

---

## DIAGNÓSTICO DA ESTRONGILOIDÍASE HUMANA: IMPORTÂNCIA E TÉCNICAS

---

---

Adriana Pittella Sudré,<sup>1</sup> Heloísa Werneck de Macedo,<sup>1</sup> Regina Helena Saramago Peralta<sup>1</sup> e José Mauro Peralta<sup>2</sup>

### RESUMO

A estrogiloidiase é causada pelo nematóide intestinal *Strongyloides stercoralis* e ocorre de forma assintomática na maior parte dos indivíduos infectados. Entretanto, é considerada de grande importância por causar hiperinfecção e disseminação em pacientes imunodeprimidos, principalmente durante o uso de corticóides. O diagnóstico definitivo normalmente é feito mediante a detecção de larvas nas fezes, mas torna-se extremamente difícil em razão da baixa quantidade de parasitos, na maioria dos casos, e da reduzida e irregular eliminação de larvas. As técnicas sorológicas, principalmente as imunoenzimáticas, podem ser uma boa alternativa para o diagnóstico da estrogiloidiase. 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. Sendo assim, são necessários novos estudos que levem ao desenvolvimento de testes sorológicos confiáveis para o diagnóstico da estrogiloidiase, que não dependam de larvas como fonte antigênica.

DESCRITORES: *Strongyloides stercoralis*. Estrogiloidiase. Diagnóstico.

### INTRODUÇÃO

A estrogiloidiase humana é causada por duas espécies de nematóides intestinais pertencentes ao gênero *Strongyloides*, que são geohelminthos da família Rhabdiasidae (Railliet, 1915). A espécie *S. stercoralis* (Bavay, 1876) é considerada a de maior importância clínica para o homem, por ser a mais comum e de distribuição

---

1 Departamento de Patologia, Faculdade de Medicina, Universidade Federal Fluminense, Niterói, Rio de Janeiro, CEP: 24030210, Brasil.

2 Departamento de Imunologia, Instituto de Microbiologia Professor Paulo de Góes-CCS, Universidade Federal do Rio de Janeiro, CEP: 21941-590, Brasil.

Endereço para correspondência: Dr. José Mauro Peralta, Departamento de Imunologia, Instituto de Microbiologia Professor Paulo de Góes-CCS, Universidade Federal do Rio de Janeiro, CEP: 21941-590, Brasil. E-mail: peralta@micro.uffj.br

Recebido para publicação em 19/6/2006. Revisto em 27/9/2006. Aceito em 20/11/2006.

mundial, com mais de 600 milhões de pessoas infectadas no mundo (Chan et al., 1994). A outra espécie, *Strongyloides fuelleborni*, é encontrada esporadicamente na África e na Nova Guiné (Liu & Weller, 1993; Siddiqui & Berk, 2001).

*S. stercoralis* foi identificado primeiramente em 1876, nas fezes de soldados franceses que atuavam no Vietnã, os quais apresentavam diarreia grave. Esta doença foi conhecida durante anos como diarreia da Cochinchina (Siddiqui & Berk, 2001).

Entre as doenças parasitárias com maior prevalência no Brasil, a estrogiloidíase vem sendo apontada por vários autores como uma das principais, com prevalência variando de 3% a 82% (Gonçalves et al.; 1990; Kobayashi et al. 1995; Kobayashi et al., 1996; Machado & Costa-Cruz, 1998; Santos, 2000; Morrone et al., 2004).

*Strongyloides* tem a peculiaridade de ser o único nematóide parasito do homem capaz de realizar um duplo ciclo evolutivo. As fêmeas são partenogenéticas e somente elas são parasitas. Localizam-se no intestino delgado e produzem larvas rabsitóides que, no meio externo, podem dar origem a machos ou fêmeas de vida livre. A infecção do hospedeiro ocorre por meio da penetração de larvas filarióides pelo tegumento, as quais realizam um ciclo cardiopulmonar (Carvalho Filho, 1978; Rey, 2001). Após três a quatro semanas da penetração das formas infectantes através da pele, o hospedeiro começa a eliminar larvas em suas dejeções (Carvalho Filho, 1978).

A transmissão oral e a auto-infecção também podem ocorrer na estrogiloidíase. A auto-infecção é considerada externa quando decorre da transformação de larvas rabsitóides em filarióides infectantes na região anal e perianal contaminada com fezes, ocorrendo, assim, a penetração dessas larvas pela mucosa retal com invasão da rede venosa e do ciclo pulmonar. É interna quando as condições locais do intestino propiciam a evolução do parasito na luz das porções delgada e grossa, com invasão direta da mucosa por larvas que não saíram para o meio exterior. (Rey, 2001). Entretanto, Genta (1992) acredita que a auto-infecção ocorra normalmente no intestino do hospedeiro quando pequenas quantidades de larvas rabsitóides sofrem muda para a forma filarióide e se tornam responsáveis pela manutenção da infecção, mesmo em indivíduos que já não residem em áreas endêmicas. Assim, uma falta de regulação desta auto-infecção acarretaria uma hiperinfecção com disseminação do parasito por diversos órgãos. Tem sido relatado que os corticoesteróides podem ser responsáveis por essa falta de regulação, pois, durante sua metabolização, alguns dos metabólitos produzidos se mostram muito semelhantes à ecdisona, que é a substância que regula a ecdise (muda) na maioria dos helmintos (Genta, 1992; Kothary et al., 1999; Rey, 2001). Sendo assim, um aumento de substâncias semelhantes à ecdisona pode competir com seus sítios de ligação na superfície do parasito e levar a uma elevação da quantidade de mudas desse parasito.

A maior parte dos indivíduos com estrogiloidíase apresenta forma assintomática ou manifestações clínicas brandas, não patognomônicas (Rossi et al., 1993; Grove, 1996). A patologia e a sintomatologia da estrogiloidíase não estão associadas somente à carga parasitária, mas também a fatores como a

diminuição da resistência orgânica e o estado de nutrição do paciente. A evolução da doença pode ocorrer com largo espectro de manifestações clínicas, desde formas oligossintomáticas, em indivíduos com baixa carga parasitária, até formas graves e fatais em pacientes com imunossupressão ou em uso de corticóides (Santos, 2000). A infecção crônica por *S. stercoralis*, quando apresenta sintomas, em geral são cutâneos, gastrointestinais ou pulmonares (Liu & Weller, 1993).

Em pacientes com imunossupressão, a doença pode tomar proporções ainda maiores, culminando com uma hiperinfecção e disseminação do parasito por todo o organismo do paciente (Conway, 1995; Grove, 1996). Nesses casos, ocorre uma exuberância de sintomas gastrointestinais (Santos, 2000), como o completo rompimento dos padrões normais da mucosa com ulcerações e íleo paralítico (Siddiqui & Berk, 2001). Além disso, esse quadro é caracterizado pela presença de larvas rabditóides e/ou de parasitos adultos em outros tecidos (Santos, 2000). Em virtude das peculiaridades de seu ciclo biológico e da freqüente ausência de sintomatologia, o parasitismo por *S. stercoralis* apresenta certa dificuldade em ser diagnosticado.

## DIAGNÓSTICO LABORATORIAL DA ESTRONGILOIDÍASE

A seguir, são descritos quatro métodos para o diagnóstico laboratorial da estrogiloidíase, com suas respectivas vantagens e limitações.

### Exame Parasitológico de Fezes (EPF)

O diagnóstico definitivo da estrogiloidíase normalmente é feito mediante a detecção de larvas nas fezes. Entretanto, como a quantidade de parasitos é baixa, na maioria dos casos, e a eliminação de larvas é pequena e irregular, o diagnóstico desta infecção (com predominância de casos assintomáticos) por exames parasitológicos torna-se extremamente difícil (Liu & Weller, 1993).

Nenhum teste é considerado 100% sensível para o diagnóstico. Uma única amostra de fezes examinada para a investigação de larvas propicia a detecção de cerca de 30% das infecções que não apresentam complicações. A sensibilidade do diagnóstico aumenta para cerca de 50% se forem usadas três amostras fecais, podendo chegar perto de 100% com o uso de sete amostras (Nielsen & Mojon, 1987). Como o exame de múltiplas amostras de fezes é bastante inconveniente para o paciente e consome muito tempo, a maioria dos médicos reluta em utilizá-lo (Hira et al., 2004).

Em razão de os parasitos adultos habitarem o interior do tecido intestinal e não o lúmen, eles não são detectáveis nas fezes, apenas em biópsias ou, ocasionalmente, em aspirados duodenais. Assim como os parasitos adultos, as larvas filarióides são raramente vistas nas fezes, com exceção dos casos de hiperinfecção e de constipação intestinal. Algumas larvas rabditóides podem se transformar, espontaneamente, em larvas filarióides em amostras fecais não fixadas e conservadas à temperatura ambiente por algumas horas (Santos, 2000; Rey, 2001).

Várias são as técnicas descritas para o diagnóstico da estrogiloidíase por exame de amostras de fezes, entre as quais são mais comuns: exame direto com uso de solução salina e lugol, métodos de concentração de larvas como o Baermann modificado por Moraes (Moraes, 1948) e suas variações, métodos de concentração por sedimentação, cultura em placa de ágar (Arakaki et al., 1988) e método de Harada-Mori (Harada & Mori, 1955).

A técnica de concentração por uso de formalina-acetato de etila aumenta o rendimento. Entretanto, por causa da movimentação das larvas vivas sua observação morfológica é dificultada. As larvas mortas há muitos dias apresentam modificações em sua estrutura, o que também dificulta o diagnóstico (Siddiqui e Berk, 2001).

