

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

**Detecção de imunoglobulina M (IgM) pelo teste de imunofluorescência
indireta no diagnóstico da estrogiloidíase humana.**

Viviane Peixoto

Dra. Julia Maria Costa - Cruz

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

Uberlândia - MG
Dezembro - 1997

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

Deteção de imunoglobulina M (IgM) pelo teste de imunofluorescência indireta no diagnóstico da estrogiloidíase humana.

Viviane Peixoto

Aprovada pela banca examinadora em 9 / 12 / 97

Nota 100,00

Ana Maria Coelho
Universidade Federal de Uberlândia
Centro de Ciências Biomédicas
Prof^a. Ana Maria Coelho Carvalho
Coordenadora do Curso de Ciências Biológicas

Julia Maria Costa - Cruz
Dra. Julia Maria Costa - Cruz
Orientadora

Joely Ferreira Figueiredo
Ms. Joely Ferreira Figueiredo
Có - Orientadora

Flavia Andrade Chaves Borges
Ms. Flavia Andrade Chaves Borges
Có - Orientadora

Uberlândia, 09 de dezembro de 1.997.

“ È melhor tentar e falhar, que preocupar-se e ver a vida passar.
È melhor tentar, ainda em vão, que sentar-se fazendo nada até o final.
Eu prefiro caminhar na chuva, que em dias tristes em casa me esconder.
Prefiro ser feliz, embora louco, que em conformidade viver... ”

(Martin Luther King)

Dedico

A **Deus** que com incomparável e inconfundível bondade, compreendeu os meus anseios e me deu coragem para vencer mais essa etapa de minha longa caminhada.

A minha avó **Cici**, ao meu tio **Alano** e ao meu irmão **Júnior**, pelo grande apoio e compreensão nos momentos mais difíceis, com a mais profunda gratidão, amor e respeito.

Ao **Robert** que com paciência e respeito soube, a cada momento compreender minhas ausências e me deu força para superar todos os obstáculos.

Agradecimentos

À **Dra. Julia Maria Costa - Cruz**, pela admirável humildade e paciência com que me orientou. Pelo respeito à minha imaturidade e incentivo ao crescimento.

À **Ms. Joely Ferreira Figueiredo** e **Ms. Flávia Andrade Chaves Borges** pela ajuda e troca de conhecimentos.

À **Maria do Rosário F. G. Pires**, pela paciência e constante dedicação na realização deste trabalho. Aprendi muito com você. Muito obrigado!

Aos técnicos do Laboratório de Parasitologia pela paciência, compreensão e ajuda na realização deste trabalho; especialmente à **Graça** pelo carinho.

À amiga **Fabiana Martins de Paula**, pela confiança, bons ensinamentos e por ter acreditado na minha capacidade.

À amiga **Dircelina Silva Santos**, pela presença constante, atenção e presteza sempre que precisei.

Às colegas **Thatiana Santos**, **Alessandra Cristina**, **Kelly**, **Solange**, **Luciana**, pela alegria e amizade.

À amiga **Lindalva Q. de Oliveira**, pelas conversas agradáveis, carinho e brilhante exemplo de vida.

Aos amigos: **Homero**, **Cléia** e **Edivaldo**, pelo aconchego familiar e participação nos momentos de alegria e dificuldades.

À secretaria da Coordenação do Curso de Ciências Biológicas, **Edna Navarro**, pelo estímulo nos momentos de dificuldade.

À todos que direto ou indiretamente ajudaram-me na realização deste trabalho.

Resumo

O objetivo deste trabalho foi comparar o emprego de antígenos de larvas filarióides de *Strongyloides stercoralis* e *Strongyloides ratti* em cortes de congelação através do teste de imunofluorescência indireta (IF) anti - IgM no diagnóstico da estrongiloidíase humana. Soros de 121 indivíduos foram analisados sendo 54 de pacientes com estrongiloidíase e 67 controles. *S. stercoralis* foi obtido de cultura de fezes humanas e *S. ratti* de cultura de fezes de *Rattus rattus* infectados experimentalmente. Às lâminas contendo cortes de quatro micra das larvas filarióides incluídas em "Tissue Tek" O.C.T. foram adicionados os soros padrão positivo, padrão negativo e soros testes. Empregou-se conjugado anti - IgM humano no título ideal de 10 para os dois antígenos. Considerou-se positivo o teste com os títulos ≥ 40 . O antígeno de *S. stercoralis* detectou 20 (37,0%) casos de IgM circulante e o de *S. ratti* 16 (29,6%). Para o antígeno de *S. stercoralis* os títulos dos soros variaram de 40 a 160 e para o *S. ratti* os títulos variaram de 40 a 80. Houve correlação linear significativa ($r = 0,67$; $p \leq 0,001$) entre os títulos de anticorpos para os dois antígenos. Concluiu-se que os dois antígenos podem ser empregados no teste de imunofluorescência indireta (IgM) como auxílio diagnóstico. Diante da disponibilidade de obtenção de grande quantidade de antígeno em laboratório, economia de conjugado e por não haver diferença significativa envolvendo as duas proporções e havendo correlação linear entre os títulos de anticorpos, a utilização de *S. ratti* é recomendada como antígeno no diagnóstico da estrongiloidíase humana.

Palavras - chave: *Strongyloides stercoralis*, *Strongyloides ratti*, Teste de Imunofluorescência, diagnóstico imunológico, IgM.

ÍNDICE

1- INTRODUÇÃO.....	1
1.1 Objetivo.....	8
2 - MATERIAL E MÉTODOS.....	9
2.1 Obtenção de <i>Strongyloides stercoralis</i>.....	9
2.1.1 Método de Looss.....	10
2.1.2 Método de BAERMANN modificado por MORAES (1948).....	10
2.2 Obtenção de <i>Strongyloides ratti</i>.....	10
2.3 Produção de antígeno de <i>S. stercoralis</i> e <i>S. ratti</i> para teste de imunofluorescência indireta	11
2.4 Obtenção de soros.....	12
2.4.1 Soros controle de indivíduos sadios.....	12
2.4.2 Soros controle de outros pacientes.....	13
2.4.3 Soros de pacientes com estrongiloidíase.....	13
2.4.4 Soro padrão negativo para IgM.....	13
2.4.5 Soro padrão positivo para IgM.....	14
2.5 Teste de imunofluorescência indireta.....	14
2.6 Pesquisa de fator reumatóide.....	15
2.7 Normas de biossegurança.....	15
2.8 Análise Estatística.....	15
3 - RESULTADOS.....	16
4 - DISCUSSÃO.....	27
5 - CONCLUSÃO.....	30
6 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	31
7- APÊNDICE.....	40

1 - INTRODUÇÃO

O parasita *Strongyloides* sp., pertence ao reino Animalia, sub-reino Metazoa, filo Nematoda, classe Secernentea, Ordem Rhabdiasoidea. A família Strongyloididae é composta por apenas um gênero *Strongyloides* (LEVINE, 1979). O gênero *Strongyloides*, apresenta 52 espécies, podendo o homem ser acometido por três delas: *S. stercoralis*, *S. fulleborni* e *S. fulleborni* - "like". A primeira espécie tem distribuição mundial, a segunda é encontrada na África e nas Filipinas, e a terceira apenas na ilha da Nova Guiné (BARNISH & ASHFORD, 1989; PIRES & DREYER, 1993).

O nematelminto, *S. stercoralis* foi descoberto, em 1876, pelo médico francês Louis Normand, na cidade de Toulon - França, ao examinar fezes diarréicas de soldados procedentes da Cochinchina, atual Vietnã. As formas do parasita foram descritas por Bavay em 1876, como *Anguillula stercoralis* para parasitas encontrados na luz intestinal e como *A. intestinalis* para os obtidos em necropsia. Em 1911, Leuckart demonstrou serem as formas *stercoralis* e *intestinalis* pertencentes à mesma espécie heterogenética, como uma forma parasita partenogenética e outra de geração de vida livre bissexuada, passando a denominar-se *S. stercoralis* (PESSOA & MARTINS, 1982).

A capacidade deste parasito de causar auto - infecção permite que larvas rabditóides, na luz intestinal, transformem-se em larvas filarióides, e penetrem na mucosa intestinal, atingindo os vasos sanguíneos e linfáticos e se disseminando por todo o organismo do hospedeiro, e toda sintomatologia baseia-se nas alterações produzidas pelas fêmeas partenogenéticas e pelas larvas (GOMES - MORALES *et al.*, 1995; GROVE, 1996).

A estrongiloidíase pode causar diversos quadros clínicos de gravidade variável. As pessoas imunocompetentes e infectadas com baixa carga parasitária, são geralmente assintomáticas. Porém, em infecções maciças há o aparecimento de sintomas que podem ou não levar o indivíduo a óbito. Nos pacientes imunodeprimidos causam hiperinfecção, cujos sintomas são graves, e na falta de diagnóstico correto, o indivíduo evolui para a morte (MILDER *et al.*, 1981; PIRES & DREYER, 1993; CONWAY *et al.*, 1995; SATO *et al.*, 1995b).

As observações acumuladas, há cerca de 10 anos, de uma série de casos graves e fatais da helmintose, induzidos por corticosteróides e/ou terapêutica imunossupressora, utilizada particularmente para o tratamento de doenças malignas e nefropatias, revelaram interessante "modelo" da exacerbação de uma infecção latente, muitas vezes assintomática, permitindo avaliar a possível importância dos mecanismos imunológicos na manutenção do estado de equilíbrio parasita - hospedeiro (GOMES, 1981).

S. stercoralis, apresenta-se amplamente disseminado nos trópicos e subtropicais, onde as condições climáticas favoráveis, a alta concentração populacional de baixo poder econômico e cultural, a deficiência de educação sanitária e a falta de saneamento básico permitem o desenvolvimento e a manutenção do agente no meio ambiente (MARZOCHI & CARVALHEIRO, 1978; MILDER *et al.*, 1981; GRANOT *et al.*, 1983; MAHDI *et al.*, 1993; HALL *et al.*, 1994).

A estrogiloidíase tem distribuição mundial heterogênea apresentando áreas de predileção no Sudoeste da Ásia, Brasil, Colômbia, Sul dos Apalaches, Leste Europeu, Oeste da África e algumas ilhas do Caribe. Stuerchler em 1981 apud: PIRES & DREYER (1993) definiu três regiões mundiais de acordo com a prevalência da infecção pelo *S. stercoralis*: esporádica (<1%), endêmica (1-5%) e hiperendêmica (>5%). MACHADO & COSTA - CRUZ (1997) demonstraram que Uberlândia é uma região hiperendêmica, pois utilizando os métodos de BAERMANN - MORAES e o de LUTZ, realizados no Laboratório de Parasitologia da Universidade Federal de Uberlândia registraram 13% de ocorrência da infecção por *S. stercoralis* em crianças de zero a sete anos da área urbana do município.

Durante 24 anos (outubro de 1953 a dezembro de 1977), GOMES (1981) realizou um estudo sistematizado em 73 (1,8% do total de necropsias) casos fatais de estrogiloidose, em Salvador (BA), através de revisão dos prontuários clínicos e com necropsias completas. Este estudo caracterizou um grupo de pacientes (53,4%), onde a helmintose foi a doença principal e a causa do êxito letal e outro grupo (46,5%), em que a verminose se associou e/ou complicou o curso evolutivo de outras condições clínicas. Dessas condições ressaltaram-se 13 casos com doenças básicas variadas (predominando nefropatias e tumores malignos), todos relacionados ao uso de agentes terapêuticos capazes de promover depressão imunológica.

Num trabalho realizado no Rio de Janeiro (RJ), NOLETO *et al.* (1990) constataram estrogiloidíase disseminada fatal em 13 casos necropsiados, com idade entre 11 e 64 anos, em todos havia uma condição desencadeante prévia: desnutrição crônica, uso de corticosteróides, infecção respiratória aguda ou Síndrome de Cushing.

A ocorrência de 16 casos (0,5%) de estrogiloidíase em necropsias em Uberlândia (MG), foi verificada por COSTA - CRUZ *et al.* (1995) numa análise

de 3047 laudos, no período de janeiro de 1971 a maio de 1995. Em 15 casos, houve localização intestinal com maciça quantidade de larvas e ovos do parasita, sendo dois casos de pacientes com Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (SIDA).

Na estrogiloidíase, a pesquisa de larvas nas fezes foi o primeiro exame diagnóstico a ser empregado, e desde 1876, continua sendo o mais utilizado na rotina. O método mais comumente é o de BAERMANN (1917), que se baseia na migração das larvas pelo seu hidrotermotropismo (PIRES & DREYER, 1993).

A dificuldade para detecção de larvas de *S. stercoralis* nas fezes pelo exame parasitológico constitui um dos problemas mais comuns no diagnóstico da estrogiloidíase humana. Mesmo utilizando o mais novo e sensível método (cultura em placas de ágar) é necessário examinar repetitivamente as amostras fecais para a obtenção de um resultado correto. Devido à natureza oportunística desta parasitose, para prevenir a infecção severa ou fatal torna-se essencial o desenvolvimento de testes imunológicos de diagnóstico para completar o diagnóstico parasitológico (KOGA *et al.*, 1991; KOGA *et al.*, 1992; SATO *et al.*, 1995b).

A confirmação parasitológica da presença da infecção pode ser dificultada, uma vez que os parasitas são freqüentemente ausentes ou presentes em pequeno número (NEVA, 1986; GROVE, 1989). Nessas condições, repetidos exames fecais por métodos parasitológicos de rotina laboratorial apresentam baixa sensibilidade (SATO *et al.*, 1995a; DREYER *et al.*, 1996). O diagnóstico da estrogiloidíase é definitivo quando, por métodos específicos, larvas do parasita são encontradas nas fezes (BAERMANN, 1917; ARAKAKI *et al.*, 1990; KOGA *et al.*, 1991; KAMINSKY, 1993; SUKHAVAT *et al.*, 1994; SALAZAR *et al.*, 1995; SATO *et al.*, 1995b; SANTOS & PADILHA, 1996), no fluido duodenal (JONES & ABADIE, 1954; BEAL *et al.*, 1970; ASSEFA *et al.*, 1991; CHEN

et al., 1994), ou ocasionalmente em outros tecidos ou fluidos de pessoas infectadas (AVRAM *et al.*, 1984; HUARATO SEDDA *et al.*, 1990; MURTY *et al.*, 1994; TAKAYANAGUI *et al.*, 1995).

O desenvolvimento de testes imunológicos para o diagnóstico da estrongiloidíase pode contribuir para o esclarecimento dos diagnósticos clínicos e estudos soropidemiológicos (CONWAY *et al.*, 1995; SATO *et al.*, 1995a) e serem aplicados como alternativa diagnóstica (CAMPOS *et al.*, 1988).

A primeira abordagem do imunodiagnóstico na estrongiloidíase foi o teste cutâneo realizado com extratos de larvas filarióides por Fulleborni em 1926. Este teste surgiu da observação clínica de reações cutâneas (*larva currens* e urticária não - específica) da doença, sugerindo a existência de resposta alérgica (hipersensibilidade) à larva filarióide que migra pela pele (PIRES & DREYER, 1993). Os testes intradérmicos não são convencionalmente aplicados (PELLEGRINO *et al.*, 1961).

Outros métodos imunológicos têm sido descritos, como a aglutinação indireta com partículas de gelatina (SATO *et al.*, 1991), hemaglutinação indireta (GAM *et al.*, 1987), reação de "Immunoblot" (GENTA *et al.*, 1987; LINDO *et al.*, 1994); radioimunoensaio (IgE) (LEAO *et al.*, 1980) e a reação imunoenzimática Enzyme Linked Immunosorbent assay (ELISA) (BRASIL *et al.*, 1988; GAM *et al.*, 1987; LINDO *et al.*, 1994; SATO *et al.*, 1995a).

O teste de imunofluorescência indireta com diversidade na sua padronização, tanto em relação aos antígenos de larvas filarióides utilizados como na execução da técnica ora em lâminas, ora em tubos ou na detecção de diferentes classes de imunoglobulinas têm sido descrito como resumido no Quadro 1.

Quadro 1 - Teste de imunofluorescência indireta no diagnóstico da estrogiloidiase humana.

Antígeno	Técnica	Imunoglobulina	Nº	sensibilidade (%)	especificidade (%)	"cut-off"	Autor /Ano
<i>S. stercoralis</i>	cortes (músculo)	gamaglobulina	43 infectados 76 controles	93,0	96,0	20	COUDERT <i>et al.</i> , 1968
<i>S. stercoralis</i>	tubos	gamaglobulina	45 infectados 44 controles	100,0	72,7	20	DAFALLA, 1972
<i>S. ratti</i>	tubos	gamaglobulina	44 infectados 116 controles	98,0	89,0	4	GROVE & BLAIR, 1981
<i>S. stercoralis</i>	tubos	IgG IgM IgA	48 infectados 52 controles 12 infectados 12 infectados	92,0	94,2	20 20 20	GENTA & WEIL, 1982
<i>S. cebus</i>	cortes (músculo)	gamaglobulina	50 infectados 200 controles	82,0	96,0	80	CAMPOS <i>et al.</i> , 1988
<i>S. stercoralis</i>	cortes (Tissue Tek)	IgG	54 infectados 69 controles	94,4	94,2	20	COSTA - CRUZ <i>et al.</i> , 1997
<i>S. ratti</i>	cortes (Tissue Tek)	IgG	54 infectados 69 controles	92,5	97,1	20	

Uma das principais limitações encontradas no desenvolvimento de testes sorológicos mais sensíveis e específicos, é a dificuldade em se obter quantidades suficientes de antígenos que permitam seu posterior fracionamento e análise (ROSSI *et al.*, 1993). Diante disto, é conveniente a padronização e utilização de antígenos provenientes de *Strongyloides ratti* (Sandground, 1925). O *S. ratti* é um helminto de ratos silvestres que infecta facilmente o rato branco e pode ser mantido em laboratório sem dificuldades. Larvas filarióides podem ser obtidas em grande número a partir de culturas de fezes de ratos infectados, o que simplifica a obtenção do antígeno (PELLEGRINO *et al.*, 1961).

Concentrações de IgG, IgA, IgM e IgE no soro; e IgG, IgA e IgM no fluido duodenal e nas fezes foram determinadas por imunodifusão radial em 28 pacientes com estrongiloidíase; metade dos pacientes apresentavam elevados níveis de anticorpos IgE nos soros que variavam entre 810 a 14.600 unidades/ml, com concentração média de 2.780 unidades/ml. Concentrações de IgG, IgA e IgM nos soros não apresentavam alterações significativas, embora, os valores médios de IgG e IgM tenham se mantido ligeiramente elevados e os de IgA ligeiramente diminuídos. Concentrações de IgG, IgA e IgM no fluido duodenal estavam nos limites normais; apenas IgA foi constantemente detectada, IgG e IgM foram detectadas em 18 e 26 pacientes, respectivamente. Nas fezes, a imunoglobulina mais freqüentemente detectada foi a IgA enquanto a IgG e IgM foram encontradas em apenas quatro pacientes (BEZJAK, 1975).

A ausência de anticorpos IgM pode estar relacionada com a cronicidade das infecções. Os níveis de IgG decrescem significativamente, dois a quatro meses após o tratamento, sugerindo que a presença do parasita é necessária para a continuidade da produção de anticorpos específicos (GENTA & WEIL, 1982).

A demonstração de anticorpos IgM circulantes pode permitir a diferenciação entre infecção recente ou crônica e esse fato pode contribuir para o diagnóstico de primoinfecção ou auto - infecção (GROVE, 1996).

1.1 - Objetivo

Esse estudo teve como objetivo padronizar o teste de imunofluorescência indireta para a detecção de imunoglobulina M (IgM) em amostras de soro humano no diagnóstico da infecção aguda por *S. stercoralis*, empregando preparações antigênicas de larvas filarióides de *Strongyloides stercoralis* e *Strongyloides ratti*, e analisar os resultados frente aos níveis de IgG circulantes anteriormente detectados nestes indivíduos, para os dois antígenos.

2 - MATERIAL E MÉTODOS

2.1 - Obtenção de *Strongyloides stercoralis*

Os parasitas foram obtidos de fezes de pacientes infectados com *S. stercoralis* triados na rotina coproparasitológica do Laboratório de Análises Clínicas do Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia (HC - UFU).

Através dos prontuários de atendimento, os indivíduos infectados foram localizados e a eles entregues frascos plásticos com capacidade para 80 g, sem conservantes, para que as fezes aí colocadas pudessem ser processadas no Laboratório de Parasitologia da UFU.

Para a obtenção de larvas filarióides do *S. stercoralis*, o material fecal foi submetido a coprocultura pelo método de Looss ou cultivo em carvão (In: NEVES *et al.*, 1995). Após sete dias as larvas foram recolhidas através do método de BAERMANN modificado por MORAES (1948).

2.1.1 Método de Looss

Para coprocultura misturou-se partes iguais de material fecal e carvão vegetal triturados em grãos pequenos. Umedeceu-se ligeiramente e estendeu-se a

mistura obtidas em placas de Petri, de modo a formar uma camada não espessa, e deixou-se em repouso à temperatura ambiente de 25 °C por cinco dias. Após esse procedimento recolheu-se as larvas pelo método de BAERMANN modificado por MORAES (1948).

2.1.2 Método de BAERMANN modificado por MORAES (1948)

Em um suporte de madeira foram colocados funis de vidro com diâmetro de 11,5 cm, cuja haste continuava em um tubo de borracha de 10 cm, no qual era introduzido um tubo de ensaio de vidro de 10 cm de comprimento por dois cm de diâmetro, obliterando-se a passagem de água.

Cada funil foi preenchido até a borda com água de torneira à temperatura de 45 °C. Sobre o mesmo foi colocada uma tela metálica com 100 malhas por cm². Sobre a tela colocou-se uma gaze dobrada em quatro, depositando sobre a mesma aproximadamente 10 g de fezes. Deixou-se a gaze com a amostra fecal em contato com a água, em repouso por uma hora e retirou-se o tubo de ensaio com cerca de cinco a sete ml de água.

Após concentração por centrifugação (500g por 15 min.) as larvas foram lavadas em tampão fosfato pH 7,2 por centrifugação a 150g durante três minutos por cinco vezes e conservadas à -20 °C até o momento da padronização do teste.

2.2 - Obtenção de *Strongyloides ratti*

Para obtenção de *S. ratti* foram utilizados ratos da espécie *Rattus rattus* mantidos em laboratório e inoculados com suspensão de larvas (um ml contendo 2000 larvas/rato) por via subcutânea.

Os animais, após 10 dias da inoculação, foram colocados em gaiolas metálicas, forradas com papel (jornal) umedecido em água, para permanecerem

2.4 Obtenção de soros

Para a obtenção do sangue e do material fecal dos pacientes foi elaborado um termo de consentimento (Apêndice), no qual os pacientes ou os responsáveis declaravam estar cientes dos objetivos do trabalho bem como da importância da sua colaboração para o mesmo. Após autorização dos pacientes, os espécimes foram colhidos antes do tratamento específico.

A quantidade de 10 ml de sangue de cada indivíduo foi colhida no Laboratório de Análises Clínicas do HC - UFU por punção venosa e os soros, obtidos após centrifugação a 3000g durante cinco minutos que foram encaminhados ao Laboratório da Disciplina de Parasitologia. Os soros foram armazenados à -20°C até o momento da padronização do teste imunológico.

Para completar a identificação dos soros, foram obtidos dos indivíduos sadios e dos prontuários dos pacientes a sigla dos nomes, a idade, o sexo e a procedência. Nos casos de controles de outras parasitoses e nos casos de estrogiloidíase também foram identificados os sintomas e associações parasitárias ou outras infecções.

Foram obtidos 123 soros conforme os itens descritos abaixo:

2.4.1 Soros controle de indivíduos sadios

Foram obtidos soros controle de 30 indivíduos assintomáticos, todos estudantes universitários, que em três exames parasitológicos de fezes realizados pelos métodos de BAERMANN modificado por MORAES (1948) e HOFFMANN, PONS & JANER (1934) não foram detectadas larvas de *S. stercoralis* ou outra parasitose e que negaram história anterior de estrogiloidíase.

uma noite em defecação. No outro dia, foi realizada a colheita das fezes que foram colocadas em um becker, umedecidas e maceradas com bastão de vidro. As fezes foram misturadas ao carvão vegetal e colocadas em copos plásticos descartáveis tampados com gaze.

As culturas, assim obtidas, foram mantidas à temperatura ambiente, em local úmido onde permaneceram durante cinco dias. No quinto dia, foram obtidas as larvas filarióides pelo método de BAERMANN modificado por MORAES, (1948). Concentrou-se o material através de centrifugação e realizou-se a contagem de larvas em 0,01 ml (medidos por pipeta automática de 10 µl) em três lâminas. Através da média ponderada entre as três lâminas, verificou-se quantas larvas existiam em um ml, por regra de três simples.

Parte das larvas obtidas foram utilizadas para manutenção do ciclo evolutivo e a outra parte mantida à -20°C para o preparo do antígeno.

2.3 - Produção de antígeno de *S. stercoralis* e *S. ratti* para teste de imunofluorescência indireta

S. stercoralis e *S. ratti* obtidos na forma de larvas filarióides conforme itens 2.1 e 2.2 foram incluídos em “Tissue Tek[®]” e submetidos a cortes de quatro micra de espessura em micrótomo (Cryocut 1800 - Reichert Jung). Os cortes foram depositados à lâminas de microscopia, previamente desgorduradas pela passagem de álcool-etér PA volume a volume, fixadas à temperatura ambiente e conservados à -20°C até o momento do uso. Foram utilizadas as lâminas que continham no mínimo cinco cortes de larvas visualizadas ao aumento de 200X (COSTA - CRUZ *et al.*, 1997).

2.4.2 Soros controle de outros pacientes

Com o objetivo de verificar alguma reatividade cruzada com outras parasitoses, nos métodos imunológicos, foram selecionados soros de 39 indivíduos com diferentes parasitoses, triados no Hospital de Clínicas da UFU, pelo método de MIFC. Destes, 37 foram testados para IgM.

Os soros destes pacientes foram encaminhados ao Laboratório de Parasitologia e estocados à -20°C até o momento do uso.

2.4.3 Soros de pacientes com estrogiloidíase

Foram obtidos soros de 54 indivíduos após o diagnóstico comprovado da parasitose através da identificação de larvas de *S. stercoralis* no material fecal pelo método de MIFC realizado como rotina parasitológica no Hospital de Clínicas da UFU.

2.4.4 Soro padrão negativo para IgM

O soro padrão negativo foi obtido de indivíduos assintomáticos que em três exames parasitológicos de fezes realizados pelos métodos de BAERMANN modificado por MORES (1948) e HOFFMANN, PONS & JANER (1934) não foram detectadas larvas de *Strongyloides* ou nenhuma outra parasitose e que negaram história anterior de estrogiloidíase.

2.4.5 Soro padrão positivo para IgM

O soro padrão positivo foi obtido nos testes piloto para a padronização do teste de imunofluorescência indireta anti - IgM.

2.5 - Teste de Imunofluorescência Indireta

O teste de imunofluorescência indireta para detecção de IgG foi realizado conforme metodologia realizada por COSTA - CRUZ *et al.*, 1997; considerando positivos os testes com títulos ≥ 20 . Para a detecção de IgM foi seguido o mesmo protocolo como descrito a seguir:

As lâminas de microscopia contendo cortes de quatro micra de larvas, obtidas segundo os itens 2.1 e 2.2, incluídas em “ Tissue Tek[®] ”, foram adicionados soro padrão positivo e negativo e soros testes na diluição de triagem a 1/20 em solução salina tamponada com fosfato (PBS) pH 7,2 0,001M. Decorridos 30 minutos a 37 °C, as lâminas foram lavadas em PBS por três vezes, durante cinco minutos. Após a secagem das lâminas o conjugado anti - IgM (Biolab) foi adicionado, no título ideal para os dois antígenos (10), diluído em Azul de Evans 3%. As lâminas foram incubadas à 37 °C por 30 minutos e novamente lavadas em PBS por cinco minutos, três vezes e montadas em glicerina pH 8,5. Os testes foram avaliados em microscópio de imunofluorescência OLYMPUS BH2 - RFC, equipado com lâmpada de mercúrio, filtro de interferência e filtro barreira e os resultados expressos em títulos. Foram considerados positivos os testes com títulos ≥ 40 . Os soros positivos foram titulados na razão 2.

2.6 - Pesquisa de fator reumatóide

A pesquisa de fator reumatóide foi realizada nas amostras de soro cujos resultados foram positivos para presença de IgM através do teste de imunofluorescência indireta. Para tal, foi usado o kit "Reumalatex[®]", Doles Reagentes e Equipamentos para laboratório Ltda", Goiânia, GO, Brasil.

Foram consideradas positivas as amostras com títulos ≥ 60 UI/ml (UI= maior título encontrado X sensibilidade do kit).

2.7 - Normas de biossegurança

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

2.8 - Análise Estatística

O teste de Distribuição Normal foi utilizado para as duas proporções no nível de significância de 1% e 5% para comparação de casos positivos e casos negativos do teste frente aos dois antígenos e Correlação Linear para comparação dos títulos obtidos para antígenos de *S. stercoralis* e *S. ratti* (SPIEGEL, 1993).

3 - RESULTADOS

3.1 Soros

Dos 30 indivíduos sadios, 15 eram do sexo masculino e 15 do sexo feminino com idades variando de 19 a 41 anos obtendo-se a mediana de 22 anos (Tabela 1).

A Tabela 2 mostra a identificação dos 39 casos controles com outras parasitoses, segundo sexo, idade e sintomas e a Tabela 3 identifica os respectivos agentes etiológicos e suas associações.

A Tabela 4 apresenta a identificação dos 54 casos de estrogiloidíase segundo sexo, idade e sintomas.

3.2 Teste de imunofluorescência indireta

Por meio do teste de imunofluorescência indireta foi possível detectar anticorpos IgM circulantes em 20 (37,0%) e 16 (29,6%) dos pacientes com estrogiloidíase quando utilizado, respectivamente, os antígenos de *S. stercoralis* e *S. ratti*. Estatisticamente, no nível de significância de 1% ou 5% no teste de distribuição normal envolvendo as duas proporções não houve diferença

significativa entre os testes de imunofluorescência indireta (IgM) utilizando antígenos de *S. stercoralis* e *S. ratti*.

A Tabela 5 apresenta os resultados laboratoriais dos 54 casos de estrogiloidíase; verificou-se que os títulos dos soros reagentes variaram de 20 a 2640 na detecção de imunoglobulina G (IgG) e de 40 a 160 na detecção de imunoglobulina M (IgM) quando foi utilizado o antígeno de *S. stercoralis*. Os títulos variaram de 20 a 2640 na detecção de imunoglobulina G (IgG) e de 40 a 80 na detecção de imunoglobulina M (IgM) para o antígeno de *S. ratti*.

As Tabelas 6 e 7 apresentam respectivamente, a comparação da detecção de IgG e IgM frente aos antígenos de *S. stercoralis* e *S. ratti* pelo teste de imunofluorescência indireta. Os três casos de positividade para IgM e negatividade para IgG frente ao antígeno de *S. stercoralis* correspondiam aos casos 25, 26 e 36; e os três casos de positividade para IgM e negatividade para IgG frente ao antígeno de *S. ratti* correspondiam aos casos 17, 25 e 26.

O único caso que o antígeno de *S. ratti* não detectou nenhuma das duas imunoglobulinas foi o caso 36.

O paciente 28 reagente para IgG frente aos dois antígenos e IgM somente frente ao antígeno de *S. stercoralis* apresentava o teste de fator reumatóide positivo (120 UI/ml).

A Tabela 8 demonstra a distribuição da frequência dos títulos de anticorpos IgM detectados pelo teste de imunofluorescência indireta frente aos antígenos de *S. stercoralis* e *S. ratti*, em soros de pacientes com estrogiloidíase e em pacientes controles. Houve um caso (2,7%) de positividade frente aos dois antígenos entre os 67 soros controles estudados, o qual pertencia a uma paciente poliparasitada (caso 26 Tabela 2 e 3) que também apresentava a reação para fator reumatóide positiva (60 UI/ml).

A Figura 1 apresenta a correlação entre os títulos de anticorpos IgM detectados pelo teste de imunofluorescência indireta frente aos antígenos de

S. stercoralis e *S. ratti*. Houve correlação significativa ($r= 0,67$; $p\leq 0,001$) entre os níveis de anticorpos obtidos utilizando larvas de *S. stercoralis* e *S. ratti*.

Tabela 1 - Identificação dos 30 casos negativos para estrogiloidíase.

caso	sigla	sexo	idade (anos)	procedência	curso
1	LBS	F	22	Ribeirão Preto	Psicologia
2	SMS	F	23	Uberaba	Psicologia
3	LBE	F	23	Itumbiara	Veterinária
4	TMP	M	23	Rio de Janeiro	Medicina
5	PSVC	M	23	Franca	Agronomia
6	CBB	F	23	Ribeirão Preto	Medicina
7	AJM	M	25	Santo André	Medicina
8	PGM	F	30	Uberlândia	Biologia
9	RTSM	F	41	Belo Horizonte	Biologia
10	RSO	M	22	Araguari	Medicina
11	LAS	F	21	Uberlândia	Medicina
12	VM	F	21	Uberlândia	Medicina
13	ALN	M	21	Uberlândia	Medicina
14	RBV	M	21	Araguari	Odontologia
15	PFS	F	19	Uberlândia	Medicina
16	MFTS	M	22	Araguari	Engenharia
17	DC	M	22	Goiânia	Medicina
18	PBJ	M	20	Uberlândia	Medicina
19	HS	F	22	Uberlândia	Medicina
20	IRR	M	21	Sertãozinho	Medicina
21	GBF	M	23	Ribeirão Preto	Odontologia
22	AVS	F	23	Uberlândia	Medicina
23	FCF	M	24	Coromandel	Medicina
24	AM	M	25	Uberaba	Bioquímica
25	TAL	F	21	Lins	Medicina
26	RPC	M	21	Uberlândia	Odontologia
27	MFM	F	22	Goiânia	Medicina
28	LMO	F	28	Araxá	Fisioterapia
29	JAMM	M	21	Uberlândia	Medicina
30	NMS	F	34	Uberlândia	Biologia

Tabela 2 - Identificação dos 39 indivíduos controles com outras parasitoses segundo sexo, idade e sintomas.

caso	sigla	sexo	idade (anos)	sintomas
1	YTD	M	21	Diarréia e dor abdominal
2	SN	M	24	Epigastralgia
3	APCI	F	21	Diarréia
4	ERM	F	29	Diarréia e dor abdominal
5	JRL	M	2	Anemia ferropriva
6	RPS	M	56	Dor abdominal
7	IRFS	F	4	Assintomática
8	CRA	F	31	Pré-natal - assintomática
9	RNC	F	24	Pré-natal - assintomática
10	FAVN	F	16	Pré-natal - assintomática
11	GAS	F	19	Pré-natal - epigastralgia
12	JDSB	F	18	Pré-natal - assintomática
13	ELG	M	54	Dor epigástrica
14	CM	F	23	Pré-natal - assintomática
15	ESTL	F	23	Pré-natal - assintomática
16	ES	F	29	Pré-natal - epigastralgia
17	CRSC	F	28	Diarréia e dor abdominal
18	LCS	F	28	Pré-natal - dor abdominal
19	APM	M	26	Diarréia aquosa
20	CRA	F	18	Pré-natal - assintomática
21	SML	F	21	Pré-natal - dor abdominal
22	JAO	F	19	Pré-natal - assintomática
23	AES	M	45	Diarréia
24	RDS	F	18	Epigastralgia
25	RSD	M	9	Náuseas e vômitos
26	MNS	F	20	Pré-natal - assintomática
27	SSS	M	9	Dor abdominal
28	ABS	M	4	Dor abdominal e anemia
29	LCM	F	2	Prurido anal e diarréia
30	NKA	F	5	Prurido anal e dor abdominal
31	VAO	M	5	Anemia ferropriva
32	ESMF	F	32	Assintomática
33	AFI	F	23	Pré-natal - assintomática
34	JRS	M	41	Anemia ferropriva
35	MCNS	F	22	Pré-natal - assintomática
36	VLO	F	31	Epigastralgia
37	VRM	F	37	Cefaléia e tonturas
38	OAA	F	45	Epigastralgia
39	CMS	M	23	Epigastralgia

Tabela 3 - Identificação e frequência das parasitoses intestinais nos 39 indivíduos controles com outras parasitoses.

parasitas	nº do caso	total
monoparasitados		
Ancilostomídeos	2,6,15,18,19,34,38	7
<i>Enterobius vermiculares</i>	25,29,30,31,33	5
<i>Hymenolepis nana</i>	9,21,22,23,35	5
<i>Trichuris trichiura</i>	5,7,13,14	4
<i>Ascaris lumbricoides</i>	12,27,32	3
<i>Taenia</i> sp	17,37	2
<i>Giardia lamblia</i>	1,3	2
<i>Entamoeba histolytica</i>	11	1
associações parasitárias		
Ancilostomídeos e <i>Ascaris lumbricoides</i>	39	1
Ancilostomídeos e <i>Hymenolepis nana</i>	10	1
Ancilostomídeos e <i>Entamoeba histolytica</i>	36	1
Ancilostomídeos, <i>Ascaris lumbricoides</i> e <i>Trichuris trichiura</i>	26	1
<i>Entamoeba histolytica</i> e <i>Giardia lamblia</i>	4	1
<i>Entamoeba histolytica</i> e <i>Ascaris lumbricoides</i>	8	1
<i>Entamoeba histolytica</i> e <i>Hymenolepis nana</i>	24	1
<i>Entamoeba histolytica</i> e <i>Taenia</i> sp	20	1
<i>Ascaris lumbricoides</i> e <i>Trichuris trichiura</i>	16	1
<i>Ascaris lumbricoides</i> e <i>Giardia lamblia</i>	28	1

Tabela 4 - Identificação dos 54 casos de estrogiloidíase segundo sexo, idade e sintomas.

caso	sigla	sexo	idade(anos)	sintomas
1	JP	M	41	Diarréia e dor abdominal
2	CGA	F	18	Pré-natal (assintomática)
3	ELS	M	16	Cefaléia moderada
4	CCP	F	18	Pré-natal (assintomática)
5	MNS	F	40	Diagnóstico GO preventivo
6	CAS	M	8	Dor abdominal
7	LAM	F	17	Pré-natal (astenia)
8	IDF	M	57	Alcoólatra crônico, anemia, emagrecimento crônico
9	VLS	M	24	Diarréia e vômitos
10	JFC	M	47	Alcoólatra crônico, astenia e anemia
11	CBG	M	26	Cefaléia, diarréia, astenia e tosse seca
12	SMB	F	18	Pré-natal (assintomática)
13	VDS	F	38	Pré-natal (astenia)
14	SSB	F	14	Diarréia
15	HLS	M	34	Epigastralgia
16	ACV	M	48	Epigastralgia
17	MEG	F	18	Cefaléia
18	JES	F	24	Pré-natal (assintomática)
19	ABB	M	41	Diarréia
20	UCP	M	52	Dor lombar em cólica
21	LAN	M	26	Assintomático
22	GFS	M	60	Dor abdominal e diarréia
23	IFS	F	48	Dor abdominal e inapetência
24	MSA	F	4	Dor abdominal
25	LCRV	F	5	Epigastralgia
26	BPB	F	4	Palidez e astenia
27	AMM	M	18	Diarréia
28	VOO	M	33	Dispnéia
29	TRL	F	34	Pré-natal (assintomática)
30	MFS	M	55	Epigastralgia e anemia
31	JSA	M	57	Dor abdominal
32	SAM	M	80	Sintomas dispépticos
33	JAS	M	41	Diarréia esporádica
34	LRS	F	10	Astenia
35	MSC	F	26	Pré-natal (assintomática)
36	MMO	M	50	Diarréia e epigastralgia
37	CR	M	20	Assintomático
38	EPC	M	46	Epigastralgia
39	LSM	F	17	Pré-natal (assintomática)
40	JAS	M	73	Dor abdominal
41	SP	F	19	Epigastralgia
42	CH	F	29	Pré-natal (assintomática)
43	LEM	F	47	Astenia e diarréia
44	EVCA	F	31	Epigastralgia
45	AEC	M	40	Dor abdominal
46	DGF	F	39	P ^{cte} renal crônica
47	NPS	M	14	Anemia
48	DF	F	38	Pré-natal (assintomática)
49	MCFC	F	25	Diarréia e dor abdominal
50	RGB	M	33	Diarréia e dor abdominal
51	JLB	M	44	Epigastralgia
52	ESS	M	37	Sintomas dispépticos
53	LPRO	F	61	Emagrecimento e polifagia
54	GGR	M	24	Assintomático

Tabela 5 - Resultados laboratoriais dos 54 casos de estrogiloidíase.

Caso	MIFC para outros parasitas	eosinofilia (%)	outras infecções	IF -IgG <i>S. stercoralis</i>	IF -IgG <i>S. ratti</i>	IF - IgM <i>S. stercoralis</i>	IF -IgM <i>S. ratti</i>
1	negativo	2	---	80	160	negativo	negativo
2	<i>E. hartmanni</i>	12	---	160	160	80	40
3	negativo	18	---	80	80	negativo	negativo
4	negativo	23	Toxoplasmose	80	80	negativo	40
5	<i>E. coli / E. histolytica</i>	13	---	80	80	negativo	40
6	<i>S. mansoni</i>	NR	---	80	80	negativo	negativo
7	negativo	5	Toxoplasmose	40	40	negativo	negativo
8	negativo	4	---	80	40	negativo	negativo
9	negativo	30	---	160	160	80	40
10	negativo	2	---	40	40	80	40
11	<i>E. coli / E. histolytica</i>	12	---	320	160	80	40
12	<i>E. histolytica</i>	9	Toxoplasmose	160	160	40	40
13	negativo	8	---	20	20	40	40
14	negativo	NR	---	20	20	40	negativo
15	negativo	10	---	160	160	negativo	negativo
16	negativo	8	D. de Chagas	40	20	negativo	negativo
17	negativo	4	---	20	negativo	80	40
18	negativo	18	Toxoplasmose	80	160	80	negativo
19	negativo	7	---	80	80	negativo	negativo
20	<i>H. nana</i>	NR	---	160	160	negativo	negativo
21	negativo	15	---	40	80	negativo	negativo
22	negativo	8	---	160	160	negativo	negativo
23	<i>E. coli</i>	8	Neurocisticercose	80	80	negativo	negativo
24	<i>G. lamblia</i>	1	---	640	640	40	negativo
25	negativo	4	---	negativo	negativo	80	40
26	negativo	1	---	negativo	negativo	80	40
27	<i>E. coli</i>	18	---	160	160	80	80
28	negativo	2	---	160	80	80	negativo
29	<i>E. coli / E. histolytica</i>	3	---	20	20	negativo	negativo
30	negativo	5	---	80	80	negativo	negativo
31	negativo	2	Esquistossomose	40	40	negativo	negativo
32	<i>E. hartmanni</i>	23	---	640	320	160	40
33	negativo	6	---	160	160	negativo	negativo
34	<i>G. lamblia</i>	16	---	2640	2640	negativo	negativo
35	negativo	NR	---	1280	1280	negativo	negativo
36	negativo	3	Esquistossomose	negativo	negativo	40	negativo
37	negativo	4	---	320	320	negativo	negativo
38	negativo	NR	D. de Chagas	40	20	negativo	negativo
39	negativo	4	Rubéola	2640	2640	negativo	negativo
40	negativo	10	---	320	640	negativo	negativo
41	negativo	14	---	1280	1280	80	80
42	negativo	3	Toxoplasmose	1280	320	negativo	negativo
43	negativo	3	---	320	160	negativo	negativo
44	negativo	6	---	160	80	negativo	negativo
45	<i>E. coli / E. histolytica</i>	14	---	320	640	negativo	negativo
46	<i>E. coli</i>	2	Toxoplasmose	80	160	negativo	negativo
47	negativo	2	---	80	40	80	40
48	<i>G. lamblia</i>	1	Toxoplasmose	40	20	40	40
49	negativo	3	---	20	20	80	negativo
50	negativo	9	---	2640	640	negativo	negativo
51	<i>E. coli / E. histolytica</i>	NR	---	1280	160	negativo	negativo
52	negativo	4	---	160	80	negativo	negativo
53	negativo	3	---	160	160	negativo	negativo
54	negativo	10	---	80	80	negativo	negativo

MIFC= Método de Exames de Fezes IF= Teste de imunofluorescência indireta NR= Não Realizado

Tabela 6 - Comparação da detecção de IgG e IgM frente ao antígeno de *S. stercoralis* pelo teste de imunofluorescência indireta nos 54 pacientes com estrongiloidíase.

<i>S. stercoralis</i> IgM	<i>S. stercoralis</i> IgG		TOTAL
	Positivo	Negativo	
Positivo	17	3	20
Negativo	34	0	34
TOTAL	51	3	54

Tabela 7 - Comparação da detecção de IgG e IgM frente ao antígeno de *S. ratti* pelo teste de imunofluorescência indireta nos 54 pacientes com estrongiloidíase.

<i>S. ratti</i> IgM	<i>S. ratti</i> IgG		TOTAL
	Positivo	Negativo	
Positivo	13	3	16
Negativo	37	1	38
TOTAL	50	4	54

Tabela 8 - Distribuição dos títulos de anticorpos IgM detectados pelo teste de imunofluorescência indireta frente aos antígenos de *S. stercoralis* e *S. ratti* em soros de pacientes com estrongiloidíase e em controles.

Soros	n	Títulos de IgM - <i>S. stercoralis</i>				Total positivos	
		< 40	40	80	160	n	%
<i>S. stercoralis</i>	54	34	6	13	1	20	37,0
Controles parasitados	37	36	0	1	0	1	2,7
Controles sadios	30	30	0	0	0	0	0

Soros	n	Títulos de IgM - <i>S. ratti</i>				Total positivos	
		< 40	40	80	160	n	%
<i>S. stercoralis</i>	54	38	14	2	0	16	29,6
Controles parasitados	37	36	0	1	0	1	2,7
Controles sadios	30	30	0	0	0	0	0

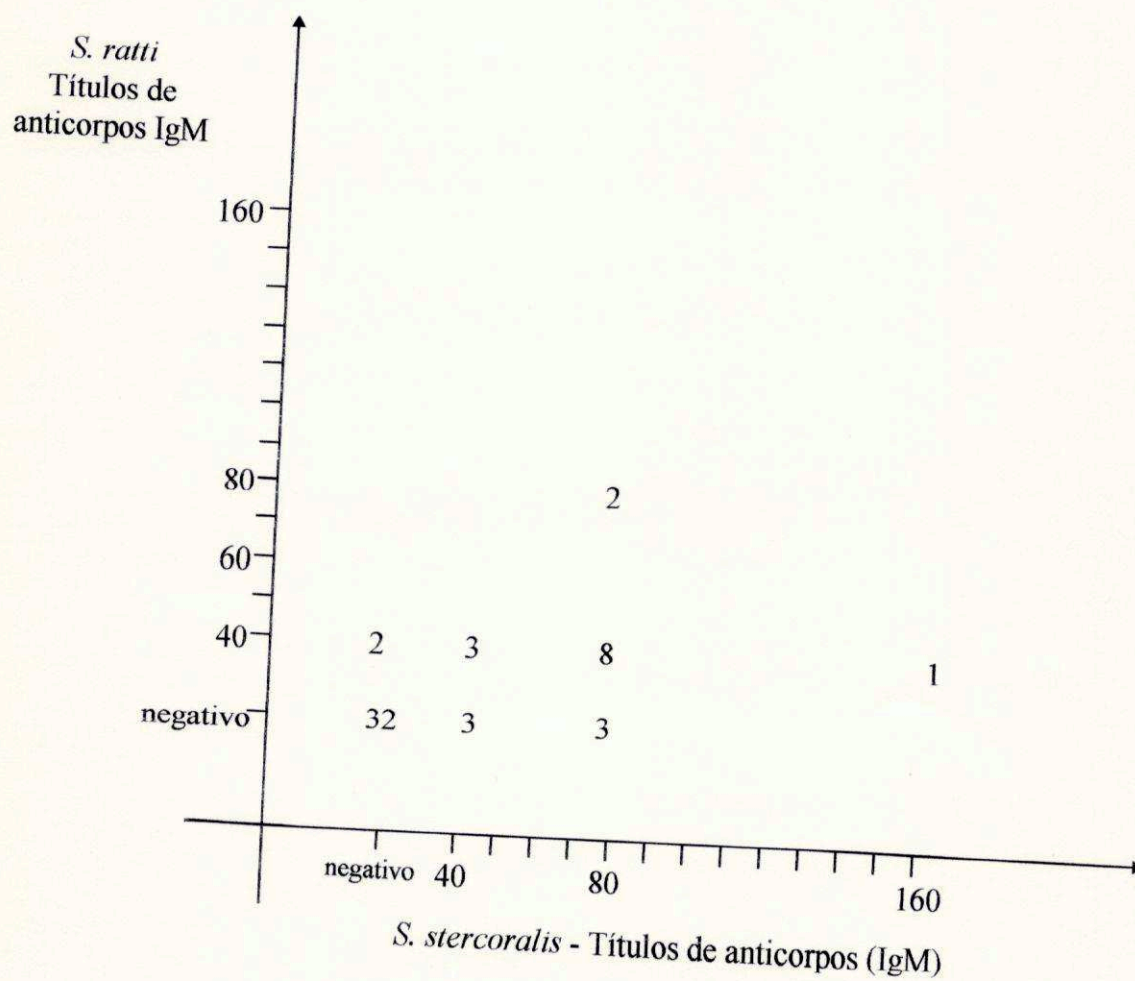


Figura 1 - Correlação entre os títulos de anticorpos IgM detectados pelo teste de imunofluorescência indireta frente aos antígenos de *Strongyloides stercoralis* e *Strongyloides ratti* nos 54 casos de estrongiloidíase.

4 - DISCUSSÃO

O teste de imunofluorescência indireta - IgM empregando-se como antígenos larvas de *S. stercoralis* ou de *S. ratti* em cortes de congelação pode ser utilizado como auxílio diagnóstico da infecção aguda por *S. stercoralis*. Como demonstrado no Quadro 1 somente GENTA & WEIL (1982) analisando 18 indivíduos infectados obtiveram um caso fracamente positivo para imunoglobulina M utilizando o antígeno de *S. stercoralis* e a técnica de imunofluorescência realizada em tubos, considerando o "cut - off" de 20. Neste trabalho foi necessário considerar o "cut - off" igual à 40 uma vez que vários soros de portadores de outras parasitoses foram reagentes no título 20 na padronização do teste de imunofluorescência indireta - IgM.

A utilização da técnica em cortes de congelação utilizando como suporte o "Tissue Tek" O. C. T. sem o uso de outros suportes, como músculo estriado de cobaia ou cavidade cardíaca de camundongo tornou esse trabalho mais prático como já havia sido descrito por COSTA - CRUZ *et al* (1997) na padronização do teste de imunofluorescência indireta - IgG.

A reação cruzada observada neste estudo (um caso) era de uma paciente poliparasitada, que também apresentava ancilostomíase (caso 26 - Tabela 2 e 3). A reação cruzada com ancilostomídeos já havia sido descrita, na detecção de IgG

pelo teste de imunofluorescência indireta realizado por COSTA - CRUZ *et al* (1997)

Por meio do emprego do teste de imunofluorescência indireta - IgM foi possível diagnosticar a infecção em casos não reagentes pelo teste de imunofluorescência indireta - IgG. Para os antígenos de *S. stercoralis* e *S. ratti* houve dois casos (casos 25 e 26 - Tabela 5) de detecção de IgM e ausência de IgG circulante, e um caso apenas para o antígeno de *S. stercoralis* (caso 36 - Tabela 5), comprovando que a detecção de IgM pelo teste de imunofluorescência indireta pode ser utilizada no diagnóstico da estrogiloidíase aguda.

Foi também observado que 11 pacientes com estrogiloidíase (casos 2, 4, 7, 12, 13, 18, 29, 35, 39, 42, 48 - Tabela 4) fizeram o diagnóstico da parasitose por ocasião do pré - natal, sendo nove destas assintomáticas. Talvez esse fato esteja associado à inerente queda imunológica que ocorre durante a gravidez. Destas 11 pacientes, seis apresentaram IgM positiva (casos 2, 4, 12, 13, 18 e 48) em um ou mais antígenos.

Diante da disponibilidade de obtenção de grande quantidade de antígeno no laboratório, a economia do conjugado, e por não haver diferença estatisticamente significativa envolvendo as duas proporções e havendo correlação linear entre os títulos de anticorpos, a utilização de *S. ratti* é recomendada como auxílio diagnóstico na pesquisa de anticorpos no soro de indivíduos infectados pelo *S. stercoralis*. O *S. ratti* havia sido anteriormente utilizado como antígeno (GROVE & BLAIR, 1981) na forma viva de larva filarióide em teste de imunofluorescência indireta realizada em tubos com adição de 50 µl de anti - gamaglobulina diluída a 1/20.

A aplicabilidade do teste de imunofluorescência indireta - IgM no diagnóstico em populações de risco (crianças, gestantes, imunodeprimidos por transplante, por quimioterapia, radioterapia e Síndrome da Imunodeficiência

Adquirida) poderá contribuir para a implantação do tratamento específico evitando formas graves desta helmintíase.

5 - CONCLUSÕES

- O teste de imunofluorescência indireta - IgM padronizado, permitiu a detecção de imunoglobulina M em 37,0% e 29,6%, respectivamente para os antígenos *S. stercoralis* e *S. ratti* em pacientes com estrongiloidíase.
- Por meio do emprego do teste de imunofluorescência indireta - IgM foi possível diagnosticar a infecção em casos não reagentes pelo teste de imunofluorescência indireta - IgG, o que possibilita o diagnóstico da infecção aguda por *S. stercoralis*.

6 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS¹

ARAKAKI, T. *et al.* Efficacy of agar plate culture in detection of *Strongyloides stercoralis* infection. **J. Parasitol.**, v.76, p.425-428, 1990.

ASSEFA, T. *et al.* Evaluation of the modified Baermann's method in the laboratory diagnosis of *Strongyloides stercoralis*. **Ethiop. Med. J.**, v.29, p.193-198, 1991.

AVRAM, E. *et al.* Cytologic detection of *Enterobius vermicularis* and *Strongyloides stercoralis* in routine cervicovaginal smears and urocytograms. **Acta. Cytol.**, (Baltimore), v.28, p.468-470, 1984.

BAERMANN, G. T. Eine einfache methode zur auffindung von ankylostomon (nematoden): larven in erdproben - mededesle geesk. **Laborat. Weltever Feestbundel.**, p. 41-47, 1917.

¹ Segundo Normas ABNT NBR 6023/1989 (referências bibliográficas) e NBR 6032 e 060 (abreviatura).

- BARNISH, G., ASHFORD, R. W. *Strongyloides* of fulleborni in Papua New Guinea: epidemiology in na isolated community and results of na intervention study. **Ann. Trop. Med. Parasitol.**, v.83, n.5, p.499-506, 1989.
- BEAL, C. B. *et al.* A new technique for sampling duodenal contents: demonstration of upper small bowel pathogens. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v.19, p.349-352, 1970.
- BEZJAK, B. Immunoglobulin studies in strongyloidiasis with special reference to raised serum IgE levels. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v.24, p.945-948, 1975.
- BRASIL, R. *et al.* Diagnóstico sorológico da estrongiloidíase humana pelo método imunoenzimático ELISA. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v.21, n.3, p.139-143, 1988.
- CAMPOS, D. M. B. *et al.* Antígeno de *Strongyloides cebus* (DARLING, 1911) no diagnóstico da estrongiloidíase humana. **Rev. Pat. Trop.**, v.17, p.17-23, 1988.
- CHAVES - BORGES, F. A., MINEO, J. R. **Medidas de biossegurança em laboratórios.** Uberlândia: Universidade Federal de Uberlândia, 1997. 56p.
- CHEN, J.J. *et al.* Duodenal *Strongyloides stercoralis* infection. **Endoscopy**, v.26, p.272, 1994.

- CONWAY, D. J. *et al.* Towards effective control of *Strongyloides stercoralis*. **Parasitol. Today.**, v.11, n.11, p.420-423, 1995.
- COSTA - CRUZ, J. M. *et al.* Ocorrência de estrogiloidíase em necropsias realizadas em Uberlândia, Minas Gerais, Brasil. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA, 14., 1995, Goiânia, GO. **Resumos...** p.269, 1995.
- COSTA - CRUZ J. M. *et al.* Cryo - microtome cuts of coproculture larvae of *Strongyloides stercoralis* and *Strongyloides ratti* as antigen sources for the immunodiagnosis of human strongyloidiasis. **Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo**, v.39, n.6, 1997 (in press)
- COUDERT, J. *et al.* Diagnostic sérologique de l'anguillulose humaine par immunofluorescence (resultats preliminaires). **Bull. Soc. Pathol. Exot.**, v.61, p. 74-80, 1968.
- DAFFALA, A.A. The indirect fluorescent antibody test for the serodiagnosis of strongyloidiasis. **J. Trop. Med. Hyg.**, v.75, p.109-111, 1972.
- DREYER, G. *et al.* Patterns of detection of *Strongyloides stercoralis* in stool specimes: implications for diagnosis and clinical trials. **J. Clin. Microbiol.**, v.34, p.2569-2571, 1996.
- GAM, A.A. *et al.* Comparative sensitivity and specificity of ELISA and IHA for serodiagnosis of strongyloidiasis with larval antigens. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v.37, n.1, p.157-161, 1987.

- GENTA, R.M. Predictive value of an enzyme - linked immunosorbent assay (ELISA) for serodiagnosis of strongyloidiasis. **Am. J. Clin. Pathol.**, v.89, n.3, p. 391-394, 1987.
- GENTA, R.M., WEIL, G.J. Antibodies to *Strongyloides stercoralis* larval surface antigens in chronic strongiloidiasis. **Lab. Invest.**, v.47, n.1, p. 87-90, 1982.
- GOMES, M. C. **Mecanismos patológicos relacionados a auto - endo - infecção na estrongiloidose humana fatal.** Salvador: Centro Editorial e Didático da Universidade Federal da Bahia, 1981. 35p. il.
- GOMES - MORALES, M.A. *et al.* Opportunistic and non - opportunistic parasites in HIV - positive and negative patients with diarrhoea in Tanzânia. **Trop. Med. Parasitol.**, v.46, n.2, p. 109-114, 1995.
- GRANOT, E. *et al.* Strongyloidiasis in infancy: case report and review. **Isr. J. Med. Sci.**, v.19, p.1089-1093, 1983.
- GROVE, D.I., BLAIR, A.J. Diagnosis of human strongyloidiasis by immunofluorescence, using *Strongyloides ratti* and *Strongyloides stercoralis* larvae. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v.30, n.2, p.344-349, 1981.
- GROVE, D.I. Strongyloidiasis: a major roundworm infection of man. London, Taylon & Francis., 1989, p.175-197.

- GROVE, D. I. Human Strongyloidiasis. **Advances in Parasitology**, v.38, p.251-309, 1996.
- HALL, A. *et al.* *Strongyloides stercoralis* in an urban slum community in Bangladesh: factors independently associated with infection. **Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.**, v.88, n.5, p.527-530, 1994.
- HOFFMANN, W.A. *et al.* The sedimentation concentration method in schistosomiasis mansoni, P.R. **J. Publ. Health. Trop. Med.**, v.9, p.283-291, 1934.
- HUARATO SEDDA, M. *et al.* Study of *Strongyloides stercoralis* in the duodenal juice obtained by the examination of a string capsule or the Enterotest. **Rev. Gastroenterol.**, v.10, p.107-110, 1990.
- JONES, C.A., ABADIE, S.H. Studies in human strongyloidiasis: a comparison of the efficiency of diagnosis by examination of feces and duodenal fluid. **Am. J. Clin. Pathol.**, v.24, p.1154-1158, 1954.
- KAMINSKY, R.G. de Evaluation of three methods for laboratory diagnosis of *Strongyloides stercoralis* infection. **J. Parasitol.**, v.79, n.2, p.277-280, 1993.
- KOGA, K. *et al.* A modified agar plate method for detection of *Strongyloides stercoralis*. **Amer. J. Trop. Med. Hyg.**, v.45, n.4, p.518-521, 1991.
- KOGA, K. *et al.* How effective is the agar plate method for *Strongyloides stercoralis*? **J. Parasitol.**, v.78, n.1, p.155-156, 1992.

- LEAO, R.C. *et al.* Immunological study of human strongyloidiasis I : analysis of IgE levels . **Allergol. Immunopathol.**, v.8, p.31-34, 1980.
- LEVINE, N. D. **Nematode parasites of domestic animals and of man.** 2. ed. Illinois: 1979. 477p. Cap. 1: Introduction to the Nematoda. p. 42-43.
- LINDO, J. F. *et al.* Prospective evaluation of ELISA and immunoblot methods for the diagnosis of endemic *Strongyloides stercoralis* infection. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v.51, n.2, p.175-179, 1994.
- MACHADO, E.R., COSTA - CRUZ, J. M. *Strongyloides stercoralis* and other enteroparasites in children at Uberlândia city, State of Minas Gerais, Brazil. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz.** 1997 (in press).
- MAHDI, N.K. *et al.* Diagnostic methods for intestinal parasites in southern Iraque with reference to *Strongyloides stercoralis*. **Southeast Asian J. Trop. Med. Public. Health.**, v.124, n.4, p.685-691, 1993.
- MARZOCHI, M. C. A., CARVALHEIRO, J. B. Estudos dos fatores envolvidos na disseminação dos enteroparasitas. **Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo**, v.20, n.1, p.31-35, 1978.
- MILDER, J. E. *et al.* Clinical features of *Strongyloides stercoralis* infection in an endemic area of United States. **Gastroenterol.**, v.80, n.6, p.1481-1488, 1981.

- MORAES, R. G. Contribuição para o estudo do *Strongyloides stercoralis* e da estrogiloidíase no Brasil. **Revista do Serviço Especial de Saúde Pública**, v.1, p. 507-524, 1948.
- MURTY, D.A. *et al.* Cytologic detection of *Strongyloides stercoralis* in a routine cervicovaginal smear. Case report. **Acta Cytol.**, v.39, n.2, p.223-225, 1994.
- NEVA, F. A. Biology and immunology of human strongyloidiasis. **J. Infect. Dis.**, v. 153, n.3, p.397-406, 1986.
- NEVES, D. P. *et al.* **Parasitologia humana**. 8. ed. Rio de Janeiro: Atheneu, 1995. Cap. 53: Meios de cultura. p.472-478.
- NOLETO, P. A. *et al.* Estrogiloidíase disseminada fatal : apresentação de 13 casos. **J. Bras. Med.**, v.59, n.1, p.59-69, 1990.
- PELLEGRINO, J. *et al.* Observações sobre reação intradérmica com antígeno de *Strongyloides ratti* em pacientes com estrogiloidose. **Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo**, v.3, n.4, p.181-185, 1961.
- PESSOA, S. B., MARTINS, A. V. **Parasitologia médica**. 11. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1982. Cap. 46: Superfamília Rhabdisoidea - *Strongyloides stercoralis* e estrogiloidose. p.507-515.
- PIRES, M. L. , DREYER, G. Revendo a importância do *Strongyloides stercoralis*. **Rev. Hosp. Clin. Fac. Med. São Paulo**, v.48, n.4, p.175-182, 1993.

- ROSSI, C. L. *et al.* Avaliação de preparações antigênicas de *Strongyloides stercoralis* para o imunodiagnóstico da estrogiloidíase. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v.26, n.2, p.83-87, 1993.
- SALAZAR, D.A. *et al.* Value of the agar plate method for the diagnosis of intestinal strongyloidiasis. **Diagn. Microbiol. Infect. Dis.**, v.23, p.141-145, 1995.
- SANTOS, J. I. , PADILHA FILHO, O. Baixa sensibilidade do método de cultura de larvas (Harada - Mori) no diagnóstico de estrogiloidíase. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v.29, n.1, p.51-52, 1996.
- SATO, Y. *et al.* Gelatin particule indirect agglutination test for examination for strongyloidiasis. **Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.**, v.85, n.4, p.515-518, 1991.
- SATO, Y. *et al.* Serodiagnosis of strongyloidiasis : the application and significance. **Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo**, v.37, n.1, p.35-41, 1995a.
- SATO, Y. *et al.* Efficacy of stool examination for detection of strongyloidiasis infection. **Amer. J. Trop. Med. Hyg.**, v.53, n.3, p.248-250, 1995b.
- SPIEGEL, M. R. **Estatística**. São Paulo: Mcgraw-Hill, 1993.
- SUKHAVAT, K. *et al.* Comparative efficacy of four methods for the detection of *Strongyloides stercoralis* in human stool specimens. **Ann. Trop. Med. Parasitol.**, v.88, n.1, p.95-96, 1994.

TAKAYANAGUI, O. M. *et al.* Detection of *Strongyloides stercoralis* in the cerebrospinal fluid of a patient with acquired immunodeficiency syndrome. **Neurol.**, v.45, n.1, p.193-194, 1995.

7 - APÊNDICE

Termo de consentimento

Eu, _____,
Doc. nº _____, consinto na realização da coleta de meu material
fecal e soro necessários à padronização de testes imunológicos no diagnóstico da
estrongiloidíase humana na Universidade Federal de Uberlândia sob a
coordenação da Prof. Dra. Julia Maria Costa - Cruz.

Assinatura do responsável

Uberlândia, ____ de ____ de 1.99 ____.