

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM IMUNOLOGIA E PARASITOLOGIA
APLICADAS

**AVALIAÇÃO DA IMUNOSSUPRESSÃO CAUSADA PELA ADMINISTRAÇÃO ORAL E
SUBCUTÂNEA DE DEXAMETASONA EM RATOS INFECTADOS
EXPERIMENTALMENTE POR *Strongyloides venezuelensis***

LUISA QUEIROZ CORRÊA

Uberlândia-MG
2019

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM IMUNOLOGIA E PARASITOLOGIA
APLICADAS

**AVALIAÇÃO DA IMUNOSSUPRESSÃO CAUSADA PELA ADMINISTRAÇÃO
ORAL E SUBCUTÂNEA DE DEXAMETASONA EM RATOS INFECTADOS
EXPERIMENTALMENTE POR *Strongyloides venezuelensis***

Dissertação apresentada ao colegiado do
Programa de Pós-graduação em Imunologia e
Parasitologia Aplicadas como parte dos
requisitos para obtenção do título de Mestre
em Imunologia e Parasitologia Aplicadas.

Luisa Queiroz Corrêa

Prof^a. Dr^a. Julia Maria Costa Cruz

Orientadora

Uberlândia-MG
2019

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema de Bibliotecas da UFU, MG, Brasil.

C824a
2019 Corrêa, Luisa Queiroz, 1995
Avaliação da imunossupressão causada pela administração oral e subcutânea de dexametasona em ratos infectados experimentalmente por *Strongyloides venezuelensis* [recurso eletrônico] / Luisa Queiroz Corrêa. - 2019.

Orientadora: Julia Maria Costa-Cruz.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Uberlândia, Programa de Pós-Graduação em Imunologia e Parasitologia Aplicadas.

Modo de acesso: Internet.

Disponível em: <http://dx.doi.org/10.14393/ufu.di.2019.1310>

Inclui bibliografia.

Inclui ilustrações.

1. Imunologia. 2. *Strongyloides venezuelensis*. 3. Dexametasona. 4. Estrongiloidíase. I. Costa-Cruz, Julia Maria, 1956, (Orient.) II. Universidade Federal de Uberlândia. Programa de Pós-Graduação em Imunologia e Parasitologia Aplicadas. III. Título.

CDU: 612.017

Angela Aparecida Vicentini Tzi Tziboy – CRB-6/947



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS



Programa de Pós-graduação em Imunologia e Parasitologia Aplicadas

Luisa Queiroz Corrêa

“Avaliação da imunossupressão causada pela administração oral e subcutânea de dexametasona em ratos infectados experimentalmente por *Strongyloides venezuelensis*”

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Imunologia e Parasitologia Aplicadas da Universidade Federal de Uberlândia, para a obtenção do título de Mestre.

Área de concentração: Imunologia e Parasitologia Aplicadas.

Banca Examinadora:

Uberlândia, 25 de fevereiro de 2019.


Prof. Dra. Rosângela Maria Rodrigues – UFU/Jataí


Prof. Dra. Ana Paula Coelho Balbi – ICBIM/UFU


Prof. Dra. Julia Maria Costa Cruz (orientadora) – ICBIM/UFU

AGRADECIMENTOS

Agradeço à toda equipe do Laboratório de Diagnóstico de Parasitoses da Universidade Federal de Uberlândia, pelo apoio e troca de vivências, dentro e fora do laboratório. À Prof^a. Dr^a. Julia Maria Costa Cruz, pelo privilégio de ser sua orientanda, e poder contar com toda sua experiência, pela paciência e dedicação no desenvolvimento dos estudos. Ao Edson e Eduardo, pelos ensinamentos preciosos, pela presença durante os experimentos, e acima de tudo, pela amizade. À Camila e Gabriela pelo companheirismo. À técnica do laboratório, Dr^a. Vanessa e ao Dr. Henrique, pelas ideias e contribuições. Aos demais, técnicos, secretários, funcionários, colegas e professores do programa.

À minhas irmãs Laura e Marina, e à minha mãe Gislaine por me permitirem ser verdadeiramente quem sou, e por não soltarem minha mão por nenhum segundo, nos momentos de felicidade e nas crises. Ao meu pai Luiz, por sempre me apoiar e por não medir esforços para que eu concluísse meus estudos. À minha gata, Morgana, por ser a criatura mais incrível do universo. Aos meus primos, Victor, Ana, Augusto, Júlia, Olívia, Cadu, João e Manu, por serem doçura e acalento para o coração, por me fazerem acreditar na beleza de viver. À minha madrinha Virgínia, por compartilharmos valores e sonhos, pelas preces e velas acesas. À minha tia Cláudia, pelo carinho e cuidado. Aos meus avós Rui, Delma, Maria Aparecida e Lázaro, que sempre estarão nos meus sonhos e coração. Todo meu amor é de vocês!

Aos meus amigos, meus amores. Vitor e Clara, obrigada por serem parte da minha família escolhida, por sempre validarem o que sinto, e por também acreditarem que família existe onde existe amor. Aos meus amigos e amigas, Joice, Isabella, Ingrid, Bernadete, Silvany, Mariana, Yannelle, Suzanna, Paulo Vitor, Victor, Renata, Bruna, Camila, Gabriela, Eduardo e Edson, por serem presentes, cada uma da sua forma. É lindo dividir a vida com vocês!

Às professoras Dr^a Ana Paula Coelho Balbi e Dr^a Rosangela Maria Rodrigues por aceitarem compor a banca e à Dr^a Juliana Silva Miranda por aceitar ser suplente. Agradeço pela disposição em avaliar e contribuir para esse estudo.

Às agências de fomento CAPES, CNPq e FAPEMIG.

“Voilà, ma petite Amélie, vous n'avez pas des os en verre. Vous pouvez vous cogner à la vie. Si vous laissez passer cette chance, alors avec le temps, c'est votre cœur qui va devenir aussi sec et cassant que mon squelette. Alors, allez-y, nom d'un chien!”

Jean-Pierre Junet- Le fabuleux Destin d' Amélie Poulain

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Média da contagem diferencial de leucócitos nos dias 0, 8, 13, 21 e 30.....48

Tabela 2: Mediana de ovos por grama (OPG) de fezes dos grupos nos dias 5, 7, 8, 12, 21, 26 e 30.....54

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Ciclo biológico de <i>S. stercoralis</i>	18
Figura 2: Prevalência da infecção por <i>S. stercoralis</i> por país.....	20
Figura 3: Fórmula molecular da dexametasona.....	28
Figura 4: Delineamento experimental das imunossupressões, infecção e coletas de amostras.....	37
Figura 5: Monitoramento do peso corporal (g) dos animais nos dias -5, 0, 8, 13, 21 e 30.....	45
Figura 6: Contagem global de leucócitos por mm ³ de sangue nos dias 0, 8, 13, 21 e 30.....	47
Figura 7: Contagem diferencial de linfócitos (%) nos dias 0, 8, 13, 21 e 30.....	50
Figura 8: Contagem diferencial de neutrófilos (%) nos dias 0, 8, 13, 21 e 30.....	52
Figura 9: Cinética de detecção de anticorpos IgG total (A), IgG1 (B), IgG2a (C) nos dias 0, 8, 13, 21 e 30 após infecção (d.p.i.) por ELISA indireto.....	53
Figura 10: Contagem de ovos por grama de fezes (OPG) nos dias 5, 7, 8, 13, 21, 26 e 30.....	55
Figura 11: Contagem de fêmeas parasitas no dia 30.....	55

RESUMO

Roedores infectados com *Strongyloides venezuelensis* são modelos experimentais aplicados ao estudo da strongiloidíase. Esse trabalho avaliou e comparou a eficácia de duas vias de administração de dexametasona (DEX) para indução de um modelo de imunossupressão na strongiloidíase murina. *Rattus norvegicus* Wistar foram divididos em grupos de seis animais: G I: animais não tratados e não infectados; G II: animais não tratados e infectados; G III: animais tratados por via de administração oral e não infectados; G IV: animais tratados por via de administração oral e infectados; G V: animais tratados por via de administração subcutânea e não infectados; G VI: animais tratados por via de administração subcutânea e infectados. Para o tratamento pela via oral, DEX foi diluída em água esterilizada (5µl/ml) e disponibilizada aos animais durante 5 dias (-5 a 0, 8 a 13 e 21 a 26). Para o tratamento subcutâneo, os animais receberam injeções diárias de fosfato dissódico de DEX (2mg/kg). A infecção foi estabelecida pela inoculação subcutânea de 3000 larvas filarioides de *S. venezuelensis* por animal. Os grupos foram avaliados por parâmetros físicos (peso corporal), hematológicos (contagem global e diferencial de leucócitos), imunológicos (detecção de IgG, IgG1 e IgG2a) e parasitológicos (contagem de ovos por grama de fezes e de fêmeas parasitas). Os grupos tratados com DEX, especialmente pela via subcutânea, apresentaram dificuldade de ganho de peso ao longo dos dias. Nos dias 8, 13, 21 e 30, a contagem global de leucócitos de G III, G IV, G V e G VI apresentou valores baixos em comparação aos controles G I e G II. Nos mesmos dias foi observada a diminuição do número de linfócitos e aumento do número de neutrófilos nos grupos tratados, de forma inversa ao observado para os controles. Os níveis de IgG, IgG1 e IgG2a de todos os grupos, com exceção do controle positivo G II, encontraram-se abaixo do limiar de detecção. G IV foi o grupo que mais eliminou ovos, com ocorrência de picos de eliminação no 13º e 26º dia pós infecção (d.p.i). Os números de ovos eliminados por G VI foram similares aos eliminados pelo controle (G II) nos dias 5, 7, 8, 13 e 21, e maior nos dias 26 e 30. A recuperação de fêmeas parasitas no 30º d.p.i. revelou-se significativamente maior no G IV. Ambos os tratamentos levaram à supressão de aspectos relacionados com a resposta imune celular e humoral, mas o tratamento pela via de administração oral mostrou-se efetivo no aumento da carga parasitária. A imunossupressão farmacológica induzida pela via de administração oral de DEX produziu alto rendimento de parasitos, é segura e não invasiva, e consiste em um protocolo útil ao estudo de aspectos imunobiológicos da strongiloidíase.

Palavras-chave: Dexametasona, imunossupressão, *Strongyloides venezuelensis*, infecção experimental.

ABSTRACT

EVALUATION OF IMMUNOSUPPRESSION CAUSED BY ORAL AND SUBCUTANEOUS ADMINISTRATION OF DEXAMETHASONE IN RATS EXPERIMENTALLY INFECTED BY *Strongyloides venezuelensis*

Rodents infected with *Strongyloides venezuelensis* are experimental models applied to strongyloidiasis study. This work evaluated and compared the efficacy of two routes of dexamethasone (DEX) administration for induction of immunosuppression a model in murine strongyloidiasis. *Rattus norvegicus* Wistar were divided into groups of six animals each: G I: untreated and uninfected animals; G II: untreated and infected animals; G III: animals treated by oral administration and uninfected; G IV: animals treated by oral administration and infected; G V: animals treated by subcutaneous administration and uninfected; G VI: animals treated by subcutaneous administration and infected. For oral treatment, DEX was diluted in sterilized water (5 µl/ml) and made available to the animals for 5 days (-5 to 0, 8 to 13, and 21 to 26). For the subcutaneous treatment animals received DEX disodium phosphate (2 mg/kg) daily injections. The infection was established by 3000 *S. venezuelensis* filarioid larvae subcutaneous inoculation per animal. The groups were evaluated by physical (body weight), hematological (global and differential leukocytes count), immunological (IgG, IgG1 and IgG2a detection) and parasitological parameters (egg count per gram of feces and parasite females). The groups treated with DEX, especially by the subcutaneous route, presented difficulty to gain weight throughout the days. On the 8th, 13th, 21st and 30th days post infection (d.p.i.), the global leukocyte count of GIII, G IV, G V and G VI was low compared to G I and G II controls. On the same days a decrease in the number of lymphocytes and an increase in the number of neutrophils in the immunosuppressed groups were observed, in a way that was reversed to the controls. The IgG, IgG1 and IgG2a levels for all groups, except for positive control G II, were below the detection threshold. G IV was the group that eliminated eggs the most, with occurrence of elimination peaks on 13th and 26th d.p.i. The numbers of eggs eliminated by G VI were similar to those found for control (G II) on days 5, 7, 8, 13 and 21, and higher on days 26 and 30. The parasitic females recovery at 30th d.p.i. was significantly higher in G IV. Both treatments led to the suppression of aspects related to the cellular and humoral immune response, but the treatment by the oral route showed to be effective in increasing the parasitic load. Pharmacological immunosuppression induced by the oral route of DEX produces a high parasitic load, is safe and non-invasive, and consists in a useful protocol for the strongyloidiasis immunobiological aspects study.

Key-words: Dexamethasone, immunosuppression, *Strongyloides venezuelensis*, experimental infection.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	13
1.1. Aspectos morfológicos do gênero <i>Strongyloides</i>	14
1.2. Modo de transmissão e ciclo biológico de <i>Strongyloides</i>	17
1.3. Epidemiologia da estrongiloidíase humana.....	19
1.4. Manifestações clínicas da estrongiloidíase humana.....	20
1.5. Diagnóstico, tratamento e profilaxia da estrongiloidíase humana.....	22
1.6. Resposta imunológica do hospedeiro.....	23
1.7. Imunocomprometimento associado a infecção por <i>Strongyloides</i> : glicocorticoides(GC).....	25
1.8. Dexametasona.....	27
1.9. Vias de administração oral e subcutânea.....	29
1.10. Roedores infectados por <i>Strongyloides venezuelensis</i> : modelo de estudo da estrongiloidíase.....	30
2. OBJETIVOS.....	33
2.1. Objetivo geral.....	33
2.2. Objetivos específicos.....	33
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	35
3.1. Aspectos éticos.....	35
3.2. Animais.....	35
3.3. Delineamento experimental.....	36
3.4. Imunossupressão farmacológica com dexametasona.....	37
3.4.1. Administração oral.....	37
3.4.2. Administração subcutânea.....	38
3.5. Obtenção de larvas filarioides de <i>S. venezuelensis</i> e infecção experimental.....	38
3.6. Avaliação de peso corporal e sobrevivência.....	38
3.7. Coleta de amostras de sangue e obtenção de soro.....	39
3.8. Avaliação de parâmetros hematológicos: contagem global e diferencial de leucócitos.....	39
3.9. Avaliação de parâmetros imunológicos.....	40
3.9.1. Produção de extrato salino de larvas filarioides de <i>S. venezuelensis</i>	40
3.9.2. ELISA indireto para detecção dos níveis de IgG total, IgG1 e IgG2a.....	40

3.10. Avaliação de parâmetros parasitológicos: ovos por grama de fezes e contagem de fêmeas parasitas.....	42
3.11. Análise estatística.....	42
3.12. Normas de biossegurança.....	43
4. RESULTADOS.....	44
4.1. Peso corporal e sobrevivência.....	44
4.2. Contagem global e diferencial de leucócitos no sangue periférico.....	45
4.2.1. Contagem global de leucócitos por mm ³ de sangue.....	45
4.2.2. Contagem diferencial de leucócitos.....	47
4.2.2.1. Contagem de linfócitos.....	49
4.2.2.2. Contagem de neutrófilos.....	50
4.3. Detecção dos níveis de IgG total, IgG1 e IgG2a anti- <i>S. venezuelensis</i>	52
4.4. Estimativa de ovos por grama de fezes e número de fêmeas parasitas.....	54
5. DISCUSSÃO.....	56
6. CONCLUSÕES.....	64
REFERÊNCIAS.....	65

1. INTRODUÇÃO

Nematódeos do gênero *Strongyloides* pertencem ao reino Metazoa, filo Nematoda, classe Sercenentea, ordem Rhabditida e família Strongyloididae, composta por parasitos de interesse médico e veterinário (REY, 2001). O gênero possui 52 espécies descritas, sendo duas delas consideradas infectantes para humanos: *Strongyloides stercoralis*, descrita por Bavay, em 1867 e *Strongyloides fuelleborni*, descrita por Von Linston, em 1905 (COSTA-CRUZ, 2016).

A estrongiloidíase humana é considerada pela Organização Mundial da Saúde uma doença tropical negligenciada, juntamente a outras helmintíases transmitidas pelo solo (WHO, 2018a). Aspectos como a elevada prevalência em regiões tropicais e subtropicais, facilidade de transmissão, potencial zoonótico, e a ocorrência de cronificação, autoinfecção, e quadros clínicos graves em pessoas com o sistema imunológico debilitado, tornam a estrongiloidíase um problema complexo, de caráter médico, sanitário e social (COSTA-CRUZ, 2016).

Strongyloides ratti, descrito pela primeira vez por Sandground (1925) e *Strongyloides venezuelensis*, descrito pela primeira vez por Brumpt (1934), são parasitos naturais de ratos (*Rattus norvegicus*). Ambas espécies têm sido amplamente utilizadas como modelos experimentais aplicados ao estudo de mecanismos imunobiológicos da estrongiloidíase. As infecções podem ser estabelecidas experimentalmente tanto em ratos como em camundongos, configurando um modelo de fácil manutenção laboratorial (VINEY; KIKUCHI, 2017).

A imunossupressão é um dos aspectos mais importantes no contexto da estrongiloidíase humana, uma vez que favorece a ocorrência de manifestações graves e até fatais (MARCOS et al., 2011). Uso de glicocorticoides (GC), como dexametasona (DEX), prednisona, prednisolona e metil-prednisolona, mesmo a curto prazo, apresentam forte associação com o desenvolvimento de síndrome de hiperinfecção e infecção disseminada. Além de sua ampla

ação sobre o sistema imunológico do hospedeiro, acredita-se que os GC atuem diretamente sobre o parasito *S. stercoralis* (NUTMAN, 2016).

Muitos estudos têm utilizado, como modelo experimental da estrongiloidíase, roedores infectados com *S. venezuelensis* e imunossuprimidos farmacologicamente. O modelo é aplicado ao estudo de novas ferramentas diagnósticas (CHAVES et al., 2015; DE CARVALHO et al., 2015; GONÇALVES et al., 2016; MARQUES et al., 2016) e de aspectos imunológicos da estrongiloidíase ainda desconhecidos (MACHADO et al., 2011; PATTON et al., 2018).

1.1. Aspectos morfológicos do gênero *Strongyloides*

O gênero *Strongyloides* possui a particularidade de se desenvolver por dois ciclos de vida, resultando em formas evolutivas morfológicamente distintas. Somente as fêmeas são parasitas, localizam-se no intestino e se reproduzem por partenogênese, originando ovos dos quais eclodem larvas rabditoides, que por sua vez dão origem a machos e fêmeas de vida livre no ambiente (VINEY; LOK, 2015).

A fêmea partenogenética ou fêmea parasita, mede aproximadamente 2 mm de comprimento, cilíndrica e filiforme, com a extremidade anterior arredondada e a posterior afilada. Possui cutícula fina, transparente e levemente estriada. O aparelho digestivo é simples, composto por boca, esôfago longo (ocupa cerca de um terço do comprimento do parasito) circundado por anel nervoso, intestino simples e ânus. O aparelho reprodutor é composto por útero, ovários, ovidutos e vulva, localizados na extremidade posterior do parasito (MORAES, 1948; VINEY; LOK, 2015; COSTA-CRUZ, 2016).

