

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOLOGIA
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

**Avaliação parasitológica, imunológica e epidemiológica da estrogiloidíase em
cães e em seus tratadores, na cidade de Uberlândia – MG**

ANA LÚCIA RIBEIRO GONÇALVES

Uberlândia – MG

Julho – 2005

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOLOGIA
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

**Avaliação parasitológica, imunológica e epidemiológica da estrogiloidíase em
cães e em seus tratadores, na cidade de Uberlândia – MG**

ANA LÚCIA RIBEIRO GONÇALVES

PROF^a. DR^a. JULIA MARIA COSTA-CRUZ

Orientadora

**Monografia apresentada à coordenação
do Curso de Ciências Biológicas, da
Universidade Federal de Uberlândia
para a obtenção do grau de Bacharel em
Ciências Biológicas.**

Uberlândia – MG

Julho – 2005

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOLOGIA
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

**Avaliação parasitológica, imunológica e epidemiológica da estrogiloidíase em
cães em seus tratadores, na cidade de Uberlândia – MG**

ANA LÚCIA RIBEIRO GONÇALVES

Aprovado pela Banca Examinadora em ___ / ___ / ___

Nota: _____

Julia Maria Costa Cruz

Profª. Drª. Julia Maria Costa Cruz
Membro nato da banca examinadora

Gleyce Alves Machado

Profª. MSc. Gleyce Alves Machado
Segundo membro da banca examinadora

Rosângela Maria Rodrigues

Profª. MSc. Rosângela Maria Rodrigues
Terceiro membro da banca examinadora

Uberlândia, 08 de Julho de 2005

Dedico
A DEUS e aos amores de
minha vida: Lúcio & Joana

AGRADECIMENTOS

A DEUS, pai sublime de bondade, a minha eterna gratidão por ter permitido que eu chegasse até o fim.

Aos meus pais, Lúcio Carlos Gonçalves e Joana D'arc Ribeiro Gonçalves. Sem vocês, eu não estaria aqui; tudo o que fizeram, torna-se humanamente impossível de agradecer com palavras.

Ao meu querido e amado irmão Leonardo Ribeiro Gonçalves, por ter incentivado meu crescimento e compartilhado alegrias e tristezas, mesmo que à distância...

À minha orientadora, Prof^ª. Dr^ª. Julia Maria Costa-Cruz – meu exemplo de profissionalismo e competência. É inexplicável, a alegria que senti ao conceder a orientação deste trabalho. Que DEUS ilumine sempre seus caminhos!

À querida amiga Prof^ª. Idessania Nazareth Costa, quem abriu-me as portas do “universo da Parasitologia” e permitiu que eu construísse minha própria história. Essa vitória é apenas um fruto de sua frondosa árvore.

Aos familiares que suportaram a ausência e mesmo assim, foram meu porto seguro.

À todos os professores da graduação, por compartilhar comigo os seus conhecimentos, em especial às professoras Dr^ª. Márcia Cristina Cury, por ensinar as bases da Parasitologia e Dr^ª. Ana Maria de Oliveira Cunha, por ter ampliado a minha visão de pesquisa científica.

Às professoras Gleyce Alves Machado e Rosângela Maria Rodrigues, por terem aceitado o convite para participar da banca examinadora e pelas trocas de experiência e conselhos na rotina do laboratório.

Aos funcionários do Laboratório de Parasitologia, pelo auxílio técnico, pela amizade e companheirismo. Obrigada pela carinhosa receptividade de todas as manhãs. Agradeço em especial, Maria do Rosário de Fátima Gonçalves-Pires e Maria das Graças Marçal; sem vocês muitos resultados tornariam ainda mais difíceis.

Ao Médico Veterinário Álvaro Ferreira Júnior, por ter contribuído na elaboração do projeto e na colheita de amostras dos cães.

Aos funcionários do ICBIM, Jorge Andrade Rodrigues e Antônio Tomaz Júnior, por não medirem esforços para que as colheitas tornassem possíveis...Quanta descontração, hein?!

Às amigas de laboratório, Marianna Manhani Nascimento e Camila Siqueira Silva, que muitas vezes ajudaram-me na leitura das lâminas.

À Edmar Donizete Mundin, do Laboratório de Análises Veterinárias do Triângulo, pela ajuda na colheita e conservação das amostras de soro humano.

Aos amigos da 55ª. Turma de Ciências Biológicas, pelos momentos de descontração, trabalhos em grupo, aulas de campo. Quantas lembranças!!! Em especial, aos componentes do LVVDC (Luau, Voz, Vinho, Violão e Discussão Científica), por possibilitarem as vivências grandiosas que tivemos e pelo laço de amizade que construímos.

Aos queridos amigos da Greenville e seus agregados especiais – Marcelo Augusto Lima Elmi, Betânia Martins de Carvalho Ferreira, Rubens Jacinto da Silva Júnior, Tânia Cristina Lima e Leonardo Cardoso Maia Ribeiro, pela harmoniosa convivência, cumplicidade, carinho e respeito. “Quantas histórias, lembranças de infância, jogos, aniversários, filmes, festas, risadas...”

À companheira Angélica de Oliveira Gomes, por ter compartilhado tantos momentos e ter me ensinado a conviver com as diferenças. Uma sintonia perfeita para trabalhos em dupla!

Aos amigos distantes da turma e àqueles que conquistaram-me pelo carisma, tornando os momentos ainda mais felizes.

Às pessoas, que mesmo no anonimato, tornaram esse trabalho possível. São elas que fazem a Ciência caminhar para o bem de toda a humanidade.

Enfim, meus sinceros agradecimentos à todos que fizeram parte da minha história e conquistaram seus espaços no meu coração, pois o homem que escreve seu nome numa pedra, o tempo dará conta de apagá-lo. Porém, aquele que deixa suas marcas no coração humano, se perpetuará pela descendência da espécie...

RESUMO

Strongyloides stercoralis é um parasito de áreas tropicais e subtropicais, cuja avaliação parasitológica é difícil, assim, a detecção de anticorpos específicos pode contribuir auxiliando o diagnóstico. **Objetivos:** Verificar em cães e em seus tratadores a ocorrência de infecção por *S. stercoralis* pelos métodos de Baermann-Moraes e de Lutz em amostras de fezes e detectar anticorpos específicos em amostras de soro pela reação de imunofluorescência indireta (RIFI), utilizando antígeno particulado e pelo teste imunoenzimático (ELISA), usando extrato salino de *S. stercoralis*. **Material e Métodos:** Analisou-se 181 cães (idade entre dois meses e sete anos) e 11 tratadores (idade entre 23 e 61 anos), procedentes dos cinco distritos sanitários de Uberlândia, no período de Janeiro de 2004 a Junho de 2005. Considerou-se positivos títulos ≥ 40 e ≥ 80 respectivamente para cães e humanos na RIFI e Índice ELISA > 1 para as duas populações. Como critério de positividade, considerou-se pelo menos uma das duas reações positivas. **Resultados:** Foram detectados 66 (36,5%) cães com algum tipo de parasito, sendo que um (0,6%) cão (distrito Sul) apresentou larvas de *S. stercoralis* nas fezes. Nos tratadores, 1 (9,1%) foi positivo nas fezes, apresentando ancilostomídeos. Do total de cães avaliados, os resultados imunológicos mostraram 46 (25,4%) soropositivos, sendo 27 (14,9%) do distrito Leste, 8 (4,4%) do Oeste, 1 (0,6%) do Norte, 9 (5,0%) do Sul e 1 (0,6%) do Central. Dentre os tratadores, 3 (27,3%) indivíduos foram reagentes. Não houve variância estatisticamente significativa no diagnóstico parasitológico entre os distritos e também entre os parasitos diagnosticados. Nos testes imunológicos dos cães, houve variância estatisticamente significativa entre 4 distritos. As informações epidemiológicas possibilitaram a construção do perfil das condições higiênico-sanitárias dos canis. **Conclusão:** Concluiu-se que houve baixa ocorrência da estrogiloidíase em cães e em seus tratadores, pelos métodos parasitológicos na cidade de Uberlândia, Minas Gerais e que os testes imunológicos contribuem para o diagnóstico da estrogiloidíase canina e humana.

Palavras-chave: *Strongyloides stercoralis*, enteroparasitos, coproparasitológico, imunodiagnóstico, epidemiologia.

SUMÁRIO

1 – Introdução -----	1
1.1 – Histórico e Classificação -----	2
1.2 – Aspectos morfo-biológicos de <i>Strongyloides stercoralis</i> -----	3
1.3 – Aspectos epidemiológicos da estrogiloidíase -----	6
1.4 – Aspectos clínicos da estrogiloidíase -----	8
1.5 – Métodos diagnósticos da estrogiloidíase -----	9
2 – OBJETIVOS -----	11
3 – MATERIAL E MÉTODOS -----	12
3.1 – Aspectos éticos -----	12
3.2 – Local de estudo -----	12
3.3 – População de estudo -----	13
3.4 – Aspectos epidemiológicos -----	15
3.5 – Obtenção das amostras de fezes -----	15
3.6 – Métodos parasitológicos -----	16
3.7 – Obtenção das amostras de soro -----	17
3.8 – Obtenção das larvas filarióides (L3) -----	18
3.9 – Obtenção de antígeno de <i>S. stercoralis</i> para reação de imunofluorescência indireta (RIFI) -----	19
3.10 – Obtenção de antígeno salino de <i>S. stercoralis</i> para teste imunoenzimático (ELISA) -----	20
3.11 – Testes imunológicos -----	20
3.12 – Análise Estatística -----	22
3.13 – Normas de Biossegurança -----	23
3.14 – Retorno à comunidade -----	23
4 – RESULTADOS -----	24
4.1 – Diagnóstico Parasitológico -----	24
4.2 – Diagnóstico Imunológico -----	30
4.3 – Dados epidemiológicos -----	31
5 – DISCUSSÃO -----	38
6 – CONCLUSÕES -----	41
7 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS -----	42
8 – ANEXOS -----	50

1- INTRODUÇÃO

Strongyloides stercoralis é um nematódeo que infecta grande parte da população mundial, com predominância em regiões tropicais e subtropicais, podendo ser encontrado esporadicamente em regiões temperadas. A doença é denominada estrogiloidíase e quando limitada ao trato gastro-intestinal geralmente é assintomática. A hiperinfecção, assim como a invasão sistêmica do parasito em seu estágio de larva, pode ocorrer, evoluindo para óbito em indivíduos com desnutrição protéico-calórica, neoplasias, transplante renal, lupus eritematoso sistêmico, presença de vírus da imunodeficiência humana (HIV), síndrome da imunodeficiência adquirida (SIDA), tuberculose ou recebendo tratamento com drogas imunossupressoras (GOMPELS et al., 1991; FERREIRA et al., 1999; NOZAIS et al., 2001; SIDDIQUI; BERK, 2001; OLIVEIRA et al., 2002; KEISER; NUTMAN, 2004; SAFDAR et al., 2004).

Embora a estrogiloidíase tenha maior prevalência em áreas tropicais e subtropicais, a infecção pode ocorrer em residentes e migrantes de países desenvolvidos, em viajantes e veteranos (CELEDON et al., 1994; ATKINS et al., 1999).

Esta helmintose tem distribuição mundial heterogênea, em áreas de predileção no sudoeste da Ásia, Brasil, Colômbia, Sul dos Apalaches, Leste Europeu, Oeste da África e algumas ilhas do Caribe. Três regiões mundiais foram definidas de acordo com a prevalência da infecção: esporádica (<1%), endêmica (1-5%) e hiperendêmica (>5%). Na Europa, a infecção prevalece em agricultores, hortigranjeiros e trabalhadores rurais, e nos países tropicais, a doença atinge principalmente crianças pela frequente permanência em solos contaminados (PIRES; DREYER, 1993; RODRIGUEZ et al., 2001; COSTA-CRUZ, 2000).

Na América Latina há relatos sobre a estrogiloidíase, como na Argentina onde Taranto, Fillipi, Orione (1993) demonstraram prevalência de 83,3% para esta helmintose e na cidade de Puerto Maldonado, região Sudeste do Peru, onde foi constatado que a estrogiloidíase é um importante problema de saúde pública afetando principalmente crianças e idosos residentes em áreas urbana e periurbana (EGIDIO; DE DIEGO; PENIN, 2001).

1.1 - Histórico e Classificação

O parasito intestinal *S. stercoralis* foi primeiro observado pelo médico francês Louis Normand em 1876, na cidade de Toulon – França, quando examinava fezes diarréicas de soldados franceses que serviram na Conchinchina, atual Vietnã. Bavay (1876), farmacêutico e colaborador de Normand, classificou as formas encontradas nas fezes como *Anguillula stercoralis* (latim “Änguillula” = pequena enguia ou peixe longo e “stercus” = esterco) e como *A. intestinalis* as presentes na luz intestinal de indivíduos necropsiados (GROVE, 1996).

Grassi, Parona e Parona em 1879, redescreveram o parasito, denominando o gênero *Strongyloides* e definindo as diferenças entre as larvas rabditóides deste e as larvas de *Ancylostoma*. Em 1882, Leuckart apoiando as idéias de Grassi, demonstrou que as espécies *A. stercoralis* e *A. intestinalis* eram um só parasito, que ele descreveu como *Rhabdonema stercoralis*. Em 1902, Stiles e Hassalll determinaram definitivamente o nome *Strongyloides stercoralis* (grego “Strongylos” = arredondado ou esférico) (GROVE, 1996).

O nematódeo *Strongyloides* sp, pertence ao reino Animalia, sub-reino Metazoa, filo Nematelminthes, classe Nematoda, subclasse Rhabditia, ordem ou superfamília Rhabdiasoidea, família Strongyloididae (REY, 2001). O gênero *Strongyloides* apresenta 52 espécies das quais somente duas tem importância clínica para o homem: *S. stercoralis* (descrito por Bavay em 1876) e *S. fuelleborni*. A primeira espécie tem distribuição mundial,

especialmente nas regiões tropicais, podendo também infectar cães, gatos e macacos e a segunda, é encontrada na África e nas Filipinas (PIRES; DREYER, 1993).

O interesse por animais de companhia tem aumentado especialmente nos centros urbanos do Brasil. Apesar da grande variedade de animais, os cães são os preferidos pela maioria das pessoas (OLIVEIRA-SEQUEIRA et al., 2002). Eles exercem uma importante função na sociedade, trazendo bem estar físico e psicológico às pessoas; entretanto, há os riscos à saúde humana associados ao convívio próximo com os animais, devido à possibilidade de infecção por parasitos, bactérias, vírus entre outros patógenos. A estrogiloidíase canina é uma doença causada pelo nematódeo *S. stercoralis*, que possui potencial zoonótico (ROBERTSON, THOMPSON, 2002).

1.2 - Aspectos morfo-biológicos de *Strongyloides stercoralis*

S. stercoralis é um helminto monoxeno, dimorfobiótico, com formas adultas parasitárias e de vida livre, morfologicamente distintas (MORAES, 1948).

As fêmeas parasitas habitam o intestino delgado, mergulhadas na mucosa próximo às glândulas de Lieberkuhn. Medem 1,7 a 2,5 mm de comprimento e 35 a 45 µm de diâmetro, tendo a porção anterior mais afilada e a posterior curta e romba. Possui cutícula fina, semitransparente e estriada transversalmente em toda a extensão do corpo. A vulva encontra-se em posição ventral, no terço médio do corpo, tendo dois lábios distintos e pouco proeminentes. O ânus é transversal, próximo da extremidade posterior. O aparelho digestivo é simples, com boca hexagonal provida de lábios inconspícuos, à qual se seguem uma pequena cavidade bucal e um curto vestíbulo. Possui esôfago alongado, filariforme, cilíndrico, com pequena dilatação anterior, medindo de um terço a um quarto do comprimento do helminto. O anel nervoso à altura do quinto anterior do esôfago, além de canais excretores longitudinais, correndo ao longo do parasito, conectados um ao outro e a uma única célula excretora, por um ducto transversal, imediatamente atrás do anel nervoso. O útero em posição anfídelfa ocupa quase a totalidade dos dois terços posteriores do parasito, possuindo em seu interior de seis a nove ovos em graus variáveis de maturação, dispostos seriadamente, com ovidutos em continuação e na mesma orientação dos úteros (GROVE, 1996). A característica cromossomal das fêmeas parasitas (triplóides) está de acordo com sua aptidão para a partenogênese, apresentando a capacidade de reprodução na ausência de machos (MORAES, 1948; HENDRIX; BLAGBURN; LINDSAY, 1987).

A fêmea de vida livre é menor que a fêmea partenogenética, é fusiforme e mede de 800 μm a 1,2 mm de comprimento e 50 μm de diâmetro. Possui cutícula hialina, translúcida, delgada e estriada transversalmente, além de extremidade anterior arredondada e posterior afilada. A boca é pequena, com lábios inconspícuos, seguida por curto vestíbulo, o esôfago é curto, medindo entre a sétima e a oitava parte do comprimento total do corpo, dividido em três porções, uma anterior, cilíndrica e alongada, uma intermediária estreita e uma posterior globulosa (bulbo) do tipo rabdiforme. O ânus está situado junto a uma papila, a pouca distância da extremidade posterior, e a vulva situada próxima ao meio do corpo, com dois lábios conspícuos, proeminentes. Possui útero em posição anfidelfa, ocupando grande parte do corpo do helminto, contendo cada um de seis a dez ovos em graus diversos de evolução dispostos seriadamente, com o oviduto em continuação com o útero, ligando-se aos ovários (GROVE, 1996).

O macho de vida livre mede 490 a 740 μm , corpo cilíndrico, estreitando-se para a extremidade anterior, que é arredondada e a posterior afila-se abruptamente, recurvando-se ventralmente terminando em ponta romba. A cutícula é semelhante à da fêmea. Os lábios são indistintos e o esôfago possui morfologia análoga à da fêmea e equivalente à sexta ou sétima parte do comprimento total. Os testículos ocupam grande extensão do corpo, contendo espermatogônias, espermátócitos e espermatozóides, abrindo-se em uma cloaca rodeada por dois espículos copulatórios, iguais ou sub-iguais canaliculados, curvos, intimamente relacionados com o gubernáculo (MORAES, 1948; GROVE, 1996).

Os ovos são depositados na mucosa intestinal nas glândulas de Liebekühn, sendo sua forma elíptica, com parede fina e transparente, que permite, no momento da postura, a visualização do embrião parcial ou inteiramente desenvolvido, medindo de 50-58 μm de comprimento por 30-34 μm de diâmetro. Excepcionalmente, em indivíduos com o trânsito intestinal acelerado, pode-se observar nas fezes, ovos do helminto já embrionados. Os ovos da fêmea de vida livre são semelhantes aos da fêmea parasita, medindo 70 μm de comprimento por 40 μm de diâmetro (MORAES, 1948; GROVE, 1996).

As larvas rabditóides (L1 e L2) são formas que podem encontrar-se nas fezes, bile, escarro, urina, nos líquidos duodenal, pleural e cefalorraquidiano. Medem de 250 a 350 μm de comprimento e 14 a 16 μm de diâmetro, possuem a porção anterior fina e arredondada com extremidade posterior afinando-se gradualmente, terminando em ponta com ápice rombo. Possui cutícula delgada e hialina, que apoia-se sobre uma camada granular. A boca é pequena, com vestíbulo curto e profundidade sempre menor que o diâmetro da larva. O esôfago é

rabditiforme, com dois bulbos, o anterior cilíndrico e alongado, o posterior globuloso e entre os dois, uma porção estreitada; seu comprimento varia com o desenvolvimento da larva. O intestino possui a porção anterior mais estreita, e o ânus é afastado da extremidade posterior. O primórdio genital é desenvolvido e situa-se no meio do corpo, formando um conjunto de células em número de seis a 18 (MORAES, 1948; GROVE, 1996; COSTA-CRUZ, 2000).

A larva filarióide (L3) ou infectante é encontrada nas fezes, em fluidos corporais e no ambiente, pode penetrar a pele ou mucosas e migrar pelos tecidos do hospedeiro (GROVE, 1996). Mede 350 a 450 μm de comprimento e o diâmetro é de 30 a 35 μm . A porção anterior é afilada e a posterior termina em ponta entalhada característica. Possui cutícula delgada e hialina, e logo abaixo há uma camada de gotículas claras, refringentes. A boca é pequena e fechada, os lábios são indistintos e possui esôfago filariforme (não possui bulbo posterior) aproximadamente da metade do comprimento da L3 e circundado pelo anel nervoso no quarto final. O intestino termina em ânus (MORAES, 1948). Na extremidade anterior da larva filarióide há um sistema de percepção ambiental, formado pelos neurônios labiais e cefálicos, responsáveis pela localização do hospedeiro (ASHTON et al., 1995; ASHTON; LI; SCHAD, 1999).

As larvas rabditóides transportadas nas fezes chegam até o meio externo e dependendo das condições encontradas desenvolverão o ciclo homogônico (direto) ou heterogônico (indireto) (COSTA-CRUZ, 2000).

No ciclo direto, as larvas rabditóides no solo ou sobre a pele da região perianal, após 24 a 72 horas, se transformam em larvas infectantes que não se alimentam, apenas consomem as reservas de glicogênio. No ciclo indireto, as larvas rabditóides sofrem quatro transformações no solo e após 18 a 24 horas, produzem fêmeas ou machos de vida livre. Os ovos originados do acasalamento das formas adultas de vida livre serão triplóides, e as larvas rabditóides evoluem para larvas filarióides ($3n$) infectantes. A fase dos ciclos, que se passa no solo, exige condições favoráveis: solo arenoso, umidade alta, temperatura entre 25°C e 30°C e ausência de luz solar direta (GROVE, 1996; COSTA-CRUZ, 2000).

Os ciclos direto e indireto se completam pela penetração ativa das larvas L3 na pele ou mucosa oral, esofágica do hospedeiro. Estas larvas secretam melanoproteases, que as auxiliam, tanto na penetração quanto na migração através dos tecidos, que ocorre numa velocidade de 10 cm por hora. Algumas morrem no local, mas o ciclo continua através das larvas que atingem a circulação venosa e linfática e através destes vasos seguem para o coração e os pulmões. Nos capilares pulmonares, se transformam em L4, atravessam a membrana alveolar e, através de migração pela árvore brônquica, chegam à faringe. Podem

ser expelidas pela expectoração, que provocam, ou serem deglutidas, atingindo o intestino delgado, onde se transformam em fêmeas partenogênicas que depositam seus ovos na mucosa intestinal. O período pré-patente, isto é, o tempo decorrido desde a penetração da larva filarióide na pele até que ela se torne adulta e comece a eliminar ovos larvados, que eclodem no intestino; é aproximadamente 15 a 25 dias (GROVE, 1996; COSTA-CRUZ, 2000).

1.3 – Aspectos epidemiológicos da estrogiloidíase

1.3.1 - Canina

Embora existam descritas 52 espécies de *Strongyloides*, quatro são de interesse veterinário: *S. stercoralis* (cães, gatos, macacos, roedores – camundongos e gerbils -, homem), *S. papillosus* (ruminantes), *S. ransoni* (suíno) e *S. westeri* (equino) (MORAES, 1948; FREITAS, 1976; SOULSBY; 1982; ROBERTSON; THOMPSON, 2002).

Os parasitos entéricos de potencial zoonótico do cão são os seguintes: Nematódeos- *Toxocara canis*, *Ancylostoma* sp, *Uncinaria* spp, *S. stercoralis*; Cestódeos- *Echinococcus* spp, *Dipylidium caninum*, *Spirometra* spp; Prototozoários- *Giardia* spp, *Cryptosporidium* spp, (ROBERTSON; THOMPSON, 2002).

Estudo realizado em Oklahoma (USA), com 21.583 amostras de fezes caninas, entre os anos de 1981 e 1990, apontou uma diminuição nas porcentagens de todos os endoparasitos, exceto *Giardia* spp, que aumentou, também demonstrou-se que a porcentagem de cães abrigando infecções enteroparasitárias, individuais ou múltiplas, diminuiu durante o período de estudo (JORDAN; MULLINS; STEBBINS, 1993).

A prevalência de *T. canis* e ancilostomídeos em cães é maior do que a dos outros parasitos intestinais. Em 490 amostras fecais de cães da região da Hungria, detectaram-se 30,1% cães positivos para *T. canis* e 13,1% cães positivos para ancilostomídeos (FOK et al.; 2001). Em outro estudo com cães da África do Sul demonstraram 36% de positivos para *T. canis* e 88% para *Ancylostoma caninum* (MINAAR; KRECEK, 2001).

Na Índia, demonstraram de 2 a 5% de cães com *S. stercoralis* (TRAUB et al.; 2002). No Japão, em dois estudos coproparasitológicos detectaram em 1505 cães, de um a seis meses de idade, procedentes de canis e *pet shops*, 1,93% de positividade por *S. stercoralis* (ITO et

al., 2003); no segundo estudo, em 772 amostras fecais caninas foram diagnosticados 1,6% de animais infectados com *S. stercoralis* (ASANO et al.; 2004).

Estudo coproparasitológico de 11.563 cães de ambos os sexos, várias raças e diferentes idades, estudados de 1981 a 1986, na cidade de Uberlândia, examinados pelo método direto em lâmina, demonstrou 21,16% de animais parasitados, sendo 68,32% infecções simples e 30,85% infecções múltiplas, sendo que não foram detectados cães infectados com *S. stercoralis* (OLIVEIRA et al., 1990).

Larvas filarióides de *S. stercoralis* obtidas a partir de fezes humanas podem infectar cães e vice-versa (HENDRIX; BLAGBURN; LINDSAY, 1987; ROBERTSON; THOMPSON, 2002). Nos locais onde não existem instalações sanitárias adequadas, os cães infectam-se pela coprofagia de fezes humanas contaminadas encontradas no ambiente próximo ao domicílio (TRAUB et al., 2002). Um estudo de caso clínico na cidade de Nova Iorque demonstrou a ocorrência de estrogiloidíase humana adquirida à partir de cães de canil, após contato com fezes caninas infectadas com larvas de *S. stercoralis* (GEORGI; SPRINKLE, 1974).

1.3.2 – Humana

No Brasil, a importância desse parasito 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, principalmente como idade, diferenças geográficas e sócio-econômicas. Os estados de maior ocorrência da estrogiloidíase são Minas Gerais, Amapá, Goiás e Rondônia (GENTA, 1989; KOBAYASHI et al., 1996; COSTA-CRUZ; MACHADO; CAMPOS, 1998; PAULA et al., 2000; OLIVEIRA et al., 2002).

Em Uberlândia, cidade situada no Triângulo Mineiro, MG, detectou-se uma prevalência de 13% para estrogiloidíase humana, sendo considerada região hiperendêmica para *S. stercoralis* (MACHADO; COSTA-CRUZ, 1998).

A transmissão da estrogiloidíase pode ocorrer pelos mecanismos da auto-infecção externa ou exógena e auto-infecção interna ou endógena, sendo que no primeiro as larvas rabditóides presentes na região perianal, transformam-se em larvas filarióides infectantes que aí penetram completando o ciclo direto. No mecanismo de auto-infecção interna, larvas rabditóides, ainda presentes na luz intestinal (íleo ou cólon) de indivíduos infectados,

transformam-se em larvas filarióides. Através desse mecanismo a doença pode manter-se crônica por meses ou anos (FERREIRA, 1991; REY, 2001; COSTA-CRUZ, 2000).

Para minimizar a ocorrência do complexo ciclo de transmissão da estrogiloidíase, as regiões endêmicas devem elaborar programas para geo-helmintíases, ressaltando a atenção aos hábitos higiênicos, principalmente a lavagem adequada dos alimentos, utilização de calçados, educação e engenharia sanitária, além da melhoria da alimentação. Ainda, considerando que a unidade epidemiológica fundamental é a familiar, salienta-se a necessidade de comprovar o diagnóstico e proceder ao tratamento específico de todos os indivíduos parasitados, mesmo que assintomáticos, para eliminar a fonte de infecção (COSTA-CRUZ, 2000).

1.4 - Aspectos clínicos da estrogiloidíase

1.4.1 – Canina

A estrogiloidíase canina tem três possibilidades de evolução para a doença no cão infectado: a autocura, a cronicidade decorrente da auto-infecção e a possibilidade de hiperinfecção ou disseminação. Estes fatores estão na dependência do sistema imune do hospedeiro e da capacidade de evasão do parasito (GROVE; NORTHERN, 1982; GROVE; HEENAN; NORTHERN, 1983; SCHAD; HELLMAN; MUNCEY, 1984).

A estrogiloidíase canina pode ser assintomática ou apresentar-se com sintomas clínicos dermatológicos, gastrointestinais e respiratórios (ROBERTSON; THOMPSON, 2002). Os sintomas iniciais incluem anorexia e tosse; diarreia desenvolve-se poucos dias depois do início da tosse. As fezes são aquosas e podem conter sangue e muco. A infecção percutânea pode causar dermatite focal (MALONE et al., 1980; STROMBECK; GUILFORD, 1995).

Na hiperinfecção da estrogiloidíase canina há uma elevação do número de parasitos no intestino, encontrando-se larvas e adultos no estômago e intestino grosso (SCHAD, HELLMAN; MUNCEY, 1984).

Em um estudo sobre disseminação em cães imunossuprimidos, detectaram-se grande número de larvas filarióides de *S. stercoralis* nos pulmões, tanto nos alvéolos como nos brônquios e também no baço, nos rins, e na bexiga, sendo que nesses órgãos elas foram rabaditóides sugerindo uma produção local. Vômito e diarreia intensos, hemorragias alveolares

e septicemia são achados da síndrome de disseminação (GROVE; HEENAN; NORTHERN, 1983).

1.4.2 – Humana

A triagem clínica clássica de pacientes com suspeita de estrogiloidíase ocorre quando os mesmos apresentam diarreia, dores abdominais, urticária e eosinifilia sangüínea (GROVE, 1996). Possuindo a estrogiloidíase sintomas pulmonares e digestivos comuns a outras doenças parasitárias, o diagnóstico clínico é difícil (LIU; WELLER, 1993)

Indivíduos portadores de pequeno número de parasitos no intestino geralmente são assintomáticos ou oligossintomáticos, mas isso não significa ausência de ação patogênica e de lesões. Formas graves, às vezes fatais, relacionam-se com fatores extrínsecos, principalmente pela carga parasitária adquirida, e com fatores intrínsecos (subalimentação com carência de proteínas, provocando enterite, ocorrência de diarreia e vômitos, facilitando os mecanismos de auto-infecção, infecções parasitárias e bacterianas associadas, comprometimento da resposta imunitária natural ou adquirida, intervenções cirúrgicas gastroduodenais e outras cirurgias que utilizam anestesia geral, pois facilitam a estase broncopulmonar) (COSTA-CRUZ, 2000).

1.5 - Métodos diagnósticos da estrogiloidíase

O diagnóstico parasitológico de *S. stercoralis* realiza-se através dos exames de flotação fecal, Baermann e esfregaço direto de fezes frescas, investigando-se a presença de ovos, larvas rabditóides ou filarióides do parasito, respectivamente (HENDRIX; BLACBURN; LINDSAY, 1987).

Para aumentar a sensibilidade dos métodos parasitológicos em amostras de fezes, recomenda-se o método de cultura, onde são misturadas partes iguais de fezes e vermiculita. Esta mistura é mantida a 25°C por sete dias, e então realiza-se o método de Baermann-Moraes para detecção de L3 (MALONE et al., 1980).

1.5.1 – Canina

Uma vez que a detecção deste helminto por métodos parasitológicos nas fezes dos cães é difícil, a investigação de anticorpos específicos em amostras de soro pode contribuir auxiliando o diagnóstico. No imunodiagnóstico de estrogiloidíase canina, os métodos já utilizados são imunofluorescência em tubo para detectar anticorpos IgM e IgG (GROVE; NORTHERN, 1982) e imunodifusão radial para IgM, IgG e IgA (MANSFIELD; SCHAD, 1992).

A partir do trabalho de FERREIRA-JÚNIOR (2005), iniciou-se a utilização da reação de imunofluorescência indireta (RIFI) com antígeno particulado em lâminas, na detecção de anticorpos específicos anti – *S. stercoralis* e do ensaio imunoenzimático (ELISA) com extrato salino homólogo na detecção de anticorpos IgG específicos em amostras de soros de cães domésticos.

1.5.2 – Humana

Para a detecção de anticorpos específicos desta parasitose em amostras de soro humano, utilizam-se os testes de imunofluorescência indireta (RIFI) em lâminas (COSTA-CRUZ et al., 1997) e o ensaio imunoenzimático (ELISA) (GAM; NEVA; KROTOSKI, 1987; CONWAY et al., 1993; SATO; KOBAYASHI; SHIROMA, 1995).

A reação de imunofluorescência indireta utilizando antígeno particulado do parasito foi descrita como ferramenta auxiliar no diagnóstico da estrogiloidíase humana (MACHADO et al., 2001). O teste ELISA tem sido utilizado na detecção de IgG anti-*S. stercoralis* nas infecções humanas (LINDO et al., 1994; KOOSHA; FESHARAKI; ROKNI, 2004).

2 – OBJETIVOS

- Verificar a ocorrência de infecção por *S. stercoralis*, utilizando os métodos parasitológicos de Baermann-Moraes e de Lutz, nas amostras de fezes de:
 - ✓ Cães
 - ✓ Tratadores
- Detectar a presença de anticorpos específicos anti-*S. stercoralis* pela reação de imunofluorescência indireta (RIFI) e teste ELISA em amostras de soro de:
 - ✓ Cães
 - ✓ Tratadores
- Investigar aspectos epidemiológicos dos canis, mediante aplicação de questionário semi-estruturado.

3 - MATERIAL E MÉTODOS

3.1 - Aspectos éticos

Todos os procedimentos seguiram os princípios éticos recomendados para animais de experimentação, conforme o código de ética experimental com animais (CIOMS, 1985; COBEA, 1991). Os tratadores (funcionários dos canis) foram voluntários, que consentiram a participação no estudo (ANEXO I) e foram esclarecidos sobre a importância da pesquisa.

Este projeto foi submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Uberlândia (UFU).

3.2 – Local de estudo

O estudo foi realizado no município de Uberlândia, região do Triângulo Mineiro, no Estado de Minas Gerais. A cidade está localizada entre as coordenadas geográficas de 18°30' – 19°30' de latitude sul e 47°50' de longitude oeste de Greenwich. O clima da região é do tipo AW, segundo a classificação de Köpen, sendo marcado por duas estações bem definidas, uma chuvosa que se estende de outubro a março e outra seca que compreende os meses de abril a setembro. A precipitação média anual varia entre 1300 a 1700 mm e a temperatura média é relativamente uniforme ao longo do ano (ROSA; LIMA; ASSUNÇÃO, 1991).

Para este estudo, utilizou-se a divisão distrital da cidade de Uberlândia, fornecida pela Secretaria Municipal de Planejamento e Desenvolvimento Urbano e igualmente utilizada pela Secretaria da Saúde e Sistema Único de Saúde. Essa divisão compreende cinco distritos sanitários (Figura 1): Leste, Oeste, Norte, Sul e Central.

Destes distritos, foram amostrados sete canis: (3) Leste, (1) Oeste, (1) Norte, (1) Sul e (1) Central.

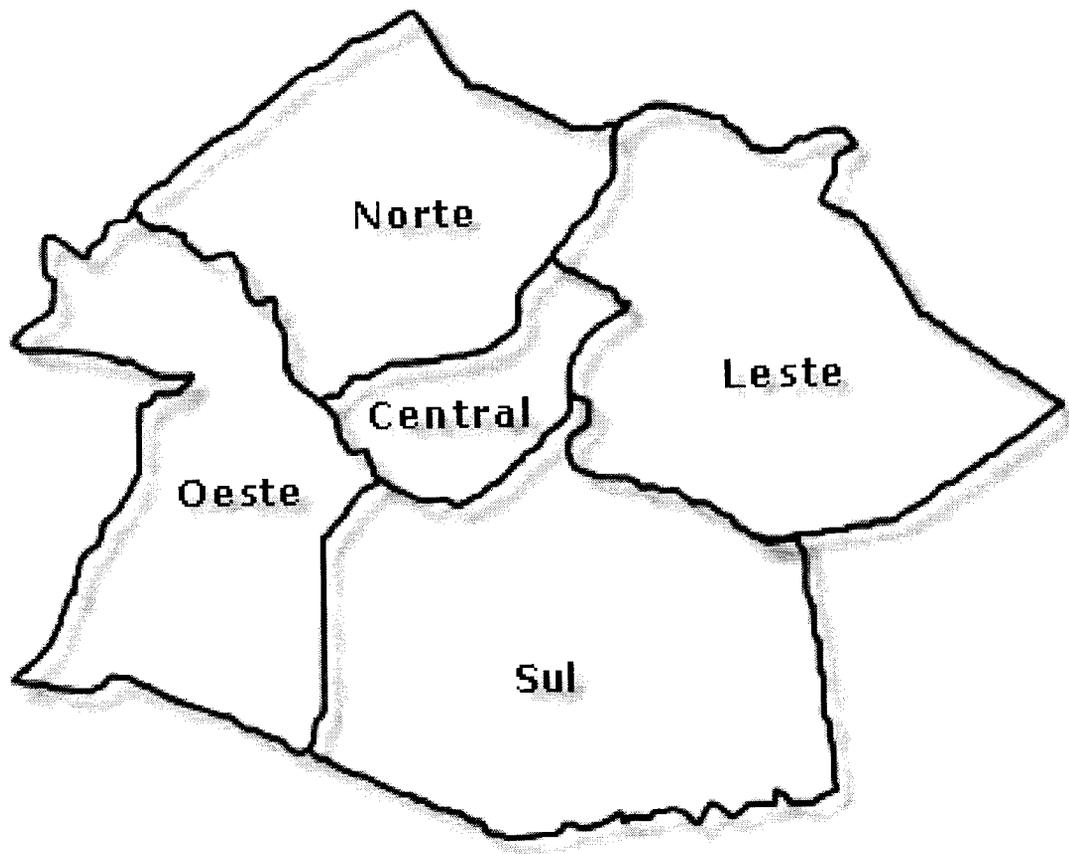


Figura 1: Limites da cidade de Uberlândia divididos em distritos sanitários (fonte: Secretaria Municipal de Planejamento e Desenvolvimento Urbano).

3.3 - População de estudo

3.3.1 - Cães

A amostragem foi calculada segundo Rodrigues (1986), $n = Z^2 \times P \times Q / d^2$, sendo Z = 95% o intervalo de confiança, com valor tabelado de 1,69; P = 13% a prevalência estimada (MACHADO; COSTA-CRUZ, 1998); Q = 87% o valor de casos não encontrados e d = 5% a precisão determinada pelo pesquisador. O “n” calculado foi de 174 cães, sendo que a amostra foi ampliada para 181 cães. Foram analisadas amostras de fezes e soro de todos os cães.

Os cães estudados foram das raças Shitzu (13); Maltês (18); Yorkshire (5); Schnauzer (5); Loulou (12); Pug (15); Scotsh (1); Labrador (2); Pinscher (1); Sharpei (8); Chow-Chow (5), Poodle (2); Rotweiller (3); Pit Bull (1); Cocker (2); Pastor Alemão (5); Pastor Belga (1), Bull Dog (10) e sem raça definida (S.R.D) (72), totalizando 72 machos e 109 fêmeas, com idade entre um mês e sete anos. As idades desses cães foram obtidas por informações dos proprietários e em alguns casos pelo próprio registro da data de nascimento. A partir desse critério, os cães foram agrupados da seguinte forma: Grupo I (1 a 2 meses; 32 cães), Grupo II (> 2 meses a 1 ano; 31 cães) e Grupo III (> 1 a 7 anos; 118 cães). Cães de um a dois meses de idade (filhotes) estavam na fase de aleitamento materno e início do desmame, acima de dois meses a um ano compreendia o período de desmame até a puberdade (cães jovens) acima de um ano a sete anos correspondia à fase adulta (GRANDJEAN; VAISSAIRE, 2001).

O número de cães por distrito sanitário distribui-se em Leste (68), Oeste (63), Norte (11), Sul (18) e Central (21).

3.3.2 - Humanos

Foram analisadas amostras de fezes e soro de 11 tratadores (responsáveis pela limpeza do canil e alimentação dos animais) dos canis visitados. Esse número está distribuído entre os distritos sanitários: Leste (3), Oeste (4), Norte (2), Sul (os tratadores se recusaram a participar da pesquisa) e Central (2).

3.4 - Aspectos Epidemiológicos

Informações epidemiológicas foram obtidas através de um questionário epidemiológico (ANEXO II).

3.5 - Obtenção das amostras de fezes

3.5.1 - Cães

De cada cão colheu-se três amostras de fezes frescas, imediatamente após a defecação, utilizando-se espátulas de madeira e luvas descartáveis, em dias consecutivos. Utilizou-se frascos plásticos com tampa sem solução conservante para o método de Baermann (1917) – Moraes (1948) e frascos plásticos contendo formalina a 10% homogeneizando-se as fezes, para o método de Lutz (1919). Os recipientes foram identificados com o nome do animal (quando havia), procedência, sexo, idade, data da colheita e número de seqüência da amostra.

Para cada teste, foram analisadas duas lâminas, em microscópio óptico de luz (OLYMPUS, Japão), em aumento de 100x e 400x para a pesquisa de larvas e de ovos de helmintos. As lâminas foram examinadas por dois leitores diferentes, totalizando então, quatro lâminas por amostra.

3.5.2 - Humanos

Três amostras de fezes foram colhidas, em dias alternados, de cada indivíduo, em frascos plásticos sem conservantes. As etapas seguintes e os procedimentos de análise seguiram os mesmos passos descritos anteriormente para cães.

3.6 - Métodos Parasitológicos

3.6.1 - Método de Baermann-Moraes

O método de Baermann-Moraes (BAERMANN, 1917; MORAES, 1948), foi empregado no diagnóstico parasitológico de fezes nos cães e em seus tratadores para a pesquisa de larvas de nematódeos.

Aproximadamente cinco gramas de fezes foram colocadas numa gaze dobrada em quatro sobre uma tela metálica com 100 malhas por m². Em seguida, colocou-se o material em contato com a água num funil de vidro, com diâmetro de 11,5 cm em cuja haste foi colocada uma mangueira de borracha de 10 cm, obliterada com pinça, contendo água a 45°C até a borda; então o material foi deixado em repouso por uma hora.

Após este procedimento, o material foi colhido em tubos de 2 mL abrindo-se a pinça que obliterava a mangueira de borracha. Colocou-se uma gota do sedimento em lâminas de vidro e posteriormente uma gota de lugol e esta solução foi coberta por lamínulas (24 x 24 mm) para exame em microscópio óptico (Olympus, Ch-2, Japão) nos aumentos de 100 e 400 vezes.

3.6.2 - Método de Sedimentação Espontânea

Esse método, descrito por LUTZ (1919), foi utilizado para detecção de ovos, cistos ou larvas de enteroparasitos.

Aproximadamente dois gramas de fezes foram colocadas em um "becker" contendo cerca de 5 mL de água e trituradas com o auxílio de um bastão de vidro. Em seguida, adicionou-se 20 mL de água, filtrando a suspensão resultante para um cálice cônico de 200 mL de capacidade, utilizando-se uma tela de náilon com cerca de 80 a 100 malhas por cm² com gaze cirúrgica dobrada em quatro.

Os resíduos contidos na gaze foram lavados com 20 mL de água sob agitação constante com bastão de vidro, sendo o líquido da lavagem recolhido no mesmo cálice e completado com água para 200 mL. Esta suspensão de fezes permaneceu em repouso durante 24 horas. Após lavagens, uma gota de sedimento foi colocada em uma lâmina de microscopia com uma gota de lugol, homogeneizado, coberto por uma lamínula (24 x 24 mm) e

examinado em microscópio óptico (Olympus, Ch-2, Japão) nos aumentos de 100 e 400 vezes).

3.6.3 - Coprocultura pelo Método de Looss

A cepa de *S. stercoralis* encontra-se disponível no Laboratório de Parasitologia da Universidade Federal de Uberlândia (UFU) e foi obtida de um paciente humano que apresentava larvas rabditóides em amostras fecais, pelo método de sedimentação espontânea (Lutz, 1919). Estas amostras de fezes foram encaminhadas para a coprocultura e após este processo, larvas filarióides (L3) foram recuperadas pelo método de Baermann (1917) – Moraes (1948).

Na obtenção de larvas L3, para preparo de antígenos para as reações imunológicas, o material fecal foi cultivado pelo método de Looss (NEVES et al., 2000). A coprocultura foi realizada misturando-se partes iguais de fezes e vermiculita que foi previamente peneirada (peneira de malha de 5mm), lavada em água corrente e deixada em repouso para escoar o excesso de umidade. Para a mistura foram utilizados “becker”, bastão de vidro, luvas descartáveis e recipientes plásticos descartáveis (100ml) para acondicionamento da mistura. As culturas foram colocadas em estufa B.O.D. (Fanem, São Paulo) à temperatura de 25°C e 70% de umidade por sete dias. Após este procedimento as larvas de *S. stercoralis* foram recuperadas pelo método de Baermann (1917) – Moraes (1948), lavadas por três vezes em solução salina tamponada com fosfatos (0,01M) (PBS) e centrifugadas a 350 x g por 5 minutos; o sedimento final foi conservado a -20°C.

3.7 - Obtenção das amostras de soro

3.7.1 - Cães

Colheu-se de cada cão 1 mL de sangue, utilizando-se agulhas hipodérmicas 25 x 7 mm, seringas de 3 mL, tubos de colheita sem anti-coagulante luvas de procedimento, material de anti-sepsia, sendo todos descartáveis. Para a colheita, puncionou-se a veia jugular em filhotes e cães de pequeno porte, e a veia cefálica em cães de médio e grande porte. Após a

punção e coagulação, centrifugou-se a amostra de sangue em 350 x g por 5 minutos e o soro foi armazenado à -20°C até o momento do uso.

As amostras de soro positivo, já disponível no Laboratório de Parasitologia da UFU, foram obtidas de dois cães inoculados com 6.000 larvas filarióides de *S. stercoralis* mantidas experimentalmente, conforme item (3.8) e que foram positivos no exame de fezes. As três amostras de soro padrão negativo, também disponibilizadas por este laboratório, foram obtidas de cães saudios e que apresentaram três exames de fezes negativos pelos métodos de Baermann (1917) – Moraes (1948) e Lutz (1919), sem história anterior de estrogiloidíase.

3.7.2 - Humanos

Foram colhidos 10 mL de sangue de cada tratador, através de punção venosa (VACUTAINER – Precision Glidee/ Becton Dickson Vacutainer System, Franklin Lakes, NJ, EUA). Após coagulação, procedeu-se à centrifugação a 350 x g por 5 minutos, as amostras de soro foram distribuídas em alíquotas e armazenadas a -20° C até o momento de uso.

O padrão positivo, já disponível no banco de soro do Laboratório de Parasitologia da UFU, constitui-se de paciente que estava eliminando larvas de *S. stercoralis* nas fezes, e o negativo, de indivíduos saudáveis (copronegativos) para *S. stercoralis* e demais parasitos, sem história anterior de estrogiloidíase.

3.8 - Obtenção das larvas filarióides (L3)

Para a manutenção da cepa de *S. stercoralis* no Laboratório de Parasitologia da UFU, está sendo mantido um cão, sem raça definida, pesando 5 kg de peso vivo. Este cão foi vermifugado com Pamoato de Pirantel e Praziquantel (Duopet, 1 mL/ Kg de peso vivo, via oral, Hertape) e imunizado contra cinomose, parvovirose, leptospirose, parainfluenza e adenovirus (HTLP-5CVL, Pfizer) e contra a raiva (Defensor, Pfizer).

Após três exames de fezes negativos, pelos métodos de Baermann (1917) – Moraes (1948) e de Lutz (1919), este cão foi imunossuprimido com 2 mg de Prednisolona/ Kg de peso vivo/dia, por via oral durante uma semana (GROVE, NORTHERN, 1982; GROVE, HEENAN, NORTHERN, 1983). Em seguida, após tricotomia da região inguinal, anti-sepsia e sedação com Xilazina (Coopazine, 0,05 mL/ Kg de peso vivo, por via endovenosa; Schering-

Plough), foi inoculado por via subcutânea 6.000 larvas filarióides de *S. stercoralis*, vivas, solubilizadas em 2 mL de PBS.

Duas semanas pós-infecção experimental, foi comprovada a infecção e as amostras de fezes contendo larvas rabditóides de *S. stercoralis* foram encaminhadas para a coprocultura semanalmente para a manutenção da cepa (conforme item 3.6.3).

As amostras foram centrifugadas a 350 x g por 5 minutos, o sobrenadante foi desprezado e o *pellet* foi solubilizado em 2 mL de PBS. Para retirar os resíduos de vermiculita, a suspensão de larvas filarióides (L3) foi lavada em solução salina tamponada com fosfato (PBS) pH 7,2 durante três minutos por cinco vezes. A quantidade de 5 µl desta suspensão foi analisada em microscópio óptico de luz (OLYMPUS, Japão) em aumentos de 100x, para a contagem das larvas filarióides vivas e mortas, e o cálculo do número de larvas foi feito através de regra de três simples.

As L3 de *S. stercoralis* recuperadas e contadas foram conservadas a -20° C para uso posterior.

3.9 - Obtenção de antígeno de *S. stercoralis* para reação de imunofluorescência indireta (RIFI)

O antígeno particulado foi produzido a partir de 100.000 L3 de *S. stercoralis* liofilizadas conforme descrito por Costa-Cruz et al., 1997. As larvas filarióides foram trituradas em 5 mL de etanol a -18°C e centrifugadas a 1.110 x g por 5 minutos a 4°C. O sedimento foi lavado com 5 mL de éter anidro e centrifugado como descrito acima. Repetiu-se este procedimento. As partículas foram secas rapidamente e ressuspensas com 5 mL de PBS contendo formalina a 3% e incubado por 24 horas a 37°C, com agitações ocasionais. Após centrifugação, o material foi lavado com 5 mL de solução salina e ressuspensado em 2,5 mL de água destilada contendo soro normal de cabra a 0,5%. O antígeno particulado foi depositado em lâminas de vidro, 26 mm x 76 mm, desengorduradas e demarcadas, as quais permaneceram 18 horas à temperatura ambiente e foram posteriormente conservadas a -20°.

3.10 - Obtenção de antígeno salino de *S. stercoralis* para teste imunoenzimático (ELISA)

O antígeno salino foi produzido a partir de 150.000 larvas L3 de *S. stercoralis* conforme metodologia descrita por Rodrigues et al. (2004), com modificações. As larvas filarióides foram descongeladas e ressuspensas em 1 mL de solução PBS a 0,15 M, pH 7,2 e trituradas no homogeneizador de tecidos (Nova técnica, São Paulo) cinco ciclos de cinco minutos e posteriormente rompidas, através de ultra-som (Thornton, São Paulo) em oito períodos de 20 segundos em banho de gelo. A suspensão foi incubada sob agitação lenta por 18 horas à 4°C e posteriormente, centrifugada a 12.400 x g por 30 minutos à 4°C. Após dosagem protéica pelo método de Lowry et al. (1951), o extrato salino obtido foi distribuído em alíquotas e armazenado a -20°C até o momento do uso.

3.11 - Testes Imunológicos

Os testes sorológicos RIFI, usando antígeno particulado, e ELISA, usando antígeno salino, foram utilizados para detectar anticorpos IgG anti- *S. stercoralis* nas 181 amostras de soro de cães e 11 amostras de soro humano. Experimentos preliminares foram realizados para determinar as condições ótimas para RIFI e ELISA, através de titulação em bloco dos reagentes (antígenos, amostras de soro controle e conjugados).

3.11.1 – Reação de imunofluorescência indireta (RIFI) em amostras de soro de cães e humanos

3.11.1.1 - Cães

O teste de imunofluorescência indireta foi realizado de acordo com Ferreira-Júnior (2005). As lâminas contendo o antígeno particulado foram incubadas com soro dos cães na diluição ideal de 1:40 por 30 minutos a 37°C e então lavadas por três vezes em PBS (pH=7,2) por 5 minutos. Em seguida, foi adicionado o conjugado anti-IgG de cão marcado com isotiocianato de fluoresceína (Biomanguinhos, Brasil) no título ideal de 30 em PBS contendo azul de EVANS a 3% por 30 minutos a 37°C. Após lavagens como anteriormente descrito, as lâminas foram montadas com glicerina tamponada (pH 8,5) e examinadas em microscópio

Olympus BH-2-RFC (Japão) no aumentos de 200 e 400 vezes. As amostras de soro positivas foram tituladas em diluições duplas seriadas para determinar o título final de anticorpos.

3.11.1.2 - Humanos

O teste de imunofluorescência indireta foi realizado de acordo com Machado et al (2001). As lâminas contendo o antígeno particulado foram incubadas com soro humano na diluição ideal de 1:80 por 30 minutos a 37°C e então lavadas por três vezes em PBS por 5 minutos. Em seguida, foi adicionado o conjugado anti-IgG humana marcado com isotiocianato de fluoresceína (Biomanguinhos, Brasil) no título ideal de 30 em PBS contendo azul de Evans a 3% por 30 minutos a 37°C. Após lavagens como anteriormente descrito, as lâminas foram montadas com glicerina tamponada (pH 8,5) e examinadas em microscópio Olympus BH-2-RFC (Japão) no aumentos de 200 e 400 vezes. As amostras de soro positivas foram tituladas em diluições duplas seriadas para determinar o título final de anticorpos.

3.11.2 - Teste Imunoenzimático (ELISA) para detecção de IgG

3.11.2.1 - Cães

O teste ELISA foi realizado conforme protocolo descrito por Ferreira-Júnior (2005). Placas de poliestireno (DIFCO, Interlab, Brasil) foram sensibilizadas por 18 horas a 4°C com 50 µL de extrato salino de *S. stercoralis* (5µg/ml) em tampão carbonato-bicarbonato a 0,06 M (pH 9,6). Após três lavagens de cinco minutos cada, em PBS contendo Tween 20 a 0,05% (PBS-T), os sítios ativos foram bloqueados com 50 µL de leite desnatado (Molico, Nestlé) a 5% em PBS-T por uma hora a 37°C. Após três lavagens de cinco minutos cada, as placas foram incubadas com 50 µL das amostras de soros na diluição ideal de 1:100 por 45 minutos a 37°C. Após novas lavagens, as placas foram incubadas com 50 µL de soro de coelho contendo anticorpos anti-IgG de cão conjugado à peroxidase (preparado segundo Wilson e Nakane, 1978) no título ideal de 200 por 45 minutos a 37°C. A reação foi revelada pela adição do substrato enzimático (H₂O₂ 30% e orto-fenilenediamina [OPD] em tampão citrato fosfato 0,1M pH 5,0) e incubação por 15 minutos à temperatura ambiente. A reação foi interrompida com 25 µL de H₂SO₄ 2N e os valores de absorbância foram determinados a 490 nm em leitor

de ELISA (Metrolab-980, Argentina). Os resultados foram expressos em índice ELISA (IE), segundo a fórmula: $IE = (DO \text{ amostra} / DO \text{ cut off})$, sendo o *cut off* determinado pelas médias dos valores de DO obtidos de três amostras de soro controle negativo acrescida de dois desvios padrões. Foram considerados positivas as amostras de soros com $IE > 1,0$.

3.11.2.2 - Humanos

O teste ELISA foi realizado conforme protocolo descrito por Silva et al. (2003). Placas de poliestireno (DIFCO, Interlab, Brasil) foram sensibilizadas por 18 horas a 4°C com 50 µL de extrato salino de *S. stercoralis* (5µg/ml) em tampão carbonato-bicarbonato a 0,06 M (pH 9,6). Após três lavagens em PBS contendo Tween 20 a 0,05% (PBS-T), os sítios ativos foram bloqueados com 50 µL de leite desnatado (Molico, Nestlé) a 5% em PBS-T por uma hora a 37°C. Após três lavagens de cinco minutos cada, as placas foram incubadas com 50 µL dos soros na diluição ideal de 1: 80 por 45 minutos a 37°C. Após novas lavagens, as placas foram incubadas com 50 µL de soro de coelho contendo anticorpos anti-IgG humana conjugado à peroxidase (Sigma) no título ideal de 2000 por 45 minutos a 37°C. A reação foi revelada pela adição do substrato enzimático (H₂O₂ 30% e orto-fenilenediamina [OPD] em tampão citrato fosfato 0,1M pH 5,0) e incubadas por 15 minutos à temperatura ambiente. A reação foi interrompida com 25 µL de H₂SO₄ 2N e os valores de absorbância foram determinados a 490 nm em leitor de ELISA (Metrolab-980, Argentina). Os resultados foram expressos em índice ELISA (IE), segundo a fórmula: $IE = (DO \text{ amostra} / DO \text{ cut off})$, sendo o *cut off* determinado pelas médias dos valores de DO obtidos de três amostras de soro controles negativos acrescida de dois desvios padrões. Foram considerados positivas as amostras de soros com $IE > 1,0$.

3.12 - Análise estatística

A análise estatística foi realizada utilizando o *software* Graphpad Prism versão 3.0 (Graph Pad Software, Inc.). A porcentagem de soropositividade foi analisada pela diferença entre duas proporções, sendo que valores de $p < 0,05$ foram considerados estatisticamente significativos. O intervalo de confiança (IC) considerado foi de 95%.

3.13 – Normas de Biossegurança

Todo o procedimento de colheita, manuseio do material biológico e dos reagentes, bem como a utilização dos equipamentos foi realizado de acordo com as normas de segurança compatíveis. (CHAVES-BORGES, MINEO, 1997).

3.14 – Retorno à comunidade

Os resultados dos exames parasitológicos e imunológicos foram encaminhados aos proprietários e às pessoas responsáveis pelos cuidados dos cães para que as medidas de tratamento e prevenção fossem realizadas. Os tratadores também foram informados dos resultados de seus exames e em caso positivo, foram aconselhados a procurar assistência médica.

4 - RESULTADOS

4.1 - Diagnóstico Parasitológico

4.1.1 - Cães

As análises das amostras de fezes pelos métodos de Baermann (1917) e de Lutz (1919) detectaram positividade em 66 cães (Figura 2). Percentualmente, essa positividade é elevada, no entanto, está dentro do intervalo de confiança (IC) de 95% (6,8 – 66,2). O biparasitismo foi encontrado em 23/181 (12,7%) dos cães, ocorrendo na sua totalidade (100%) no distrito sanitário Oeste. *S. stercoralis* foi detectado em 1/181 (0,6%) cão da raça Pit Bull, dois anos de idade e procedente do distrito sanitário Sul. Este parasito foi diagnosticado pelo método de Lutz (1919), na primeira e terceira amostras de fezes.

Na Figura 3, observa-se em 3A, a porcentagem de cães positivos por distrito sanitário, levando em consideração o número total (n = 181) de cães. Em 3B, essa porcentagem demonstra o que cada distrito sanitário representa entre a totalidade de positividade. Por essa análise parasitológica, nota-se que o distrito Oeste, o segundo em número de cães, representa uma positividade oito vezes maior do que a do distrito Leste, primeiro em número de cães. Essa proporção é equivalente tanto em relação ao número total de cães, quanto ao número de cães parasitados.

A porcentagem de positividade entre os distritos, considerando o número total de cães e o número de cães parasitados por distrito é demonstrada na Figura 4.

Na Tabela 1, está representado o perfil dos resultados dos exames parasitológicos das fezes dos 181 cães distribuídos nos respectivos distritos sanitários de acordo com a idade.

Quanto ao sexo, como demonstra a Tabela 2, o número de fêmeas em relação aos machos é mais representativo. Tal fato se deve à disponibilidade de um cão reprodutor para a cobertura de até cinco matrizes, na maioria dos canis visitados.

Os dados de positividade referentes à raça (Tabela 3), sugerem maior frequência de cães sem raça definida.

A Tabela 4 mostra a distribuição dos parasitos encontrados nos cães dos cinco distritos sanitários de Uberlândia. A diferença do percentual apresentado por cada parasito não foi significativa (IC: 95%).

4.1.2 - Tratadores

Do total de tratadores (11), a idade variou de 23 a 61 anos, sendo 7 do sexo masculino e 4 do sexo feminino. A pequena amostragem se justifica pela necessidade de consentimento do voluntário (tratador) para participar da pesquisa e do número reduzido de indivíduos trabalhando em canis.

Todas as amostras de fezes possuíam consistência pastosa ou formada, não havendo nenhum caso de diarreia. Foi diagnosticado apenas um caso (9,1%; IC: 1,4 – 16,8) de ancilostomídeo. Esse tratador é procedente do distrito sanitário Oeste, do sexo masculino e com idade de 23 anos. A positividade foi registrada na terceira amostra de fezes pelo método de Lutz (1919).

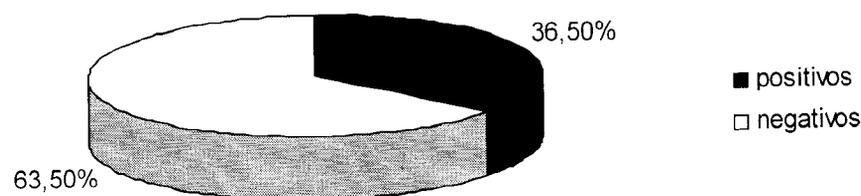
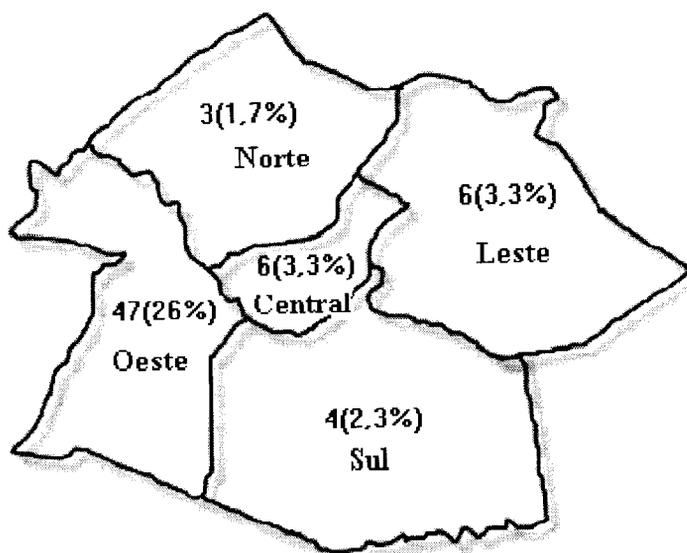


Figura 2: Porcentagem de positividade nos exames parasitológicos de fezes dos cães dos cinco distritos sanitários de Uberlândia, no período de janeiro de 2004 a junho de 2005.

A



B

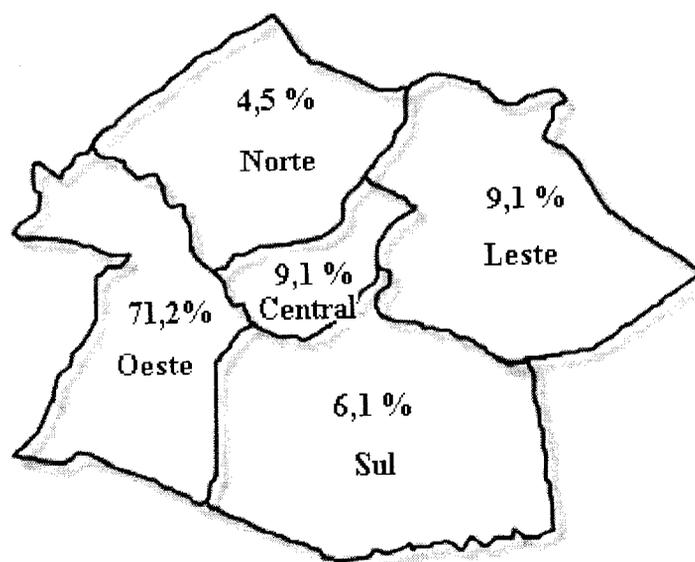


Figura 3. A- Porcentagem de positividade nos exames parasitológicos em relação ao número total de cães (n=181); B- Porcentagem de positividade nos exames parasitológicos em relação ao número de cães parasitados (n=66) distribuídos por distritos sanitários da cidade de Uberlândia, no período de janeiro de 2004 a junho de 2005.

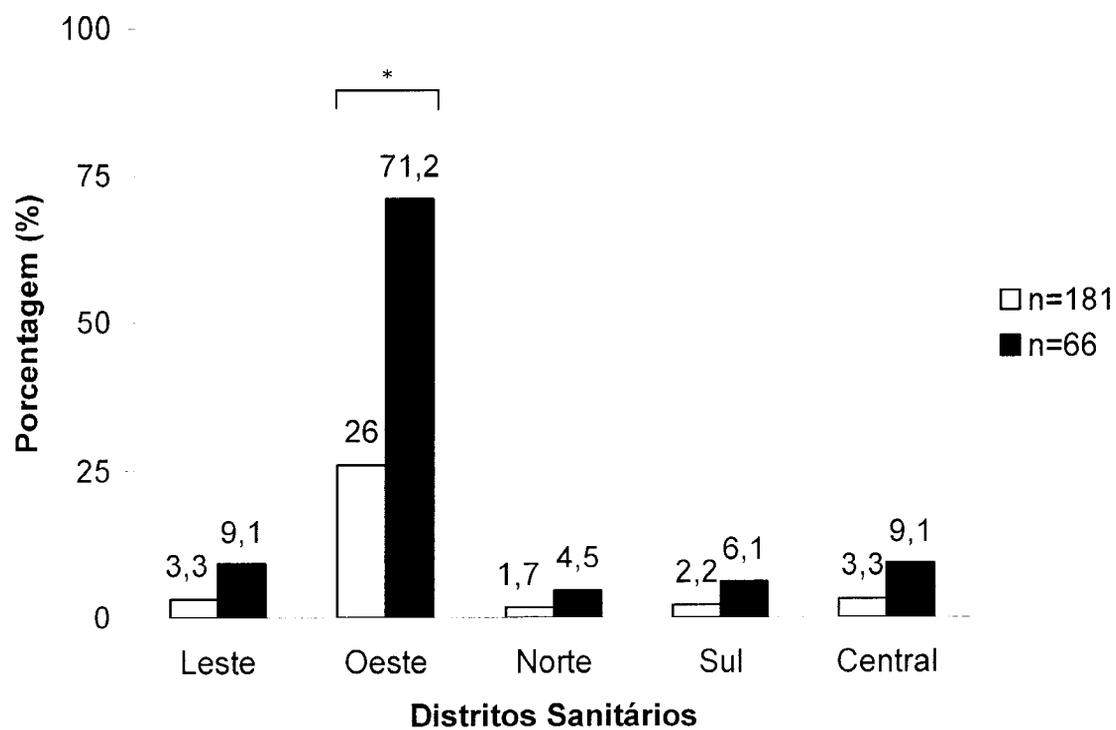


Figura 4. Porcentagem de positividade pelos exames parasitológicos em relação ao número total de cães (n=181) e em relação ao número de cães parasitados (n=66). * = $p < 0,05$

Tabela 1: Diagnóstico parasitológico em amostras de fezes de 181 cães de Uberlândia, divididos em distritos sanitários de acordo com a idade.

Idade	Leste	Oeste	Norte	Sul	Central	Total
	n=68	n=63	n=11	n=18	n=21	n=181
	n+ (%)	n+ (%)	n+ (%)	n+ (%)	n+ (%)	n+ (%)
1 - 2 m	0	30 (47,6)	0	0	0	30 (16,6)
> 2 m - 1 a	3 (4,4)	0	0	0	3 (14,3)	6 (3,3)
> 1 a - 7 a	3 (4,4)	17 (27,0)	3 (27,3)	4 (22,2)	3 (14,3)	30 (16,6)

n+= número de casos positivos; %= porcentagem de positivos; m = meses; a = ano

Tabela 2: Distribuição do número total de cães, divididos em distritos sanitários de acordo com o sexo.

Sexo	Leste	Oeste	Norte	Sul	Central	Total
	n(%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)
Fêmea	43 (63,2)	39 (61,9)	6 (54,5)	9 (50)	12 (57,1)	109 (60,2)
Macho	25 (36,8)	24 (38,1)	5 (45,5)	9 (50)	9 (42,9)	72 (39,8)
Total	68 (100)	63 (100)	11 (100)	18 (100)	21 (100)	181 (100)

Tabela 3: Diagnóstico parasitológico em amostra de fezes de 181 cães, divididos em distritos sanitários de acordo com a raça.

Raça	Leste	Oeste	Norte	Sul	Central	Total
	n=68	n=63	n=11	n=18	n=21	n=181
	n+ (%)	n+ (%)	n+ (%)	n+ (%)	n+ (%)	n+ (%)
SRD	0	47 (74,6)	3 (27,3)	0	0	50 (27,6)
RP	6 (8,8)	0	0	4 (22,2)	6 (28,6)	16 (8,8)

S.R.D.= sem raça definida; R.P.= raça pura; n+= número de casos positivos; %= porcentagem de positivos em relação ao número total de cães de cada distrito sanitário.

Tabela 4: Diagnóstico parasitológico em amostras de fezes de 181 cães, divididos em distritos sanitários de Uberlândia.

Parasitos	Leste	Oeste	Norte	Sul	Central	Total
	N=68 n+ (%)	n=63 n+ (%)	n=11 n+ (%)	n=18 n+ (%)	n=21 n+ (%)	n=181 n+ (% : IC)
<i>Ancilostomídeo</i>	0	31 (49,2)	3 (27,3)	0	0	34 (18,8 : 5,5-32,1)
<i>Ascaridídeo</i>	0	21 (33,3)	0	0	0	21 (11,6 : 4,5-18,7)
<i>Cystoisospora spp</i>	0	13 (20,6)	0	0	1 (4,8)	14 (7,7 : 3,7-11,7)
<i>Entamoeba sp</i>	1 (1,5)	0	0	0	0	1 (0,6 : 0,3-0,9)
<i>Giardia sp</i>	5 (7,4)	6 (9,5)	0	3 (16,7)	5 (23,8)	19 (10,5 : 4,3-16,7)
<i>S. stercoralis</i>	0	0	0	1 (5,6)	0	1 (0,6 : 0,3-0,9)

n+= número de casos positivos; %= porcentagem de positivos em relação ao número total de cães de cada distrito sanitário; IC: intervalo de confiança.

4.2 - Diagnóstico Imunológico

4.2.1 - Cães

Os resultados imunológicos mostraram 46/181 (25,4%) cães soropositivos para anticorpos anti- *S. stercoralis*, sendo 27/181 (14,9%) do distrito Leste, 8/181 (4,4%) do distrito Oeste, 1/181 (0,6%) do distrito Norte, 9/181 (5,0%) do distrito Sul e 1/181 (0,6%) do distrito Central.

O teste de imunofluorescência indireta detectou anticorpos IgG anti- *S. stercoralis* em 32 (17,7%) cães (Figura 5). No distrito Leste, 17/181 (9,4%) cães tiveram amostras de soro reativas, com título variando de 40 a 320; no distrito Oeste, 7/181 (3,9%) cães foram sororeativos com títulos entre 40 e 160; no distrito Norte e também no Central, nenhum cão foi soropositivo, enquanto no distrito Sul, 8/181 (4,4%) cães foram reativos, com títulos variando de 40 a 160. A soropositividade foi significativamente maior no distrito Leste quando comparada ao distrito Oeste, que apresentou porcentagem maior de positividade nos exames parasitológicos ($p < 0,05$).

Quando os anticorpos IgG anti - *S. stercoralis* foram detectados pelo teste ELISA, observou-se que 30 (16,6%) dos cães foram soropositivos. A reatividade no distrito Leste foi de 19/181 (10,5%); no distrito Oeste, 4/181 (2,2%), no distrito Norte foi de 1/181 (0,6%); no distrito Sul, 5/181 (2,8%) foram soropositivos e no distrito Central, 1/181 (0,6%) foi positivo pelo ELISA.

A Figura 6 representa os níveis de anticorpos IgG anti - *S. stercoralis* expressos em índice ELISA (IE) para os cinco distritos sanitários de Uberlândia. As variâncias entre duas proporções (distritos sanitários) são apresentadas considerando $p < 0,05$.

O cão parasitologicamente positivo foi reagente no título de 40, na reação de imunofluorescência apresentou índice de reatividade 1,66 no teste ELISA.

A Tabela 5 apresenta a comparação dos resultados parasitológicos e imunológicos (IFAT e ELISA) nos cães com coproparasitológico positivo. Não houve reação cruzada no imunodiagnóstico entre *S. stercoralis*, ancilostomídeos e ascaridídeos, com exceção de um caso (fêmea, três anos, SRD) de biparasitismo por ancilostomídeo e *Cystoisospora* spp, soropositivo no IFAT com título de 160. Houveram três casos diagnosticados de *Giardia* spp (1 do distrito Sul e 2 do distrito Leste), soropositivos para *S. stercoralis* no IFAT com título de 80 e outros dois casos (ambos do distrito Leste) com sorologia positiva no ELISA com

índices de reatividade de 1,16 e 1,14 respectivamente. Foi encontrado um único caso de *Entamoeba* spp (no distrito Leste), soropositivo para *S. stercoralis* no IFAT com título de 320, sendo também sororagente no ELISA com índice de reatividade de 1,20.

4.2.2 – Tratadores

O teste de imunofluorescência indireta, não apresentou nenhum caso de reatividade dentre aos tratadores examinados dos cinco distritos sanitários de Uberlândia.

A presença de IgG sérica anti- *S. stercoralis* foi verificada pelo teste ELISA em dois tratadores (18,2%) do distrito Oeste e um tratador (9,1%) do distrito Central. Nos demais distritos, não ocorreu nenhum registro de soropositividade para IgG anti - *S. stercoralis*.

A soropositividade determinada por RIFI e ELISA nas amostras de soro dos tratadores dos cinco distritos sanitários é demonstrada na Figura 7. A diferença entre as proporções foi calculada considerando $p < 0,05$.

4.3 – Dados Epidemiológicos

A partir das informações epidemiológicas obtidas pela aplicação do questionário (Anexo II), traçou-se um perfil dos canis visitados, distribuídos pelos distritos sanitários (Tabela 6).

Com relação à altura do comedouro e do bebedouro dos cães em relação ao solo, verificou-se que em todos os distritos sanitários, esse valor está compreendido entre 10 e 20 cm.

A frequência de vermifugação observada variou de três em três meses nos distritos sanitários Leste, Sul e Central e de seis em seis meses nos distritos Oeste e Norte. Anualmente, a vacinação é feita em todos os canis visitados, sendo que, no período em que foi aplicado o questionário (janeiro a junho de 2005), todos os canis estavam regulares com a última vermifugação e dose de vacina.

A desinfecção dos canis foi avaliada pelo tipo de desinfetante e frequência de uso. Os desinfetantes mais citados, pela ordem, foram o cloro, sabão em pó, sabão líquido, hipoclorito (água sanitária) e creolina. Quanto à frequência, esta variou de acordo com o produto utilizado. No distrito Leste, por exemplo, o cloro é utilizado mensalmente e o hipoclorito três

vezes na semana; no distrito Oeste, o cloro e/ou a creolina são usados duas vezes por semana e o sabão em pó, duas vezes ao mês; no distrito Norte, o cloro é utilizado apenas uma vez por mês; no distrito Sul, o hipoclorito é usado três vezes na semana, assim como no distrito Central.

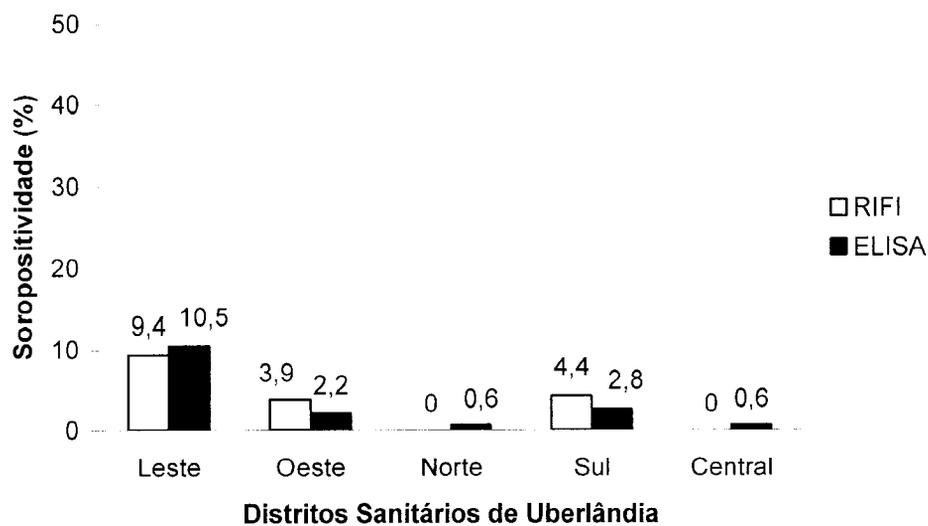
Em relação à sanidade dos canis, foi registrado episódios de diarreia recente nos filhotes dos distritos Leste (caso isolado), Oeste (todos os dias) e Norte (raramente). As causas foram respectivamente por infecção bacteriana devido ao contato com cães de outro local, parasitos como coccídeos e ancilostomídeos e por *Ehrlichia* sp e *Babesia* sp. O tratamento realizado nos filhotes do distrito Leste baseou em antibióticos por se tratar de infecção bacteriana. No distrito Oeste, raramente administra-se o medicamento, o que leva muitos cães à óbito. No distrito Norte, o tratamento foi feito com drogas a base de sulfa.

A posição dos tratadores (funcionários de canis) na cadeia epidemiológica foi avaliada por parâmetros que levaram em consideração a situação dos sanitários por eles utilizados, destino de suas fezes, doenças ocorridas e medicamentos utilizados nos últimos meses.

Em média, à distância dos canis aos sanitários dos tratadores é de 15 m, com a maior distância no distrito Oeste (60 m) e menor distância no distrito Norte (4 m). Em todos eles estão presentes sabonete e papel higiênico e o destino das fezes é o esgoto doméstico.

Não foi registrada nenhuma ocorrência de doença, problema respiratório ou gastrointestinal, recente, dentre os tratadores. O tratamento com vacina anti-tetânica, anti-rábica e hepatite B foi notificado em apenas dois tratadores do distrito Oeste.

A



B

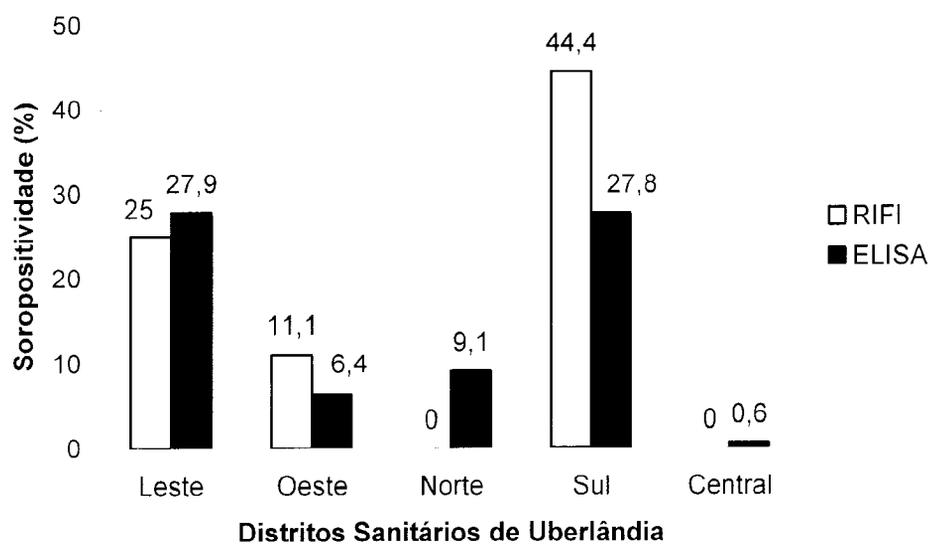


Figura 5: A – Soropositividade obtida nos testes RIFI e ELISA em amostras de soro caninas em relação ao número total de cães; B - Soropositividade dos cães em relação ao número de cães por distrito sanitário.

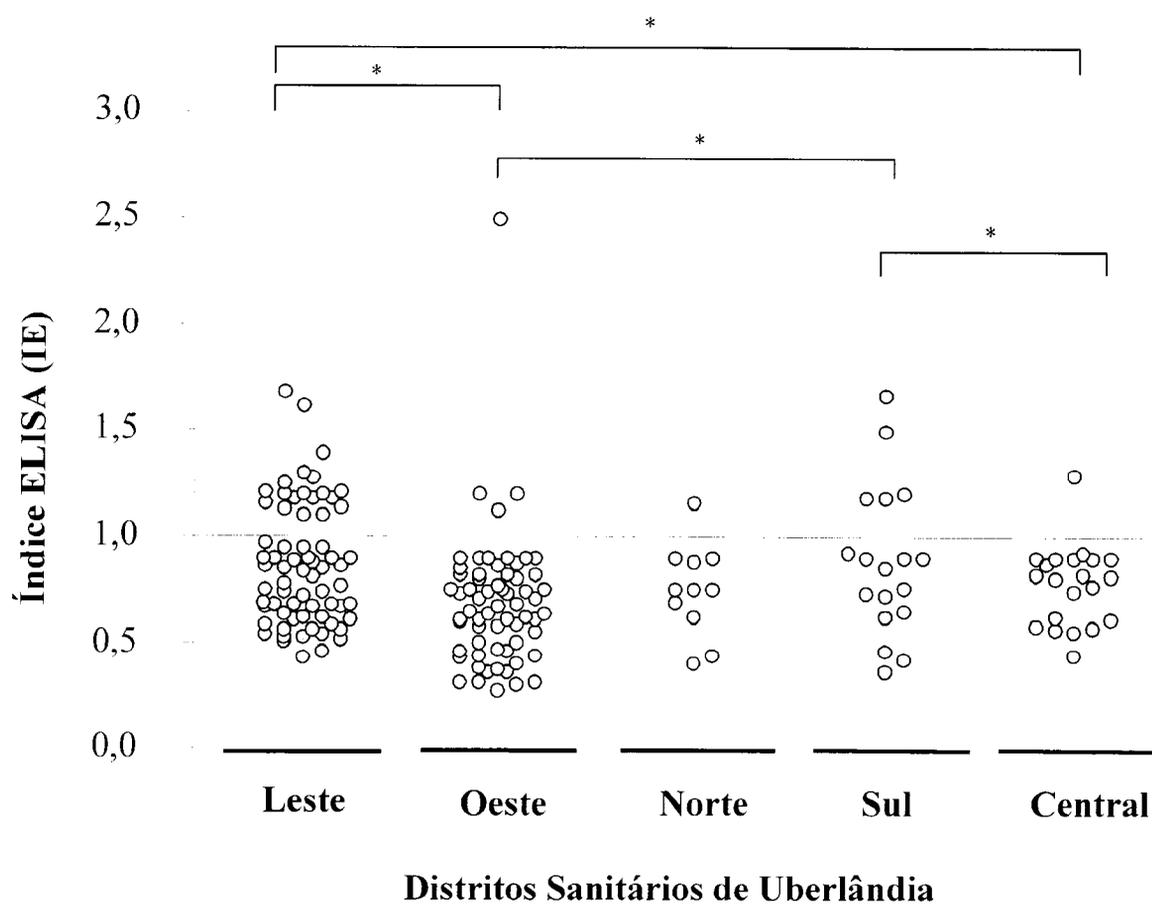


Figura 6: Níveis de anticorpos IgG anti-*Strongyloides stercoralis*, expressos em Índice de reatividade ELISA (IE), determinados em 181 amostras de soro de cães distribuídos nos distritos sanitários de Uberlândia. *Cut-off*=0,432; IE>1; * = p<0,05.

Tabela 5: Resultados comparativos entre os testes parasitológicos e imunológicos (IFAT e ELISA) nos cães com diagnóstico coproparasitológico positivo.

Parasitas	n+	IFAT n+(%)	ELISA n+ (%)
Ancilostomídeo	34	2 (5,9)	1 (2,9)
Ascaridídeo	21	0	0
<i>Cystoisospora</i> spp	14	2 (14,3)	0
<i>Entamoeba</i> sp	1	1 (100)	1 (100)
<i>Giardia</i> sp	19	3 (15,8)	2 (10,5)
<i>S. stercoralis</i>	1	1 (100)	1 (100)

n+ = número de cães parasitados

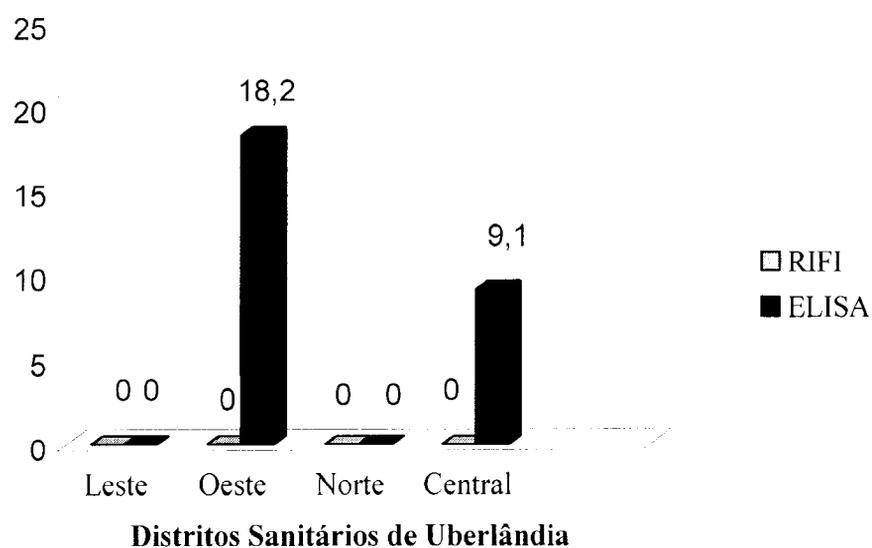


Figura 7: Soropositividade determinada por RIFI e ELISA para detecção de anticorpos IgG anti- *S. stercoralis* em 11 amostras de soro de tratadores dos distritos sanitários da cidade de Uberlândia (o distrito sanitário Sul não foi amostrado).

Tabela 6: Perfil epidemiológico dos canis visitados, distribuídos nos cinco distritos sanitários de Uberlândia, no período de janeiro de 2004 a junho de 2005.

Parâmetros	Leste	Oeste	Norte	Sul	Central
<i>Sistema de alimentação</i>					
Comedouro de plástico	X	X	X	X	
Comedouro de alumínio	X		X	X	X
Comedouro de alvenaria	X				
<i>Sistema de água</i>					
Bebedouro de água corrente					
Bebedouro de água parada	X	X	X	X	X
Água da rua	X	X	X	X	X
Água filtrada					
<i>Destino dos dejetos</i>					
Fossas sépticas		X			
Esgoto doméstico	X		X	X	X
<i>Revestimento de pisos e parede</i>					
Superfícies lisas e impermeáveis					
Superfícies rugosas e porosas	X	X	X	X	X

X= presente

5 – DISCUSSÃO

Testes parasitológicos, geralmente subestimam a prevalência de *S. stercoralis*, devido a baixa carga parasitária eliminada nas fezes (DREYER et al., 1996). A aplicação de técnicas parasitológicas e imunológicas associadas contribuem para o esclarecimento do diagnóstico clínico e epidemiológico da estrogiloidíase, propiciando adequada conduta terapêutica (PAULA et al., 2000).

Neste estudo, os resultados do diagnóstico coproparasitológico das fezes caninas com relação aos parasitos detectados, estão de acordo com outros autores no Brasil (ARAÚJO et al., 1986; OLIVEIRA et al., 1990; GENNARI et al., 1999; MUNDIM; CABRAL; FARIA, 2001; OLIVEIRA-SEQUEIRA et al., 2002, BLAZIUS et al., 2005; FERREIRA-JÚNIOR, 2005).

O fato de o único caso de *S. stercoralis* ser diagnosticado pelo segundo método adotado – concentração de material fecal por sedimentação espontânea (Lutz, 1919), reforça a idéia da sua utilização concomitante com o método específico para a pesquisa de larvas de nematódeo nas fezes (Baermann, 1917; Moraes, 1948).

Os resultados aqui apresentados diferem dos outros trabalhos já realizados em Uberlândia, principalmente, pelo diagnóstico de *S. stercoralis* em cão, onde o critério de distribuição desses animais privilegiou os distritos sanitários dessa cidade. O que corrobora com a afirmação seria o trabalho de Mundim, Cabral e Faria (2001) que examinaram 105 amostras fecais de cães domiciliados, machos e fêmeas, jovens e adultos, da referida cidade, pelo método de sedimentação (Lutz, 1919) e não detectaram larvas de *S. stercoralis* nos cães. Em outro trabalho realizado por Ferreira-Júnior (2005), ocorre a identificação pioneira de larvas de *S. stercoralis* em Uberlândia, porém o critério de distribuição dos cães não se referiu à distritos sanitários.

Apesar de os parasitos como ancilostomídeos, ascaridídeos, *Giardia* spp e *Cystoisospora* spp serem diagnosticados com frequência variando de 7,7 a 18,8%, não houve diferença estatisticamente significativa na positividade desses parasitos distribuídos em distritos sanitários, quando comparados ao número de cães parasitados e ao número total de cães examinados.

Os resultados coproparasitológicos deste estudo revelaram que os cães de até um ano de idade apresentaram maior frequência de enteroparasitos, estando de acordo com Oliveira et al., 1990 e Ferreira-Júnior, 2005. Os primeiros detectaram que dentre os cães parasitados

avaliados, 28,2% estavam na faixa etária entre zero e três meses, 36,3% entre quatro e 12 meses e 18,2% entre 13 e 24 meses. O segundo autor diagnosticou que do total de cães avaliados, 23,7% pertenciam ao grupo I (um a dois meses), 1,8% do grupo II (> dois meses a um ano) e 16,7% do grupo III (> um ano a sete anos), sugerindo que os animais jovens de até um ano foram os mais parasitados.

A elevada frequência de infecções por ancilostomídeos e ascaridídeos nos filhotes do distrito Oeste pode ser explicada de acordo com Burke, Roberson (1985) e Oliveira-Sequeira et al. (2002). Esses autores acreditam que os cães são susceptíveis às infecções por esses parasitos em todas as fases da vida, entretanto, o nível dessa parasitoses é elevado nos filhotes porque o sistema imune destes animais encontra-se imaturo e há larvas em estados de quiescência alojadas na musculatura da fêmea, as quais durante a gestação reativam-se e, através das vias transplacentárias e transmamárias, conseguem infectar os filhotes nos períodos pré-natal e de amamentação.

O estudo com as amostras de fezes dos tratadores diagnosticou a frequência de infecção por ancilostomídeo (9,1%) em indivíduo do sexo masculino de 23 anos. Esse dado é bem menor que as prevalências registradas por outros autores (CHANGHUA et al., 1999; MORALES et al., 1999; BETHONY et al., 2002). Na Venezuela, a prevalência de ancilostomose foi 5,8% em indivíduos com mais de 50 anos (MORALES et al., 1999). Estudos epidemiológicos realizados em províncias da China revelaram mudanças no perfil da infecção por ancilostomídeos, demonstrando ser um problema emergente entre a população com mais de 50 anos. Estes dados demonstram que a infecção por ancilostomídeos apresenta distribuição global heterogênea e constitui grave problema de saúde pública com alta prevalência nos países tropicais e subtropicais (CHAN, 1997; CHANGHUA et al., 1999); BETHONY et al., 2002).

Os métodos imunológicos são úteis na avaliação da resposta imune do hospedeiro nos casos de formas assintomáticas e no esclarecimento do diagnóstico clínico além da positividade de emprego em inquéritos soroepidemiológicos (COSTA-CRUZ, 2000).

Nesse estudo, os resultados dos testes imunológicos para *S. stercoralis*, entre os cães do grupo I (um a dois meses) nos cinco distritos sanitários, detectou níveis de IgG específica para *S. stercoralis* em apenas um filhote do distrito Oeste e que mesmo assim, não estava positivo nos exames de fezes. De acordo com Grove e Northern (1982), os níveis de IgG específica para *S. stercoralis* surgem no soro dos animais duas semanas após a infecção com o helminto.

Foi observada baixa concordância entre os resultados dos testes IFAT e ELISA (46,5% dos casos) nos cinco distritos sanitários. Esse dado diverge daquele encontrado por Ferreira-Júnior (2005) onde a concordância entre os resultados atinge 85,1% dos casos. No entanto, é concordante com a informação de que no teste IFAT a maioria dos soros reagentes apresentaram título de 80. De acordo com esse autor, a detecção de anticorpos específicos circulantes, anti - *S. stercoralis*, nos cães com testes parasitológicos positivos para *Giardia* spp, na ausência de larvas do helminto nas fezes, pode sugerir a existência de infecção crônica, com poucas fêmeas parasitas, infecção progressiva ou resultado parasitológico falso negativo.

No presente estudo, quando utilizou-se o teste IFAT, para amostras de soro humano, não foi registrado nenhuma positividade. Resultados diferentes foram observados em indivíduos infectados cronicamente por *S. stercoralis*, onde foi detectada 92% de reatividade para IgG nas amostras de soro de 48 pacientes analisados pelo teste IFAT com antígeno homólogo de *S. stercoralis* (GENTA; GARY; WEIL, 1982).

No teste ELISA, a positividade em três tratadores (sendo dois negativos no parasitológico), sugere que este teste para detecção de IgG não distingue infecção aguda de crônica. Assim, sabendo que níveis de anticorpos séricos anti-*S. stercoralis* podem permanecer elevados por longos períodos após o tratamento, um resultado positivo pode auxiliar a estabelecer o diagnóstico da infecção, principalmente em áreas de maior endemicidade (GENTA et al., 1988).

As evidências epidemiológicas sugerem que a preocupação com a desinfecção dos canis e com as instalações sanitárias adequadas propiciou a baixa positividade de *S. stercoralis* nos exames parasitológicos e imunológicos dos cães e dos tratadores.

A redução na frequência das helmintoses está relacionada com conhecimentos que os proprietários adquirem de verminoses, à facilidade de aquisição de produtos como os vermífugos e à utilização indiscriminada, como único método de controle para enteroparasitos nos canis (BUGG et al., 1999).

6 - CONCLUSÕES

- A ocorrência de infecção por *S. stercoralis* nos exames coproparasitológicos em cães confinados em canis foi considerada baixa (0,6%), na cidade de Uberlândia, porém, pelos métodos imunológicos houve soropositividade de 25,4% dos cães;
- Pelos métodos parasitológicos de fezes nas amostras dos tratadores, a infecção por *S. stercoralis* não foi diagnosticada, porém, nos testes imunológicos, houve uma reatividade 27,3%;
- As informações epidemiológicas possibilitaram a construção do perfil das condições higiênico-sanitárias dos canis.

7 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS *

ARAÚJO, R. B.; FERREIRA, P. M.; ASSIS, C. B.; DEL CARLO, R. J. ; VIEIRA, D. Intestinal helminthiasis in dogs in the micro-region of Viçosa, state of Minas Gerais - Brazil. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 38, n.2, p. 197-203, 1986.

ASANO, K.; SUZUKI, K.; MATSUMOTO, T.; SAKAI, T.; ASANO, R. Prevalence of dogs with intestinal parasites in Tochigi, Japan in 1979, 1991 and 2002. **Veterinary Parasitology**, v.120, p. 243-248, 2004.

ASHTON, F. T.; LI, J.; SCHAD, G. A. Chemo and thermosensory neurons: structure and function in animal parasitic nematodes. **Veterinary Parasitology**, v.84, p. 297-316, 1999.

ASHTON, F. T.; BHOPALE, V. M.; FINE, A. E.; SCHAD, G. A. Sensory neuroanatomy of a skin penetrating nematode parasite: *Strongyloides stercoralis*. I Amphidial Neurons. **The Journal of Comparative Neurology**, v.357, p.281-295, 1995.

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

BAERMANN, G. T. Eine einfache Methode zur Auffindung von Ankylostomun (Nematoden) Larven in Erdproben. Mededeel. mit H.in.Geneesk. Batavia, **Laboratories Weltevreden Feestbundel**, p. 41-47, 1917.

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

BETHONY, J.; CHEN, J.; LIN, S.; XIAO, S.; ZHAN, B.; LI, S.; XUE, H.; XING, F.; HUMPHRIES, D.; YAN, W.; CHEN, G.; FOSTER, V.; HAWDON, J. M.; HOTEZ, P. J. Emerging patterns of hookworm infection: influence of aging on the intensity of *Necator* infection in Hainan Province, people's Republic of China. **Clinical Infectious Diseases**, v.35, p.1336-1344, 2002.

* De acordo com a NBR-6023/2002 da Associação Brasileira de Normas Técnicas, Comissão de Estudos de Documentação, rio de Janeiro.

BLAZIUS, R.D.; EMERICK, S.; PROPHIRO, J.S.; ROMÃO, P.R.T.; SILVA, O.S. Ocorrência de protozoários e helmintos em amostras de fezes de cães errantes da cidade de Itapema, Santa Catarina. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 38, p. 73-74, 2005.

BUGG, R. J.; ROBERTSON, I. D.; ELLIOT, A. D.; THOMPSON, R. C. Gastrointestinal parasites of urban dogs in Perth Western Australia. **Veterinary Journal**, v. 157, n.3, p.295-301, 1999.

BURKE, T.M., ROBERSON, E.L. Prenatal and lactational transmission of *Toxocara canis* and *Ancylostoma caninum*: experimental infection of bitch at midpregnancy and at parturition. **International Journal for Parasitology**, v 15, n.5, p. 485-490, 1985.

CELEDON, J. C.; MATHUR-WAGH, U.; FOX, J.; GARCIA, R.; WIEST, P. M. Systemic strongyloidiasis in patients infected with the human immunodeficiency virus. A report of 3 cases and reviews of the literature. **Medicine**, Madrid, v.73, p. 256-263, 1994.

CHAN, M. S. The global burden of intestinal nematode infections - Fifty years on. **Parasitology Today**, v.13, n.11, p.438-443, 1997.

CHANGHUA, L.; XIAORONG, Z.; DONGCCHUAN, Q.; SHUHUA, X.; HOTEZ, R. J.; DEFU, Z.; HULIAN, Z.; MINGDEN, L.; HAINAN, R.; BING, Z.; HAICHOU, X.; HAWDON, J.; ZHENG, F. Epidemiology of human hookworm infections among adult villagers in Hejiang and Santai Counties, Sichuan province, China. **Acta Tropica**, v.73, p.243-249, 1999.

CHAVES-BORGES, F. A.; MINEO, J. R. **Medidas de biossegurança em laboratórios**. Uberlândia: EDUFU, 1997, 55p.

CIOMS. **International guiding principles for biomedical research involving animals**, Geneva, 1985. Disponível em: <http://www.cioms.ch/frame_1985_texts-of_guidelines.htm>. Acesso em: 30 Abr. 2005.

COLÉGIO BRASILEIRO EM EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL. **Princípios éticos na experimentação animal**, 1991. Disponível em: <<http://www.meusite.com.br/COBEA/etica.htm>>. Acesso em: 30 Abr. 2005

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

COSTA-CRUZ, J. M. *Strongyloides stercoralis*. In: NEVES, D. P.; MELO, A. L.; GENARO, O.; LINARDI, P. M. **Parasitologia humana**. 10. ed., São Paulo: Atheneu, 2000. p.247-256.

COSTA-CRUZ, J. M.; MACHADO, E. R.; CAMPOS, D. M. B. Seroepidemiological study of human strongyloidiasis with blood samples collected on filter paper in Abadia dos Dourados (Minas Gerais, Brazil). **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, São Paulo, v. 40, n.5, p. 329-331, 1998.

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

DREYER, G.; FERNANDES-SILVA, E.; ALVES, S.; ROCHA, A.; ALBUQUERQUE, R.; ADDISS, D. Patterns of detection of *Strongyloides stercoralis* in stool specimens - Implications for diagnosis and clinical trials. **Journal of Clinical Microbiology**, v.34, p.2569-2571, 1996.

EGIDIO, J. M.; DE DIEGO, J. A.; PENIN, P. The prevalence of enteropathy due to strongyloidiasis in Puerto Maldonado (Peruvian Amazon). **The Brazilian Journal Infections Diseases**, v.5, n.3, p.119-123, 2001.

FERREIRA, M. S. Estrongiloidíase. IN: VERONESI, R.; FOCCACIA, R.; DIETZE, R. (Eds.) **Doenças infecciosas e parasitárias**. 8. ed. Rio de Janeiro: Guanabara koogan, 1991, p. 856-865.

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**, Chicago, v. 28, p. 154-155, 1999.

FERREIRA-JÚNIOR, A. **Diagnóstico coproparasitológico e detecção de anticorpos anti-*Strongyloides stercoralis* em amostras de soros de cães domésticos**. 2005. 55f. Dissertação (Mestrado em Imunologia e Parasitologia Aplicadas) - Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2005.

FREITAS, M. F. **Helmintologia Veterinária**. Copiadora e Editora Rabelo& Brasil. Belo Horizonte, p.396, 1976.

GAM, A.A., NEVA, F.A., KROTOSKI, W.A. Comparative sensitivity and specificity of ELISA and IHA for serodiagnosis of strongyloidiasis with larval antigens. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v.37, p.157-161, 1987.

GENNARI, S.M., KASAI, N., PENA, H.F.J., CORTEZ, A. Occurrence of protozoa and helminths an faecal samples dogs and cats from São Paulo city. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v.36, 1999.

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

GENTA, R.M.; GARY, J.; WEIL, M. D. Antibodies to *Strongyloides stercoralis* larval surface antigens in chronic strongyloidiasis. **Laboratory Investigations**, v.47, p.87-90, 1982.

GENTA, R. M.; GATTI, S.; LINKE, M.J.; CEVINI, C.; SCAGLIA, M. Endemic strongyloidiasis in northern Italy: clinical and immunological aspects. **Quarterly Journal of Medicine**, New Series, v.68, p.679-690, 1988.

GEORGI, J.R.; SPRINKLE, C.L. A case of human strongyloidiasis apparently contracted from asymptomatic colony dogs. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v.23, n.5, p.899-901, 1974.

GOMPELS, M.; TADOL, J.; PETERS, B. S.; PINCHING, A. J. Disseminated strongyloidiasis in AIDS: uncommon but important. **AIDS**, v. 5, p. 329-332, 1991.

GRANDJEAN, D.; VAISSAIRE, J. P. **Enciclopédia do Cão**. Aniwa Publishing, Paris, 635p., 2001.

GROVE, D. I. Human strongyloidiasis. In: BAKER, J. R.; MULLER, R.; ROLLINSON, D. **Advances in parasitology**. New York. Academic Press, v.38, p.251-309, 1996

GROVE, D. I.; NORTHERN, C. Infection and immunity in dogs infected with a human strain of *Strongyloides stercoralis*. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v.76, n.6, p.833-838, 1982.

GROVE, D. I.; HEENAN, P. J.; NORTHERN, C. Persistent and disseminated infections with *Strongyloides stercoralis* in immunosuppressed dogs. **International Journal for Parasitology**, Nedlands, v.13, n.5, p. 483-490, 1983.

HENDRIX, C.M.; BLACBURN, B.L.; LINDSAY, D.S. Whipworms and intestinal threadworms. **The Veterinary Clinics of North America**, v.17, n.6, p.1366-1373, 1987.

ITO, N.; MURAOKA, N.; AOKI, M.; ITAGAKI, T. Prevalence of *Strongyloides* spp. infection in household dogs. **Kansenshogaku Zasshi**, v.77, p. 430-435, 2003.

JORDAN, H. E.; MULLINS, S. T.; STEBBINS, M. E. Endoparasitism in dogs: 212.583 cases (1981-1990). **Journal of American Veterinary Medicine association**, v.203, n.4, p.547-549, 1993.

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

KOBAYASHI, J.; HASENGAWA, H.; SOARES, E. C.; TOMA, H.; DACAL, A. R. C. D. O.; BRITO, M. C.; YAMANAKA, A.; FOLI, A. A.; SATO, Y. Studies on prevalence of *Strongyloides* infection in Holambra and Maceio, Brazil, by the agar plate faecal culture method. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, São Paulo, v.38, n.4, p. 279-283, 1996.

KOOSHA, S.; FESHARAKI, M.; ROKNI, M. B. Evaluation of enzyme-linked immunosorbent assay for the serodiagnosis of strongyloidiasis. **The Pakistan of Journal Medicine and Science**, v. 20, n.1, p.36-40, 2004.

LINDO, F.J; CONWAY, D. J.; ATIKINS, N.S.; BIANCO, A. E.; ROBINOAN, R. D.; BUNDY, D. A. P. Prospective evaluation of enzyme-linked immunosorbent assay and immunoblot methods for the diagnosis of endemic *Strongyloides stercoralis* infection. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v.51, n.2, p.175-179, 1994.

LIU, L. X.; WELLER, P. F. Strongyloidiasis and other intestinal nematode infections. **Infectious Diseases Clinics of North America**, Orlando, v.37, p. 655-682, 1993.

LOWRY, V. H.; ROSEBROUGH, N. J.; FARR, A. L.; RANDALL, R.J. Protein measurement with Folin phenol reagent. **Journal of Biological Chemistry**, v.29, p. 265-275, 1951.

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

- MACHADO, E. R.; COSTA-CRUZ, J. M. *Strongyloides stercoralis* and other enteroparasites in children at Uberlândia city state of Minas Gerais, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v.39, p.161-164, 1998.
- MACHADO, E. R.; UETA, M. T.; GONÇALVES-PIRES, M.R.F.; OLIVEIRA, J. B. A.; FACCIOLI, L. H.; COSTA-CRUZ, J. M. Diagnosis of human strongyloidiasis using particulate antigen of two strains of *Strongyloides venezuelensis* in indirect immunofluorescence antibody test. **Experimental Parasitology**, v. 99, p. 52-55, 2001.
- MALONE, J.B., BREITSCHWERDT, E.B., LITTLE, M.D., OCHOA, R., WOLF, K.A. *Strongyloides stercoralis*-like infection in a dog. **The Journal of American Veterinary Medicine Association**, v.176, p.130-133, 1980.
- MANSFIELD, L.S., SCHAD, G.A. *Strongyloides stercoralis* infection in IgA-deficient dogs. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v.47, p. 830-836, 1992.
- MINAAR, W.N., KRECEK, R.C. Helminths in dogs belonging to people in a resource-limited urban community in Gauteng. South Africa. **Onderstepoort Journal Veterinary Research**, v.69, n.2, p.111-117, 2001.
- MORAES, R. G. Condições para o estudo de *Strongyloides stercoralis* e da estrogiloidíase no Brasil. **Revista do Serviço Especial em Saúde Pública**, v.1, p.507-524, 1948.
- MORALES, G. A.C.; MORALES, L. P.; ARTEAGA, C.; MATINELA, L.; ROJAS, H. Prevalências de las geohelmintiasis intestinales em 100 municipios de Venezuela (1989-1992). **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.32, n.3, p.263-270, 1999.
- MUNDIM, M.J.S., CABRAL, D.D., FARIA, E.S.M. Endoparasites of importance as zoonosis found in faecal samples from domiciliated dogs in Uberlândia, Minas Gerais. **Veterinária Notícias**, Uberlândia, v.7, n.2, p. 73-77, 2001.
- NEVES, D. P.; MELO, A. L.; GENARO, O.; LINARDI, P. M.. **Parasitologia Humana**, 10.ed. Belo Horizonte: Atheneu, 2000. p.405-414.
- NOZAIS, J. P.; THELLIE, M.; DATRY, A.; DANIS, M. Disseminated strongyloidiasis. **Presse Medicine**, v. 30, p. 813-818, 2001.
- OLIVEIRA, L. C. M.; RIBEIRO, C. T.; MENDES, D. M.; OLIVEIRA, T. C.; COSTA-CRUZ, J. M. Frequency of *Strongyloides stercoralis* infection in alcoholics. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 97, n.1, p. 119-121, 2002.

OLIVEIRA, P.R., SILVA, P.L., PARREIRA, V.F., RIBEIRO, S.C.A., GOMES, J.B. Prevalence of endoparasites in dogs in the region of Uberlândia, Minas Gerais State. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 27, n.2, p.193-197, 1990.

OLIVEIRA-SEQUEIRA, T.C.G., AMARANTE, A.F.T., FERRARI, T.B., NUNES, L.C. Prevalence of intestinal parasites in dogs from São Paulo State, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v.103, p.19-27, 2002.

PAULA, F. M.; CASTRO, E. D.; GONÇALVES-PIRES, M. R. F.; MARÇAL, M. G.; CAMPOS, D. M. B.; COSTA-CRUZ, J. M. 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**, São Paulo, v. 42, n.1, p. 51-55, 2000.

PIRES, M. L.; DREYER, G. Revendo a importância do *Strongyloides stercoralis*. **Revista do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de São Paulo**, São Paulo, v.48, n.3, p. 175-182, 1993.

REY, L. *Strongyloides stercoralis* e estrrongiloidíase. In: _____. **Parasitologia**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001. p. 581-590.

ROBERTSON, I.D., THOMPSON, R.C. Enteric parasitic zoonoses of domesticated dogs and cats. **Microbes and Infection**, v. 4, p.867-873, 2002.

RODRIGUES, P. C. **Bioestatística**. Niterói: EDUFF, 1986. 227p.

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**, v.99, p. 83-89, 2004.

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

ROSA, R.; LIMA, S. C.; ASSUNÇÃO, W. L. Abordagem preliminar das condições Climáticas de Uberlândia (MG). **Sociedade & Natureza**, v.3, n.5 e 6, p. 91-108, 1991.

SAFDAR, A.; MALATHUM, K.; RODRIGUEZ, S. J.; HUSNI, R.; ROLSTON, K. V. Strongyloidiasis in patients at comprehensive cancer center in the United States. **Cancer**, v.100, p.1531-1536, 2004.

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

SCHAD, G.A; HELLMAN, M.E; MUNCEY, D.W. *Strongyloides stercoralis*: hyperinfection in immunosuppressed dogs. **Experimental Parasitology**, v.57, p.287-296, 1984.

SIDDIQUI, A. A.; BERK, S. Diagnosis of *Strongyloides stercoralis* infection. **Clinical Infectious Diseases**, Chicago, v.33, p. 1040-1047, 2001.

SOULSBY, E. J. **Helminths, Artropods and Protozoa of domesticated Animals**. Baillière Tindall. London, 809p., 1982.

STROMBECK, D. R.; GUILFORD, W. G. **Enfermedades digestivas de los animales pequeños**. 2ª. Ed. Inter-médica. Colômbia, 796p., 1995.

TARANTO, N. J.; FILLIPI, H. B.; ORIONE, O. Prevalencia de la infección por *Strongyloides stercoralis* em la primeira infância. Orán, Salta (Argentina). **Boletín Chileno Parasitology**, v. 48, p. 49-51, 1993.

TRAUB, R.J., ROBERTSON, I.D., IRWIN, P., MENCKE, N., THOMPSON, R.C.A. The role of dogs in transmission of gastrointestinal parasites in a remote tea-growing community in Northeastern India. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 67, p. 539-545, 2002.

WILSON, M.B., NAKANE, P.K. Recent development in the periodate method of conjugating horseradish peroxidase (HRPO) to antibodies. In **W. Knapp, K. Holuban, G. Wick (eds.): Immunofluorescence and Related Techniques**. North-Holland Biomedical, Amsterdam, p. 215, 1978.

8 - ANEXOS

ANEXO I – Termo de Consentimento

AVALIAÇÃO PARASITOLÓGICA, IMUNOLÓGICA E EPIDEMIOLÓGICA DA ESTRONGILOIDÍASE EM CÃES E EM SEUS TRATADORES NA CIDADE DE UBERLÂNDIA – MG

Eu, _____ RG: _____

concordo em participar do projeto de pesquisa intitulado “**Avaliação parasitológica, imunológica e epidemiológica da strongiloidíase em cães e em seus tratadores na cidade de Uberlândia – MG**” que será realizado no Laboratório de Parasitologia da Universidade Federal de Uberlândia e estando ciente dos seguintes aspectos:

- Os objetivos da pesquisa visam verificar a ocorrência de infecção por *Strongyloides stercoralis* em cães confinados em canis comerciais bem como em seus tratadores. Além disso, pretende-se comparar por métodos estatísticos os resultados do inquérito epidemiológico com os resultados obtidos nos métodos de diagnósticos parasitológicos e imunológicos.
- Necessidade de colheita de amostras de sangue e de fezes.
- Todos os materiais e equipamentos necessários para a realização do projeto já estão disponíveis.
- Terei a garantia de receber resposta a qualquer pergunta, ou esclarecimento a qualquer dúvida à cerca dos procedimentos, riscos, benefícios e outros assuntos relacionados com a investigação.
- Terei a garantia de recusar a participação ou até retirar meu consentimento em qualquer fase da pesquisa sem qualquer penalização ou prejuízo no que se refere ao meu atendimento.
- Será respeitado o caráter confidencial das informações fornecidas, não sendo permitida a minha identificação.
- Serei informado dos resultados da análise das amostras, e caso necessário, serei orientado quanto à necessidade de tratamento médico.

Assinatura do voluntário

data

Ana Lúcia Ribeiro Gonçalves (Bacharelanda)
Telefone do Laboratório: 3218 2198

data

Profª. Drª. Julia Maria Costa Cruz (Orientadora)

data

Telefone: 3218 2198

ANEXO II - Questionário Epidemiológico

AVALIAÇÃO PARASITOLÓGICA, IMUNOLÓGICA E EPIDEMIOLÓGICA DA ESTRONGILOIDÍASE EM CÃES E EM SEUS TRATADORES NA CIDADE DE UBERLÂNDIA – MG

1. CÃES

Local: _____ Distrito: _____
 Número de cães: _____
 Reprodutores machos : _____
 Matrizes: _____
 Filhotes: _____

1.1 SISTEMA DE ALIMENTAÇÃO

- () comedouro de plástico
 () comedouro de alumínio
 () comedouro de alvenaria

1.2 Altura do comedouro em relação ao solo:

1.3 SISTEMA DE ÁGUA

- () bebedouro de água corrente
 () bebedouro de água parada
 () água da rua
 () água filtrada

1.4 Altura do bebedouro em relação ao solo:

1.5 DESTINO DOS DEJETOS

- () fossas sépticas
 () esgoto doméstico

1.6 Frequência de vermifugação: _____

1.7 Última vermifugação: _____

1.8 Vacinações: _____

1.9 DESINFECÇÕES

1.9.1 Tipos de desinfetante _____

1.9.2 Frequência de uso _____

1.10 REVESTIMENTO DE PISOS E PAREDES

- () superfícies lisas e impermeáveis
 () superfícies rugosas e porosas

1.11 SANIDADE DO CANIL

Houve algum episódio de diarreia recente nos filhotes?

sim não

Qual foi a causa?

Qual foi o tratamento?

Houve óbito?

sim não

Foi feita necrópsia?

sim não

Resultado:

2. FUNCIONÁRIOS

Número de funcionários: _____

2.1 SANITÁRIOS PARA FUNCIONÁRIOS

A) Distância do Canil _____

B) Sabonete:

presente ausente

C) Papel higiênico:

presente ausente

2.2 DESTINO DAS FEZES DOS FUNCIONÁRIOS

fossas sépticas

esgoto doméstico

2.3 TRATAMENTO

Data:

Produto:

2.4 DOENÇAS OCORRIDAS:

Qual? _____

Quando? _____

Apresentou algum problema respiratório recentemente? _____

Apresentou algum problema gastrointestinal recente? _____

Observações:

