou necessite de maiores esclarecimentos pode nos contactar: Larissa Rodrigues Bosqui, telefone (43)9976-2833, email larissabosqui@hotmail.com, ou procurar o Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos da Universidade Estadual de Londrina, na Avenida Robert Kock, nº 60, ou no telefone 33712490. Este termo deverá ser preenchido em duas vias de igual teor, sendo uma delas, devidamente preenchida e assinada entregue a você.

Londrina, ____ de _____ de 2014.

Pesquisador Responsável

RG: _____

_____ (nome por extenso do sujeito de pesquisa), tendo sido devidamente esclarecido sobre os procedimentos da pesquisa, concordo em participar **voluntariamente** da pesquisa descrita acima.

Assinatura (ou impressão dactiloscópica): _____

Data: _____

Obs: Caso o participante da pesquisa seja menor de idade, deve ser incluído o campo para assinatura do menor e do responsável.