Estudo comparativo de quatro diferentes métodos para exame de amostras fecais (exame direto, formalina-acetato de etila, Harada-Mori e cultura em placa de ágar) demonstra maior sensibilidade do método de cultura em placa de ágar (Sato et al., 1995b). O mesmo resultado foi observado em outro estudo no qual cerca de 60% dos casos não teriam sido diagnosticados se fossem utilizados apenas os métodos de Harada-Mori e de concentração fecal (Kobayashi et al., 1996). A maior eficácia da cultura em placa de ágar também foi comprovada por Jongwutiwes et al. (1999), quando comparada ao exame direto, à sedimentação com formalina-éter e ao método do papel de filtro. Isso equivale a dizer que, ao ser aplicada à rotina laboratorial, obteve resultados bastante satisfatórios.

Um estudo comparativo entre a técnica de Hoffman et al (1934) e a de Baermann-Moraes adaptada mostrou que a primeira foi capaz de detectar 30,9% dos casos, enquanto a segunda detectou 31,5% dos casos de estrogiloidíase. Fica, assim, evidenciada a necessidade do uso das duas técnicas combinadas para a obtenção de maior sensibilidade do exame parasitológico de fezes (Willcox e Coura, 1991).

Em um estudo da relação custo—benefício da técnica de Baermann modificada, do exame direto e da cultura em placa de ágar, observou-se que o método de Baermann modificado era 3,6 vezes mais eficiente do que o exame direto. A cultura em placa de ágar aumentou a eficiência do método de Baermann modificado em 0,8 vezes. Se somente o custo dos materiais for avaliado, o exame direto é considerado o mais econômico, tendo o Baermann modificado um custo quatro vezes maior e o método de cultura em placa de ágar um custo 15 vezes maior. Isso se deve ao fato de que esta última técnica necessita de equipamentos de laboratório mais caros e de pessoas bastante treinadas para sua realização. Além disso, o Baermann modificado possui a vantagem da rapidez (2 horas), contrastando com a cultura em placa de ágar que necessita de 24 horas para se obter o resultado (Kaminsky, 1993).

Ao serem comparadas as técnicas de cultura em placa de ágar e concentração em solução de formalina-acetato de etila para o diagnóstico da estrogiloidíase, foi encontrada uma maior sensibilidade da cultura em placa de ágar. Entretanto, o desempenho entre as duas técnicas foi semelhante em indivíduos com elevada eliminação de larvas nas fezes (Intapan et al., 2005).

Embora apresente algumas deficiências, o diagnóstico definitivo da estrogiloidíase ainda possui como padrão a detecção de larvas nas fezes. Para compensar as deficiências do EPF, muitas pesquisas estão sendo realizadas em busca de técnicas sorológicas que permitam um diagnóstico mais confiável da estrogiloidíase.

#### Diagnóstico através de fluidos corpóreos

Diversos relatos da presença de larvas rabsitóides ou filarióides de *S. stercoralis* já foram feitos em broncoscopias (Upadhyay et al., 2001), lavados broncoalveolares (Ly et al., 2003 e Mayayo et al., 2005), escarro (Kim et al., 2005) e fluido cérebro-espinhal (Kothary et al., 1999), principalmente em indivíduos sob corticoterapia.

A pesquisa de larvas em aspirados duodenais se mostrou bastante eficaz quando comparada à microscopia fecal em um estudo realizado com 292 pacientes que apresentavam sintomatologia gastrointestinal. Neste estudo, o exame microscópico de até três amostras fecais detectou apenas 33% de pacientes positivos para *S. stercoralis*, enquanto o exame de uma única amostra de aspirado duodenal identificou 76% dos pacientes. Em 67% dos pacientes o parasito não foi encontrado nas fezes e sim, exclusivamente, no fluido duodenal (Goka et al., 1990).

#### Diagnóstico Sorológico

As técnicas sorológicas, principalmente as imunoenzimáticas, podem ser uma boa alternativa para o diagnóstico da estrogiloidíase. Além disso, o desenvolvimento de testes sorológicos confiáveis para o diagnóstico da estrogiloidíase pode ter grande utilidade em situações epidemiológicas e clínicas (Rossi et al., 1993).

Normalmente, as preparações antigênicas de *S. stercoralis*, resultantes de extração de antígenos solúveis totais em solução salina, têm sido utilizadas nas técnicas sorológicas padronizadas. Entretanto, essas preparações não possuem adequada especificidade, pois representam o extrato bruto do parasito com antígenos comuns a outros parasitos. Além disso, 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; Siddiqui e Berk, 2001).

Muitos pesquisadores (Sato et al., 1995a; Costa-Cruz et al., 1997; Costa-Cruz et al., 2003; Silva et al., 2003; Machado et al., 2003; Rodrigues et al., 2004) vêm utilizando antígenos heterólogos, ou seja, provenientes de larvas de outras espécies de *Strongyloides*, principalmente *S. ratti* e *S. venezuelensis*, pois são de fácil obtenção e constituem uma fonte segura de antígenos e não representam risco para seus manipuladores. Entretanto, apesar dos grandes avanços, ainda é necessária

uma melhor comparação entre os componentes antigênicos imunodominantes dessas duas espécies de *Strongyloides* com *S. stercoralis* (Silva et al., 2003).

Apesar das dificuldades encontradas para obtenção e purificação de antígenos, já foram descritas diversas técnicas sorológicas que podem ser utilizadas no diagnóstico da estrogiloidíase. As principais são: ensaios imunoenzimáticos (*Enzyme-linked Immunosorbent Assay* - ELISA e Western-blot), imunofluorescência e teste de aglutinação em partículas de gelatina.

O ELISA é considerado superior aos outros testes sorológicos no que diz respeito à praticidade, à segurança e à disponibilidade de reagentes (Liu e Weller, 1993). Além disso, a sensibilidade do teste varia em torno de 85% a 95% e a especificidade pode chegar a 90%, portanto superior à maioria dos outros testes sorológicos (Rossi et al., 1993; Liu e Weller, 1993; Uparanukraw et al., 1999; Schaffel et al., 2001; Koosha et al., 2004). Embora a sensibilidade e a especificidade do ELISA tenham sido bastante investigadas, uma comparação entre os estudos costuma ser problemática em consequência de uma pobre definição dos antígenos e da variação dos protocolos utilizados (Johnston et al., 2005).

O teste ELISA detecta a presença de anticorpos das classes de imunoglobulinas G (IgG), A (IgA), M (IgM) e E (IgE), específicos para o parasito, mas não confere um valor quantitativo da carga parasitária. Além disso, o teste ELISA, principalmente para anticorpos IgG, nem sempre pode distinguir entre infecções recentes e antigas (Liu e Weller, 1993).

Uma outra desvantagem desta técnica é a freqüente observação de resultados falso-positivos causados pela reação cruzada com antígenos de outros nematóides, como por exemplo, ancilostomídeos e filarídeos (Neva et al., 1981; Conway et al., 1993a; Sithithaworn et al., 2003). Entretanto, Conway et al. (1993a) constataram que, ao se realizar uma pré-absorção do soro estudado com extratos de nematóides, havia um aumento da especificidade na detecção de IgG anti-*S. stercoralis* no método ELISA indireto.

Apesar desses problemas, pode-se recomendar a aplicação de um teste sorológico antes da realização do exame de fezes em inquéritos epidemiológicos, nos quais um grande número de indivíduos será examinado. O teste ELISA seria conveniente nesta situação, pois um grande número de amostras de soro pode ser testado simultaneamente em poucas horas. Uma vez detectados os indivíduos positivos, estes devem ser avaliados parasitologicamente para se constatar a presença de larvas nas fezes (Sato et al., 1995a).

Outro método de diagnóstico que pode ser utilizado é o teste de aglutinação em partículas de gelatina. No entanto, este teste mostrou uma proporção relativamente maior de resultados falso-positivos ao ser comparado com o teste ELISA (Sato et al., 1991). Um estudo comparativo entre as técnicas de aglutinação em partícula de gelatina e ELISA encontrou uma maior sensibilidade do teste de aglutinação em relação ao ELISA. Entretanto, quando foram avaliadas especificidade e quantidade de reações cruzadas, o ELISA apresentou melhores resultados (Sithithaworn et al, 2005).

A reação de imunofluorescência indireta, utilizando-se larvas de *S. stercoralis* ou *Strongyloides ratti* como antígenos (em cortes feitos com criostato), pode servir como subsídio para o diagnóstico da estrogiloidíase em virtude de sua acuracidade (Costa-Cruz et al., 1997). Um trabalho no qual foram utilizadas amostras sanguíneas colhidas em papel de filtro e avaliadas pela imunofluorescência indireta, com a finalidade de realizar inquérito soroepidemiológico da estrogiloidíase, mostrou-se bastante satisfatório graças a fatores como: baixo custo, facilidade de armazenamento e transporte, além do fornecimento de dados confiáveis (Costa-Cruz et al., 1998).

Recentemente, a análise por Western-blot tem sido aplicada no imunodiagnóstico da estrogiloidíase, demonstrando maior especificidade que o ELISA. Estudo no qual foi empregada a técnica de Western-blot constatou que apenas as amostras de soro de pacientes (n=55) infectados por *S. stercoralis* reagiram com proteínas da larva filarióide (L3). As proteínas mais importantes reconhecidas pelos anticorpos tinham massas moleculares de 28, 31, 41 e 205 kDa (Uparanukraw et al., 1999). Outros autores (Sato et al., 1990; Conway et al., 1993b; Conway et al., 1994; Atkins et al., 1999, Silva et al., 2003) também realizaram experimentos semelhantes, buscando proteínas que fossem reconhecidas pelos anticorpos de pacientes com estrogiloidíase e obtiveram uma grande variação nas massas moleculares das proteínas encontradas. Essa diferença nos resultados deveu-se, provavelmente, à utilização de um extrato bruto de larvas de *S. stercoralis* e também às diferenças na padronização das técnicas.

Ao serem estudadas duas preparações antigênicas de *S. stercoralis* (extrato bruto e forma parcialmente purificada) pelo método ELISA, ficou evidenciada uma maior reatividade com a fração purificada do que com o extrato bruto. Isso se deveu ao fato de que o extrato bruto provavelmente continha uma grande proporção de carboidratos não-antigênicos ou pouco antigênicos, que podem interferir nas reações antígeno-anticorpo (Mangali et al., 1991).

Estudos que utilizaram antígenos de *S. stercoralis* ou *S. ratti* na técnica de Western-blot mostraram existir componentes antigênicos distintos, que podem ser utilizados como método adicional no diagnóstico da estrogiloidíase. Da mesma forma, outros estudos utilizando antígenos de *S. ratti* no Western-blot encontraram 11 e 5 componentes antigênicos imunodominantes, com alta taxa de sensibilidade e especificidade (Silva et al., 2003; Rodrigues et al., 2004). Sendo assim, podemos considerar que a técnica de Western-blot tem possibilitado o reconhecimento de moléculas com uso potencial em diagnóstico.

Merece destaque também a utilização dos testes sorológicos para avaliar a eficácia de um tratamento. Frequentemente, *S. stercoralis* persiste, apesar do tratamento com anti-helmínticos, o que dificulta a avaliação do sucesso de um tratamento por meio de exame de amostras de fezes (Sato et al., 1995a; Page et al., 2006). Estudos demonstraram que existe um declínio pequeno, mas consistente, na resposta de IgG ao *S. stercoralis* após tratamento de sucesso e também que os

indivíduos permanecem soropositivos por um longo período de tempo (pelo menos 18 meses, em alguns casos) (Lindo et al., 1996).

Atualmente, vem-se procurando outras formas mais reprodutíveis de diagnóstico, que não necessitem da utilização de larvas para a preparação de antígenos. A caracterização de proteínas recombinantes expressas, de forma induzida, em outros microrganismos, pode ser uma fonte de antígenos importante no imunodiagnóstico. Entretanto, ainda não estão disponíveis esses antígenos como componentes de *kits* diagnósticos, por causa de dificuldades em relação aos parâmetros sorológicos de especificidade, sensibilidade e operacionalidade destinados à produção em larga escala (Ravi et al., 2002).

A produção de anticorpos policlonais e monoclonais contra diferentes proteínas de larvas do *S. stercoralis* também pode ser utilizada no diagnóstico para detecção de antígenos em amostras de fezes (coproantígeno) (Taweethavonsawat et al., 2002). Entretanto, a descrição dessas técnicas para o diagnóstico de helmintíase e, principalmente, para a estrogiloidíase ainda é rara na literatura.

### Diagnóstico Molecular

Apesar de ainda não ter sido descrita uma técnica molecular para o diagnóstico laboratorial da estrogiloidíase, avanços no conhecimento de seqüências gênicas desse microrganismo estão sendo obtidos. Um dos primeiros resultados descritos nessa área foi o seqüenciamento de todas as 1.766 bases do gene 18S rRNA de *S. stercoralis* (Putland et al., 1993). As seqüências gênicas do rRNA (ssrRNA) possibilitaram também a comparação genética entre as espécies *S. stercoralis* e *S. ratti*, evidenciando que suas seqüências de ssrRNA são bastante similares (Dorris & Blaxter, 2000).

Atualmente, pesquisas têm buscado diferenças na expressão gênica entre estágios larvares, o que permitiria um melhor entendimento da biologia do *Strongyloides* (Viney, 2006).

Diversos trabalhos estão sendo realizados para se determinar seqüências de genes desse parasito, até mesmo com o objetivo de que sejam utilizadas no diagnóstico clínico por meio de variantes de métodos da reação em cadeia da polimerase (PCR) (Putland et al., 1993; Moore et al., 1996; Dorris & Blaxter, 2000; Massey Jr. et al., 2001; Gallego et al., 2005; Viney, 2006). Entretanto, nenhuma seqüência alvo do parasito que pudesse ser empregada como diagnóstico pela PCR foi descrita até o momento.

### CONCLUSÕES

Apesar das diversas técnicas descritas para o diagnóstico da estrogiloidíase, estudos comprovam que nenhuma delas é considerada “padrão-ouro”. Por essa razão, acreditamos que mais estudos precisam ser realizados nesta área visando a



um aperfeiçoamento das técnicas de diagnóstico imunológico, uma vez que estas ainda apresentam uma baixa especificidade entre os métodos disponíveis até o momento. Além disso, como foi ressaltado anteriormente, um dos fatores limitantes do estudo desses parasitos é a dificuldade em obtê-los em grande quantidade, uma vez que são necessários seres humanos com alta taxa de infecção ou animais experimentalmente infectados, os quais, na maioria das vezes, eliminam baixa carga parasitária. Portanto, estudos de caracterização de moléculas-alvo, associados ao conhecimento do genoma do parasito, devem ser estimulados para que possibilitem a obtenção de moléculas recombinantes ou peptídeos sintéticos que poderão trazer uma grande contribuição para um diagnóstico mais sensível e específico desta infecção. Consideramos que, mesmo com o desenvolvimento dessas metodologias, o exame direto de fezes deve ser ainda o método confirmatório, desde que se usem técnicas adequadas e seja analisado o maior número de amostras de fezes quando existir indicação clínica de infecção pelo *S. stercoralis*.

#### AGRADECIMENTOS

Este trabalho foi financiado, em parte, pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Tecnológico (CNPq) e Coordenação de Aperfeiçoamento de Ensino Superior (CAPES).

#### ABSTRACT

##### Diagnosis of human strongyloidiasis: needs and techniques

Strongyloidiasis is caused by the intestinal nematode *Strongyloides stercoralis* and it typically occurs in the asymptomatic form. However, it can cause hyperinfection and dissemination in immunosuppressed patients, especially if they are under corticoid therapy. Definitive diagnosis is made by the detection of larvae in fecal samples. However, as the number of parasites in the host is very low in most cases and the elimination of larvae in the feces is not frequent, the diagnosis of this disease by parasitological methods becomes extremely difficult. The development of reliable immunological assays is an important alternative approach for the diagnosis of strongyloidiasis. One of the major limitations in developing more sensitive and specific immunological tests is the difficulty in obtaining sufficient amounts of parasites to have well-defined fractions or molecules. Thus, the development of reliable serological assays for the strongyloidiasis diagnosis that does not need larvae as antigenic component is imperative.

**KEY WORDS:** *Strongyloides stercoralis*. Strongyloidiasis. Diagnosis.

#### REFERÊNCIAS

1. Arakaki T, Hasegawa H, Asato R, Ikeshiro T, Kinjo F, Saito A, Iwanaga M. A new method to detect *Strongyloides stercoralis* from human stool. *Jap J Trop Med Hyg* 16: 11-17, 1988.

2. Atkins NS, Conway DJ, Lindo JF, Bailey JW, Bundy DA. L3 antigen-specific antibody isotype responses in human strongyloidiasis: correlations with larval output. *Parasite Immunol* 21: 517-526, 1999.
3. Carvalho Filho E. Strongyloidiasis. *Clin Gastroenterol* 7: 179-200, 1978.
4. Chan MS, Medley GF, Jamison D, Bundy DA. The evaluation of potential global morbidity attributable to intestinal nematode infections. *Parasitology* 109: 373-387, 1994.
5. Conway DJ, Atkins NS, Lillywhite JE, Bailey JW, Robinson RD, Lindo JF, Bundy DA, Bianco AE. Immunodiagnosis of *Strongyloides stercoralis* infection: a method for increasing the specificity of the indirect ELISA. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 87: 173-176, 1993a.
6. Conway DJ, Bailey JW, Lindo JF, Robinson RD, Bundy DA, Bianco AE. Serum IgG reactivity with 41-, 31-, and 28-kDa larval proteins of *Strongyloides stercoralis* in individuals with strongyloidiasis. *J Infect Dis* 168: 784-787, 1993b.
7. Conway DJ, Lindo JF, Robinson RD, Bundy DA, Bianco AE. *Strongyloides stercoralis*: characterization of immunodiagnostic larval antigens. *Exp Parasitol* 79: 99-105, 1994.
8. Costa-Cruz JM, Bullamah CB, Gonçalves-Pires M do R, Campos DM, Vieira MA. Cryomicrotome sections of coproculture larvae of *Strongyloides stercoralis* and *Strongyloides ratti* as antigen sources for the immunodiagnosis of human strongyloidiasis. *Rev Inst Med Trop São Paulo* 39: 313-317, 1997.
9. Costa-Cruz JM, Machado ER, Campos DM. Seroepidemiological study of human strongyloidiasis with blood samples collected on filter paper, in Abadia dos Dourados (Minas Gerais, Brazil). *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 40: 329-331, 1998.
10. Costa-Cruz JM, Madalena J, Silva DA, Sopelete MC, Campos DM, Taketomi EA. Heterologous antigen extract in ELISA for the detection of human IgE anti-*Strongyloides stercoralis*. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 45: 265-268, 2003.
11. Dorris M, Blaxter M. The small subunit ribosomal RNA sequence of *Strongyloides stercoralis*. *Int J Parasitol* 30: 939-941, 2000.
12. Genta RM. Dysregulation of strongyloidiasis: a new hypothesis. *Clin Microbiol Rev* 5: 345-355, 1992.
13. Goka AK, Rolston DD, Mathan VI, Farthing MJ. Diagnosis of *Strongyloides* and hookworm infections: comparison of faecal and duodenal fluid microscopy. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 84: 829-831, 1990.
14. Gomez Gallego S, Loukas A, Slade RW, Neva FA, Varatharajulu R, Nutman TB, Brindley PJ. Identification of an astacin-like metallo-proteinase transcript from the infective larvae of *Strongyloides stercoralis*. *Parasitol Int* 54: 123-133, 2005.
15. Gonçalves JF, Tanabe M, Medeiros F de P, Gonçalves FJ, Aca Ida S, da Motta SR, Tateno S, Takeuchi T. Parasitological and serological studies on amoebiasis and other intestinal parasitic infections in the rural sector around Recife, Northeast Brazil. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 32: 428-435, 1990.
16. Grove DI. Human strongyloidiasis. *Adv Parasitol* 38: 251-309, 1996.
17. Harada U, Mori OA. A new method for culturing hookworm. *Yonago Acta Med* 1: 177-179, 1955.
18. Hira Pr, Al-Ali F, Shweiki HM, Abdella NA, Johny M, Francis I, Iqbal J, Thompson R, Neva F. Strongyloidiasis: challenges in diagnosis and management in non-endemic Kuwait. *Ann Trop Med Parasitol* 98: 261-270, 2004.
19. Hoffman WA, Pons JA, Janer JL. Sedimentacion concentracion method in schistosomiasis mansoni. *J Publ Health Trop Med* 9: 283-298, 1934.
20. Intapan PM, Maleewong W, Wongsaraj T, Singthong S, Morakote N. Comparison of the quantitative formalin ethyl acetate concentration technique and agar plate culture for diagnosis of human strongyloidiasis. *J Clin Microbiol* 43: 1932-1933, 2005.
21. Johnston FH, Morris PS, Speare R, McCarthy J, Currie B, Ewald D, Page W, Dempsey K. Strongyloidiasis: A review of the evidence for Australian practitioners. *Aust J Rural Health* 13: 247-254, 2005.
22. Jongwutiwes S, Charoenkorn M, Sithichareonchai P, Akarabornvorn P, Putapornpip C. Increased sensitivity of routine laboratory detection of *Strongyloides stercoralis* and hookworm by agar-plate culture. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 93: 398-400, 1999.
23. Kaminsky RG. Evaluation of three methods for laboratory diagnosis of *Strongyloides stercoralis* infection. *J Parasitol* 79: 277-280, 1993.

24. Kim J, Joo HS, Ko HM, Na MS, Hwang SH, Im JC. A case of fatal hyperinfective strongyloidiasis with discovery of autoinfective filariform larvae in sputum. *Korean J Parasitol* 43: 51-55, 2005.
25. Kobayashi J, Hasegawa H, Forli AA, Nishimura NF, Yamanaka A, Shimabukuro T, Sato Y. Prevalence of intestinal parasitic infection in five farms in Holambra, São Paulo, Brazil. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 37: 13-18, 1995.
26. Kobayashi J, Hasegawa H, Soares EC, Toma H, Dacal AR, Brito MC, Yamanaka A, Foli AA, Sato Y. Studies on prevalence of *Strongyloides* infection in Holambra and Maceió, Brazil, by the agar plate faecal culture method. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 38: 279-284, 1996.
27. Koosha S, Fesharaki M, Rokni MB. Evaluation of Enzyme-linked immunosorbent assay for the serodiagnosis of strongyloidosis. *Pak J Med Sci* 20: 36-40, 2004.
28. Kothary NN, Muskie JM, Mathur SC. *Strongyloides stercoralis* hyperinfection. *Radiographics* 19: 1077-1081, 1999.
29. Lindo JF, Atkins NS, Lee MG, Robinson RD, Bundy DA. Parasite-specific serum IgG following successful treatment of endemic strongyloidiasis using ivermectin. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 90: 702-703, 1996.
30. Liu LX, Weller PF. Strongyloidiasis and other intestinal nematode infections. *Infect Dis Clin North Am* 7: 655-682, 1993.
31. Ly MN, Bethel SL, Usmani AS, Lambert DR. Cutaneous *Strongyloides stercoralis* infection: an unusual presentation. *J Am Acad Dermatol* 49: 5157-5160, 2003.
32. Machado ER, Costa-Cruz JM. *Strongyloides stercoralis* and other enteroparasites in children at Uberlândia city, state of Minas Gerais, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 93: 161-164, 1998.
33. Machado ER, Ueta MT, de Fátima Gonçalves-Pires M do R, Alves de Oliveira JB, Faccioli LH, Costa-Cruz JM. *Strongyloides venezuelensis* alkaline extract for the diagnosis of human strongyloidiasis by enzyme-linked immunosorbent assay. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 98: 849-851, 2003.
34. Mangali A, Chaicumpa W, Nontasut P, Chantavanij P, Tapchaisri P, Viravan C. Enzyme-linked immunosorbent assay for diagnosis of human strongyloidiasis. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 22: 88-92, 1991.
35. Massey HC Jr., Ball CC, Lok JB. PCR amplification of putative *gpa-2* and *gpa-3* orthologs from the (A + T)-rich genome of *Strongyloides stercoralis*. *Int J Parasitol* 31: 377-383, 2001.
36. Mayayo E, Gomez-Aracil V, Azua-Blanco J, Azua-Romeo J, Capilla J, Mayayo R. *Strongyloides stercoralis* infection mimicking a malignant tumour in a non-immunocompromised patient. Diagnosis by bronchoalveolar cytology. *J Clin Pathol* 58: 420-422, 2005.
37. Moore TA, Ramachandran S, Gam AA, Neva FA, Lu W, Saunders L, Williams SA, Nutman TB. Identification of novel sequences and codon usage in *Strongyloides stercoralis*. *Mol Biochem Parasitol* 79: 243-248, 1996.
38. Moraes RG. Contribuição para o estudo do *Strongyloides stercoralis* e da estrongiloidíase no Brasil. *Rev Serv Saúde Públ (Rio de J.)* 1: 507-624, 1948.
39. Morrone FB, Carneiro JA, dos Reis C, Cardozo CM, Ubal C, de Carli GA. Study of enteroparasites infection frequency and chemotherapeutic agents used in pediatric patients in a community living in Porto Alegre, RS, Brazil. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 46: 77-80, 2004.
40. Neva FA, Gam AA, Burke J. Comparison of larval antigens in an enzyme-linked immunosorbent assay for strongyloidiasis in humans. *J Infect Dis* 144: 427-432, 1981.
41. Nielsen PB, Mojon M. Improved diagnosis of *Strongyloides stercoralis* by seven consecutive stool specimens. *Zentralbl Bakteriol Mikrobiol Hyg [A]* 263: 616-618, 1987.
42. Page WA, Dempsey K, McCarthy JS. Utility of serological follow-up of chronic strongyloidiasis after anthelmintic chemotherapy. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 100: 1056-1062, 2006.
43. Putland RA, Thomas SM, Grove DI, Johnson AM. Analysis of the 18S ribosomal RNA gene of *Strongyloides stercoralis*. *Int J Parasitol* 23: 149-151, 1993.
44. Ravi V, Ramachandran S, Thompson RW, Andersen JF, Neva FA. Characterization of a recombinant immunodiagnostic antigen (NIE) from *Strongyloides stercoralis* L3-stage larvae. *Mol Biochem Parasitol* 125: 73-81, 2002.
45. Rey L. *Parasitologia*. Guanabara Koogan 3ª ed., 2001.

46. Rodrigues RM, Sopelete MC, Silva DA, Cunha-Junior JP, Taketomi EA, Costa-Cruz JM. *Strongyloides ratti* antigenic components recognized by IgE antibodies in immunoblotting as an additional tool for improving the immunodiagnosis in human strongyloidiasis. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 99: 89-93, 2004.
47. Rossi CL, Takahashi EE, Teixeira AL, De Barros-Mazon S, Trevisan RC. Avaliação de preparações antigênicas de *Strongyloides stercoralis* para o imunodiagnóstico da estrogiloidíase. *Rev Soc Bras Med Trop* 26: 83-87, 1993.
48. Santos H.L.C. *A importância do diagnóstico laboratorial da estrogiloidíase em pacientes imunossuprimidos*. Niterói [Trabalho de conclusão do Curso de Especialização em Patologia Clínica – Departamento de Patologia da Universidade Federal Fluminense], 2000.
49. Sato Y, Inoue F, Matsuyama R, Shiroma Y. Immunoblot analysis of antibodies in human strongyloidiasis. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 84: 403-406, 1990.
50. Sato Y, Toma H, Kiyuna S, Shiroma Y. Gelatin particle indirect agglutination test for mass examination for strongyloidiasis. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 85: 515-518, 1991.
51. Sato Y, Kobayashi J, Toma H, Shiroma Y. Immunodiagnosis of *Strongyloides stercoralis* infection: a method for increasing the specificity of the indirect ELISA. *Trans R S Trop Med Hyg* 87: 173-176, 1995a.
52. