

Fabiana Martins de Paula

10/02/99
016.09
10/02/99
10/02/99

DIAGNÓSTICO PARASITOLÓGICO E IMUNOLÓGICO DA ESTRONGILOIDÍASE EM CRIANÇAS IMUNOCOMPETENTES E IMUNODEPRIMIDAS

SISBI/UFU



1000193767

*Dissertação apresentada ao Curso de
Pós-Graduação em Imunologia e
Parasitologia Aplicadas da Universidade
Federal de Uberlândia, como parte das
exigências para a obtenção do título de
Mestre.*

Profa Dra Julia Maria Costa-Cruz

Orientadora

**Uberlândia
Minas Gerais - Brasil
1999**

Trabalho realizado no Laboratório de Parasitologia, Departamento de Patologia da Universidade Federal de Uberlândia, MG, sob apoio financeiro FAPEMIG, através de bolsa de estudo ao nível de mestrado e auxílio a pesquisa e CAPES, através de bolsa de estudo ao nível de mestrado.

*“Aprender é a única
coisa da qual a mente
humana nunca se cansa,
nunca tem medo e jamais
se arrepende”*

(Leonardo Da Vinci)

Dedico

Ao único Deus por ter me dado o mais precioso dom que é a vida e por estar a meu lado em todos os momentos;

Ao meu esposo, Elcio, pelo estímulo e compreensão sempre constantes;

Aos meus pais, Fábio e Delícia; e a minha irmã Fernanda pelo carinho e zelo durante toda a minha carreira científica.

Agradecimentos

À Profa Dra Julia Maria Costa-Cruz, minha sincera gratidão, pelo profissionalismo na orientação deste trabalho e principalmente pela amizade e dedicação.

Ao Prof. Dr. Elísio de Castro pela autorização da colheita das amostras biológicas dos pacientes internados na enfermaria de Pediatria do HC-UFU e pelo acompanhamento clínico de todos os casos deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Marcelo Simão Ferreira pela análise crítica do manuscrito e participação na banca examinadora.

À Dra Sumie Hoshino Shimizu, pela participação na banca examinadora, sugestões e recomendações feitas para a melhoria do trabalho.

À Profa Dra Dulcinéia M.B. Campos, que gentilmente cedeu às larvas de *S. ratti*.

À auxiliar de laboratório, Maria das Graças Marçal e à bióloga do laboratório de Parasitologia, Maria do Rosário Gonçalves-Pires pela dedicação, profissionalismo e amizade durante todo tempo de pesquisa.

Aos funcionários do Laboratório de Parasitologia: Elaine, Rosângela, Sheila e Geraldo pela colaboração durante todo o tempo de pesquisa.

À coordenadora de Enfermagem da enfermaria de Pediatria do HC-UFU, Márcia Elizabeth da Silva Almeida Teixeira, pelo empenho na obtenção das amostras biológicas dos pacientes.

Às secretárias da enfermaria de Pediatria do HC-UFU, Francis e Neuza, pela colaboração na realização deste trabalho.

Ao Prof. Vanderli A. de Campos pelo auxílio na análise estatística.

Ao secretário do curso de pós-graduação, João Martins Neto, pelos auxílios prestados e pela amizade.

Às colegas do curso de pós-graduação Aurélia, Kely, Rosineide, Andrea e Solange, amigas que nunca estiveram ausentes, meu muito obrigado.

A todas as pessoas, que direta ou indiretamente, contribuíram para a elaboração deste trabalho.

Meu muito obrigado.

SUMÁRIO

1 - INTRODUÇÃO	1
1.1 - Agente etiológico	1
1.2 - Aspectos epidemiológicos da strongiloidíase na infância	5
1.3 - Relação parasito-hospedeiro	8
1.4 - Diagnóstico da strongiloidíase	13
2 - OBJETIVOS	20
3 - MATERIAL E MÉTODOS	21
3.1 - População de estudo	21
3.2 - Amostras fecais	22
3.3 - Soro	22
3.4 - Diagnóstico Parasitológico	22
3.4.1 - Método de Baermann-Moraes	22
3.4.2 - Método de Hoffmann, Pons e Janer	23
3.5 - Diagnóstico Imunológico	24
3.5.1 - Obtenção de <i>S. stercoralis</i>	24
3.5.2 - Obtenção de <i>S. ratti</i>	24
3.5.3 - Produção do antígeno para a reação de imunofluorescência indireta	25
3.5.4 - Reação de Imunofluorescência indireta	25
3.5.5 - Produção de extrato alcalino de <i>S. ratti</i> para o teste ELISA	26
3.5.6 - Teste imunoenzimático ELISA	26
3.6 - Pesquisa de fator reumatóide	27
3.7 - Análise estatística	28
3.8 - Normas de biossegurança	28
3.9 - Retorno a comunidade	28
4- RESULTADOS	29
4.1 - Caracterização do grupo de estudo	29
4.2 - Diagnóstico Parasitológico	32
4.3 - Diagnóstico Imunológico	37
4.3.1 - Detecção de anticorpos IgG e IgM pela reação de imunofluorescência indireta	37
4.3.2 - Detecção de anticorpos IgG e IgM pelo teste ELISA	39
4.3.3 - Comparação entre os testes imunológicos utilizando antígeno <i>S. ratti</i> .	40
4.4 - Comparação entre os diagnósticos parasitológicos e imunológicos na strongiloidíase	41
5 - DISCUSSÃO	49
6 - CONCLUSÕES	59
7 - RESUMO	60
8 - SUMMARY	61
9 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	62
10 - ANEXOS	80

1. INTRODUÇÃO

A estrongiloidíase é uma doença parasitária, resultante da infecção pelo geo-helminto, *Strongyloides stercoralis* (Bavay, 1876) com distribuição mundial, tendo maior prevalência em áreas tropicais e subtropicais.

S. stercoralis é responsável por uma infecção assintomática ou oligossintomática do trato gastrointestinal no homem, o qual pode permanecer infectado por vários anos (BRASITUS et al., 1980; SIDDIQUI et al., 1997), mas em indivíduos imunodeprimidos pode ocorrer quadros freqüentemente fatais de estrongiloidíase sistêmica ou síndrome de hiperinfecção (ZYGMUNT, 1990; ROTTERDAM, TSANG, 1994; SATO, KOBAYASHI, SHIROMA, 1995; MAHMOUD, 1996; ANANTHAKRISHNAM, NACINI, PANI, 1997).

1.1. Agente etiológico

Strongyloides sp, pertencem ao reino Animalia, sub-reino Metazoa, filo Nematoda, classe Secernentasida, ordem Rhabdiorida. A família Strongyloididae é composta por apenas um gênero, *Strongyloides*, neste gênero estão incluídas 52 espécies sendo que duas têm importância em saúde pública: *Strongyloides stercoralis* e *S. fuelleborni*, e uma subespécie *S. fuelleborni kelly* (LEVINE, 1979). O primeiro tem distribuição mundial, o segundo é encontrado na África e nas Filipinas e o terceiro apenas na Ilha de Nova Guiné (PIRES, DREYER, 1993).

Os nematelmintos do gênero *Strongyloides* ocorrem no homem, mamíferos domésticos e silvestres, aves, répteis e anfíbios causando a estrongiloidíase (GROVE, 1996).

— A espécie *S. stercoralis* foi identificada pela primeira vez em 1876 por Normand ao examinar fezes de soldados procedentes da Cochinchina, atual Vietnã. As formas do parasito foram descritos por Bavay em 1876, como *Anguillula stercoralis* para os parasitos encontrados na luz intestinal e como *Anguillula intestinalis* para os obtidos de necropsia. Leuckart demonstrou serem as formas “stercoralis” e “intestinalis” pertencentes a uma mesma espécie heterogênea com uma forma parasitária partenogenética e outra de geração de vida livre, bissexuada, passando a denomina-la de *Strongyloides stercoralis* (PÊSSOA, MARTINS, 1982).

— *S. stercoralis* é uma espécie dimorfobiótica, isto é, apresenta uma forma parasitária e outra de vida livre, distintas entre si, que se intercalam no ciclo evolutivo.

— A forma parasitária é constituída somente por fêmeas partenogenéticas que possuem aspecto filiforme medindo cerca de 2,2 mm de comprimento com aproximadamente 5 μ m de diâmetro; a extremidade anterior é arredondada e apresentam três pequenos lábios e esôfago filiforme; o intestino é simples abrindo-se para o exterior através do orifício anal situado próximo da extremidade posterior afilada e curvada no sentido ventral; a cutícula é fina e transparente. Os parasitas vivem habitualmente na mucosa do intestino delgado, especialmente no duodeno e jejuno, onde depositam seus ovos. Os ovos eliminados pelas fêmeas partenogenéticas são elipsóides, medem cerca de 40 x 70 μ m de tamanho e são raramente vistos nas fezes, dando origem às larvas rabditóides (REY, 1992).

— As larvas rabditóides medem de 200 a 300 μ m de comprimento, possuem esôfago do tipo rabditóide com dilatações nas extremidades e constrição na parte mediana, e caracterizam-se por apresentar um vestibulo bucal curto e um esboço genital desenvolvido. Essas larvas dão origem às larvas filarióides que medem cerca de 500 μ m de

comprimento, possuem um corpo afilado terminando em uma ponta entalhada e esôfago longo correspondendo à metade de seu comprimento sem dilatação bulbar. As larvas filarióides são bastantes ativas e podem permanecer vivas durante aproximadamente cinco semanas, porém completam a sua evolução somente ao encontrarem um hospedeiro adequado, após penetrarem através da pele ou da mucosa (REY, 1992).

Os adultos de vida livre resultam da evolução de larvas rabditóides que são eliminadas para o meio externo através das fezes. O macho é pequeno, medindo aproximadamente 0,7 mm, o esôfago é rabditóide e o aparelho digestivo termina em uma cloaca apresentando uma extremidade posterior recurvada ventralmente, a qual possui espículas utilizadas na cópula. A fêmea mede de 1 a 1,5 mm de comprimento possui o corpo fusiforme, com a extremidade anterior romba, contendo boca cercada de três pequenos lábios. O esôfago é rabditóide e tendo o aparelho digestivo simples que termina no ânus próximo da extremidade posterior constituída de uma cauda afilada (REY, 1992).

O ciclo de vida de *S. stercoralis* é complexo, o seu desenvolvimento pode ocorrer no meio ambiente (ciclo de vida livre ou indireto) ou no hospedeiro humano (ciclo parasitário ou direto).

No ciclo de vida livre, algumas larvas rabditóides eliminadas no meio externo junto com as fezes e em um ambiente propício, isto é, úmido e quente (25 a 32°C) evoluem dentro de 24 a 48 horas em larvas filarióides sem a interposição do estágio de adulto de vida livre. No entanto, outras larvas rabditóides, eliminadas nas fezes ao final de dois a cinco dias sofrem quatro mudas originando-se machos e fêmeas de vida livre. O macho fertiliza a fêmea, a qual deposita os ovos no solo, e estes desenvolvem-se rapidamente liberando larvas rabditóides que por sua vez evoluem para larvas filarióides infectantes (ANDRADE NETO, ASSEF, 1996). A capacidade de *S. stercoralis* desenvolver-se também em um ciclo de vida livre representa uma estratégia parasitária para

aumentar o número de parasitos e mantê-lo na ausência do hospedeiro mamífero (LIU, WELLER, 1993).

— No ciclo de vida parasitário, as larvas filarióides quando em contato com a pele ou mucosa do homem penetram ativamente atingindo pequenos vasos sendo levadas pela circulação venosa até o lado direito do coração. A partir daí, através das artérias pulmonares, chegam aos capilares onde provavelmente devido à concentração do oxigênio, penetram nos alvéolos e ascedem até a traquéia levadas passivamente pelos cílios do epitélio respiratório, até a nasofaringe, onde são deglutidas alcançando, então, o duodeno, para se transformarem em fêmeas partenogénicas e iniciarem a oviposição dando origem às larvas rabditóides (ANDRADE NETO, ASSEF, 1996).

No homem ocorre ainda a auto-infecção que pode acontecer de duas formas: interna e externa. Na auto-infecção interna, as larvas rabditóides transformam-se em filarióides ainda dentro do intestino penetrando na mucosa e completando o ciclo pulmonar. Na auto-infecção externa, as larvas filarióides, resultantes da evolução de larvas rabtidóides presentes na região anal e perianal penetram ativamente na pele e completam normalmente o ciclo (REY, 1992). Como resultado da autoinfecção contínua, a *estrongiloidíase* pode persistir por muitas décadas após o indivíduo ter sido infectado mesmo na ausência de novas infecções (BRASITUS et al., 1980; LIU, WELLER, 1993; ROSSI et al., 1993a; CONWAY et al., 1995).

A infecção no homem ocorre na maioria das vezes, através da penetração ativa das larvas filarióides na pele principalmente nos membros inferiores e ocasionalmente através da ingestão de água ou alimentos contaminados e nesta situação, as larvas penetrariam através da mucosa oral, esofágica ou gástrica (FERREIRA, 1991).

1.2. Aspectos epidemiológicos da estrogiloidíase na infância

A presença de parasitos intestinais tem permanecido como um problema de saúde pública importante, ao longo dos anos, especialmente na América Latina, não só, pelo grande número de pessoas acometidas, mas também pelas sérias conseqüências que deles advém constituindo agravo mais preocupante quanto menor a faixa etária do indivíduo acometido (BERBERT-FERREIRA, COSTA-CRUZ, 1995).

A estrogiloidíase tem distribuição mundial heterogênea podendo a prevalência da infecção pelo *S. stercoralis* ser dividida em: esporádica (<1%), endêmica (1-5%), e hiperendêmica (>5%). Todas as áreas agrupadas como sendo hiperendêmicas estão situadas nos trópicos. Na Europa, a infecção prevalece em pessoas que trabalham no campo, enquanto que nos países tropicais a doença acomete principalmente as crianças pelo seu contato freqüente com solos contaminados (PIRES, DREYER, 1993).

Embora a estrogiloidíase tenha maior prevalência em áreas tropicais e subtropicais, a infecção ocorre em residentes e migrantes de países desenvolvidos, em viajantes e veteranos, nativos e residentes dos EUA retornando de áreas endêmicas (CELEDON et al., 1994). Neste país, a estrogiloidíase tem prevalência variando de 0,4 % (KAPPUS et al., 1994) a 2,5% (MILDER et al., 1981).

Por outro lado, em países em desenvolvimento a estrogiloidíase acomete percentual elevado da população principalmente nos primeiros anos de vida. Ao examinar 15 crianças com diarreia sangüinolenta e dor abdominal em campos de refugiados no Camboja (Àsia) BOYAJIN (1992) verificou 60 % de positividade para este helminto.

Em áreas endêmicas, como Bangladesh, estudos epidemiológicos demonstraram que a infecção por *S. stercoralis* é idade-dependente (HALL et al., 1994), ou

seja, a infecção é adquirida progressivamente durante a infância, com taxa de prevalência permanecendo mais ou menos constantes durante a vida adulta (ATKINS et al., 1997).

Na América Latina existem alguns relatos sobre a ocorrência da estrogiloidíase. Na Argentina a prevalência varia de 2% em crianças em idade escolar (BORDA et al., 1996) a 83,3% em crianças de zero a quatro anos de idade (TARANTO, FILLIPPI, ORIONE, 1993).

No Brasil, a estrogiloidíase é uma doença parasitária com grande importância em saúde pública com taxas de infecção variando de acordo com a região.

O Quadro I demonstra a prevalência da estrogiloidíase em crianças nas diversas regiões brasileiras no período de 20 anos (1979-1999).

Quadro I: Prevalência da estrogiloidíase em crianças no Brasil, distribuída por regiões, segundo trabalhos publicados em periódicos, nos últimos 20 anos (1979-1999).

Região	Estado	Nº de indivíduos	Faixa etária	% de positivos	Métodos parasitológicos	Autor (s), Ano
Norte Nordeste	AM	240	0-12 a	1,7%	Faust	Ferraroni, et al., 1979
	PE	4312	0-14 a	2,36 %	HPJ	Alves, Ferreira, Rocha 1982
	PE	326	0-12 a	7,67 %	Formol-éter, Harada-Mori	Okazaki, et al., 1988
	PE	754	0-13a	1,99%	HPJ	Araújo, Moura, Branco, 1996
	MA	2634	0-14a	28,77%	Rugai, Lutz, Faust	Cutrim-jr, Fonseca, Carneiro, 1985
	BA	256	3-6 a	0%	HPJ, BM	Guerra, Silva, 1986
	RN	4441	0-14a	2,96%	HPJ, Graham, BM	Cavalcanti-Jr, et al., 1987
Centro Oeste	RN	134	1-14a	23,90%	HPJ, BM	Albuquerque, Cavalcanti-Jr, Ribeiro 1990
	RN	167	0-16a	2,6%	HPJ	Prazeres, et al., 1995
	GO	371	6-17a	6,46%	Faust, HPJ, Rugai	Correia, Santos, Pereira, 1982
	GO	1296	3-23m	6,09%	Lutz, Faust, Rugai	Santos, et al., 1990
	DF	298	1-12ª	3,0%	Ritchie	Almeida, 1992
	MT	149	3-72m	3,35%	HPJ	Latorraca, Meirelles, Marchini, 1988
	MT	149	3-72m	3,35%	HPJ	Latorraca, Meirelles, Marchini, 1988
Sudeste	MG	2045	0-12a	0,39%	MIFC	Almeida, Costa-Cruz, 1988
	MG	94	0-12a	2,13%	Ritchie	Gennari-Cardoso, et al., 1996
	MG	300	4m-7a	13,0%	BM, HPJ	Machado, Costa-Cruz, 1998
	SP	219	7-18a	4,1%	Faust, HPJ	Dórea, et al., 1996
	SP	146	6-11a	0,7%	HPJ, Faust, Formol-éter	Moura, 1997
Sul	RS	1057	pré-escolar	5,68%	Ritchie	Zingano et al., 1994
	SC	398	0-17a	0%	Formol-éter	Schmitt, Paes, 1997

HPJ- Hoffmann, Pons, Janer; BM- Baemann-Moraes, MIFC- Mertiolato-Iodo Formalina; m: meses; a: anos

Diante do Quadro apresentado anteriormente pode-se observar que a maioria dos trabalhos não utilizou métodos adequados para diagnosticar a estrogiloidíase, não refletindo a realidade, mesmo assim, a prevalência desta parasitose em crianças é muito variada em todo o país, sobretudo no estado de Minas Gerais. A ocorrência da infecção em crianças no município de Uberlândia, MG, segundo GENNARI-CARDOSO et al. (1996); MACHADO, COSTA-CRUZ (1998), variou respectivamente de 2,13 % a 13 % dependendo do método de escolha para o diagnóstico parasitológico.

1.3. Relação parasito-hospedeiro

A interação entre *S. stercoralis* e o hospedeiro humano é complexa devido a sua capacidade intrínseca de reprodução, existindo aparentemente três possibilidades de evolução em indivíduos infectados como: a erradicação da infecção, a estrogiloidíase crônica e a infecção complicada, dependendo de fatores relacionados ao sistema imune do hospedeiro e da habilidade de evasão por parte do parasito destas respostas (GROVE, 1996).

— A erradicação da infecção depende de processos imunes inatos ou adquiridos que podem ser determinados geneticamente (GROVE, 1996). Em pacientes com o sistema imunológico íntegro existe um balanço entre o parasito e o hospedeiro, ou seja, o número de parasitas é pequeno e o parasitismo é restrito ao intestino delgado, mas mesmo assim, o hospedeiro é incapaz de erradicar a infecção (FERREIRA, 1991).

— A resposta inflamatória geralmente está associada com a presença do parasito nos tecidos, e não é sempre acompanhada por manifestações de doença. Muitos indivíduos infectados são completamente assintomáticos, enquanto que outros podem ter desconfortos intestinais, diarreia intermitente ou persistente, prurido na região peri-anal ou

ainda sintomas característicos de colite ulcerativa (NEVA, 1986; CONWAY et al., 1995; LEUNG, LIEW, SUNG, 1997; SAMMAN, HAQUE, LONG, 1999). Além disso, em algumas circunstâncias ocorrem alterações nas defesas do hospedeiro e isto favorece o parasito, promovendo multiplicação de helmintos em uma variedade de tecidos (ZYGMENT, 1990).

Segundo GROVE (1996), alguns autores tem denominado este processo como hiperinfecção, ou acelerada taxa de autoinfecção, ou ainda, infecção disseminada quando um grande número de helmintos estão presentes em vários tecidos. Diante do espectro de severidade da helmintose e muitas vezes por causa da impossibilidade de quantificar com precisão o parasito nos tecidos, a doença é denominada como *estrongiloidíase* severa ou não complicada. Nestes casos ocorre o desenvolvimento rápido da larva infectante, antes da excreção fecal, que reinvadem o hospedeiro podendo atingir diversos órgãos, fora dos sítios usuais (trato gastrointestinal e pulmões) (LIU, WELLER, 1993), tais como o sistema nervoso central, o miocárdio, os rins, etc (NEVA, 1986).

A *estrongiloidíase* severa apresenta manifestações clínicas dependendo da intensidade da infecção, dos órgãos envolvidos e da presença ou ausência de infecções secundárias. Os maiores alvos da infecção são trato gastrointestinal, os pulmões e o sistema nervoso central (SNC) (BODEY, FAINSTEIN, GUERRANT, 1986). A mortalidade nestes casos é alta, refletindo não somente a infecção parasitária, mas também as condições que predispõem a disseminação (GROVE, 1996).

Muitas infecções severas têm sido associadas com a imunossupressão especialmente quando há comprometimento da imunidade mediada por células, como ocorre nos linfomas, leucemias agudas e crônicas, carcinomas metastáticos, síndrome nefrótica, glomerulonefrite crônica e transplante renal (GROVE, 1996). Em crianças, a *estrongiloidíase* severa também ocorre devido a fatores predisponentes que

levam ao “déficit” imunológico, tais como neoplasias em fase terminal, transplantes renais, uso de corticosteróides ou de outros imunodepressores (AGOSTINHO-JR, 1996). Com isso, a supressão da imunidade celular pelos corticóides e outras drogas tem o papel central no desenvolvimento da estrogiloidíase severa, uma vez que, os corticosteróides e seus metabólitos exercem um efeito estimulatório direto sobre as larvas intrainestinais acelerando sua conversão (rabditóide em filarióide) favorecendo a autoinfecção (LEUNG, LIEW, SUNG, 1997) ou ainda um efeito sobre a fêmea partenogenética levando a um aumento na liberação das larvas infectantes (NEVA, 1986).

Em áreas endêmicas para a infecção com o HTLV-1 (vírus da infecção linfotrófica de células T humana) que está associado com a leucemia/linfoma de células T adultas, como ocorre em Okinawa, Japão, existe a associação entre esta infecção e a estrogiloidíase (HAYASHI et al., 1997). Existem relatos de que em indivíduos co-infectados com *S. stercoralis* e HTLV-1 pode ocorrer um balanço imunológico em favor do parasito, onde os efeitos da resposta imune sobre este parecem ser controlado primariamente por IgE e eosinófilos (NEWTON et al., 1992). Com isso, a depressão da imunidade mediada por células ou a resposta de IgE predispõem indivíduos infectados com o HTLV-1 para infecções mais severas por *S. stercoralis* (GROVE, 1996).

Em outros tipos de neoplasias também tem sido relatados vários casos de estrogiloidíase severa (GENTA, MILES, FIELDS, 1989; HUSNI et al., 1996). Todavia mesmo com uma alta prevalência da estrogiloidíase de 21% e de 8,3% entre os pacientes com hematopatias malignas, respectivamente, no Rio de Janeiro e em Porto Alegre, somente um número pequeno de pacientes possuíam a probabilidade de apresentar estrogiloidíase severa (NUCCI et al., 1995; GRAEFF-TEIXEIRA et al., 1997). Do mesmo modo, em crianças em uso de quimioterapia intensiva para linfomas existem alguns relatos

da ocorrência de estrogiloidíase disseminada (SANDLUND, KAUFFMAN, FLYNN, 1997; DAUBENTON, BUYS, HARTLEY, 1998).

Quando a Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (AIDS) foi primeiramente relatada como sendo uma infecção causada pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV), evolutivamente associada com uma grande redução do número de linfócitos CD4+ achou-se que isto seria indicativo de que a estrogiloidíase disseminada poderia ser uma característica da AIDS, como consequência da falha da imunidade mediada por células (GROVE, 1996). Apesar do fato que o HIV e *S. stercoralis* co-existirem em muitas regiões, particularmente na África, tem ocorrido poucos casos reportados da estrogiloidíase severa em AIDS (PETITHORY, DEROVIN, 1987), além disso, a estrogiloidíase intestinal parece não ser mais comum em indivíduos com AIDS quando comparado com indivíduos controles (DIAS et al., 1992).

No entanto na Venezuela, no estado de Zulia, CHACIN-BONILLA et al. (1992), ao estudarem 29 pacientes com AIDS, verificaram 8,3% de positividade para *S. stercoralis*. Na Tanzânia a ocorrência de 9,8% de *S. stercoralis* em indivíduos HIV positivos (+) em relação a indivíduos HIV negativos (1,2%) foi demonstrada por GOMEZ-MORALES et al. (1995). Em um estudo com pacientes HIV+ e AIDS, comparados com pacientes controles, no município de Uberlândia, MG, COSTA-CRUZ, FERREIRA, ROSSIN (1996) verificaram uma prevalência de 3,8% e 1,2% de *S. stercoralis*, respectivamente. Diante disto salienta-se a importância de incluir a estrogiloidíase no diagnóstico diferencial em pacientes com AIDS, especialmente quando sintomas pulmonares ou gastrointestinais estejam presentes (LEVI, KALLAS, LEITE, 1997).

Existem relatos na literatura de casos de estrogiloidíase disseminada em indivíduos com AIDS (VIEYRA-HERRERA et al., 1988; NOMURA, REKRUT, 1996) e HIV positivos (HARCOURT-WEBSTER, SCARAVILLI, DARWISH,

1991; CELEDON et al., 1994;). A estrongiloidíase severa com envolvimento do SNC, em um paciente com AIDS e linfoma de Burkitt foi descrito por DUTCKER et al. (1990). Em Ribeirão Preto, SP, Brasil, TAKAYANAGUI et al. (1995) descreveram um caso fatal de estrongiloidíase severa com acometimento do SNC. Embora, o envolvimento cutâneo na estrongiloidíase severa seja incomum, KAO et al. (1996) descreveram um caso de um paciente com AIDS e estrongiloidíase que apresentava erupções cutâneas do tipo petequial e púrpuricas. A síndrome de hiperinfecção da estrongiloidíase foi relatada em sete casos de 25 pacientes HIV+ estudados no Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia (FERREIRA et al., 1999)

Em outras situações de imunodepressão existem relatos da infecção pelo *S. stercoralis*. GERMAN et al. (1992), descrevem um caso de estrongiloidíase fatal pós-transplante renal.

Devido ao fato de que a estrongiloidíase severa usualmente desenvolver-se em indivíduos que são imunocomprometidos, observou-se que o sistema imune do hospedeiro de alguma maneira limita a intensidade de autoinfecção e a carga parasitária, através de respostas específicas (IgE e IgG4) ou não específicas (eosinofilia) que ocorre em muitas infecções helmínticas parecem ser controladas por citocinas de uma população de células T. Se nenhuma destas respostas imunes previnem ou eliminam a infecção estes mecanismos podem ser importantes em limitar a extensão da infecção (LIU, WELLER, 1993).

A infecção pode ser também limitada, ao menos em parte, por mecanismos de defesa de mucosa independentes da resposta sistêmica, tanto humoral quanto celular, podendo esta defesa estar ligada a dessensibilização de mastócitos e diminuição da produção de histamina a nível de mucosa. Isto levanta a hipótese de que a defesa local mediada por mastócitos pode ser responsável pelo controle da intensidade da

infecção através da habilidade de substâncias mediadas por estas células em atrair e modular a função de outras células como os eosinófilos (ANDRADE NETO, ASSEF, 1996).

1.4. Diagnóstico da estrongiloidíase

As manifestações clínicas desta helmintíase estão ligadas à migração do parasito no organismo do hospedeiro, à sensibilidade imunológica, ao grau da infecção parasitária, ao estado nutricional do hospedeiro e a estados infecciosos concomitantes. Desta forma, sob o ponto de vista clínico, é necessário estar atento ao caráter oportunístico desse nematódeo, do qual resultaria a possibilidade de hiperinfecção (AGOSTINHO-JR, 1996). Uma vez que, a estrongiloidíase produz sintomas pulmonares e digestivos comuns a outras doenças parasitárias, o diagnóstico clínico de fato é incerto (REY, 1992; LIU, WELLER, 1993).

A triagem clássica de pacientes com uma provável estrongiloidíase ocorre quando o mesmo apresenta diarreia, dores abdominais e urticária, além deste quadro, apresenta eosinofilia sangüínea ou um quadro radiológico sugestivo (GROVE, 1996).

Mesmo na ausência de sintomatologia gastrointestinal em algumas infecções maciças devidas ao *S. stercoralis*, a presença de infiltrado pulmonar em pacientes imunodeprimidos observado em exames radiográficos, deve suscitar a possibilidade desta parasitose (GONÇALVES, FERREIRA, 1984).

Dentre os exames convencionais, o mais importante é o hemograma, no qual se observam eosinófilos acima de 5% em 80% dos indivíduos infectados (ANDRADE NETO, ASSEF, 1996). A eosinofilia pode estar presente ou ausente em pacientes com estrongiloidíase severa, porém a eosinopenia pode estar associada a um péssimo prognóstico (BODEY, FAINSTEIN, GUERRANT, 1986;

GORDON et al., 1994). Assim, a eosinofilia muitas vezes é somente um sinal inespecífico da presença da infecção (LIU, WELLER, 1993).

Em métodos parasitológicos mais complexos as larvas podem ser encontradas nas secreções duodenais. O conteúdo duodenal pode ser examinado pela intubação duodenal ou "Enterotest", ou pelo "string test" (LIU, WELLER, 1993). O primeiro consiste de uma cápsula de gelatina acoplada a um fio, a qual após a deglutição pelo paciente permanece por algumas horas no duodeno para posterior análise do seu conteúdo e o segundo baseia-se na aspiração direta do conteúdo duodenal pelo duodenoscópio. Estes métodos não eliminam a possibilidade de falsos-negativos, uma vez que, os parasitos não se encontram livres na luz intestinal e sim imersos nas criptas duodenais ou em túneis na submucosa e além disso, a manipulação da cápsula entérica promove uma sensação desagradável nos pacientes limitando ainda mais o seu uso (PIRES, DREYER, 1993).

Em pacientes com a estrongiloidíase severa, o exame da secreção do lavado bronquico ou a biópsia de pele pode ser o método diagnóstico mais provável, porém muitas vezes o diagnóstico da doença nestes indivíduos é realizado *post mortem* (LEUNG, LIEW, SUNG, 1997). Entretanto, a mortalidade continua sendo alta mesmo quando a doença é reconhecida precocemente (GORDON et al., 1994). Existem relatos na literatura onde a estrongiloidíase severa foi confirmada por métodos não usuais de diagnóstico, incluindo a biópsia do sistema digestivo (NEWTON et al., 1992), o exame do fluido alveolar (GENTA, MILES, FIELDS, 1989), a secreção respiratória analisada pelo microscópio fluorescente (NOMURA, REKRUT, 1996), o sangue periférico (ONUIGBO, IBEACHUM, 1991) e o fluido cerebrospinal (TAKAYANAGUI et al., 1995).

O diagnóstico da estrongiloidíase é confirmado pelo encontro das formas parasitárias de *S. stercoralis*. Os parasitos são usualmente encontrados nas fezes,

porém algumas vezes são vistos no aspirado duodenal, urina, ou ocasionalmente em outros fluidos corporais ou amostras de tecidos (ONUIGBO IBEACHUM, 1991). A identificação torna-se mais acurada quando os parasitos adultos assim como os estágios larvais são avaliados pelo exame morfológico direto sendo isto raramente possível com os espécimes clínicos (GROVE, 1996), uma vez que, o parasito é encontrado em número muito pequeno na grande maioria das pessoas e a liberação larval nas fezes muitas vezes é mínima e irregular. Em uma infecção moderada, por exemplo, existe a probabilidade de não mais que 25 larvas/g de fezes (LIU, WELLER, 1993), por isso, o diagnóstico parasitológico convencional da infecção pelo *S. stercoralis* é pouco sensível (NAGESWARAN, GRAIG, DEVANEY, 1994) tornando assim a confirmação parasitológica da presença da infecção extremamente difícil (SATO et al., 1995).

Várias técnicas têm sido usadas para demonstrar as formas larvárias nas fezes incluindo o esfregaço fecal direto em solução salina, concentração formol-éter (Ritchie), método de Baermann-Moraes, cultura em papel de filtro (Harada-Mori) e cultura em placa de ágar (GROVE, 1996).

Os métodos convencionais, ou seja, o esfregaço fecal direto e o método de concentração formol-éter possuem baixa sensibilidade para o diagnóstico da estrogiloidíase, mesmo quando são examinadas várias amostras em diferentes períodos (GENTA, 1988), porém o método de Baermann-Moraes (BAERMANN, 1917; MORAES, 1948) mostra uma maior sensibilidade. Este método, assim como o de Rugai que é uma simplificação deste baseia-se no hidro e termotropismo das larvas, bastando três ou cinco amostras de fezes para detectar a maioria dos indivíduos infectados (ANDRADE NETO, ASSEF, 1996). Esses métodos caracterizam-se pela simplicidade e rapidez de execução (uma ou duas horas) e além disso, sua eficiência decorre do uso de volumes relativamente grandes de material fecal (REY, 1992). Como o método de Baermann-Moraes requer a

movilidade das larvas viáveis necessitando de material fecal, sem conservante, não tem sido freqüentemente utilizado na rotina laboratorial (LIU, WELLER, 1993).

—/— Nos últimos anos foram desenvolvidas várias técnicas de cultura dos helmintos baseadas no desenvolvimento do seu ciclo indireto, nas quais uma segunda geração com grande quantidades de larvas é produzida, facilitando o diagnóstico. O método inicialmente descrito foi o de Harada-Mori, em que as fezes são espalhadas em uma tira de papel de filtro e cultivadas em um tubo contendo pequena quantidade de água, as larvas aparecem na água após um período de incubação de sete a dez dias. Há ainda variações desse método que utilizam placas de Petri com ágar líquido ou sólido (LIU, WELLER, 1993). Um método modificado da cultura em ágar sólido, na qual a superfície do ágar é lavada com formalina para extração das larvas antes da centrifugação para o exame microscópico (KOGA et al., 1991) é mais sensível quando comparado às outras técnicas de cultivo (SATO, KOBAYASHI, SHIROMA, 1995; SATO et al., 1995; SALAZAR, GUTIERREZ, BERK, 1995; KOBAYASHI, et al., 1996) sendo portanto recomendado para pesquisas epidemiológicas e clínicas sobre a *estrongiloidíase* (ARAKANI et al., 1990).

—/— Apesar dos métodos de cultivo terem se mostrado bastante sensíveis em laboratórios de pesquisa há dúvidas sobre a praticidade do seu uso rotineiro devido à sua complexidade, custo, demora na obtenção dos resultados e risco de infecção pela manipulação de larvas viáveis (ANDRADE NETO, ASSEF, 1996). Além disso, algumas cepas de *S. stercoralis* não conseguem evoluir “in vitro” para a forma adulta estercoral tornando impraticável o uso rotineiro de técnicas de cultura (como o método de Harada-Mori) para o diagnóstico da *estrongiloidíase* (SANTOS, PADILHA FILHO, 1996).

Vários estudos têm sido feitos na tentativa de demonstrar a eficácia dos diversos métodos parasitológicos no diagnóstico da *estrongiloidíase* (WILLCOX,

COURA, 1991; MAHDI, SETRAK, SHIWAISH, 1993; KAMINSKY, 1993; DREYER et al., 1996; KOBAYASHI et al., 1996; MACHADO, COSTA-CRUZ, 1998).

Diante da capacidade não usual de *S. stercoralis* em replicar dentro do hospedeiro humano pode ocorrer uma infecção de longa duração em muitas pessoas, ou a síndrome de hiperinfecção em pacientes imunodeprimidos (GROVE, BLAIR, 1981), além disso, a falta de maturidade do parasito, a possibilidade de intermitência de postura e de complicações decorrentes do próprio parasitismo, constituem fatores que indubitavelmente justificam a necessidade de se recorrer a métodos sorológicos para o diagnóstico da estrogiloidíase (CAMPOS et al., 1988). Portanto, a realização dos ensaios sorológicos podem ser importantes para confirmar o diagnóstico em pessoas assintomáticas, pessoas infectadas e pode ser parâmetro útil para a resposta ao tratamento (GROVE, BLAIR, 1981; SATO, KOBAYASHI, SHIROMA, 1995).

— Vários ensaios imunológicos têm sido desenvolvidos ao longo dos anos, incluindo teste intradérmicos com extratos larvais, imunofluorescência indireta utilizando larvas mortas, métodos para detecção de IgE, hemaglutinação indireta de partículas de gelatina, teste imunoenzimático (ELISA) e “Western Blotting”.

— Muitos relatos sobre a utilização da imunofluorescência (DAFALLA, 1972; GROVE, BLAIR, 1981, GENTA, WEIL, 1982; CAMPOS et al., 1988; COSTA-CRUZ et al., 1997) e do ELISA (TRIBOULEY-DURET et al., 1978; GAM, NEVA, KROTOSKI, 1987; BRASIL et al., 1988; GENTA, 1988; ROSSI et al., 1993a e b; CONWAY, et al., 1993; LINDO et al., 1994; SATO, KOBAYASHI, SHIROMA, 1995, COSTA-CRUZ et al., 1998 e 1999), têm demonstrado que os testes sorológicos podem ser utilizados em conjunto com os exames de fezes no diagnóstico da estrogiloidíase, ou ainda como uma técnica de monitoramento em pacientes submetidos a transplantes tanto antes quanto pós-cirurgia, bem como outras circunstâncias que levem a uma queda da resposta do

sistema imune de um provável hospedeiro, ou principalmente quando a pesquisa coprológica se revelar negativa na presença de uma sintomatologia sugestiva.

—/— Uma das principais limitações dos testes sorológicos é a dificuldade em se obter quantidades suficientes de antígenos que permitam o seu fracionamento e análise, principalmente a obtenção de larvas de *S. stercoralis* (ROSSI et al., 1993b). Outra limitação dos testes sorológicos é o fenômeno da “reação cruzada” que se explica pela maior complexidade antigênica que possuem estes parasitos em relação a bactérias e protozoários (CAMPOS et al., 1988). Diante disto, a identificação e caracterização de antígenos de *S. stercoralis* específicos através da análise do “Western blotting” é essencial para o desenvolvimento de testes de diagnósticos altamente específicos (LINDO et al., 1994; SIDDIQUI et al., 1997; RAMACHANDRAN, et al., 1998).

—/— Em um estudo preliminar com ratos, NAGESWARAN, CRAIG, DEVANEY (1994) sugerem que o teste de detecção de coproantígenos têm grande validade no diagnóstico da infecção pelo *Strongyloides*. Alta correlação entre *S. stercoralis* e *S. ratti* a nível de especificidade e sensibilidade indicando esta última espécie como fonte de antígeno no imunodiagnóstico da estrongiloidíase foi verificada por GROVE, BLAIR (1981). Recomenda-se o uso de *S. ratti* como antígeno heterólogo no diagnóstico da estrongiloidíase humana devido a disponibilidade de obtenção do antígeno no laboratório, economia dos reagentes utilizados, por não haver diferença significativa entre as sensibilidades obtidas entre o antígeno homólogo e heterólogo e apresentar correlação linear entre os títulos de anticorpos (COSTA-CRUZ et al., 1997).

A alta prevalência da estrongiloidíase em regiões tropicais e subtropicais, a fácil transmissão, acometendo principalmente crianças, com o agravante da

maioria dos casos apresentarem-se assintomáticos fazem desta helmintíase um problema de saúde pública (PIRES, DREYER, 1993).

Considerando que o município de Uberlândia, MG, foi caracterizado como área hiperendêmica por MACHADO, COSTA-CRUZ (1998) e diante de um quadro de hiperinfecção, com possibilidade de evolução para óbito, principalmente em crianças imunodeprimidas têm-se a necessidade premente de realizar o diagnóstico parasitológico e imunológico da estrogiloidíase para possibilitar o tratamento precoce destas crianças nesta região.

2. OBJETIVOS

- Realizar o diagnóstico parasitológico da strongiloidíase pelo método de Baermann-Moraes em amostras de fezes de crianças imunocompetentes e imunodeprimidas.
- Realizar o diagnóstico imunológico da strongiloidíase para a detecção de anticorpos IgG e IgM em amostras de soros de crianças imunocompetentes e imunodeprimidas, através das reações de imunofluorescência indireta utilizando como antígenos larvas filarióides de *Strongyloides stercoralis* e de *S. ratti*, e do teste imunoenzimático ELISA utilizando como antígeno extrato alcalino de *S. ratti*.
- Comparar os resultados dos testes parasitológicos e imunológicos no diagnóstico da strongiloidíase humana em crianças imunocompetentes e imunodeprimidas.
- Verificar a presença concomitante de parasitas e comensais intestinais pelo método de Hoffman, Pons e Janer em amostras de fezes de crianças imunocompetentes e imunodeprimidas.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. População de estudo

Para o cálculo da amostra utilizou-se, segundo RODRIGUES 1986, a fórmula : $n = Z^2 \times P \times Q / d^2$, onde: n = tamanho da amostra, Z = nível de confiança, considerando 95% com valor tabelado de 1,96; P= 8% valor observado no estudo piloto realizado em 75 crianças internadas no Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia (HC-UFU); Q= valor não observado, sendo 92% e d= a precisão determinada pelo pesquisador no valor de 0,05. O cálculo obtido foi de 113,8 crianças.

A amostra foi ampliada atingindo um total de 151 crianças, sendo colhida no período de fevereiro de 1996 a junho de 1998, após assinatura do termo de consentimento pelo responsável legal (anexo 1). Para cada criança foi preenchida uma ficha com os dados de identificação, epidemiológicos, dados clínicos e laboratoriais (anexo 2). As crianças internadas na Enfermaria de Pediatria do HC-UFU foram distribuídas em dois grupos: um de imunocompetentes, 68 crianças (Anexo 3), e outro de imunodeprimidas, 83 crianças (Anexo 4) portadoras de neoplasias, infecção pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV⁺), AIDS e em uso de drogas imunossupressoras

O critério para classificação do HIV⁺ e da AIDS no presente trabalho, foi baseado na contagem de células T CD4⁺ de 500 a 200 células/mm³ para indivíduos HIV⁺ e menor que 200 células/mm³ em indivíduos com AIDS segundo o CDC (Centers for disease control), 1992.

3.2. Amostras fecais

Foram colhidas três amostras fecais de cada criança, em frascos plásticos sem conservantes e encaminhadas ao Laboratório de Parasitologia da Universidade Federal de Uberlândia para realização dos diagnósticos parasitológicos.

3.3. Soro

As amostras de sangues das crianças foram colhidos por punção venosa, em tubo sem anti-coagulante, antes do tratamento e encaminhados ao Laboratório de Parasitologia para obtenção dos soros após centrifugação (Fanen, São Paulo) a 2500 rpm por 5 minutos. Os soros foram armazenados a -20 °C até o momento do uso.

3.4. Diagnóstico Parasitológico

3.4.1. Método de Baermann-Moraes (BAERMANN, 1917 e MORAIS, 1948)

Aproximadamente 8 a 10 g de fezes foram colocadas numa gaze dobrada em quatro sobre uma tela metálica com 100 malhas por cm². Em seguida, colocou-se o material assim preparado num funil de vidro, com diâmetro de 11,5 cm em cuja haste foi colocada uma mangueira de borracha de 10 cm, obliterada com pinça, contendo água a 45 °C até a borda, e deixando-se a gaze com o material fecal em contato com a água em repouso por uma hora. Findo esse tempo, colheu-se 2 ml de água abrindo-se a pinça que obliterava a mangueira de borracha. A água foi colhida em tubo de vidro, colocando 0,2 ml de solução formalina 10% para imobilizar as larvas e centrifugado a 1500 rpm por 5 minutos. O sedimento foi colhido em uma lâmina, acrescentando uma gota de lugol (Doles,

Goiás), homogeneizado e colocado uma lamínula de 24 x 24 mm, afim de ser examinado em microscópio óptico (Olympus, CH-2, Japan) em aumentos de 100 e 400X. Das três amostras colhidas para cada criança foram preparadas três lâminas por amostra sendo analisadas três lâminas por dois examinadores completando um total de 2718 lâminas examinadas.

3.4.2. Método de Hoffmann, Pons e Janer (1934)

Aproximadamente 2 g de fezes foram colocadas em um “becker” com cerca de 5 ml de água e triturados por meio de bastão de vidro. Em seguida acrescentou-se 20 ml de água, filtrando a suspensão resultante para um cálice cônico de 200 ml de capacidade, utilizando-se uma tela de nylon com cerca de 80 a 100 malhas por cm² e com gaze cirúrgica dobrada em quatro.

Os resíduos contidos na gaze foram lavados com 20 ml de água agitando-se constantemente com o bastão de vidro, o líquido da lavagem foi recolhido no mesmo cálice e completado para 200 ml. Esta suspensão de fezes permaneceu em repouso durante 24 horas. Findo esse tempo, uma gota do sedimento foi colocado numa lâmina de microscopia, adicionando-se uma gota de lugol, homogeinizado (Doles, Goiás), colocado uma lamínula (24 x 24 mm) e examinado em microscópio óptico (Olympus CH-2, Japan) em aumentos 100 e 400X. Das três amostras colhidas para cada criança foram preparadas três lâminas por amostra sendo analisadas três lâminas por dois examinadores completando um total de 2718 lâminas examinadas.

3.5. Diagnóstico Imunológico

3.5.1. Obtenção de *S. stercoralis*

S. stercoralis foi obtido de fezes de pacientes triados no laboratório de Análises Clínicas do HC-UFU que, após consentimento e antes do tratamento específico cederam uma amostra de fezes, sem conservante, para ser submetido a coprocultura, pelo método de Looss (IN: NEVES, 1995), para obtenção das larvas filarióides do parasito. Para a coprocultura, o material fecal foi misturado a igual parte de carvão vegetal triturado em grãos pequenos. Essa mistura umedecida foi colocada, em camadas, em placas de Petri mantidas a 25°C em estufa BOD (Tecnal, Piracicaba, São Paulo) por cinco dias. As larvas foram recolhidas pelo método de Baermann - Moraes (BAERMANN 1917, MORAES 1948) e em seguida lavadas em tampão fosfato [NaCl- cloreto de sódio (Vetec, Rio de Janeiro); $\text{NaH}_2\text{PO}_4\cdot\text{H}_2\text{O}$ - fosfato monossódico 1-hidratado (Merck, Germany); $\text{Na}_2\text{HPO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$ - fosfato bisódico heptahidratado (Cinética Química, Brasil)] 0,01M pH 7,2 (PBS) centrifugadas (Fanem, São Paulo) a 1500 rpm por 3 minutos por 5 vezes e estocadas a -20 °C até o momento do uso.

3.5.2. Obtenção de *S. ratti*

Para a obtenção de *S. ratti* foram utilizadas fezes de ratos da espécie *Rattus rattus* mantidos infectados por inoculação experimental.

Os animais, após 10 dias de inoculação, foram colocados em gaiolas metálicas, forradas com papel umedecido em água, para permanecerem por uma noite para defecação, após este período fez-se a colheita das fezes para proceder o cultivo pelo método de Looss. No 5º dia foram obtidas as larvas pelo método de Baermann-Moraes sendo o material concentrado através de centrifugação (Fanem, São Paulo) a 1500 rpm

durante 3 minutos. A contagem de larvas foi realizada mediante a leitura em microscópio óptico (Olympus CH-2, Japan) em aumento de 40X de três lâminas contendo cada uma 10µl de suspensão de parasitas. Calculando-se a média entre as lâminas, verificou-se quantidade de larvas existentes em 1 ml.

O inóculo de 1 ml de suspensão contendo 2000 larvas por rato foi realizado por via subcutânea, após inoculação, os ratos permaneceram 10 dias até as próximas culturas.

Parte das larvas obtidas foram utilizadas para a manutenção do ciclo evolutivo de *S. ratti* em *R. rattus* e a outra parte foi mantida à -20 °C para o preparo dos antígenos.

3.5.3. Produção do antígeno para a reação de Imunofluorescência

As larvas de *S. stercoralis* e *S. ratti* foram incluídas em "Tissue Teck" O.C.T. (Miles, USA) e submetidas a cortes de 4 micra, em criostato (Cryocut 1800, Reichert-Jung, Germany) a -18°C. Os cortes foram depositados em lâminas de microscopia, previamente desengorduradas, secas à temperatura ambiente e conservadas à -20°C até o momento do uso.

3.5.4. Reação de Imunofluorescência indireta

Às lâminas contendo os cortes de *S. stercoralis* e de *S. ratti* foram adicionados soros controle positivo e negativo e as amostras de soros obtidos dos pacientes, na diluição de triagem de 1:20 em PBS pH 7,2. Após 30 minutos a 37 °C as lâminas foram lavadas em PBS por 3 vezes, por 5 minutos e adicionado conjugado anti-IgG e anti- IgM humana (Biolab, Rio de Janeiro) nos títulos ideais de 100 e 20 respectivamente diluídos em azul de Evans (Inlab, São Paulo) respectivamente 1% e 3%. Após 30 minutos a

37 °C as lâminas novamente foram lavadas em PBS por 5 minutos, 3 vezes, e montadas em glicerina (Merck, Germany) pH 9,5 [em tampão carbonato-bicarbonato 0,5M pH 9,5: Na₂CO₃- carbonato de sódio anidro (Cinética Química, Brasil) e NaHCO₃- bicarbonato de sódio (Merck, Germany)]. As reações foram avaliadas em microscópio de imunofluorescência (Olympus BH-2-RFC, Japan) equipado com lâmpada de mercúrio, filtro de interferência e filtro barreira e os resultados expressos em títulos. Segundo padronização anterior realizado por COSTA-CRUZ et al. (1997) e PEIXOTO (1996) foram considerados reagentes os soros com títulos ≥ 20 para IgG e ≥ 40 para IgM, respectivamente. Os soros positivos foram diluídos na razão 2 para a titulação dos anticorpos circulantes.

3.5.5. Produção de extrato alcalino de *S. ratti* para o teste ELISA

Às larvas de *S. ratti* obtidas como mencionadas no item 3.5.2, foram adicionadas 1 ml de NaOH (Merck, Germany) 0,15 M, permanecendo por seis horas à 4°C sob agitação lenta. Após a agitação, colocou-se lentamente 0,5 ml de HCl (Merck, Germany) 0,3 M até atingir o pH 7,0. Seguindo-se centrifugação a 3000 rpm por 15 minutos à 4°C em centrífuga refrigerada (Sorvall RC 5C plus, USA) e o conteúdo protéico do sobrenadante foi dosado pelo método descrito por LOWRY et al., 1951.

3.5.6. Teste imunoenzimático ELISA

Os testes imunoenzimáticos ELISA utilizando-se como antígeno extrato alcalino de *S. ratti* para a detecção de anticorpos IgG e IgM anti- *S. stercoralis* foram realizados segundo COSTA-CRUZ, et al. (1998) e (1999).

Microplacas de poliestireno desmontáveis com fundo em “U” (DIFCO, Interlab, São Paulo) foram empregadas como suporte para a adsorção de 50µl de

extrato alcalino solúvel de *S. ratti* na concentração ideal de 10 µg/ml, isoladamente. As placas foram sensibilizadas à 4°C durante 18 horas em tampão carbonato-bicarbonato 0,06 M pH 9,5. Após este período e três lavagens de cinco minutos com PBS, pH 7,2 contendo Tween 20 (Sigma, USA) a 0,05% foram adicionados 50µl de amostras dos soros padrões positivo e negativo e os soros testes na diluição de 1:80 para triagem e diluídos na razão dois na posterior titulação. Após incubação por 45 minutos à 37°C e 3 lavagens de cinco minutos com PBS - Tween 0,05% foram adicionados 50µl de conjugado anti-IgG e anti-IgM humana marcado com peroxidase (Sigma, USA) respectivamente, nos títulos ótimos de 4000 e 2000, por um período de 45 minutos à 37°C. Após três lavagens a reação foi revelada pela adição de 50µl do substrato H₂O₂ (Merck, Germany) solução cromógena de ortofenileno diamina [(OPD, Merck, Germany) 5 mg OPD + 12,5 ml de Tampão citrato-fosfato 0,1M pH 5,5 (Na₂HPO₄ + ácido cítrico) + 5µl H₂O₂ 30%], preparado no momento do uso. Após 15 minutos a temperatura ambiente e ao abrigo da luz, a reação foi interrompida pela adição de 25 µl de solução 2 N de H₂SO₄ (Merck, Germany) e os valores da absorbância foram determinados a 490 nm em leitor de ELISA (Metrolab 980, Argentina). O limiar da reatividade foi determinado pela média aritmética das densidades ópticas das amostras de soros padrões negativos acrescidos de dois desvios padrões (BASSI et al, 1991). Considerou-se reagentes os soros com títulos ≥ 80 para as duas imunoglobulinas

3.6. Pesquisa de fator reumatóide

A pesquisa de fator reumatóide foi realizada nas amostras de soros reagentes para IgM através da prova do látex, utilizando o Kit "Reumalatex®" (Doles,

Goiás) e através da absorção de soros com FTA ABS (Laborclin, Paraná). Após 20 minutos de absorção em temperatura ambiente repetiu-se a RIFI e o teste ELISA.

3.7. Análise Estatística

A análise estatística dos dados foi realizada pelo teste de χ^2 , pelo teste t student (MALETTA, 1992) e pelo teste relativo da diferença entre duas proporções envolvendo distribuição normal (RODRIGUES, 1986) para observar a diferença entre as duas populações estudadas adotando-se o nível de significância de 5% para ambos os testes.

3.8. Normas de biossegurança

Todo o processamento de colheita, manuseio do material biológico e dos reagentes bem como a utilização dos equipamentos foram realizados de acordo com as normas de biossegurança compatíveis (CHAVES- BORGES, MINEO, 1997).

3.9. Retorno a Comunidade

Os resultados dos exames parasitológicos e imunológicos foram encaminhados a todos os pais ou responsáveis pelas crianças e, no caso de testes parasitológicos positivos foram conduzidos ao médico responsável pela criança, para que o tratamento específico fosse realizado.

4. RESULTADOS

4.1. Caracterização do grupo de estudo

Foram estudadas 151 crianças internadas na Enfermaria de Pediatria do HC-UFU, MG, das quais 79 (52,32%) pertenciam ao sexo masculino e 72 (47,68%) ao sexo feminino, a idade variou de dois meses a 12 anos. A distribuição, segundo sexo e faixa etária das 151 crianças está demonstrada na Tabela 1. Das 68 crianças imunocompetentes, 41 (60,29%) pertenciam ao sexo masculino e 27 (39,71%) ao sexo feminino com idade variando de dois meses a 12 anos. Das 83 crianças imunodeprimidas, 38 (45,78%) eram do sexo masculino e 45 (54,22%) do sexo feminino com idade variando de três meses a 12 anos.

Tabela 1: Distribuição segundo sexo e faixa etária de 151 crianças internadas na Enfermaria de Pediatria do HC-UFU, MG, no período de fevereiro de 1996 a junho de 1998.

Faixa etária (anos)	Imunocompetentes		Imunodeprimidas		Total
	Sexo		Sexo		
	Masculino	Feminino	Masculino	Feminino	
0-2	18	14	9	10	51
2-4	4	6	6	9	25
4-6	2	3	5	9	19
6-8	4	0	6	7	17
8-10	5	1	5	6	17
10-12	8	3	7	4	22
Total	41	27	38	45	151

Não houve diferença estatística significativa ($p > 0,05$), utilizando o teste de X^2 , na Tabela 1, entre as faixas etárias e o sexo das crianças imunocompetentes e imunodeprimidas.

Das 151 crianças, 139 (92,05%) eram procedentes do estado de Minas Gerais [sendo 86 (56,95%) do município e de Uberlândia], 11 (7,28%) do estado de Goiás e 1 (0,66%) do estado de Mato Grosso do Sul (Anexos 3 e 4).

A análise dos dados clínicos das 83 crianças imunodeprimidas apresentados, no anexo 4, está demonstrada na Tabela 2.

Tabela 2: Análise dos dados clínicos de 83 crianças imunodeprimidas internadas na Enfermaria de Pediatria do Hospital de Clínicas - UFU, MG, no período de fevereiro de 1996 a junho de 1998.

Diagnóstico Clínico	Casos	N	%
LLA	3, 6, 7, 9, 10, 12, 21, 22, 23, 25, 30, 35, 40, 43, 46, 49, 52, 54, 56, 57, 58, 59, 60, 70, 71	25	30,12%
DPC III Grau	2, 13, 14, 15, 31, 63, 73	7	8,43%
HIV+	36, 37, 44, 47, 50	5	6,02%
Tumor de Wilms	19, 20, 34, 69	4	4,82%
AIDS	41, 48, 51	3	3,61%
Insuficiência Renal	24, 39, 61	3	3,61%
Anemia Falciforme	64, 65, 66	3	3,61%
Febre reumática	68, 75, 82	3	3,61%
Rabdomiossarcoma Embrionário	5, 16	2	2,41%
Politraumatizado	74, 76	2	2,41%
Síndrome Nefrótica	26, 32	2	2,41%
DPC II Grau	78, 80	2	2,41%
Aplasia Medular	8, 27	2	2,41%
LMA	18	1	1,21%
Ependimoma	17	1	1,21%
Tumor Abdominal	11	1	1,21%
Neoplasia Submandibular	33	1	1,21%
Tumor Cerebral	29	1	1,21%
Tumor de Fossa Nasal	62	1	1,21%
Neuroblastoma	1	1	1,21%
Doença de Hodgkin	45	1	1,21%
Neoplasia Medular	55	1	1,21%
Sarcoma de Ewing extra ósseo	42	1	1,21%
Linfoma não Hodgkin	53	1	1,21%
Retinoblastoma	38	1	1,21%
Diabete Mellitus tipo 1	67	1	1,21%
Mucoviscidade	72	1	1,21%
Insuficiência Hepática	79	1	1,21%
Rabdomiossarcoma Maxilar	4	1	1,21%
Transplante Renal	28	1	1,21%
Insuficiência cardíaca	77	1	1,21%
Doença de Gaucher	83	1	1,21%
Enterocolite Necrotizante, Acidose metabólica	81	1	1,21%

LLA: Leucemia Linfóide Aguda; LMA: Leucemia Mielóide Aguda; HIV: Vírus da Imunodeficiência Humana; AIDS: Síndrome da Imunodeficiência Adquirida; DPC III Grau: Desnutrição Proteico Calórica III Grau; DPC II Grau: Desnutrição Proteico Calórica II Grau; N: Total de casos; %: Porcentagem.

4.2. Diagnóstico Parasitológico

Para o diagnóstico parasitológico foram examinadas 5436 lâminas sendo 2718 pelo método de Baermann-Moraes e 2718 pelo método de Hoffmann, Pons e Janer.

Das 151 crianças estudadas foram detectados 35 casos (23,18%) positivos para parasitas e comensais intestinais sendo que 16 (10,60%) pertenciam as crianças imunocompetentes e 19 (12,58%) as imunodeprimidas. A Figura 1 apresenta a ocorrência de parasitas e comensais intestinais em relação ao ao número da amostra para cada grupo estudado.

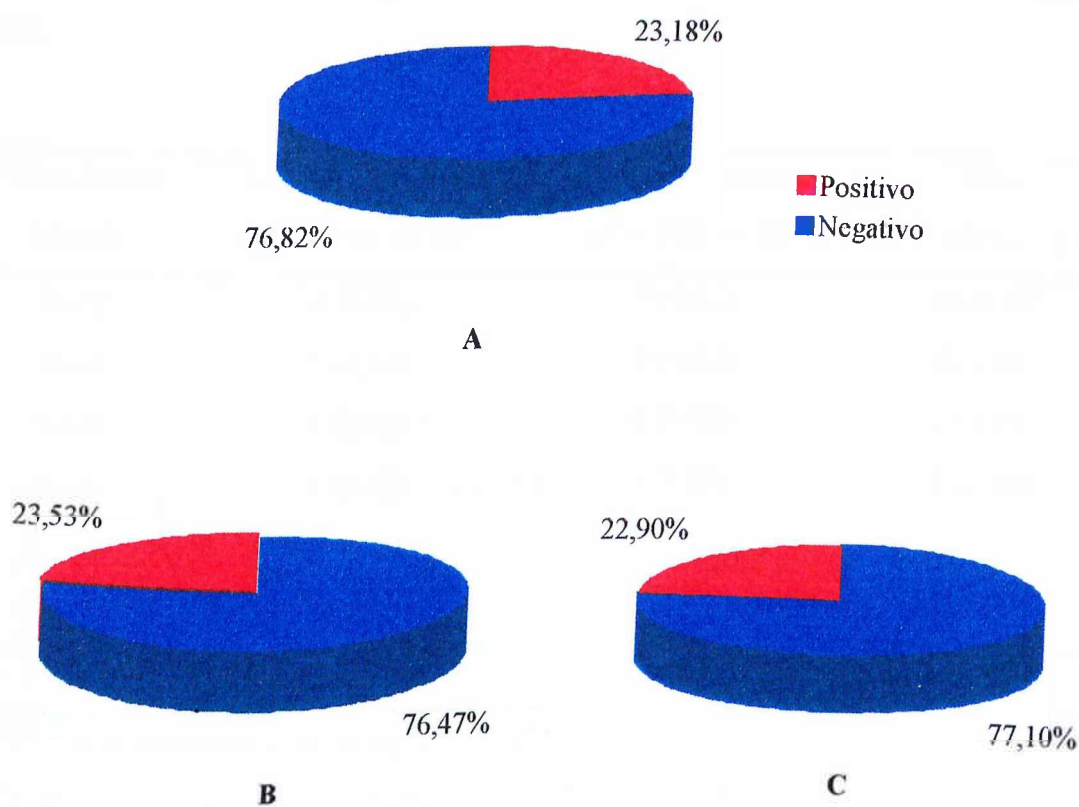


Figura 1: Ocorrência de parasitas e comensais intestinais em amostras de fezes das 151 crianças (A), imunocompetentes n = 68 (B) e imunodeprimidas n = 83 (C) internadas na Enfermaria de Pediatria do Hospital de Clínicas - UFU, MG, no período de fevereiro de 1996 a junho de 1998.

Não houve diferença estatística significativa ($p>0,05$) entre a ocorrência de parasitas e comensais intestinais nas crianças imunocompetentes e imunodeprimidas.

A distribuição de positividade de parasitas e comensais intestinais, segundo a faixa etária das crianças imunocompetentes e imunodeprimidas, referente ao número da amostra de cada grupo e ao total, está demonstrada na Tabela 3.

Tabela 3: Distribuição de positividade de parasitas e comensais intestinais, segundo a faixa etária, das crianças imunocompetentes e imunodeprimidas, internadas na Enfermaria de Pediatria do Hospital de Clínicas - UFU, MG, no período de fevereiro de 1996 a julho de 1998.

Faixa Etária (anos)	Imunocompetentes n° + (%) n= 68	Imunodeprimidas n° + (%) n= 83	Total n° + (%) n= 151
0- 2	6 (8,82)	4 (4,82)	10 (6,62)
2- 4	1 (1,47)	4 (4,82)	5 (3,31)
4- 6	2 (2,94)	4 (4,82)	6 (3,97)
6- 8	1 (1,47)	3 (3,61)	4 (2,65)
8- 10	3 (4,41)	2 (2,41)	5 (3,31)
10- 12	3 (4,41)	2 (2,41)	5 (3,31)
Total	16 (23,53)	19 (22,90)	35 (23,18)

n°+: Número de casos positivos de cada grupo; (%): porcentagem

A distribuição de positividade segundo a faixa etária das crianças imunocompetentes e imunodeprimidas considerando o número da amostra de cada faixa etária está demonstrada na Tabela 4.

Tabela 4: Distribuição de positividade segundo a faixa etária, considerando o número da amostra por faixa etária, das crianças imunocompetentes e imunodeprimidas, internadas na Enfermaria de Pediatria do Hospital de Clínicas - UFU, MG, no período de fevereiro de 1996 a julho de 1998.

Faixa Etária (anos)	Imunocompetentes n° +/ n= FE (%)	Imunodeprimidas n° +/ n= FE (%)	Total n° +/ n= FE (%)
0-2	6 / 32 (18,75)	4 / 19 (21,05)	10 / 51 (19,60)
2-4	1 / 10 (10,00)	4 / 15 (26,67)	5 / 25 (20,00)
4-6	2 / 5 (40,00)	4 / 14 (28,57)	6 / 19 (31,58)
6-8	1 / 4 (25,00)	3 / 13 (23,08)	4 / 17 (23,53)
8-10	3 / 6 (50,00)	2 / 11 (18,18)	5 / 17 (29,41)
10-12	3 / 11 (27,27)	2 / 11 (18,18)	5 / 22 (22,71)
Total	16	19	35

n°+/ n=FE (%): Número de positivos/ número de indivíduos da faixa etária dentro de cada grupo (porcentagem)

A análise estatística entre as faixas etárias e os dois grupos analisados, das Tabelas 3 e 4, não demonstrou diferença significativa utilizando respectivamente o teste X^2 e o teste da diferença entre duas proporções envolvendo a distribuição normal adotando nível de significância de 5 % ($p > 0,05$).

A identificação e a frequência dos enteroparasitas e comensais intestinais detectados nas crianças internadas na Enfermaria de Pediatria do HC-UFU estão demonstradas na Figura 2.

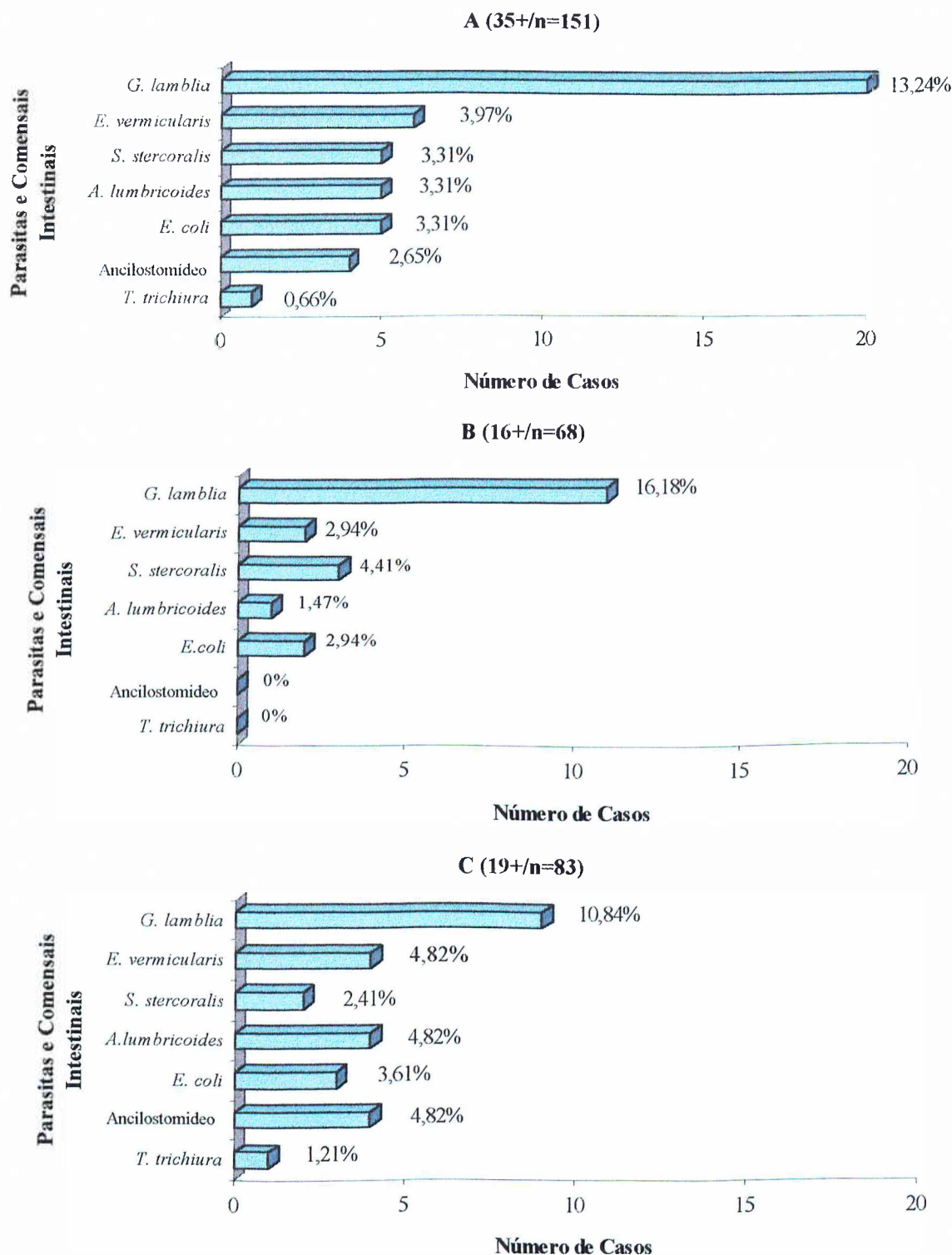


Figura 2: Identificação e freqüência de enteroparasitas e comensais intestinais detectados nas 35 crianças positivas considerando as 151 (A), nas 16 imunocompetentes positivas (B) e nas 19 imunodeprimidas positivas (C) internadas na Enfermaria de Pediatria do Hospital de Clínicas -UFU, MG, no período de fevereiro de 1996 a junho de 1998.

Não houve diferença estatística utilizando o teste relativo da diferença entre duas proporções envolvendo distribuição normal ($p>0,05$) na frequência de enteroparasitas e comensais intestinais nos dois grupos (Figura 2).

A Figura 3 demonstra a ocorrência de monoparasitismo, biparasitismo e poliparasitismo nas 151 crianças nas 68 imunocompetentes e nas 83 imunodeprimidas.

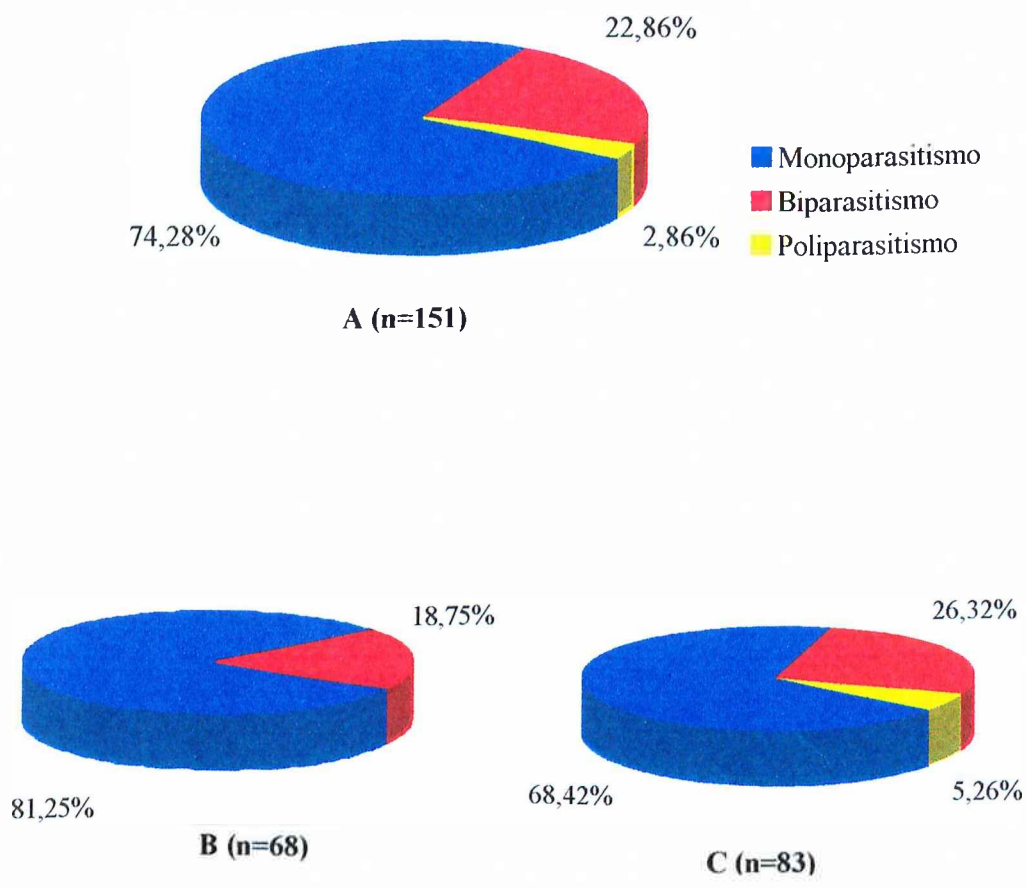


Figura 3: Ocorrência de monoparasitismo, biparasitismo e poliparasitismo em 151 crianças (A) imunocompetentes (B) e imunodeprimidas (C) internadas na Enfermaria de Pediatria do Hospital de Clínicas -UFU, MG, no período de fevereiro de 1996 a junho de 1998.

Ocorreu associação de parasitas e comensais intestinais em 9 casos sendo 3 imunocompetentes e 6 imunodeprimidos. Nas crianças imunocompetentes ocorreram dois casos de *G. lamblia* e *S. stercoralis* e um caso de *G. lamblia* e *E. coli*. Nas crianças imunodeprimidas ocorreram dois casos de *G. lamblia* e ancilostomídeo, dois casos de *E. vermicularis*, um com *E. coli* e outro com ancilostomídeo, um caso de *G. lamblia* e *A. lumbricoides* e um caso de poliparasitismo com *A. lumbricoides*, *T. trichiura*, *E. coli* e *S. stercoralis*.

Das 151 crianças estudadas cinco (3,31%) foram positivas para *S. stercoralis* sendo três (4,41%) casos pertencentes ao grupo de imunocompetentes e dois (2,41%) aos imunodeprimidos. Os três casos positivos de crianças imunocompetentes foram do sexo masculino com ocorrência de um caso (26, Anexo 3) na faixa etária de zero a dois anos e dois casos (9, 16, Anexo 3) na faixa etária de 10 a 12 anos. Com relação aos métodos parasitológicos o caso 26 foi detectado pelos dois métodos somente na 1ª amostra, o caso 9 somente pelo método de Hoffmann, Pons e Janer na 3ª amostra e o caso 16 somente pelo de Baermann-Moraes na 2ª amostra. Nos imunodeprimidos, os casos positivos foram crianças pertencentes ao sexo feminino e na faixa etária de 2 a 4 anos (casos 15 e 46, anexo 4) ambos diagnosticados somente pelo método de Baermann-Moraes e somente na 1ª amostra.

4.3. Diagnóstico Imunológico

4.3.1. Detecção de anticorpos IgG e IgM pela reação de Imunofluorescência Indireta

Nove (5,96%) das 151 crianças estudadas foram soro reagentes pela RIFI-IgG sendo dois casos (2,94%) pertencentes as crianças imunocompetentes e sete

casos (8,43%) pertencentes as imunodeprimidas. A análise isolada por antígeno homólogo e heterólogo demonstrou que o antígeno de *S. stercoralis* detectou os dois casos de positividade nas crianças imunocompetentes e o antígeno de *S. ratti* somente um dos casos. Os sete casos de crianças imunodeprimidas foram detectados pelo antígeno de *S. stercoralis*, sendo que quatro deles foram detectados também pelo antígeno de *S. ratti*.

Foram detectados 9 casos (5,96%) positivos pela RIFI- IgM sendo que três (4,41%) pertencentes as imunocompetentes e seis (7,22%) pertencentes as imunodeprimidas. Considerando a reatividade isolada por antígeno nas crianças imunocompetentes, três casos foram detectados pelo antígeno de *S. stercoralis* sendo um deles reagentes também pelo antígeno de *S. ratti*. Dos seis casos pertencentes as crianças imunodeprimidas, cinco foram detectados concomitantemente pelos dois antígenos e um somente pelo *S. ratti*.

Todos os soros IgM positivos pela RIFI foram negativos na pesquisa de fator reumatóide realizada pela prova do látex e na absorção com FTA ABS.

O grau de reatividade entre os antígenos *S. stercoralis* e *S. ratti* para anticorpos IgG e IgM pela RIFI nas crianças imunocompetentes e imunodeprimidas, está demonstrado na Tabela 5.

Tabela 5 : Grau de reatividade entre os antígenos *S. stercoralis* e *S. ratti* pela reação de imunofluorescência indireta, em amostras de soros de 68 crianças imunocompetentes e 83 imunodeprimidas internadas na Enfermaria de Pediatria do Hospital de Clínicas -UFU, MG, no período de fevereiro de 1996 a junho de 1998.

Crianças	Antígeno			
	<i>S. stercoralis</i> +	<i>S. stercoralis</i> -	<i>S. stercoralis</i> +	<i>S. stercoralis</i> -
	<i>S. ratti</i> + (%)	<i>S. ratti</i> + (%)	<i>S. ratti</i> - (%)	<i>S. ratti</i> - (%)
IgG				
Imunocompetentes	1 (1,47)	0 (0,00)	1 (1,47)	66 (97,06)
Imunodeprimidas	4 (4,82)	0 (0,00)	3 (3,61)	76 (91,57)
IgM				
Imunocompetentes	1 (1,47)	0 (0,00)	2 (2,94)	65 (95,59)
Imunodeprimidas	5 (6,02)	1 (1,21)	0 (0,00)	77 (92,77)

Não houve diferença estatística significativa na Tabela 5, entre o padrão de reatividade dos antígenos utilizados na RIFI-IgG e IgM nos dois grupos analisados.

4.3.2. Detecção de anticorpos IgG e IgM pelo teste ELISA

Foram detectados 11 (7,28%) casos positivos para anticorpos IgG anti-*S. stercoralis* pelo teste ELISA sendo 1 (1,47%) pertencentes as crianças imunocompetentes e 10 (12,05%) as imunodeprimidas (Tabela 6).

Foram detectados 13 (8,61%) casos positivos para anticorpos IgM anti-*S. stercoralis* pelo teste ELISA sendo 3 (4,41%) casos pertencentes ao grupo de imunocompetentes e 10 (12,05%) casos aos imunodeprimidos (Tabela 6).

Tabela 6: Frequência de positividade do teste ELISA utilizando antígenos de *S. ratti* para detectar anticorpos IgG e IgM anti-*S. stercoralis* em amostras de soros de 151 crianças sendo 68 imunocompetentes e 83 imunodeprimidas internadas na Enfermaria de Pediatria do Hospital de Clínicas - UFU, MG, no período de fevereiro de 1996 a junho de 1998

Grupos	ELISA- IgG	ELISA- IgM	Total
Imunocompetentes	1 (1,47%)*	3 (4,41%)**	68
Imunodeprimidos	10 (12,05%)*	10 (12,05%)**	83
Total	11 (7,28%)	13 (8,61%)	151

* Z= 3,84, ** Z=2,75 (p<0,05)

Houve diferença estatística significativa (Tabela 6) entre as crianças imunocompetentes e imunodeprimidas no teste ELISA-IgG (Z=3,84; p<0,05) e no teste ELISA-IgM (Z=2,75; p<0,05).

A pesquisa de fator reumatóide realizada em todos os casos positivos para anticorpos IgM anti-*S. stercoralis* pelo teste ELISA, utilizando prova do látex foi negativa nos dois grupos. Na absorção com FTA ABS, ocorreu a diminuição dos títulos de anticorpos IgM de 320 para 160 em um caso (42, anexo 4) nas crianças imunodeprimidas, não alterando o índice de positividade.

4.3.3. Comparação entre os testes imunológicos utilizando antígeno *S. ratti*

A Tabela 7 demonstra os resultados da comparação dos testes RIFI e ELISA na detecção de anticorpos IgG e IgM considerando somente o antígeno heterólogo.

Tabela 7: Comparação entre os testes imunológicos (RIFI e ELISA), considerando como antígeno *S. ratti*, para anticorpos IgG e IgM anti-*S. stercoralis* em amostras de soros de 151 crianças sendo 68 imunocompetentes e 83 imunodeprimidas internadas na Enfermaria de Pediatria do Hospital de Clínicas - UFU, MG, no período de fevereiro de 1996 a junho de 1998.

Grupos	RIFI+ ELISA+ (%)	RIFI+ ELISA- (%)	RIFI- ELISA+ (%)	RIFI- ELISA- (%)	Total
IgG					
Imunocompetentes	1 (1,47)	0 (0,00)	0 (0,00)	67 (98,53)	68
Imunodeprimidos	4 (4,82)	0 (0,00)	6 (7,23)	73 (87,95)	83
Total	5 (3,31)	0 (0,00)	6 (3,97)	140 (92,72)	151
IgM					
Imunocompetentes	1 (1,47)	0 (0,00)	2 (2,94)	65 (95,59)	68
Imunodeprimidos	5 (6,02)	1 (1,21)	5 (6,02)	72 (86,75)	83
Total	6 (3,97)	1 (0,66)	7 (4,63)	137 (90,73)	151

4.4. Comparação entre os diagnósticos parasitológicos e imunológicos na *estrongiloidíase*

Das 151 crianças estudadas somente 5 casos foram positivos para *S. stercoralis* nos testes parasitológicos, enquanto que nos testes imunológicos, 9 foram positivos pela RIFI-IgG considerando os dois antígenos, 9 pela RIFI-IgM, considerando os dois antígenos, 11 pelo teste ELISA-IgG e 13 pelo ELISA-IgM. As Figuras 4 e 5 indicam as porcentagens de positividade comparativas entre todos os testes realizados respectivamente nas crianças imunocompetentes e imunodeprimidos.

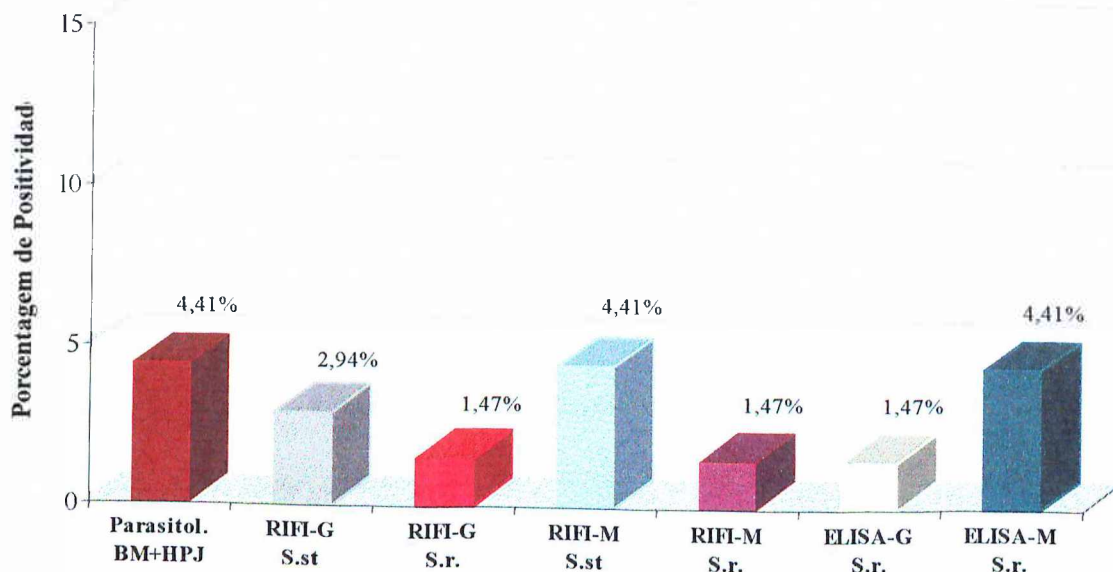


Figura 4: Comparação dos testes parasitológicos (Parasitol.) e imunológicos [RIFI-IgG e IgM, utilizando como antígenos *S. stercoralis* (S. st.) e *S. ratti* (S. r.); e testes ELISA-IgG e IgM] no diagnóstico da estrongiloidíase em crianças imunocompetentes (n=68) internadas na Enfermaria de Pediatria do Hospital de Clínicas - UFU, MG, no período de fevereiro de 1996 a junho de 1998.

Não houve diferença significativa utilizando o teste relativo da diferença entre duas proporções envolvendo distribuição normal, entre os testes parasitológicos e imunológicos no diagnóstico da estrongiloidíase nas crianças analisadas, Figura 4 ($p>0,05$).

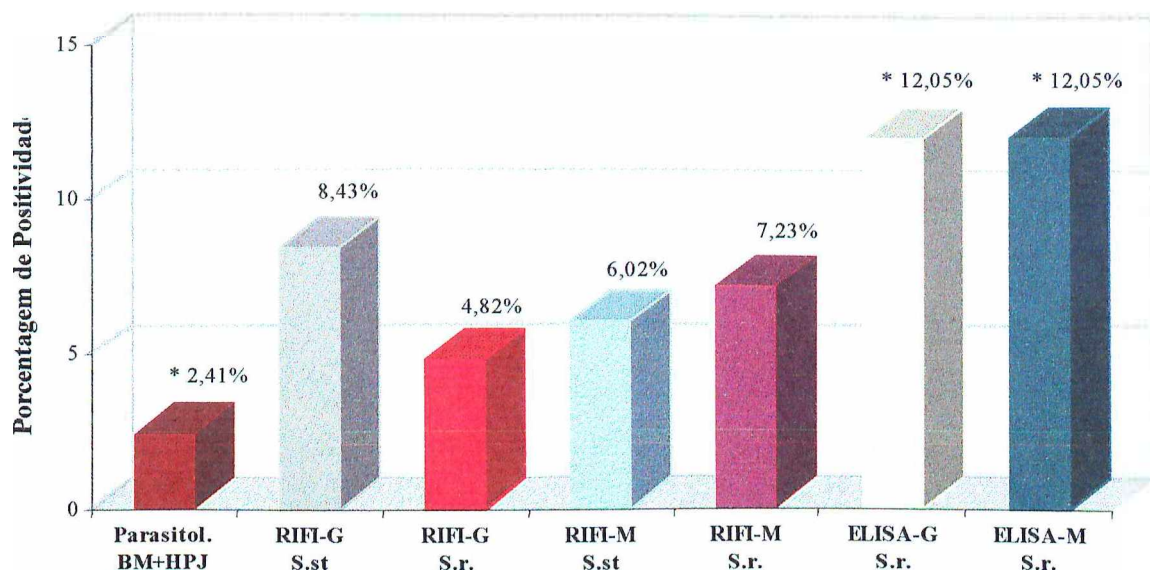


Figura 5: Comparação dos testes parasitológicos (Parasitol.) e imunológicos [RIFI-IgG e IgM, utilizando como antígenos *S. stercoralis* (S. st.) e *S. ratti* (S. r.); e testes ELISA-IgG e IgM] no diagnóstico da estrongiloidíase em crianças imunodeprimidas (n= 83) internadas na Enfermaria de Pediatria do Hospital de Clínicas- UFU, MG, período de fevereiro de 1996 a junho de 1998. * Diferença estatística significativa entre Parasitol X os testes ELISA-IgG e IgM (Z=2,41, p<0,05)

Na Figura 5, houve diferença significativa utilizando o teste relativo da diferença entre duas proporções envolvendo distribuição normal, entre os testes parasitológicos e os testes ELISA-IgG e IgM (Z=2,41; p<0,05).

Das 151 crianças analisadas 19 (12,58%) foram positivas para *S. stercoralis* considerando o diagnóstico parasitológico e/ou imunológico, sendo 4 (2,65%) casos pertencentes as crianças imunocompetentes e 15 (9,93%) as imunodeprimidas.

A identificação dos casos positivos para *S. stercoralis* através dos dois métodos parasitológicos e dos seis métodos imunológicos (resultados expressos em

títulos) nas crianças imunocompetentes e nas imunodeprimidas estão demonstrados respectivamente, nas Tabelas 8 e 9.

Tabela 8: Identificação dos casos positivos para *S. stercoralis*, quanto ao diagnóstico parasitológico e/ou imunológico, de crianças imunocompetentes internadas na Enfermaria de Pediatria do Hospital de Clínicas -UFU, MG, no período de fevereiro de 1996 a junho de 1998.

Caso	Diagnóstico Parasitológico		Diagnóstico Imunológico*					
	BM	HPJ	RIFI		ELISA			
			IgG		IgM		IgG	
			S.st	S.r	S.st	S.r	S.r	S.r
9	-	<i>S. stercoralis</i> , <i>G. lamblia</i>	20	-	-	-	-	-
16	<i>S. stercoralis</i>	<i>G. lamblia</i>	-	-	40	40	-	80
26	<i>S. stercoralis</i>	<i>S. stercoralis</i>	40	40	40	-	320	80
35	-	-	-	-	40	-	-	80

BM: Baermann-Moraes; HPJ: Hoffmann, Pons e Janer; RIFI: Reação de Imunofluorescência Indireta; S.st: *S. stercoralis* e S.r: *S. ratti*; - casos não reagentes ou negativos; * resultados expressos em títulos.

Tabela 9: Identificação dos casos positivos para *S. stercoralis*, quanto ao diagnóstico parasitológico e/ou imunológico, de crianças imunodeprimidas internadas na Enfermaria de Pediatria do Hospital de Clínicas -UFU, MG, no período de fevereiro de 1996 a junho de 1998.

Caso	Diagnóstico Parasitológico		Diagnóstico Imunológico*					
	BM	HPJ	RIFI				ELISA	
			IgG		IgM		IgG	IgM
			S.st	S.r	S.st	S.r	S.r	S.r
4	-	-	-	-	-	-	160	80
8	-	-	20	-	80	40	80	160
15	<i>S. stercoralis</i>	<i>A. lumbricoides,</i> <i>T. trichiura, E.coli</i>	20	20	-	-	320	80
24	-	-	-	-	40	40	-	-
27	-	-	20	40	40	40	80	80
28	-	-	40	-	-	-	160	-
29	-	-	-	-	40	40	-	80
31	-	-	-	-	-	-	320	-
42	-	-	-	-	-	-	-	160
44	-	-	20	20	-	-	80	-
45	-	-	80	80	-	-	320	160
46	<i>S. stercoralis</i>	-	-	-	-	-	-	-
62	-	-	-	-	-	40	-	80
74	-	-	-	-	-	-	160	80
82	-	-	40	-	40	40	320	160

BM: Baermann-Moracs; HPJ: Hoffman, Pons e Janer; RIFI: Reação de Imunofluorescência Indireta; S.st: *S. stercoralis* e S.r: *S. ratti*; - casos não reagentes ou negativos; * resultados expressos em títulos

Não houve diferença estatística significativa (p>0,05) entre a prevalência de casos positivos para *S. stercoralis*, considerando o diagnóstico parasitológico e/ou imunológico, em relação ao sexo das crianças analisadas (Tabelas 8 e

9). Não houve diferença estatística significativa, utilizando o teste t student ($p>0,05$), entre os testes imunológicos no diagnóstico da estrogiloidíase nas crianças imunocompetentes (Tabela 8). Na Tabela 9, houve diferença estatística significativa ($p<0,05$), utilizando o teste t student, entre os testes imunológicos no diagnóstico da estrogiloidíase.

Das crianças imunocompetentes positivas para *S. stercoralis* (Tabela 8, Anexo 3) três eram procedentes do estado de Minas Gerais (sendo duas do município de Uberlândia e uma do município de Monte Carmelo) e uma do estado de Goiás (município de Campos Verdes). Das crianças imunodeprimidas positivas para *S. stercoralis* (Tabela 9, Anexo 4), 13 eram procedentes do estado de Minas Gerais (sendo seis do município de Uberlândia, dois de Araguari, dois de Capinópolis, um de Monte Alegre, um de Monte Carmelo e um de Canápolis) e dois do estado de Goiás (um do município de Itumbiara e outro de Caçu).

Dentre os casos positivos para anticorpos IgG e IgM pela RIFI, a idade das crianças imunocompetentes variou de 5 meses a 12 anos com maior número de casos positivos no sexo masculino. No teste ELISA a idade variou de 5 meses a 11 anos com ocorrência semelhante nos dois sexos.

Nas crianças imunodeprimidas, nos casos reagentes pela RIFI-IgG e IgM, a idade variou de 5 meses a 12 anos com ocorrência nos dois sexos. No teste ELISA, a idade variou de 5 meses a 12 anos com maior ocorrência no sexo feminino.

Os títulos de anticorpos IgG anti- *S. stercoralis* detectados pela RIFI nas crianças soro reagentes variaram de 20 a 80. Dos casos sororeagentes nas crianças imunocompetentes, os títulos variaram de 20 a 40 no antígeno de *S. stercoralis* e foram somente 40 no antígeno de *S. ratti*. Nas crianças imunodeprimidas, os títulos variaram de 20 a 80 nos dois antígenos.

Os títulos de anticorpos IgM anti -*S. stercoralis*, pela RIFI variaram de 40 a 80 sendo 40 nos dois antígenos nas crianças imunocompetentes, de 40 a 80 no antígeno de *S. stercoralis* e 40 no antígeno de *S. ratti* nas imunodeprimidas.

Nos casos positivos pela RIFI-IgG, o diagnóstico clínico das crianças imunodeprimidas apresentado no Anexo 4 correspondeu a 28,57% de casos com aplasia medular e 14,29% dos seguintes casos com transplante renal, HIV+, doença de Hodgkin, desnutrição protéica calórica III grau e febre reumática.

Com relação aos casos positivos pela RIFI-IgM, as crianças imunodeprimidas apresentaram diagnóstico clínico (Anexo 4) de 33,33% de casos com aplasia medular e 16,67% dos seguintes casos com insuficiência renal, tumor de fossa nasal, tumor cerebral e febre reumática.

Os títulos de anticorpos detectados pelo teste ELISA-IgG, variaram de 80 a 320 sendo que nas crianças imunocompetentes, o título foi de 320 e nas imunodeprimidas de 80 a 320 e pelo ELISA-IgM variaram de 80 a 160, nos dois grupos analisados.

Nos casos positivos pelo teste ELISA-IgG, o diagnóstico clínico das crianças imunodeprimidas (Anexo 4) correspondeu a 20,00% com desnutrição protéico calórica III grau, 20,00% com aplasia medular e 10,00% de cada um dos seguintes casos com rabdomiossarcoma maxilar, transplante renal, HIV+, doença de Hodgkin, politraumatizado e febre reumática.

Com relação aos casos positivos pelo teste ELISA-IgM, o diagnóstico clínico das crianças imunodeprimidas (Anexo 4) correspondeu a 20,00% com aplasia medular e 10,00% de cada um dos seguintes casos com desnutrição protéico calórica III grau, rabdomiossarcoma maxilar, tumor cerebral, sarcoma de Ewing, doença de Hodgkin, tumor de fossa nasal, politraumatizado e febre reumática.

Os casos positivos somente para anticorpos IgG pelos testes imunológicos, ocorreu apenas nas crianças imunodeprimidas correspondentes aos casos 28, 31 e 44 (Anexo 4) podem representar uma infecção pregressa. Nos casos positivos para anticorpos IgM podem indicar uma infecção ativa, na qual não foi detectada pelos métodos parasitológicos.

5. DISCUSSÃO

A aplicação de técnicas parasitológicas e imunológicas podem contribuir para o esclarecimento do diagnóstico clínico e epidemiológico da estrongiloidíase propiciando adequada conduta terapêutica, fundamental na infância principalmente diante da imunossupressão.

O perfil clínico das 83 crianças imunodeprimidas analisadas neste estudo (Tabela 2 e Anexo 4) foi constituído de 53,00% por crianças portadoras de leucemia linfóide aguda, desnutrição protéica calórica III grau, pacientes HIV+, tumor de Wilms e AIDS confirmando assim, a necessidade de se fazer um estudo sistemático do índice de parasitas intestinais sobretudo *S. stercoralis*, afim de evitar os quadros de hiperinfecção descritos por HARCOURT-WEBSTER, SCARAVILLI, DARWISH (1991); GRAEFF-TEIXEIRA, et al. (1997) e FERREIRA et al. (1999).

Com relação a faixa etária das crianças analisadas no presente trabalho observou-se que 76 (50,33%) estavam entre zero e quatro anos de idade (Tabela 1). Das 35 crianças positivas para parasitas e comensais intestinais, 15 (42,86%) pertenciam a faixa etária de zero a quatro anos de idade, isto sugere que quanto menor a criança tanto maior a probabilidade de levar à boca objetos e mãos, muitas vezes, contaminadas, indicando que os hábitos de higiene nesta faixa etária não estão totalmente desenvolvidos (BERBERT-FERREIRA et al., 1990).

A ocorrência de 23,18% de parasitas e comensais intestinais nas 151 crianças pelos métodos parasitológicos (Figura 1) no presente trabalho foi semelhante aos resultados apresentados por GENNARI-CARDOSO et al. (1996) (20,21%) ao estudarem crianças com diarreia aguda também internadas no HC-UFU, MG, no período de setembro de 1992 a agosto de 1993. Ao comparar a prevalência deste estudo com os resultados

obtidos por outros trabalhos desenvolvidos na população de Uberlândia observa-se inferioridade em relação a MACHADO, COSTA-CRUZ (1998) (49,70%) estudando crianças de zero a sete anos de idade de creches municipais da cidade de Uberlândia no período de setembro de 1994 a dezembro de 1995 e SANTOS (1997) (58,13%) ao analisar crianças de zero a quinze anos de idade residentes em bairros periféricos da cidade de Uberlândia no período de outubro de 1996 a junho de 1997.

Ao identificar os parasitas e comensais intestinais nas 151 crianças deste estudo (Figura 2) e ao comparar com a literatura local observou-se semelhança com os resultados obtidos por GENNARI-CARDOSO et al. (1996), SANTOS (1997) e MACHADO, COSTA-CRUZ (1998). No entanto, no presente trabalho não foi observada a presença de *Hymenolepis nana* em relação aos dados de GENNARI-CARDOSO et al. (1996), a presença de *H. nana*, *H. diminuta*, *Endolimax nana*, *Entamoeba hartmanni*, *Iodamoeba butschlii* e *Capillaria hepatica* em relação aos de SANTOS (1997) e a presença de *H. nana* e *H. diminuta* em relação aos de MACHADO, COSTA-CRUZ (1998).

O diagnóstico parasitológico da estrogiloidíase utilizando o exame fecal é freqüentemente dificultado em casos de infecções crônicas assintomáticas devido a eliminação larval mínima e irregular nas fezes (LIU, WELLER, 1993; ROSSI et al., 1993, GROVE, 1996). Estudos conduzidos utilizando somente uma amostra fecal por pessoa demonstraram a taxa de detecção da infecção de 14-24% dos casos, enquanto que utilizando três amostras colhidas em dias diferentes a taxa de infecção encontrada é consideravelmente aumentada para 50% (SATO, KOBAYASHI, SHIROMA, 1995, MACHADO, COSTA-CRUZ, 1998).

Para o diagnóstico parasitológico de *S. stercoralis*, utilizando três amostras e dois métodos foi demonstrado o índice de positividade de 3,31% nas 151 crianças analisadas neste estudo. Tais resultados são inferiores aos de MACHADO,

COSTA-CRUZ (1997) (13,00%), equivalentes aos demonstrados por GENNARI-CARDOSO et al. (1996) (2,13%) e superiores aos de SANTOS (1997) (1,25%).

A baixa positividade de *S. stercoralis* nas crianças imunodeprimidas deve-se talvez ao fato de que neste grupo ao ser diagnosticado clinicamente a imunodepressão, a conduta médica é a instituição da terapêutica específica para *S. stercoralis*, afim de prevenir o agravo do quadro clínico. Ao identificar os dois casos positivos para *S. stercoralis* (15, 46, Anexo 4) pelos métodos parasitológicos nas crianças imunodeprimidas observou-se que foram crianças na faixa etária de dois a quatro anos de idade e com diagnóstico clínico respectivamente de desnutrição protéica calórica III grau e leucemia linfóide aguda, ambas do sexo feminino. A literatura consultada chama a atenção para a estrongiloidíase em pacientes com hemopatias malignas (GRAEFF-TEIXEIRA et al., 1997).

Mesmo com baixa positividade de *S. stercoralis* pelos métodos parasitológicos, o método de Baermann-Moraes apresentou maior sensibilidade em relação ao método de Hoffmann, Pons e Janer, uma vez que detectou quatro casos em relação ao cinco casos positivos para *S. stercoralis*. Segundo LIU, WELLER (1993) e além de DREYER et al. (1996), o método de Baermann-Moraes é uma das técnicas mais adequada para a detecção de larvas de helmintos em amostras de fezes, porém não é utilizado na rotina de laboratórios de análises clínicas, devido a necessidade da utilização de fezes sem conservantes.

Nas crianças neste estudo com parasitológicos positivos houve predominância de monoparasitismo (74,28%) seguido de biparasitismo (22,86%) e de poliparasitismo (2,86%) como demonstrado por CUTRIM-Jr, FONSECA, CARNEIRO (1985); LATORRACA, et al. (1988); BERBERT-FERREIRA, et al. (1990); MACHADO, COSTA-CRUZ (1998).

Nas crianças imunodeprimidas, ocorreu um único caso de poliparasitismo entre *A. lumbricoides*, *T. trichiura*, *E. coli* e *S. stercoralis*, correspondendo ao caso 15 (Anexo 4) indicando que estes parasitas podem levar ao agravamento do quadro clínico. Segundo CUTRIM-Jr, FONSECA, CARNEIRO (1985), o poliparasitismo evidencia que as precárias condições do meio favorecem o desenvolvimento de parasitos intestinais de um modo geral e diminuem a capacidade de resposta do hospedeiro tornando o quadro clínico mais grave.

Os testes RIFI-G empregados neste trabalho foram anteriormente padronizados por COSTA-CRUZ et al. (1997) obtendo sensibilidade de 94,4% e 92,5%, e especificidade 94,2% e 97,1%, respectivamente quando utilizavam antígeno de *S. stercoralis* e *S. ratti*. Com relação ao teste ELISA -IgG e extrato alcalino de *S. ratti*, os índices de sensibilidade de 93,4% e especificidade de 96,9% foram demonstrados por COSTA-CRUZ et al. (1998).

Para anticorpos IgM, a RIFI foi padronizada por PEIXOTO (1997), na qual foram detectados 20 (37,0%) e 16 (29,6%) soros reagentes para IgM em pacientes com estrogiloidíase utilizando respectivamente os antígenos de *S. stercoralis* e *S. ratti* e o teste ELISA demonstrado por COSTA-CRUZ et al. (1999) utilizando extrato alcalino de *S. ratti* detectaram 27 (44,26%) soros reagentes para IgM em pacientes com estrogiloidíase.

No presente estudo foi detectado 5,96% das crianças soros reagentes pela RIFI-IgG considerando os dois antígenos e 7,28% pelo teste ELISA-IgG sendo nas crianças imunocompetentes 2,94% positivas pela RIFI-IgG e 1,47% pelo teste ELISA-IgG, enquanto que nas imunodeprimidas, 8,43% apresentaram-se positivas pela RIFI-IgG considerando os dois antígenos e 12,05% pelo teste ELISA-IgG, assim assemelhando-se aos dados reportados por ROSSI et al. (1993a). Desta forma, os dados

deste estudo indicam que as técnicas sorológicas, principalmente as imunoenzimáticas podem ser uma confiável alternativa para o diagnóstico da estrogiloidíase.

Níveis de anticorpos IgG anti-*S. stercoralis* podem permanecer elevados por um período prolongado após o tratamento (GENTA, 1988), com isso, o teste ELISA-IgG não distingue infecção aguda de crônica, mas um resultado positivo pode ajudar a estabelecer o diagnóstico e justificar o tratamento em pacientes com eosinofilia ou em uso de drogas imunossupressoras (LIU, WELLER, 1993) principalmente em áreas endêmicas como a cidade de Uberlândia (MACHADO, COSTA-CRUZ, 1998), além da triagem em massa para inquéritos soroepidemiológicos (SATO, KOBAYASHI, SHIROMA, 1995; COSTA-CRUZ, MACHADO, CAMPOS, 1998).

Dos 12 casos positivos pelos dois testes imunológicos para anticorpos IgG em amostras de soros das crianças analisadas neste estudo, somente três tiveram resultados parasitológicos positivos sendo dois casos entre os imunocompetentes e um entre os imunodeprimidos, no entanto na maioria dos casos o sorodiagnóstico foi positivo e o exame parasitológico negativo.

Os dados imunológicos obtidos neste estudo, assim como GENTA, DOUCE, WALZER (1986) e GENTA (1988) demonstram que anticorpos IgG anti- *S. stercoralis* estão presentes e podem ser utilizados no diagnóstico da estrogiloidíase em indivíduos imunodeprimidos, não representando, porém, um indicador de severidade de doença ou um papel protetor contra o parasita.

Com relação aos anticorpos IgM anti-*S. stercoralis*, no presente estudo foram detectados 5,96% das crianças imunocompetentes e imunodeprimidas sororeagentes pela RIFI-IgM considerando os dois antígenos, e 7,28% pelo teste ELISA-IgM. Nas crianças imunocompetentes, 4,41 % foram positivas pela RIFI-IgM para os dois antígenos e 4,41% pelo teste ELISA-IgM. Nas crianças imunodeprimidas, 7,22% soro

reagentes pela RIFI-IgM considerando os dois antígenos e 12,05% pelo teste ELISA-IgM. Não existem dados na literatura para serem confrontados com estes resultados sobretudo em crianças.

A detecção de anticorpos IgM no imunodiagnóstico da estrogiloidíase foi descrito por NAGESWARAN, CRAIG, DEVANEY (1994), em modelos experimentais com ratos, demonstrando que anticorpos IgM são observados logo após a infecção com *S. ratti*, porém são de vida curta, sugerindo assim que sua presença pode ser um indicativo de uma infecção recente. De modo semelhante, GENTA, WEIL (1982) analisando anticorpos específicos em pacientes com estrogiloidíase crônica, demonstraram que a falta de anticorpos IgM pode estar relacionada com a cronicidade da infecção.

Dos casos positivos pelos dois testes imunológicos para anticorpos IgM neste estudo, três casos tiveram resultados parasitológico e sorológico positivos sendo os casos 16 e 26 (Tabela 8) nas crianças imunocompetentes e o caso 15 (Tabela 9) nas imunodeprimidas. O restante dos casos reagentes nos testes sorológicos podem sugerir limitação dos testes parasitológicos ou indicação de uma infecção pregressa nos casos de IgG positivos.

Em relação ao grau de reatividade entre os antígenos *S. stercoralis* e *S. ratti* pela RIFI-IgG e IgM, no presente trabalho, observou-se que não houve diferença estatística significativa ($p>0,05$) entre os dois antígenos para os dois anticorpos, nos dois grupos de crianças. Estes resultados estão de acordo com GROVE, BLAIR (1981) e COSTA-CRUZ et al. (1997) que demonstraram a utilização de *S. ratti* como fonte heteróloga de antígeno para o imunodiagnóstico da estrogiloidíase devido a semelhança de resultados com *S. stercoralis*, além da facilidade de produção em massa sem o envolvimento do risco de infecção por parte de técnicos de laboratório.

As preparações antigênicas utilizadas podem apresentar reatividade cruzada com soros de indivíduos portadores de outras infecções helmínticas. Esta reatividade cruzada tem sido demonstrada por alguns autores (GAM, NEVA, KROTOSKI, 1987; COSTA-CRUZ et al., 1998) utilizando preparações antigênicas semelhantes às empregadas neste estudo e, por esta razão, a estrongiloidíase em crianças sobretudo imunodeprimidas não pode ser excluída, uma vez que, a maioria dos casos apresentaram resultados sorológicos positivos e parasitológicos negativos. Segundo BRASIL et al. (1988), isto pode decorrer da associação com outros parasitas resultando em reação-cruzada, mas não pode ser afastada a possibilidade da existência da infecção pelo *S. stercoralis* nestes pacientes apesar do exame parasitológico negativo.

O caso 46 (Anexo 4) não respondeu à pesquisa de anticorpos IgG e IgM pelos testes imunológicos, mesmo com diagnóstico parasitológico positivo para *S. stercoralis*. Esta criança apresentou diagnóstico clínico de leucemia linfóide aguda e comprometimento no estado geral, talvez devido ao abandono do tratamento quimioterápico para a leucemia um ano antes da colheita das amostras. Segundo BRASIL et al. (1988) alguns indivíduos podem apresentar uma deficiência imunológica específica contra antígenos do parasita, o que explicaria a possível suscetibilidade de desenvolver formas graves da estrongiloidíase e a ausência de anticorpos específicos contra o parasito.

Os resultados imunológicos obtidos neste estudo demonstram que a detecção de anticorpos IgG e IgM anti-*S. stercoralis* ocorreram em todas as faixas etárias nos dois grupos de crianças (Anexo 3 e 4, Tabela 8 e 9). Segundo CONWAY et al. (1995) em muitas comunidades a infecção ocorre preferencialmente em crianças.

Não houve diferença estatística ($p > 0,05$) na detecção de anticorpos anti-*S. stercoralis* entre o sexo masculino e feminino nos dois grupos. Segundo CUTRIN-JR, FONSECA, CARNEIRO (1985) isto indica que existe uma mudança de

comportamento do sexo feminino, o qual participando das mesmas brincadeiras que o sexo masculino apresenta portanto, o mesmo risco de contaminação.

Ao comparar o diagnóstico clínico das crianças imunodeprimidas com o diagnóstico imunológico pelos dois testes os resultados obtidos neste estudo demonstraram que em relação aos anticorpos IgG, as crianças reagentes foram portadoras na sua maioria de desnutrição protéica calórica III grau, e aplasia medular, seguido de rabdomiossarcoma maxilar, transplante renal, HIV+, doença de Hodgkin, politraumatizado e febre reumática. Para os anticorpos IgM, o diagnóstico clínico não apresentou muitas diferenças quando comparado com o anterior, onde as crianças foram portadoras de aplasia medular, insuficiência renal, desnutrição proteico calórica III grau, rabdomiossarcoma maxilar, sarcoma de Ewing, doença de Hodgkin, tumor de fossa nasal, politraumatizado e febre reumática. Ao confrontar estes resultados com a literatura observa-se a ocorrência de diversos relatos sobre a estrogiloidíase em indivíduos imunodeprimidos com neoplasias hematológicas (NUCCI et al., 1995; GRAEFF-TEIXEIRA et al., 1997), linfomas (GENTA, MILES, FIELDS, 1989; SANDLUND, KAUFFMAN, FLYNN, 1997), transplantados renais (GERMAN et al., 1992) e HIV + (HARCOURT-WEBSTER, SCARAVILLI, DARWISH, 1991, FERREIRA et al., 1999).

No presente trabalho, não houve casos de pacientes com diagnóstico clínico de AIDS e síndrome nefrótica com resultados positivos para *S. stercoralis* pelos métodos parasitológicos e imunológicos, porém existem diversos relatos da ocorrência deste parasita em tais tipos de pacientes como por exemplo PETITHORY, DEROUIN (1987); CELEDON et al. (1994); KAO et al. (1996) e FERREIRA et al. (1999) observaram a ocorrência da estrogiloidíase na AIDS, e WONG et al. (1998) que demonstraram esta parasitose em indivíduos com síndrome nefrótica.

Houve grande quantidade de indivíduos no grupo de imunodeprimidos estudado utilizando terapêutica a base de corticosteróides (Anexo 4) indicando assim a necessidade de se fazer um estudo sistemático da estrogiloidíase. Segundo SANDLUND, KAUFFMAN, FLYNN (1997), o uso de corticoesteróides é um fator predisponente para a disseminação do parasito.

O Hospital de Clínicas da UFU é uma instituição pública com atendimento regional, atingindo vários municípios do estado de Minas Gerais e de Goiás. No presente trabalho, 19 (12,58%) casos foram positivos para *S. stercoralis*, considerando o diagnóstico parasitológico e/ou imunológico, sendo 9 (10,46%) entre os 86 procedentes do município de Uberlândia e 10 (15,62%) entre os 64 de outros municípios dos estados de Minas Gerais e Goiás. O município de Uberlândia foi confirmado como uma área hiperendêmica para *S. stercoralis* por MACHADO, COSTA-CRUZ (1998), e o índice de positividade da presente dissertação confirma esta situação e destaca a importância do despertar das autoridades regionais para a necessidade de se determinar a prevalência deste geohelminto em toda a região.

A detecção de anticorpos IgG ou IgM anti- *S. stercoralis* isoladamente em crianças com resultados parasitológicos negativos para a estrogiloidíase pode indicar falhas nos testes imunológicos com pouco valor diagnóstico, mas a detecção de anticorpos IgG ou IgM anti- *S. stercoralis* em conjunto pode representar importante auxílio diagnóstico desta parasitose.

Considerando, portanto a imunodepressão como fator de risco para a infecção analisada, o município de Uberlândia como área hiperendêmica para *S. stercoralis* e a maior positividade dos testes imunológicos em relação aos parasitológicos nas crianças imunodeprimidas, a presente dissertação vem destacar o valor dos testes sorológicos: RIFI e ELISA na detecção de anticorpos IgG e IgM, no diagnóstico da

estrongiloidíase humana, sobretudo em crianças imunodeprimidas, contribuindo assim para o estabelecimento do diagnóstico efetivo desta parasitose e possibilidade de tratamento precoce destas crianças.

6. CONCLUSÕES

- Não houve diferença estatística na ocorrência de enteroparasitas e comensais intestinais nas crianças imunocompetentes e nas imunodeprimidas e na positividade por faixa etária distribuída de 2 em 2 anos;
- A utilização de antígenos homólogos e heterólogos foi adequada para detecção de anticorpos IgG e IgM pela RIFI tanto em crianças imunocompetentes como imunodeprimidas ($p > 0,05$);
- Os testes ELISA IgG e IgM podem ser solicitados como rotina laboratorial no diagnóstico imunológico da estrogiloidíase nas crianças portadoras de doenças imunossupressoras;
- O emprego dos testes de RIFI e ELISA podem auxiliar no diagnóstico da estrogiloidíase ativa e pregressa orientando o clínico para a conduta terapêutica específica nas crianças portadoras de doenças imunossupressoras.

7. RESUMO

A estrogiloidíase é uma doença parasitária resultante da infecção pelo *Strongyloides stercoralis* que pode evoluir para hiperinfecção, principalmente em indivíduos imunodeprimidos. Considerando que Uberlândia é uma região hiperendêmica para este geohelminto propõe-se realizar e comparar os diagnósticos parasitológico e imunológico da estrogiloidíase em 151 crianças sendo 68 imunocompetentes (IC) e 83 imunodeprimidas (ID) internadas no Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia, no período de fevereiro de 1996 a junho de 1998. Para o diagnóstico parasitológico três amostras de fezes de cada indivíduo foram processadas pelos métodos de Baermann-Moraes e de Hoffmann, Pons e Janer. O diagnóstico imunológico para a detecção de anticorpos séricos IgG e IgM foi realizado através das reações de imunofluorescência indireta (RIFI) utilizando-se como antígenos cortes de 4 micra de larvas filarióides de *S. stercoralis* e de *S. ratti* e o teste ELISA utilizando-se como antígeno extrato alcalino de larvas filarióides de *S. ratti*. A pesquisa de fator reumatóide foi realizada nos soros IgM reagentes utilizando-se o teste do látex e a absorção dos soros com FTA ABS. Os dois testes parasitológicos detectaram 23,18% de positividade para parasitas e comensais intestinais sendo 5 (3,31%) casos positivos para *S. stercoralis* (3 casos IC, 4,41 % e 2 casos ID, 2,41%). A RIFI-IgG detectou 9 (5,96%) amostras de soros reagentes (2 casos IC, 2,94% sendo 2 pelo antígeno de *S. stercoralis* e 1 pelo *S. ratti* e 7 casos ID, 8,43% sendo 7 pelo antígeno *S. stercoralis* e 4 pelo *S. ratti*). Pelo teste ELISA-IgG 11 (7,28%) amostras de soros foram positivas (1 caso IC, 1,47% 9 casos ID, 12,05%). Todos os soros IgM reagentes foram não reagentes na prova do látex e a absorção com FTA ABS não alterou os índices de positividade da RIFI nos dois antígenos e no teste ELISA. A RIFI-IgM detectou 9 (5,96%) casos positivos (3 casos IC, 4,41% sendo 3 pelo antígeno de *S. stercoralis* e 1 pelo *S. ratti* e 6 casos ID, 7,22% sendo 5 pelo antígeno de *S. stercoralis* e 6 pelo *S. ratti*). O teste ELISA-IgM detectou 13 (8,61%) casos positivos (3 casos IC, 4,41% e 10 casos ID, 12,05%). Não houve diferença estatística entre os dois antígenos nos dois grupos ($p > 0,05$). Ao comparar a RIFI e o teste ELISA na detecção de anticorpos IgG considerando somente como antígeno *S. ratti* houve concordância positiva em 1 caso nas IC e 4 nas ID e para anticorpos IgM 2 casos nas IC e 4 nas ID. A comparação entre os diagnósticos parasitológico e imunológico nos dois grupos demonstrou diferença estatística ($p < 0,05$) nas crianças ID entre os testes parasitológicos e os testes ELISA-IgG e IgM. Concluiu-se que os testes imunológicos podem contribuir para o diagnóstico da estrogiloidíase em crianças IC e ID.

8. SUMMARY

Strongyloidiasis is a parasitic disease resulting from of *Strongyloides stercoralis* infection, which can progress to hyperinfection, especially in immunocompromised individuals. Considering that Uberlândia is a hyperendemic area for this geo-helminth, it's intended to perform and compare parasitologic and immunologic diagnoses of strongyloidiasis. A survey was conducted among 151 children, 68 immunocompetent ones (IC) and 83 immunocompromised ones (ID), aged from zero to 12, at the University Hospital, Universidade Federal de Uberlândia, Minas Gerais, Brazil, from February 1996 to June 1998. Three fecal samples from each child were analyzed for the parasitologic diagnosis by Baermann-Moraes and Hoffmann, Pons and Janer methods. The immunologic diagnosis to detect IgG and IgM antibodies was carried out by indirect immunofluorescence antibody test (IFAT) with cryo-microtome sections of *Strongyloides stercoralis* and *S. ratti* larvae as antigens and by ELISA test with alkaline extracts of *S. ratti* as the antigens. The rheumatic factor research was carried out in all through the "Reumatex Kit" IgM antibody positive serum samples and the FTA sorbent. The two parasitologic tests were 23.18% positive to parasites and intestinal commensals, being 5 (3.31%) positive to *S. stercoralis* (3 cases IC, 4.41% and 2 cases ID, 2.41%). The IFAT-IgG detected 9 (5.96%) serum samples positive (2 cases IC, 2.94%, being 2 by *S. stercoralis* antigen and 1 by *S. ratti* and 7 cases ID, 8.43%, being 7 by *S. stercoralis* and 4 by *S. ratti*). The ELISA-IgG test detected 11 (7.28%) serum samples positive (1 case IC, 1.47% and 10 cases ID, 12.05%). All positive IgM serums were negative in rheumatic factor research. The IFAT-IgM detected 9 (5.96%) positive cases (3 cases IC, 4.41%, being 3 by *S. stercoralis* and 1 by *S. ratti* and 6 cases ID, 7.22%, being 5 by *S. stercoralis* and 6 by *S. ratti*). The ELISA-IgM test detected 13 (8.61%) positive cases (3 cases IC, 4.41% and 10 cases ID, 12.05%). There is no statistical difference between the two antigens in to two group ($p>0,05$). Comparing the IFAT and the ELISA tests in the detection of IgG antibodies considering the *S. ratti* as antigens, there is agreement in one case in IC and 4 in ID, and for IgM antibodies 2 cases in IC and 4 in ID. The comparison between the parasitologic and immunologic diagnoses in the two groups, show statistical difference ($p<0,05$) in ID between the parasitologic tests and ELISA-IgG and IgM tests. It was concluded that the immunologic tests can help the diagnosis of strongyloidiasis in ID and IC children.

9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS*

- LAGOSTINHO JR, F. Helminthíases intestinais. In: BARBIERI, D., KODA, Y. K. L. **Doenças gastroenterológicas em pediatria**. São Paulo: Atheneu, 1996. 573p. p. 457-469.
- ALBUQUERQUE, L. M. M., CAVALCANTI-JR, G. B., RIBEIRO, M. D. Eosinofilia sanguínea em crianças com helmintíases intestinais. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, v. 22, n. 2, p. 26-30, 1990.
- ALMEIDA, I. S. Prevalência de *Giardia lamblia* em população infantil e condições ambientais no bairro Nossa Senhora de Fátima, Planaltina, DF. **Brasília Médica**, v. 29, n. 1/4, p. 5-10, 1992.
- ALMEIDA, L. P., COSTA-CRUZ, J. M. Incidência de enteroparasitas em habitantes do município de Araguari, Minas Gerais. **Revista do Centro de Ciências Biomédicas da Universidade Federal de Uberlândia**, v. 4, n. 1, p. 9-17, 1988.
- ALVES, J. G. B., FERREIRA, O. S., ROCHA, J. A. Parasitoses intestinais em crianças atendidas no Ambulatório do Instituto Materno Infantil de Pernambuco (IMIP). **Jornal de Pediatria**, v. 52, n. 1/2, p. 15-16, 1982.
- ANANTHAKRISHNAN, S., NACINI, P., PANI, S. P. Intestinal geohelminthiasis in the developing world. **National Medical Journal of India**, v. 10, n. 2, p. 67-71, 1997.

* Segundo normas da ABNT, NBR 6023/89.

ANDRADE NETO, J. L., ASSEF, M. C. V. Estrongiloidíase. In: VERONESI, R., FOCACCIA, R. **Tratado de infectologia**, São Paulo: Atheneu, 1996, p. 1373-1378.

—| ARAKANI, T. et al. Efficacy of agar-plate culture in detection of *Strongyloides stercoralis*. **Journal of Parasitology**, v. 76, n. 3, p. 425-428, 1990.

ARAÚJO, C. F. F. M., MOURA, A. K. C., BRANCO, U. V. C. Frequência de parasitoses intestinais em crianças atendidas no ambulatório do Hospital Universitário Lauro Wanderley em João Pessoa- PE. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, v. 28, n. 1, p. 29-30, 1996.

ATKINS, N. S. et al. Humoral responses in human strongyloidiasis: correlations with infection chronicity. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 91, n. 5, p. 609-613, 1997.

—▷ BAERMANN, G. Eine einfache Methode zur Auffindung von Ankylostomum (Nematoden)- Larven in Erdproben. Mededeel mit. H. Geneesk. Batavia: Lab. Weltevreden. Feestbundel, p. 41-47, 1917.

BASSI, G. E. et al. A reação imunoenzimática para cisticercose no líquido cefalorraquiano- considerações sobre o limiar de reatividade. **Revista Brasileira de Patologia Clínica**, v. 27, n. 2, p. 49-52, 1991.

- BERBERT-FERREIRA, M., COSTA-CRUZ, J. M. Parasitas intestinais em lactentes de 4 a 12 meses usuários das creches da Universidade Federal de Uberlândia, MG. **Jornal de Pediatria**, v. 71, n. 4, p. 219-222, 1995.
- BODEY, G. P., FAINSTEIN, V., GUERRANT, R. Infections of the gastrointestinal tract in the immunocompromised patient. **Annual Review of Medicine**, v. 37, p.271-281, 1986.
- BORDA, C. E. et al. Intestinal parasitism in San Cayetano, Corrientes, Argentina. **Bulletin of the Pan American Health Organization**, v. 30, n. 3, p. 227-233, 1996.
- BOYAJIN, T. Strongyloidiasis on the Thai-Cambodian border. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 86, n. 6, p. 661-662, 1992.
- BRASIL, R. et al. Diagnóstico sorológico da estrogiloidíase humana através do método imunoenzimático. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 21, n. 3, p. 139-143, 1988.
- BRASITUS, T. A. et al. Intestinal strongyloidiasis. A case report and review of the literature. **The American Journal of Gastroenterology**, v. 73, p. 65-69, 1980.
- CAMPOS, D. M. B. et al. Antígeno de *Strongyloides cebus* (Darling, 1911) no diagnóstico da estrogiloidíase humana. **Revista de Patologia Tropical**, v. 17, n. 1, p. 17-23, 1988.

CAVALCANTI JR, G. B. et al. Frequência de parasitoses intestinais numa amostra da população infantil do Rio Grande do Norte. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, v. 19, n. 4, p. 75-76, 1987.

CELEDON, J. C. et al. Systemic strongyloidiasis in patients infected with the human immunodeficiency virus. A report of 3 cases and review of the literature. **Medicine**, v. 73, n.5, p. 256-263, 1994.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION: 1993. Revised classification system for HIV infection and expanded surveillance case definition for AIDS among adolescents and adults. **MMWR**, v. 41, n. RR-17, p. 1-19, 1992.

CHACIN-BONILLA, L. et al. Cryptosporidiosis among patients with acquired immunodeficiency syndrome in Zulia state, Venezuela. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 47, n. 5, p. 582-586, 1992.

CHAVES-BORGES, F. A., MINEO, J. R. **Medidas de biossegurança em laboratórios**.
Uberlândia: Gráfica da Universidade Federal de Uberlândia, 1997, 55p.

CONWAY, D. J. et al. Immunodiagnosis of *Strongyloides stercoralis* infection: a method for increasing the specificity of the indirect ELISA. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 87, p. 173-176, 1993.

CONWAY, D. J. et al. Towards effective control of *Strongyloides stercoralis*. **Parasitology Today**, v. 11, n. 11, p. 420-424, 1995.

CORREIA, M. A., SANTOS, M. A. Q., PEREIRA, M. J. Ocorrência de parasitos intestinais em escolares da Escola Estadual de 1º Grau Dom Abel, Goiânia. **Revista de Patologia Tropical**, v. 11, n. 1, p. 15-21, 1982.

COSTA-CRUZ, J. M., FERREIRA, M. S., ROSSIN, I. R. Intestinal parasites in AIDS and +HIV patients in Uberlândia, Minas Gerais, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 91, n. 6, p. 685-686, 1996.

—L COSTA-CRUZ, J. M., MACHADO, E. R., CAMPOS, D. M. B. Seroepidemiological study of human strongyloidiasis with samples collected on filter paper, in Abadia dos Dourados (Minas Gerais, Brazil). **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 4, n. 5, p. 329-331, 1998.

—L COSTA-CRUZ, J. M. et al. Cryo-microtome sections of coproculture larvae of *Strongyloides stercoralis* and *Strongyloides ratti* as antigen sources for the immunodiagnosis of human strongyloidiasis. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 39, n. 6, p. 313-317, 1997.

—L COSTA-CRUZ, J. M. et al. Padronização do teste ELISA utilizando extratos de *Strongyloides ratti* no diagnóstico da estrongiloidíase humana. In: SEMANA CIENTÍFICA DA MEDICINA, 11., Uberlândia. Anais... Uberlândia: UFU, 1998, p. 21.

- ▷ COSTA-CRUZ, J. M. et al. Padronização do teste ELISA para a detecção de anticorpos IgM, utilizando extratos salino e alcalino de *Strongyloides ratti* no diagnóstico da estrongiloidíase humana. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 32 (suplemento 1), p. 299, 1999.
- CUTRIM Jr, R. J. C., FONSECA, P. H. M., CARNEIRO, S. F. M. Prevalência de êntero-helmintos em pré-escolares e escolares do bairro de Vila Palmeira, São Luís, MA. **Arquivo Brasileiro de Medicina**, v. 56, n. 6, p. 467-468, 1985.
- ▷ DAFALLA, A. A. The indirect fluorescent antibody test for the serodiagnosis of strongyloidiasis. **Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 75, p. 109-111, 1972.
- DAUBENTON, J. D. , BUYS, H. S., HARTLEY, P. S. Disseminated strongyloidiasis in a child with lymphoblastic lymphoma. **Journal of Pediatric Hematology Oncology**, v. 20, n. 3, p. 260-263, 1998.
- DIAS, R. M. D. S. et al. Ocorrência de *Strongyloides stercoralis* em pacientes portadores da Síndrome de Imunodeficiência Adquirida (AIDS). **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 34, n. 1, p. 15-17, 1992.
- DÓREA, R. C. C. et al. Control of parasitic infections among school children in the peri-urban area of Botucatu, São Paulo, Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 29, n. 5, p. 425-430, 1996.

- DREYER, G. et al. Patterns of detection of *Strongyloides stercoralis* in stool specimens: implications for diagnosis and clinical trials. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 34, n. 10, p. 2569-2571, 1996.
- DUTCKER, J. P. et al. Disseminated strongyloidiasis with central nervous system involvement diagnosed antemortem in a patient with acquired immunodeficiency syndrome and Burkitts lymphoma. **Cancer**, v. 66, p. 2417-2420, 1990.
- FERRARONI, M. J. R. et al. Parasitas intestinais numa população humana na cidade de Nova Olinda do Norte, Amazonas. **Acta Amazônica**, v. 9, n. 4, p. 657-659, 1979.
- FERREIRA, M. S. Estrongiloidíase. In: VERONESI, R., FOCACCIA, R., DIETZE, R. (ed) **Doenças infecciosas e parasitárias**. 8.ed., Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 1991. p. 856-864.
- FERREIRA, M. S. et al. Strongyloidiasis and infection due to human immunodeficiency virus: 25 cases at a Brazilian Teaching Hospital, including seven cases of hyperinfection syndrome. **Clinical Infectious Diseases**, v. 28, n. 1, p. 154-155, 1999.
- GAM, A. A., NEVA, F. A., KROTOSKI, W. A. Comparative sensitivity and specificity of ELISA and IHA for serodiagnosis of strongyloidiasis with larval antigens. **American Journal Tropical Medicine and Hygiene**, v. 37, n. 1, p. 157-161, 1987.

GENNARI-CARDOSO, M. L. et al. *Cryptosporidium* sp in children suffering from acute diarrhea at Uberlândia city, State of Minas Gerais, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 91, n. 5, p. 551-554, 1996.

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

— GENTA, R. M., WEIL, G. J. Antibodies to *Strongyloides stercoralis* larval surface antigens in chronic strongyloidiasis. **Laboratory Investigation**, v. 47, n. 1, p. 87-90, 1982.

GENTA, R. M., DOUCE, R. W., WALZER, P. D. Diagnostic implications of parasite-specific immune responses in immunocompromised patients with strongyloidiasis. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 23, n. 6, p. 1099-1103, 1986.

GENTA, R. M., MILES, P., FIELDS, K. Opportunistic *Strongyloides stercoralis* infection in lymphoma patients. **Cancer**, v. 63, p. 1407-1411, 1989.

GERMAN, J. C. et al. Estrongiloidiasis fatal en paciente inmunodeprimido pós-transplante renal. **Revista do Hospital de Clínicas da Faculdade de Medicina de São Paulo**, v. 47, n. 1, p. 31-33, 1992.

GOMEZ MORALES, M. A. et al. Opportunistic and non-opportunistic parasites in HIV - positive and negative patients with diarrhoea in Tanzania. **Tropical Medicine and Parasitology**, v. 46, p. 109-114, 1995.

- GONÇALVES, E. G., FERREIRA, M. S. Aspectos radiológicos do comprometimento pulmonar na estrogiloidíase disseminada. A propósito de três casos. **Radiológica Brasileira**, v. 17, n. 3, p. 172-175, 1984.
- GORDON, S. M. et al. Disseminated strongyloidiasis with cutaneous manifestations in an immunocompromised host. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 31, n. 2, p. 255-259, 1994.
- GRAEFF-TEIXEIRA, C. et al. Prospective study of strongyloidosis in patients with hematologic malignancies. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 30, n. 5, p. 355-357, 1997.
- GROVE, D. I. Human strongyloidiasis. **Advances in Parasitology**, v. 38, p. 251-309, 1996.
- GROVE, D. I. BLAIR, A. J. Diagnosis of human strongyloidiasis by immunofluorescence, using *Strongyloides ratti* and *S. stercoralis* larvae. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 30, n. 2, p. 344-349, 1981.
- GUERRA e SILVA, C. D. Incidência de parasitoses intestinais em pré-escolares numa comunidade de Salvador. **Folha Médica**, v. 93, n. 5/6, p. 307-308, 1986.
- HALL, A. et al. *Strongyloides stercoralis* in an urban slum community in Bangladesh: factors independently associated with infection. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 88, p. 527-530, 1994.

HARCOURT-WEBSTER, J. N, SCARAVILLI, F., DARWISH, A. H. *Strongyloides stercoralis* hyperinfection in an HIV positive patient. **Journal of Clinical Pathology**, v. 44, p. 346-348, 1991.

HAYASHI, J. et al. Correlation between human T cell lymphotropic virus type 1 and *Strongyloides stercoralis* infections and serum immunoglobulin E responses in residents of Okinawa, Japan. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 56, n. 1, p. 71-75, 1997.

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

HUSNI, R. N. et al. Disseminated *Strongyloides stercoralis* infection in an immunocompetent patient. **Clinical Infectious Diseases**, v. 23, p. 663, 1996.

KAMINSKY, R. G. Evaluation of three methods for laboratory diagnosis of *Strongyloides stercoralis* infection. **Journal of Parasitology**, v. 79, n. 2, p. 277-280, 1993.

KAO, D. et al. Disseminated strongyloidiasis in a patient with acquired immunodeficiency syndrome. **Archives of Dermatology**, v. 132, p. 977-978, 1996.

KAPPUS, K. D. et al. Intestinal parasitism in the United States: update on a continuing problem. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 50, n. 6, p. 705-713, 1994.

—/ KOBAYASHI, J. et al. Studies on prevalence of *Strongyloides* infection in Holambra and Maceió, Brazil, by the agar plate faecal culture method. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 38, n. 4, p. 279-284, 1996.

—▷ KOGA, K. et al. A modified agar plate method for detection of *Strongyloides stercoralis*. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 45, n. 4, p. 518-521, 1991.

LATORRACA, M. Q., MEIRELLES, S. M. P., MARCHINI, J. S. Indicadores das condições nutricionais na região Polonoroeste. V. Desnutrição proteico-energética e parasitoses intestinais em um grupo de crianças de 3 a 72 meses de idade da cidade de Mirassol D' Oeste, Mato Grosso, Brasil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 30, n. 3, p. 192-196, 1988.

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

LEVI, G. C., KALLAS, E. G., LEITE, K. R. M. Disseminated *Strongyloides stercoralis* infection in an AIDS patient: the role of suppressive therapy. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 1, p. 48-51, 1997.

LEVINE, N. D. **Nematode parasites of domestic animals and of man**. 2. ed., Minneapolis: Burgess, 1979. 427p. Cap.1: Introduction to the Nematoda, p. 42-43.

- ⇒ LINDO, J. F. et al. Prospective evaluation of enzyme-linked immunosorbent assay and immunoblot methods for the diagnosis of endemic *Strongyloides stercoralis* infection. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 51, n. 2, p. 175-179, 1994.
- LIU, L. X., WELLER, P. F. Strongyloidiasis and other intestinal nematode infections. **Infectious Diseases Clinics of North America**, v. 37, n. 3, p. 655-682, 1993.
- LOWRY, V. H. et al. Protein measurement with the folin phenol reagent. **Journal of Biology Chemical**, v. 93, p. 265, 1951.
- MACHADO, E. R., COSTA-CRUZ, J. M. *Strongyloides stercoralis* and other enteroparasites in children at Uberlândia city, state of Minas Gerais, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 93, n. 2, p. 161-164, 1998.
- MAHDI, N. K., SETRAK, S. K., SHIWAISH, S. M. A. Diagnostic methods for intestinal parasites in southern Iraq with reference to *Strongyloides stercoralis*. **Southeast Asian Journal Tropical of Medicine Public Health**, v. 24, n. 4, p. 685-691, 1993.
- MAHMOUD, A. A. F. Strongyloidiasis. **Clinical Infectious Diseases**, v. 23, p. 949-953, 1996.
- MALETA, C. H. M. **Bioestatística. Saúde pública**. 2.ed. Belo Horizonte: Coopmed, 1992, 301p.

MILDER, J. E. et al. Clinical features of *Strongyloides stercoralis* in an endemic area of the United States. **Gastroenterology**, v. 80, n. 6, p. 1481-1488, 1981.

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

MOURA, E. C. Prevalência de parasitoses intestinal em escolares da primeira série de uma escola pública. **Jornal de Pediatria**, v. 73, n. 6, p. 406-410, 1997.

NAGESWARAN, C., CRAIG, P. S., DEVANEY, E. Coproantigen detection in rats experimentally infected with *Strongyloides ratti*. **Parasitology**, v. 108, p. 335-342, 1994.

NEVA, F. A. Biology and immunology of human strongyloidiasis. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 153, n. 3, p. 397-406, 1986.

NEVES, D. P. et al. **Parasitologia Humana**, 9.ed, São Paulo: Atheneu, 1995. 524p. p. 297-305.

NEWTON, R. C. et al. *Strongyloides stercoralis* hyperinfection in a carrier of HILV-1 virus with evidence of selective immunosuppression. **The American Journal of Medicine**, v. 92, p. 202-208, 1992.

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

NUCCI, M. et al. Strongyloidiasis in patients with hematologic malignancies. **Clinical Infectious Diseases**, v. 21, p. 675-677, 1995.

OKAZAKI, M. et al. Parasitological and serological studies on amoebiasis and other intestinal parasitic infections in Recife and its suburban area northeast Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 30, n. 4, p. 313- 321, 1988.

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

PEIXOTO, V. **Detecção de imunoglobulina M (IgM) pelo teste de imunofluorescência indireta no diagnóstico da estrogiloidíase humana**. Uberlândia: UFU, 1997, 41p. (Monografia apresentada no Curso de Ciências Biológicas).

PÊSSOA, S. B., MARTINS, A. V. **Parasitologia Médica**, 11.ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1982. 872p.

PETITHORY, J. C., DEROUIN, F. AIDS and strongyloidiasis in Africa. **The Lancet**, v. 18, p. 921, 1987.

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

PRAZERES, M. et al. Ocorrência de enteroparasitoses em escolares da Escola “Vilagram Cabrita”, Natal, RN. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, v. 27, n. 4, p. 121-122, 1995.

—✂ RAMACHANDRAN, S. et al. Recombinant cDNA clones for immunodiagnosis of strongyloidiasis. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 177, n. 1, p. 196-203, 1998.

REY, L. **Bases da parasitologia médica**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1992. 349p.

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

—▷ ROSSI, C. L. et al. Total serum IgE and parasite-specific IgG and IgA antibodies in human strongyloidiasis. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 35, n. 4, p. 361-365, 1993a.

—▷ ROSSI, C. L. et al. Avaliação de preparações antigênicas de *Strongyloides stercoralis* para o imunodiagnóstico da estrogiloidiase. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 26, n. 2, p. 83-87, 1993b.

ROTTERDAM, H. TSANG, P. Gastrointestinal disease in the immunocompromised patient. **Human Pathology**, v. 25, n. 11, p. 1123-1140, 1994.

→ SALAZAR, S. A., GUTIERREZ, C., BERK, S. L. Value of the agar plate method for the diagnosis of intestinal strongyloidiasis. **Diagnostic Microbiology and Infectious Diseases**, v. 23, n. 4, p. 141-145, 1995.

→ SAMMAN, M. A., HAQUE, S., LONG, J. D. Strongyloidiasis colitis: A case report and review of the literature. **Journal Clinical Gastroenterology**, v. 28, n. 1; p. 77-80, 1999.

SANDLUND, J. T., KAUFFMAN, W., FLYNN, P. M. *Strongyloides stercoralis* infection mimicking relapse in a child with small noncleaved cell lymphoma. **American Journal of Clinical Oncology**, v. 20, n. 2, p. 215-216, 1997.

SANTOS, D. S. **Ocorrência de parasitas e comensais intestinais em crianças residentes em bairros periféricos da cidade de Uberlândia, MG.**, Uberlândia: UFU, 1997, 43p. (Monografia apresentada no Curso de Ciências Biológicas).

→ SANTOS, J. I. , PADILHA FILHO, O. Baixa sensibilidade do método de cultura de larvas (Harada-Mori) no diagnóstico da estrogiloidíase. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v, 29, n. 1, p. 51-52, 1996.

SANTOS , M. A. Q. et al. Prevalência estimada de parasitas intestinais em escolares de creches e estabelecimentos de ensino em Goiânia. Goiás. **Revista Patologia Tropical**, v. 19, n. 1, p. 35-42, 1990.

SISBI/UFU
193767

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
BIBLIOTECA

- SATO, Y., KOBAYASHI, J., SHIROMA, Y. Serodiagnosis of strongyloidiasis. The application and significance. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 37, n. 1, p. 35-41, 1995.
- SATO, Y. et al. Efficacy of stool examination for detection of *Strongyloides* infection. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 53, n. 3, p. 248-250, 1995.
- SCHMITT, M. L., PAES, M. A. S. Prevalência de parasitoses intestinais em escolares no município de São Joaquim, SC. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, v. 29, n. 4, p. 215-216, 1997.
- SIDDIQUI, A. A. et al. *Strongyloides stercoralis*: identification of antigens in natural human infections from endemic areas of the United States. **Parasitology Research**, v. 83, p. 655-658, 1997.
- TAKAYANAGUI, O. M. et al. Detection of *Strongyloides stercoralis* in the cerebrospinal fluid of patient with acquired immunodeficiency syndrome. **Neurology**, v. 45, n. 1, p. 193-194, 1995.
- TARANTO, N. J., FILLIPPI, H. B., ORIONE, O. Prevalencia de la infección por *Strongyloides stercoralis* en la primera infancia. Orán, Salta, Argentina. **Boletín Chileno Parasitology**, v. 48, p. 49-51, 1993.

—/ TRIBOULEY-DURET, J. et al. Application de test ELISA au diagnostic de la strongyloidose. **Annales de Parasitologie Humaine et Comparer (Paris)**, v. 53, p.641-648, 1978.

VIEYRA-HERRERA, G. et al. *Strongyloides stercoralis* hyperinfection in a patient with the acquired immunodeficiency syndrome. **Acta Cytologica**, v. 32, n. 2, p. 277-278, 1988.

WILLCOX, H. P. , COURA, J. R. The efficiency of Lutz, Kato-Katz and Baermann-Moraes (adapted) techniques association to the diagnosis of intestinal helminths. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 86, n. 4, p. 457-460, 1991.

WONG, T. Y. H. et al. Nephrotic syndrome in strongyloidiasis: Remission after eradication with anthelmintic agents. **Nephron**, v. 79, p. 333-336, 1998.

ZINGANO, R. M. D. G. et al. Inquérito coprológico do município de Cruzeiro de Sul. **Boletim de Saúde**, Porto Alegre, v. 11, p. 45-48, 1994.

—/ ZYGMUNT, D. J. *Strongyloides stercoralis*. **Infection Control and Hospital Epidemiology**, v. 11, n. 9, p. 495-497, 1990.

10. ANEXOS

Anexo 1

TERMO DE CONSENTIMENTO

Eu _____

Doc. Nº _____ consinto na colheita de fezes e soro na criança

internada no Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia no leito
_____, sob minha responsabilidade legal, necessária à realização de pesquisa para o
diagnóstico parasitológico e imunológico de doenças parasitárias sob a Coordenação do
Prof. Dr. Elísio de Castro e Profª Drª Júlia Maria Costa- Cruz.

Assinatura do Responsável

Uberlândia, ____ de _____ de 19 ____.

Anexo 2

Detecção de anticorpos anti-parasitários em crianças internadas no Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia.

I - Identificação

Nome Completo: _____ Registro: _____
Data Nascimento: _____ Local: _____ Sexo: ☐ M ☐ F Idade: _____
Cor ☐ Leucodérmico ☐ Melanodérmico ☐ Farodérmico
Reside: Rua _____ Bairro _____
Cidade _____ Fone: _____ Desde: _____
Nome Pai: _____ Profissão _____
Nome Mãe: _____ Profissão _____
Data de internação: _____ Já houve outras internações _____

II - Dados Clínicos

Data do diagnóstico da imunodepressão _____
Data do diagnóstico da parasitose _____ Teve Teníase _____
Fez tratamento empírico da parasitose _____ Erros alimentares _____
Lesão de pele _____
Manifestações respiratórias: _____
Manifestações Digestivas _____
Manifestações de outros Órgãos: _____ Desidratação: _____
☐ Diarréia aguda ☐ Diarréia aguda prolongada ☐ Controle ☐ Febre ☐ Vômito ☐ Dor abdominal
☐ Desidratação ☐ Distensão Abdominal ☐ Astenia ☐ Cefaléia
☐ Comprometimento estado geral ☐ Sim ☐ Não ☐ Estado nutricional ☐ Eutrófica
☐ Desnutrição ☐ I ☐ II ☐ III ☐ Meteorismo
☐ Plenitude pós-prandial ☐ Pirose
Síndrome de má-absorção _____ Infecções secundárias _____

III - Dados Epidemiológicos

Tem antecedentes de Doença de Chagas _____ Quem? _____
Habitação: ☐ Urbana ☐ Rural Moradia: ☐ Casa ☐ Alvenaria ☐ Barraco ☐ Madeira ☐ Tapa ☐ Aptº
Nº de Pessoas residentes na moradia ☐
Mora em casa que tinha "barbeiro" _____
Água: ☐ Encanada ☐ Poço ☐ Outro: _____
Frequente: ☐ Creche ☐ Berçário ☐ Esc. Pública ☐ Outro: _____
Animais de Contato: ☐ Cão ☐ Gato ☐ Rato ☐ Aves ☐ Porco ☐ Gado ☐ Outros _____
Tem antecedentes de cisticercose _____

IV- Diagnóstico Laboratorial

Amostras /Fezes	1ª Data	2ª Data	3ª Data
Método de BM			
Método de HPJ			
Safrá- Azul Metileno			

Hemograma Data: _____ Data da Colheita: _____, _____, _____

Soro	<i>S. stercoralis</i>	Chagas	Cisticercose	
I.F.I.- G				
I.F.I.-M				

Preenchido por _____ Data: _____

Anexo 3

Identificação da idade, sexo, procedência e diagnóstico clínico das 68 crianças imunocompetentes internadas na Enfermaria de Pediatria do Hospital de Clínicas - UFU, MG, período de fevereiro de 1996 a junho de 1998

Caso	Sexo	Idade	Procedência	Diagnóstico Clínico
1	M	9m	Uberlândia	Toxoplasmose
2	F	1a2m	Prata	Meningite Bacteriana
3	F	1a9m	Patrocínio	Tuberculose
4	M	1a7m	Uberlândia	Pneumonia Aspirativa
5	F	1a5m	Uberlândia	Diarréia Aguda
6	M	10m	Uberlândia	Hernia Inguinal
7	F	5m	Araguari	Anemia Blackfan Deamond
8	F	5m	Tupaciguara	Meningite Bacteriana
9	M	12a	Uberlândia	Celulite e osteomielite em perna direita
10	M	3m	Abadia dos Dourados	Meningite Bacteriana
11	M	3a6m	Monte Carmelo	TBC Meningea e óssea (quadril)
12	M	1a2m	Uberlândia	Pneumonia Bacteriana
13	M	7a10m	Campo Verde	Meningite Meningocócica
14	M	9m	Uberlândia	Meningite Bacteriana
15	M	1a8m	Uberlândia	Pneumonia e anemia por ascaridíase
16	M	11a	Campo Verde	Acidente com arma de fogo
17	M	8m	Uberlândia	Hematoma
18	F	1a4m	Uberlândia	Meningite Bacteriana
19	F	4a	Uberlândia	Linfangioma
20	F	1a6m	Uberlândia	Pneumonia por <i>Streptococcus pneumoniae</i>
21	M	9a	Uberlândia	Colangite
22	F	5m	Uberlândia	Tuberculose
23	M	2a8m	Uberlândia	Pneumonia por <i>Haemophilus influenzae B</i>
24	M	1a11m	Santa Vitória	Pneumonia por <i>H. influenzae B</i>
25	F	6m	Araguari	Meningite Bacteriana
26	M	5m	Monte Carmelo	Septicemia por <i>Candida albicans</i>
27	M	2m	Uberlândia	Encefalopatia
28	M	4a10m	Uberlândia	Pneumonia por <i>H. influenzae B</i>
29	F	11m	Uberlândia	Hidrocefalia
30	M	10m	Uberlândia	Pneumonia, derrame pleural
31	M	10a2m	João Pinheiro	Cálculo vesical e ureteral
32	F	2m	Uberlândia	Pneumonia aspirativa
33	F	3a6m	Uberlândia	Genitália Ambígua
34	M	10m	Uberlândia	Pneumonia por <i>H. influenzae B</i>
35	F	1a6m	Uberlândia	Pneumonia por <i>H. influenzae B</i>
36	F	2a3m	Uberlândia	Alergia Medicamentosa
37	F	12a	Uberlândia	Fratura de Fêmur

38	M	8a	Cassilândia	Fratura de Fêmur
39	M	3a6m	Araguari	Hernia Umbilical
40	M	10a2m	Uberlândia	Fratura de Fêmur
41	F	3a6m	Prata	Osteomielite de úmero
42	F	10a	Uberlândia	Pneumonia, bronquite
43	F	10a	Cachoeira Alta	Refluxo Vesico-Ureteral
44	M	5a6m	Catalão	Hepatite A aguda
45	M	1a10m	Uberlândia	Mielomeningocele
46	M	6a8m	Araguari	Paracoccidiodomicose
47	F	5a	Uberlândia	Celulite em resolução
48	M	1a7m	Iturama	Meningite Bacteriana
49	F	5a	Uberlândia	Hernia Inguinal
50	M	11a	Uberlândia	Hepatite A
51	F	1a8m	Tupaciguara	Anemia Ferropriva
52	M	4m	Monte Carmelo	Estenose de Traquéia
53	F	2a	Cristalina	Obstrução Intestinal
54	M	6a	Catalão	Edema agudo de pulmão
55	M	10m	Uberlândia	Diarreia Aguda
56	F	1a	Uberlândia	Meningite Bacteriana
57	M	2a	Uberlândia	Pneumonia por <i>Staphylococcus</i>
58	M	11a	Uberlândia	Glomerulonefrite Difusa Aguda
59	M	10a	Uberlândia	Hipospadia
60	M	1a	Uberlândia	Hidrocefalia
61	M	11a	Uberlândia	Mielite Transversa
62	M	8a	Uberlândia	Obstrução ureteral
63	M	6a	Monte Alegre	Pólipo Retal
64	M	8a	Uberlândia	Hemangio Linfoglioma de língua
65	F	3a6m	Uberlândia	Pneumonia bacteriana
66	F	9a	Uberlândia	Refluxo Vesico-Ureteral
67	F	2a	Araxá	Atelectasia por corpo estranho
68	M	9a	Uberlândia	Doença de Fournier

a: anos; m: meses; M: masculino; F: feminino

Anexo 4

Identificação da idade, sexo, procedência e diagnóstico clínico das 83 crianças imunodeprimidas internadas na Enfermaria de Pediatria do Hospital de Clínicas - UFU, MG, período de fevereiro de 1996 a junho de 1998

Casos	Sexo	Idade	Procedência	Diagnóstico Clínico
1	F	2a5m	Canápolis	Neuroblastoma
2	M	7m	Patos de Minas	Desnutrição Protéica Calórica III grau
3	F	2a5m	Uberlândia	Leucemia Linfóide Aguda
4	F	11a	Capinópolis	Rabdomiossarcoma Maxilar
5	M	4a6m	Uberlândia	Rabdomiossarcoma Embrionário
6	F	3a4m	Itumbiara	Leucemia Linfóide Aguda
7	M	5a	Goiandira	Leucemia Linfóide Aguda
8	F	3a10m	Araguari	Aplasia Medular
9	F	7a	Uberlândia	Leucemia Linfóide Aguda
10	F	13a	Indianópolis	Leucemia Linfóide Aguda
11	F	6a2m	Araguari	Tumor Abdominal
12	F	3a	Uberlândia	Leucemia Linfóide Aguda
13	F	5m	Canápolis	Desnutrição Protéico Calórica III Grau
14	F	1a	Corumbáiba	Desnutrição Protéico Calórica III Grau
15	F	3a11m	Uberlândia	Desnutrição Protéico Calórica III Grau
16	M	10a	Capinópolis	Rabdomiossarcoma Embrionário
17	F	5a	Uberlândia	Ependimoma
18	M	12a	Patos de Minas	Leucemia Mielóide Aguda
19	M	9a	Patrocínio	Tumor de Wilms
20	F	4a	Prata	Tumor de Wilms
21	F	6a	Indianópolis	Leucemia Linfóide Aguda
22	F	2a	Uberlândia	Leucemia Linfóide Aguda
23	M	7a5m	Uberlândia	Leucemia Linfóide Aguda
24	M	3a1m	Itumbiara	Insuficiência Renal Crônica
25	M	3a6m	Uberlândia	Leucemia Linfóide Aguda
26	M	1a	Uberlândia	Síndrome Nefrótica
27	F	4a3m	Uberlândia	Aplasia Medular
28	M	13a	Monte Alegre	Transplante Renal
29	M	9a	Araguari	Tumor Cerebral
30	F	2a3m	Uberlândia	Leucemia Linfóide Aguda
31	F	10a	Uberlândia	Desnutrição Protéico Calórica III Grau
32	F	4a4m	Canápolis	Síndrome Nefrótica
33	M	10a2m	Uberlândia	Neoplasia Submandibular
34	F	1a7m	Uberlândia	Tumor de Wilms
35	M	2a	Prata	Leucemia Linfóide Aguda
36	F	3m	Araguari	Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV+)
37	F	3m	Araguari	Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV+)
38	M	13a	Uberlândia	Retinoblastoma
39	F	7a	Patrocínio	Insuficiência Renal Crônica

40	F	7a	Uberlândia	Leucemia Linfóide Aguda
41	F	4a	Canápolis	Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (AIDS)
42	F	8a3m	Caçu (GO)	Sarcoma de Ewing extra ósseo
43	M	2a	Uberlândia	Leucemia Linfóide Aguda
44	F	5m	Uberlândia	Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV+)
45	M	12a	Canápolis	Doença de Hodgkin
46	F	3a	Uberlândia	Leucemia Linfóide Aguda
47	F	1a10m	Uberlândia	Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV+)
48	F	9a	Uberlândia	Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (AIDS)
49	F	8a	Uberlândia	Leucemia Linfóide Aguda
50	F	3a8m	Patos de Minas	Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV+)
51	M	11m	Uberlândia	Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (AIDS)
52	M	11m	Araguari	Leucemia Linfóide Aguda
53	M	6m	Uberlândia	Linfoma não Hodgkin
54	M	4a	Uberlândia	Leucemia Linfóide Aguda
55	M	11a	Tupaciguara	Neoplasia Medular
56	M	6a	Uberlândia	Leucemia Linfóide Aguda
57	M	6a	Uberlândia	Leucemia Linfóide Aguda
58	F	4a	Araguari	Leucemia Linfóide Aguda
59	M	6a	Uberlândia	Leucemia Linfóide Aguda
60	M	7a	Uberlândia	Leucemia Linfóide Aguda
61	M	7a	Santa Vitória	Insuficiência Renal Crônica
62	F	5a	Capinópolis	Tumor de Fossa Nasal
63	F	1a	Uberlândia	Desnutrição Protéico Calórica III Grau
64	M	3a	Monte Alegre	Anemia Falciforme
65	F	6a	Uberlândia	Anemia Falciforme
66	M	8a	Uberlândia	Anemia Falciforme
67	M	2a	Patos de Minas	Diabete Mellitus tipo I
68	M	9a	Patrocínio	Febre Reumática
69	F	9a	Coromandel	Tumor de Wilms
70	F	7a6m	Uberlândia	Leucemia Linfóide Aguda
71	F	4a	Uberlândia	Leucemia Linfóide Aguda
72	F	8a	Uberlândia	Mucoviscidose
73	M	1a4m	Uberlândia	Desnutrição Protéico Calórica III Grau
74	M	9a10m	Monte Carmelo	Politraumatizado
75	F	11a4m	Uberlândia	Febre Reumática
76	M	5a8m	Araguari	Politraumatizado
77	M	7m	Indianópolis	Insuficiência Cardíaca Congênita
78	F	1a	Uberlândia	Desnutrição Protéico Calórica II Grau
79	M	1a3m	Uberlândia	Insuficiência Hepática
80	M	7m	Uberlândia	Desnutrição Protéico Calórica II Grau
81	F	7m	Uberlândia	Enterocolite necrotizante, acidose metabólica
82	M	5a8m	Uberlândia	Febre Reumática
83	F	8a	Indianópolis	Doença de Gaucher

a: anos; m: meses; M: masculino; F: feminino