

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
Instituto de Ciências Biomédicas
Programa de Pós-Graduação em Imunologia e
Parasitologia Aplicadas

**COMPARAÇÃO DAS VIAS DE ADMINISTRAÇÃO ORAL E SUBCUTÂNEA DE
PREDNISOLONA EM RATOS (*Rattus norvegicus* LINHAGEM WISTAR)
INFECTADOS POR *Strongyloides venezuelensis* PARA MODELO DE
IMUNOSSUPRESSÃO NA ESTRONGILOIDÍASE MURINA**

BRUNA PATRICIA DO COUTO

Uberlândia - MG
2019

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
Instituto de Ciências Biomédicas
Programa de Pós-Graduação em Imunologia e
Parasitologia Aplicadas

**COMPARAÇÃO DAS VIAS DE ADMINISTRAÇÃO ORAL E SUBCUTÂNEA DE
PREDNISOLONA EM RATOS (*Rattus norvegicus* LINHAGEM WISTAR)
INFECTADOS POR *Strongyloides venezuelensis* PARA MODELO DE
IMUNOSSUPRESSÃO NA ESTRONGILOIDÍASE MURINA**

Dissertação apresentada ao Colegiado do Programa de
Pós Graduação em Imunologia e Parasitologia Aplicadas,
como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre
em Imunologia e Parasitologia Aplicadas.

Bruna Patricia do Couto

Profa. Dra. Julia Maria Costa Cruz
Orientadora

Uberlândia - MG
2019

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

C871c
2019

Couto, Bruna Patricia do, 1992

Comparação das vias de administração oral e subcutânea de prednisolona em ratos (*Rattus norvegicus* linhagem Wistar) infectados por *Strongyloides venezuelensis* para modelo de imunossupressão na estrogiloidíase murina [recurso eletrônico] / Bruna Patricia do Couto. - 2019.

Orientadora: Julia Maria Costa-Cruz.

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

Modo de acesso: Internet.

Disponível em: <http://dx.doi.org/10.14393/ufu.di.2019.1308>

Inclui bibliografia.

Inclui ilustrações.

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

CDU: 612.017

Angela Aparecida Vicentini Tzi Tziboy – CRB-6/947



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



Programa de Pós-graduação em Imunologia e Parasitologia Aplicadas

Bruna Patricia do Couto

“Comparações das vias de administração oral e subcutânea de prednisolona em ratos (*Rattus norvegicus* linhagem *Wistar*) infectados por *Strongyloides venezuelensis* para modelo de imunossupressão na estrogiloidíase murina”

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

Área de concentração: Imunologia e Parasitologia Aplicadas.

Banca Examinadora:

Uberlândia, 22 de fevereiro de 2019.

Fabiana Martins de Paula

Profa. Dra. Fabiana Martins de Paula – USP

Bellisa de Freitas Barbosa

Profa. Dra. Bellisa de Freitas Barbosa – ICBIM/UFU

Julia Maria Costa Cruz

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

Dedicatória

À Deus,
Porque Ele me deu saúde, força, determinação durante todo esse tempo.

Aos meus pais,
Sônia e Remaclo pelo total apoio que sempre me deram nessa minha jornada acadêmica. Por sempre acreditar em mim e me apoiar em todas as minhas decisões. Pelas orações feitas e por todos os valores de humildade e determinação que sempre me proporcionaram. Sem vocês eu não conseguiria chegar aqui sozinha. Amo muito vocês. Obrigada por tudo.

A vida me ensinou a nunca desistir
Nem ganhar, nem perder mas procurar evoluir
Podem me tirar tudo que tenho
Só não podem me tirar as coisas boas que eu já fiz pra quem eu amo
E eu sou feliz e canto e o universo é uma canção
E eu vou que vou
História, nossas histórias
Dias de luta, dias de glória

Dias de luta, dias de glória
Charlie Brown Jr.

Agradecimentos

Primeiramente eu agradeço a Deus pela saúde e força que me deu para chegar até aqui, pois foram muitas as dificuldades e foi Ele que nunca me abandonou.

Aos meus pais Sônia e Remaclo que sempre batalharam juntamente comigo para eu conquistar meus sonhos. Sempre me apoiaram, nunca mediram esforços e sempre orando por mim. Foram e continuarão a ser a minha fortaleza.

Aos meus irmãos Guilherme e João Pedro, amo vocês. À toda a minha família que torceu por mim, tias (os), primas (os). Agradeço principalmente a minha avó Vitória. Obrigada vó por sempre lembrar de mim em todas as suas orações antes de dormir, eu acredito que já fui muito abençoada por isso. Meu muito obrigada!

À Profa. Dra. Julia Maria Costa Cruz por ter aceitado ser minha orientadora por esses dois anos. Obrigada por todo ensinamento, toda a paciência que a senhora teve. Eu posso dizer que aprendi muito com o seu profissionalismo. Muito obrigada por tudo!

A toda equipe do Laboratório de Diagnóstico de Parasitoses, Edson, Luisa, Gabriela, Guilherme, Vanessa e por aqueles que já saíram Eduardo, Camila e Henrique que se tornaram companheiros e amigos, sempre apoiando um ao outro. Em especial quero agradecer a Luisa, Eduardo e o Edson pelo apoio e companheirismo nos experimentos durante esse período.

Agradeço a Iara por ser minha amiga e fiel companheira. Nunca me deixou desistir pois sempre me deu palavras de conforto e força. Sempre me entendeu, me ajudou em tudo o que precisei. Muito obrigada por tudo!

Aos funcionários do setor de Parasitologia Vanessa, Juliana e Elaine.

Aos professores e secretárias do PPIPA pelos ensinamentos, disponibilidade e atenção.

Aos membros da banca Dr^a. Fabiana Martins de Paula, Dr^a Bellisa de Freitas Barbosa e Dr^a Ester Cristina Borges Araújo por aceitarem avaliar esse estudo e contribuir para melhorá-lo. Muito obrigada.

À CNPq, CAPES e FAPEMIG pelo apoio financeiro.

Obrigada à todos que não foram citados aqui mas que contribuíram direta ou indiretamente com essa dissertação.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Ciclo biológico de <i>Strongyloides stercoralis</i>	17
Figura 2: Prevalência global de <i>Strongyloides stercoralis</i>	19
Figura 3: Formula estrutural 2D de prednisolona.....	25
Figura 4: Formula estrutural 2D de metilprednisolona.....	26
Figura 5: Representação esquemática do procedimento experimental.....	31
Figura 6: Peso corporal de ratos Wistar machos nos dias -5, 0, 8, 13, 21 e 30 d.p.i....	38
Figura 7: Curva de sobrevivência dos animais controles, tratados via oral e via subcutânea ao longo do experimento.....	39
Figura 8: Contagem global de leucócitos por mm ³ de sangue realizada em ratos Wistar machos nos dias 0, 8, 13, 21 e 30 d.p.i.....	40
Figura 9: Porcentagem de linfócitos por mm ³ de sangue realizada em ratos Wistar machos nos dias 0, 8, 13, 21 e 30 d.p.i.....	41
Figura 10: Porcentagem de neutrófilos por mm ³ de sangue realizada em ratos Wistar machos nos dias 0, 8, 13, 21 e 30 d.p.i.....	43
Figura 11: Contagem de ovos por grama de fezes de ratos infectados experimentalmente com <i>S. venezuelensis</i>	44
Figura 12: Análise de OPG acumulada de ratos infectados experimentalmente com <i>S. venezuelensis</i>	45

Figura 13: Carga de fêmeas parasitas recuperadas dos intestinos de ratos infectados experimentalmente com *S. venezuelensis*.....46

Figura 14: Cinética de ELISA de detecção de anticorpos IgG (a), IgG1 (b) e IgG2a (c) em pool de amostras de soro de ratos Wistar.....47

RESUMO

Um modelo de estudo utilizado para a estrogiloidíase humana é o nematoide *Strongyloides venezuelensis*, que infecta roedores silvestres compartilha epítomos antigênicos comuns com *Strongyloides stercoralis*. O objetivo deste estudo foi comparar a administração oral e subcutânea de prednisolona na indução de imunossupressão em ratos (*Rattus norvegicus*) infectados por *S. venezuelensis*. Os ratos foram divididos em seis grupos (n = 36): G I: não tratado e não infectado; G II: não tratado e infectado; G III: tratado via oral e não infectado; G IV: tratado via oral e infectado; G V: tratado via subcutânea e não infectado; G VI: tratado via subcutânea e infectado. Para o tratamento via oral, 5 mg / mL de prednisolona (formulação oral disponível: fosfato sódico de prednisolona) diluída em água esterilizada foi disponibilizada para os animais três vezes por cinco dias consecutivos (-5 a 0, 8 a 13 e 21 a 26). Para o tratamento via subcutânea, 10 mg/mL/kg de prednisolona (formulação subcutânea disponível: acetato de metilprednisolona) foram administrados diariamente por 30 dias. A infecção foi estabelecida pela injeção subcutânea de 3.000 larvas filarioides por animal. Os grupos foram avaliados por parâmetros físicos, hematológicos, parasitológicos e imunológicos. Os animais foram pesados nos dias -5 (G I, G II, G III e G IV), 0, 8, 13, 21 e 30 (todos os grupos). Uma curva de sobrevivência dos animais foi feita ao longo do tratamento. Amostras de sangue foram coletadas nos dias 0, 8, 13, 21 e 30 para realizar a contagem global e diferencial de leucócitos, e foram obtidas amostras de soro para a detecção de anticorpos IgG, IgG1 e IgG2a anti-*Strongyloides*. Nos dias 5, 7, 8, 13, 21, 26 e 30 foram coletados ovos dos animais infectados para a quantificação parasitária. No dia 30 foram recuperadas fêmeas parasitas dos grupos de animais infectados. Os resultados dos parâmetros físicos mostraram que os animais tratados via subcutânea não mostraram ganho de peso, ao contrário dos tratados via oral. Do total de 6 animais de cada grupo, sobreviveram somente cinco animais do grupo controle G I e oral G III, três do grupo subcutâneo G V e dois do G VI. A análise hematológica mostrou diminuição de leucócitos e linfócitos, e aumento de neutrófilos nos animais tratados via subcutânea. Animais tratados via oral mostraram nos dias 13, 21 e 30 diminuição na contagem de leucócitos, mas linfócitos e neutrófilos permaneceram inalterados. Não houve alteração de eosinófilos, monócitos e basófilos nos grupos controles e nem nos grupos tratados. Pela análise parasitológica, observou-se que a maior eliminação de ovos ocorreu nos animais do grupo tratado via oral, tendo seus picos nos dias 7, 13, 26 e 30 em relação ao controle. Houve mais fêmeas recuperadas dos animais do grupo tratado via oral. A análise imunológica mostrou que não houve produção de IgG, IgG1 e IgG2a nos animais do grupo imunossuprimidos via subcutânea. Pode-se concluir que o tratamento com prednisolona administrada via oral e via subcutânea foi capaz de produzir efeitos supressores em animais infectados ou não com *S. venezuelensis*. A imunossupressão pela via oral atua diretamente no parasito provocando maior eliminação de ovos e aumento no número de fêmeas parasitas. A imunossupressão pela via subcutânea modula o sistema imune do hospedeiro, podendo ser observada por meio da contagem global e diferencial de leucócitos e pela resposta humoral diminuída.

Palavras chaves: Imunossupressão, prednisolona, via oral, via subcutânea, *Strongyloides venezuelensis*, estrogiloidíase.

ABSTRACT

Comparison of oral and subcutaneous administration routes of prednisolone in rats (*Rattus norvegicus* Wistar lineage) infected by *Strongyloides venezuelensis* for immunosuppression model in murine strongyloidiasis

A study model used for human strongyloidiasis is the *Strongyloides venezuelensis* nematode, which infects wild rodents and shares common antigenic epitopes with *Strongyloides stercoralis*. This study aimed to compare oral and subcutaneous administration of prednisolone in the induction of immunosuppression in rats (*Rattus norvegicus*) infected with *S. venezuelensis*. The rats were divided into six groups (n=36): G I: untreated and uninfected; G II: untreated and infected; G III: oral treatment and uninfected; G IV: oral treatment and infected; G V: subcutaneous treatment and uninfected; G VI: subcutaneous treatment and infected. For oral treatments, 5 mg/mL of sterilized water-diluted prednisolone (available oral formulation: prednisolone sodium phosphate) was made available to the animals three times for five consecutive days (-5 to 0, 8 to 13 and 21 to 26). For subcutaneous treatments, 10 mg/mL/kg of prednisolone (available subcutaneous formulation: methylprednisolone acetate) were given daily per 30 days. The infection was established by the subcutaneous injection of 3.000 filarioid larvae per animal. The groups were evaluated by physical, hematological, parasitological and immunological parameters. The animals were weighed on days -5 (G I, G II, G III and G IV), 0, 8, 13, 21 and 30 (all groups). A survival curve of the animals was made throughout the treatment. Blood samples were collected on days 0, 8, 13, 21 and 30 to perform global and differential leukocyte count and serum samples were obtained for detection of anti-*Strongyloides* IgG, IgG1 and IgG2a antibodies. On days 5, 7, 8, 13, 21, 26 and 30 eggs were collected from infected animals for parasite quantification. On day 30, parasitic females were recovered from the groups of infected animals. The results of the physical parameters showed that the animals treatments via subcutaneous did not showed weight gain, unlike those treated via oral. Out of the total of 6 animals from each group, only five animals from the control group G I and oral G III survived, three from the subcutaneous group G V and two from the G VI group. Hematologic analysis showed decrease of leukocytes and lymphocytes, and increase of neutrophils in animals treated via subcutaneous. Animals treated orally showed on days 13, 21 and 30 decrease in leukocyte count, but lymphocytes and neutrophils remained unchanged. There were no changes in eosinophils, monocytes and basophils in the control groups or in the treated groups. By the parasitological analysis, it was observed that the higher egg elimination was observed in the animals of the group treated orally, having their peaks on days 7, 13, 26 and 30 in relation to the control. There were more females recovered from the animals of the group treated orally. Immunological analysis showed that there was not production of IgG, IgG1 and IgG2a in immunosuppressed animals by subcutaneous route. It can be concluded that treatment with prednisolone administered by route oral and subcutaneous was able to produce suppressive effects in animals infected or not with *S. venezuelensis*. Immunosuppression by the oral route acts directly on the parasite causing greater elimination of eggs and increase in the number of parasitic females. Immunosuppression by the subcutaneous route modulates the immune system of the host, and can be observed by global and differential leukocyte count and decreased humoral response.

Keywords: Immunosuppression, prednisolone, oral route, subcutaneous route *Strongyloides venezuelensis*, strongyloidiasis.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	13
1.1 Aspectos morfológicos do gênero <i>Strongyloides</i>	14
1.2 Ciclo biológico e modo de transmissão de <i>S. stercoralis</i>	15
1.3 Epidemiologia da estrongiloidíase.....	17
1.4 Aspectos clínicos da estrongiloidíase humana.....	19
1.5 Aspectos imunológicos na estrongiloidíase humana.....	21
1.6 Modelo experimental no estudo da estrongiloidíase.....	23
1.7 Imunossupressão com prednisolona.....	24
2. OBJETIVOS	29
2.1 Objetivo geral	29
2.2 Objetivos específicos.....	29
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	30
3.1 Aspectos éticos	30
3.2 Animais.....	30
3.3. Delineamento experimental	31
3.4 Infecção por <i>Strongyloides venezuelensis</i>	31
3.5 Imunossupressão com prednisolona.....	32
3.6 Avaliação de peso corporal e análise de sobrevivência.....	32
3.7 Coleta de sangue e obtenção de soro.....	32
3.8 Contagem global e diferencial de leucócitos.....	33
3.9 Contagem de ovos por grama de fezes (OPG) e OPG acumulada.....	33
3.10 Contagem de fêmeas parasitas.....	34
3.11 ELISA indireto para detecção de anticorpos IgG, IgG1 e IgG2a no soro.....	34
3.12 Análises estatísticas.....	35
3.13 Normas de biossegurança.....	36
4. RESULTADOS.....	37
4.1 Análise de parâmetros físicos.....	37
4.1.1 O tratamento com prednisolona administrado via subcutânea (infectado ou não com <i>S. venezuelensis</i>) não alterou o peso dos animais ao longo dos dias.....	37

4.1.2 A taxa de sobrevivência foi menor nos animais dos grupos tratados via subcutânea (infectado ou não com <i>S. venezuelensis</i>).....	38
4.2 Análise hematológica.....	39
4.2.1 Diminuição na contagem global de leucócitos nos grupos de animais tratados via subcutânea (infectado ou não com <i>S. venezuelensis</i>	39
4.2.2 Diminuição na contagem de linfócitos nos grupos de animais tratados via subcutânea (infectado ou não com <i>S. venezuelensis</i>).....	40
4.2.3 Aumento na contagem de neutrófilos nos grupos de animais tratados via subcutânea (infectado ou não com <i>S. venezuelensis</i>).....	42
4.3 Análise parasitológica.....	43
4.3.1 O tratamento com prednisolona administrado via oral no grupo de animais infectados com <i>S. venezuelensis</i> provocou uma maior eliminação de ovos ...	43
4.3.2 O tratamento com prednisolona administrado via oral no grupo de animais infectados com <i>S. venezuelensis</i> provocou um aumento no número de fêmeas parasitas no intestino	45
4.4 Análise imunológica.....	46
4.4.1 Houve produção de IgG, IgG1 e IgG2a somente no grupo controle positivo G II e oral positivo G IV.....	46
5. DISCUSSÃO	48
6. CONCLUSÕES.....	53
7. REFERÊNCIAS.....	54

1. INTRODUÇÃO

Há uma luta constante entre os humanos e os parasitos nematoides. Sabe-se que há mais de 100 espécies de parasitos nematoides que podem infectar o ser humano (MARTIN, 2018). Além disso, 1,5 bilhão de pessoas são infectadas por helmintos transmitidos pelo solo (HTS) em todo o mundo, causando um total anual de 5 milhões de anos de vida ajustado por incapacidade (DALY) (PULLAN et al., 2014).

Strongyloides stercoralis é um nematoide intestinal que causa a estrongiloidíase humana, principalmente em regiões tropicais e subtropicais, com prevalência de infecção de 10-40% (CAMPO-POLANCO et al., 2018; GREENBERG; GREENBERG; HELMSTETTER, 2018). A estrongiloidíase atinge 30-100 milhões de pessoas em todo o mundo, mas a prevalência parece ser subestimada devido a técnicas de diagnóstico de sensibilidade inadequada ou baixa (TOLEDO; MUÑOZ-ANTOLI; ESTEBAN, 2015; GORGANI-FIROUZJAEI et al., 2018).

Os nematódeos do gênero *Strongyloides* pertencem ao reino Animalia, sub-reino Metazoa, Filo Nematoda, Classe Secernentea, ordem Rhabditida, família Strongyloididae (REY, 2001). O gênero apresenta 52 espécies mas atualmente somente duas delas são descritas como infectantes para o homem, *S. stercoralis* e *Strongyloides fuelleborni* (COSTA-CRUZ, 2016), sendo que a última espécie tem sido encontrada esporadicamente na África e Papua Nova Guiné (PUTHIYAKUNNON et al., 2014).

As apresentações clínicas da estrongiloidíase variam devido a interações complexas entre o hospedeiro e o parasito, o que, por sua vez, depende da natureza imunológica do hospedeiro (TOLEDO; MUÑOZ-ANTOLI; ESTEBAN, 2015). Características únicas deste parasito são sua alta capacidade de persistir e replicar dentro do hospedeiro por décadas produzindo sintomas mínimos ou inexistentes (HOPPENFELD et al., 2018). Além disso, esse parasito possui o potencial para causar infecções fatais por hiperinfecção e disseminação em pacientes debilitados e imunocomprometidos (KOSMADAKIS et al., 2010; MARCOS et al., 2011; PUTHIYAKUNNON et al., 2014).

A infecção por *S. stercoralis* normalmente é autolimitada e de baixa morbidade em indivíduos imunocompetentes. No entanto ela se torna grave em indivíduos imunossuprimidos ou imunocomprometidos, incluindo receptores de transplantes de

órgãos, pacientes com vírus da imunodeficiência humana (HIV) (GUILLAMET et al., 2017), co-infectados com vírus linfotrópico de células T tipo 1 (HTLV-1), neoplasias hematológicas, doença renal crônica (QU et al., 2016), alcoolistas crônicos (TEIXEIRA et al., 2016; GONÇALVES et al., 2018), indivíduos que receberam terapia com corticosteroides (TOLEDO; MUÑOZ-ANTOLI; ESTEBAN, 2015), entre outras condições (MARCOS et al., 2008; MOBLEY; DHALA; GHOBRIAL, 2017).

Strongyloides venezuelensis é um parasito de roedores que tem sido utilizado como modelo animal para a investigação da estrongiloidíase humana (VINEY; KIKUCHI, 2017). A manutenção da infecção em laboratório é feita por injeção subcutânea da larva filarioide infectante (L3) de *S. venezuelensis* em ratos Wistar que se completa dentro de 10 a 20 minutos (VINEY; KIKUCHI, 2017). Uma vez organismo, a L3 migra por via pulmonar antes de penetrar na mucosa duodenal, semelhante ao ciclo de *S. stercoralis* (CHAVES et al, 2015; BRELOER; ABRAHAM, 2016; VINEY; KIKUCHI, 2017).

A prednisolona pertence à classe dos glicocorticoides de potentes fármacos anti-inflamatórios amplamente utilizados no tratamento de várias doenças, como a artrite reumatoide, asma e alguns linfomas (AYYAR et al., 2017). O uso de glicocorticoides está associado ao aumento do risco de hiperinfecção e disseminação da estrongiloidíase. Portanto, uma boa triagem e tratamento são necessários, uma vez que a taxa de mortalidade nesses pacientes pode atingir cerca de 87% (MARCOS et al., 2008; MOBLEY; DHALA; GHOBRIAL, 2017).

1.1 Aspectos morfológicos do gênero *Strongyloides*

O gênero *Strongyloides* possui um ciclo bastante complexo com aspectos morfológicos que variam de acordo com as diversas formas evolutivas existentes. As fêmeas partenogenéticas são parasitas, medem aproximadamente 2 mm de comprimento. Apresenta cutícula fina e transparente, aparelho digestivo simples, esôfago longo do tipo filariforme. O aparelho genital, com útero em disposição anfídelfa, apresenta ovários, ovidutos e a vulva. A fêmea pode viver até cinco anos no intestino, produzindo de 30 a 40 ovos por partenogênese. Também é ovovivípara pois elimina ovo larvado na mucosa intestinal do qual eclode a larva rabditoide, que é a

forma evolutiva encontrada nas fezes do hospedeiro (GROVE, 1996; VINEY; LOCK, 2015; COSTA-CRUZ, 2016).

As fêmeas de vida livre medem aproximadamente 1 mm de comprimento, possuem aspecto fusiforme, com cutícula fina e transparente. O aparelho digestivo é simples, com esôfago rabditoide. O aparelho genital é constituído de útero anfidelfo, contendo até 28 ovos, ovários, ovidutos e a vulva que está localizada na região mediana do corpo. Os machos de vida livre possuem aproximadamente 0,7 mm de comprimento, aspecto fusiforme, com extremidade anterior arredondada e posterior recurvada ventralmente. O sistema reprodutor é composto pelos testículos, vesícula seminal, canal deferente e canal ejaculador que se abre na cloaca. Apresenta dois espiráculos que auxiliam na cópula, que se deslocam sustentados por uma estrutura chamada gubernáculo (GROVE, 1996; VINEY; LOCK, 2015; COSTA-CRUZ, 2016).

Os ovos são elípticos, de parede fina e transparente. Os ovos originários das fêmeas parasitas medem 0,05 mm de comprimento por 0,03 mm de largura, enquanto os das fêmeas de vida livre medem 0,07 mm de comprimento por 0,04 mm de largura. Raramente, os ovos são vistos em fezes de indivíduos, com exceção nos casos de diarreia grave ou após utilizar laxantes (TOLEDO; MUÑOZ-ANTOLI; ESTEBAN, 2015; COSTA-CRUZ, 2016).

As larvas rabditoides (L1 e L2) são as formas do parasito encontradas nas fezes ou em fluidos intestinais. Elas medem cerca de 0,3 mm de comprimento, apresenta esôfago do tipo rabditoide e cutícula fina e hialina. Possui vestíbulo bucal curto, o intestino termina em ânus, apresenta primórdio genital nítido e uma cauda pontiaguda. As larvas filarioides (L3) são a forma infectante. Mede aproximadamente 0,5 mm de comprimento, apresenta esôfago do tipo filarioide, cutícula fina e hialina. Possui vestíbulo bucal curto, intestino terminando em ânus e cauda entalhada (GROVE, 1996; TOLEDO; MUÑOZ-ANTOLI; ESTEBAN, 2015; COSTA-CRUZ, 2016).

1.2 Ciclo biológico e modo de transmissão de *S. stercoralis*

O ciclo de vida de *S. stercoralis* é complexo (Figura 1), possuindo uma alternância entre o ciclo direto partenogenético (ou assexuado) e o ciclo de vida livre denominado indireto (ou sexuado), além do potencial para autoinfecção e

multiplicação dentro do hospedeiro por anos (TOLEDO; MUÑOZ-ANTOLI; ESTEBAN, 2015; BUONFRATE et al., 2015; COSTA CRUZ, 2016).

Os ciclos direto e indireto se completam pela penetração ativa das larvas L3 na pele ou mucosa oral, esofágica ou gástrica do hospedeiro. (ERICSSON et al., 2001, BEKNAZAROVA; WHILEY; ROSS, 2016; COSTA-CRUZ, 2016). Uma vez no organismo humano, as larvas migram pelo sistema linfático e vênulas, chegam no coração, e na circulação pulmonar onde se transformam em L4. Em seguida, atravessam a membrana alveolar e, por meio da migração pela árvore brônquica, chegam a faringe onde são deglutidas atingindo assim o intestino e se transformando em fêmeas partenogenéticas. Essas fêmeas são ovovivíparas pois liberam ovos que são depositados na mucosa intestinal e assim que adquirem a maturidade, as larvas L1 eclodem do ovo e migram para o intestino grosso e transformando-se em L2. As larvas L1 ou L2 são observadas nas fezes do hospedeiro, mas na forma disseminada da infecção, também podem ser encontradas em outros fluidos biológicos (BUONFRATE et al., 2015; COSTA-CRUZ, 2016; VINEY, 2017; HOPPENFELD et al., 2018; JOURDAN et al., 2018; MARTIN, 2018).

Uma vez que as larvas se encontram no meio ambiente, elas podem seguir o ciclo direto ou o indireto. No ciclo direto, após 24 a 72 horas as larvas rabditoides que estão no solo se transformam em L3, enquanto que no ciclo indireto entre 18 a 24 horas as larvas rabditoides sofrem transformações e produzem fêmeas e machos de vida livre, que vão se acasalar produzindo ovos e as larvas rabditoides evoluem para larvas filarioides infectantes. Ambos os ciclos se completam pela penetração ativa da larva L3 no hospedeiro (COSTA-CRUZ, 2016).

O ciclo de autoinfecção ocorre quando a larva rabditoide que está na luz intestinal se desenvolve em L3 ocorrendo a reinfecção do indivíduo, causando infecções crônicas e duradouras. Essas larvas filarioides podem penetrar na mucosa do cólon ou do intestino delgado, causando a autoinfecção interna ou penetrar na pele perianal e causar a autoinfecção externa. Casos recorrentes de autoinfecção pode levar o indivíduo a uma hiperinfecção que é o aumento do número de parasitos no intestino e pulmão, ou uma disseminação de larvas para vários tecidos e órgãos do hospedeiro, podendo ser fatal (PUTHIYAKUNNON et al., 2014; COSTA-CRUZ, 2016; VINEY, 2017; HOPPENFELD et al., 2018; JOURDAN et al., 2018; MARTIN, 2018).

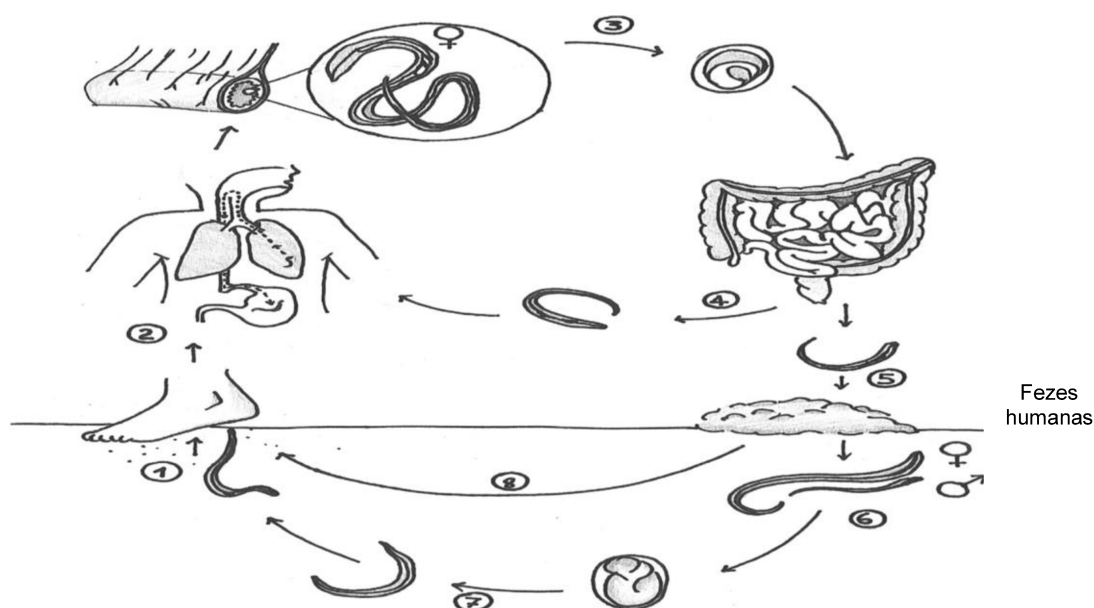


Figura 1: Ciclo biológico de *Strongyloides stercoralis* (Adaptado de: BUONFRATE et al., 2015), onde de 1 a 5 é o ciclo direto e de 6 a 8 ciclo indireto. (1) penetração da larva L3 na pele do hospedeiro; (2) migração das larvas pelo sistema linfático e vênulas, chegando no coração, circulação pulmonar e no intestino; (3) liberação de ovos pelas fêmeas partenogenéticas no intestino; (4) ciclo de autoinfecção; (5) larvas L1 ou L2 liberadas nas fezes; (6) macho e fêmea de vida livre; (7) eclosão de larvas dos ovos no ambiente; (8) penetração da larva L3 na pele do hospedeiro.

1.3 Epidemiologia da estrongiloidíase

Infecções por HTS são mais comuns em pessoas que vivem ou são provenientes de áreas sem acesso a água tratada, saneamento e condições de higiene inadequadas (WHO, 2015). Além da prevalência em países de baixa e média renda, há presença de HTS em populações mais vulneráveis em países de alta renda (JOURDAN et al., 2018).

Informação epidemiológica sobre a prevalência da estrongiloidíase é relativamente escassa e a doença é subestimada devido à variabilidade na distribuição da doença entre os países, número limitado de estudos, uso de técnicas de diagnóstico de baixa sensibilidade, além da intermitente e baixa eliminação de larvas nas fezes, fazendo com que em muitas regiões a prevalência da doença permaneça sem informação (COSTA-CRUZ, 2016; GORGANI-FIROUZJAEI et al., 2018; JOURDAN et al., 2018).

Strongyloides stercoralis infecta aproximadamente entre 30-100 milhões pessoas em todo o mundo (Figura 2) (JOURDAN et al., 2018; KHADKA et al., 2018;

MARTIN, 2018). A prevalência da estrogiloidíase é dividida em três categorias: esporádica (<1%), endêmica (1-5%) e hiperendêmica (>5%) (PIRES; DREYER, 1993). Em países tropicais e subtropicais a prevalência é maior, chegando a taxas de 10-40% da população infectada. Essa taxa pode subir para 60% em países com poucos recursos, com cenários ecológicos e socioeconômicos propícios à disseminação de *S. stercoralis* (SCHÄR et al., 2013). O Brasil e a Tailândia têm os estudos mais reformulados sobre a prevalência da estrogiloidíase, com prevalência de 13% e 23,7%, respectivamente (SCHÄR et al., 2013). A doença no Japão tem prevalência de 5,2% e na China com 11,7% (ARIFIN et al., 2018). Na Austrália, a estrogiloidíase tem uma prevalência variando de 35-60% porém uma redução significativa na soropositividade de 21 a 5% foi relatada recentemente em uma comunidade após tratamento em massa da população com ivermectina (JOHNSTON et al., 2015; KEARNS et al., 2017). Dados da América do Norte e Europa são baseados em imigrantes, refugiados e viajantes (ARIFIN et al., 2018). No Canadá, a taxa de prevalência é de 9-77%, enquanto na Espanha a estrogiloidíase é detectada em 17,2% dos migrantes africanos (ARIFIN et al., 2018).

Fatores como solo úmido, quente e enriquecido com nutrientes são condições favoráveis para a sobrevivência de larvas de *S. stercoralis* com potencial para infectar um hospedeiro humano. Os fatores que influenciam o desenvolvimento direto ou indireto de larvas L3 são pouco conhecidos, mas estudos indicam que as larvas não podem sobreviver a temperaturas abaixo de 8 °C ou acima de 40 °C (BEKNAZAROVA; WHILEY; ROSS, 2016).

O aumento recente na prevalência global de *S. stercoralis* é atribuída ao saneamento inadequado, segurança inadequada das fontes de água em ambientes endêmicos, aumento de viagens internacionais e riscos de procedimentos de transplantes em países tropicais (PUTHIYAKUNNON et al., 2014; ARIFIN et al., 2018; JOURDAN et al., 2018).

Os principais grupos de risco para a estrogiloidíase são imigrantes e viajantes, ex-veteranos de guerra, refugiados, pessoas que trabalham com o solo, bem como pessoas imunocomprometidas que fazem terapia com corticosteroide por muito tempo, com linfoma, receptores de transplante de aloenxerto, infecção pelo HTLV-1 e alcoólatras (SCHÄR et al., 2013; PUTHIYAKUNNON et al., 2014; BEKNAZAROVA; WHILEY; ROSS, 2016; JOURDAN et al., 2018).

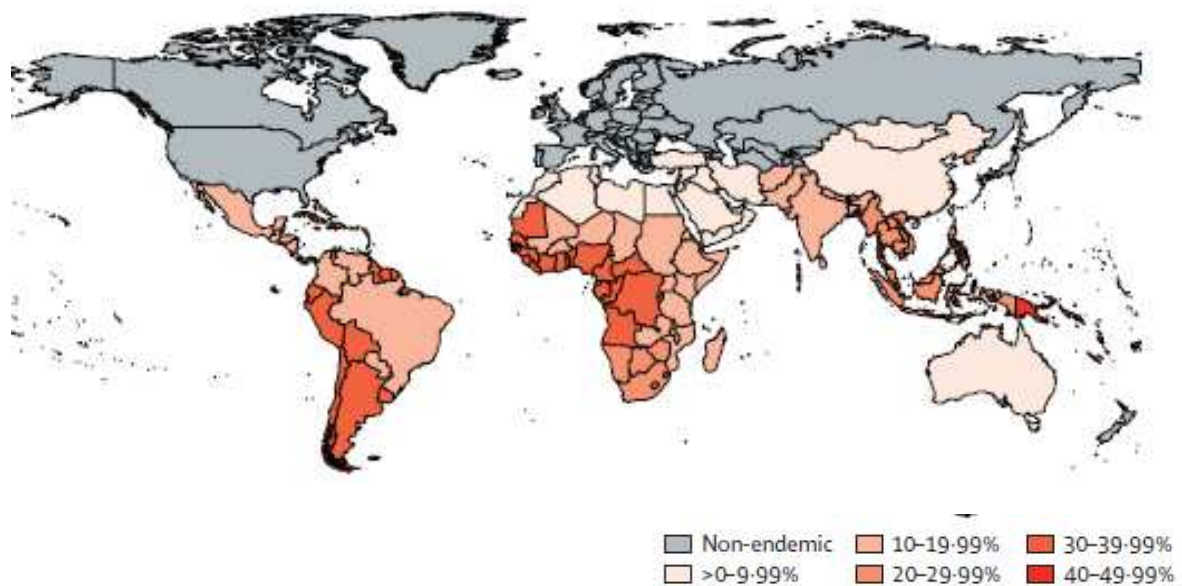


Figura 2: Prevalência global de *Strongyloides stercoralis* (JOURDAN et al., 2018).

1.4 Aspectos clínicos da estrongiloidíase humana

A infecção por *S. stercoralis* é determinada pela interação entre o parasito e o hospedeiro, uma vez que o tempo de sobrevivência dele no hospedeiro é dependente dos diversos mecanismos de evasão do sistema imune (COSTA-CRUZ, 2016). Em indivíduos imunocompetentes, a infecção é comumente assintomática (JOURDAN et al., 2018).

Durante a fase aguda da infecção, os sintomas incluem vagas manifestações cutâneas, pulmonares e gastrointestinais (HOPPENFELD et al., 2018). As manifestações cutâneas geralmente são discretas e ocorrem nos pontos de penetração das larvas infectantes, tanto na pele como nas mucosas. Em casos de reinfecção, há reação de hipersensibilidade com formação de edema, prurido, eritema, pápulas hemorrágicas e urticárias. Em razão da disseminação das larvas, observa-se a migração única ou múltipla das larvas filarioides no tecido subcutâneo, chamado de *larva currens* (COSTA-CRUZ, 2016). A *larva currens* é comum na infecção crônica e se apresenta como urticária serpiginosa com prurido, geralmente no abdome, tronco, nádegas, coxas e virilha. As lesões persistem por alguns dias e pode voltar a ocorrer semanas a meses mais tarde (COSTA-CRUZ, 2016; JOURDAN et al., 2018).

A migração pulmonar das larvas é caracterizada por tosse com ou sem expectoração, febre, dispneia, sibilância e hemoptise. A travessia das larvas dos capilares para os alvéolos provoca hemorragia, infiltrado inflamatório constituído de linfócitos e eosinófilos e em casos mais graves pode provocar broncopneumonia, síndrome de Löffler, edema pulmonar e insuficiência respiratória (COSTA-CRUZ, 2016; JOURDAN et al., 2018).

As manifestações gastrointestinais da infecção são diversas e podem incluir sintomas inespecíficos como náuseas, vômitos, diarreia, dor abdominal, perda de peso, inchaço, flatulência e menos comumente duodenite, enterocolite, má absorção, ulceração e hemorragia (GREENBERG; GREENBERG; HELMSTETTER, 2018).

O desenvolvimento ou exacerbação de sintomas gastrointestinais e pulmonares e a detecção de aumento do número de larvas nas fezes e / ou expectoração é a marca de hiperinfecção. O diagnóstico da hiperinfecção implica a presença de sinais e sintomas atribuíveis ao aumento da migração larval (KEISER; NUTMAN, 2004). Vários fatores podem aumentar o risco de infecção por *S. stercoralis*, causando uma hiperinfecção. O risco de infecção em pacientes com HIV/Síndrome de Imunodeficiência Adquirida (AIDS) foi duas vezes maior que o risco para os indivíduos sem HIV/AIDS (SCHÄR et al., 2013). Indivíduos alcoolistas também apresentam risco, pois a ingestão regular de etanol modula a resposta imune, tornando a sobrevivência e a reprodução das larvas mais fácil (SCHÄR et al., 2013; TOLEDO; MUÑOZ-ANTOLI; ESTEBAN, 2015). Indivíduos imunossuprimidos como os transplantados por órgãos, infectados por HTLV, pacientes com câncer, e aqueles que fazem uso de corticoides também são acometidos pela hiperinfecção (MARCOS et al., 2008; ROXBY; GOTTLIEB; LIMAVE, 2009; BON et al., 2010; FELICIANO et al., 2016).

Ocasionalmente a hiperinfecção pode levar à estrogiloidíase disseminada, onde as larvas atingem locais distantes, como o sistema nervoso central, fígado, rins, vesícula biliar, coração, pâncreas dentre outros órgãos. Casos de disseminação das larvas são observados em pacientes imunocomprometidos cujo caso pode agravar e resultar em septicemia, uma vez que as larvas transportam, em seu tegumento, as bactérias para a circulação sanguínea. Os sintomas podem ser dor abdominal, vômito, diarreia intensa, pneumonia hemorrágica, insuficiência respiratória culminando em óbito (COSTA-CRUZ, 2016; HOPPENFELD et al., 2018).

1.5 Aspectos imunológicos na estrogiloidíase humana

A resposta imune desempenha papel importante no curso da estrogiloidíase humana, porém é limitada devido à dificuldade de realizar a investigação com o parasito, uma vez que apenas humanos, primatas e cães são suscetíveis à infecção (TOLEDO; MUÑOZ-ANTOLI; ESTEBAN, 2015).

Em humanos, a imunidade não é protetora contra larvas autoinfectantes que determinam o estabelecimento de um equilíbrio entre o parasito e o sistema imune do hospedeiro, porém esse equilíbrio pode ser alterado determinando o curso da infecção (BONNE-ANNÉE et al., 2014). Há três resultados possíveis em indivíduos infectados, dependendo da adequação da resposta imune do hospedeiro e da capacidade do parasito de superar essa resposta: erradicação da infecção, infecção crônica decorrente da autoinfecção e a possibilidade da hiperinfecção ou disseminação (GROVE, 1996; COSTA-CRUZ, 2016).

O controle da intensidade da infecção pode ser responsável pela defesa local mediada por mastócitos, por duas formas: diretamente pela capacidade dessas células de lesar o parasito e indiretamente, pela desgranulação de substâncias que atraem e ativam eosinófilos (COSTA-CRUZ, 2016).

Infecções com nematoides parasitas, incluindo *Strongyloides*, levam às respostas imunes do tipo 2 marcadas pela diferenciação de células T CD4⁺ *naïve* em células T *helper* tipo 2 (Th2). Estas são caracterizadas pela expressão do fator de transcrição GATA-3, resultando na competência para produzir as citocinas efetoras interleucina (IL) - IL4, IL-5 e IL-13 que promovem o crescimento e diferenciação de células B e granulócitos (MAIZELS; HOLLAND, 1998; BOCK et al., 2017). X'

O controle e a erradicação da migração da larva L3 de *Strongyloides* é realizada pela imunidade inata e adaptativa. Na imunidade inata, neutrófilos e eosinófilos liberam moléculas tóxicas para eliminar o parasito em colaboração com o componente de complemento C3b. Os neutrófilos eliminam larvas de *Strongyloides* por meio de um processo que depende da proteína mieloperoxidase granular específica de neutrófilos (MPO). A morte de larvas por eosinófilos mostrou ser dependente da proteína básica principal da proteína granular (MBP) e da proteína catiônica eosinofílica (ECP). Os mastócitos estão envolvidos no desencadeamento de produção de citocinas, dado o seu papel no recrutamento de eosinófilos por meio da produção

de IL-5. A IL-3 é importante no processo de diferenciação de mastócitos, uma vez que se um animal for *nocaute* de IL-3, esses mostram expulsão tardia de *S. venezuelensis* (MAIZELS; HOLLAND, 1998; BRELOER; ABRAHAM, 2016).

Os eosinófilos também têm a capacidade de atuar como uma célula apresentadora de antígeno (APC) para iniciar a resposta imune adaptativa, produzindo as citocinas de perfil Th2, IL-4 e IL-5. Na imunidade adaptativa, células B produzem IgM, que colabora com macrófagos, e IgG, que colabora com os neutrófilos, para eliminação das larvas. IgA e IgE também são encontrados em pacientes com esrongiloidíase (BOCK et al., 2017).

A IgG é a imunoglobulina do soro mais abundante produzido contra *S. stercoralis*, sendo detectada em 95% dos pacientes com a doença. A classe engloba quatro subclasses: IgG1, IgG2, IgG3 e IgG4 (OCHS; WEDGWOOD, 1987; ARIFIN et al., 2018). IgG1 é supostamente regulada no início da infecção e observada mais frequentemente em indivíduos mais jovens do que mais velhos. Níveis de IgG2 são mais elevados em indivíduos imunocompetentes do que em pacientes imunossuprimidos. A detecção de IgG3 é menos informativa devido a sua vida útil mais curta, com uma meia-vida apenas de sete a nove dias, portanto, é improvável que seja adequado para uso em aplicações clínicas. IgG4 é a menos abundante das quatro subclasses de IgG em humanos saudáveis, representando de 3 - 6% do total de IgG (ARIFIN et al., 2018).

A resposta imune humoral contra *S. stercoralis* engloba as subclasses IgG1 e IgG4 (ATKINS et al., 1999; MACHADO et al., 2005; RODRIGUES et al., 2007). A IgG4 em particular tem sido extensivamente pesquisada porque é altamente específica para a detecção de infecções por helmintos, incluindo *Strongyloides* (ARIFIN et al., 2018). Os títulos de IgG, IgG1 e IgG4 são encontrados predominantemente duas semanas após a infecção e podem persistir por mais tempo (RODRIGUES et al., 2007; TOLEDO; MUÑOZ-ANTOLI; ESTEBAN 2015). Além da resposta humoral, os macrófagos que foram alternativamente ativados pela IL-4 também eliminam os parasitos como a ajuda de neutrófilos e do sistema complemento (BRELOER; ABRAHAM, 2016).

1.6 Modelo experimental no estudo da estrongiloidíase

Um modelo animal de estudo muito utilizado para a estrongiloidíase humana, é o nematódeo *Strongyloides venezuelensis*, que infecta roedores silvestres (CORRAL et al., 2015; DE CARVALHO et al., 2015; BRELOER; ABRAHAM, 2016; VINEY; KIKUCHI, 2017). Ele tem sido utilizado para padronizar novas técnicas imunológicas com o intuito de melhorar o diagnóstico de estrongiloidíase humana, por produzir uma grande quantidade de larvas infectantes, o que facilita a obtenção e a produção de antígeno heterólogos (DE CARVALHO et al., 2015).

Este parasito foi descrito pela primeira vez em ratos na Venezuela (BRUMPT, 1947) e depois foi reescrito nos EUA, desta vez incluindo uma descrição da geração de vida livre (LITTLE, 1996). É amplamente distribuído em regiões quentes do mundo, tendo sido relatado entre os paralelos 35 ° norte e sul, sugerindo que requer um clima quente para o desenvolvimento no ambiente externo. Todos os relatos de *S. venezuelensis* são de ratos (*Rattus norvegicus*) (VINEY; KIKUCHI, 2017). Em ratos imunocompetentes infectados por *S. venezuelensis*, a resposta imunológica vai resultar na expulsão da maioria dos parasitos em um período de 10 a 14 d.p.i. Os ratos se tornam imunes à reinfecção, caracterizando uma infecção autolimitante (VINEY; KIKUCHI, 2017).

Strongyloides venezuelensis possui rota de migração semelhante ao *S. stercoralis* em humanos (CHAVES et al., 2015). O desenvolvimento de *S. stercoralis* e *S. venezuelensis* ocorre no ambiente (ciclo de vida livre) e no hospedeiro (ciclo de vida parasitária). A fase parasitária inicia-se com a penetração das larvas L3 através da mucosa e da pele, essas larvas migram para o pulmão, onde induzem grave alteração inflamatória (síndrome de Löffler), caracterizada por grave infiltração eosinofílica e hiperplasia de células caliciformes. Dos pulmões, elas migram para a cavidade oral e descem ao intestino delgado, onde se tornam parasitos adultos e induzem mastocitose intestinal severa. O parasito é eliminado nas fezes do hospedeiro na forma de ovos (YASUDA; MATSUMOTO; NAKANISHI, 2014; DE CARVALHO et al., 2015).

Antígenos de *S. venezuelensis* apresenta reação cruzada com antígenos de *S. stercoralis*, é de fácil obtenção e manutenção em laboratório, tem bom rendimento larval em culturas de fezes utilizando carvão e não apresenta risco de infecção quando

manipulado por humano. Essas características permitem o seu estudo para o diagnóstico da estrogiloidíase humana e como comparação da resposta imune à infecção humana (MACHADO et al., 2003; CHAVES et al., 2015).

1.7 Imunossupressão com prednisolona

Os corticosteroides são análogos sintéticos dos hormônios glicocorticoides endógenos, sendo uma classe de anti-inflamatórios potentes que são utilizados na clínica médica (AYYAR et al., 2017). Prednisolona, metilprednisolona, dexametasona e betametasona são os tipos de corticosteroides mais comumente administrados (LARSEN et al., 2018; LEE; SHIN, 2018).

Sabe-se que os glicocorticoides atuam por duas vias diferentes: genômica e não genômica (DANZA et al., 2018). Pela via genômica, sabe-se que tem a ligação da molécula de glicocorticoide a um receptor citoplasmático, e que esse complexo receptor-ligante é translocado para o núcleo da célula onde se liga a sequências específicas de DNA. Esse complexo faz com que haja inibição da expressão de genes envolvidos na resposta inflamatória, mas também estimula a expressão de genes relacionados aos efeitos adversos dos glicocorticoides. O receptor citoplasmático é expresso em todas as células do corpo, o que explica a variedade de efeitos adversos, atingindo quase todos os tecidos e sistemas. O efeito dessa via requer pelo menos 30 minutos para começar e pelo menos 4 a 6 horas para atingir o efeito completo (BUTTGEREIT et al., 2004; RHEN; CIDLOWSKI, 2005; DANZA et al., 2018).

A via não genômica, recentemente caracterizada, atua modulando um receptor de membrana e vias moleculares intracelulares que são diferentes daquelas da via genômica. O início do efeito é mais rápido (segundos a minutos). Esta via é especialmente sensível à metilprednisolona e dexametasona, que têm um efeito anti-inflamatório até cinco vezes mais poderoso do que a via genômica, para os mesmos compostos (DANZA et al., 2018).

Drogas imunossupressoras inibem a atividade inflamatória do sistema imunológico do hospedeiro e promovem a produção de proteínas anti-inflamatórias (MACHADO et al., 2011; LEE; SHIN, 2018; MIURA, 2018). Inibe a síntese de anticorpos IgG, IgM e IgA, fosfolipase A2, leucotrienos e prostaglandinas. Os glicocorticóides também atuam diminuindo o número de basófilos, eosinófilos e

monócitos, e aumentando o número de neutrófilos no sangue periférico (SAAVEDRA-DELGADO et al., 1980). Também agem diminuindo a produção de óxido nítrico, moléculas coestimulatórias e complexo principal de histocompatibilidade (MHC) (MACHADO et al., 2011). A diminuição de eosinófilos é devido a inibição da citocina IL-5 provocada por glicocorticoide, e essa citocina juntamente com a quimiocina CC ativa de eosinófilos, são responsáveis pela libertação de eosinófilos na corrente sanguínea (CORRIGAN, 1999).

Prednisolona ($C_{21}H_{28}O_5$) é um esteroide adrenal sintético com atividade glicocorticoide potencializada (Figura 3) (LEE; SHIN, 2018; PUBCHEM, 2019). A metilprednisolona ($C_{22}H_{30}O_5$) (Figura 4) é convertido em prednisolona ativa no organismo e agonista do receptor hormonal corticosteroide (PUBCHEM, 2019). Ambos exercem potente ação anti-inflamatória e imunossupressora, sendo amplamente utilizados na prática de medicina humana (KUPERSMITH et al., 1996; NAMISATO et al., 2004; KALITA; SANJEEV; MISRA, 2012; SARAEI et al., 2014; GONZALEZ-GIRALDO et al., 2018; MYTINGER, 2018; SERFLING et al., 2019) e em muitos estudos com modelos animais (GROVE; DAWKINS, 1981; TAKEDA et al. 2004). Em humanos, estudos em pacientes com doença de Ménière usaram dexametasona e metilprednisolona, os resultados mostraram que a metilprednisolona pode melhorar o nível de audição comparado à dexametasona (MASOUMI et al. 2017). Estudos com ratos, analisando o efeito terapêutico da curcumina e da metilprednisolona na lesão medular, mostraram que a metilprednisolona teve um bom efeito terapêutico, nos primeiros 14 dias, quando comparada aos grupos tratados com curcumina (LIU et al., 2018).

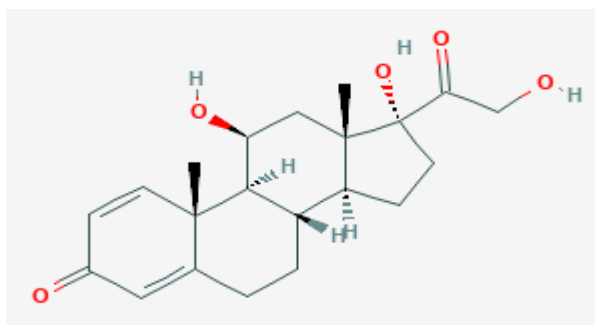


Figura 3: Fórmula estrutural 2D de prednisolona (PUBCHEM, 2019).

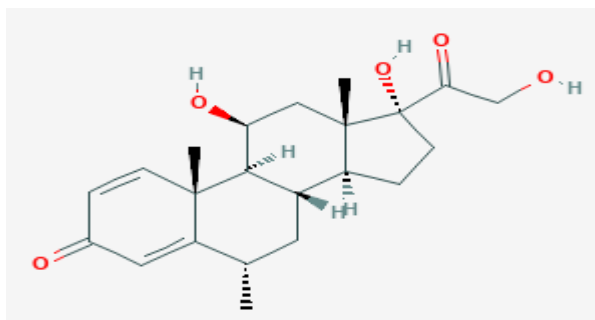


Figura 4: Fórmula estrutural 2D de metilprednisolona (PUBCHEM, 2019).

Prednisolona e metilprednisolona são corticoides análogos com a mesma duração de ação no organismo, sendo de 12 a 36 horas (duração intermediária entre os corticoides) e tendo a metilprednisolona maior eficácia anti-inflamatória que a prednisolona (LARSEN et al., 2018).

As rotas de administração de um medicamento são classificadas em duas categorias: rota sistêmica e rota local. A rota sistêmica é aquela em que o medicamento chega na circulação sanguínea e a rota local o medicamento é aplicado na pele ou mucosa para ação local. A rota sistêmica pode ser classificada em duas classes: rota enteral (o medicamento é colocado no trato gastrointestinal e em seguida é absorvida e chega na corrente sanguínea. Como exemplo temos a via oral) e rota parenteral (o medicamento não passa pelo trato gastrointestinal, atinge diretamente o sangue. Como exemplo temos a via subcutânea) (VERMA et al., 2010).

A via oral é amplamente utilizada para tratar uma variedade de condições médicas (PALME; TOMASEVIC; POHL, 2000) e o medicamento é colocado diretamente na boca (VERMA et al., 2010). Alguns estudos citam quais são as vantagens e desvantagens de utilizar essa via (GUPTA; BHANDARI; SHARMA, 2009; VERMA et al., 2010; PARK et al., 2015; EZRAHI; ASERIN; GARTI, 2018). Como vantagem temos:

1. Simples, não invasiva, sem dor, segura e relativamente mais barata;
2. Evita riscos associados a linhas de infusão intravenosa como infecções e extravasamentos;
3. Proporciona maior adesão por ser um método mais conveniente e fácil de administrar;
4. Reduz os custos de administração, uma vez que nas injeções há o envolvimento direto de um profissional.

As desvantagens da via oral são:

1. Não é útil se um o indivíduo estiver com vômitos, e deve-se enfatizar que o vômito pode ser induzido por irritação gástrica devido ao consumo da droga;
2. Alguns medicamentos têm sabor desagradável;
3. Incapaz de administrar em indivíduos inconscientes;
4. O início do efeito é lento para casos de emergências;
5. Muito pouco controle sobre a liberação do medicamento;
6. Baixos níveis de absorção de macromoléculas (como proteínas e peptídeos), além de enfrentar obstáculos como ter que se dissolver no trato gastrointestinal, passarem através dos enterócitos para então alcançar a circulação sistêmica.
7. Absorção pode ser dificultada por alimentos no estômago.

As injeções subcutâneas têm sido extensivamente utilizadas. Nesta via de administração, a droga é aplicada na camada subcutânea com o ajuda da injeção, atravessará o espaço intersticial e alcançará a corrente sanguínea. Como vantagens da via subcutânea temos (McLENNAN; PORTER; CHARMAN, 2005; VERMA et al., 2010; SEQUEIRA et al., 2019):

1. Contorna a baixa biodisponibilidade da via oral;
2. Via de administração alternativa quando a dosagem oral não é bem tolerada;
3. Modifica ou estende as características de liberação nos esforços para prolongar a exposição sistêmica;
4. Pode ser administrado em indivíduos inconscientes;
5. Ação rápida.

As desvantagens da via subcutânea são:

1. Dor no local da injeção;
2. Maior risco de efeitos adversos e infecções secundárias;
3. Alta concentração atingida rapidamente.
4. Alguns fatores podem prejudicar a absorção e integridade estrutural do medicamento como alterações na composição do tampão, do pH, temperatura, pressão, perda de excipientes e início da degradação da formulação antes da absorção.

Há vários estudos que utilizam prednisolona aplicada por diversas vias e utilizada para diversos fins em estudos utilizando modelo animal. No estudo de Liu e colaboradores, (2018) utilizam a metilprednisolona via subcutânea para o tratamento

da lesão da medula espinal em ratos. Outro estudo nos mostra o efeito da administração de prednisolona via subcutânea na taxa de esvaziamento da vesícula biliar e na composição da vesícula biliar em cães (NAGAHARA et al., 2018). Um estudo recente com *S. stercoralis* em humanos mostrou que o uso de prednisolona oral para tratamento de doença pulmonar obstrutiva crônica levou um paciente a óbito devido a estrogiloidíase (KHADKA et al., 2018). Outros trabalham utilizam a metilprednisolona via oral para o tratamento da miastenia gravis ocular (LEE; KIM, 2018) e prednisolona oral para espasmos infantis (BARAM et al., 1996).

Estudos comparando diferentes vias de administração de corticosteroides são escassos. Um estudo recente realizado com a administração de metilprednisolona por cinco rotas (oral, intravenosa, intramuscular, submucosa e intra-mesentérica) tem como objetivo escolher aquela que melhora os resultados pós-operatórios após a cirurgia do terceiro molar (NAGORI et al., 2018). Outro estudo, utiliza diferentes dosagens de corticosteroides (dexametasona e metilprednisolona) e de rotas de administração (submucosa, intravenosa e oral) para obter melhores resultados em cirurgia de terceiro molar mandibular (LARSEN et al., 2018).

Ressalta-se a importância de estabelecer e validar um modelo imunossupressor de animais para o estudo da estrogiloidíase humana. Este estudo foi o primeiro a avaliar a imunossupressão causada pela administração de prednisolona em modelo animal infectado com *S. venezuelensis* utilizando duas vias de administração, a oral e a subcutânea. Para isso, foram analisados parâmetros físicos (peso e sobrevivência), hematológicos (contagem global e diferencial de leucócitos), parasitológicos (contagem de ovos por grama gramas de fezes (OPG), OPG acumulada e fêmeas parasitas) e imunológicos (níveis de detecção de IgG, IgG1 e IgG2).

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

O objetivo deste estudo foi avaliar e comparar qual via de administração de prednisolona oral ou subcutânea, apresenta melhor desempenho imunossupressor em ratos infectados por *S. venezuelensis*.

2.2 Objetivos específicos

- Avaliar o peso de todos os animais após a imunossupressão com prednisolona pela via oral e subcutânea.
- Fazer a análise de sobrevivência desses animais após a imunossupressão por ambas as vias.
- Avaliar a imunossupressão causada pela administração de prednisolona, por ambas as vias, pela contagem global e diferencial de leucócitos.
- Analisar a carga parasitária por OPG e OPG acumulada e recuperação de fêmeas partenogênicas do intestino, após a imunossupressão por via oral e subcutânea.
- Quantificar os níveis de anticorpos IgG, IgG1 e IgG2a por *enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA) em ratos imunossuprimidos com prednisolona por ambas as vias.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Aspectos éticos

O estudo foi realizado no Laboratório de Diagnóstico de Parasitoses do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade Federal de Uberlândia (UFU), sob orientação da Prof^a Dr^a Julia Maria Costa Cruz. Todos os experimentos foram conduzidos de acordo com as diretrizes de ética animal adotados pelo Comitê de Ética na Utilização de Animais (CEUA-UFU) e foram aprovados sob o parecer de número 103/16.

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

3.2 Animais

Ratos machos Wistar (*Rattus norvegicus*), considerados *Specific Pathogen Free* (SPF), com idades entre quatro e seis semanas, pesando entre 100-250 g, provenientes e mantidos na REBIR-UFU, foram utilizados nesse experimento. Esses animais foram acondicionados em mini-isoladores (Ventilife, Alesco, Monte Mor, Brasil) com densidade máxima de 6 animais, mantidos em cama de maravalha autoclavada, com acesso livre à água esterilizada e ração industrial. A temperatura da sala era mantida a 22 ± 2 °C, com ciclo claro-escuro 12:12h. Todos os procedimentos e manuseio dos animais foram realizados em fluxo laminar (Biosafety cabinet Tecniplast, Varese, Itália).

Foram utilizados 36 ratos machos que foram divididos em seis grupos (n = 6) divididos por via de administração e infecção:

- G I (-): animais não tratados e não infectados,
- G II (+): animais não tratados e infectados,
- G III (o -): animais tratados via oral e não infectados,
- G IV (o +): animais tratados via oral e infectados,
- G V (sc -): animais tratados via subcutânea e não infectados,

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

3.3 Delineamento experimental

A Figura 5 mostra o delineamento de todo o experimento de uma forma resumida. A administração oral foi realizada com 5 mg / mL de prednisolona 5 dias antes da infecção, e após, foi realizado um reforço nos dias 8 e 21, com duração de 5 dias cada. A administração subcutânea foi realizada com 10 mg / mL / kg de prednisolona por 30 dias. A infecção por *S. venezuelensis* foi feita no dia 0. A pesagem dos animais iniciou no dia -5 e depois nos dias 0, 8, 13, 21 e 30. A coleta de sangue foi realizada nos dias 0, 8, 13, 22 e 30. A coleta de fezes foi realizada nos dias 5, 7, 8, 13, 21, 26 e 30. No dia 30 os animais foram eutanaziados e após, o intestino delgado foi removido.

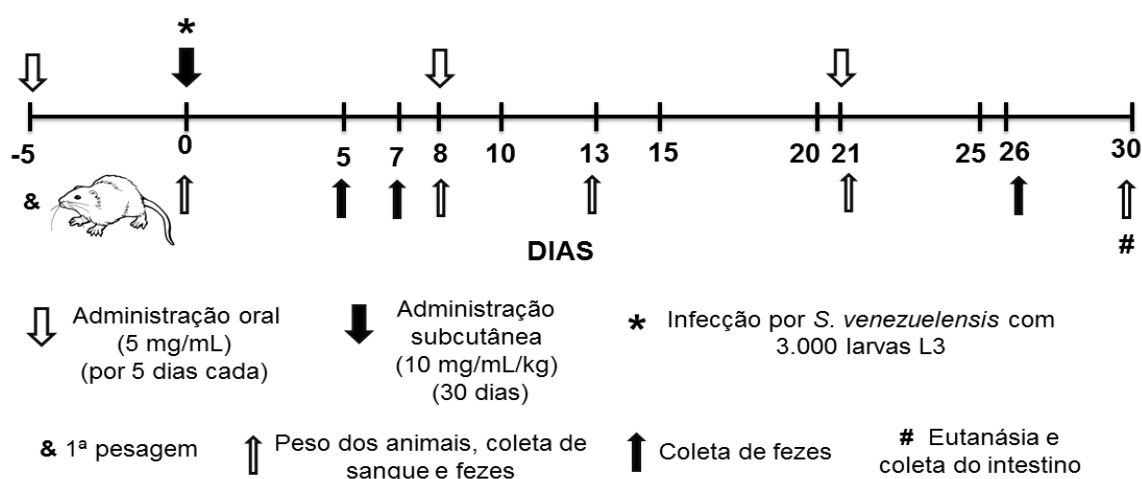


Figura 5: Representação esquemática do procedimento experimental, mostrando os dias de imunossupressão oral e subcutânea de prednisolona nos animais, a infecção com *Strongyloides venezuelensis*, os dias de pesagem, coleta de sangue, coleta de fezes, eutanásia e coleta de intestino.

3.4 Infecção por *Strongyloides venezuelensis*

Larvas filarioides infecciosas de *S. venezuelensis* foram obtidas de culturas de carvão animal de fezes de ratos infectados e mantidos na Rede de Biotérios de Roedores - UFU. As culturas foram incubadas a 27 °C por 72 horas e as larvas foram coletadas pelo método de Rugai (RUGAI; MATTOS; BRISOLA, 1954). Para infecção, 3.000 larvas L3 de *S. venezuelensis* foram inoculadas pela via subcutânea na região abdominal.

3.5 Imunossupressão com prednisolona

A administração oral nos grupos G III e G IV foi realizada com 5 mg / mL de prednisolona diluída em água esterilizada na mamadeira (formulação oral disponível: fosfato sódico de prednisolona, 3 mg/mL) (Biosintética Farmacêutica, São Paulo, Brasil) como descrito por Grove; Heenan e Northern (1983), com modificações. O protocolo de tratamento foi iniciado 5 dias antes da infecção e após, foi realizado um reforço nos dias 8 e 21, com duração de 5 dias cada, e quando necessário, essa solução era repostada.

Para administração subcutânea, os animais dos grupos G V e G VI receberam injeções abdominais de 10 mg/mL/kg de prednisolona (formulação subcutânea disponível: acetato de metilprednisolona, 40 mg/mL) (União Química, São Paulo, Brasil), uma hora antes da infecção, e diariamente até 30 dias após a infecção, conforme descrito por Taguchi et al. (2016), com modificações.

3.6 Avaliação de peso corporal e análise de sobrevivência.

Os ratos foram pesados em uma balança comum nos dias -5 (GI, GII, GIII e GIV), 0, 8, 13, 21 e 30 (todos os grupos) para determinar se o tratamento com prednisolona influencia no ganho de peso dos animais.

Os animais foram monitorados diariamente para registro de eventuais mortes ocorridas no período de tratamento e então foi feita uma análise de curva de sobrevivência.

3.7 Coleta de sangue e obtenção de soro

Antes da infecção (dia 0) e nos dias 8, 13, 21 dias após a infecção (d.p.i.), as amostras de sangue foram coletadas por punção caudal e armazenadas em tubos de 0,5 mL K2 EDTA (Zhejiang Gongdong Medical Technology, Província de Zhejiang, China). No 30º d.p.i., os ratos foram eutanaziados por exsanguinação por punção cardíaca e o sangue coletado foi armazenado em tubos de 4 mL K3 EDTA (Poly Medicure, Delhi, Índia). Uma alíquota foi utilizada para a contagem global e diferencial de leucócitos. Os animais foram anestesiados com cloridrato de cetamina 60 mg / kg

(Sespo Indústria e Comércio, São Paulo, Brasil) e xilazina 10 mg / kg (Sespo Indústria e Comércio, São Paulo, Brasil) administrado via intraperitoneal.

O sangue remanescente foi centrifugado a 3.000 rpm por 10 min. O soro obtido foi armazenado a -20 °C. Em seguida, um *pool* de soro de ratos foi obtido para análise no teste ELISA para detecção de IgG e suas subclasses.

3.8 Contagem global e diferencial de leucócitos

A contagem global de leucócitos foi realizada em câmara de Neubauer com 20 µl de sangue diluído em 380 µL de solução de Turk (Renylab Química e Farmacêutica, Minas Gerais, Brasil) (FACCIOLI et al., 1998). A leitura foi feita em microscópio óptico por quatro examinadores a cegas.

Para a contagem diferencial, os esfregaços de sangue foram confeccionados e corados com o método panótico rápido LB (Laborclin, Paraná, Brasil) de acordo com as instruções do fabricante. Em seguida, foram contadas em diferentes campos de forma aleatória 100 células, por quatro examinadores a cegas. As células foram identificadas morfolologicamente por linfócitos, neutrófilos, monócitos, eosinófilos e basófilos, por meio de microscopia de luz com aumento de 100 vezes (CARVALHO et al., 2009)

3.9 Contagem de ovos por grama de fezes (OPG) e OPG acumulada

Os ratos infectados experimentalmente por *S. venezuelensis* (G II, G IV e G VI) foram colocados em papel toalha limpo e úmido para defecar nos dias 5, 7, 8, 13, 21, 26 e 30 d.p.i. As fezes foram recuperadas, umedecidas com água destilada e maceradas. O número estimado de ovos por grama de fezes foi realizado pelo método de Cornell-McMaster (GORDON; WHITLOCK, 1939).

OPG acumulada foi calculada pela soma de todas as OPG dos animais por grupos, em todos os dias amostrados (NISBET et al., 2013; NISBET et al., 2016).

3.10 Contagem de fêmeas parasitas

A recuperação das fêmeas parasitas foi realizada no 30º d.p.i. Após a eutanásia, o intestino delgado foi removido e colocado em placas de Petri contendo solução salina tamponada com fosfato (PBS). Em seguida, o intestino delgado foi seccionado longitudinalmente e incubado a 37 °C por 2 h. A solução foi coletada, centrifugada a 1.200 rpm por 5 min, e o sedimento foi colocado em lâmina para contagem de fêmeas parasitas em microscópio óptico (10x), de acordo com Sato e Toma (1990).

3.11 ELISA indireto para detecção de anticorpos IgG, IgG1 e IgG2a no soro

O ELISA indireto (ensaio imunoenzimático) foi realizado para determinar a cinética de anticorpos IgG, IgG1 e IgG2a. Para determinar anticorpos IgG anti-*Strongyloides* específicos, o protocolo de Sousa et al. (2016) foi aplicado. Para IgG1 e IgG2a, experimentos preliminares foram conduzidos para determinar condições ótimas para antígeno, soro e conjugado. O extrato salino de *S. venezuelensis* utilizado nesse estudo foi descrito anteriormente por Gonzaga e colaboradores, (2011) com modificações.

Microplacas de poliestireno com 96 poços de baixa afinidade (Greiner Bio-One, Solingen, Alemanha) foram revestidas, para detecção de IgG, com 5 µg / mL do extrato salino de *S. venezuelensis* (50 µL / poço) em solução tampão carbonato-bicarbonato e incubadas durante a noite a 4 °C. Para IgG1 e IgG2a, microplacas de alta afinidade (Santa Cruz Biotechnology, CA, EUA) foram revestidas com 10 µg / mL de extrato salino de *S. venezuelensis* (50 µL / poço). As placas foram lavadas 3 vezes por 5 min cada com PBS contendo Tween 20 a 0,05% (PBS-T). As microplacas preparadas para os ensaios de IgG1 e IgG2a foram bloqueadas com PBS-T mais 1% de albumina de soro bovino (PBS-T-BSA) (100 µL / poço) a 37 °C por 1h e foram lavadas. O *pool* de amostras de soro (1:10) (50 µL / poço) foi diluído em PBS-T com leite em pó desnatado (Molico, Nestlé, Brasil) 1% (PBS-TM) para teste de IgG e em PBS-T-BSA para os testes das subclasses. Após a adição de soro, as microplacas foram incubadas a 37 °C durante 45 min (IgG) ou 2 h (IgG1 e IgG2a). As placas foram lavadas com o ciclo PBS-T, e adicionadas IgG anti-rato de cabra conjugado com peroxidase (Sigma-Aldrich., St. Louis, EUA) diluídos 1: 1000 em PBS-TM (50 µL / poço) ou IgG1 ou IgG2a anti-rato de camundongo conjugado com biotina (BD Biosciences, CA, EUA) diluído

1: 2000 em PBS-T-BSA (50 μ L / poço). Após incubação a 37 °C por 45 min (IgG) ou 1 h (IgG1 e IgG2a), as placas foram lavadas 3 vezes e, para IgG1 e IgG2a, as placas foram incubadas com estreptavidina-peroxidase (BD Biosciences, CA, USA) diluída 1: 1.000 em PBS-T-BSA (50 μ L / poço) por 30 min em temperatura ambiente (TA). As placas foram lavadas e a reação foi revelada pela adição de 50 μ L / poço de 5 mg de o-fenilenodiamina (OPD) (Sigma-Aldrich., St. Louis, EUA) e 5 μ L de peróxido de hidrogênio a 30% (Merck, Rio de Janeiro, Brasil) em 12,5 mL de tampão fosfato citrato (0,1 M, pH 5,5). Após 15 min à TA e no escuro, a reação foi interrompida pela adição de 25 μ L / poço de solução 2N H₂SO₄ (Vetec, Rio de Janeiro, Brasil). As densidades ópticas (DO) foram determinadas a 492 nm em leitor de ELISA (Biotek, BioTek Instruments, EUA). O *cut-off* para cada reação foi determinado pela média de valores da DO das amostras de soro coletadas antes da infecção. Níveis de anticorpos foram expressos pelo índice ELISA (IE), que foi calculado pelo valor da DO da amostra dividido pelo *cut off*.

3.12 Análises estatísticas

As análises de peso, contagem global e diferencial de leucócitos, OPG, OPG acumulada e contagem de fêmeas foram analisados pelos testes não paramétricos de Kruskal-Wallis, Mann-Whitney para as comparações múltiplas 2 a 2 seguida da correção de Bonferroni-Holm. Os dados são apresentados em mediana, com intervalo interquartil.

A análise de sobrevivência foi realizada de acordo com o teste *log-rank* (teste de Mantel-Cox) e as comparações múltiplas 2 a 2 foram realizadas pelo teste de Gehan-Breslow-Wilcoxon seguidas de correção de Bonferroni-Holm.

Valores de $P < 0,05$ foram considerados estatisticamente significantes. Os testes estatísticos foram realizados usando o software GraphPad Prism versão 6.0 (GraphPad Software, San Diego, EUA).

3.13 Normas de biossegurança

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

4. RESULTADOS

4.1 Análise de parâmetros físicos

4.1.1 O tratamento com prednisolona administrado via subcutânea (infectado ou não com *S. venezuelensis*) não alterou o peso dos animais ao longo dos dias

Os resultados do peso corporal de todos os animais estão demonstrados na Figura 6. Os animais dos grupos controle (G I e G II) e dos grupos tratados via oral (G III e G IV) foram inicialmente pesados no dia -5 (início da imunossupressão oral). Os animais dos grupos tratados via subcutânea (G V e G VI) foram pesados inicialmente no dia 0 (início da imunossupressão subcutânea).

Os grupos G I, G II e G IV mostraram diferença significativa ao longo dos dias ($P < 0,05$). Analisando os grupos controles, observa-se que houve aumento de pesos desses animais ao longo dos dias. Do grupo G I houve aumento do dia -5 para os dias 8, 13, 21 e 30, dia 0 para os dias 13, 21 e 30, dia 8 para os dias 21 e 30 e do dia 13 para o dia 30. Do G II foram entre os mesmos dias exceto o do dia 8 para o dia 21 que não apresentou diferença de peso. Dos grupos tratados via oral, o G III apresenta tendência de ganho de peso ao longo dos dias mas não apresentou diferença significativa e o G IV apresentou aumento de peso do dia -5 para os dias 13, 21 e 30, do dia 0 para os dias 13, 21, e 30, e do dia 8 para o dia 30. Analisando os grupos tratados via subcutânea, observa-se que não houve diferença de peso significativa entre os dias, ou seja, esses animais mantiveram o seu peso ao longo do experimento.

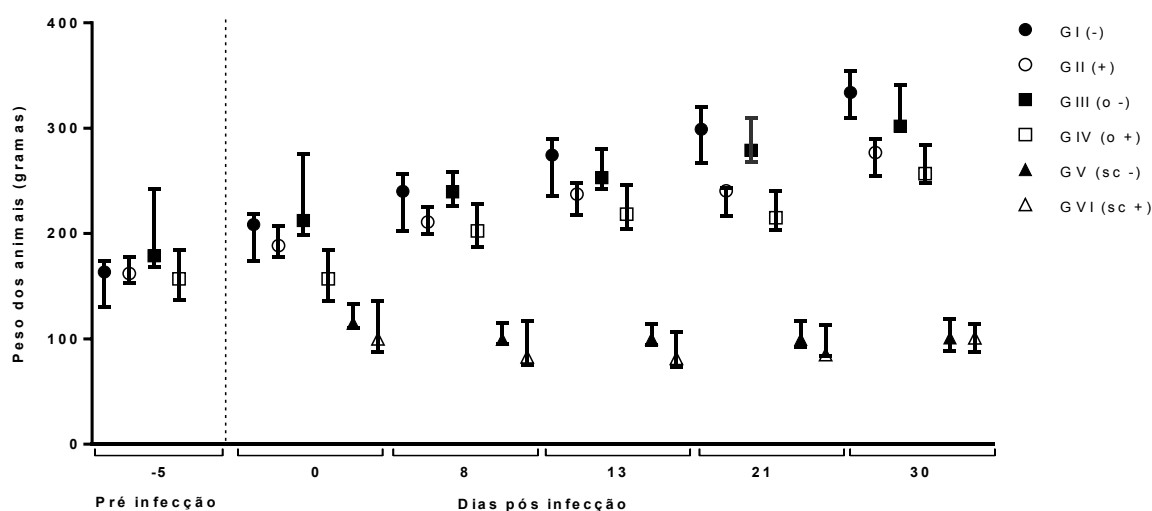


Figura 6: Peso corporal de ratos Wistar machos nos dias -5, 0, 8, 13, 21 e 30 d.p.i. Valores expressos em mediana e intervalo interquartil. Os animais dos grupos controles (G I e G II) foram inicialmente pesados no dia -5 juntamente com os animais dos grupos tratados via oral (G III e G IV) (início da imunossupressão oral). Os animais dos grupos tratados via subcutânea (G V e G VI) foram inicialmente pesados no dia 0 (início da imunossupressão subcutânea). A linha tracejada separa os dias antes e depois da infecção por *Strongyloides venezuelensis*. Os grupos experimentais correspondem aos escritos detalhadamente na seção Material e métodos 3.2.

4.1.2 A taxa de sobrevivência foi menor nos animais dos grupos tratados via subcutânea (infectado ou não com *S. venezuelensis*)

Durante os 30 dias de experimento, houve morte de animais de alguns grupos. Do total de seis animais em cada grupo, somente cinco animais do grupo controle G I e oral G III sobreviveram e dos grupos tratados via subcutânea três sobreviveram do G V e dois do G VI. Não houve morte nos grupos G II e G IV (Figura 7).

As curvas, quando considerados os seis grupos, são estatisticamente significantes, de acordo com o teste log-rank (teste de Mantel-Cox, $P = 0,0357$), mas as comparações múltiplas 2 a 2 pelo teste de Gehan-Breslow-Wilcoxon seguidas de correção de Bonferroni-Holm, não identificaram a fonte de diferença.

Considerando a análise entre os grupos (não infectados ou infectados) observou-se que as curvas dos grupos não infectados (G I, G III e G V) não apresentaram diferença significativa entre elas, enquanto os grupos de animais infectados (G II, G IV e G VI) possuem diferença significativa ($P = 0,0091$). Os pós-testes, seguidos de correção, não mostrou diferença entre os pares.

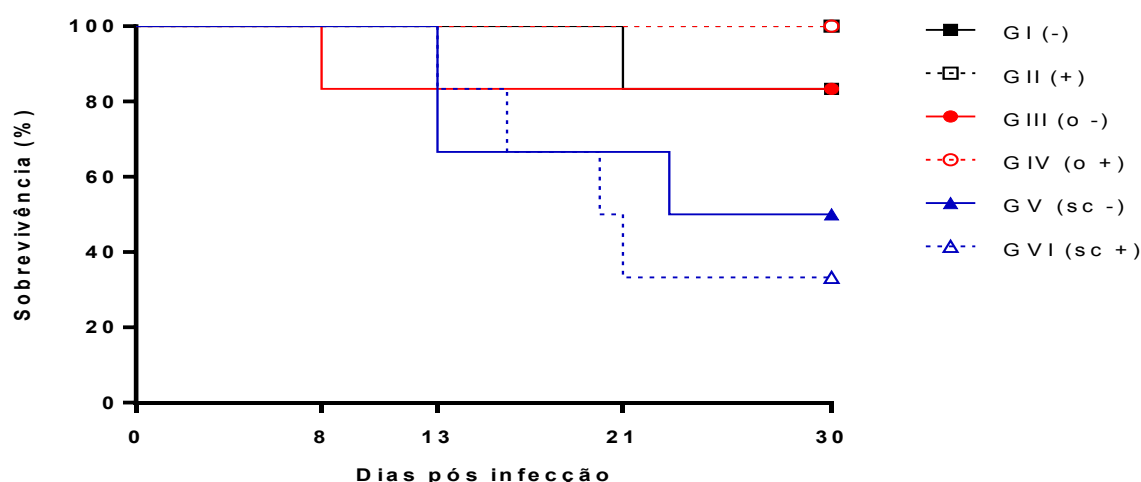


Figura 7: Curva de sobrevivência dos animais controles, tratados via oral e via subcutânea ao longo do experimento. Os grupos G II e G IV, G I e G III se sobrepuseram no gráfico. Os grupos experimentais correspondem aos descritos detalhadamente na seção Material e métodos 3.2. A curva foi desenhada por GraphPad Prism.

4.2 Análise hematológica

A indução da imunossupressão com prednisolona em ratos foi verificada pela contagem global e diferencial de leucócitos. As contagens diferenciais de eosinófilos, monócitos e basófilos estavam dentro da normalidade em todos os dias analisados (0, 8, 13, 21 e 30).

4.2.1 Diminuição na contagem global de leucócitos nos grupos de animais tratados via subcutânea (infectado ou não com *S. venezuelensis*)

A Figura 8 demonstra a contagem global de leucócitos no sangue de ratos infectados e não infectados com *S. venezuelensis*, bem como os animais que foram tratados ou não com prednisolona. As análises intragrupo foi realizada por análises estatísticas comparativas do mesmo grupo ao longo dos dias. As análises entre os grupos foram realizadas comparando entre si os grupos de animais infectados (G II vs. G IV, G II vs. G VI e G IV vs. G VI) e os grupos de animais não infectados (G I vs. G III, G I vs. G V e G III vs G V).

As análises estatísticas intragrupos (não exibidas no gráfico) mostraram que os grupos G II, G IV e G V apresentam diferenças estatísticas significativa ao longo dos dias ($P < 0,05$). Os grupos G I, G III e G VI não apresentaram diferença significativa

de leucócitos entre os dias analisados. No grupo controle G II, houve aumento significativo de leucócitos do dia 0 para os dias 8, 13 e 21 e diminuição significativa desses mesmos dias comparado ao dia 30. No grupo tratado via oral G IV, houve aumento significativo do dia 0 para o dia 8 e diminuição dos dias 8,13 e 21 com o dia 30. No grupo tratado via subcutânea G V, apresentou diminuição significativa de leucócitos do dia 0 para o dia 8.

Fazendo as análises estatísticas intergrupos, comparando os grupos tratados via oral com o seu respectivo controle, observa-se que houve diminuição significativa de leucócitos do G III no dia 30 e do G IV nos dias 13 e 21. Entre os grupos tratados via subcutânea e o seu respectivo controle, houve diminuição significativa de leucócitos do G V e G VI nos dias 8 e 13. Comparando os grupos tratados com a prednisolona, houve diminuição estatística entre o grupo subcutâneo G V comparado ao oral G III e o subcutâneo G VI comparado ao oral G IV nos dias 8 e 13.

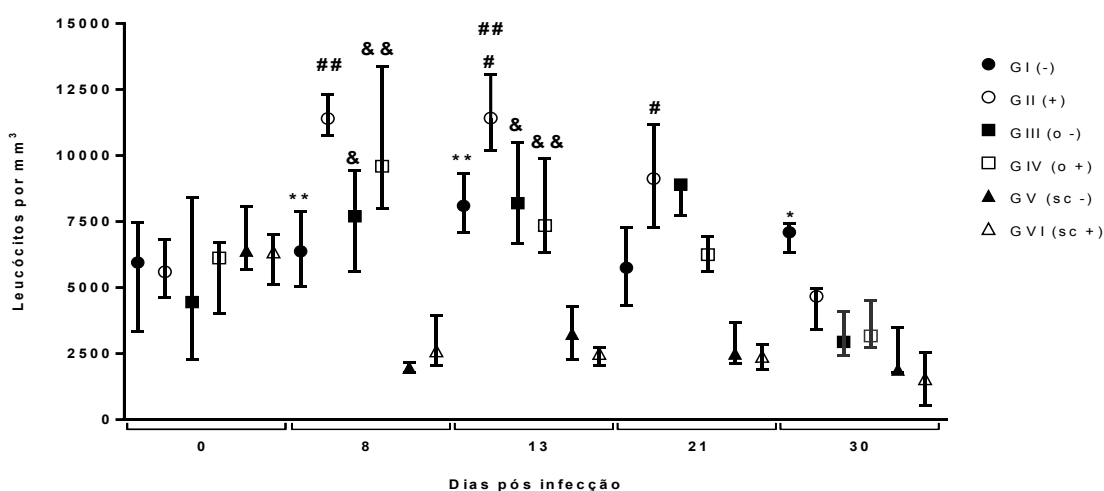


Figura 8: Contagem global de leucócitos por mm³ de sangue realizada em ratos Wistar machos nos dias 0, 8, 13, 21 e 30 d.p.i. Valores expressos em mediana e intervalo interquartil. Os grupos experimentais correspondem aos descritos detalhadamente na seção Material e métodos 3.2. Diferenças foram consideradas estatisticamente significativas quando $p < 0,05$. Comparações intergrupos estão indicadas por símbolos quando apresenta diferença estatística: * G I vs. G III, ** G I vs. G V, # G II vs. G IV, ## G II vs. G VI, & G III vs. G V e && G IV vs. G VI.

4.2.2 Diminuição na contagem de linfócitos nos grupos de animais tratados via subcutânea (infectado ou não com *S. venezuelensis*)

A contagem diferencial de linfócitos está demonstrada na Figura 9. As análises estatísticas intragrupos (não exibidas no gráfico) mostraram que os grupos controles

G I e G II e os grupos tratados via oral G III e G IV não apresentaram diferença significativa na contagem de linfócitos entre os dias. Somente os grupos tratados via subcutânea G V e G VI mostraram diferença significativa ao longo dos dias ($P < 0,05$). O G V apresentou diminuição significativa de linfócitos do dia 0 para o dia 8 e 13 e G VI apresentou diminuição significativa do dia 0 para o dia 8.

As análises intergrupos mostraram que, comparando os grupos orais com o seu respectivo controle, não houve diferença estatística significativa de linfócitos em nenhum dia. Houve diferença estatística entre os grupos subcutâneo e o controle e entre os grupos tratados com prednisolona ($P < 0,05$). Entre os grupos tratados via subcutânea e o controle, houve diminuição significativa nos dias 8 e 13 tanto do G V quanto do G VI. Comparando os grupos tratados com a prednisolona, houve diminuição estatística entre o grupo subcutâneo G V comparado com o oral G III e entre o subcutâneo G VI comparado com G IV nos dias 8 e 13.

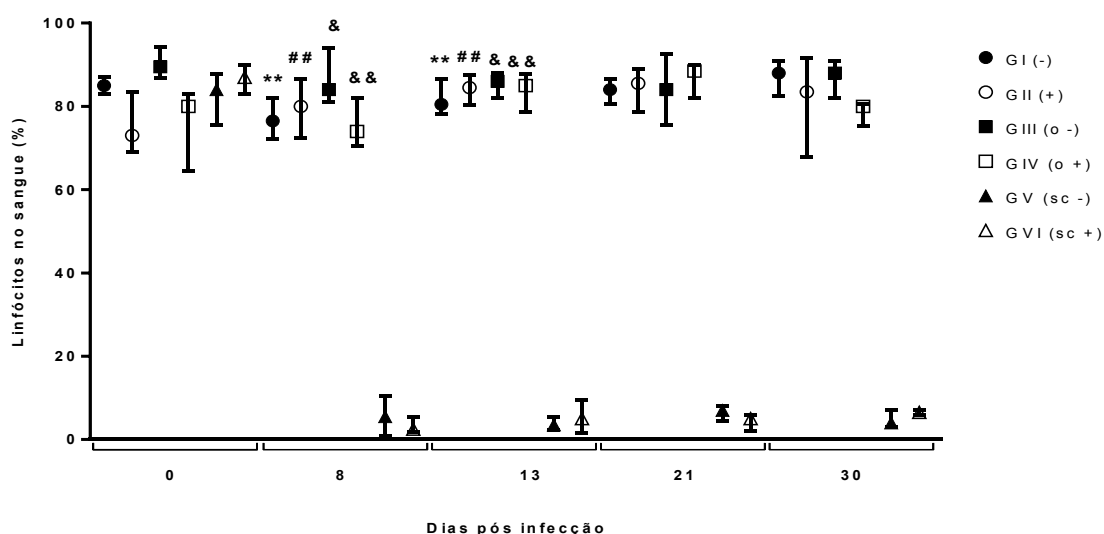


Figura 9: Porcentagem de linfócitos por mm^3 de sangue realizada em ratos Wistar machos nos dias 0, 8, 13, 21 e 30 d.p.i. Valores expressos em mediana e intervalo interquartil. Os grupos experimentais correspondem aos descritos detalhadamente na seção Material e métodos 3.2. Diferenças foram consideradas estatisticamente significativas quando $p < 0,05$. Comparações intergrupos estão indicadas por símbolos quando apresenta diferença estatística: * G I vs. G III, ** G I vs. G V, # G II vs. G IV, ## G II vs. G VI, & G III vs. G V e && G IV vs. G VI.

4.2.3 Aumento na contagem de neutrófilos nos grupos de animais tratados via subcutânea (infectado ou não com *S. venezuelensis*)

A Figura 10 demonstra a contagem diferencial de neutrófilos. As análises estatísticas intragrupos (não exibidas no gráfico) mostraram que os grupos G I, G V e G VI apresentam diferença significativa ao longo dos dias ($P < 0,05$). O G II e os grupos tratados via oral G III e G IV não apresentaram diferença significativa de neutrófilos entre os dias analisados. G I apresentou aumento significativo do dia 0 para o dia 8. Na análise dos grupos tratados via subcutânea G V apresentou aumento significativo de neutrófilos do dia 0 para o dia 8 e 13 e G VI apresentou aumento significativo do dia 0 para o dia 8.

As análises intergrupos mostraram diferença estatística entre eles ($P < 0,05$), somente G IV não houve diferença em nenhum dos dias analisados. Comparando os grupos tratados via oral com o seu respectivo controle, observa-se que houve diminuição estatística somente do G III no dia 8. Entre os grupos subcutâneo e o controle, houve aumento estatístico do G V e G VI nos dias 8 e 13. O mesmo foi observado nos grupos tratados com a prednisolona, nos dias 8 e 13 houve um aumento estatístico entre o grupo subcutâneo G V comparado com o oral G III e o subcutâneo G VI comparado com o oral GIV.

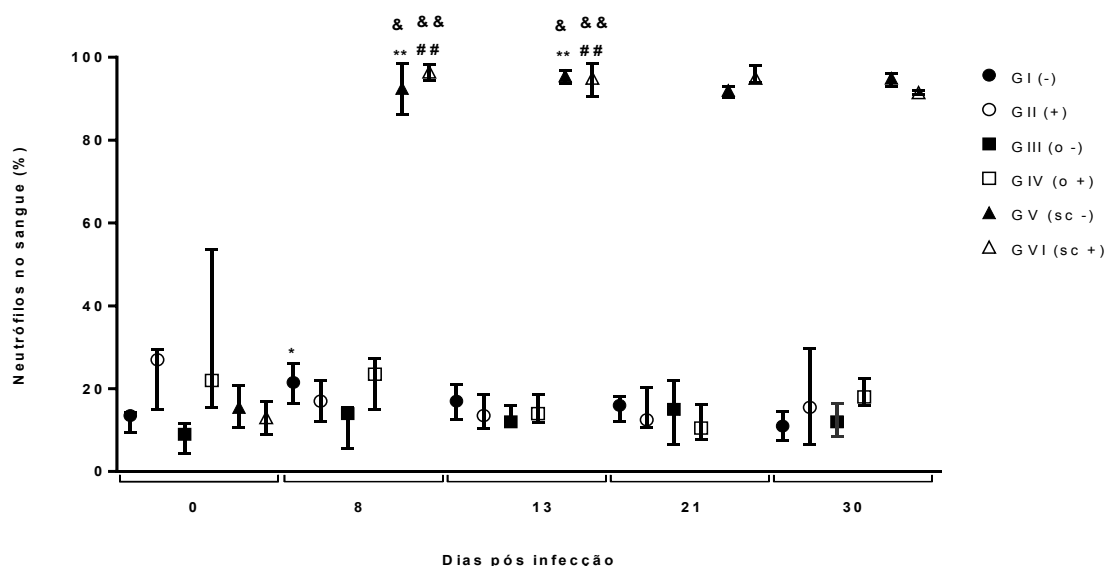


Figura 10: Porcentagem de neutrófilos por mm³ de sangue realizada em ratos Wistar machos nos dias 0, 8, 13, 21 e 30 d.p.i. Valores expressos em mediana e intervalo interquartil. Os grupos experimentais correspondem aos descritos detalhadamente na seção Material e métodos 3.2. Diferenças foram consideradas estatisticamente significativas quando $p < 0,05$. Comparações intergrupos estão indicadas por símbolos quando apresenta diferença estatística: * G I vs. G III, ** G I vs. G V, # G II vs. G IV, ## G II vs. G VI, & G III vs. G V e && G IV vs. G VI.

4.3 Análise parasitológica

As contagens de ovos por grama de fezes e de fêmeas parasitas foram realizadas nos grupos infectados com *S. venezuelensis* G II, G IV e G VI.

4.3.1 O tratamento com prednisolona administrado via oral no grupo de animais infectados com *S. venezuelensis* provocou uma maior eliminação de ovos

A Figura 11 nos mostra os picos de liberação de ovos de *S. venezuelensis*. O nos dias 7, 13, 26 e 30 d.p.i., e o grupo via subcutânea nos dias 7 e 30 d.p.i. Nos dias 7, 13 e 26 d.p.i. o grupo oral G IV apresentou uma contagem maior de ovos do que o grupo via subcutânea G VI. No último dia de experimentação, observa-se que ainda havia liberação de ovos nos animais imunocompetentes e imunossuprimidos (mediana: G II: 100 ovos, G IV: 2.625 ovos e G VI: 2.100 ovos). As análises estatísticas entre o mesmo grupo ao longo dos dias foram representadas pelos símbolos no gráfico.

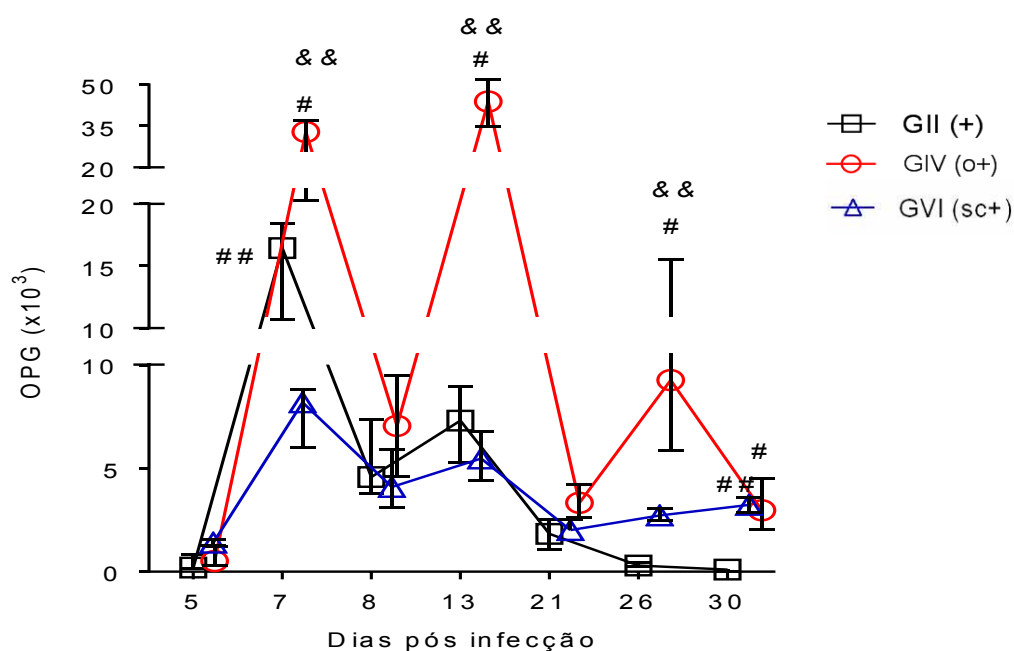


Figura 11: Contagem de ovos por grama de fezes de ratos infectados experimentalmente com *S. venezuelensis*. Valores expressos em mediana e intervalo interquartil. Os grupos experimentais correspondem aos descritos detalhadamente na seção Material e métodos 3.2. Diferenças foram consideradas estatisticamente significativas quando $P < 0,05$. Comparações intergrupos estão indicadas por símbolos quando apresenta diferença estatística: # G II vs. G IV, ## G II vs. G VI, e && G IV vs. G VI.

A análise de OPG acumulada (Figura 12) demonstra que os animais do grupo tratado via oral G IV apresentaram maior liberação de ovos (mediana: 89.125). Os animais do grupo tratado via subcutânea apresentaram OPG acumulada menor (mediana: 20.825) que o controle (mediana: 28.175). As análises estatísticas entre o mesmo grupo ao longo dos dias foram representada pelos símbolos no gráfico.

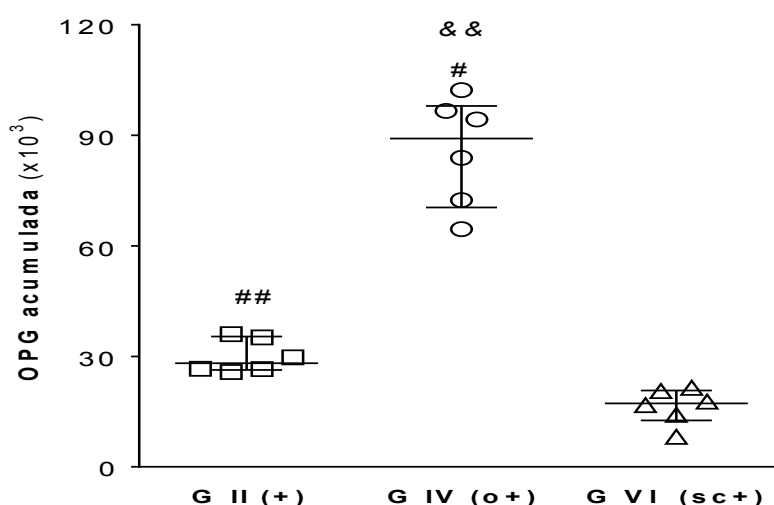


Figura 12: Análise de OPG acumulada de ratos infectados experimentalmente com *S. venezuelensis*. Valores expressos em mediana e intervalo interquartil. Os grupos experimentais correspondem aos descritos detalhadamente na seção Material e métodos 3.2. Diferenças foram consideradas estatisticamente significativas quando $P < 0,05$. Comparações intergrupos estão indicadas por símbolos quando apresenta diferença estatística: # G II vs. G IV, ## G II vs. G VI, e && G IV vs. G VI.

4.3.2 O tratamento com prednisolona administrado via oral no grupo de animais infectados com *S. venezuelensis* provocou um aumento no número de fêmeas parasitas no intestino

A contagem de fêmeas parasitas (Figura 13) mostrou diferença significativa entre o grupo controle G II (mediana: 51) e oral G IV (mediana:192.5), ou seja, a mediana de fêmeas recuperadas nos animais tratados via oral foi maior do que a mediana do grupo controle ($P = 0.0152$). O G VI apresentou o menor número de fêmeas recuperadas (mediana: 16).

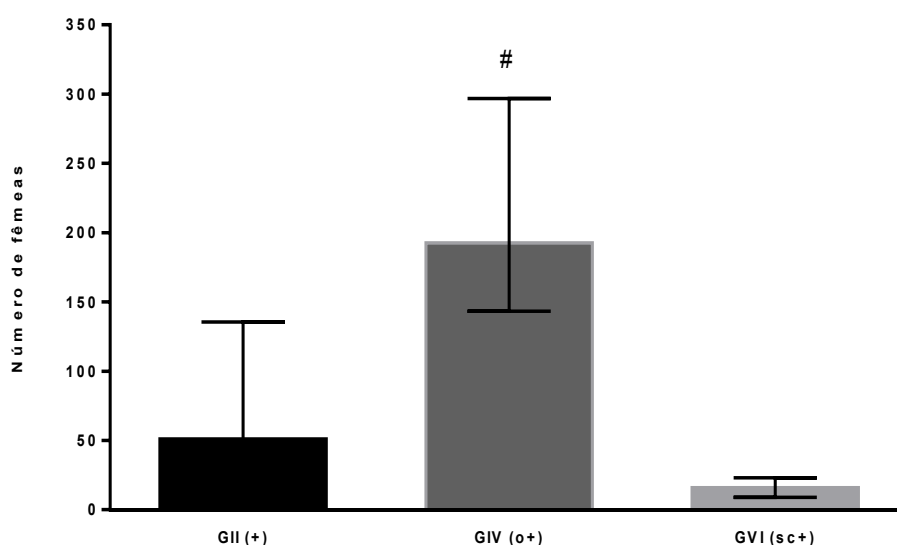


Figura 13: Carga de fêmeas parasitas recuperadas dos intestinos de ratos infectados experimentalmente com *S. venezuelensis*. Valores expressos em mediana e intervalo interquartil. Os grupos experimentais correspondem aos descritos detalhadamente na seção Material e métodos 3.2. Diferenças foram consideradas estatisticamente significativas quando $P < 0,05$. Comparações intergrupos estão indicadas por símbolos quando apresenta diferença estatística: # G II vs. G IV.

4.4 Análise imunológica

4.4.1 Houve produção de IgG, IgG1 e IgG2a somente no grupo controle positivo G II e oral positivo G IV

O teste ELISA (Figura 14) foi utilizado para avaliar a produção de anticorpos IgG, IgG1 e IgG2a anti- *S. venezuelensis* em soros de animais controles e tratados com prednisolona. A detecção de anticorpos IgG (Figura 14a) iniciou no dia 13, aumentou até o dia 21 e diminuiu até o dia 30 no grupo controle GII e oral G IV. A IgG1 (Figura 14b) começou a ser detectada a partir do dia 13 nos grupos G II e G IV e aumentou até o dia 30. A IgG2a (Figura 14c) começou a ser detectada no dia 13 no grupo G IV e no dia 21 no grupo G II, depois aumentou a produção até o dia 30. Não foram detectados anticorpos IgG, IgG1 e IgG2a nos grupos G I, G III, G V e G VI.

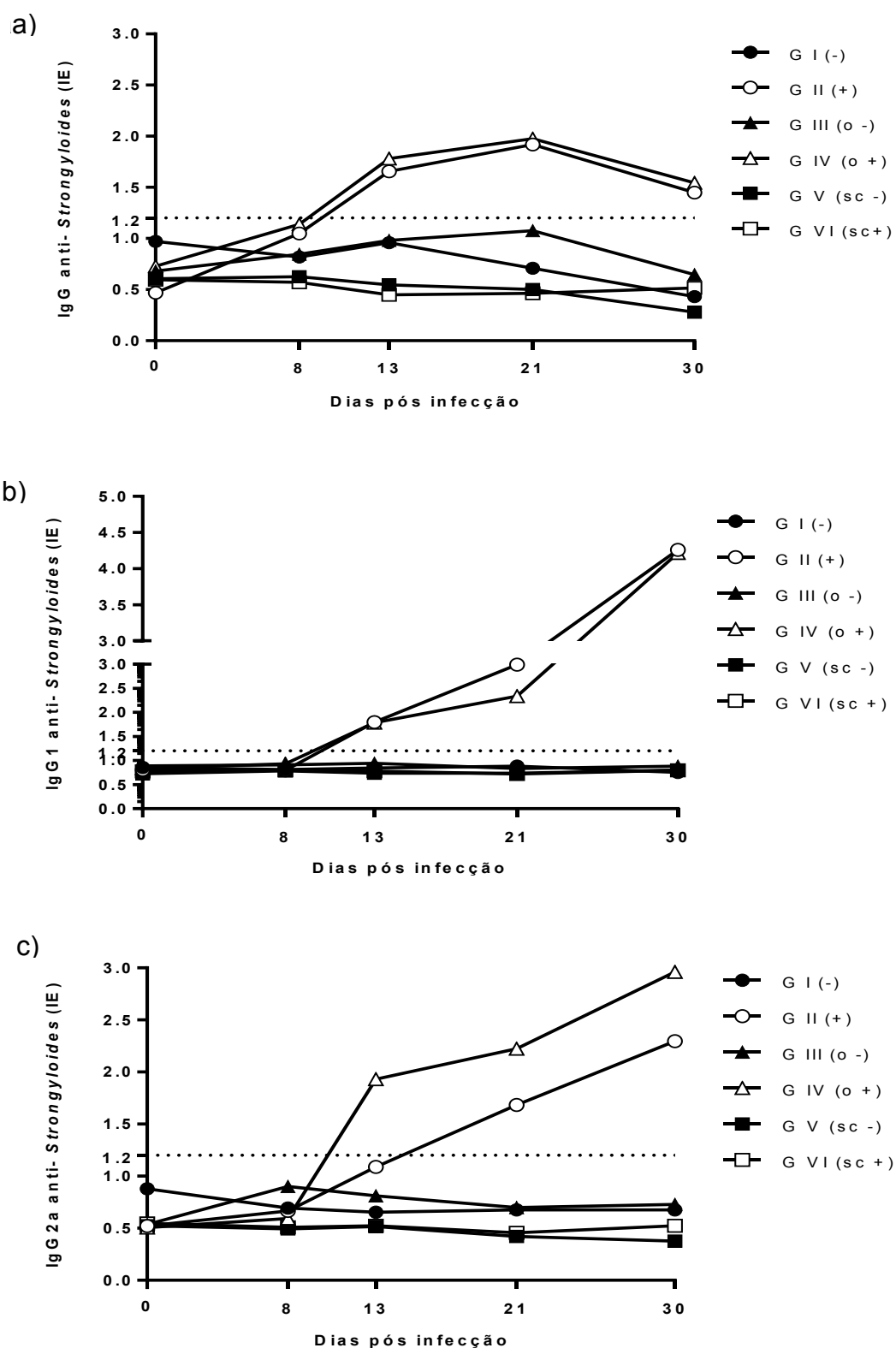


Figura 14: Cinética de ELISA de detecção de anticorpos IgG (a), IgG1 (b) e IgG2a (c) em pool de amostras de soro de ratos Wistar. Um pool (por dia) de soro de cada grupo foi realizada. Dados expressos em Índice ELISA (IE), onde o limiar de detecção (*cut-off*) é 1,2. Os grupos experimentais correspondem aos descritos detalhadamente na seção Material e métodos 3.2.

5. DISCUSSÃO

A estrongiloidíase é um importante problema de saúde pública que apresenta grau variável de gravidade e apresentação clínica. As formas mais graves da doença são hiperinfecção e disseminação que podem ocorrer como resultado de um estado imunossuprimido. A síndrome de hiperinfecção é estimada ocorrer em 1,5 a 2,5% dos pacientes com estrongiloidíase, podendo chegar a uma taxa de mortalidade de até 90% (VADLAMUDI; CHI; KRISHNASWAMY, 2006, KHADKA et al., 2018; MINAMIDE; FUKUSHIMA; INOKUMA, 2018). Buonfrate e colaboradores (2013) apresentaram uma revisão de casos de hiperinfecção e disseminação, sendo o uso de corticosteroides associado em 67% nos casos de disseminação. Pacientes com doença renal crônica que utilizam prednisolona oral foram diagnosticados com síndrome de hiperinfecção por *S. stercoralis* (QU et al., 2016). Logo é importante o estudo da estrongiloidíase em casos onde se utilizam corticosteroides para melhor avaliar a imunossupressão causada por esses medicamentos.

Observou-se que os animais dos grupos controles (G I e G II) e tratados via oral (G III e G IV) apresentaram ganho de peso ao longo dos dias e o animais dos grupos tratados via subcutânea mantiveram seus pesos. Estudos recentes mostram uma redução média de peso em animais tratados com metilprednisolona intramuscular (GRESSLER et al., 2018) e prednisolona intraperitoneal (BIRICIK et al., 2018). Animais tratados com dexametasona via subcutânea mostraram perda de peso corporal grave, e com uma importante redução da gordura subcutânea (TEFÉ-SILVA et al., 2008). Semelhante ao observado em nossos resultados, Machado e colaboradores (2006) avaliaram gerbis infectados com nematódeos de ovinos usando metilprednisolona intramuscular e concluíram que o ganho de peso desses animais tratados foi menor que o não tratado, e que o fármaco é capaz de exercer efeito significativo sobre a eficiência bionutricional desses animais.

Houve mortalidade de animais ao longo dos experimentos. Um animal do G I e do GIII morreram, 3 animais do G V e 4 animais do G VI. Não foi observado morte nos grupos G II e G IV. Uma alta porcentagem de mortalidade em animais tratados com metilprednisolona (intraperitoneal) também foi observada em camundongos infectados com *S. stercoralis*. A mortalidade foi observada a partir do dia 19 nos animais tratados, com uma mortalidade final de 54%, em comparação com 11% nos controles (PATTON et al. 2018).

Os efeitos adversos dos glicocorticoides são muito bem conhecidos. O seu uso aumenta a suscetibilidade às infecções por bactérias, vírus, fungos e parasitos, sendo as infecções bacterianas as mais comuns. O efeito dos glicocorticoides no risco de infecções graves é mais relevante do que o efeito de outros agentes imunossupressores comumente utilizados. As infecções merecem menção especial devido à importante morbidade e mortalidade que provocam (CERVERA et al., 2003; DANZA; RUIZ-IRASTORZA, 2013; DANZA et al., 2018; LEE; SHIN, 2018).

Os corticosteroides inibem a produção de fatores celulares inflamatórios, como monócitos e linfócitos e diminuem o extravasamento de leucócitos (THIMMASETTAIAH; CHANDRAPPA, 2012; PARK et al., 2015). Nos linfócitos, os glicocorticoides exercem um efeito maior sobre as células T do que nas células B, causando relativo enriquecimento das células B. Entre as células T, os glicocorticoides causam queda preferencial nos números de CD4, mas não nas células T CD8 (CORRIGAN, 1999). Observando a contagem global de leucócitos e diferencial de linfócitos, observou-se que ao comparar os grupos tratados com os seus respectivos controles, a diminuição de leucócitos nos grupos orais ocorreu nos dias finais da imunossupressão (G III dia 30 e G IV dias 13 e 21) e que não houve diferença na contagem de linfócitos. Nos grupos subcutâneos houve diminuição tanto na contagem global de leucócitos quanto de linfócitos no início do experimento (G V e G VI dias 8 e 13). Comparando os grupos tratados, observou-se que houve diminuição de leucócitos e linfócitos dos grupos subcutâneos (G V e G VI) em relação aos grupos orais (G III e GIV) também no início dos experimentos (dias 8 e 13). Observou-se que a imunossupressão alterou o perfil imune. Essa linfocitopenia após o uso de glicocorticoide pode ser devido ao aumento do sequestro celular nos tecidos periféricos ou à redução do número total de linfócitos nos tecidos linfáticos periféricos ou em ambos (YAO et al., 2008; PUBCHEM, 2019). A via oral teve um efeito mais tardio possivelmente pela demora da ação da droga (GUPTA; BHANDARI; SHARMA, 2009), tendo um efeito acumulativo até o final do experimento. Pela via subcutânea, o efeito da droga é mais rápido, pois atinge mais rapidamente a corrente sanguínea (SEQUEIRA et al., 2019).

Os neutrófilos são células imunitárias rapidamente recrutadas para locais inflamatórios para realizar fagocitose e destruição de organismos invasores (FOX et al., 2010). Após sua ação fagocitária, eles sofrem apoptose e são subsequentemente

removidos do tecido inflado para retornar à homeostase normal (HALLETT et al., 2008). Outros estudos mostraram que os glicocorticoides aumentam o acúmulo de neutrófilos comparando com controles não tratados (COX, 1995; AOKI et al., 2002). O mesmo foi observado no presente estudo, quando observou-se a contagem de neutrófilos dos grupos tratados via subcutânea. Contudo, o mesmo não foi observado no tratamento por via oral.

Estudos relatam que o maior pico de eliminação de ovos de *S. venezuelensis* ocorre no 8º dia após a infecção (MARQUES et al., 2015; SOUSA et al., 2016). Neste presente estudo, o primeiro pico de eliminação de ovos ocorreu no dia 7 d.p.i. tanto no grupo controle quanto nos grupos tratados via oral e subcutâneo. Houve ainda picos de eliminação de ovos no grupo tratado via oral nos dias 13, 26 e 30 d.p.i. comparando com o controle e nos dias 7, 13 e 26 d.p.i. comparado com o subcutâneo. Isso pode ser explicado pelo reforço dado por cinco dias consecutivos da droga, iniciando nos dias 8 e 21. No dia 30 d.p.i. também houve pico de eliminação no grupo tratado via subcutânea. Na análise de OPG acumulada a maior liberação de ovos aconteceu no grupo tratado via oral. O que corrobora com a quantidade de fêmeas recuperadas nesse grupo e ao fato de que animais tratados com glicocorticoides observa-se um aumento na fecundidade das fêmeas, tendo como resultado um aumento na produção de ovos (MACHADO et al., 2011).

No dia 30 ainda observou-se liberação de ovos em animais imunocompetentes e imunossuprimidos. A detecção de ovos em fezes de ratos imunocompetentes infectados com *S. venezuelensis* é observada até 45 dias após a infecção (MARQUES et al., 2015). Mais pesquisas são necessárias para verificar até quando haverá liberação de ovos nas fezes de animais infectados com *S. venezuelensis*.

Estudos mostraram que fêmeas podem ser encontradas em intestino de animais imunocompetentes e infectados com *S. venezuelensis* até dia 35 d.p.i. (MARQUES et al., 2015). No presente estudo, observa-se no dia 30 mediana de 51 fêmeas no grupo controle. Em animais imunossuprimidos com metilprednisolona (intramuscular) (GRESSLER et al., 2018) ou dexametasona (subcutânea) (MACHADO et al., 2011), mostraram que há aumento no número de fêmeas recuperados em relação ao controle. A contagem de fêmeas parasitas mostrou um aumento significativo somente entre o grupo oral G IV comparado com o controle G II no dia 30 d.p.i. Esse aumento pode ser devido ao efeito direto dos glicocorticoides sobre os próprios parasitos,

(GENTA,1992), sabendo que o tratamento oral passa diretamente pelo trato digestivo, ou seja pelo intestino, o que pode explicar o aumento na contagem de fêmeas. O motivo do baixo número de fêmeas recuperadas no grupo tratado via subcutânea foi devido a quantidade de animais que estavam vivos no final do experimento (2 animais somente) enquanto do grupo oral não teve nenhuma morte.

A detecção de subclasses de IgG anti- *S. stercoralis* por ELISA em humanos tem se mostrado altamente específica (LINDO et al., 1994). Estudos mostram que pacientes imunocompetentes com estrogiloidíase apresentam níveis significativamente mais altos e taxas de positividade de IgG e IgG4 específicas para *Strongyloides*, em comparação com pacientes com outros parasitos e indivíduos saudáveis (RODRIGUES et al., 2007). Animais infectados com *Strongyloides* mostrou presença de IgG (MARQUES et al., 2015) e de IgG1 e IgG2a em comparação com não infectados (WILKES et al., 2007; MACHADO et al., 2011). Além disso, métodos sorológicos permaneceram positivos mesmo após a completa eliminação do parasito (GONZAGA et al., 2011).

Em pacientes imunocomprometidos, observa-se diminuição na produção de anticorpos (GORGANI-FIROUZJAEI et al., 2018). Animais tratados com glicocorticoides (dexametasona) reduziram significativamente a síntese de IgG1 e IgG2a em todos os dias analisados em comparação com animais controles e infectados (MACHADO et al., 2011). Esses resultados corroboram com esse estudo. Houve produção de IgG, IgG1 e IgG2a nos animais controle infectados (G II) e nos animais do grupo oral infectado (G IV). A IgG começou a positivar a partir do dia 8 e aumentou até o dia 21, e depois teve queda até o dia 30. A IgG1 e IgG2a começou a positivar dia 13 e aumentou até o dia 30. Nos grupos controle negativo (G I), oral negativo (G III) e os grupos subcutâneos (G V e G VI) não houve produção de IgG, IgG1 e IgG2a. Esse resultado nos mostra que a imunossupressão oral não atuou na resposta humoral desses animais, que apenas a via subcutânea foi capaz de reduzir a produção desses anticorpos.

O tratamento com prednisolona administrado via oral e via subcutânea foi capaz de produzir efeitos supressores em animais infectados ou não com *S. venezuelensis*. A imunossupressão pela via oral modula diretamente o parasito provocando um aumento no número de fêmeas parasitas e uma maior eliminação de ovos, além de ser mais seguro devido à maior sobrevivência desses animais. A imunossupressão pela

via subcutânea modula o sistema imune do hospedeiro, podendo ser observada por meio da contagem global e diferencial de leucócitos e pela não detecção da IgG e suas frações nesses animais.

6. CONCLUSÕES

- O tratamento com prednisolona administrado via oral e via subcutânea subcutânea foi capaz de produzir efeitos supressores em animais infectados ou não com *S. venezuelensis*.
- Os animais tratados via subcutânea não mostraram ganho de peso, ao contrário dos tratados via oral.
- A taxa de sobrevivência foi menor nos animais dos grupos tratados via subcutânea.
- A análise hematológica mostrou diminuição total de leucócitos e linfócitos, e um aumento de neutrófilos nos animais tratados via subcutânea. Animais tratados via oral mostraram nos últimos dias diminuição na contagem de leucócitos mas linfócitos e neutrófilos permaneceram inalterados. Não houve alteração de eosinófilos, monócitos e basófilos nos grupos controles e nem nos grupos tratados.
- A análise parasitológica mostrou aumento da carga parasitária, com uma maior eliminação de ovos e de fêmeas parasitas nos animais do grupo tratado via oral.
- A análise imunológica mostrou um comprometimento da resposta imune humoral nos animais dos grupos tratados via subcutânea, provocando uma redução nos níveis de IgG, IgG1 e IgG2a
- Ambas as vias causam imunossupressão nos animais, sendo a via oral mais fácil e segura e a subcutânea apesar de ser mais invasiva, a resposta é mais rápida.

7. REFERÊNCIAS

- AOKI, K., ISHIDA, Y., KIKUTA, N., KAWAI, H., KUROIWA, M., SATO, H. Role of CXC chemokines in the enhancement of LPS-induced neutrophil accumulation in the lung of mice by dexamethasone. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 294, p. 1101-1108, 2002.
[https://doi.org/10.1016/S0006-291X\(02\)00573-9](https://doi.org/10.1016/S0006-291X(02)00573-9)
- ARIFIN, N., HANAFIAH, K. M., AHMAD, H., NOORDIN, R. Serodiagnosis and early detection of *Strongyloides stercoralis* infection. **Journal of Microbiology, Immunology and Infection**, v.1, p. 1-8, 2018.
<https://doi.org/10.1016/j.jmii.2018.10.001>
- ATKINS, N. S., CONWAY, D. J., LINDO, J. F., BAILEY, J. W., BUNDY, D. A. L3 antigen-specific antibody isotype responses in human strongyloidiasis: correlations with larval output. **Parasite Immunology**, v. 21, p. 517-526, 1999.
<https://doi.org/10.1046/j.1365-3024.1999.00248>.
- AYYAR, V. S., ALMON, R. R., DUBOIS, D. C., SUKUMARAN, S., QU, J., JUSKO, W. J. Functional proteomic analysis of corticosteroid pharmacodynamics in rat liver: Relationship to hepatic stress, signaling, energy regulation, and drug metabolism. **Journal of Proteomics**, v.160, p. 84-105, 2017.
<https://doi.org/10.1016/j.jprot.2017.03.007>
- BARAM, T. Z., MITCHELL, W. C., TOURNAY, A., SNEAD, O. C., HANSON, R. A., HORTON, E. J. High-dose corticotropin (ACTH) versus prednisone for infantile spasms: a prospective, randomized, blinded study. **Pediatrics**, v. 97, p. 375-379, 1996.
- BEKNAZAROVA, M., WHILEY, H., ROSS, K. Strongyloidiasis: A disease of socioeconomic disadvantage. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 13, p. 1-15, 2016.
<https://doi.org/10.3390/ijerph13050517>
- BIRICIK, E., GÜLEÇ, E., ÖCAL, I., YILMAZ, M. B., KARACAER, F., ÖZCENGİZ, D. Determining the effect of long-term dexamethasone and prednisolone treatment on sugammadex. **Turkish Journal of Medical Sciences**, v. 48, p. 1024-1029, 2018.
<https://doi.org/10.3906/sag-1804-160>.
- BOCK, C. N., BABU, S., BRELOER, M., RAJAMANICKAM, A., BOOTHRA, Y., BRUNN, M. L. RAUSCH, S. Th2/1 hybrid cells occurring in murine and human strongyloidiasis share effector functions of Th1 cells. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 7, p. 1-15, 2017.
<https://doi.org/10.3389/fcimb.2017.00261>
- BON, B.; HOUZE, S.; TALABANI, H.; MAGNE, D.; BELKADI, G.; DEVELOUX, M.; SENGHOR, Y.; CHANDENIER, J.; ANCELLE, T.; HENNEQUIN, C. Evaluation of a rapid enzyme-linked immunosorbent assay for diagnosis of strongyloidiasis. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 48, p. 1716-1719, 2010.

<https://doi.org/10.1128/JCM.02364-09>

BONNE-ANNÉE, S., KEREPESI, L.A., HESS, J.A., WESOŁOWSKI, J., PAUMET, F., LOK, J.B., NOLAN, T.J., ABRAHAM, D. 2014. Extracellular traps are associated with human and mouse neutrophil and macrophage mediated killing of larval *Strongyloides stercoralis*. **Microbes and Infection**, v. 16, p. 502-511, 2014.

<https://doi.org/10.1016/j.micinf.2014.02.012>

BRELOER, M.; ABRAHAM, D. *Strongyloides* infection in rodents: immune response and immune regulation. **Parasitology**, v. 144, p. 295-315, 2016.

<https://doi.org/10.1017/S0031182016000111>

BRUMPT, E. **Précis de Parasitologie**, 6th ed, Paris: Masson et Cie, 1947, p. 1042.

BUONFRATE, D., REQUENA-MENDEZ, A., ANGHEBEN, A., MUÑOZ, J., GOBBI, F., VAN DEN ENDE, J., BISOFFI, Z. Severe strongyloidiasis: a systematic review of case reports. **BMC Infectious Diseases**, v. 13, p. 1-10, 2013.

<https://doi.org/10.1186/1471-2334-13-78>

BUONFRATE, D., FORMENTI, F., PERANDIN, F., BISOFFI, Z. Novel approaches to the diagnosis of *Strongyloides stercoralis* infection. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 21, p. 543-552, 2015.

<https://doi.org/10.1016/j.cmi.2015.04.001>

BUTTGEREIT, F., STRAUB, R. H., WEHLING, M., BURMESTER, G. R. Glucocorticoids in the treatment of rheumatic diseases: an update on the mechanisms of action. **Arthritis & Rheumatism**, v. 50, p. 3408-3417, 2004.

<https://doi.org/10.1002/art.20583>

CAMPO-POLANCO, L. F., SARMIENTO, J. M. H., MESA, M. A., FRANCO, C. J. V., LÓPEZ, L., BOTERO, L. E., BUILES, L. A. G. Strongyloidiasis in humans: diagnostic efficacy of four conventional methods and real-time polymerase chain reaction.

Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, v. 51, p.493-502, 2018.

<https://doi.org/10.1590/0037-8682-0055-2018>

CARVALHO, G. D., MASSENO, A. P. B., ZANINI, M. S., ZANINI, S. F., PORFÍRIO, L. C., MACHADO, J. P., MAUAD, H. Avaliação clínica de ratos de laboratório (*Rattus norvegicus* linhagem Wistar): parâmetros sanitários, biológicos e fisiológicos. **Ceres**, v. 56, p.51-57, 2009.

CERVERA, R., KHAMASHTA, M. A., FONT, J., SEBASTIANI, G. D., GIL, A., LAVILLA, P., FERNÁNDEZ-NEBRO, A. Morbidity and mortality in systemic lupus erythematosus during a 10-year period: a comparison of early and late manifestations in a cohort of 1,000 patients. **Medicine**, v. 82, p. 299-308, 2003.

<https://doi.org/10.1097/01.md.0000091181.93122.55>

CHAVES, L. A., GONÇALVES, A. L. R., PAULA, F. M., SILVA, N. M., SILVA, C. V., COSTA-CRUZ, J. M., FREITAS, M. A. Comparison of parasitological, immunological and molecular methods for evaluation of fecal samples of immunosuppressed rats experimentally infected with *Strongyloides venezuelensis*. **Parasitology**, v. 142, p. 1715-1721, 2015.

<https://doi.org/10.1017/S0031182015001298>

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

<https://doi.org/10.1590/S0036-46652015000500010>

CORRIGAN, C. J. Cellular effects of glucocorticoids. **Immunology and Allergy Clinics of North America**, v. 19, p. 671-682, 1999.

[https://doi.org/10.1016/S0889-8561\(05\)70116-8](https://doi.org/10.1016/S0889-8561(05)70116-8)

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

COX, G.. Glucocorticoid treatment inhibits apoptosis in human neutrophils. Separation of survival and activation outcomes. **The Journal of Immunology**, v. 154, p. 4719-4725, 1995.

DANZA, A.; RUIZ-IRASTORZA, G. Infection risk in systemic lupus erythematosus patients: susceptibility factors and preventive strategies. **Lupus**, v. 22, p. 1286-1294, 2013.

<https://doi.org/10.1177/0961203313493032>

DANZA, A., BORGIA, I., NARVÁEZ, J. I., BACCELLI, A., AMIGO, C., REBELLA, M., DOMÍNGUEZ, V. Intravenous pulses of methylprednisolone to treat flares of immune-mediated diseases: how much, how long?. **Lupus**, v. 27, p. 1177-1184, 2018.

<https://doi.org/10.1177/0961203318768888>

DE CARVALHO, E. F. G.; DE SOUSA, J. E. N.; GONÇALVES, A. L. R.; DA CUNHA-JUNIOR, J. P.; COSTA-CRUZ, J. M. Immunoblotting using *Strongyloides venezuelensis* larvae, parthenogenetic females or eggs extracts for the diagnosis of experimentally infected immunosuppressed rats. **Experimental Parasitology**, v. 157, p. 117-123, 2015.

<https://doi.org/10.1016/j.exppara.2015.07.009>

ERICSSON, C. D.; STEFFEN, R.; SIDDIQUI, A. A.; BERK, S. L. Diagnosis of *Strongyloides stercoralis* infection. **Clinical Infectious Diseases**, v. 33, p. 1040-1047, 2001.

<https://doi.org/10.1086/322707>

EZRAHI, S.; ASERIN, A.; GARTI, N. Basic principles of drug delivery and microemulsions—the case of paclitaxel. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 263, p. 95-130, 2018.

<https://doi.org/10.1016/j.cis.2018.11.004>

FACCIOLI, L. H., MEDEIROS, A. I., MALHEIRO, A. R. C. L. R., PIETRO, R. C. L. R., JANUARIO, A., VARGAFTIG, B. B. Interleukin-5 modulates interleukin-8 secretion in eosinophilic inflammation. **Mediators of Inflammation**, v. 7, p. 41-47, 1998.

<https://doi.org/10.1080/09629359891379>

FELICIANO, N. D.; RIBEIRO, V. S.; GONZAGA, H. T.; SANTOS, F. A.; FUJIMURA, P. T.; GOULART, L. R.; COSTA-CRUZ, J. M. Short epitope-based synthetic peptides for serodiagnosis of human strongyloidiasis. **Immunology Letters**, v. 172, p. 89-93, 2016.

<https://doi.org/10.1016/j.imlet.2016.03.002>

FOX, S., LEITCH, A. E., DUFFIN, R., HASLETT, C., ROSSI, A. G. Neutrophil apoptosis: relevance to the innate immune response and inflammatory disease. **Journal of Innate Immunity**, v. 2, p. 216-227, 2010.

<https://doi.org/10.1159/000284367>

GENTA, R. M. Dysregulation of strongyloidiasis: a new hypothesis. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 5, p. 345-355, 1992.

<https://doi.org/10.1128/CMR.5.4.345>

GONÇALVES, A. A., LOPES, C. A., GONZAGA, H. T., GONÇALVES, A. L. R., LEVENHAGEN, M. A., OLIVEIRA, L. C. M., COSTA-CRUZ, J. M. Detection of immune complexes and evaluation of alcoholic individuals' serological profile in the diagnosis of strongyloidiasis. **Parasitology International**, v. 67, p. 644-650, 2018.

<https://doi.org/10.1016/j.parint.2018.06.007>

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

<https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2011.01.016>

GONZALEZ-GIRALDO, E., STAFSTROM, C. E., STANFIELD, A. C., KOSSOFF, E. H. Treating infantile spasms with high-dose oral corticosteroids: A retrospective review of 87 children. **Pediatric Neurology**, v. 87, p. 30-35, 2018.

<https://doi.org/10.1016/j.pediatrneurol.2018.06.011>

GORDON, H. M., WHITLOCK, H. V. A new technique for counting nematode eggs in sheep faeces. **Journal of the Council for Scientific and Industrial Research**, v. 12, p. 50-52, 1939.

GORGANI-FIROUZJAEI, T., KALANTARI, N., JAVANIAN, M., GHAFARI, S. *Strongyloides stercoralis*: detection of parasite-derived DNA in serum samples obtained from immunosuppressed patients. **Parasitology Research**, v. 117, p. 2927-2932, 2018.

<https://doi.org/10.1007/s00436-018-5985-5>

GREENBERG, J., GREENBERG, J., HELMSTETTER, N. Chronic intestinal pseudo-obstruction due to *Strongyloides stercoralis*. **IDCases**, v.13, p.1-3, 2018.

<https://doi.org/10.1016/j.idcr.2018.e00425>

GRESSLER, L. T., GRANDO, T. H., DO CARMO, G. M., VAUCHER, R. A., STEFANI, L. M., MONTEIRO, S. G. *Meriones unguiculatus* infected by *Haemonchus contortus*: evaluation of different experimental protocols. **Journal of Helminthology**, v.1, p. 1-6, 2018.

<https://doi.org/10.1017/S0022149X18000408>

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

[https://doi.org/10.1016/S0065-308X\(08\)60036-6](https://doi.org/10.1016/S0065-308X(08)60036-6)

GROVE, D. I.; DAWKINS, H. J. S. Effects of prednisolone on murine strongyloidiasis. **Parasitology**, v. 83, p. 401-409, 1981.

<https://doi.org/10.1017/S0031182000085218>

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

[https://doi.org/10.1016/S0020-7519\(83\)80012-5](https://doi.org/10.1016/S0020-7519(83)80012-5)

GUILLAMET, L. J. V., SAUL, Z., MILJKOVIC, G., VILCHEZ, G.A., MENDONCA, N., GOURINENI, V., LILLO, N., PINTO, M., BAIG, A. GANGCUANGCO, E. M. *Strongyloides stercoralis* infection among human immunodeficiency virus (HIV)-infected patients in the United States of America: A case report and review of literature. **American Journal of Case Reports**, v.18, p.339-346, 2017.

<https://doi.org/10.12659/AJCR.902626>

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

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

HALLETT, J. M., LEITCH, A. E., RILEY, N. A., DUFFIN, R., HASLETT, C., ROSSI, A. G. Novel pharmacological strategies for driving inflammatory cell apoptosis and enhancing the resolution of inflammation. **Trends in Pharmacological Sciences**, v. 29, p. 250-257, 2008.

<https://doi.org/10.1016/j.tips.2008.03.002>

HOPPENFELD, M. S., KENNEDY, V., SHETH, K., CHANG, A., NELSON, J., FAIRCHILD, R. M. *Strongyloides* hyperinfection after immunosuppression in an immigrant from el Salvador: A case for early diagnosis and treatment. **JCR: Journal of Clinical Rheumatology**, v. 1, p. 1-3, 2018.

<https://doi.org/doi: 10.1097/RHU.0000000000000884>

JOHNSTON, F. H., MORRIS, P. S., SPEARE, R., MCCARTHY, J., CURRIE, B., EWALD, D., DEMPSEY, K. Strongyloidiasis: a review of the evidence for Australian practitioners. **Australian Journal of Rural Health**, v. 13, p. 247-254, 2005.
<https://doi.org/10.1111/j.1440-1584.2005.00710.x>

JOURDAN, P. M., LAMBERTON, P. H., FENWICK, A., ADDISS, D. G. Soil-transmitted helminth infections. **The Lancet**, v. 391, p. 252-265, 2018.
[https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(17\)31930-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(17)31930-X)

KALITA, J.; SANJEEV, K. B.; MISRA, U. K. Fatal *Strongyloides stercoralis* infection in a patient with chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy. **Pathogens and Global Health**, v. 106, p. 249-251, 2012.
<https://doi.org/10.1179/2047773212Y.0000000030>

KEARNS, T. M., CURRIE, B. J., CHENG, A. C., MCCARTHY, J., CARAPETIS, J. R., HOLT, D. C., WARD, L. Strongyloides seroprevalence before and after an ivermectin mass drug administration in a remote Australian Aboriginal community. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 11, p. 1-19, 2017.
<https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0005607>

KEISER, P.B.; NUTMAN, T. B. *Strongyloides stercoralis* in the immunocompromised population. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 17, p. 208-217, 2004.
<https://doi.org/10.1128/CMR.17.1.208-217.2004>

KHADKA, P., KHADKA, P., THAPALIYA, J., KARKEE, D. B. Fatal strongyloidiasis after corticosteroid therapy for presumed chronic obstructive pulmonary disease. **JMM Case Reports**, v. 5, p. 1-6, 2018.
<https://doi.org/10.1099/jmmcr.0.005165>

KOSMADAKIS, G., GEORGOULIAS, C., FILIOPOULOS, V., STEFANOPOULOS, I., SMIRLOGLOU, D., MICHAEL, S. Lethal *Strongyloides stercoralis* superinfection in an immunocompromised patient. **Renal Failure**, v. 32, p.750-752, 2010.
<https://doi.org/10.3109/0886022X.2010.486490>

KUPERSMITH, M. J., MOSTER, M., BHUIYAN, S., WARREN, F., WEINBERG, H. Beneficial effects of corticosteroids on ocular myasthenia gravis. **Archives of Neurology**, v. 53, p. 802-804, 1996.
<https://doi.org/10.1001/archneur.1996.00550080128020>

LARSEN, M. K., KOFOD, T., CHRISTIANSEN, A. E., STARCH-JENSEN, T. Different dosages of corticosteroid and routes of administration in mandibular third molar surgery: a systematic review. **Journal of Oral & Maxillofacial Research**, v. 9, p. 1-20, 2018.
<https://doi.org/10.5037/jomr.2018.9201>

LEE, G. E.; SHIN, C. G. Influence of pretreatment with immunosuppressive drugs on viral proliferation. **Journal of Microbiology and Biotechnology**, v.28, p. 1716-1722, 2018.
<https://doi.org/10.4014/jmb.1807.06054>

LEE, Y. G.; KIM, U. S. Efficacy and safety of low-to-moderate dose oral corticosteroid treatment in ocular myasthenia gravis. **Journal of Pediatric Ophthalmology and Strabismus**, v. 55, p. 339-342, 2018.

<https://doi.org/10.3928/01913913-20180620-01>

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

<https://doi.org/10.4269/ajtmh.1994.51.175>

LITTLE, M. D. Comparative morphology of six species of *Strongyloides* (Nematoda) and redefinition of the genus. **The Journal of Parasitology**, v. 52, p. 69-84, 1966.

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

LIU, X., ZHANG, Y., YANG, Y., LIN, J., HUO, X., DU, X., FANG, M. Therapeutic effect of curcumin and methylprednisolone in the rat spinal cord injury. **The Anatomical Record**, v. 301, p. 686-696, 2018.

<https://doi.org/10.1002/ar.23729>

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

<https://doi.org/10.1590/S0074-02762003000600024>

MACHADO, E. R., UETA, M. T., LOURENÇO, E. V., ANIBAL, F. F., SORGI, C. A., SOARES, E. G., FACCIOLI, L. H. Leukotrienes play a role in the control of parasite burden in murine strongyloidiasis. **The Journal of Immunology**, v. 175, p. 3892-3899, 2005.

<https://doi.org/10.4049/jimmunol.175.6.3892>

MACHADO, H. H. S., GOMES, F. F., DE OLIVEIRA, F. C. R., DA SILVA FIUZA, V. R., DETMANN, E. Infecção experimental de gerbis (*Meriones unguiculatus*) com nematódeos de ovinos: eficiência bionutricional. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 43, p. 797-802, 2006.

<https://doi.org/10.11606/issn.1678-4456.bjvras.2006.26559>

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

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

MAIZELS, R. M.; HOLLAND, M. J. Parasite immunity: pathways for expelling intestinal helminths. **Current Biology**, v. 8, p. 711-714, 1998.

[https://doi.org/10.1016/S0960-9822\(98\)70455-5](https://doi.org/10.1016/S0960-9822(98)70455-5)

MARCOS, L. A.; TERASHIMA, A.; DUPONT, H. L.; GOTUZZO, E. *Strongyloides* hyperinfection syndrome: an emerging global infectious disease. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v.102, p. 314-318, 2008.
<https://doi.org/10.1016/j.trstmh.2008.01.020>

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

MARQUES, P. D., MALTA, F. M., MEISEL, D. M. C. L., CORRAL, M. A., PINHO, J. R., COSTA-CRUZ, J. M., PAULA, F. M. Diagnosis of the strongyloid nematode *Strongyloides venezuelensis* in experimentally infected rats. **Journal of Helminthology**, v. 90, p. 422-427, 2015.
<https://doi.org/10.1017/S0022149X15000528>

MARTIN, R. J. Nuclear option prevents hyperinfection in the *Strongyloides* worm war. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 115, p. 9-11, 2018.
<https://doi.org/10.1073/pnas.1719538115>

MASOUMI, E., DABIRI, S., ASHTIANI, M. T. K., ERFANIAN, R., SOHRABPOUR, S., YAZDANI, N., FIROUZIFAR, M. Methylprednisolone versus dexamethasone for control of vertigo in patients with definite meniere's disease. **Iranian Journal of Otorhinolaryngology**, v. 29, p. 341-346, 2017.
<https://doi.org/10.22038/IJORL.2017.23762.1779>

McLENNAN D. N.; PORTER, C. J. H; CHARMAN, S. A. Subcutaneous drug delivery and the role of the lymphatics. **Drug Discovery Today: Technologies**, v. 2, p. 89-96, 2005.
<https://doi.org/10.1016/j.ddtec.2005.05.006>

MINAMIDE, T.; FUKUSHIMA, M.; INOKUMA, T. Gastroduodenal involvement in disseminated strongyloidiasis. **JGH Open**, v. 2, p. 75-76, 2018.
<https://doi.org/10.1002/jgh3.12041>

MINEO, J. R. **Pesquisa na área Biomédica: do planejamento a publicação**. 1ª ed. Uberlândia: EDUFU, 2009, p.273

MIURA, M. Role of glucocorticoids in Kawasaki disease. **International Journal of Rheumatic Diseases**, v.21, p. 70-75, 2018.
<https://doi.org/10.1111/1756-185X.13209>

MOBLEY, C. M., DHALA, A., GHOBRIAL, R. M. *Strongyloides stercoralis* in solid organ transplantation: early diagnosis gets the worm. **Current Opinion in Organ Transplantation**, v.22, 336-344, 2017.
<https://doi.org/10.1097/MOT.0000000000000428>

MYTINGER, J. R. High-dose prednisolone as a first-line treatment for infantile spasms. **Pediatric Neurology**, v. 87, p. 1-8, 2018.
<https://doi.org/10.1016/j.pediatrneurol.2018.08.011>

NAGAHARA, T., OHNO, K., KANEMOTO, H., KAKIMOTO, T., FUKUSHIMA, K., GOTO-KOSHINO, Y., TSUJIMOTO, H. Effect of prednisolone administration on gallbladder emptying rate and gallbladder bile composition in dogs. **American Journal of Veterinary Research**, v. 79, p. 1050-1056, 2018.

<https://doi.org/10.2460/ajvr.79.10.1050>

NAGORI, S. A., JOSE, A., ROY, I. D., CHATTOPADHYAY, P. K., ROYCHOUDHURY, A. Does methylprednisolone improve postoperative outcomes after mandibular third molar surgery? A systematic review and meta-analysis. **International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery**, v.1, p. 1-14, 2018.

<https://doi.org/10.1016/j.ijom.2018.09.005>

NAMISATO, S., MOTOMURA, K., HARANAGA, S., HIRATA, T., TOYAMA, M., SHINZATO, T., SAITO, A. Pulmonary strongyloidiasis in a patient receiving prednisolone therapy. **Internal Medicine**, v. 43, p. 731-736, 2004.

<https://doi.org/10.2169/internalmedicine.43.731>

NISBET, A. J., MCNEILLY, T. N., WILDBLOOD, L. A., MORRISON, A. A., BARTLEY, D. J., BARTLEY, Y., MATTHEWS, J. B. Successful immunization against a parasitic nematode by vaccination with recombinant proteins. **Vaccine**, v. 31, p. 4017-4023, 2013.

<https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2013.05.026>

NISBET, A. J., MCNEILLY, T. N., GREER, A. W., BARTLEY, Y., OLIVER, E. M., SMITH, S., MATTHEWS, J. B. Protection of ewes against *Teladorsagia circumcincta* infection in the periparturient period by vaccination with recombinant antigens. **Veterinary Parasitology**, v. 228, p. 130-136, 2016.

<https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2016.09.002>

OCHS, H. D.; WEDGWOOD, R. J. IgG subclass deficiencies. **Annual Review of Medicine**, v. 38, p. 325-340, 1987.

<https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2016.09.002>

PALME, C. E.; TOMASEVIC, P.; POHL, D. V. Evaluating the effects of oral prednisolone on recovery after tonsillectomy: a prospective, double-blind, randomized trial. **The Laryngoscope**, v. 110, p. 2000-2004, 2000.

<https://doi.org/10.1097/00005537-200012000-00003>

PARK, S. K., KIM, J., KIM, J. M., YEON, J. Y., SHIM, W. S., LEE, D. W. Effects of oral prednisolone on recovery after tonsillectomy. **The Laryngoscope**, v. 125, p. 111-117, 2015.

<https://doi.org/10.1002/lary.24958>

PATTON, J. B., BONNE-ANNÉE, S., DECKMAN, J., HESS, J. A., TORIGIAN, A., NOLAN, T. J., EBERHARD, M. L. Methylprednisolone acetate induces, and Δ^7 -dafachronic acid suppresses, *Strongyloides stercoralis* hyperinfection in NSG mice. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 115, p. 204-209, 2018.

<https://doi.org/10.1073/pnas.1712235114>

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

PUBCHEM. Open chemistry database. **National Center for Biotechnology Information**. Disponível em: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>. Acesso em: 12/02/2019

PULLAN, R. L., SMITH, J. L., JASRASARIA, R., BROOKER, S. J. Global numbers of infection and disease burden of soil transmitted helminth infections in 2010. **Parasites & Vectors**, v. 7, p. 1-37, 2014.
<https://doi.org/10.1186/1756-3305-7-37>

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

QU, T. T., YANG, Q., YU, M. H., WANG, J. A fatal *Strongyloides stercoralis* hyperinfection syndrome in a patient with chronic kidney disease: a case report and literature review. **Medicine**, v. 95, p.1-5, 2016.
<https://doi.org/10.1097/MD.0000000000003638>

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

RHEN, T.; CIDLOWSKI, J. A. Antiinflammatory action of glucocorticoids—new mechanisms for old drugs. **New England Journal of Medicine**, v. 353, p. 1711-1723, 2005.
<https://doi.org/10.1056/NEJMra050541>

RODRIGUES, R. M.; DE OLIVEIRA, M. C.; SOPELETE, M. C.; SILVA, D. A.; CAMPOS, D. M.; TAKETOMI, E. A.; COSTA-CRUZ, J. M. IgG1, IgG4, and IgE antibody responses in human strongyloidiasis by ELISA using *Strongyloides ratti* saline extract as heterologous antigen. **Parasitology Research**, v. 101, p. 1209-1214, 2007.
<https://doi.org/10.1007/s00436-007-0602-z>

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

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

SAAVEDRA-DELGADO, A. M. P.; MATHEWS, K. P.; PAN, P. M.; KAY, D. R.; MUILENBERG, M. L. Dose-response studies of the suppression of whole blood histamine and basophil counts by prednisone. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 66, p. 464-471, 1980.

[https://doi.org/10.1016/0091-6749\(80\)90007-X](https://doi.org/10.1016/0091-6749(80)90007-X)

SARAEI, M., HOSSEINBIGI, B., SHAHNAZI, M., BIJANI, B. Fatal *Strongyloides* hyper-infection in a patient with myasthenia gravis. **Infection**, v. 42, p. 1039-1042, 2014.

<https://doi.org/10.1007/s15010-014-0637-x>

SATO, Y.; TOMA, H. *Strongyloides venezuelensis* infections in mice. **International Journal for Parasitology**, v. 20, p. 57-62, 1990.

[https://doi.org/10.1016/0020-7519\(90\)90173-K](https://doi.org/10.1016/0020-7519(90)90173-K)

SCHÄR, F.; TROSTDORF, U.; GIARDINA, F.; KHIEU, V.; MUTH, S.; MARTI, H.; ODERMATT, P. *Strongyloides stercoralis*: Global distribution and risk factors. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 7, p. 1-17, 2013.

<https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0002288>

SEQUEIRA, J. A., SANTOS, A. C., SERRA, J., ESTEVENS, C., SEIÇA, R., VEIGA, F., RIBEIRO, A. J. Subcutaneous delivery of biotherapeutics: challenges at the injection site. **Expert Opinion on Drug Delivery**, v. 1, p. 1-35, 2019.

<https://doi.org/10.1080/17425247.2019.1568408>

SERFLING, G., BUADES-ROTGER, M., HARBECK, B., KRÄMER, U. M., BRABANT, G. The corticosteroid prednisolone increases amygdala and insula reactivity to food approach signals in healthy young men. **Psychoneuroendocrinology**, v. 99, p. 154-165, 2019.

<https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2018.09.007>

SOUSA, J. E. N., DE CARVALHO, E. F. G., LEVENHAGEN, M. A., DE FARIA, L. S., DO RF GONÇALVES-PIRES, M., COSTA-CRUZ, J. M. Serological cross-reactivity between *Strongyloides venezuelensis* and *Syphacia muris* in Wistar rats (*Rattus norvegicus*). **Parasitology International**, v. 65, p. 137-145, 2016.

<https://doi.org/10.1016/j.parint.2015.11.005>

TAGUCHI, T., KUBOTA, M., SAITO, M., HATTORI, H., KIMURA, T., MARUMO, K. Quantitative and qualitative change of collagen of achilles tendons in rats with systemic administration of glucocorticoids. **Foot & Ankle International**, v. 37, p. 327-333, 2016.

<https://doi.org/10.1177/1071100715613138>

TAKEDA, K., SAWAMURA, S., SEKIYAMA, H., TAMAI, H., HANAOKA, K. Effect of methylprednisolone on neuropathic pain and spinal glial activation in rats.

Anesthesiology: The Journal of the American Society of Anesthesiologists, v. 100, p. 1249-1257, 2004.

<https://doi.org/10.1097/00000542-200405000-00029>

TEFÉ-SILVA, C., SOUZA, D. I., UETA, M. T., FLORIANO, E. M., FACCIOLI, L. H., RAMOS, S. G. Interference of dexamethasone in the pulmonary cycle of *Strongyloides venezuelensis* in rats. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 79, p. 571-578, 2008.

<https://doi.org/10.4269/ajtmh.2008.79.571>

TEIXEIRA, M. C., PACHECO, F. T., SOUZA, J. N., SILVA, M. L., INÊS, E. J., & SOARES, N. M. *Strongyloides stercoralis* infection in alcoholic patients. **BioMed Research International**, v. 2016, p. 1-12, 2016.
<https://doi.org/10.1155/2016/4872473>

THIMMASETTAIAH, N. B.; CHANDRAPPA, R. G. A prospective study to compare the effects of pre, intra and post operative steroid (dexamethasone sodium phosphate) on post tonsillectomy morbidity. **Journal of Pharmacology & Pharmacotherapeutics**, v. 3, p. 254-258, 2012.
<https://doi.org/10.4103/0976-500X.99428>

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

VADLAMUDI, R.S.; CHI, D.S.; KRISHNASWAMY, G. Intestinal strongyloidiasis and hyperinfection syndrome. **Clinical and Molecular Allergy**, v. 4, p. 1-8, 2006.
<https://doi.org/10.1186/1476-7961-4-8>

VERMA, P., THAKUR, A. S., DESHMUKH, K., JHA, A. K., VERMA, S. Routes of drug administration. **International Journal of Pharmaceutical Studies and Research**, v. 1, p. 54-59, 2010.
<https://doi.org/10.1016/C2013-0-06482-1>

VINEY, M. *Strongyloides*. **Parasitology**, v. 144, p. 259-262, 2017.
<https://doi.org/10.1017/S0031182016001773>

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

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

WILKES, C. P., BLEAY, C., PATERSON, S., VINEY, M. E. The immune response during a *Strongyloides ratti* infection of rats. **Parasite Immunology**, v. 29, p. 339-346, 2007.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-3024.2007.00945.x>

WHO. **Water, sanitation and hygiene for accelerating and sustaining progress on neglected tropical diseases**. A global strategy 2015-2020. Geneva: World Health Organization, 2015.

YAO, Z., DUBOIS, D. C., ALMON, R. R., JUSKO, W. Pharmacokinetic/pharmacodynamic modeling of corticosterone suppression and lymphocytopenia by methylprednisolone in rats. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 97, p. 2820-2832, 2008.

<https://doi.org/10.1002/jps.21167>

YASUDA, K.; MATSUMOTO, M.; NAKANISHI, K. Importance of both innate immunity and acquired immunity for rapid expulsion of *S. venezuelensis*. **Frontiers in Immunology**, v. 5, p. 1-118, 2014.

<https://doi.org/10.3389/fimmu.2014.00118>