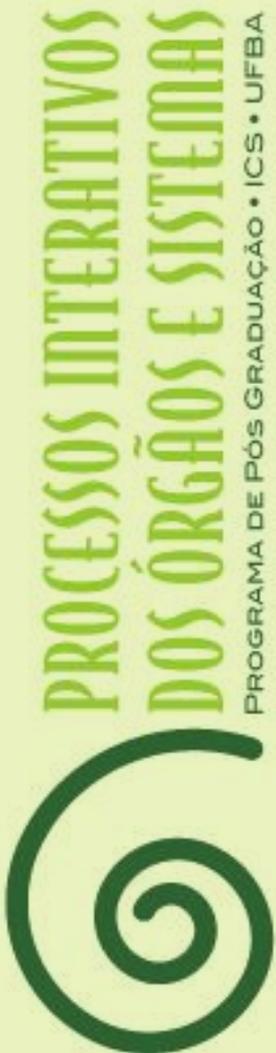


Cíntia de Lima Oliveira



Avaliação da sensibilidade dos métodos TF-Test® e Coproplus® no diagnóstico da infecção por *Strongyloides stercoralis* e outros enteroparasitos em alcoolistas

Salvador
2019

**UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PROCESSOS INTERATIVOS
DOS ÓRGÃOS E SISTEMAS**

CÍNTIA DE LIMA OLIVEIRA

**Avaliação da sensibilidade dos métodos TF-Test® e
Coproplus® no diagnóstico da infecção por *Strongyloides
stercoralis* e outros enteroparasitos em alcoolistas**

**Salvador
2019**

CÍNTIA DE LIMA OLIVEIRA

Avaliação da sensibilidade dos métodos TF-Test® e Coproplus® no diagnóstico da infecção por *Strongyloides stercoralis* e outros enteroparasitos em alcoolistas

Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação em Processos Interativos dos Órgãos e Sistemas do Instituto de Ciências da Saúde, da Universidade Federal da Bahia, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Neci Matos Soares

**Salvador
2019**

OLIVEIRA, Cíntia de Lima. *Avaliação da sensibilidade dos métodos TF-Test® e Coproplus® no diagnóstico da infecção por Strongyloides stercoralis e outros enteroparasitos em alcoolistas*. [Monografia] Universidade Federal da Bahia. Salvador, 2019. 61 f.

Orientadora: Neci Matos Soares. Dissertação (Mestrado - Processos Interativos dos Órgãos e Sistemas) -- Universidade Federal da Bahia, Instituto de Ciências da Saúde, 2019.

1. *Strongyloides stercoralis*. 2. Alcoolistas 3. Métodos parasitológicos 4. TF-Test®. 5. Coproplus® I. Soares, Neci Matos.
II. Título.

FOLHA DE APROVAÇÃO

CÍNTIA DE LIMA OLIVEIRA

Avaliação da sensibilidade dos métodos TF-Test® e Coproplus® no diagnóstico da infecção por *Strongyloides stercoralis* e outros enteroparasitos em alcoolistas

Área de Concentração:

Estudo Integrado dos Órgãos e Sistemas

Linha de Pesquisa:

Processos Biológicos dos Órgãos e Sistemas

Defesa de mestrado apresentada à Universidade Federal da Bahia como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Processos Interativos dos Órgãos e Sistemas.

Aprovado em: ____ de _____ de 2019.

Banca Examinadora

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Neci Matos Soares

Examinadora: Prof. Dr.^a Juliane Araújo Greinert Goulart

Examinador: Prof. Dr. Robson da Paixão de Souza

*Ao meu esposo Valeriy e aos meus pais, Espedito e Bernadete pelo
grande incentivo, imenso apoio, colo e carinho nesta árdua e linda
caminhada para que eu vencesse mais esta etapa,
Por estarem sempre ao meu lado.
A vocês que acreditaram no meu potencial,
Dedico este trabalho.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente ao Criador, por permitir a conclusão de mais uma importante etapa da minha vida profissional, pela saúde, fé e força de vontade para o desenvolvimento deste trabalho.

Ao meu amado esposo Valeriy Bugayev, meu amigo, companheiro e grande incentivador.

Aos meus pais, Espedito e Bernadete, exemplos de caráter e honestidade a quem eu sou eternamente grata pelos preciosos ensinamentos e pelo apoio e confiança em mim.

Aos meus irmãos e familiares, pelo companheirismo, incentivo e pelos momentos de alegria.

À minha orientadora, Professora Neci Matos Soares pelos ensinamentos, pela paciência diante das minhas dificuldades, por sempre se mostrar à disposição em me orientar, em me acompanhar e procurar solucionar todos os problemas durante este percurso e por dar-me a oportunidade de desenvolver este trabalho.

À Joelma de Souza, por sua grande ajuda e contribuição desde a Iniciação Científica e em todas as etapas deste trabalho, pelo incentivo e apoio nos momentos difíceis, por sua calma, alegria e sabedoria que serve de inspiração a todos nós. Eterna gratidão por todo o seu apoio.

A Alex Bruno, um irmão do coração que ganhei desde a graduação. Obrigada por ser esse amigo tão valioso em que se pode confiar e contar a qualquer hora.

À Professora Márcia Cristina Teixeira pelas valiosas contribuições e por sua disponibilidade, gentileza e atenção.

Aos queridos amigos da Pesquisa, Marina, Nilo, Flávia e Elisabete pelo convívio harmonioso e pelos agradáveis momentos vivenciados juntos.

À equipe de pesquisa, Wesley, Larissa, Irlana, Alana e Juliane pela grande ajuda na execução deste trabalho.

Aos amigos do laboratório, Joelma Menezes, Marilene, Valdete, Lúcia, Rosana, Marco, Diana e Andréia pelo auxílio técnico no diagnóstico parasitológico e pela ajuda no atendimento aos pacientes.

À Dra. Maria Del Carmen Moleiro por permitir a realização deste trabalho no CATA e pelo seu apoio e confiança no trabalho desenvolvido.

A todos os funcionários do CATA em especial à Cléa, Edimárcia, Mônica, Pedro e Dulce, pela colaboração e ajuda com os pacientes, tornando o trabalho mais agradável.

Aos pacientes do CATA pela colaboração e por terem aceitado participar do estudo.

À Universidade Federal da Bahia e ao PPGPIOS por viabilizar a minha formação profissional e intelectual.

A todos os professores do Mestrado em Processos Interativos dos Órgãos e Sistemas pelos ensinamentos transmitidos ao longo do curso.

Aos colegas do mestrado pela amizade, convivência e troca de experiências.

A todos que direta ou indiretamente contribuíram com este trabalho.

*Sing with me, sing for the years
Sing for the laughter, sing for the tears
Sing with me, just for today
Maybe tomorrow, the good Lord will take you away*

(Dream on) Aerosmith

RESUMO

Introdução: A estrogiloidíase humana cursa geralmente de forma crônica e assintomática, podendo persistir por décadas sem ser diagnosticada. No entanto, em indivíduos imunocomprometidos, como os pacientes alcoolistas, a infecção pode se desenvolver para quadros de hiperinfecção e/ou disseminação. Atualmente, o método utilizado para o diagnóstico na rotina laboratorial da estrogiloidíase é o de Baermann-Moraes, apesar da cultura em placa de ágar ser mais sensível. Novas técnicas como o TF-Test® e o Coproplus® têm surgido como alternativas mais práticas, porém ainda necessitam de melhor avaliação para determinação das suas sensibilidades. **Objetivo:** Avaliar a sensibilidade dos métodos parasitológicos TF-Test® e Coproplus®, em comparação com os métodos de cultura em placa de ágar (CPA), Baermann-Moraes (BM) e sedimentação espontânea (SE). **Material e método:** Trata-se de um estudo epidemiológico, descritivo e transversal, realizado de maio de 2017 a agosto de 2018, para diagnóstico da infecção por *S. stercoralis*, em pacientes alcóolicos internados no Centro de Acolhimento e Tratamento de Alcoolistas (CATA). Foram analisadas amostras de 140 pacientes, por meio dos métodos parasitológicos CPA, Baermann-Moraes, sedimentação espontânea, TF-Test® e Coproplus®. **Resultados:** Um total de 58,6% dos pacientes estava infectado com um ou mais parasitos intestinais. O helminto mais prevalente foi *S. stercoralis* (20%), em que a carga parasitária destes pacientes foi em média 89 larvas/g de fezes (SD±146,3) variando de 1 a 638 larvas, seguido pelas infecções com ancilostomídeo (8,6%), *Ascaris lumbricoides* (1,4%), *Trichuris trichiura* (1,4%), *Schistosoma mansoni* (0,7%) e *Enterobius vermiculares* (0,7%). Para os protozoários, o mais prevalente foi a *Endolimax nana* (34,3%) seguido por *Entamoeba coli* (6,4%), *Giardia duodenalis* (5,0%) *Iodamoeba butschlii* (5,0%) e *Entamoeba histolytica/dispar* (2,1%). Os métodos TF-Test® e Coproplus® apresentaram para o diagnóstico da estrogiloidíase, sensibilidades de 46,4% (12/28) e 39,3% (10/28), respectivamente, valores muito inferiores aos métodos de CPA 96,4% (27/28), Baermann-Moraes 89,3% (25/28) e sedimentação espontânea 57,1% (16/28), sendo a diferença de sensibilidade do TF-Test® e o Coproplus®, isoladamente, estatisticamente significativa em relação aos demais métodos testados ($p < 0,05$). A carga parasitária influenciou na elevação da sensibilidade dos métodos TF-test® e do Coproplus®, enquanto que a CPA e o Baermann-Moraes apresentaram elevadas sensibilidades, mesmo em amostras com baixa carga parasitária. Para o diagnóstico de outros helmintos intestinais, excluindo *S. stercoralis*, o método de sedimentação espontânea foi o mais sensível apresentando 55,5 (10/18) de sensibilidade. Os métodos de TF-Test® e o Coproplus® apresentaram melhores sensibilidades para o diagnóstico dos protozoários, 62,2% (46/74) e 43,2% (32/74), respectivamente, com relação aos outros métodos testados. **Discussão:** A elevada frequência da infecção por enteroparasitos nos pacientes alcoolistas, possivelmente reflete as condições sócio-econômicas e sanitárias, além das alterações dos hábitos de higiene destes pacientes. O diagnóstico da estrogiloidíase através da CPA e do Baermann-Moraes apresentaram as maiores sensibilidades, confirmando dados anteriores de outros estudos realizados pelo nosso grupo, enquanto que, os métodos TF-Test® e Coproplus® apresentaram as menores sensibilidades para o diagnóstico da infecção por *S. stercoralis*. **Conclusão:** Neste trabalho foi possível observar uma elevada frequência da infecção por *S. stercoralis* nos pacientes alcoolistas 20%, possivelmente pelo hábito de andar descalço. Dentre os métodos parasitológicos utilizados, a cultura em placa de ágar foi o mais sensível seguido do Baermann-Moraes, destacando-se a baixa sensibilidade do TF-Test® e do Coproplus® para o diagnóstico da estrogiloidíase. A carga parasitária influenciou no aumento da sensibilidade dos métodos TF-Test® e Coproplus®, enquanto que a CPA e o Baermann-Moraes apresentaram as maiores sensibilidades, mesmo em amostras com baixa carga parasitária. Em

relação ao diagnóstico da infecção por outros helmintos, a sedimentação espontânea foi o método mais sensível, enquanto para os protozoários, os métodos TF-Test® e Coproplus® alcançaram maiores sensibilidades. Diante dos resultados observados neste estudo, tanto o TF-Test® quanto o Coproplus® não deve ser adotado como único método para diagnóstico parasitológico de fezes em laboratórios de rotina, pois as suas sensibilidades para o diagnóstico da estrongiloidíase é muito baixa em infecções com carga parasitária de 1 a 10 larvas por g/fezes, o que provavelmente ocorre na maioria dos pacientes.

Palavras-chave: *Strongyloides stercoralis*. Alcoolistas. Métodos parasitológicos. TF-Test®. Coproplus®.

ABSTRACT

Introduction: Human strongyloidiasis often occurs chronic and asymptotically and can persist without having a clear diagnosis for decades. However, this infection can cause hyperinfection and/or dissemination in immunocompromised patients. Nowadays, the most commonly used method in routine laboratory detection of the disease is Baermann Moraes, despite the fact that Agar Plate Culture (APC) is more sensitive. New techniques such as TF-Test® and Coproplus® have emerged as more practical alternatives, but still need to be further assessed in order to determine its sensitivities. **Aim:** Evaluate TF-Test® and Coproplus® methods sensitivity in comparison to Agar Plate Culture (APC), Baermann-Moraes (BM) and spontaneous sedimentation. **Materials and methods:** This is an epidemiological, descriptive and cross-sectional study. It was carried out from May 2017 to August 2018 and 140 samples collected from patients hospitalized at Centro de Tratamento e Acolhimento a Alcoolistas (CATA) were analyzed using APC, Baermann-Moraes, spontaneous sedimentation, TF-Test® and Coproplus® methods. **Results:** A total of 58.6% of the patients were infected by one or more intestinal parasites. The most prevalent helminth was *S. stercoralis* (20%), with a parasitic load mean of 89 larvae/gram of feces (SD±146.3), ranging from 1 to 638 larvae, followed by hookworm (8.6%), *Ascaris lumbricoides* (1.4%), *Trichuris trichiura* (1.4%), *Schistosoma mansoni* (0.7%) and *Enterobius vermicularis* (0.7%). For the protozoa, the most prevalent one was *Endolimax nana* (34.3%), followed by *Entamoeba coli* (6.4%), *Giardia duodenalis* (5.0%) *Iodamoeba butscilli* (5.0%) and *Entamoeba histolytica/dispar* (2.1%). For strongyloidiasis diagnosis, the TF-Test® and Coproplus® methods presented a sensitivity of 46.4 (12/28) and 39.3% (10/28), respectively. Those values were much lower compared to Agar Plate Culture 96.4 (27/28), Baermann-Moraes 89.3% (25/28) and spontaneous sedimentation 57.1% (16/28). TF-Test® and Coproplus® revealed a statistically significant difference in sensitivity compared to the other evaluated methods ($p < 0.05$). The parasitic load changed the sensitivity of TF-Test® and Coproplus® methods whereas APC and Baermann-Moraes showed high sensitivity, even in samples with a low parasitic load. For other intestinal helminths diagnosis, with the exception of *S. stercoralis*, spontaneous sedimentation were the most sensitive methods, 55.5% (10/18) for both. TF-Test® and Coproplus® methods revealed better sensitivities for protozoa diagnosis in comparison to the spontaneous sedimentation method, 62.2% (46/74) and 43.2% (32/74), respectively. **Discussion:** The high enteroparasite infections frequency in alcoholic patients is influenced by sanitation and socioeconomic factors, including hygiene habits. The strongyloidiasis diagnosis using APC and Baermann-Moraes demonstrated the highest sensitivity, confirming data from previous studies carried out by our group, whereas the TF-Test® and Coproplus® methods presented the lowest sensitivity *S. stercoralis* infection diagnosis. **Conclusion:** In this study, it was possible to observe a high *S. stercoralis* infection frequency in alcoholic patients (20%), which can be explained by their habit of walking barefoot. The Agar Plate Culture was the most sensitive method, followed by Baermann-Moraes. TF-Test® and Coproplus® methods presented a particularly low sensitivity for strongyloidiasis diagnosis. The parasitic load increased TF-Test® and Coproplus® methods sensitivity, whereas APC and Baermann-Moraes sensitivities were high, even in samples containing a low parasitic load. In other helminths infection diagnosis, the spontaneous sedimentation and Faust were the most sensitive methods. On the other hand, TF-Test® and Coproplus® were the most sensitive methods to protozoa diagnosis. The results demonstrate that neither TF-Test® nor Coproplus® must be used as the sole method for parasitological diagnosis in feces at laboratorial routine. This is due to its extremely low sensitivities for

strongyloidiasis diagnosis in samples with a low parasitic load, which is common in most patients.

Keywords: *Strongyloides stercoralis*. Alcoholic patients. Parasitological methods. TF-Test®. Coproplus®.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1** Foto do Kit comercial para realização do TF-Test® 31
- Figura 2** Foto do Kit comercial para realização do Coproplus® 32
- Figura 3** Foto dos potes do Kit comercial Coproplus® invertidos e acomodados em badeja de sedimentação 33

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Frequência de parasitos intestinais em pacientes alcoolistas atendidos no Centro de Acolhimento e Tratamento de Alcoolistas (CATA) (n = 140).	37
Tabela 2	Características demográficas e socioeconômicas dos pacientes alcoolistas (n = 140)	38
Tabela 3	Comparação de ambos os métodos da Cultura em Placa de Ágar (CPA) e do Bearman-Moraes (BM) com outros métodos parasitológicos para o diagnóstico da infecção por <i>S. stercoralis</i> (n = 28).	39
Tabela 4	Positividade dos métodos para pesquisa de larvas de <i>S. stercoralis</i> de acordo com a carga parasitária, em amostras de fezes de pacientes alcóolicos infectados com <i>S. stercoralis</i> (n = 28).	40
Tabela 5	Sensibilidade dos métodos parasitológicos para detecção de helmintos (excluindo <i>S. stercoralis</i>) (n=18) e protozoários (n=74) em amostras de fezes de pacientes atendidos no Centro de Acolhimento e Tratamento de Alcoolistas (CATA) em Salvador, Bahia.	40

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

BM	Baermann-Moraes
CATA	Centro de Tratamento e Acolhimento a Alcoolistas
CPA	Cultura em placa de ágar
cm	Centímetros
Coproplus®	Copro parasitological plus
g	Grama
HPJ	Hoffman Pons & Joner
HTLV	Vírus T-linfotrópico humano
IC	Intervalo de confiança
k	Índice kappa
L1	Larvas rabditoides
L3	Larvas filarióides
mL	Mililitros
Min	Minutos
Nº	Número
°C	Graus Celsius
PCR	Reação em Cadeia da Polimerase
rpm	Rotação por minuto
SD	Standard deviation
<i>S. stercoralis</i>	<i>Strongyloides stercoralis</i>
Sens	Sensibilidade
SE	Sedimentação espontânea
TF-Test®	Tri fecal test
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
UFBA	Universidade Federal da Bahia
µg	Micrograma

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	16
2 JUSTIFICATIVA	19
3 REVISÃO DE LITERATURA	21
3.1 O PARASITO	22
3.2 INFECÇÃO POR <i>S. stercoralis</i> E USO CRÔNICO DE ÁLCOOL	22
3.3 EPIDEMIOLOGIA DA ESTRONGILOIDÍASE	23
3.4 DIAGNÓSTICO	24
4 OBJETIVOS	27
4.1 GERAL	28
4.2 ESPECÍFICOS	28
5 MATERIAL E MÉTODOS	29
5.1 TIPO DE ESTUDO	30
5.2 AMOSTRAGEM	30
5.3 DIAGNÓSTICO PARASITOLÓGICO	30
5.4 ANÁLISES ESTATÍSTICAS	33
5.5 ASPECTOS ÉTICOS	34
6 RESULTADOS	35
6.1 FREQUÊNCIA DE PARASITOS INTESTINAIS EM PACIENTES ALCOOLISTAS, ATENDIDOS NO CENTRO DE ACOLHIMENTO E TRATAMENTO DE ALCOOLISTAS (CATA) (n = 140)	36
6.2 CARACTERÍSTICAS DEMOGRÁFICAS E SOCIOECONÔMICAS DOS PACIENTES ALCOOLISTAS (n = 140)	37
6.3 COMPARAÇÃO DA SENSIBILIDADE DE DIFERENTES MÉTODOS PARASITOLÓGICOS PARA O DIAGNÓSTICO DA INFECÇÃO POR <i>S. STERCORALIS</i> .	38
6.4 AVALIAÇÕES DA SENSIBILIDADE DOS DIFERENTES MÉTODOS PARASITOLÓGICOS DE ACORDO COM A CARGA PARASITÁRIA (n = 28).	39
6.5 SENSIBILIDADES DOS MÉTODOS PARASITOLÓGICOS PARA DETECÇÃO DE OUTROS HELMINTOS E PROTOZOÁRIOS EM AMOSTRAS DE FEZES DE 140 PACIENTES ATENDIDOS NO CENTRO DE ACOLHIMENTO E TRATAMENTO DE ALCOOLISTAS.	39
7 DISCUSSÃO	40
8 CONCLUSÃO	44
REFERÊNCIAS	46

ANEXOS	53
QUESTIONÁRIO SOCIOECONÔMICO E SANITÁRIO	54
TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO	55
APÊNDICE - COMITÊ DE ÉTICA	56

1. INTRODUÇÃO

O helminto *Strongyloides stercoralis*, um parasito endêmico nas áreas tropicais e subtropicais, infecta aproximadamente 370 milhões de pessoas em todo o mundo onde a higiene e as condições sanitárias são deficientes.^{1,2} As manifestações clínicas da estrogiloidíase podem variar de um estado assintomático a distúrbios cutâneos (prurido, *larva migrans*, urticária), digestivos (diarreia, dor abdominal), respiratórios (tosse crônica, dispneia) ou pode evoluir para estrogiloidíase grave, com hiperinfecção e/ou disseminação do parasito, principalmente em indivíduos imunocomprometidos.³⁻⁶ Os grupos de indivíduos mais susceptíveis a estrogiloidíase severa são principalmente pacientes portadores do Vírus Linfotrófico Humano (HTLV-1), em uso crônico de corticosteroides e alcoolistas.⁷⁻¹²

A alta predisposição à infecção por *S. stercoralis* em alcoolistas está associada a más práticas de higiene, desnutrição, comprometimento da resposta imune protetora induzida pelo consumo excessivo de álcool que culminam no aumento dos níveis de corticoide endógeno, favorecendo a autoinfecção por *S. stercoralis*.^{10, 12, 13}

A estrogiloidíase grave pode se manifestar nas formas de hiperinfecção e/ou disseminação. A hiperinfecção é caracterizada pelo aumento do número de larvas excretadas nas fezes e/ou no escarro, além da exacerbação dos sintomas nos trato gastrointestinal e respiratório.¹⁴ A capacidade de autoinfecção do *S. stercoralis* potencializa a disseminação da forma filarióide pela corrente sanguínea e conseguinte acometimento de múltiplos órgãos, sendo este o quadro mais grave e com maior taxa de mortalidade.^{7, 15-17} A disseminação está associada a quadros de sepse e, caso não seja corretamente tratada, a taxa de mortalidade pode chegar até 100%.^{18, 19}

O diagnóstico precoce da estrogiloidíase é essencial para prevenir os quadros graves da doença e pode ser realizado por meio de métodos parasitológicos e/ou imunológicos. Entre os métodos parasitológicos, o Baermann-Moraes é barato e simples de realizar e um dos métodos parasitológicos mais utilizados para identificação de larvas de nematoides em laboratórios de rotina; no entanto, é menos sensível que a CPA.^{13 19, 20} Alguns estudos que comparam a eficiência de métodos parasitológicos para detecção de *S. stercoralis* têm demonstrado que o método de CPA é o mais sensível.^{11, 20} No entanto, apesar da sua elevada sensibilidade, a CPA ainda depende da eliminação das larvas nas fezes, o que ocorre de maneira intermitente, podendo ser necessário a análise de várias amostras.^{21, 22}

Outro método parasitológico utilizado atualmente nos laboratórios clínicos é o TF-Test®. Ao longo dos últimos anos, esta nova técnica derivada do método de Ritchie vem se destacando no diagnóstico das parasitoses intestinais, especialmente por coletar separadamente três amostras fecais em dias alternados e processá-las de uma só vez, com

procedimento laboratorial de concentração dos parasitos por centrífugo-sedimentação.²³⁻²⁶ Devido a essas vantagens do TF-Test®, o mesmo tem sido utilizado em diversos laboratórios clínicos.

Outro kit comercial recentemente lançado no mercado, o Coproplus®, consiste em transferir uma pequena quantidade de fezes através de uma pequena espátula que acompanha o kit, para um frasco coletor que contém 13 mL de formalina a 10% tamponada.²⁷ No entanto, pelo fato dos métodos TF-Test® e do Coproplus® utilizarem fezes diluídas em solução tamponada de formol e conseqüentemente inviabilizar a sobrevivência de larvas presentes nas fezes, torna-se necessário a avaliação da eficácia destes testes para o diagnóstico da infecção por *S. stercoralis*.

Os métodos sorológicos são uma alternativa no auxílio ao diagnóstico de *S. stercoralis*²⁸⁻³⁰, no entanto, estes métodos possuem algumas limitações, como a dificuldade na produção e padronização de um antígeno capaz de fornecer boa reprodutibilidade dos ensaios e a presença de reações falso-positivas, devido à memória imunológica e/ou pela presença de reações cruzadas com outros parasitos.^{28, 31,32}

Pela falta de diagnóstico precoce a estrogiloidíase pode evoluir para as formas graves, como citado anteriormente e a pesquisa de larvas nas fezes é considerado como o diagnóstico definitivo. Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar a sensibilidade dos métodos TF-Test® e Coproplus® no diagnóstico da infecção por *S. stercoralis* frente aos métodos específicos de diagnóstico parasitológico para pesquisa de larvas de helmintos.

2. JUSTIFICATIVA

Devido ao uso frequente dos métodos de diagnóstico parasitológicos, TF-Test® e Coproplus®, em laboratórios de análises clínicas em substituição aos métodos tradicionais, a avaliação das sensibilidades destes kits comerciais para o diagnóstico da infecção por *S. stercoralis* e outros parasitos intestinais é de essencial importância, para evitar a subestimativa da frequência das parasitoses intestinais, principalmente da infecção por *S. stercoralis*, caracterizada como uma parasitose de difícil diagnóstico.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1 O PARASITO

Em 1876, Louis Normand, médico do Hospital Naval Saint-Mandrier da cidade de Toulon na França, investigou um grupo de soldados repatriados da Indochina (hoje Vietnã) e constatou que estes apresentavam diarreia severa, nas fezes foram encontradas larvas móveis, de um parasito hoje conhecido como *Strongyloides stercoralis*.³³

O ciclo biológico do parasito inicia-se quando a larva filariforme (forma infectante) penetra na pele de um hospedeiro susceptível ou ocasionalmente, através das mucosas, principalmente da boca e do esôfago ou quando são deglutidas acidentalmente através de alimentos contaminados.³⁴ Ao ganhar a circulação sanguínea, chegam até os capilares alveolares, adentra os alvéolos, dirigindo-se à glote, ultrapassando no trajeto, bronquíolos, brônquios e traquéia. Posteriormente, é deglutida e atinge o trato gastrintestinal alojando-se na lâmina própria do duodeno e jejuno proximal, onde se transforma em fêmea partenogénica, cujo útero pode conter em média, 10 a 12 ovos, produzindo no máximo, 15 larvas por dia. Após a eclosão, a larva é chamada de rhabditóide L1. Para ser infectante deve chegar ao estágio L3 filarióide que pode levar a autoinfecção interna ou serem eliminadas junto com as fezes.

No solo, as larvas rhabditóides eliminadas nas fezes também podem transformar-se em vermes machos ou fêmeas de vida livre, que irão dar origem ao ciclo de vida livre. (OLHAR PROF. JULIANE) A ocorrência de dois ciclos evolutivos pode ser explicada devido à constituição genética das fêmeas partenogénicas, que são triploides (3n) e produzem simultaneamente três tipos de ovos, que dão origem a três tipos de larvas rhabditóides e de acordo com sua constituição cromossômica podem originar machos (n) ou fêmeas (2n) de vida livre ou larvas filarióides infectantes (3n).³⁵

3.2 INFECÇÃO POR *S. stercoralis* E USO CRÔNICO DE ÁLCOOL

A alta predisposição à infecção por *S. stercoralis* está associada com más práticas de higiene, desnutrição, deficiência na resposta imune e uso crônico de álcool que induz a elevação dos níveis de corticoide endógeno, favorecendo a autoinfecção por *S. stercoralis*.¹³ Clinicamente, a maioria dos casos de infecção por *S. stercoralis* é assintomática e sintomas gastrointestinais leves ou moderados podem ocorrer. Os casos sintomáticos cursam com diarreia, esteatorreia e perda de peso, como também queixas respiratórias. Na síndrome da

hiperinfecção é observado o aumento do número de larvas excretadas nas fezes ou escarro, além do desenvolvimento ou exacerbação dos sintomas gastrointestinais e pulmonares.^{15,19} Nessa forma, as larvas estão confinadas nas regiões onde ocorre o ciclo parasitário (pele, pulmão e intestino).^{17,36,37}

A estrogiloidíase passa a ser disseminada quando as larvas migram para outros órgãos, como fígado e cérebro.^{13,20} As larvas que penetram na parede intestinal podem transportar bactérias para a corrente sanguínea e resultar em infecções sistêmicas, sendo a estrogiloidíase disseminada a manifestação mais grave da doença, apresentando altas taxas de mortalidade, devido à sua rápida evolução e diagnóstico tardios.^{13,38}

Além disso, muitos estudos tem demonstrado que o uso crônico de álcool predispõe à infecção por *S. stercoralis*, podendo evoluir para a hiperinfecção e a estrogiloidíase disseminada, que pode levar a óbito.^{13,39-43} O aumento dos metabólitos de corticóides, que são similares a ecdisona, hormônio parasitário que regula a fertilidade de fêmeas partenogênicas de *S. stercoralis* e estimula a transformação de larvas rbditoides em filarióides, eleva a taxa de autoinfecção no hospedeiro.¹⁰ Vale destacar que o álcool diminui a resposta imune protetora, altera a morfologia das vilosidades intestinais e pode interferir na permeabilidade e na motilidade intestinal, levando a permanência do bolo fecal, o que favorece a ecdise das larvas e também aumenta o risco de autoinfecção.^{13,44}

3.3 EPIDEMIOLOGIA DA ESTRONGILOIDÍASE

Dentre as infecções causadas por geohelminhos, a estrogiloidíase está entre as seis primeiras e é considerada uma doença negligenciada. 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.³⁴ A prevalência de *Strongyloides stercoralis* varia entre 0,2 e 3,4% em todo o mundo.⁴² Têm alta prevalência no Caribe, América Latina, Europa, Ásia e África subsaariana⁴³, enquanto na Índia é de 2,6%.

De acordo com uma revisão sistemática baseada nas taxas publicadas de infecção por *Strongyloides* e levando em consideração a sensibilidade dos métodos de diagnóstico usados, a prevalência de *Strongyloides* na África variou de 0,1% na República Centro-Africana a até 91,8% no Gabão. Na América do Sul e na América Central, o Haiti registrou uma prevalência de 1,0%, enquanto que no Peru a taxa de infecção chegou a 75,3%. No Camboja, a taxa de infecção foi de 17,5%, enquanto que na Tailândia, a taxa foi de 23,7% e na República Popular

do Laos, a taxa foi de 26,2%. O Brasil é considerado um país hiperendêmico com 5,5% de infecção por *S. stercoralis* na população geral e 11,8% em imunossuprimidos, considerando o diagnóstico parasitológico.¹³

As taxas de prevalência de estrogiloidíase variam entre diferentes Regiões brasileiras.⁴⁵ Segundo Paula e Costa-Cruz (2011), os Estados com maior ocorrência da estrogiloidíase são Amazonas, Alagoas, Mato Grosso, São Paulo, Santa Catarina e Minas Gerais. Em todo o 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 de 3,3% na população em geral.⁴⁷ Já 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. No entanto, diversos aspectos epidemiológicos da estrogiloidíase ainda são desconhecidos e principalmente a associação desta infecção com outras parasitoses.³⁴

Em pacientes que fazem uso crônico de álcool, a prevalência da infecção por *S. stercoralis* é geralmente alta, variando de 20,5% a 40,2%. Um estudo realizado no Brasil mostrou uma frequência de infecção de 33,3% em pacientes alcoolistas. Esse valor foi ainda maior (44,4%) nos pacientes com cirrose hepática.^{13,39,41}

Em três estudos anteriores realizados pelo laboratório de Imunoparasitologia da faculdade de farmácia da UFBA, foram encontradas frequências da infecção em alcoolistas de 15,4 a 23,5%.¹⁰⁻¹²

3.4 DIAGNÓSTICO

O diagnóstico da infecção é realizado principalmente pela pesquisa de larvas nas fezes pelos métodos Baermann-Moraes, sedimentação espontânea e cultura em placa de ágar. Recentemente, outros métodos parasitológicos como, TF-Test® e Coproplus® vem sendo utilizados para este fim.²³⁻²⁷

A técnica de Baermann-Moraes descrita originalmente por Baermann (1917) para detecção e isolamento de larvas do solo foi adaptada por Moraes (1948) para diagnóstico de larvas em fezes e cujo princípio se baseia em duas características intrínsecas das larvas: termotropismo e hidrotropismo positivo. Este método é mais sensível que a sedimentação

espontânea e permite a recuperação das larvas na água aquecida. O Baermann-Moraes é um método de baixo custo e simples de realizar sendo bastante utilizado nos laboratórios clínicos, entretanto é menos sensível que o método de CPA.¹¹

A CPA, embora raramente utilizada nos laboratórios clínicos, é o método parasitológico que apresenta maior sensibilidade para o diagnóstico parasitológico da infecção por *S. stercoralis*.^{10,11,48} A taxa de detecção da CPA aumenta com relação ao número de amostras, podendo variar de acordo com o número de amostras examinadas e coletadas em dias alternados.^{11,49,50} Na CPA as larvas de *S. stercoralis* migram das fezes para o meio de cultura, carregando consigo bactérias intestinais e formando colônias durante sua migração no meio, que são visualizadas como caminhos e podem ser usados para diagnóstico.^{20,51,52} Dessa forma, pode-se aumentar a sensibilidade do método quando as larvas não são recuperadas das culturas e também reduzir o risco de contaminação.²⁰ No entanto, devido a uma carga parasitária baixa e ciclo irregular na maioria dos pacientes com infecção crônica, exames repetidos de fezes associados a diferentes métodos parasitológicos são necessários para estabelecer um diagnóstico preciso da infecção por *S. stercoralis*.¹³

Apesar da ampla utilização do TF-Test® e do Coproplus® para diagnóstico das parasitoses entéricas humanas e de animais, ainda não se conhece qual o potencial de diagnóstico destes métodos. O TF-test® tem sido recomendado em situações nas quais as amostras de fezes são originárias de áreas geograficamente distantes dos laboratórios onde ocorrem as análises. As amostras são coletadas em um meio conservante contendo formalina tamponada a 10%, proporcionando uma margem de até 30 dias entre a coleta e a realização de sua análise.²⁴ No entanto, alguns estudos tem demonstrado uma menor sensibilidade do TF-Test® para o diagnóstico de *S. stercoralis* quando comparado com outros métodos.^{24,53} O Coproplus®, disponível no mercado desde 2008 (NL Diagnóstica, Comércio Exterior, São Paulo, Brasil), se baseia na diluição das fezes em solução tamponada de formol a 10%, seguido de homogenização e sedimentação espontânea, sem lavagens.

Tanto o TF-Test® quanto o Coproplus® são métodos de fácil execução e têm como vantagens demandar menor espaço físico para manuseio das amostras, descontaminação e conservação das amostras por até 30 dias sem a necessidade de refrigeração, diminuindo os custos com mão de obra. Por outro lado, a eficácia destes testes ainda não foi comprovada, pois existem poucos trabalhos científicos demonstrando a sensibilidade destes métodos no diagnóstico das enteroparasitoses.

Uma ferramenta auxiliar ao diagnóstico da infecção por *S. stercoralis* é o diagnóstico imunológico.⁵⁴⁻⁵⁶ No entanto esses métodos são restritos aos Centros de pesquisa, devido à

dificuldade na obtenção de antígenos, como também a ocorrência de reações cruzadas.¹³ Estas reações falso-positivas podem ser causadas por infecções passadas, devido à memória imunológica, ou por semelhança antigênica entre os helmintos.⁵⁷⁻⁵⁹

O uso de métodos moleculares no diagnóstico parasitológico ainda é limitado a alguns laboratórios de pesquisas. A reação em cadeia da polimerase (PCR) apresenta sensibilidade elevada para diagnóstico dos parasitos intestinais, mas com relação ao diagnóstico da infecção por *S. stercoralis* depende da liberação das larvas nas fezes o que nem sempre acontece, pois a liberação das larvas pelo parasito ocorre de forma intermitente. Além disso, os métodos moleculares são de alto custo, dependem de mão de obra especializada e requerem infraestrutura apropriada.^{60,61}

4. OBJETIVOS

4.1 GERAL

Avaliar a sensibilidade dos métodos TF-Test® e Coproplus® para o diagnóstico da infecção por *Strongyloides stercoralis* e outros parasitos intestinais em pacientes alcoolistas.

4.2 ESPECÍFICOS

1. Avaliar a frequência da infecção por *S. stercoralis* e de outros enteroparasitos em pacientes alcoolistas atendidos no período de maio/2017 a agosto/2018 no Centro de Acolhimento e Tratamento de Alcoolistas (CATA);
2. Descrever o perfil socioeconômico dos pacientes;
3. Comparar as sensibilidades dos métodos de diagnóstico para a infecção por *S. stercoralis* e outras enteroparasitoses (TF-Test®, Coproplus®, cultura em placa de ágar, Baermann-Moraes e sedimentação espontânea);
4. Avaliar a eficácia dos métodos de diagnóstico para infecção por *S. stercoralis* de acordo com a carga parasitária;
5. Comparar as sensibilidades dos métodos TF-Test®, Coproplus® e sedimentação espontânea para o diagnóstico de helmintos (exceto *S. stercoralis*) e protozoários.

5. MATERIAL E MÉTODOS

5.1 TIPO DE ESTUDO

Trata-se de um estudo epidemiológico, descritivo e transversal.

5.2 AMOSTRAGEM

Participaram deste estudo 140 pacientes do sexo masculino, com idade de 26 a 75 anos, com diagnóstico clínico de alcoolismo crônico, internados durante um período de 15 a 20 dias no Centro de Acolhimento e Tratamento de Alcoolistas (CATA), para desintoxicação alcoólica, no período de maio de 2017 a agosto de 2018. Todos os pacientes incluídos no estudo realizaram exames parasitológicos de fezes, com resultados de três amostras colhidas em dias alternados e responderam ao questionário epidemiológico (ANEXO A).

5.3 DIAGNÓSTICO PARASITOLÓGICO

O diagnóstico parasitológico foi realizado utilizando-se cinco métodos: sedimentação espontânea, Baermann-Moraes, CPA, TF-Test® (Empresa Immunoassay Ind. Com. Ltda., São Paulo, Brasil) e Coproplus® (Empresa NL Diagnóstica). As análises foram realizadas no Laboratório de Pesquisa em Imunoparasitologia da Faculdade de Farmácia da UFBA. Para o diagnóstico por meio da CPA, as amostras foram semeadas em placas de ágar, segundo Arakaki e colaboradores (1990). Resumidamente, no centro de cada placa de Petri (diâmetro de 9 cm e profundidade de 2,5 cm), contendo 5 mL de meio de cultivo estéril (1,5% de ágar, 1% de extrato bife, 1% de peptona e 5% de cloreto de sódio) foram semeadas cerca de 3 g de fezes. As placas foram seladas com fita adesiva, para evitar a saída das larvas filarióides⁶² e, em seguida, foram incubadas a 33°C por até sete dias. Ao final deste período, as placas foram lavadas com solução de formol 10% para recuperação das larvas e os tubos contendo as amostras foram centrifugados a uma velocidade de 1500 rpm por 3 minutos. O diagnóstico foi realizado por meio da microscopia por observação da morfologia.

As larvas presentes em um grama de fezes das amostras positivas para *S. stercoralis* no Baermann-Moraes foram quantificadas através da microscopia óptica (aumento de 40x). Quando o número de larvas foi maior que 500, procedeu-se uma diluição variando de 1:2 a 1:5, de acordo com o número de larvas. Neste trabalho, foi considerada como infecção leve quando detectado ≤ 10 larvas por grama de fezes, moderada de 11 a 50 larvas por grama de

fezes, intensa de 51 a 500 larvas por grama de fezes e > 500 larvas por grama de fezes, suspeita de hiperinfecção. Esta caracterização da carga parasitária nos pacientes alcoolistas foi baseada na experiência observada na rotina de diagnóstico do laboratório de Pesquisa em Imunoparasitologia da Faculdade de Farmácia da UFBA, na qual se verifica que em aproximadamente 95% dos Baermann-Moraes positivos não são detectadas mais do que 10 larvas por grama de fezes. Para a realização do diagnóstico por meio do TF-Test® e do Coproplus®, as amostras foram anteriormente homogenizadas, sendo em seguida transferidas pelo analista para os conjuntos comerciais, conforme orientação do fabricante.

5.3.1 TF-Test®

O método TF-Test® foi realizado de acordo com as instruções do fabricante. Resumidamente, uma alíquota de aproximadamente 1g das amostras de fezes foi adicionada aos tubos coletores-usuários que compõem o kit (Figura 1). Ao material fecal foi adicionado uma gota de detergente neutro e 3 mL de acetado de etila. Em seguida os três tubos foram acoplados ao conjunto de filtros, seguido de centrifugação por 3 min, a 1500 rpm. O sobrenadante foi desprezado e o sedimento analisado por microscopia óptica, em objetivas 10x e 40x. A leitura de duas lâminas de cada amostra foi realizada por pessoal técnico treinado.

Figura 1: Kit comercial para realização do TF-Test®



Fonte: Immunoassay Indústria e Comércio S/A.

5.3.2 Coproplus®

O método Coproplus® foi realizado de acordo com as instruções do fabricante. Resumidamente, um grama de fezes foi transferido para o pote coletor, contendo 13 mL de formalina tamponada a 10%, conforme orientações do fabricante. Em seguida o frasco coletor foi fechado, submetido a movimentos circulares por um a dois minutos e mantido em repouso por no mínimo de 15 minutos. Após este intervalo o frasco coletor foi invertido (Figura 2) e em seguida depositado uma gota da amostra em lâmina, contendo uma gota de lugol. (Figura 2 e 3). A leitura foi realizada por meio do microscópio óptico em objetivas de 10x e 40x. A leitura de duas lâminas de cada amostra foi realizada por pessoal técnico treinado.

Figura 2: Kit comercial para realização Coproplus®



Fonte: NL Diagnóstica

Figura 3: Potes do Kit comercial Coproplus® invertidos e acomodados em badeja de sedimentação



Fonte: NL Diagnóstica

5.5 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Os dados foram armazenados e analisados utilizando-se o IBM SPSS *software* (versão 19.0 para Windows, Estados Unidos da América). Variáveis contínuas foram expressas como média (desvio padrão). Variáveis categóricas foram expressas em percentual. Para testar a suposição de normalidade dos dados, foi aplicado o teste de Kolmogorov-Smirnov. As diferenças entre as médias foram avaliadas usando-se o teste t não pareado para comparar dois grupos, ou ANOVA para comparar três ou mais grupos.

O teste exato de Fisher foi usado para comparar proporções. Os testes foram bicaudais, e a significância estatística foi estabelecida para o intervalo de confiança de 95%. O coeficiente Kappa foi utilizado para avaliar a concordância dos métodos parasitológicos TF-Test®, Coproplus®, Sedimentação Espontânea e Baermann-Moraes, na detecção de *S. stercoralis* com a CPA. A interpretação da concordância entre os métodos foi feita a partir dos valores de Kappa, de acordo com Landis e Koch.⁶³

5.6 ASPECTOS ÉTICOS

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Escola de Enfermagem da Universidade Federal da Bahia sob o número 367.464. Todos os participantes foram informados sobre o estudo, e aqueles que concordaram em participar assinaram o Termo de

Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (Anexo B). Este estudo está inserido dentro do projeto “Avaliação e desenvolvimento de tecnologias aplicadas ao diagnóstico da infecção por *S. stercoralis* e prevenção da estrogiloidíase grave em pacientes imunossuprimidos” financiado pelo edital FAPESB N° 030/2013.

Todos os indivíduos, cujo diagnóstico foi positivo para enteroparasitos foram tratados no Centro de Acolhimento e Tratamento a Alcoolistas das Obras Sociais Irmã Dulce.

6. RESULTADOS

O estudo demonstrou que o total de indivíduos parasitados foi de 58,5% (82/140), sendo 36,4% (51/140) de monoparasitados e 22,1% (31/140) de poliparasitados. O parasito mais frequente foi *S. stercoralis* 20,0% (28/140), em que a carga parasitária foi em média 89 larvas/g de fezes (SD±146,3) variando de 1 a 638 larvas. O segundo parasito mais prevalente foi ancilostomídeo 8,6% (12/140), seguido de *Entamoeba coli* 6,4% (9/140), *Endolimax nana* 34,3% (48/140), *Giardia duodenalis* 5,0% (7/140), e *Iodamoeba butschli* 5,0% (7/140). (Tabela 1).

Tabela 1- Frequência de helmintos e protozoários intestinais em pacientes alcoolistas, atendidos no Centro de Acolhimento e Tratamento de Alcoolistas (CATA), entre maio/2017 e agosto/2018, (n = 140).

Parasito	Nº de amostras positivas (%)
Poliparasitados	31 (22,1)
Monoparasitados	51 (36,4)
Parasitados	82 (58,5)
Amostra negativa	58 (41,5)
Helmintos	
<i>Strongyloides stercoralis</i>	28 (20,0)
Ancilostomídeos	12 (8,6)
<i>Ascaris lumbricoides</i>	2 (1,4)
<i>Trichuris trichiura</i>	2 (1,4)
<i>Schistosoma mansoni</i>	1 (0,7)
<i>Enterobius vermiculares</i>	1 (0,7)
Total	46 (32,8)
Protozoários	
<i>Endolimax nana</i>	48 (34,3)
<i>Entamoeba coli</i>	9 (6,4)
<i>Giardia duodenalis</i>	7 (5,0)
<i>Iodamoeba butschli</i>	7 (5,0)
<i>Entamoeba histolytica/ dispar</i>	3 (2,1)
Total	74 (52,8)

Um total de 79,3% (111/140) dos pacientes avaliados residia na cidade de Salvador, enquanto que 20,7% (29/140) no interior do estado da Bahia. De acordo com os dados socioeconômicos 88,6% (124/140) dos pacientes alcoolistas apresentavam renda mensal inferior ou igual a um salário mínimo variando de $1,4 \pm 0,79$. Com relação à escolaridade, 30% (42/140) estudaram

da 1ª a 4ª série e 37,2% (52/140) estudaram da 5ª a 8ª série tendo completado o ensino médio somente 16,4% (23/140) dos entrevistados. (Tabela 2) A maioria dos pacientes possui água tratada 94,3% (132/140) e 46,4% (65/140) destes fazem ingestão de água filtrada. Um total de 98,6% (138/140) possui rede de esgoto, 89,3% (125/140) residem em ruas pavimentadas, 95,0% (133/140) possuem banheiro em casa e 95,0% (133/140) é beneficiado pelo serviço de coleta de lixo, diariamente. Quanto aos hábitos de vida, 29,3% (41/140) referiram andar descalço e 69,3% (97/140) são tabagistas. (Tabela 2)

Dos 20% (28/140) dos indivíduos alcóolicos infectados por *S. stercoralis*, 46,4% (13/28) andavam descalços e 82,1% (23/28) não tomava água filtrada e /ou fervida.

Tabela 2– Características demográficas e socioeconômicas dos pacientes alcoolistas (n = 140)

Variáveis	n (%)
- Idade (anos)*	
20-30	8 (5,7)
31-40	48 (34,3)
41-50	48 (34,3)
51-60	31 (22,1)
> 60	5 (3,6)
- Município de residência	
Salvador	111(79,3)
Interior do estado	29 (20,7)
- Ingestão de álcool	
Todos os dias	127 (90,7)
1-4 vezes por semana	5 (3,6)
Finais de semana	8 (5,7)
- Grau de escolaridade	
Nenhum	2 (1,4)
1ª a 4ª série	42 (30,0)
5ª a 8ª série	52 (37,2)
2º grau incompleto	19 (13,6)
2º grau completo	23 (16,4)
Nível Superior	2 (1,4)
- Renda Mensal	
≤ 1 salário mínimo	124 (88,6)
2 salários mínimos	11 (7,9)
3 salários mínimos	4 (2,8)
4 salários mínimos	1 (0,7)
- Aspectos sanitários e hábitos de vida	
Possui rede de esgoto (sim)	138 (98,6)
Ruas são pavimentadas (sim)	125 (89,3)
Coleta de lixo diariamente (sim)	133 (95,0)
Possui água encanada (sim)	132 (94,3)
Possui banheiro em casa (sim)	133 (95,0)
Consumo de água filtrada (sim)	65 (46,4)
**Anda descalço (sim)	41 (29,3)

* Média de idade ± SD (anos) 44,8± 9,8 / Variação da idade 26 ~ 75

** Dos 20,0% (28/140) de indivíduos alcóolicos infectados por *S. stercoralis* 46,4% (13/28) andavam descalços.

Dentre os métodos testados neste trabalho para o diagnóstico da infecção por *S. stercoralis*, o TF-Test® e o Coproplus®, métodos que vêm sendo utilizados na rotina dos laboratórios clínicos, apresentaram baixas sensibilidades, inferiores a 50%. (Tabela 3) A cultura em placa de ágar foi o método mais sensível, seguido do Baermann-Moraes e sedimentação espontânea. (Tabela 3)

Tabela 3- Comparação de ambos os métodos da Cultura em Placa de Ágar (CPA) e do Bearman-Moraes (BM) com outros métodos parasitológicos para o diagnóstico da infecção por *S. stercoralis*

Métodos	<i>S. stercoralis</i>				Sen. ² (%)	Kappa	IC 95%	Nível de Concordância
	Resultados positivos pelos métodos CPA + BM ¹			Total				
	Negativo	Positivo	Total					
CPA	Negativo	112	1	113	96,4%	0,977	(0,933- 1,000)	Excelente
	Positivo	0	27	27				
	Total	112	28	140				
Baermann- Moraes	Negativo	112	3	115	89,3%	0,930	(0,852-1,000)	Excelente
	Positivo	0	25	25				
	Total	112	28	140				
Sedimentação espontânea	Negativo	112	12	124	57,1%	0,681	(0,517- 0,844)	Moderada
	Positivo	0	16	16				
	Total	112	28	140				
TF-Test® ³	Negativo	112	15	127	46,4%	0,581	(0,399-0,763)	Moderada
	Positivo	0	13	13				
	Total	112	28	140				
Coproplus® ⁴	Negativo	112	17	129	39,3%	0,509	(0,318-0,699)	Moderada
	Positivo	0	11	11				
	Total	112	28	140				

¹ Comparação de ambos os métodos CPA e BM com cultura em placa de ágar, Baermann-Moraes, Sedimentação espontânea, Coproplus® e TF-Test® para o diagnóstico da infecção por *S. stercoralis* (p<0,05).

²Sensibilidade – foi calculada tomando como parâmetro a soma dos exames positivos na cultura em placa de ágar e no Baermann-Moraes, (100% de sensibilidade).

^{3,4} Comparação de cada método isolado com todos os demais métodos (p<0,05).

As sensibilidades dos métodos para detecção de *S. stercoralis* foram influenciadas pela carga parasitária. A CPA e o Baermann-Moraes, foram positivos para todas as 11 amostras quando o número de larvas foi entre 1 e 10 larvas / g fezes, enquanto que na sedimentação espontânea, a positividade só chegou a 100% quando o número de larvas variou de 51-500

larvas/g fezes. O Coproplus® e o TF-Test® atingiram 100% de positividade quando o número de larvas foi maior que 500 larvas /g fezes (Tabela 4).

A maioria dos pacientes alcoolistas positivos para *S. stercoralis* apresentou entre 51 e 500 larvas / g de fezes, três pacientes foram negativos pelo método de Baermann-Moraes e foram diagnosticados através da CPA (3/3), enquanto que um paciente apresentou resultado positivo para o Baermann-Moraes e negativo para a CPA.

Tabela 4- Positividade dos métodos para pesquisa de larvas de *S. stercoralis* de acordo com a carga parasitária, em amostras de fezes de pacientes alcóolicos infectados com *S. stercoralis* (n = 28).

Carga ^a Parasitária	% de positividade de acordo com os métodos (n)					
	TF-Test®	Coproplus®	SE	BM	CPA	Total
Não mensurável	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	100 (3/3)*	3
1-10	18,2 (2/11)	18,2 (2/11)	36,4 (4/11)	100 (11/11)	100 (11/11)	11
11-50	75,0 (3/4)	75,0 (3/4)	50,0 (2/4)	100 (4/4)	75,0 (3/4)	4
51-500	77,7 (7/9)	55,5 (5/9)	100 (9/9)	100 (9/9)	100 (9/9)	9
>500	100 (1/1)	100 (1/1)	100 (1/1)	100 (1/1)	100 (1/1)	1
Total de pacientes	13	11	16	25	27	28

*Diagnosticada apenas pela CPA

A Sedimentação espontânea atingiu a maior sensibilidade para a pesquisa de ovos de outros helmintos 55,5% (10/18). Os métodos de TF-Test® e Coproplus®, também foram os menos sensíveis para o diagnóstico dos outros helmintos. (Tabela 5)

Com relação aos protozoários, o TF-Test® foi o mais sensível com 62,2% (46/78), seguido do Coproplus® com sensibilidade de 43,2% (32/78). (Tabela 5)

Tabela 5- Sensibilidade dos métodos parasitológicos para detecção de helmintos (excluindo *S. stercoralis*) (n=18) e protozoários (n=74) em amostras de fezes de pacientes atendidos no Centro de Acolhimento e Tratamento de

Métodos	Protozoários	Sensibilidade	Helmintos	Sensibilidade
	n	(%)	n	(%)
* TF-Test®	46	62,2	4	22,2
*Coproplus®	32	43,2	2	11,1
Sedimentação espontânea Alcoolistas (CATA) em Salvador, Bahia.	18	24,3	10	55,5

A sensibilidade foi calculada tomando como parâmetro a soma dos exames positivos em todos os 4 métodos (100% de sensibilidade).

*Comparação da sensibilidade entre TF-Test® e Coproplus® em relação a sedimentação espontânea (p<0,05) dos resultados de três amostras de fezes, de cada paciente, colhidas em dias alternados.

7. DISCUSSÃO

Neste estudo foi observado que 58,5% dos pacientes alcoolistas estavam infectados com um ou mais parasitos intestinais. Embora a maioria dos pacientes tenha acesso a abastecimento de água tratada (94,3%) e rede de esgoto (98,6%), com índices superiores aos brasileiros – segundo o IBGE (2015),⁷¹ os pacientes alcóolicos são susceptíveis à infecção oral fecal, pela falta de higiene adequada, o que facilita a transmissão das enteroparasitoses.¹⁰ Para a infecção por *S. stercoralis* e por ancilostomídeo, cuja principal forma de infecção é a penetração das larvas filarióides através da pele, andar descalço, ter contato direto com o solo e com conteúdo infectado são as principais vias de transmissão.

Estes fatores também podem estar relacionados com os hábitos destes pacientes, já que 46,4% (13/28) relataram que andam descalços e não bebem água filtrada. A elevada frequência da infecção por *S. stercoralis* (20%) em pacientes alcóolicos está de acordo com os resultados descritos na literatura.^{10 39,64} Estudos anteriores realizados no laboratório de Pesquisa em Imunoparasitologia da Faculdade de farmácia da UFBA demonstraram elevadas frequências da infecção por *S. stercoralis* em pacientes alcoolistas, atendidos no Centro de Acolhimento e Tratamento de alcoolistas (CATA) das Obras Sociais Irmã Dulce, variando de 15,4 a 23,5%.¹⁰⁻¹²

Um total de 90,7% (127/140) dos pacientes alcoolistas relatou consumir bebida alcóolica todos os dias, sendo a cachaça a bebida de escolha de 90,0% (126/140), cujo teor alcóolico está entre 38 a 48%. A associação entre a infecção por *S. stercoralis* e o consumo crônico de álcool, representa um risco no desenvolvimento da estrogiloidíase grave, pois além de provocar alterações da morfologia intestinal, altera a resposta imune e aumenta o nível dos metabólicos dos corticosteroides, que são similares a ecdisona, hormônio parasitário que estimula a transformação de larvas rabaditoides em filarioides, elevando a carga parasitária e a autoinfecção interna.¹⁰

Neste estudo foi demonstrado que a maioria dos pacientes apresenta carga parasitária maior do que 10 larvas /g de fezes e 10 pacientes (37%) apresentaram entre 51-500 larvas/g de fezes, o que reflete uma elevada carga parasitária. Pelos resultados observados ao longo de mais de 10 anos na rotina laboratorial onde este estudo foi conduzido, a carga parasitária dos pacientes assintomáticos, portadores da infecção por *S. stercoralis* varia de 1 a 3 larvas por grama de fezes (dados não publicados).

Os métodos de diagnóstico parasitológicos para a infecção por *S. stercoralis* são limitados pela intermitência da liberação das larvas nas fezes, o que torna imprescindível à análise de mais de uma amostra em dias alternados,^{20,65} levando à necessidade do paciente comparecer ao laboratório várias vezes, o que nem sempre acontece. Alguns estudos

demonstram que a CPA é o método parasitológico mais sensível, chegando a alcançar 97% quando são analisadas três amostras de fezes.^{11,20}

Os nossos dados confirmam estes achados, demonstrando 96,4% de sensibilidade da CPA, quando comparado a outros métodos parasitológicos. Apesar da sua elevada sensibilidade, a CPA tem sido utilizada apenas em laboratórios de pesquisas, possivelmente, por ter um custo elevado, ser mais complexo e requerer maior tempo para liberação dos resultados. Atualmente, o diagnóstico da infecção por *S. stercoralis* na rotina laboratorial tem sido realizado por meio do método Baermann-Moraes, que também apresenta uma elevada sensibilidade, como foi demonstrado neste estudo (89,3%). No entanto, estes métodos são limitados pela necessidade de análise de amostras frescas e sem conservantes.

Novos métodos vêm sendo utilizados para o diagnóstico de infecção por enteroparasitos em substituição aos métodos clássicos como a Sedimentação Espontânea e o Baermann-Moraes, como TF-Test® e o Coproplus®,^{25, 66,67} embora estes métodos tenham sido pouco avaliados. Nesse estudo foi possível observar que o TF-Test® e o Coproplus® apresentaram baixas sensibilidades para o diagnóstico da infecção por *S. stercoralis*, 48,1 e 40,7%, respectivamente, sendo pela primeira vez demonstrada a comparação com o Coproplus®. A baixa sensibilidade destes métodos no diagnóstico da infecção por *S. stercoralis* pode ser explicada pelo uso de solução de formalina, o qual mata as larvas tornando o material inadequado para realização tanto da CPA quanto do Baermann-Moraes, que requerem a viabilidade das larvas. Gomes (2004) e Carvalho (2016) demonstraram uma maior sensibilidade do TF-Test® no diagnóstico da estrogiloidíase quando comparado aos métodos convencionais.

Entretanto, estes autores não compararam o TF-Test® com o BM e com a CPA. Carvalho (2012) demonstrou que a sensibilidade do TF-Test® e do BM foram similares, 37,5 e 41,7%, respectivamente, o que difere dos resultados encontrados no nosso estudo, em que a sensibilidade do BM (89,3%) foi cerca de duas vezes maior do que a do TF-Test® (46,4%) para o diagnóstico da infecção por *S. stercoralis*. Essa diferença de resultados se deu provavelmente, pelo fato de Carvalho (2012) ter avaliado três amostras no TF-Test® e apenas uma amostra nos demais métodos.

A elevação da sensibilidade dos métodos parasitológicos para o diagnóstico da infecção por *S. stercoralis* pode variar de acordo com a carga parasitária.^{11 68,69} Mesmo na faixa de carga parasitária de 1 a 10 larvas/g de fezes, a sensibilidade do BM e da CPA foi de 100%, enquanto de ambos TF-Test® e Coproplus® foi de apenas 18,2%, o que demonstra que estes métodos não são adequados para o diagnóstico da infecção por *S. stercoralis* na rotina

laboratorial, uma vez que a maioria dos pacientes apresenta uma baixa carga parasitária. Mesmo quando foram analisados indivíduos com uma carga parasitária elevada, entre 51 e 500 larvas/g de fezes, o Coproplus® e o TF-Test® alcançaram sensibilidades de apenas 55,5 e 77,7%, respectivamente, enquanto que a CPA, o BM e a sedimentação espontânea atingiram sensibilidade 100%.

Com relação ao diagnóstico de ovos de outros helmintos, os métodos TF-Test® e Coproplus® também apresentaram menor sensibilidade em relação à sedimentação espontânea. Das dezoito amostras positivas, apenas 22,2% (4/18) e 11,1% (2/18) foram diagnosticadas através dos métodos TF-Test® e Coproplus®, respectivamente. Estas sensibilidades podem estar relacionadas à retenção de ovos nos detritos fecais presos às membranas utilizadas nestes kits de diagnóstico. Por outro lado Carvalho (2012) e Carvalho (2016) demonstraram maior sensibilidade do TF-Test® em relação a outros métodos como sedimentação espontânea, Kato-Katz entre outros, o que difere dos nossos resultados. Provavelmente, por Carvalho (2012) ter avaliado três amostras no TF-Test® e apenas uma amostra nos demais métodos.

Quanto ao diagnóstico da infecção por protozoários, os métodos TF-Test® e Coproplus® foram os que demonstraram maiores sensibilidades, 62,2 e 43,2%, respectivamente, quando comparados à sedimentação espontânea. Esses resultados estão de acordo com resultados anteriores.^{26,70} No entanto, estudos comparando a sensibilidade destes métodos aos métodos parasitológicos convencionais ainda são escassos. O nosso estudo demonstra que a sensibilidade do TF-Test® foi maior do que a do Coproplus® ($p < 0,05$), possivelmente pelas diferenças nas metodologias. No TF-Test® as três amostras são analisadas de uma só vez, o que permite a concentração dos parasitos no mesmo sedimento, facilitando a visualização microscópica, enquanto que no Coproplus® as amostras são analisadas separadamente.

8. CONCLUSÃO

Neste trabalho foi possível observar uma elevada frequência da infecção por *S. stercoralis* nos pacientes alcoolistas (20%), possivelmente relacionada aos hábitos de vida destes indivíduos, que contribuem para maior susceptibilidade à infecção.

Dentre os métodos parasitológicos utilizados, a cultura em placa de ágar foi o mais sensível, seguido do Baermann-Moraes, destacando-se a baixa sensibilidade do TF-Test® e do Coproplus® para o diagnóstico da infecção por *S. stercoralis*. A carga parasitária influenciou no aumento da sensibilidade dos métodos TF-Test® e Coproplus®, enquanto que a CPA e o Baermann-Moraes apresentaram maior sensibilidades, mesmo em amostras com baixa carga parasitária.

Em relação ao diagnóstico da infecção por outros helmintos, a sedimentação espontânea foi o método mais sensível, enquanto que para os protozoários, os métodos TF-Test® e Coproplus® alcançaram maiores sensibilidades quando comparados à sedimentação espontânea.

Diante dos resultados observados neste estudo, tanto o TF-Test® quanto o Coproplus® não devem ser adotados como únicos métodos para diagnóstico parasitológico de fezes em laboratórios de rotina, pois as sensibilidades para o diagnóstico da infecção por *S. stercoralis* são muito baixas em infecções com carga parasitária de 1 a 10 larvas por g/fezes. Outra observação importante é que mesmo utilizando três amostras de fezes o emprego de mais de um método parasitológico, para a mesma amostra, é recomendado para elevar a sensibilidade diagnóstica, uma vez que nenhum método sozinho atingiu 100% de sensibilidade.

Sugere-se para rotina laboratorial no diagnóstico parasitológico o emprego de pelo menos três métodos. Contribuindo, assim, para maior confiança nos resultados e adequado entendimento da epidemiologia das doenças parasitárias no Brasil.

REFERÊNCIAS

- 1- GREAVES et al. *Strongyloides stercoralis* infection. **BMJ (Online)**, vol. 347, article f4610, 2013.
- 2- REQUENA-MENDEZ et al. The laboratory diagnosis and follow up of strongyloidiasis: a systematic review. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, vol. 7, no. 1, Article ID e 2002, 2013.
- 3- KHIEU et al. High Prevalence and Spatial Distribution of *Strongyloides stercoralis* in Rural Cambodia. **PLoS Negl Trop Dis** 8(6): e 2854, 2014.
- 4- BUONFRATE et al. Severe Anemia and Lung Nodule in an Immunocompetent Adopted Girl with *Strongyloides stercoralis* Infection. **Am J Trop Med Hyg.** p. 1051-1053, 2016.
- 5- ROMANO et al. Epidemiological Characteristics of Strongyloidiasis in Inhabitants of Indigenous Communities in Borneo Island, Malaysia. **The Korean journal of parasitology** p. 673-678, 2016.
- 6- PACHECO-TENZA et al., *Strongyloides stercoralis* infection in a Spanish regional hospital: Not just an imported disease. **Enferm Infecc Microbiol Clin.**, p.:24–28, Espanha, 2018.
- 7- GUEDES et al. Triple infection with HTLV-1, visceral leishmaniasis and strongyloidiasis complicated by acute pancreatitis. **GED gastroenterol. endosc. dig.** Brazil, p. 96-100, 2016.
- 8- GALEANO et al. Donor-derived *Strongyloides stercoralis* hyperinfection syndrome after simultaneous kidney/pancreas transplantation). **International Journal of Infectious Diseases** p. 19–21, 2016.
- 9- TACHAMO et al. Strongyloidiasis in the immunocompetent: an overlooked infection. **Journal Community Hosp. Intern. Med. Perspect.** p. 7;6 (4):32038, 2016.
- 10- SILVA et al. Association between *Strongyloides stercoralis* infection and cortisol secretion in alcoholic patients. **Acta Tropica**, p. 133–138, 2016.
- 11- SILVA et al. Influence of parasite load on the diagnosis and occurrence of eosinophilia in alcoholic patients infected with *Strongyloides stercoralis*. **Journal of Helminthology**, Brazil, 2017.
- 12- OLIVEIRA et al. Intestinal parasites and socioeconomic aspects of alcoholic patients. **Revista de Ciências Médicas e Biológicas**, v. 17, n. 3, p. 345-349, Salvador, 2018.
- 13- TEIXEIRA et al. *Strongyloides stercoralis* infection in alcoholic Patients, **BioMed Research International**, New York, v. 2016, p. 1-11, 2016.
- 14- CARROLL, S. M.; KARTHIGASU, K. T.; GROVE, D. I. Serodiagnosis of human strongyloidiasis by an enzyme-linked immunosorbent assay. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, p. 706–709, 1981.

- 15- KEISER, P. B.; NUTMAN, T. B. *Strongyloides stercoralis* in the Immunocompromised Population. **Clinical Microbiology Reviews**, Washington, p. 208–217, 2004.
- 16- MARCOS et al. Strongyloides hyperinfection syndrome: an emerging global infectious disease. **Transactions of The Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, Filadélfia,, p. 314–318, 2008.
- 17- MARCOS et al. Update on Strongyloidiasis in the Immunocompromised Host. **Current Infectious Disease Reports**, Londres, p. 35–46, 2011.
- 18- LAM et al. Disseminated strongyloidiasis: a retrospective study of clinical course and outcome. **Eur J Clin Microbiol Infect Dis**. p. 14-8, 2006.
- 19- MEJIA, R.; NUTMAN, T. B. Screening, prevention, and treatment for hyperinfection syndrome and disseminated infections caused by *Strongyloides stercoralis*. **Current opinion in infectious diseases**, Londres, p. 458–463, 2012.
- 20- INÊS et al. Efficacy of parasitological methods for the diagnosis of *Strongyloides stercoralis* and hookworm in faecal specimens. **Acta Tropica**, v. 120, p. 206-210, 2011.
- 21- MELLO et al. HTLV-1 in pregnant women from the Southern Bahia, Brazil: a neglected condition despite the high prevalence. **Virology Journal**, Londres, p. 28, 2014.
- 22- PAULA et al. Diagnosis of *Strongyloides stercoralis* infection in immunocompromised patients by serological and molecular methods. **Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo**, p. 58:63, 2016.
- 23- GOMES et al. Toward automation of the diagnosis of enteroparasitosis via computational image analysis. **Medimond s.r.l., Pianoro** p. 169-174, 2010.
- 24- CARVALHO 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 parasitoses. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, 107 (1):80-4., 2012.
- 25- REBOLLA M. F. Inquérito parasitológico, comparação de técnicas de diagnóstico fecal, controle e prevenção de *Giardia* em creches e pré-escolas, São Sebastião da Gramma, São Paulo. (Dissertação de Mestrado) - Universidade Estadual de Campinas / UNICAMP – Instituto de Biologia), 2012.
- 26- CARVALHO et al. TF-Test Modified: New Diagnostic Tool for Human Enteroparasitosis. **Journal of clinical laboratory analysis**, p. 293-300, 2016.
- 27- GONÇALVES et al. Estudo comparativo de técnicas parasitológicas de sedimentação espontânea: kit comercial Coproplus®10 e método de Hoffman, Pons e Janer-HPJ. **Revista iniciação científica** p. 124-129, 2016.
- 28- BUONFRATE et al Accuracy of five serologic tests for the follow up of *Strongyloides stercoralis* infection. **PLoS Negl. Trop. Dis.**, p. e 0003491, 2015.

- 29- DE SOUZA et al. *Strongyloides stercoralis* infection in patients with systemic lupus erythematosus: diagnosis and prevention of severe strongyloidiasis. **Int J Rheum Dis**, p. 700-5, 2015.
- 30- GOTTARDI et al. Imunofluorescência para o diagnóstico da estrogiloidíase em pacientes imunocomprometidos. **Infect Dis (Lond)**, p. 550-4, 2015.
- 31- VAN DOORN et al. Use of enzyme-linked immunosorbent assay and dipstick assay for detection of *Strongyloides stercoralis* infection in humans. **J. Clin. Microbiol.** p. 438-42, 2007.
- 32- SORIANO-ARANDES et al., Discordances Between Serology and Culture for *Strongyloides* in an Ethiopian Adopted Child With Multiple Parasitic Infections. **Journal Medicine (Baltimore)**, 95(10): e3040, 2016.
- 33- GROVE DI. A history of human helminthology. Willingford: CAB International, p. 848.28, 1990.
- 34- BOSQUI et al., Ocorrência de *Strongyloides stercoralis* e demais enteroparasitos em indivíduos provenientes de municípios da região norte do Paraná, Brasil. **Biosaúde**, Londrina, v. 16, n. 1, 2010.
- 35- BENINCASA et al. *Strongyloides Stercoralis* hyperinfection syndrome: case report. **Revista Brasileira de Terapia Intensiva**, Rio de Janeiro, v. 19, n. 1, p. 128-131, 2007.
- 36- VADLAMUDI et al. Intestinal strongyloidiasis and hyperinfection syndrome. **Clinical and Molecular Allergy**, v. 4, p. 8, 2006.
- 37- DE SOUZA, J. N. Infecção por *S. stercoralis* em pacientes imunocomprometidos. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Farmácia, Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2013.
- 38- FIGUEIRA et al. *Strongyloides stercoralis* hyperinfection associated with impaired intestinal motility disorder. **Autopsy Case** p. 27-34 2015.
- 39- OLIVEIRA et al. Frequency of *Strongyloides stercoralis* infection in alcoholics. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 97, p. 119-121, 2002.
- 40- ZAGO-GOMES et al. Prevalence of intestinal nematodes in alcoholic patients. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 35, p. 571-574, 2002.
- 41- MARQUES et al. Alcoholism and *Strongyloides stercoralis*: daily ethanol ingestion has a positive correlation with the frequency of *Strongyloides* larvae in the stools. **PLoS neglected tropical diseases**, São Francisco, p. 717, 2010.
- 42- KUYARE et al., *Strongyloides stercoralis* and its risk factors: an experience at a tertiary care hospital. **J. Evolution Med. Dent.** p. 3199-3202, 2016.
- 43- MENDES et al., Strongyloidiasis Current Status with Emphasis in Diagnosis and Drug Research. **Journal of Parasitology Research**, 2017.

- 44- ADDOLORATO et al. Influence of alcohol on gastrointestinal motility: lactulose breathe hydrogen testing in orocecal transit time in chronic alcoholics, social drinkers and teetotaler subjects. **Hepatogastroenterology**. v. 44, p. 1076-1081, 1997.
- 45- CABRAL et al, Clinical conditions associated with intestinal strongyloidiasis in Rio de Janeiro. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, p. 321-325 Brasil, 2015.
- 46- PAULA F.M., Costa-Cruz J.M.. Epidemiological aspects of strongyloidiasis in Brazil. *Parasitology*.; 138(11):1331-40, 2011.
- 47- TOLEDO et al., Avaliação de atividades de controle para enteroparasitos em uma aldeia Kaingáng do Paraná. **Rev. Saúde Pública** p. 43(6), Brasil, 2009.
- 48- BUONFRATE et al., Novel approaches to the diagnosis of *Strongyloides stercoralis* infection. **Clin Microbiol Infect**; 21(6):543–52, 2015.
- 49- SOUZA et al., *Strongyloides stercoralis* infection in patients with systemic lupus erythematosus: diagnosis and prevention of severe strongyloidiasis. **International Journal of Rheumatic Diseases**, p. 700–705, Brasil, 2016.
- 50- HEILEGEBRIEL et al., Evaluation of Parasitological Methods for the Detection of *Strongyloides Stercoralis* among Individuals in Selected Health Institutions in Addis Ababa. **J Health Sci**. p. 27(5):515, Ethiopia, 2017.
- 51- ARAKAKI et al. Efficacy of agar-plate culture in detection of *Strongyloides stercoralis* infection. **Journal of Parasitology**, v. 76, p. 425-428, 1990.
- 52- INÊS et al. Otimização da recuperação de larvas filarióides de *S. stercoralis* para obtenção de antígenos. **Revista de Ciências Médicas e Biológicas**, Salvador, v.11, n.2, p.149-153, 2012.
- 53- ASSIS et al. Prevalence of intestinal parasites in the Maxakali indigenous community in Minas Gerais, Brazil, 2009. **Caderno de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 29, n. 4, p. 681-690, 2013.
- 54- DE KAMINSKY, R. G. Evaluation of three methods for laboratory diagnosis of *Strongyloides stercoralis* infection. **The Journal of Parasitology**, v. 79, n. 2, p. 277-280, 1993.
- 55- SATO et al. Efficacy of stool examination for detection of *Strongyloides stercoralis* infection. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v.53, n.3, p.248-250, 1995.
- 56- SIDDIQUI, A.; BERK, S. Diagnosis of *Strongyloides stercoralis* infection. **Clinical Infectious Diseases**, v. 33, p. 1040-1047, 2001.
- 57- COSTA-CRUZ et al. Heterologous antigen extract in ELISA for the detection of human IgE anti-*Strongyloides stercoralis*. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 45, n. 5, p. 265-268, 2003.

- 58- DE PAULA et al. Parasitological and immunological diagnoses of strongyloidiasis in immunocompromised and non-immunocompromised children at Uberlândia, State of Minas Gerais, Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 42, n. 1, p. 51-55, 2000.
- 59- VAN DOORN et al. Use of enzyme-linked immunosorbent assay and dipstick assay for detection of *Strongyloides stercoralis* infection in humans. **J. Clin. Microbiol.** p. 438-42, 2007.
- 60- SCHÄR et al. Evaluation of real-time PCR for *Strongyloides stercoralis* and hookworm as diagnostic tool in asymptomatic schoolchildren in Cambodia. **Acta Trop** 126: 89–92, 2013.
- 61- MEURS et al. Diagnosing Polyparasitism in a High-Prevalence Setting in Beira, Mozambique: Detection of Intestinal Parasites in Fecal Samples by Microscopy and Real-Time PCR. **PLOS Neglected Tropical Disease** DOI:10.1371/journal.pntd.0005310, 2017.
- 62- KOGA et al. A modified agar plate method for detection of *Strongyloides stercoralis*. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 45, n. 4, p. 518-521, 1991.
- 63- LANDIS, J. R., KOCH, G.G. The measurement of observer agreement for categorical data. **Biometrics**. 1977; 33: 159-74.
- 64- GABURRI et al. Intestinal parasitosis and hepatic cirrhosis. **Arquivos de Gastroenterologia**, São Paulo, v.34, p.7-12, 1997.
- 65- SOUZA et al., *Strongyloides stercoralis* infection in patients with systemic lupus erythematosus: diagnosis and prevention of severe strongyloidiasis. **International Journal of Rheumatic Diseases**, p. 700–705, Brasil, 2016.
- 66- GOMES, J. F. Avaliação de um novo Kit (TF-Test) nacional destinado ao diagnóstico de enteroparasitoses em amostras fecais. Dissertação (Mestrado) - Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas, 2004.
- 67- GOMES, J. F.; SHIMIZU, S. H.; FALCÃO, A. X. Recentes Avanços Tecnológicos no Exame Parasitológico de Amostras de Fezes. Bio Farma: **Revista técnica científica de Farmácia, Bioquímica e análises clínicas e toxicológicas**, Curitiba, v.3, n.6, p. 44-53, 2008.
- 68- SCHÄR et al. *Strongyloides stercoralis* larvae excretion patterns before and after treatment. **Parasitology**, v. 141, p. 892-897, 2014.
- 69- INTAPAN et al. Comparison of the quantitative formalin ethyl acetate concentration technique and agar plate culture for diagnosis of human strongyloidiasis. **Journal Clinical Microbiology**, v. 43, n. 4, p.1932-1933, 2005.
- 70- FREGONESI, M. B. Prevalência de parasitas emergentes e reemergentes de veiculação hídrica em crianças que vivem com HIV/aids: ênfase para *Giardia spp.* e *Cryptosporidium spp.* Dissertação (Mestrado)- Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto, 2013.

71- IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. 2015. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/> Acesso em: 02 ago. 2018.

ANEXO A - QUESTIONÁRIO SOCIOECONÔMICO E SANITÁRIO

UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
FACULDADE DE FARMÁCIA

Nome: _____ OS: _____
Data de Nascimento: ____/____/____ Idade: _____
Gênero: () Masculino () Feminino Bairro: _____
Endereço: _____ Município: _____

- ASPECTOS SOCIOECONÔMICOS E SANITÁRIOS

1. Qual o seu grau de escolaridade?

- () Nenhum () 5ª a 8ª série () 2º grau completo
() 1ª a 4ª série () 2º grau incompleto () Superior

2. Qual a renda familiar total?

- () < 1 salário mínimo () 2 salários mínimos
() 3 salários mínimos () 4 salários mínimos () mais de 4 salários mínimos

3. De onde vem a água para beber e cozinhar?

- () Água encanada () Tanque () Rio () Barragem
() Poço () Outro _____

4. Ferve ou filtra a água antes de beber? () Sim () Não () Água mineral

5. Aspectos sanitários:

Possui rede de esgoto no local onde mora? () Sim () Não

As ruas possuem pavimentação? () Sim () Não

Tem banheiro com sanitário? () Sim () Não

Tem fossa? () Sim () Não

Tem pia de mão no banheiro? () Sim () Não

6. A coleta de lixo é feita de que forma:

- () Diariamente () Todo o lixo é coletado () Lixo queimado
() Semanalmente () Lixo acumulado nas ruas () Outros
() Não existe () Lixo acumulado no quintal
() Lixo desprezado sem sacos () Lixo desprezado em sacos

- ASPECTOS CLÍNICOS

1. Você faz uso de algum medicamento, qual?

() Não () Sim _____

- Verificar se faz uso de corticoide/ imunossupressor. () Sim () Não

2. Atualmente você fuma? () Sim () Não () Ex-fumante

- Se fumante ou ex-fumante, qual o tempo? _____

3. Você costuma fazer uso de bebidas alcoólicas? () Sim () Não

- Se faz uso crônico, há quanto tempo? _____

4. Com que frequência você geralmente ingere alguma bebida alcoólica?

- () Todos os dias () 1-4 vezes/ semana () Finais de semana
() 1-3 vezes/ mês () Menos que uma vez/ mês
() Menos que uma vez/ ano () Não bebe

5. Nos dias em que você ingere bebida alcoólica, qual a bebida e em que quantidade você geralmente consome por dia?
(uma unidade é igual a uma lata, uma garrafa ou um copo grande)

() Cerveja () Cachaça () Vodka () Outras _____

Quantidade consumida _____

6. Você ingeriu bebida alcoólica hoje ou ontem? () Sim () Não

DATA: ____/____/____ ENTREVISTADOR: _____ Horário da coleta: _____

ANEXO B: TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO



UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
FACULDADE DE FARMÁCIA
 Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas
 Laboratório de Pesquisa em Parasitologia
 Tel.: (71) 3283-6950; 3283-6954

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE)

Instituição: Laboratório de Pesquisa em Parasitologia da Faculdade de Farmácia – Universidade Federal da Bahia – Salvador, Bahia, Brasil.

Convidamos o (a) Sr (a) para participar da pesquisa “**Associação entre a infecção por *Strongyloides stercoralis* e a produção de cortisol induzida pelo álcool: diagnóstico da estrogiloidíase e identificação de biomarcadores das alterações imunes e metabólicas**”, sob a responsabilidade da pesquisadora Dr^aNeci Matos Soares, a qual pretende realizar o diagnóstico da infecção por *Strongyloides stercoralis* e estudar a associação entre esta infecção e os níveis de cortisol induzido pelo uso excessivo de álcool, além de caracterizar as alterações imunes e metabólicas através de marcadores biológicos.

Sua participação é voluntária e se dará por meio de doação de sangue e fezes e pelo preenchimento de um questionário socioeconômico. Este estudo pode contribuir para melhorar a saúde da população, além de lhe proporcionar uma avaliação mais completa do seu estado de saúde. Todos os dados obtidos através desta pesquisa irão retornar para o senhor (a) em forma de laudos médicos, o que poderá auxiliar no seu tratamento. Porém, a sua participação pode trazer algum risco ou desconforto para a sua pessoa, tais como hematomas ou dor na região de coleta de sangue. Este risco no procedimento de coleta das amostras será minimizado através de orientações adequadas e profissionais experientes na realização do procedimento.

Se depois de consentir em sua participação o Sr (a) desistir de continuar participando do estudo, tem o direito e a liberdade de retirar seu consentimento em qualquer fase da pesquisa, seja antes ou depois da coleta dos dados, independente do motivo e sem nenhum prejuízo a sua pessoa. O (a) Sr (a) não terá nenhuma despesa e também não receberá nenhuma remuneração. A sua identidade será mantida em sigilo, em conformidade ao princípio da confidencialidade. Caso tenha qualquer dúvida, o (a) Sr (a) poderá entrar em contato com o pesquisador no endereço Rua Barão do Jeremoabo, n° 147, Ondina - Salvador, Bahia - Brasil, CEP 40.170-115 - telefone (71) 3283-6950 (Laboratório de Pesquisa em Parasitologia da Faculdade de Farmácia- Universidade Federal da Bahia – LACTFAR/UFBA), ou poderá entrar em contato com os Comitês de Ética em Pesquisa (CEP) da Escola de Enfermagem da UFBA (rua Augusto Viana, s/n, sala 435 - Canela - Salvador, Bahia - Brasil - telefone: (71) 3283-7615) ou das Obras Sociais Irmã Dulce (OSID)(Avenida Bonfim, 161 Largo de Roma, Salvador – Bahia, telefone: (71) 3310-1335).

Consentimento livre e esclarecido (TCLE)

Eu, _____, fui informado sobre o que o pesquisador quer fazer e porque precisa da minha colaboração e entendi a explicação. Por isso, eu concordo em participar do projeto, sabendo que não vou ganhar nada e que posso sair quando quiser. Este documento é emitido em duas vias que serão ambas assinadas por mim e pelo pesquisador, ficando uma via com cada um de nós.

Assinatura do voluntário ou seu responsável legal

Impressão Datiloscópica



Assinatura do orientador responsável

Assinatura do aluno (a) pesquisador

APÊNDICE - COMITÊ DE ÉTICA

ESCOLA DE ENFERMAGEM DA UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA



Continuação do Parecer: 367.464

As amostras de soros também serão utilizadas para pesquisa de IgG, IgE e IgA totais, determinações bioquímicas, dosagem de citocinas, cortisol, marcadores de alterações hepáticas e lipídicas, através de Kits disponíveis no comércio, além da atividade da PON determinada indiretamente pelo método colorimétrico da formação do pnitrofenol, a partir da utilização do paraoxon. A funcionalidade do HDL será avaliada pela incorporação de colesterol livre e esterificação do colesterol. A avaliação hematológica será realizada através do hemograma, dosagem de ferro sérico, ferritina, ácido fólico e vitamina B12.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

Realizar o diagnóstico da infecção por *Strongyloides stercoralis* e estudar a associação entre esta infecção e os níveis de cortisol, induzido pelo uso excessivo de álcool, além de caracterizar as alterações imunes metabólicas através de marcadores biológicos.

Objetivo Secundário:

- Conhecer a frequência da infecção por *S. stercoralis* em pacientes alcoólicos atendidos no Centro de Acolhimento e Tratamento de Alcoolistas (CATA), pertencente às Obras Sociais Irmã Dulce, através do diagnóstico parasitológico e imunológico;
- Padronizar os ELISAs para detecção de anticorpos anti-*S. stercoralis* utilizando antígenos de superfície excretado/secretado e obtido por digestão enzimática de *S. venezuelensis* e comparar as suas sensibilidades e especificidades com o ELISA utilizando antígeno bruto;
- Caracterizar as moléculas imunodominantes dos antígenos de superfície de *S. venezuelensis* através do Western blotting; -Avaliar a associação entre a infecção por *S. stercoralis* e os níveis de cortisol endógeno em pacientes alcoólicos e não alcoólicos; -Estudar o perfil das citocinas circulantes (IFN- γ , IL-1 β , IL-4, IL-5, IL-6, TGF- β e IL-10) nos pacientes portadores da comorbidade infecção por *S. stercoralis* e alcoolismo e nos grupos controles;
- Identificar o perfil lipídico, a atividade da paraoxonase, a funcionalidade do HDL e as alterações das enzimas hepáticas nos pacientes alcoólicos, infectados ou não com *S. stercoralis*;
- Caracterizar as alterações hematológicas para diferenciação da anemia por deficiência de ferro, da anemia megaloblástica nos pacientes infectados por *S. stercoralis* e por outros helmintos.

Endereço: Rua Augusto Viana S/N 3º Andar
Bairro: Canela CEP: 41.110-060
UF: BA Município: SALVADOR
Telefone: (71)3283-7615 Fax: (71)3283-7615 E-mail: cepee.ufba@ufba.br

ESCOLA DE ENFERMAGEM DA
UNIVERSIDADE FEDERAL DA
BAHIA



Continuação do Parecer: 367.464

SALVADOR, 21 de Agosto de 2013

Darci Oliveira Santa Rosa

Assinador por:

DARCI DE OLIVEIRA SANTA ROSA
(Coordenador)

Endereço: Rua Augusto Viana S/N 3º Andar
Bairro: Canela CEP: 41.118-060
UF: BA Município: SALVADOR
Telefone: (71)3283-7615 Fax: (71)3283-7615 E-mail: cepee.ufba@ufba.br



Instituto de Ciências da Saúde Programa de Pós-Graduação
Processos Interativos dos Órgãos e Sistemas
Avenida Reitor Miguel Calmon s/n - Vale do Canela. CEP: 40110- 100
Salvador, Bahia, Brasil.