As formas de vida livre medem cerca de 1 mm de comprimento, sendo a fêmea ligeiramente maior que o macho. São fusiformes com a extremidade anterior arredondada e

posterior afilada. Apresentam cutícula fina, transparente, com leves estriações. O aparelho digestivo é simples, sendo o esôfago curto com formato rabditoide, e dividido em três partes: corpo, istmo e bulbo. O aparelho reprodutor da fêmea de vida livre é constituído de útero, ovários, oviduto, vulva e receptáculo seminal. O aparelho reprodutor do macho de vida livre é composto por testículos, vesícula seminal, canal deferente e canal ejaculador que se abre na cloaca. Possuem espículos e gubernáculo, estruturas que auxiliam a copula (MORAES, 1948; GROVE, 1996; REY, 2001; VINEY; LOK, 2015; COSTA-CRUZ, 2016).

Os ovos originários das fêmeas parasitas medem 0,05 mm de comprimento por 0,03 mm de largura, enquanto os das fêmeas de vida livre medem 0,07 mm de comprimento por 0,04 mm de largura. Possuem casca fina e transparente e formato elíptico (COSTA-CRUZ, 2016). Os ovos das fêmeas parasitas de *S. stercoralis* raramente podem ser observados, pois são liberados nas criptas de Lieberkühn, dando origem as larvas rabditoides liberadas nas fezes de hospedeiros infectados (TOLEDO; MUÑOZ-ANTOLI; ESTEBAN, 2015). Nas fezes de roedores infectados por *S. venezuelensis*, são eliminados ovos em estágio inicial de desenvolvimento. Enquanto nas fezes de roedores infectados por *S. rattii* são encontrados tanto ovos quanto larvas rabditoides (LITTLE, 1996; VINEY; KIKUCHI, 2017).

As larvas rabditoides (L1 e L2) medem 0,2 a 0,3 mm de comprimento e possuem cutícula fina e hialina. O sistema digestório é composto por boca pequena e esôfago rabditoide formado por dois bulbos: um anterior alongado e cilíndrico, o outro posterior e granuloso. Possui também um primórdio genital localizado no meio do corpo, formado por um aglomerado de células. A extremidade posterior é uma cauda pontiaguda (MORAES, 1948; REY, 2001; COSTA-CRUZ, 2016). Larvas L1 e L2 originadas da fêmea parasita de *S. stercoralis* são observadas nas fezes do hospedeiro, mas na forma disseminada da infecção, também podem ser encontradas em outros fluidos biológicos (COSTA-CRUZ, 2016).

As larvas filarioides (L3) medem 0,35 a 0,5 mm de comprimento e possuem cutícula fina e hialina. O esôfago é filarioide, o que origina a denominação. O intestino é longo e estreito, terminando em uma abertura anal (MORAES, 1948; VINEY; LOK, 2015; COSTA-CRUZ, 2016). A extremidade posterior termina em duas pontas, formando uma cauda entalhada (COSTA-CRUZ, 2016). L3 são as formas infectantes do parasito, podendo penetrar na pele e mucosas do hospedeiro quando presentes no solo. Larvas filarioides de *S. stercoralis* também podem evoluir no interior do hospedeiro e são chamadas de larvas filarioides autoinfectantes (L3a) (BRIGANDI et al., 1997; TOLEDO; MUÑOZ-ANTOLI; ESTEBAN, 2015; COSTA-CRUZ, 2016).

Vários caracteres morfológicos são utilizados na diferenciação das espécies. Nas fêmeas parasitas observa-se a disposição dos ovários que são paralelos ao intestino em *S. stercoralis* e *S. ratti*, e espiralados em *S. venezuelensis*. O formato do intestino também é diferenciado. Em visão transversal, o intestino de *S. stercoralis* possui formato hexagonal, o de *S. ratti* apresenta formato “*badge-shaped*”, e o de *S. venezuelensis* formato “*ornate*”. Ainda, é importante verificar quais as formas evolutivas eliminadas nas fezes (ovos, larvas ou ovos e larvas). Análise morfométrica do tamanho corporal e posição de estruturas também são utilizadas. A cauda bifurcada das larvas filarioides infectantes é uma característica única do gênero *Strongyloides*, sendo importante para a diferenciação de outros nematoides intestinais (LITTLE, 1996; VINEY; KIKUCHI, 2017).

1.2. Modo de transmissão e ciclo biológico de *Strongyloides*

O parasito apresenta duas formas de desenvolvimento: o ciclo de vida direto, partenogenético ou homogônico; e o ciclo de vida indireto, de vida livre ou heterogônico (**Fig. 1**). No ciclo direto, as larvas rabditoides eliminadas nas fezes e no solo transformam-se em larvas filarioides infectantes. No ciclo de vida indireto, as larvas rabditoides dão origem a machos e fêmeas de vida livre e os ovos originados desse acasalamento dão origem às larvas rabditoides que em condições favoráveis de temperatura, umidade e solo se transformam em larvas filarioides infectantes (L3). As L3 penetram o hospedeiro pela pele e mucosas e migram para a região naso-frontal (*S. ratti*) ou pulmões (*S. venezuelensis*, *S. stercoralis*) do hospedeiro, onde se diferenciam em L4. Em seguida migram pela árvore brônquica, chegando até a faringe, onde são deglutidas, e chegam ao intestino delgado. Diferenciam-se em fêmeas partenogenéticas e aderem à mucosa do intestino delgado, e com o início da reprodução, ovos e/ou larvas são eliminados nas fezes do hospedeiro (VINEY; LOK, 2015; COSTA-CRUZ, 2016; JOURDAN et al., 2018).

A autoinfecção parece ser um mecanismo exclusivo de *S. stercoralis* e promove a cronificação da infecção, que pode persistir por décadas em humanos (HIRATA et al., 2006; ROXBY; GOTTLIEB; LIMAYE, 2009; WEATHERHEAD; MEIJA, 2014). A autoinfecção ocorre de forma exógena ou endógena. A primeira ocorre quando larvas rabditoides presentes na região perianal de pessoas infectadas transformam-se em larvas filarioides autoinfectantes e penetram essa região completando o ciclo direto; a segunda ocorre quando larvas rabditoides presentes na luz intestinal se transformam em larvas filarioides autoinfectantes e penetram na mucosa intestinal (COSTA-CRUZ, 2016; RAMOS et al., 2016). A imunidade contra a larva filarioide infectante não é protetora contra a larva filarioide autoinfectante, sugerindo que estas apresentam diferentes padrões de reconhecimento antigênico (COSTA-CRUZ, 2016). Ciclos

subsequentes de autoinfecção estão associados com a estrogiloidíase humana grave, onde pode ocorrer a síndrome da hiperinfecção e a infecção disseminada, sendo potencialmente fatal (PUTHIYAKUNNON et al., 2014; TOLEDO; MUÑOZ-ANTOLI; ESTEBAN, 2015).

A transmissão de *S. stercoralis* por transplante de órgãos é de grande importância, e está associada a doadores de órgãos com histórico de viagens ou originários de regiões endêmicas para *S. stercoralis*. O estado de imunossupressão dos receptores de órgãos favorece a reativação de uma infecção crônica, que pode evoluir para formas graves da estrogiloidíase (NUTMAN, 2016; MOBLEY; DHALA; GHOBRIAL, 2017).

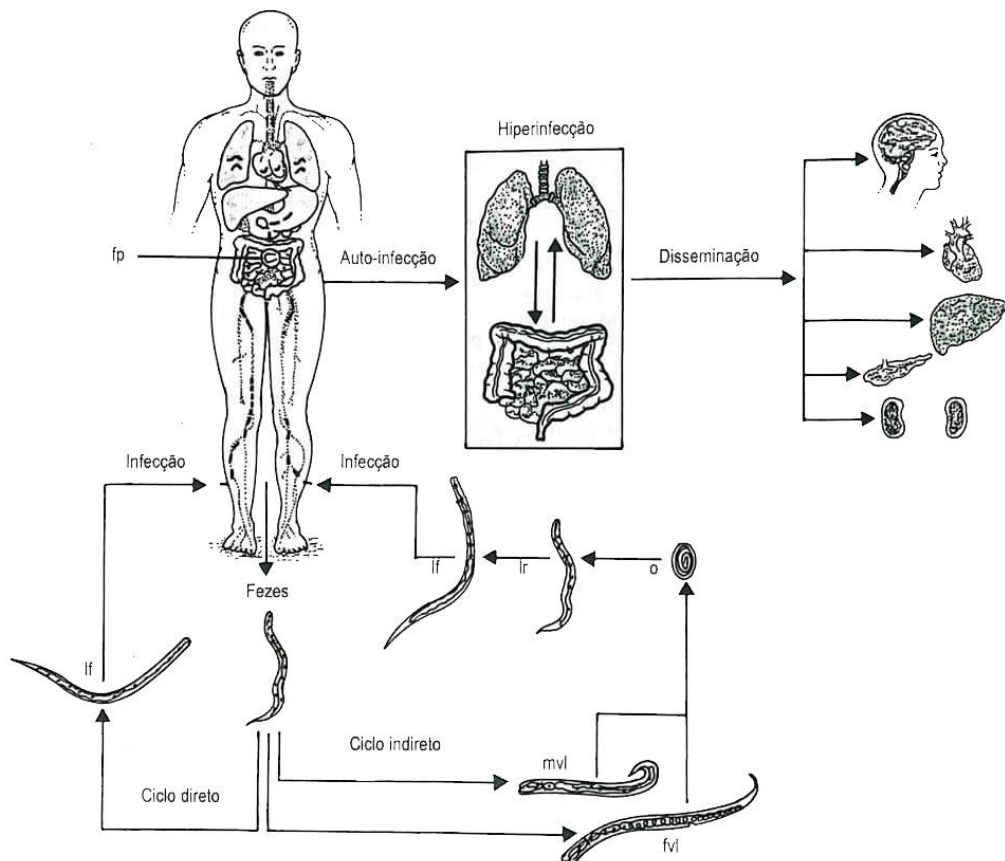


Figura 1: Ciclo biológico de *S. stercoralis*. Larvas rabditoides são eliminadas nas fezes do hospedeiro e evoluem para larvas filarioides infectantes no ciclo direto. No ciclo indireto evoluem para fêmeas e machos de vida livre que após a cópula originam ovos, larvas rabditoides e larvas filarioides infectantes. As larvas infectantes (L3) penetram ativamente pela pele ou mucosas, atingindo circulação, pulmões, faringe, e intestino, onde se estabelecem fêmeas parasitas que fazem oviposição. fp: fêmea parasita; fvl: fêmea de vida livre; lf: larva filarioide; lr: larva rabditoide; mvl: macho de vida livre; o: ovo. Fonte: Costa-Cruz, 2016.

1.3. Epidemiologia da estrogiloidíase humana

Estima-se que o geo-helminto *S. stercoralis* infecte de 30 a 100 milhões de pessoas em todo o mundo, atingindo também cães, gatos e macacos (COSTA-CRUZ, 2016). Nas regiões de clima quente e úmido e de condições sanitárias inadequadas, há prevalência elevada, de 10 a 40%, pois tais condições promovem a manutenção do ciclo do parasito (SCHÄR et al., 2013). Dados precisos de prevalência em países endêmicos são desconhecidos, o que resulta em provável subestimação das reais taxas de prevalência (WHO, 2018b).

As regiões endêmicas para a estrogiloidíase são África subsaariana, Índias Ocidentais, América Latina e do Sul, sudeste da Ásia, Bangladesh, regiões leste e central da União Europeia, comunidades indígenas na Austrália, Porto Rico e Ilhas do Pacífico (IZQUERDO et al., 2013; SCHÄR et al., 2013, WANG et al., 2013; TOLEDO; MUÑOZ-ANTOLI; ESTEBAN, 2015).

Na América Latina, países como Argentina, Equador, Venezuela, Peru e Brasil apresentam prevalência maior que 20% (BUONFRATE et al., 2014; OSTERA; BLUM, 2016). No Brasil a estrogiloidíase é hiperendêmica, com prevalência de 5,5% quando diagnosticada por métodos parasitológicos (PAULA; COSTA-CRUZ, 2011).

Em países desenvolvidos, os casos reportados têm aumentado devido ao crescente número de imigrantes, viajantes e refugiados (IZQUERDO et al., 2013; TOLEDO; MUÑOZ-ANTOLI; ESTEBAN, 2015; OSTERA; BLUM, 2016). Estudos sugerem a implementação de programas de triagem para imigrantes de países endêmicos, especialmente aqueles que sejam imunossuprimidos ou estejam em tratamento crônico com corticosteroides, assim como para doadores de órgãos (MARTINEZ-PEREZ et al., 2018; PACHECO-TENZA, 2018).

Vários fatores de risco estão associados à infecção por *S. stercoralis*. As infecções ocorrem como consequência do contato da pele com solo contaminado, portanto áreas com solo

úmido, ambiente inundado e onde não há descarte correto de resíduos humanos são associadas a um maior risco de infecções. Atividades como mineração e agricultura também estão associadas a maior risco de infecção devido ao contato com solo úmido (IZQUIERDO et al., 2013; SCHÄR et al., 2013; TOLEDO; MUÑOZ-ANTOLI; ESTEBAN, 2015). O papel de cães, gatos e outros mamíferos como reservatórios do parasito também são importantes fatores de risco (PAULA; COSTA-CRUZ, 2011; TOLEDO; MUÑOZ-ANTOLI; ESTEBAN, 2015).

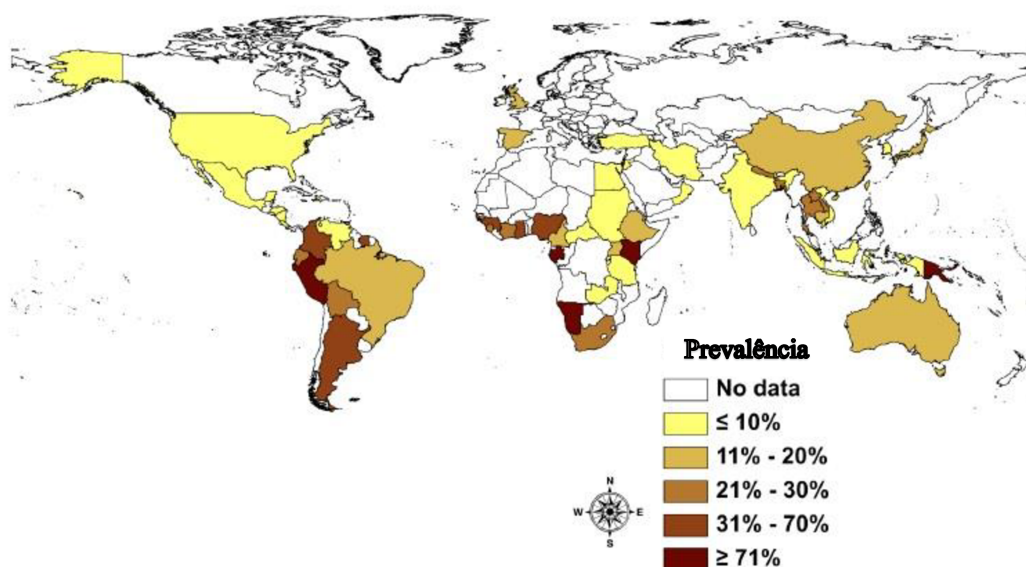


Figura 2: Prevalência da infecção por *S. stercoralis* por país. Fonte: Schär et al., 2013.

1.4. Manifestações clínicas da estrogiloidíase humana

Em indivíduos imunocompetentes a infecção por *S. stercoralis* permanece assintomática, ou apresenta sintomas brandos. Na fase aguda da infecção, pode ocorrer urticária, petéquias e edema focal no local de penetração das larvas. A gravidade das lesões depende do número de larvas e da presença de hipersensibilidade. Também pode ocorrer febre

baixa, mal-estar leve e eosinofilia. Durante o período de migração das larvas pelos pulmões e vias traqueobronquiais podem ocorrer sintomas como tosse, hemoptise, dispneia e broncopneumonia. Na fase crônica, dois terços dos pacientes são assintomáticos, e os sintomáticos podem apresentar cólicas, diarreia intermitente, constipação, anorexia, anemia leve e perda de peso (TOLEDO; MUÑOZ-ANTOLI; ESTEBAN, 2015; NUTMAN, 2016).

Em indivíduos imunocomprometidos há maior risco do desenvolvimento de síndrome de hiperinfecção, caracterizada pela invasão maciça de larvas no intestino e pulmões, e de infecção disseminada, caracterizada pela presença de larvas em regiões extra-intestinais e extra-pulmonares (LAM et al., 2006; PUTHIYAKUNNON et al., 2014; TOLEDO; MUÑOZ-ANTOLI; ESTEBAN, 2015; NUTMAN, 2016, BREOLER; ABRAHAM, 2017). A disseminação do parasito pode levar à ocorrência de sepse devido à bactérias gram-positivas transportadas pelo parasito para a corrente sanguínea (TOLEDO; MUÑOZ-ANTOLI; ESTEBAN, 2015).

As principais condições imunossupressoras que levam às manifestações graves da parasitose incluem doenças hematológicas malignas, infecção pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV) ou pelo vírus linfotrópico T humano I (HTLV- I), leucemia das células T, transplante de órgãos ou medula, uso de corticosteroides, diabetes, alcoolismo e desnutrição crônica (MARCOS et al., 2008; IZQUERDO et al., 2013; RUANO et al., 2015). Nessas condições a carga parasitária é alta, facilitando o diagnóstico, mesmo assim a taxa de mortalidade pode chegar a 80% (SIDDIQUI; BERK, 2001; CONCHA; HARRINGTON; ROGERS, 2005; REPETTO et al., 2016).

1.5. Diagnóstico, tratamento e profilaxia da estrogiloidíase humana

O diagnóstico laboratorial de *S. stercoralis* pode ser realizado por diferentes técnicas parasitológicas, imunológicas e moleculares (COSTA-CRUZ, 2016). Métodos parasitológicos são baseados na identificação do parasito em amostras de fezes. A liberação irregular e intermitente de larvas pelas fezes leva a baixa sensibilidade desses métodos, requerendo a utilização de número elevado de amostras e de técnicos bem treinados para realização da identificação morfológica (LEVENHAGEN; COSTA-CRUZ, 2014; CORRAL et al., 2015). Os métodos imunológicos são mais sensíveis, mas a obtenção de antígenos homólogos é difícil, sendo, portanto, utilizados antígenos heterólogos obtidos de *S. ratti* e *S. venezuelensis*. Os métodos moleculares apresentam alta sensibilidade e permitem a amplificação de pequenas quantidades de DNA do parasito (SAUGAR et al., 2011; CHAVES et al., 2015). Entretanto, são limitados devido à liberação intermitente de larvas, presença de inibidores de amplificação nas fezes, necessidade de padronização laboratorial e equipamentos de alto custo (LEVENHAGEN; COSTA-CRUZ, 2014).

Os medicamentos mais eficazes no tratamento da estrogiloidíase são ivermectina, albendazol e tiabendazol (WHO, 2018a). Ivermectina a 200 mg/kg, deve ser administrada durante dois dias (JOURDAN et al., 2018). Embora seja a droga de escolha, ivermectina não está disponível em todos os países endêmicos (WHO, 2018a). De forma alternativa, podem ser administradas duas doses diárias de 400 mg de albendazol durante 7 dias, ou tiabendazol a 25mg/kg a cada 12 horas, durante 3 dias (JOURDAN et al., 2018).

Ainda não existem medidas imunoproláticas para o manejo da estrogiloidíase. Estudos experimentais usando principalmente os parasitos de roedores, *S. ratti* e *S. venezuelensis*, buscam por proteínas antigênicas com potencial vacinal para *Strongyloides* sp. (LEVENHAGEN; CONTE; COSTA-CRUZ, 2016).

1.6. Resposta imunológica do hospedeiro

A resposta imunológica de humanos a *S. stercoralis* ainda não foi estudada em detalhes. A maioria dos conhecimentos disponíveis foram obtidos de estudos com modelos animais, que demonstram a participação de mecanismos da resposta imunológica inata e adaptativa (NUTMAN, 2016; BREOLER; ABRAHAM, 2017).

Assim como para outros helmintos intestinais, a resposta imunológica clássica contra *Strongyloides* spp. é caracterizada pelo perfil de células Th2 (CORTÉS et al., 2017). Também há participação de células do perfil Th1 e Th17, reguladas pelo antígeno do parasito (ANURADHA et al., 2015). Recentemente foi demonstrada a participação de células do perfil Th9 na resposta contra estrogiloidíase (REITZ et al., 2018).

A penetração de larvas infectantes na pele inicia a infecção ativando diferentes tipos celulares como células linfoides inatas, macrófagos, células *natural killer*, eosinófilos, basófilos e mastócitos. Ao se estabelecerem no intestino, os parasitos adultos induzem a diferenciação de um pequeno número de células efetoras Th1/Th17, e um número grande de células efetoras Th2, cuja ação, associada ao anticorpo IgE, pode eliminar alguns parasitos. No período de latência há expansão de células do perfil Th2/Th9, redução de células Th1/Th17 e indução de macrófagos ativados alternativamente. A cronificação da infecção leva a expansão de IL-10 e/ou células T reguladoras, produtoras de TGF- β e uma pequena diminuição de células Th2 (NUTMAN, 2016).

Em modelos animais, eosinófilos e neutrófilos desempenham papéis na interface entre a resposta imune inata e adaptativa, atuando na morte de *Strongyloides* spp. (BREOLER; ABRAHAM, 2017). Eosinófilos ativados por antígenos atuam como células apresentadoras de antígeno estimulando produção de citocinas Th2 específicas, como IL-4 e IL-5. IL-5 promove a produção de IgE e IgG4 e citocinas como IL-8, que atrai granulócitos neutrófilos para atuar

matando larvas. IgE promove a degranulação de mastócitos e aumenta ainda mais a migração de eosinófilos. IL-5 age também como fator estimulador de colônia promovendo crescimento e ativação de eosinófilos (WEATHERHEAD; MEIJA, 2014).

A migração de *S. venezuelensis* no tecido pulmonar induz a produção de IL-33, que atua desencadeando a expansão de IL-5 e IL-13, que promovem o controle do parasito e início da resposta Th2 clássica, com produção de IL-3, IL-4, IL-9 e IL-13. IL-4 estimula a produção de IgG1 e IgE por plasmócitos. IgG, IgE, IL-3 e IL-9 ativam mastócitos e outras células efetoras intestinais, promovendo a expulsão do parasito. Sabe-se que a expulsão da fêmea parasita é dependente de mastócitos ativados e mediados por IgE e IgG específicas, em associação com FcεR e FcγR, mas o mecanismo exato de expulsão ainda não foi descrito (BREOLER; ABRAHAM, 2017).

Pacientes com estrongiloidíase desenvolvem anticorpos específicos das classes IgG, IgA, IgM e IgE. Duas semanas após infecção, as subclasses IgG1 e IgG4 são predominantes, persistindo por até 20 semanas. IgA pode ser detectada tanto no soro, na saliva e leite materno. IgM é encontrada na fase inicial da infecção, com pico ocorrendo em uma semana e podendo persistir por até três. Pacientes imunossuprimidos possuem níveis reduzidos de IgA e IgM, os níveis de IgE podem ser normais, mas os níveis de IgG são altos, semelhantes aos de pacientes imunocompetentes (MARCOS et al., 2011 TOLEDO; MUÑOZ-ANTOLI; ESTEBAN, 2015; COSTA-CRUZ, 2016).

1.7. Imunocomprometimento associado a infecção por *Strongyloides*: glicocorticoides (GC)

Os GC, assim nomeados devido ao seu efeito no metabolismo de carboidratos, atuam sobre diversas funções homeostáticas, metabólicas, cognitivas, inflamatórias e imunomodulatórias (PARAGLIOLA et al., 2017). Seus efeitos ocorrem a partir da interação com os receptores glicocorticoides (RG), membros da família de proteínas de receptores de hormônios esteroides, presentes em quase todos os tecidos de vertebrados. (RHEN; CIDLOWSKI, 2005).

Ativação de RG no citoplasma leva a translocação do receptor para o núcleo, e ligação às regiões promotoras dos genes alvo, resultando na ativação de fatores de transcrição (transativação) ou na inibição de fatores de transcrição (transrepressão) de genes relacionados à inflamação, como a proteína ativadora 1 (AP-1) e o fator nuclear kappa β (NF κ - β) (HART et al., 2000; LÖWENBERG et al., 2008; COUTINHO; CHAPMAN, 2011).

A transrepressão é responsável pelos efeitos anti-inflamatórios e imunomodulatórios, enquanto a transativação está associada a efeitos indesejados e a algumas atividades imunossupressoras. Efeitos secundários e não gênicos também ocorrem, e são mediados pelos RG ou pela interação direta e não específica dos GC com membranas celulares (STAHN et al., 2007). O GC sintético dexametasona, por exemplo, ataca RG ligados à membrana levando ao comprometimento de sinalização de linfócitos T (LÖWENBERG et al., 2008).

GC são capazes de inibir os eventos iniciais do processo inflamatório, como a vasodilatação, o aumento da permeabilidade vascular e a migração de leucócitos ao local da inflamação. Além disso, inibem a transcrição de muitos genes codificadores de citocinas pró-inflamatórias e quimiocinas, moléculas de adesão celular e enzimas envolvidas com a iniciação e manutenção do processo inflamatório. Também alteram a distribuição/tráfego,

morte/sobrevivência e programas de diferenciação celular de leucócitos (COUTINHO; CHAPMAN, 2011).

Dentre os efeitos dos GC sobre a resposta imunológica, observa-se a diminuição do número de monócitos/macrófagos circulantes, da expressão de moléculas do complexo principal de histocompatibilidade (MHC) classe II e receptores Fc, e da síntese de citocinas pró-inflamatórias (IL-2, IL-6 e TNF α). Diminuição do número de linfócitos T circulantes, da produção e ação de IL-2, e do número de basófilos e de eosinófilos circulantes. Em relação às células endoteliais, há diminuição da permeabilidade vascular, a expressão de moléculas de adesão e a produção de IL-1 e prostaglandinas. Também ocorre diminuição da proliferação de fibroblastos e da produção de fibronectina (BUTTGEREIT et al., 2005, STAHN et al., 2007).

Uma das principais categorias de imunocomprometimento consiste nas condições induzidas farmacologicamente por GC para o tratamento de doenças autoimunes, alérgicas e inflamatórias, bem como para a prevenção de rejeição de órgãos transplantados (KEISER; NUTMAN, 2004).

A infecção por *S. stercoralis* em hospedeiros imunossuprimidos tem maior intensidade e dura por mais tempo, facilitando o processo de autoinfecção (VINEY; LOK, 2015). Os GC apresentam associação específica com o desenvolvimento de síndrome de hiperinfecção e com a ocorrência da disseminação da infecção, gerando quadros graves de estrogiloidíase. Esses quadros podem ser resultado da administração de doses altas ou baixas, de tratamentos a longo ou curto prazo, independentemente da via de administração (KEISER; NUTMAN, 2004; NUTMAN, 2016). Hiperinfecção foi registrada como resultado da injeção local de GC, bem como de altos níveis de corticoides endógenos ou farmacologicamente administrados (KEISER; NUTMAN, 2004).

Efeitos supressores dos GC sobre o sistema imunológico dos hospedeiros são amplos, bem estabelecidos e podem aumentar a predisposição à ocorrência de casos graves da

estrongiloidíase. Além disso, acredita-se que GC atuem diretamente sobre o parasito, acelerando a transformação de larvas rabditoides em larvas filarioides infectantes, ou rejuvenescendo fêmeas parasitas reprodutivamente latentes (GENTA, 1992; KEISER; NUTMAN, 2004; REPETTO et al., 2016). Siddiqui e colaboradores (2000), demonstraram a presença de DNA complementar (cDNA) que codifica receptores de hormônios nucleares em *S. stercoralis*, acredita-se que esses receptores poderiam desencadear a ocorrência da síndrome de hiperinfecção associada ao uso de GC.

1.8. Dexametasona

A dexametasona (DEX) (**Fig. 3**) é um fármaco sintético da classe dos GC, que apresenta potentes ações imunossupressoras e anti-inflamatórias, é utilizada especialmente no cenário das doenças autoimunes, do transplante de órgãos e em condições inflamatórias crônicas das vias aéreas (MACHADO et al., 2011).

DEX é um pó cristalino branco, quimicamente conhecido como 9 α -flúor-16 α -metilprednisolona. É praticamente insolúvel em água e parcialmente solúvel em álcool, acetona, dioxano e metanol. Seu mecanismo de ação, assim como de outros GC, ocorre pela difusão através de membranas celulares e formação de complexos com receptores citoplasmáticos específicos, os RG. Os complexos penetram o núcleo celular e estimulam a transcrição de RNA mensageiro (mRNA) e posterior síntese de enzimas responsáveis pelos efeitos sistêmicos dos glicocorticoides. Também suprime a transcrição do mRNA em células imunológicas, como linfócitos. Sua ação anti-inflamatória consiste na inibição do acúmulo das células inflamatórias, como macrófagos e linfócitos, no local da inflamação. Inibe a fagocitose, a liberação de enzimas lisossômicas e síntese e liberação de mediadores inflamatórios. Sua ação

imunossupressora consiste na depleção de linfócitos T, monócitos eosinófilos, inibição da síntese de imunoglobulinas e da síntese/liberação de interleucinas. Além disso, estimula o catabolismo proteico, induz o metabolismo de aminoácidos e aumenta a disponibilidade de glicose (EMS, 2019).

Em geral os GC sintéticos apresentam maior afinidade, maior biodisponibilidade, e são pouco metabolizados, persistindo no plasma por mais tempo, quando comparados aos corticoides endógenos (cortisol, corticosterona) (PARAGLIOLA et al., 2017). DEX é rapidamente absorvida no trato gastrointestinal e tem rápido início de ação, seu efeito máximo é atingido de 1 a 2 horas após administração. Possui alta ligação com proteínas plasmáticas, cerca de 65 a 90%. A biotransformação de DEX é primariamente hepática e parcialmente pulmonar, e sua excreção é renal (EMS, 2019). Possui meia vida de 36 a 54 horas, e atividade anti-inflamatória 30 vezes maior do que a hidrocortisona (forma sintética do cortisol) (PARAGLIOLA et al., 2017).

DEX possui formas de apresentação livre e esterificadas, e pode ser administrada por diversas vias. A dexametasona base ($C_{22}H_{29}FO_5$) pode ser administrada por via tópica, inalatória, oftálmica e oral. Acetato de dexametasona ($C_{24}H_{31}FO_6$) pode ser administrada por via intramuscular, intravenosa, tópica e oftálmica. E fosfato dissódico de dexametasona ($C_{22}H_{28}FNa_2O_8P$) pode ser administrada por via cutânea, inalatória, por injeção tecidual, intra-articular, intra-lesional, intra-muscular, intra-venosa e oftálmica (DRUGBANK, 2019).

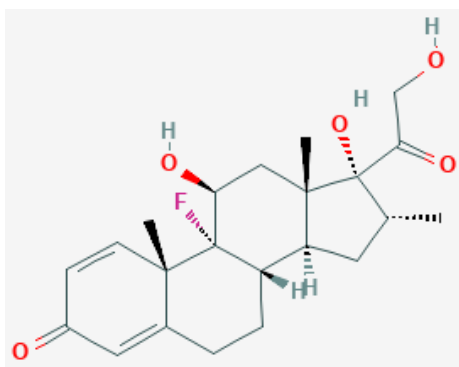


Figura 3: Fórmula molecular da dexametasona Fonte: Pubchem Compound Database, 2019.

1.9. Vias de administração oral e subcutânea

Dentre as vias de administração sistêmica de fármacos, encontram-se as vias enteral e parenteral. Na via enteral o fármaco é absorvido pelo trato gastrointestinal para atingir a corrente sanguínea, como na administração oral, em que o fármaco é ingerido pela boca. Na via parenteral o fármaco é administrando com auxílio de injeções e não passa pelo trato gastrointestinal, atingindo diretamente a corrente sanguínea, como na administração subcutânea (VERMA et al., 2010).

A administração oral de fármacos é segura, não invasiva e apresenta custos relativamente baixos. Além disso, reduz o risco de infecções associadas às administrações injetáveis (GUPTA; BHANDARI; SHARMA, 2009; EZRAHI; ASERIN; GARTI, 2019). Por essa via, a absorção do fármaco ocorre ao longo de todo o trato gastrointestinal. Uma das suas desvantagens é a ocorrência do efeito de primeira passagem, que consiste na metabolização do fármaco pelo fígado antes de alcançar a circulação sistêmica (VERMA et al., 2010).

Administração por injeções subcutâneas são extensivamente utilizadas como via de administração alternativa para casos em que ocorre baixa biodisponibilidade via oral ou na tentativa de prolongar a exposição sistêmica (McLENNAN; PORTER; CHARMAN, 2005). Para alcançar a circulação sistêmica, o fármaco deve percorrer o interstício e em seguida alcançar os capilares linfáticos ou sanguíneos (SEQUEIRA et al., 2019).

O tempo para o início da ação dos fármacos vai depender de sua composição e da sua via de administração. Em geral, a ação de fármacos administrados por via oral inicia-se dentro de 30 a 90 minutos, enquanto a ação de fármacos administrados pela via subcutânea inicia-se dentro de 15 a 30 minutos (VERMA et al., 2010).

1.10. Roedores infectados por *Strongyloides venezuelensis*: modelo de estudo da estrongiloidíase

Dentre as espécies que compõe o gênero *Strongyloides*, *S. ratti* e *S. venezuelensis* são parasitos naturais de ratos (*Rattus norvegicus*). Ambos, *S. ratti* e *S. venezuelensis* podem infectar camundongos de laboratório (*Mus musculus domesticus*) experimentalmente, mas a infecção não se estabelece tão facilmente quanto em ratos (SATO; TOMA, 1990a; AMARANTE; OLIVEIRA-SERQUEIRA, 2002, VINEY; KIKUCHI, 2017).

A infecção ocorre pela penetração de larvas filarioides infectantes na pele do hospedeiro, que se completa dentro de 10 a 20 minutos para *S. venezuelensis* (VINEY; KIKUCHI, 2017). Sua rota de migração é semelhante à de *S. stercoralis*. Após penetração pela pele, migra para os pulmões e traqueia, chegando por fim ao intestino delgado onde atinge a maturidade sexual (MARRA et al., 2011).

Strongyloides venezuelensis é de fácil manutenção laboratorial. A infecção de ratos pode ser realizada por injeção subcutânea de larvas filarioides infectantes, e se torna patente em um período de 4 a 5 d.p.i. A infecção também pode ser estabelecida de forma mais natural, pela exposição da pele do animal às larvas filarioides infectantes. Para isso uma pequena parte da pele é raspada, com o animal anestesiado, e as larvas são aplicadas na região. Doses de até 30.000 larvas filarioides infectantes de *S. venezuelensis* são toleradas por ratos. A aplicação de diferentes doses resulta em infecções de intensidades variadas (VINEY; KIKUCHI, 2017).

Fezes de animais infectados são utilizadas como fonte de obtenção das formas infectantes. Para *S. venezuelensis*, formas de vida livre raramente são encontradas em culturas de fezes. Mas o desenvolvimento direto em larvas filarioides infectantes ocorre dentro de dois dias de culturas de fezes mantidas a 25°C (VINEY; LOK, 2015).

Várias cepas de ratos de laboratório são suscetíveis à infecção por *S. venezuelensis*. Fatores como idade e sexo alteram a dinâmica de infecção, sendo que fêmeas tornam-se mais resistentes a infecção à medida em que envelhecem, e machos tornam-se mais susceptíveis. A susceptibilidade de camundongos também é variável, sendo C57BL/6 altamente suscetível e BALB/c, C3H/He e NIH mais resistentes (SATO; TOMA, 1990b; AMARANTE; OLIVEIRA-SERQUEIRA, 2002; VINEY; KIKUCHI, 2017). Outras espécies susceptíveis são gerbil da Mongólia (*Meriones unguiculatus*), hamster sírio (*Mesocricetus auratus*), rato indiano de pelo macio (*Millardia meltda*) e rato algodão (*Sigmodon hispidus*) (VINEY; KIKUCHI, 2017).

A resposta imunológica de ratos imunocompetentes infectados experimentalmente por *S. venezuelensis* resulta na expulsão da maioria dos parasitos em um período de 10 a 14 d.p.i. Os ratos se tornam imunes à reinfecção, caracterizando uma infecção autolimitante (VINEY; KIKUCHI, 2017).

A infecção experimental de roedores é um modelo laboratorial bem estabelecido e amplamente usado na compreensão da relação parasito-hospedeiro e de aspectos imunobiológicos da strongiloidíase. A ocorrência de auto-infecção é um mecanismo que parece ocorrer exclusivamente na infecção humana por *S. stercoralis* (LOK et al., 2016). Tal fenômeno não ocorre naturalmente e não pode ser induzido em roedores infectados por *S. venezuelensis* (VINEY; KIKUCHI, 2017).

Uma estratégia comum utilizada por parasitas nematoides para aumentar sua própria sobrevivência é, de alguma forma, modular as respostas imunológicas do hospedeiro. Esse fenômeno foi descrito para *Strongyloides* spp. em modelos de roedores (NEGRÃO-CORREA et al., 2003; HARTMANN; ESCHBACH; BREOLER, 2012).

Considerando a importância da imunossupressão no contexto da strongiloidíase e o amplo uso de modelos experimentais animais para seu estudo, a avaliação da administração DEX pelas vias oral e subcutânea pode contribuir para validação de um modelo de

imunossupressão induzida farmacologicamente na estrogiloidíase murina. A análise dos efeitos produzidos pelas diferentes vias de administração pode orientar a determinação de um protocolo útil ao estudo de aspectos imunobiológicos da estrogiloidíase.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

Avaliar e comparar protocolos de administração oral e subcutânea de dexametasona (DEX) quanto à eficácia na indução de imunossupressão em ratos experimentalmente infectados com *S. venezuelensis*.

2.2. Objetivos específicos

- Avaliar o peso e sobrevivência de animais tratados com dexametasona administrada por ambas as vias (parâmetros físicos);
- Avaliar os efeitos de DEX administrada por ambas as vias sobre o perfil leucocitário dos animais, pelas contagens global e diferencial de leucócitos em amostras de sangue (parâmetros hematológicos);
- Acompanhar a produção de imunoglobulina G (IgG) e suas frações (IgG1 e IgG2a) por animais tratados por ambas as vias, usando o método *enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA) (parâmetros imunológicos);

- Avaliar a carga parasitária de animais tratados por ambas as vias, pela contagem de ovos por grama de fezes (OPG) e recuperação de fêmeas parasitas do intestino (parâmetros parasitológicos).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Aspectos éticos

O estudo foi realizado no Laboratório de Diagnóstico de Parasitoses do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade Federal de Uberlândia (UFU), sob orientação da Profª Drª Julia Maria Costa Cruz. Todos os procedimentos foram realizados de acordo com os princípios éticos em pesquisa animal adotados pelo Comitê de Ética na Utilização de Animais (CEUA-UFU) e aprovados sob o parecer N° 103/16.

A cepa de *S. venezuelensis* utilizada para a infecção experimental e produção de extrato salino foi mantida na Rede de Biotérios de Roedores (REBIR-UFU) em conformidade com o projeto “Manutenção da cepa de *Strongyloides venezuelensis* em *Rattus norvegicus* Wistar” aprovado sob o parecer N° 075/08 pelo CEUA-UFU.

3.2. Animais

Os animais experimentais *Specific Pathogen Free* (SPF), mantidos na REBIR-UFU, foram acondicionados em mini-isoladores (Ventilife, Alesco, Monte Mor, Brasil) com densidade máxima de seis animais alojados em *rack* ventilado de alta biocontenção, com temperatura, ventilação e pressão controladas. Os ratos foram mantidos em cama de maravalha com provisões de ração industrial e água esterilizadas *ad libitum*. A temperatura da sala-colônia era de $22 \pm 2^\circ \text{C}$, com ciclo de iluminação artificial claro (12h) e escuro (12h). Todos os

procedimentos e manuseio dos animais foram realizados em fluxo laminar (Biosafety cabinet Tecniplast, Varese, Itália).

Foram utilizados 36 ratos machos da espécie *Rattus norvegicus* linhagem Wistar, de 4 a 6 semanas de idade, pesando aproximadamente 100 a 200 g, divididos em seis grupos com seis indivíduos em cada:

G I: animais não tratados e não infectados (–).

G II: animais não tratados e infectados (+).

G III: animais tratados por via de administração oral e não infectados (o –).

G IV: animais tratados por via de administração oral e infectados (o +).

G V: animais tratados por via de administração subcutânea e não infectados (sc –).

G VI: animais tratados por via de administração subcutânea e infectados (sc +).

3.3. Delineamento experimental

Os experimentos foram realizados durante 35 dias. O tratamento por via de administração oral foi iniciado 5 dias antes da infecção, e reforços foram administrados nos dias 8 e 21 após a infecção. O tratamento por via de administração subcutânea foi iniciado no dia 0, 1 hora antes da infecção experimental por *S. venezuelensis*. A infecção experimental foi realizada com aproximadamente 3000 larvas filarioides de *S. venezuelensis*. Nos dias 0, 8, 13, 21 e 30 foram realizadas pesagens, coletas de amostras de fezes e sangue dos animais. Nos dias 5, 7 e 26 foram coletadas apenas amostras de fezes. No 30º d.p.i foi realizada a eutanásia e coleta do intestino dos animais (**Fig. 4**).

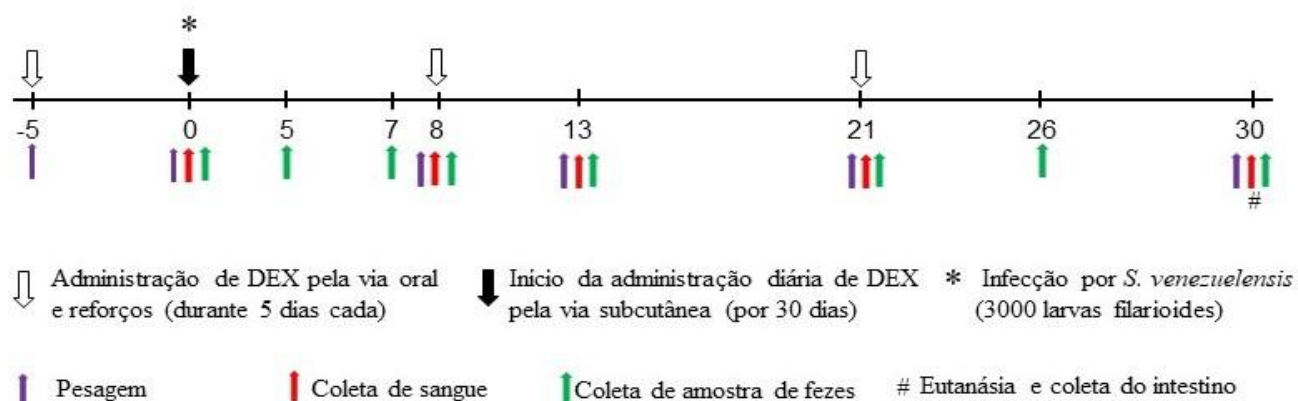


Figura 4: Delineamento experimental das imunossupressões, infecção e coletas de amostras.

3.4. Imunossupressão farmacológica com dexametasona

3.4.1. Administração oral

Animais pertencentes aos grupos de administração oral (G III e G IV) receberam dexametasona (Brainfarma Indústria Química e Farmacêutica S.A., Anápolis, Goiás, Brasil) diluída em água esterilizada (5 µg/ml). O protocolo de tratamento foi iniciado 5 dias antes da infecção, como descrito por Romand, Thulliez e Dubey (1998), com modificações. A solução preparada foi transferida aos bebedouros dos animais e disponibilizada durante o período de tratamento, com reposição realizada conforme o consumo pelos animais. Reforço do tratamento foi realizado nos dias 8 e 21 após infecção, com duração de 5 dias cada.

3.4.2. Administração subcutânea

Animais pertencentes aos grupos de administração subcutânea (G V e G VI) receberam injeções abdominais diárias de fosfato dissódico de dexametasona (Aché Laboratórios Farmacêuticos S.A., São Paulo, Brasil) a 2 mg/kg. A primeira administração foi realizada uma hora antes da infecção, conforme descrito por Machado et al. (2011), com modificações.

3.5. Obtenção de larvas filarioides de *S. venezuelensis* e infecção experimental

Larvas filarioides infectantes de *S. venezuelensis* foram obtidas de fezes de *Rattus norvegicus* Wistar infectados que são mantidos na REBIR-UFU. Fezes foram coletadas no 8º d.p.i., homogeneizadas com carvão animal e mantidas em estufa por 3 dias a 28°C, conforme descrito por Loos (NEVES, 2016). Em seguida as larvas foram recuperadas pelo método de Rugai, Matos e Brizola (1954).

Os animais dos grupos infectados (G II, G IV e G VI) foram inoculados subcutaneamente com cerca de 3.000 larvas filarioides na região abdominal após o início dos protocolos de tratamento com dexametasona.

3.6. Avaliação de peso corporal e sobrevivência

Para determinar se o tratamento com dexametasona influencia no ganho de peso dos animais foram realizadas pesagens nos dias -5 (G I, G II, G II e G IV) e 0, 8, 13, 21 e 30 (todos os grupos). A perda de animais foi registrada nos dias de ocorrência.

3.7. Coleta de amostras de sangue e obtenção de soro

Amostras de sangue dos animais foram coletadas no dia 0 (antes da infecção), 8, 13 e 21 d.p.i. por punção caudal, e no 30 d.p.i., quando foram sacrificados por exsanguinação total por punção cardíaca. Animais foram anestesiados com cloridrato de ketamina (Sespo Indústria e Comércio LTDA, Paulínia, São Paulo, Brasil) a 60 mg / kg e xilazina (Sespo Indústria e Comércio LTDA, Paulínia, São Paulo, Brasil) a 10 mg / kg. As amostras foram coletadas em tubos contendo EDTA e uma alíquota foi utilizada na avaliação dos parâmetros hematológicos. O restante centrifugado a 3.000 rotações por minuto (rpm) para obtenção do soro, que foi armazenado a -20°C até ser utilizado na avaliação de parâmetros imunológicos.

3.8. Avaliação de parâmetros hematológicos: contagem global e diferencial de leucócitos

A contagem global de leucócitos foi realizada em câmara de Neubauer com 20 μl de sangue diluído em 380 μl da solução de Turk (Ranylab Química e Farmacêutica Ltda., Caiçaras Barbacena, Minas Gerais, Brasil).

Para a contagem diferencial, os esfregaços de sangue foram confeccionados e corados com o corante rápido Panótico (Larboclin Produtos para Laboratórios Ltda., Pinhais, Paraná, Brasil). Em seguida, 100 células foram contadas e identificadas morfolologicamente em diferentes campos, por meio de microscopia óptica, com aumento de 100 vezes.

3.9. Avaliação de parâmetros imunológicos

3.9.1. Produção de extrato salino de larvas filarioides de *S. venezuelensis*

O extrato salino utilizado nas reações de ELISA foi produzido a partir de aproximadamente 300.000 larvas filarioides conforme descrito por Gonzaga e colaboradores (2011), com algumas modificações. As larvas foram recuperadas da mesma forma descrita no item 3.4. Após a adição de inibidores de protease, as larvas foram rompidas por ciclos de congelamento (1 min, 196 °C). O extrato foi centrifugado (10.500 rpm durante 30 minutos a 4°C), e o sobrenadante foi recolhido. O método de Lowry e colaboradores (1951) foi utilizado para determinar a concentração proteica do extrato, que foi armazenado a -20 ° C até o momento do uso.

3.9.2. ELISA indireto para detecção dos níveis de IgG total, IgG1 e IgG2a

O acompanhamento da produção de anticorpos específicos para *S. venezuelensis* foi realizada por ELISA indireto, de acordo com De Sousa e colaboradores. (2016), com modificações. Para a avaliação foram feitos *pools* de soros de cada grupo para cada dia de coleta de sangue. Estudos preliminares foram realizados para estabelecer as condições ideais para o antígeno, soro e conjugado.

Para IgG total, microplacas de poliestireno de baixa afinidade (Greiner Bio-One, Solingen, Germany) foram sensibilizadas com extrato salino de *S. venezuelensis* diluído em tampão carbonato-bicarbonato na concentração de 5 µg/ml. Para IgG1 e IgG2a placas de poliestireno

de alta afinidade (Santa Cruz Biotechnology, California, USA) foram sensibilizadas com extrato salino na concentração de 10 µg/ml. As microplacas foram incubadas *overnight* a 4 °C. Em seguida foram lavadas três vezes com *Phosphate buffered saline* (PBS) (0,1mol/L, pH 7,2) com 0,05% de Tween 20 (PBST). Para as placas de alta afinidade, foi adicionada uma etapa de bloqueio com *bovine serum albumin* (BSA) diluída em PBST a 1%, com incubação a 37°C por 1 h. Os *pools* de soro foram diluídos (1:10) em PBST com leite em pó (Molico, Nestle, Brasil) a 1%, adicionados à placa e incubados a 37°C por 45 min, para IgG total. Para IgG1 e IgG2a, a diluição foi feita em PBST-BSA e a incubação por 2h. Após três lavagens com PBST, as placas foram incubadas com conjugado com peroxidase, anti-IgG de rato (molécula completa, Sigma-Aldrich Co., St. Louis, USA) diluído (1:1000) em PBSTM a 37°C por 45 min. Para IgG1 e IgG2a, as placas foram incubadas com anticorpos biotinilados anti- IgG1/IgG2a de rato (BD Biosciences, California, USA), diluído (1:2000) em PBST-BSA, a 37°C por 1h, e após lavagens, incubadas com peroxidase-estreptavdina (BD Biosciences, California, USA) diluída em PBST-BSA (1:1000) à temperatura ambiente por 30 minutos. Após lavagens, as reações foram reveladas pela adição de 5 µg de o-fenilenodiamina (Sigma-Aldrich Co., St. Louis, USA) e 5 µl de peróxido de hidrogênio (30%) (Merck, Rio de Janeiro, Brasil) diluídos em 12,5 ml de tampão citrato-fosfato (0,1 M, pH 5,5). A reação procedeu por 15 minutos e foi interrompida pela adição de 25 µl de H₂SO₄ 2 N (Vetec, Rio de Janeiro, Brasil) por poço da placa.

Densidades ópticas (DO) foram determinadas a 492 nm em leitora de ELISA (Epoch, BioTek, Vermont, USA). O limiar de detecção (*cutoff*) para cada reação foi determinado pela média dos valores de DO das amostras de soro coletados antes da infecção (dia 0). Níveis de anticorpos foram expressos em Índice ELISA (IE), onde IE= DO da amostra / DO do *cutoff*.

3.10. Avaliação de parâmetros parasitológicos: ovos por grama de fezes e contagem de fêmeas parasitas

As fezes de animais infectados foram coletadas em 5, 7, 8, 13, 21, 26 e 30 d.p.i. para estimar o número de OPG usando o método de Cornell-MacMaster (GORDON; WHITLOCK, 1939). No 30° d.p.i., após a eutanásia, os intestinos delgados foram removidos, seccionados longitudinalmente e incubados em placa de Petri contendo PBS, a 37 ° C por duas horas. A solução foi coletada e centrifugada a 1000 rpm e a contagem de fêmeas parasitas foi realizada de acordo com Sato e Toma (1990b).

3.11. Análise estatística

Análises estatísticas do peso, das contagens global e diferencial de leucócitos, OPG e contagem de fêmeas parasitas foram realizadas pelo teste não paramétrico de Kruskal Wallis. Mann-Whitney foi usado para comparações múltiplas 2 a 2, seguido da correção de Bonferroni-Holm. Os dados foram apresentados em mediana e intervalo interquartil. Valores de p foram considerados estatisticamente significativos quando foram menores do que 0,05. Todos os testes foram realizados usando o *software GraphPad Prism* versão 6.0 (*GraphPad Software*, San Diego, EUA)

3.12. Normas de biossegurança

O procedimento de coleta e processamento das amostras de soros e reagentes, bem como a utilização dos equipamentos foram realizados de acordo com as normas de biossegurança descritas por Mineo (2009).

4. RESULTADOS

4.1. Peso corporal e sobrevivência

Acompanhamento do ganho de peso corporal ao longo dos dias foi realizado para todos os grupos (**Fig. 5**). Animais dos grupos G I (-), G II (+), G III (o -) e G IV (o +) foram pesados inicialmente no dia -5 (início do tratamento pela via oral). Os animais dos grupos G V (sc -) e G VI (sc +) foram pesados inicialmente no dia 0 (início da imunossupressão subcutânea).

Em relação a G I (-), observou-se que a mediana (Md) do peso foi significativamente maior no dia 8 (Md=210) em relação ao dia -5 (Md=163,5) e manteve-se alta nos dias 13 (Md=274,5), 21 (Md=299) e 30 (Md=334). Quanto à G II (+), a mediana do peso foi significativamente maior no dia 8 (Md=211) em relação ao dia -5 (Md=162), mantendo-se nos dias 13 (Md=237,5) e 21 (Md=240,5) e voltando a aumentar no dia 30 (Md=277).

A mediana de peso do grupo G III (o -) foi maior somente nos dias 21 (Md=196) e 30 (Md=193) em relação ao dia 0 (Md=144,5). A mediana de G IV (o +) foi maior no dia 8 (Md=139) em relação aos dias -5 (Md=114) e 0 (Md=106,5), mantendo-se no dia 13 (Md=125), voltando a aumentar no dia 21 (Md=196) e mantendo-se no dia 30 (Md=153).

Os grupos tratados pela via subcutânea (G V e G VI) mostraram tendência de manutenção de peso ao longo dos dias, não sendo observadas diferenças estatísticas entre nenhum dos dias analisados.

Os animais foram analisados diariamente para registro de eventuais perdas ocorridas no período de estudo. A morte de um animal de G VI (sc +) foi registrada no dia 0, e de um animal do grupo G I (-) foi registrada no dia 21.

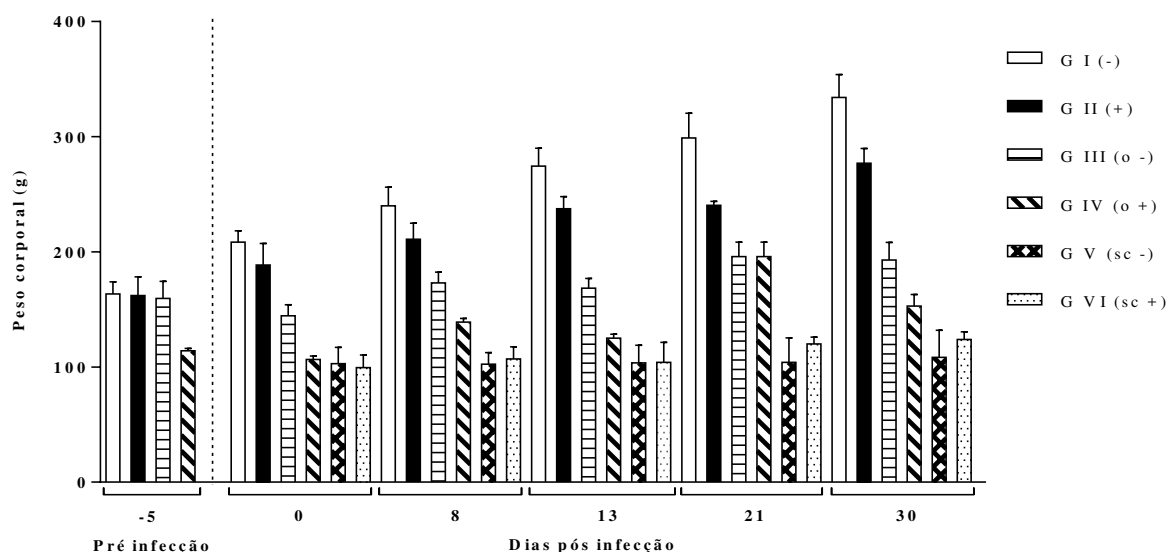


Figura 5: Monitoramento do peso corporal (g) dos animais nos dias -5, 0, 8, 13, 21 e 30. Os valores foram expressos em mediana e intervalo interquartil. G I (-), G II (+), G III (o -) e G IV (o +) foram inicialmente pesados 5 dias antes da infecção, antes do início do tratamento pela via oral. A linha pontilhada separa os dias antes da infecção e os dias após infecção. G I (-): animais não tratados e não infectados. G II (+): animais não tratados e infectados. G III (o -): animais tratados por via de administração oral e não infectados. G IV (o +): animais tratados por via de administração oral e infectados. G V (sc -): animais tratados por via de administração subcutânea e não infectados. G VI (sc +): animais tratados por via de administração subcutânea e infectados.

4.2. Contagem global e diferencial de leucócitos no sangue periférico

4.2.1. Contagem global de leucócitos por mm^3 de sangue

A **Fig. 6** mostra os resultados da contagem global de leucócitos por mm^3 de sangue, expressos em mediana e intervalo interquartil. Avaliação intragrupo foi realizada por análises estatísticas comparativas do mesmo grupo ao longo dos dias. Avaliação intergrupo foi realizada por análises estatísticas comparativas entre G I (-) vs. G III (o -), G I (-) vs. G V (sc -), G II (+) vs. G IV (o +), G II vs. G VI (sc +), G III (o -) vs G V (sc -) e G IV (o +) vs. G VI (sc +).

Análises estatísticas intragrupo (não exibidas no gráfico) mostraram que ao longo dos dias, a mediana de leucócitos de G I (–) e G III (o –) e G VI (sc +) não apresentaram alterações. A mediana de G II (+) aumentou significativamente no dia 8 (Md=11.400) em relação ao dia 0 (Md=5.600), manteve-se nos dias 13 (Md=11.425) e 21 (Md=9.125), e voltou aos patamares do dia 0, no dia 30 (Md=4.675). A mediana de G IV (o +) diminuiu significativamente no dia 8 (Md=2.250) em relação ao dia 0 (Md=4.050), manteve-se nos dias 13 (Md=2.200) e 21 (Md=2.375), e diminuiu ainda mais no dia 30 (Md=850). A mediana de G V (sc –) diminuiu no dia 8 (Md=2600), em relação ao dia 0 (Md=7.150), mantendo-se nos dias 13 (Md=3.275) e 21 (Md=3.075), diminuindo mais no dia 30 (Md=1.800).

Análises estatísticas intergrupo mostraram no dia 0 que não houve diferença entre as medianas de leucócitos dos grupos tratados em comparação aos controles. Nos dias 8, 13, 21 e 30 os grupos G III (o –) e G V (sc –) obtiveram valores de medianas de leucócitos menores do que as do controle negativo G I (–), o mesmo ocorreu ao comparar os grupos G IV (o +) e G VI (sc +) com o controle positivo G II (+). A comparação entre os tratamentos pelas vias de administração oral e subcutânea, mostrou que a mediana de G III (o –) foi menor que a de G V (sc –) nos dias 0, 21 e 30. Mediana de G IV (o +) foi menor do que a de G VI (sc +) apenas no dia 30.

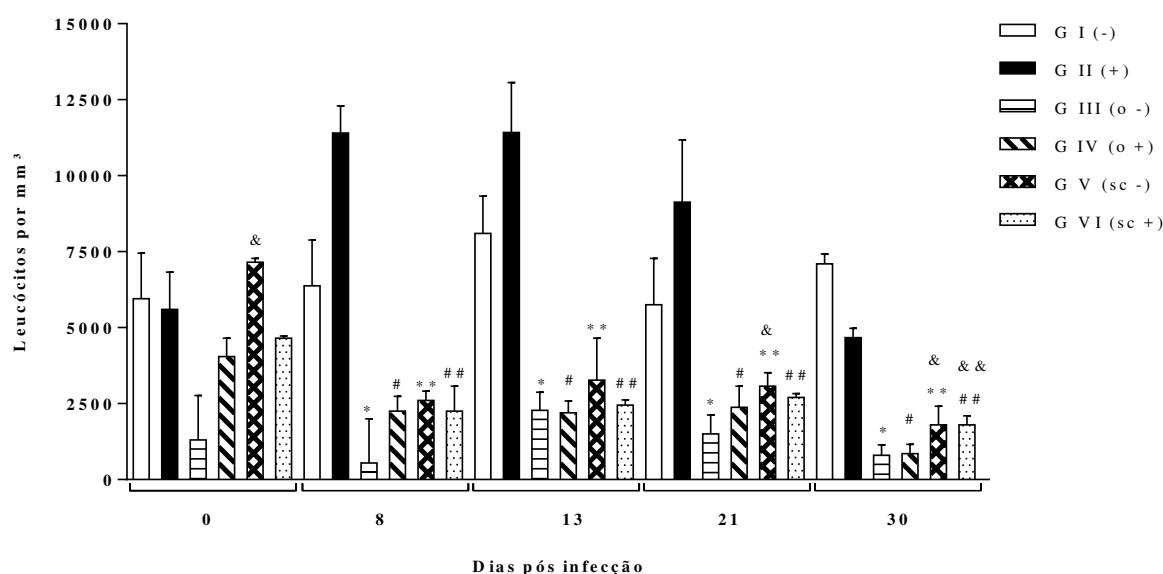


Figura 6: Contagem global de leucócitos por mm^3 de sangue nos dias 0, 8, 13, 21 e 30. Valores expressos em mediana e intervalo interquartil. G I (-): animais não tratados e não infectados. G II (+): animais não tratados e infectados. G III (o -): animais tratados por via de administração oral e não infectados. G IV (o +): animais tratados por via de administração oral e infectados. G V (sc -): animais tratados por via de administração subcutânea e não infectados. G VI (sc +): animais tratados por via de administração subcutânea e infectados. Diferenças foram consideradas estatisticamente significativas quando $p < 0,05$. As comparações intergrupos estão representadas por símbolos, sendo * G I vs G III; ** G I vs G V; # G II vs G IV; ## G II vs G VI; & G III vs G V; && G IV vs G VI.

4.2.2. Contagem diferencial de leucócitos

A **Tabela 1** mostra os resultados da contagem diferencial de leucócitos, apresentados em porcentagem (%). Os grupos tratados (G III, G IV, G V e G VI) demonstraram um padrão inverso na porcentagem de linfócitos, que se encontrou diminuída, e neutrófilos, que se encontrou aumentada, em comparação aos grupos controles (G I e G II). Enquanto a porcentagem de eosinófilos, monócitos e basófilos não apresentou diferenças estatísticas em relação aos controles.

Tabela 1: Média da contagem diferencial de leucócitos nos dias 0, 8, 13, 21 e 30. G I (-): animais não tratados e não infectados. G II (+): animais não tratados e infectados. G III (o -): animais tratados por via de administração oral e não infectados. G IV (o +): animais tratados por via de administração oral e infectados. G V (sc -): animais tratados por via de administração subcutânea e não infectados. G VI (sc +): animais tratados por via de administração subcutânea e infectados.

Leucócitos (%)	G I (-)					G II (+)				
	0	8	13	21	30	0	8	13	21	30
Linfócitos	84,7	77,0	81,7	83,6	87,0	75,6	79,6	83,3	84,0	66,8
Neutrófilos	12,3	21,5	16,7	15,2	11,0	23,2	17,0	14,8	14,8	18,0
Monócitos	1,3	0,3	0,7	0,4	1,0	0,6	0,8	0,2	0,2	0,3
Eosinófilos	1,0	1,0	0,3	0,6	0,6	0,2	1,6	1,2	0,7	0,7
Basófilos	0,7	0,2	0,7	0,2	0,6	0,4	1,0	0,5	0,3	0,8

Leucócitos (%)	G III (o -)					G IV(o +)				
	0	8	13	21	30	0	8	13	21	30
Linfócitos	11,7	28,2	1,8	41,2	59,0	8,8	36,2	5,2	41,3	33,2
Neutrófilos	84,7	67,0	97,8	57,0	39,5	90,4	61,3	93,7	55,0	64,5
Monócitos	2,3	2,0	0,3	0,7	1,0	0,6	0,3	0	1,8	1,7
Eosinófilos	1,0	2,4	0	0,8	0,2	0,2	2,2	1,0	1,5	0,5
Basófilos	0,5	0,4	0	0,3	0,3	0	0	0,2	0,3	0,2

Leucócitos (%)	G V (sc -)					G VI (sc +)				
	0	8	13	21	30	0	8	13	21	30
Linfócitos	85,0	27,7	17,3	11,2	10,8	82,2	41,8	16,6	13,4	10,8
Neutrófilos	12,6	71,0	80,7	87,3	85,3	17,4	57,4	82,8	86,2	87,8
Monócitos	0,6	0,7	0,8	0,3	1,5	0	0,6	0	0,4	0,4
Eosinófilos	1,0	0,3	0,7	1,0	1,3	0,2	0	0	0	0,2
Basófilos	0,8	0,3	0,5	0,2	1,0	0,2	0,2	0,6	0	0

4.2.2.1. Contagem de linfócitos

A **Fig. 7** mostra os resultados da contagem diferencial de linfócitos (%), expressos em mediana e intervalo interquartil. Avaliação intragrupo foi realizada por análises estatísticas comparativas do mesmo grupo ao longo dos dias. Avaliação intergrupo foi realizada por análises estatísticas comparativas entre G I (–) vs. G III (o –), G I (–) vs. G V (sc –), G II (+) vs. G IV (o +), G II vs. G VI (sc +), G III (o –) vs. G V (sc –) e G IV (o +) vs. G VI (sc +).

Análises estatísticas intragrupo (não exibidas no gráfico) demonstraram que a mediana de linfócitos de G I (–) e G II (+) não apresentou alterações ao longo dos dias. A mediana de G III (o –) diminuiu no dia 13 (Md=2) em relação ao dia 8 (Md=29), aumentou no dia 21 (Md=42,5) e manteve-se no dia 30 (Md=57,5). A mediana de G IV (o +) aumentou significativamente no dia 8 (Md=35) em relação ao dia 0 (Md=9), diminuiu no dia 13 (Md=2,5), e voltou aos parâmetros do dia 8, nos dias 21 (Md=38) e 30 (Md=32). A mediana de G V (sc –) diminuiu no dia 8 (Md=30,5) em relação ao dia 0 (Md=87) e manteve-se baixa nos dias 13 (Md=17), 21 (Md=9,5) e 30 (Md=8,5). A mediana de G VI (sc +) diminuiu no dia 8 (Md=46) em relação ao dia 0 (Md=87), diminuiu ainda mais no dia 13 (Md=16) e manteve-se igualmente baixa nos dias 21 (Md=12) e 30 (Md=12).

Análises estatísticas intergrupos mostraram que no dia 0, a mediana de linfócitos de G III (o –) foi significativamente menor do que a do controle negativo G I (–), e a de G IV (o +) foi significativamente menor do que a do controle positivo G II (+). Nos dias 8, 13, 21 e 30 os grupos G III (o –) e G V (sc –) obtiveram valores de medianas de linfócitos menores do que as do controle negativo G I (–), o mesmo ocorreu ao comparar os grupos G IV (o +) e G VI (sc +) com o controle positivo G II (+). A comparação entre os tratamentos pelas vias de administração oral e subcutânea demonstraram que a mediana de G III (o –) foi significativamente menor do

que a de G V (sc -) nos dias 0 e 13, e maior nos dias 21 e 30. Enquanto a mediana de G IV (o +) foi significativamente menor do que a de G VI (sc +) nos dias 0 e 13, e maior no dia 21.

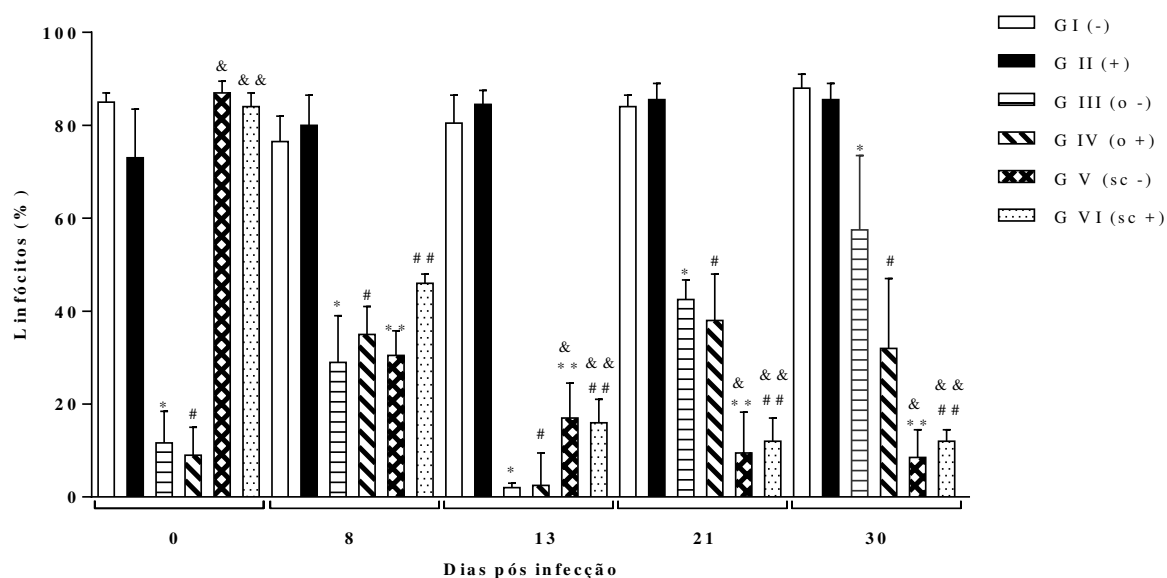


Figura 7: Contagem diferencial de linfócitos (%) nos dias 0, 8, 13, 21 e 30. Valores expressos em mediana e intervalo interquartil. G I (-): animais não tratados e não infectados. G II (+): animais não tratados e infectados. G III (o -): animais tratados por via de administração oral e não infectados. G IV (o +): animais tratados por via de administração oral e infectados. G V (sc -): animais tratados por via de administração subcutânea e não infectados. G VI (sc +): animais tratados por via de administração subcutânea e infectados. Diferenças foram consideradas estatisticamente significativas quando $p < 0,05$. As comparações intergrupos estão representadas por símbolos, sendo * G I vs G III; ** G I vs G V; # G II vs G IV; ## G II vs G VI; & G III vs G V; && G IV vs G VI.

4.2.2.2. Contagem de neutrófilos

A **Fig. 8** mostra os resultados da contagem diferencial de neutrófilos, expressos em mediana e intervalo interquartil. Avaliação intragrupo foi realizada por análises estatísticas comparativas do mesmo grupo ao longo dos dias. Avaliação intergrupo foi realizada por análises estatísticas comparativas entre G I (-) e G III (o -), G I (-) e G V (sc -), G II (+) e G IV (o +), G II e G VI (sc +), G III (o -) e G V (sc -) e G IV (o +) e G VI (sc +).

Análises estatísticas intragrupo (não exibidas no gráfico) mostraram que a mediana de neutrófilos de G I (-) aumentou significativamente no dia 8 (Md=21,5) em relação ao dia 0 (Md=13,5) e manteve-se nos dias 13 (Md=17), 21 (Md=16) e 30 (Md=11). As medianas de neutrófilos de G II (+) não apresentaram alterações ao longo dos dias. A mediana de G III (o-) aumentou no dia 13 (Md=97,5) em relação ao dia 8 (Md=64), diminuiu no dia 21 (Md=56,5) e manteve-se no dia 30 (Md=41). A mediana de G IV (o +) diminuiu no dia 8 (Md=65,2) em relação ao dia 0 (Md=89), voltou a aumentar no dia 13 (Md=95,5), diminuiu no dia 21 (Md=57,5) e manteve-se no dia 30 (Md=67). A mediana de G V (sc -) aumentou no dia 8 (Md=68) em relação ao dia 0 (Md=12) e manteve-se nos dias 13 (Md=81), 21 (Md=89,5) e 30 (Md=87,5). A mediana de G VI (sc +) aumentou no dia 8 (Md=56) em relação ao dia 0 (Md=16), e manteve-se nos dias 13 (Md=83), 21 (Md=88) e 30 (Md=88).

Análises estatísticas intergrupo mostraram que no dia 0 a mediana de neutrófilos de G III (o -) foi significativamente maior que a do controle negativo G I (-) e a mediana de G IV (o +) foi significativamente maior que a do controle positivo G II (+). Nos dias 8, 13, 21 e 30 os grupos G III (o -) e G V (sc -) obtiveram valores de medianas de neutrófilos maiores do que as do controle negativo G I (-), o mesmo ocorreu ao comparar os grupos G IV (o +) e G VI (sc +) com o controle positivo G II (+). As comparações entre os tratamentos por vias de administração oral e subcutânea mostraram que o G III (o -) apresentou mediana maior do que G V (sc -) nos dias 0 e 13, e menor nos dias 21 e 30. A mediana de G IV (o +) foi maior do que a de G VI (sc +) nos dias 0 e 13 e menor no dia 21.

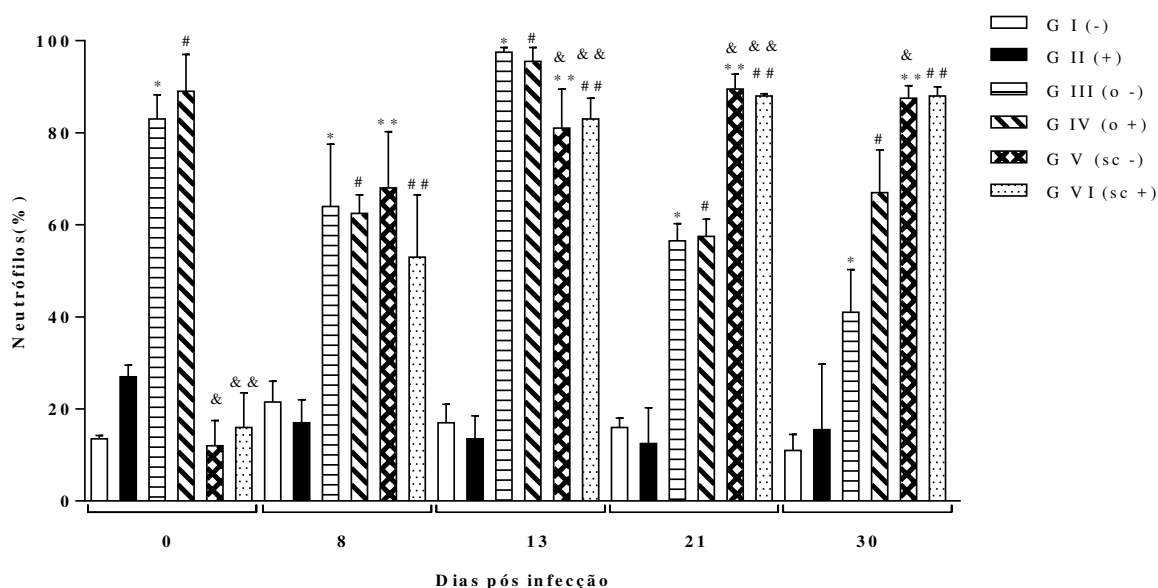


Figura 8: Contagem diferencial de neutrófilos (%) nos dias 0, 8, 13, 21 e 30. Valores expressos em mediana e intervalo interquartil. G I (-): animais não tratados e não infectados. G II (+): animais não tratados e infectados. G III (o -): animais tratados por via de administração oral e não infectados. G IV (o +): animais tratados por via de administração oral e infectados. G V (sc -): animais tratados por via de administração subcutânea e não infectados. G VI (sc +): animais tratados por via de administração subcutânea e infectados. Diferenças foram consideradas estatisticamente significativas quando $p < 0,05$. As comparações intergrupos estão representadas por símbolos, sendo * G I vs G III; ** G I vs G V; # G II vs G IV; ## G II vs G VI; & G III vs G V; && G IV vs G VI.

4.3. Detecção dos níveis de IgG total, IgG1 e IgG2a anti- *S. venezuelensis*

Detecção da cinética de produção de anticorpos anti- *S. venezuelensis* nos dias após infecção foi realizada por ELISA indireto (Fig. 9). Para G II (+), o aumento na detecção de IgG (Fig. 9A), IgG1 (Fig. 9B) e IgG2a (Fig. 9C) iniciou-se no dia 8, encontrando-se acima do limiar de detecção (*cutoff*) nos dias 13, 21 e 30. Os níveis das mesmas imunoglobulinas para G I (-) e para os grupos tratados, tanto pela via oral quanto pela via subcutânea, G III (o -), G IV (o +), G V (sc -) e G VI (sc +), mantiveram-se abaixo o limiar de detecção em todos os dias avaliados.

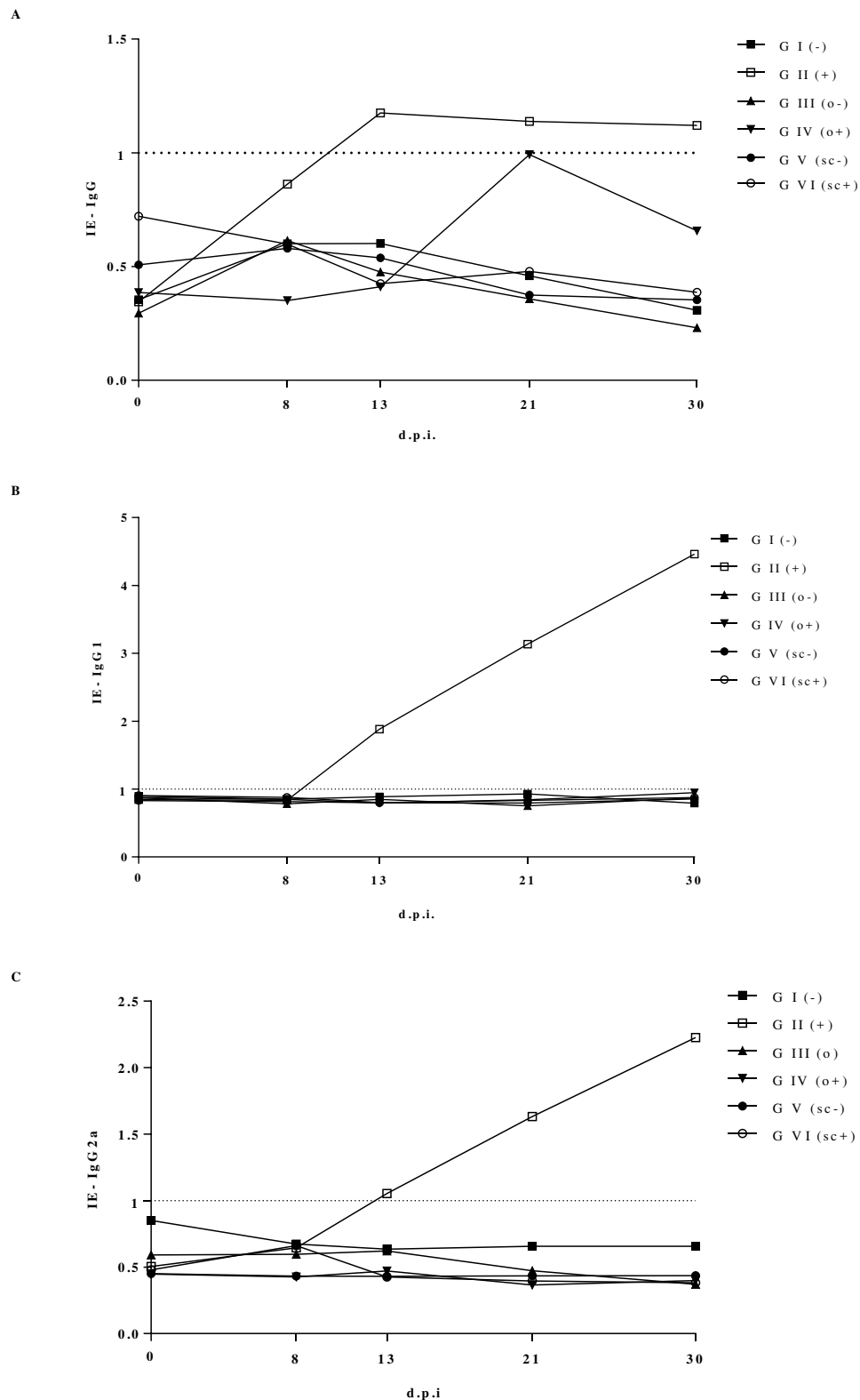


Figura 9: Cinética de detecção de anticorpos IgG total (A), IgG1 (B), IgG2a (C) nos dias 0, 8, 13, 21 e 30 após infecção (d.p.i.) por ELISA indireto. Dados expressos em Índice ELISA (IE), onde o limiar de detecção (*cutoff*) é 1. G I (-): animais não tratados e não infectados. G II (+): animais não tratados e infectados. G III (o -): animais tratados por via de administração oral e não infectados. G IV (o +): animais tratados por via de administração oral e infectados. G V (sc -): animais tratados por via de administração subcutânea e não infectados. G VI (sc +): animais tratados por via de administração subcutânea e infectados.

4.4. Estimativa de ovos por grama de fezes e de número de fêmeas parasitas

O efeito de DEX na carga parasitária dos grupos infectados, G II (+), G IV (o +) e G VI (sc +), foi avaliado pela estimativa de ovos por grama de fezes (OPG) e do número de fêmeas parasitas recuperadas do intestino.

A **tabela 2** mostra a mediana do número de OPG por grupo. Para G II (+), o dia de maior eliminação de ovos foi o 7º d.p.i., e para G VI (sc +) o dia de maior eliminação de ovos foi o 13º d.p.i. G IV (o +) apresentou picos de eliminação de ovos nos dias 13 e 26. Análises estatísticas intergrupos mostraram que no dia 7 as medianas de G II (+) e G IV (o +) foram maiores do que as de G VI (sc +). No dia 13, a mediana de G IV (o +) foi maior do que a de G II (+) e G VI (sc +). Nos dias 26 e 30, as medianas de G IV (o +) foram maiores do que as de G II (+) e G VI (sc +), e a mediana de G VI (sc +) foi maior do que a de G II (+) (**Fig. 10**).

A mediana de fêmeas parasitas recuperadas no dia 30, após eutanásia, foi de 51 para G II (+), 158,5 para G IV (o +) e 10 para G VI (sc +). Análises estatísticas mostraram que a mediana de G IV (o +) foi significativamente maior do que a de G VI (sc +) (**Fig. 11**).

Tabela 2: Mediana de ovos por grama (OPG) de fezes dos grupos nos dias 5, 7, 8, 12, 21, 26 e 30. G II (+): animais não tratados e infectados. G IV (o +): animais tratados por via de administração oral e infectados. G VI (sc +): animais tratados por via de administração subcutânea e infectados.

Grupos	Dias						
	Mediana de ovos por grama de fezes (OPG)						
	5	7	8	13	21	26	30
G II (+)	200	16.450	4.575	7.300	1.825	300	100
G IV (o +)	50	20.500	4.050	79.900	3.850	26.000	10.450
G VI (sc +)	375	3.575	2.425	4.350	1.725	2.350	1.150

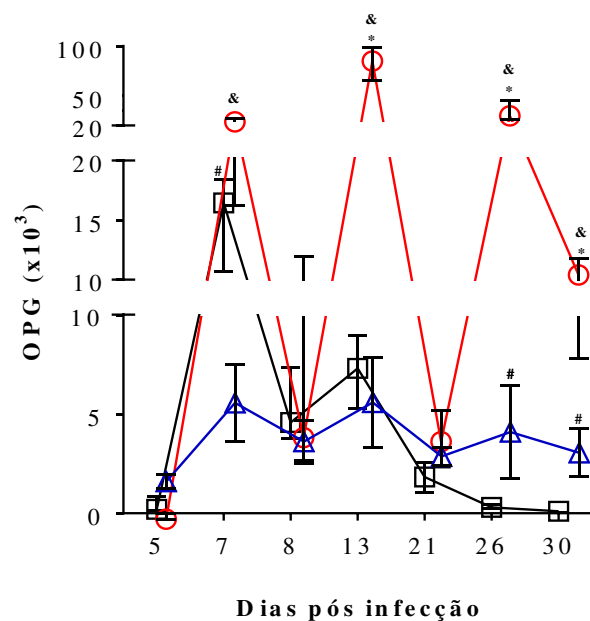


Figura 10: Contagem de ovos por grama de fezes (OPG) nos dias 5, 7, 8, 13, 21, 26 e 30. Valores expressos em mediana e intervalo interquartil. G II (+): animais não tratados e infectados, representado pela linha preta. G IV (o +): animais tratados por via de administração oral e infectados, representado pela linha vermelha. G VI (sc +): animais tratados por via de administração subcutânea e infectados, representado pela linha azul. Diferenças foram consideradas estatisticamente significativas quando $p < 0,05$. As comparações intergrupos estão representadas por símbolos, sendo *G II vs G IV, #G II vs. G VI, &G IV vs. G VI.

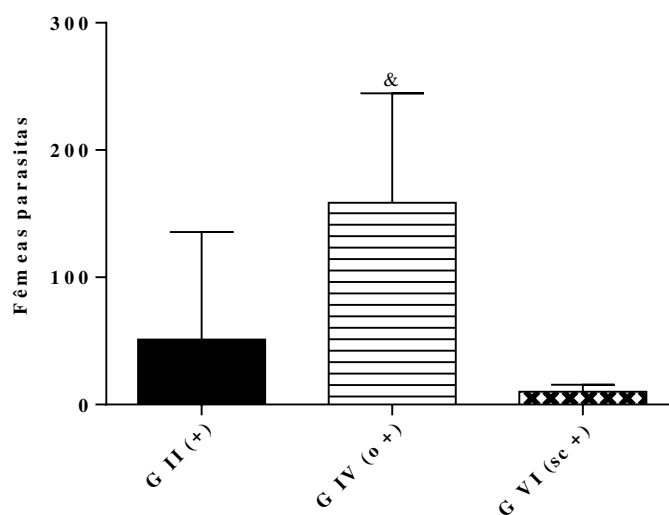


Figura 11: Contagem de fêmeas parasitas no dia 30. Valores expressos em mediana e intervalo interquartil. G II (+): animais não tratados e infectados. G IV (o +): animais tratados por via de administração oral e infectados. G VI (sc +): animais tratados por via de administração subcutânea e infectados. Diferenças foram consideradas estatisticamente significativas quando $p < 0,05$. As comparações intergrupos estão representadas por símbolos, sendo &G IV vs. G VI.

5- DISCUSSÃO

A estrogiloidíase humana é uma doença tropical negligenciada causada pelo parasito *S. stercoralis* (WHO, 2018a). A manutenção desse parasito em sistemas laboratoriais é difícil, uma vez que este não infecta naturalmente roedores, os principais animais experimentais aplicados nas pesquisas biomédicas. Dessa forma, o uso do parasito de roedores *S. venezuelensis*, é amplamente utilizado para o estudo de aspectos imunológicos resultantes da interação parasito-hospedeiro, e também para obtenção de antígenos heterólogos aplicados ao desenvolvimento de ferramentas diagnósticas (CHAVES et al., 2015; DE CARVALHO et al., 2015; GONÇALVES et al., 2016; MARQUES et al., 2016).

Strongyloides venezuelensis é mantido facilmente em animais experimentais da espécie *R. norvegicus* linhagem Wistar. As fezes dos ratos se tornam fontes de ovos, e ao serem cultivadas em condições de umidade e temperatura semelhantes ao solo, dão origem a larvas filarioides utilizadas para infectar outros animais (VINEY; KIKUCHI, 2017). A migração do parasito, após inoculação subcutânea, passa por um ciclo pulmonar antes de se estabelecer no intestino dos animais, semelhante ao que ocorre na infecção por *S. stercoralis* (NEGRÃO-CORREA et al., 2003; FERREIRA et al., 2009; CHAVES et al., 2015).

Sabe-se que *S. venezuelensis* não possui o estágio L3a, que é responsável pelos casos de autoinfecção humana por *S. stercoralis*. A associação da autoinfecção com baixa atividade do sistema imunológico (uso de substâncias imunossupressoras, radioterapia, neoplasias, transplantes, portadores do HIV, portadores da síndrome da imunodeficiência adquirida-AIDS, infecção por I-HTLV-I, tuberculose, gravidez, desnutrição, alcoolismo e idade avançada) pode provocar o desenvolvimento das formas graves da estrogiloidíase: síndrome da hiperinfecção e infecção disseminada (COSTA-CRUZ, 2016).

O uso de GC imunossupressores pode aumentar a susceptibilidade e facilitar o estabelecimento dos parasitos em seus hospedeiros, por isso são aplicados a vários modelos de infecção experimental, como camundongos NGS infectados por *S. stercoralis* (PATTON et al., 2018); macacos (*Callithrix penicillata*) infectados por *S. stercoralis* (MATI; RASO; MELO, 2014); camundongos Balb/c infectados por *S. venezuelensis* (MACHADO et al., 2011); ratos Wistar infectados por *Echinococcus multilocularis* (JOEKEL; DEPLAZES, 2017); gerbilos infectados por *Haemonchus contortus* (GRESSLER et al., 2018); camundongos infectados por *Toxoplasma gondii* (ZHANG et al., 2017). O estudo de Machado e colaboradores. (2011) mostrou que a imunossupressão farmacológica de camundongos infectados por *S. venezuelensis* provocou alta carga parasitária, com ocorrência de hiperinfecção e disseminação de parasitos para vários órgãos.

Este é o primeiro estudo que teve como objetivo avaliar e comparar as vias de administração oral e subcutânea de DEX, um glicocorticoide sintético com potente atividade imunossupressora e anti-inflamatória, na indução de imunossupressão farmacológica em ratos infectados experimentalmente com *S. venezuelensis*. A avaliação do tratamento por ambas as vias de administração foi realizada por parâmetros físicos (ganho de peso e sobrevivência), hematológicos (perfil leucocitário global e diferencial), imunológicos (níveis de detecção de IgG, IgG1 e IgG2) e parasitológicos (quantificação de ovos e fêmeas parasitas).

O protocolo de administração de DEX por via oral é prático, seguro, e não invasivo. Foi descrito por Romand, Thulliez e Dubey (1998), em um estudo em que fosfato de DEX diluída em água potável foi oferecido a camundongos com objetivo de se estabelecer supressão imunológica progressiva, não letal e constante previamente à infecção por *Neospora caninum*. O protocolo tem sido aplicado à imunossupressão de ratos infectados por *S. venezuelensis* (CHAVES et al., 2015; DE CARVALHO et al., 2015; GONÇALVES et al., 2016; MARQUES et al., 2016). O fato do fármaco ser disponibilizado diluído na água consumida pelos animais

configura uma desvantagem, pois não é possível controlar a quantidade ingerida por cada animal, e conseqüentemente não é possível estabelecer a concentração em mg/kg. No presente estudo foram inseridos reforços regulares da administração de DEX (8° e 21° d.p.i.), com o objetivo de prolongar a imunossupressão até o 30 d.p.i.

O protocolo de administração subcutânea de DEX foi utilizado por Machado e colaboradores (2011), em camundongos infectados experimentalmente por *S. venezuelensis*. A administração de injeções subcutâneas diárias é vantajosa uma vez que é possível precisar a quantidade de fármaco que está sendo administrada a cada animal, e determinar a concentração em mg/kg. Além disso, a exposição é realizada de forma diária, garantindo o efeito imunossupressor em todos os dias do experimento. O estresse mecânico ao qual os animais são submetidos configura uma desvantagem dessa via de administração, e pode gerar debilidade física e aumentar a susceptibilidade à infecções secundárias.

Nesse estudo foi observada uma tendência de manutenção do peso dos animais tratados com DEX, especialmente dos tratados pela via subcutânea (G V e G VI), quando comparados aos animais controle, que ganharam peso ao longo dos dias. De Vos e colaboradores. (1995) demonstraram que a administração subcutânea de doses farmacológicas diárias de glicocorticoides (hidrocortisona, DEX e triamcinolona) induziram a expressão do gene *ob* em tecido adiposo de ratos, que foi acompanhada de redução da ingestão de alimento e diminuição do peso corporal dos animais. Tefé-Silva e colaboradores (2008), mostraram que ratos Wistar infectados ou não com *S. venezuelensis* e tratados diariamente com DEX, apresentaram perda de peso corporal grave, com o aspecto físico extremamente magro e importante redução de gordura subcutânea. Biricik e colaboradores (2018) mostraram que o tratamento crônico de ratos via injeção intraperitoneal diária dos GC sintéticos DEX e prednisolona está associado à perda de peso, atrofia e fraqueza muscular, sendo o efeito mais evidente no tratamento por prednisolona. O regime de dosagem de DEX (750µg no dia -13 e 600µg no dia -9 antes da

inoculação) aplicada por via subcutânea na infecção experimental de ratos Wistar por *E. multilocularis* resultaram em perdas de peso < 20% (JOEKEL; DEPLAZES, 2017). O tratamento GC sintético metilprednisolona via intramuscular está associado à redução do peso corporal médio de gerbilos infectados pelo nematoide parasita de ruminantes *H. contortus* (GRESSLER et al., 2018).

Infecções por *Strongyloides* são caracterizadas pela resposta imune do perfil Th2 e estão associadas à altos níveis sistêmicos de neutrófilos, eosinófilos, basófilos e mastócitos de mucosa (MUKAI et al., 2017; REITZ et al., 2017, RAJAMANICKAM et al., 2018). Essas células são participantes ativas da resposta imune protetora, estando envolvidas em processos da resposta imune inata e alguma delas na resposta imune adaptativa (BREOLER; ABRAHAM, 2017). Imunoglobulinas IgG, IgA e IgE estão envolvidas na resposta à primoinfecção por *Strongyloides* (MARCOS et al., 2011). Na infecção crônica, há produção de IgE, IgG e suas subclasses IgG1, IgG2, IgG3 e IgG4 (NUTMAN, 2016). IgG e IgE estão envolvidas na imunidade contra a primoinfecção e reinfecção por *S. venezuelensis* (MUKAI et al., 2017). Nesse contexto, a imunossupressão farmacológica induzida por DEX poderia alterar aspectos envolvidos com o estabelecimento, desenvolvimento e sobrevivência de *S. venezuelensis* nos ratos infectados experimentalmente.

No presente estudo, a contagem global de leucócitos por mm³ de sangue aumentou no 8 d.p.i. para o controle positivo G II (+), voltando aos níveis normais no 30 d.p.i., o que possivelmente está associado ao controle da infecção pelo hospedeiro. A contagem de leucócitos por mm³ de sangue dos grupos tratados com DEX mantiveram-se baixas ao longo dos dias, especialmente a partir do 8 d.p.i. Em relação à contagem diferencial de leucócitos, foi observada a redução no número de linfócitos e o aumento no número de neutrófilos entre os grupos tratados com DEX. A alteração do perfil leucocitário foi evidente a partir do dia 0 para os grupos tratados pela via oral (G III e G IV), uma vez que tratamento pela via oral foi iniciado

5 dias antes da infecção. Para os grupos tratados pela via subcutânea apresentaram alterações a partir do dia 8, pois o tratamento foi iniciado no mesmo dia da infecção.

Assim como nesse estudo, leucopenia, linfopenia e neutrofilia no sangue periférico de camundongos infectados por *S. venezuelensis* e tratados com DEX, foram relatadas no trabalho de Machado e colaboradores (2011), que também observaram a inibição de eosinófilos, do acúmulo de células mononucleares no sangue e fluidos broncoalveolar e peritoneal.

Vários estudos indicam que a administração de doses farmacológicas de GC naturais ou sintéticos provocam grandes mudanças no perfil de leucócitos, tanto em humanos quanto em roedores. Essas mudanças envolvem diminuição pronunciada no número de linfócitos, monócitos e eosinófilos, e aumento significativo de neutrófilos no sangue (Mc EWEN et al, 1997). As alterações encontradas no perfil leucocitário são explicadas pelo efeito dos GC nos programas de distribuição/tráfego, sobrevivência/morte e diferenciação celular de leucócitos (COUTINHO; CHAPMAN, 2011).

Diferentes espécies apresentam sensibilidades variáveis aos GC. Ratos, camundongos são animais cujas células linfoides são relativamente sensíveis (CLAMAN, 1975; Mc EWEN et al., 1997). Nessas espécies, GC provocam produção de profunda linfopenia, atrofia da zona cortical do timo, e diminuição dos linfonodos e do baço. Esses efeitos podem ser evidenciados pela morte de linfócitos nos tecidos, particularmente no timo (CLAMAN, 1975).

A linfopenia ocorre devido a redistribuição aos órgãos linfáticos, alteração de moléculas de adesão e apoptose celular. A diminuição de IL-2 inibe a amplificação linfocitária. Em humanos linfócitos T são predominantemente afetados, principalmente os TCD4, ocorrendo inibição das respostas Th1 e Th2. A alteração dos linfócitos B é resultado de níveis plasmáticos elevados de GC (PEREIRA et al., 2007). Em ratos, linfócitos B e NK parecem ser mais suscetíveis à diminuição induzida por GC do que as células T (Mc EWEN et al., 1997). Nos tecidos linfoides, GC atuam reduzindo a expansão clonal de linfócitos T e B e a ação de

linfócitos T secretores de citocinas, e induzem a troca da resposta Th1 para Th2 (RANG et al., 2016).

A neutrofilia é resultado da diminuição da marginação endotelial, aumento da saída de neutrófilos da medula para a corrente sanguínea e diminuição da migração para os tecidos. A limitação da saída de neutrófilos dos vasos deve-se, em partes, ao aumento da anexina, vasoconstrição e diminuição da permeabilidade capilar. Não há aumento do número total de neutrófilos e sua função não é alterada (PEREIRA et al., 2007). Acredita-se que também ocorra um aumento da meia vida dos neutrófilos circulantes (Mc EWEN et al., 1997).

Em relação à detecção de anticorpos específicos, os resultados desse estudo indicaram a efetividade de DEX em diminuir a produção de IgG e suas subclasses (IgG1 e IgG2a) em animais infectados experimentalmente com *S. venezuelensis*, durante todos os d.p.i. avaliados. Resultados similares foram encontrados por Machado et al. (2011), que detectaram a inibição dos níveis de anticorpos IgG1, IgG2a e IgE, induzido por DEX em camundongos infectados experimentalmente por *S. venezuelensis*. O tratamento com DEX também reduziu níveis de IgG, IgG1 e IgE na infecção experimental de camundongos C57BL/6 por *Echinococcus granulosus* (ZHANG; YE; ZHENG, 2016). A produção de anticorpos é facilmente inibida em espécies sensíveis a GC. O mecanismo primário consiste na inibição ou lise dos linfócitos B, mas também ocorre o aumento do catabolismo de imunoglobulinas e comprometimento parcial de sua síntese (Mc EWEN et al., 1997).

A literatura descreve que o maior pico de eliminação de ovos em ratos imunocompetentes ocorre no 8º d.p.i. (DE SOUSA et al., 2016; MARQUES et al., 2016). Nesse estudo, o pico de eliminação de ovos nos animais imunocompetentes (G II) foi registrado no 7º d.p.i. O grupo tratado pela via de administração oral (G IV) apresentou maior número de ovos eliminados em durante todos os dias de experimento, exceto pelo 5ºd.p.i. Seu pico de eliminação ocorreu no 13ºd.p.i., o último dia do primeiro reforço da imunossupressão oral. O

grupo tratado pela via de administração subcutânea (G VI) não apresentou alterações significativas na eliminação de ovos ao longo dos dias, exceto nos dias 26 e 30, em que a quantidade de ovos foi maior do que a do controle positivo (G II). O pico de eliminação de ovos de G VI (sc +) ocorreu no 13º d.p.i. Chaves e colaboradores (2015), De Carvalho e colaboradores (2015) e Gonçalves e colaboradores (2016), utilizando o protocolo de imunossupressão oral sem reforços em ratos infectados por *S. venezuelensis*, obtiveram picos de eliminação de ovos no 8º d.p.i. Machado e colaboradores (2011), utilizando o protocolo de imunossupressão subcutânea em camundongos infectados com *S. venezuelensis* obtiveram o pico de eliminação de ovos no 14º d.p.i.

DEX parece interferir tanto na eliminação de ovos quanto no número de fêmeas parasitas de *S. venezuelensis*. Nesse estudo, o grupo tratado pela via de administração oral (G IV) apresentou o maior número de OPG, principalmente nos dias 13 e 26, logo após o término dos reforços da imunossupressão oral. Além disso, o número de fêmeas recuperadas do intestino dos animais de G IV (+) foi o maior entre os grupos infectados. Machado e colaboradores (2011), mostraram que o tratamento pela via de administração subcutânea em camundongos infectados por *S. venezuelensis*, leva ao aumento da carga parasitária, tanto de OPG quanto de fêmeas parasitas. Mati, Raso e Melo (2014) obtiveram números de fêmeas parasitas de *S. stercoralis* significativamente maiores em primatas tratados com DEX pela via subcutânea (2,5 mg/kg, 5 dias consecutivos), do que em primatas imunocompetentes. Ainda, análises das fezes desses primatas tratados com DEX não exibiram parasitológico negativo durante o período patente da infecção, e um maior número de larvas de *S. stercoralis* foi observado nas fezes desses animais em relação a animais imunocompetentes.

Esse estudo corrobora com as evidências de que GC contribuem para ocorrência de cargas parasitárias altas em infecções por *Strongyloides*, não apenas devido à capacidade de supressão da resposta imune celular e humoral, mas também atuando diretamente sobre o

parasito (KEISER; NUTMAN, 2004). Genta (1992) hipotetizou que a interação de receptores semelhantes a ecdisteroides, derivados do hospedeiro e expressos pelo parasita, com GC poderiam acelerar o processo de transformação de larvas rabditoides em larvas filarioides de *S. stercoralis*. Mansfield e colaboradores (1996) apresentaram evidências de que GC podem atuar no rejuvenescimento de fêmeas parasitas reprodutivamente latentes, que retornam a produzir larvas viáveis. Nesse sentido, a ocorrência de maior carga parasitária no grupo tratado pela via de administração oral (G IV) poderia também ser explicada pela interação de DEX com o parasito, pois sua absorção ocorre na parede intestinal, local onde as fêmeas parasitas residem.

O tratamento com DEX por ambas as vias de administração, tanto oral quanto subcutânea, foi capaz de produzir efeitos supressores sobre a reposta imunológica dos ratos infectados por *S. venezuelensis*, atuando sobre aspectos envolvidos com a resposta imune celular e humoral, como leucócitos, linfócitos, neutrófilos e imunoglobulinas. Entretanto, a administração de DEX pela via oral foi capaz de produzir maior carga parasitária de ovos e fêmeas parasitas.

6. CONCLUSÕES

- A administração de DEX por ambas as vias gerou dificuldades no ganho de peso dos animais, especialmente nos tratados pela via subcutânea.
- A administração de DEX por ambas as vias levou à alteração do perfil leucocitário dos animais tratados, com diminuição da contagem global de leucócitos, diminuição do número de linfócitos e aumento do número de neutrófilos.
- A administração da DEX por ambas as vias levou ao comprometimento da resposta imune humoral, provocando redução dos níveis de IgG, IgG1 e IgG2a.
- A administração de DEX pela via oral levou ao aumento da carga parasitária, com elevado número de ovos por grama de fezes e de fêmeas parasitas.
- O protocolo de tratamento de *R. norvegicus* Wistar pela administração oral de DEX provou ser útil ao estabelecimento de um modelo experimental de imunossupressão na strongiloidíase murina. É uma via de administração segura e não invasiva, e pode utilizada como uma ferramenta para o estudo de aspectos imunológicos e métodos diagnósticos aplicados à pesquisa de parasitos do gênero *Strongyloides*.

REFERÊNCIAS

- AMARANTE, A. F. T. D.; OLIVEIRA-SEQUEIRA, T. *Strongyloides venezuelensis* infection susceptibility of seven inbred strains of mice. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 54, p. 273-278, 2002. <https://doi.org/10.1590/S0102-09352002000300009>
- ANURADHA, R.; MUNISANKAR, S.; DOLLA, C.; KUMARA, P.; NUTMAN, T.B.; BABU, S. Parasite antigen-specific regulation of Th1, Th2 and Th17 responses in *Strongyloides stercoralis* infection. **The Journal of Immunology**, v.195, p. 2241-2250, 2015. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1500745>
- BIRICIK, E.; GÜLEÇ, E.; ÖCAL, I.; YILMAZ, M. B.; KARACAER, F.; ÖZCENGİZ, D. Determining the effect of long-term dexamethasone and prednisolone treatment on sugammadex. **Turkish Journal of Medical Sciences**, v. 48, p. 1024-1029, 2018. <https://doi.org/10.3906/sag-1804-160>
- BREOLER, M.; ABRAHAM, D. *Strongyloides* infection in rodents: immune response and immune regulation. **Parasitology**, v. 144, p. 295-315, 2017. <https://doi.org/10.3906/sag-1804-160>
- BRIGANDI, R.A.; ROTMAN, H.L.; NOLAN, T.J.; SCHAD, G.A.; ABRAHAM, D. Chronicity in *Strongyloides stercoralis* infections: dichotomy of the protective immune response to infective and autoinfective larvae in a mouse model. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v.56, p. 640-646, 1997. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.1997.56.640>
- BUONFRATE, D.; MENA, M. A.; ANGHEBEN, A.; REQUENA-MENDEZ, A.; MUÑOZ, J.; GOBBI, F.; ALBONICO, M.; GOTUZZO, E.; BISOFFI, Z.; COHEMI Project Study Group. Prevalence of strongyloidiasis in Latin America: a systematic review of the literature. **Epidemiology & Infection**, v. 3, p. 1-9, 2014. <https://doi.org/10.1017/S0950268814001563>
- BUTTGEREIT, F.; SAAG, K. G.; CUTOLO, M.; DA SILVA, J. A. P.; BIJLSMA, J. W. J. The molecular basis for the effectiveness, toxicity, and resistance to glucocorticoids: focus on the treatment of rheumatoid arthritis. **Scandinavian Journal of Rheumatology**, v. 34, p.14-21, 2005. <https://doi.org/10.1080/03009740510017706>
- CHAVES, L. A.; GONÇALVES, A. L. R.; PAULA, F. M.; SILVA, N. M.; SILVA, C. V.; COSTA-CRUZ, J. M.; FREITAS, M. A. R. Comparison of parasitological, immunological and molecular methods for evaluation of fecal samples of immunosuppressed rats experimentally infected with *Strongyloides venezuelensis*. **Parasitology**, v. 142, p. 1715-1721, 2015. <https://doi.org/10.1017/S0031182015001298>

CLAMAN, H. N. How corticosteroids work. **The Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 55, p. 145-151, 1975. [https://doi.org/10.1016/0091-6749\(75\)90010-X](https://doi.org/10.1016/0091-6749(75)90010-X)

CONCHA, R.; HARRINGTON, W.; ROGERS, A.I. Intestinal strongyloidiasis: recognition, management, and determinants of outcome. **Journal of Clinical Gastroenterology**, v. 39, p. 203-211, 2005. <https://doi.org/10.1097/01.mcg.0000152779.68900.33>

CORRAL, M. A.; PAULA, F. M.; GOTTARDI, M.; MEISEL, D. M. C. L.; CASTILHO, V. L. P.; GONÇALVES, E. M. N.; CHIEFFI, P. P.; GRYSHECK, R. C. B. Immunodiagnosis of human strongyloidiasis: use of a six different antigenic fractions from *Strongyloides venezuelensis* parasitic females. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 57, p. 427-430, 2015. <https://doi.org/10.1590/S0036-46652015000100011>

CORTÉS, A.; MUNÓZ-ANTOLI, C.; ESTEBAN, L. G.; TOLEDO, R. Th2 and Th1 Responses: Clear and hidden sides of immunity against intestinal helminths. **Trends in Parasitology**, v.1634, p.1-16, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.pt.2017.05.004>

COSTA-CRUZ, J.M. *Strongyloides stercoralis*. In: NEVES, D.P.; de MELO, A.L.; LINARDI, P.M.; ALMEIDA-VITOR, R.W. **Parasitologia humana**, 13 ed., Rio de Janeiro: Atheneu, 2016, p.313-323.

COUTINHO, A. E.; CHAPMAN, K. E. The anti-inflammatory and immunosuppressive effects of glucocorticoids recent developments and mechanistic insights. **Molecular and Cellular Endocrinology**, v. 335, p. 2-13, 2011. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2010.04.005>

DE CARVALHO, E. F. G.; SOUSA, J. E. N.; GOLÇALVES, A. L. R.; CUNHA-JUNIOR, J. P. C.; COSTA-CRUZ, J. M. Immunoblotting using *Strongyloides venezuelensis* larvae, parthenogenetic females or eggs extracts for the diagnosis of experimentally infected immunosuppressed rats. **Experimental Parasitology**, v. 157, p. 117- 123, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2015.07.009>

DE SOUSA, J. E. N.; DE CARVALHO, E. F. G.; LEVENHAGEN, M. A.; DE FARIA, L. S.; GONÇALVES-PIRES, M. R. F.; COSTA-CRUZ, J. M. Serological cross-reactivity between *Strongyloides venezuelensis* and *Syphacia muris* in Wistar rats (*Rattus norvegicus*). **Parasitology International**, v. 65, p. 137-145, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.parint.2015.11.005>

DE VOS, P.; SALADIN, R.; AUWERX, J.; STAEELS, B. Induction of *ob* gene expression by corticosteroids is accompanied by body weight loss and reduced food intake. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 270, p. 15958-15961, 1995. <https://doi.org/10.1074/jbc.270.27.15958>

DRUGBANK DATABASE. Acesso em 21/01/2019. Disponível em: <https://www.drugbank.ca/drugs/DB01234>

EMS, 2019. Bula da dexametasona. Acesso em: 04/02/2019. Disponível em: <https://www.ems.com.br/dexametasona-05-mg-5-ml-120-ml-decadron-tratamento-de-laringite-traque%C3%ADe-iridociclite-e-asma-generico-ems,1052.html>

EZRAHI, S.; ARSENI, A.; GARTI, N. Basic principles of drug delivery and microemulsions- the case of paclitaxel. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 18, p. 1-52, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2018.11.004>

FERREIRA, C. M.; PEREIRA, A. T. M.; AMARAL, F. A.; SOUZA, R. S.; COLEHO, F. M.; SOUZA, D. G.; NEGRÃO-CORRÊA, D.; TEIXEIRA, M. M. Mechanisms of the airway hyperresponsiveness induced by *Strongyloides venezuelensis* infection in rats: role of capsaicin-sensitive neurons. **Microbes and Infection**, v. 11, p. 315-320, 2009. <https://doi.org/10.1016/j.micinf.2008.11.015>

GENTA, R. M. Dysregulation of strongyloidiasis: a new hypothesis. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 5, p. 345-355, 1992. <https://doi.org/10.1128/CMR.5.4.345>

GONÇALVES, A. L. R.; DE ARAÚJO, K. C. L.; CARVALHO, E. F. G.; UETA, M.T.; COSTA-CRUZ, J. M. Specific IgG and immune complex responses to parthenogenetic females and eggs of nematode *Strongyloides venezuelensis* for the diagnosis of immunosuppression in infected rats. **Journal of Helminthology**, v. 90, p. 342-346, 2016. <https://doi.org/10.1017/S0022149X15000346>

GONZAGA, H. T.; DA SILVA RIBEIRO, V.; CUNHA-JÚNIOR, J. P.; UETA, M. T.; COSTA-CRUZ, J. M. Usefulness of concanavalin-A non-binding fraction of *Strongyloides venezuelensis* larvae to detect IgG and IgA in human strongyloidiasis. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, v. 70, p. 78-84, 2011. <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2011.01.016>

GORDON, H. M.; WHITLOCK, H. V. A. New technique for counting nematode eggs in sheep feces. **Journal of Communication of Science and Industrial Organization**, v.12, p.17-18, 1939.

GRESSLER, L. T.; GRANDO, T. H.; MACHADO DE CARMO, M. G.; VAUCHER, R. A.; STEFANI, L. M.; MONTEIRO, S.G. *Meriones unguiculatus* infected by *Haemonchus contortus*: evaluation of different experimental protocols. **Journal of Helminthology**, v. 2018, p. 1-6, 2018. <https://doi.org/10.1017/S0022149X18000408>

GROVE, D. I. Human strongyloidiasis. **Advances in Parasitology**, v. 38, p. 251-309, 1996. [https://doi.org/10.1016/S0065-308X\(08\)60036-6](https://doi.org/10.1016/S0065-308X(08)60036-6)

GUPTA, H.; BHANDARI, D.; SHARMA, A. Recent trends in oral drug delivery: A review. **Recent Patents on Drug Delivery & Formulation**, v. 3., p. 162-173, 2009.

<https://doi.org/10.2174/187221109788452267>

HART, L.; LIM, S.; ADCOCK, I.; BARNIES, J.; CHUNG, K. F. Effects of inhaled corticosteroid therapy on expression and DNA-binding activity of nuclear factor KB in asthma. **American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine**, v. 161, p. 224-231, 2000. <https://doi.org/10.1164/ajrccm.161.1.9809019>

HARTMANN, W.; ESCHBACH, M. L.; BREOLER, M. *Strongyloides ratti* infection modulates B and T cell responses to third party antigens. **Experimental Parasitology**, v. 132, p. 69-75, 2012. <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2011.06.001>

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

<https://doi.org/10.4269/ajtmh.2006.74.246>

IZQUERDO, I.; BRIONES, J.; LLUCH, R.; ARQUEROS, C.; MARTINO, R. Fatal *Strongyloides* hyperinfection complicating a gram-negative sepsis after allogeneic stem cell transplantation: A case report and review of the literature. **Case Reports in Hematology**, v. 2013, p. 1-5, 2013. <https://doi.org/10.1155/2013/860976>

JOEKEL, D. E.; DEPLAZES, P. Optimized dexamethasone immunosuppression enables *Echinococcus multilocularis* liver establishment after oral inoculation in a rat model. **Experimental Parasitology**, v. 180, p. 27-32, 2017.

<https://doi.org/10.1016/j.exppara.2017.02.003>

JOURDAN, P. M.; LAMBERTON, P. H. L.; FENWICK, A.; ADDLISS, D. G. Soil-transmitted helminth infections. **The Lancet**, v. 391, p. 252-265, 2018.

[https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(17\)31930-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(17)31930-X)

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

<https://doi.org/10.1128/CMR.17.1.208-217.2004>

LAM, C.S.; TONG, M.K.; CHAN, K.M.; SIU, Y.P. Disseminated strongyloidiasis: a retrospective study of clinical course and outcome. **European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases**, v. 25, p. 14-18, 2006. <https://doi.org/10.1007/s10096-005-0070-2>

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

<https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2014.03.015>

LEVENHAGEN, M. A.; CONTE, H.; COSTA-CRUZ, J. M. Current progress toward vaccine and passive immunization approaches for *Strongyloides* spp. **Immunology Letters**, v. 180, p. 17-23, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.imlet.2016.10.005>

LITTLE, M. D. Comparative morphology of six species of *Strongyloides* (Nematoda) and redefinition of the genus. **Journal of Parasitology**, v. 52, p. 69–84, 1996.

<https://doi.org/10.2307/3276396>

LOK, J. B.; SHAO, H.; MASSEY, H. C.; LI, X. Transgenesis in *Strongyloides* and related parasitic nematodes: historical perspectives, current functional genomic applications and progress towards gene disruption and editing. **Parasitology**, v. 144, p.1-16, 2016.

<https://doi.org/10.1017/S0031182016000391>

LÖWENBERG, M.; STHAN, C.; HOMMES, D. W.; BURRGEREIT, F. Novel insights into mechanisms of glucocorticoid action and the development of new glucocorticoid receptor ligands. **Steroids**, v. 73, p. 1025-1029, 2008. <https://doi.org/10.1016/j.steroids.2007.12.002>

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

MACHADO, E. R.; CARLOS, D.; SORGI, C. A.; RAMOS, S. G.; SOUZA, D. I.; SOARES, E. G.; COSTA-CRUZ, J. M.; UETA, M. T.; ARONOFF, D. M.; FACCIOLI, L. H. Dexamethasone effects in the *Strongyloides venezuelensis* infection in a murine model. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 84, p. 957-966, 2011.

<https://doi.org/10.4269/ajtmh.2011.10-0490>

MANSFIELD, L. S.; NIAMATALI, S.; BHOPALE, V.; VOLK, S.; SMITH, G.; LOK, J. B.; GENTA, R. M.; SCHAD, G. A. *Strongyloides stercoralis*: maintenance of exceedingly chronic infections. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v.55, p. 617-624, 1996. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.1996.55.617>

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

<https://doi.org/10.1016/j.trstmh.2008.01.020>

MARCOS, L. A.; TERASHIMA, A.; CANALES, M.; GOTUZZO, E. Update of strongyloidiasis in the immunocompromised host. **Current Infectious Disease Reports**, v. 13, p. 35-46, 2011. <https://doi.org/10.1007/s11908-010-0150-z>

MARQUES, P. D.; MALTA, E. M.; MEISEL, D. M. C. L.; CORRAL, M. A.; PINHO, J. R.; COSTA-CRUZ, J. M.; CHIEFFI, P. P.; GRYSHECK, R. C. B.; PAULA, F. M. Diagnosis of the strongyloid nematode *Strongyloides venezuelensis* in experimentally infected rats.

Journal of Helminthology, v. 90, p. 422-427, 2016.

<https://doi.org/10.1017/S0022149X15000528>

MARRA, N. F.; CHIUSO-MINICUCI, F.; MACHADO, G. C.; ZORZELLA-PEZAVENTO, S. F. G.; FRANÇA, T. G. D.; ISHIKAWA, L. L. W.; AMARANTE, A. F. T.; SARTORI, A.; AMARANTE, M. R. V. Migratory route of *Strongyloides venezuelensis* in Lewis rats:

Comparation of histological analyses and PCR. **Experimental Parasitology**, v. 127, p. 334-339, 2011. <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2010.08.006>

MARTINEZ-PEREZ, A. DÍEZ, S. R.; BELHANSEN-GARCIA, M.; TORRÚS-TENDERO, D.; PEREZ-ARELLANO, J. L.; CABEZAS, T.; SOLER, C.; DÍAZ-MENÉNDEZ, M.;

NAVARRO, M.; TREVIÑO, B.; SALVADOR, F. Management of severe strongyloidiasis attended at reference centers in Spain. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 2, p. 1-12,

2018. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0006272>

MATI, V. L. T.; RASO, P.; MELO, A. L. *Strongyloides stercoralis* infection in marmosets: replication of complicated and uncomplicated human disease and parasite biology. **Parasites & Vectors**, v. 7, p. 1-17, 2014. <https://doi.org/10.1186/s13071-014-0579-2>

Mc EWEN, B. S.; BIRON, C. A.; BRUNSON, K. W.; BULLOCH, K.; CHAMBERS, W. H.; DHABHAR, F. S.; GOLDFARB, R. H.; KITSON, R. P.; MILLER, A. H.; SPENCER, R. L.; WEISS, J. M. The role of adrenocorticoids as modulators of immune function in health and disease: neural, endocrine and immune interactions. **Brain Research Reviews**, v. 23, p. 79-

133, 1997. [https://doi.org/10.1016/S0165-0173\(96\)00012-4](https://doi.org/10.1016/S0165-0173(96)00012-4)

Mc LENNAN, D. N.; PORTER, C. J. H.; CHARMAN, S. A. Subcutaneous drug delivery and the role of the lymphatics. **Drug Discovery Today: Technologies**, v. 2, p. 89-96, 2005.

<https://doi.org/10.1016/j.ddtec.2005.05.006>

MINEO, J. R. Medidas de biossegurança em pesquisa na área biomédica. In: MINEO, J. R.; SILVA, D.A.O.; SOPELETE, M. C.; LEAL, G. S.; VIDIGAL, L. H.; TÁPIA, L.E.R.; BACCHIN, M.I. **Pesquisa na área biomédica: do planejamento à publicação**. Uberlândia: Edufu, 2009, 269p.

MOBLEY, C. M.; DHALA, A.; GHOBRIAL, R. M. *Strongyloides stercoralis* in solid organ transplantation: early diagnosis gets the worm. **Current Opinion in Organ Transplantation**,

v. 22, p. 1-9, 2017. <https://doi.org/10.1097/MOT.0000000000000428>

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

MUKAI, K.; KARASUYAMA, H.; KABASHIMA, K.; KUBO, M.; GALLI, S. J. Differences in the importance of mast cells, basophils, IgE, and IgG versus that of CD4+ T cells and ILC2 cells in primary and secondary immunity to *Strongyloides venezuelensis*. **Infection and Immunity**, v. 85, p. 1-18, 2017. <https://doi.org/10.1128/IAI.00053-17>

NEGRÃO-CORRÊA, D.; SILVEIRA, M. R.; BORGES, C. M.; SOUZA, D. G.; TEIXEIRA, M. M. Changes in pulmonar function and parasite burden in rats infected with *Strongyloides venezuelensis* concomitant with induction of allergic airway inflammation. **Infection and Immunity**, v. 71, p. 2607-2614, 2003. <https://doi.org/10.1128/IAI.71.5.2607-2614.2003>

NEVES, D. P. Meios de cultura. In: **Parasitologia humana**. 13^a. ed. Rio de Janeiro: Atheneu, 2016. p. 555-559.

NUTMAN, T. B. Human infection with *Strongyloides stercoralis* and other related *Strongyloides* species. **Parasitology**, v. 144, p. 1-16, 2016. <https://doi.org/10.1017/S0031182016000834>

OSTERA, G.; BLUM, J. Strongyloidiasis: Risk and healthcare access for Latin American immigrants living in the United States. **Current Tropical Medicine Reports**, v. 3, p. 1-3, 2016. <https://doi.org/10.1007/s40475-016-0065-3>

PACHECO-TENZA, M. I.; RUIZ-MACIÁ, J. A.; NAVARRO-COTS, M.; GREGORI-COLOMÉ, J.; CEPEDA-RODRIGO, J. M.; LLENAS-GARCÍA, J. *Strongyloides stercoralis* infection in a Spanish regional hospital: not just an imported disease. **Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica**, v. 36, p. 24-28, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2016.08.007>

PARAGLIOLA, M. R.; PAPI, G.; PONTECORVI, A.; CORSELLO, S. M. Treatment with syntetic glucocorticoids and the hypothalamus-pituitary-adrenal axis. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 18, p.1-17, 2017. <https://doi.org/10.3390/ijms18102201>

PATTON, J. B.; BONNE-ANNÉE, S.; DECKMAN, J.; HESS, J. A.; TORIGIAN, A.; NOLAN, T. J.; WANG, Z.; KIEWER, S. A.; DURHAM, A. C.; LEE, J. J.; EBERHARD, M. L.; MANGELSDORF, D. J.; LOK, J. B.; ABRAHAM, D. Methylprednisolone acetate induces, and Δ^7 -dafiachronic acid suppresses, *Strongyloides stercoralis* hyperinfection in NSG mice. **PNAS**, v. 115, p. 204-209, 2018. <https://doi.org/10.1073/pnas.1712235114>

PAULA, F. M.; COSTA-CRUZ, J. M. Epidemiological aspects of strongyloidiasis in Brazil. **Parasitology**, v. 138, p. 1331-1340, 2011. <https://doi.org/10.1017/S003118201100120X>

PEREIRA, A. L. C.; BOLZANI, F. C. B.; STEFANI, M.; CHARLIN, R. Uso sistêmico de corticosteroides: revisão da literatura. **Medicina Cutânea Ibero-Latino-Americana**, v.35, p. 35-50, 2007.

PUBCHEM COMPOUND DATABASE. Acesso em: 31/01/2019. Disponível em: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/5743>

PUTHIYAKUNNON, S.; BODDU, S.; LI, Y.; ZHOU, X.; WANG, C.; LI, J.; CHEN, X. Strongyloidiasis-an insight into its global prevalence and management. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 8, p. 1-12, 2014. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0003018>

RAJAMANICKAM, A.; MUSISANKAR, S.; BHOOTRA, Y.; DOLLA, C. K.; THIRUVENGADAM, K.; NUTMAN, T. B.; BABU, S. Altered levels of memory T cell subsets and common γ c cytokines in *Strongyloides stercoralis* infection and partial reversal following anthelmintic treatment. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 12, p. 1-15, 2018. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0006481>

RAMOS, L. A.; GAMA, L.A.; MATI, V.L.T.; CORÁ, L.A.; FUJIWARA, M.F.; AMERICO, M.F. Evaluation of gastrointestinal transit after infection with different loads of *Strongyloides venezuelensis* in rats. **Acta Tropica**, v. 156, p. 43-47, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2015.12.010>

RANG, H. P.; RITTER, J.M.; FLOWER, R. J.; HENDERSON, G. **Rang & Dale: Farmacologia**. 8ª ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2016.

REITZ, M.; HARTMANN, W.; RÜDIGER, N.; ORINSKA, Z.; BRUNN, M. L.; BREOLER, M. Interleukin-9 promotes early mas cell-mediated expulsion of *Strongyloides ratti* but is dispensable for generation of protective memory. **Scientific Reports**, v. 8, p. 1-11, 2018. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-26907-2>

REPETTO, S. A.; RUYBAL, P.; SOLANA, M. E.; LÓPEZ, C.; BERINI, C. A.; SOTO, C. D. A.; CAPPA, S. M. G. Comparasion between PCR and larvae visualization methods for diagnosis of *Strongyloides stercoralis* out of endemic area: A proposed algorithm. **Acta Tropica**, v. 157, p. 169-177, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2016.02.004>

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

RHEN, T.; CIDLOWSKI, J. A. Antiinflammatory action of glucocorticoids-New mechanisms for old drugs. **The New England Journal of Medicine**, v. 353, p. 1711-1723, 2005. <https://doi.org/10.1056/NEJMr050541>

ROMAND, S.; THULLIEZ, P.; DUBEY, J. P. Direct agglutination test for serologic diagnosis of *Neospora caninum*. **Parasitology Research**, v. 84, p. 50-53, 1998. <https://doi.org/10.1007/s004360050355>

ROXBY, A.C.; GOTTLIEB, G.S.; LIMAYE, A. P. Strongyloidiasis in transplant patients. **Clinical Infectious Diseases**, v. 49, p. 1411-1423, 2009. <https://doi.org/10.1086/630201>

RUANO, A.L.; LÓPEZ-ABÁN, J.; FERNÁNDEZ-SOTO, P.; DE MELO, A.L.; MURO, A. Treatment with nitric oxide donors diminishes hyperinfection by *Strongyloides venezuelensis* in mice treated with dexamethasone. **Acta Tropica**, v. 152, p. 90-95. 2015. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2015.08.019>

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

SATO, Y.; TOMA, H. Effects of spleen cells and serum on transfer of immunity to *Strongyloides venezuelensis* infection in hypothyroid (nude) mice. **International Journal for Parasitology**, v. 20, p. 63- 67, 1990 a. [https://doi.org/10.1016/0020-7519\(90\)90174-L](https://doi.org/10.1016/0020-7519(90)90174-L)

SATO, Y.; TOMA, H. *Strongyloides venezuelensis* infection in mice. **Parasitology International**, v.20, p.57-62, 1990 b. [https://doi.org/10.1016/0020-7519\(90\)90173-K](https://doi.org/10.1016/0020-7519(90)90173-K)

SAUGAR, J. M.; MERINO, F.J.; MARTÍN-RABADÁN, P.; FERNÁNDEZ-SOTO, P.; ORTEGA, S.; GÁRATE, T.; RODRÍGUEZ, E. Application of real-time PCR for the detection of *Strongyloides* spp. in clinical samples in a reference center in Spain. **Acta Tropica**, v.142, p. 20-25, 2011. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2014.10.020>

SCHÄR, F.; TROSTDORF, U.; GIARDINA, F.; KHIEU, V.; MUTH, S.; MARTI, H.; VOUNATSOU, P.; ODERMATT, P. *Strongyloides stercoralis*: Global distribution and risk factors. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 7, p. 1-17, 2013. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0002288>

SEQUEIRA, J. A. D.; SERRA, A. C. S.; ESTEVENS, C.; SEIÇA, R.; VEIGA, F.; RIBEIROS, A. J. Subcutaneous delivery of biotherapeutics: challenges at the injection site. **Expert Opinion on Drug Delivery**, v. 16, p. 143-151, 2019. <https://doi.org/10.1080/17425247.2019.1568408>

SIDDIQUI, A. A.; BERK, S.L. Diagnosis of *Strongyloides stercoralis* infection. **Clinical Infectious Diseases**, v. 33, p. 1040-1047, 2001. <https://doi.org/10.1086/322707>

SIDDIQUI, A. A.; STANLEY, C. S.; BERK, S. L.; SKELLY, P. J. A cDNA encoding a nuclear hormone receptor of the steroid/thyroid hormone-receptor superfamily from the human parasitic nematode *Strongyloides stercoralis*. **Parasitology Research**, v. 86, p. 24-29, 2000. <https://doi.org/10.1007/PL00008502>

STAHN, C.; LÖWENBERG, M.; HOMMES, D. W.; BUTTGEREIT, F. Molecular mechanisms of glucocorticoid action and selective glucocorticoid receptor agonists. **Molecular and Cellular Endocrinology**, v. 275, p. 71-78, 2007. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2007.05.019>

TEFÉ-SILVA, C.; SOUZA, D. I.; UETA, M. T.; FLORIANO, E. M.; FACCIOLI, L. H.; RAMOS, S. G. Interference of dexamethasone in the pulmonary cycle of *Strongyloides venezuelensis* in rats. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 79, p. 571-578, 2008. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.2008.79.571>

TOLEDO, R.; MUÑOZ-ANTOLI, C.; ESTEBAN, J. G. Strongyloidiasis with emphasis on human infections and its different clinical forms. **Advances in Parasitology**, v. 88, p. 165-241, 2015. <https://doi.org/10.1016/bs.apar.2015.02.005>

VERMA, P.; THAKUR, A. S.; DESHMUKH, K.; JHA, A. K.; VERMA, S. Routes of drug administration. **International Journal of Pharmaceutical Studies and Research**, v. 1, p. 54-59, 2010.

VINEY, M. E.; LOK, J. B. The biology of *Strongyloides* spp. **WormBook**, v. 16, p. 1-17, 2015. <https://doi.org/10.1895/wormbook.1.141.2>

VINEY, M.; KIKUCHI, T. *Strongyloides ratti* and *S. venezuelensis*-rodent models of *Strongyloides* infection. **Parasitology**, v. 144, p. 285-294, 2017. <https://doi.org/10.1017/S0031182016000020>

WANG, C.; XU, J.; ZHOU, X.; LI, J.; YAN, G.; JAMES, A. A.; CHEN, X. Review: Strongyloidiasis: an emerging infectious disease in China. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 88, p. 420-425, 2013. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.12-0596>

WEATHERHEAD, J. E.; MEIJA, R. Immune response to infection with *Strongyloides stercoralis* in patients with infection and hyperinfection. **Current Tropical Medicine Reports**, v. 1, p. 229-233, 2014. <https://doi.org/10.1007/s40475-014-0032-9>

WHO, 2018 b. Acesso: 17/01/2019. Disponível em: https://www.who.int/intestinal_worms/disease/en/

WHO, 2018 b. Acesso em:18/01/2019. Disponível em: https://www.who.int/intestinal_worms/epidemiology/strongyloidiasis/en/

ZHANG, J.; QIN, X.; ZHU, Y.; ZHANG, S.; ZHANG, X. E.; LU, H. Mechanism of dexamethasone in the context of *Toxoplasma gondii* infection. **Parasitology**, v. 144, p. 1-7, 2017. <https://doi.org/10.1017/S0031182017001111>

ZHANG, Q.; YE, J.; ZHENG, H. Dexamethasone attenuates echinococcosis-induced allergic reaction via regulatory T cells in mice. **BMC Immunology**, v. 17, p.1-18, 2016. <https://doi.org/10.1186/s12865-016-0141-4>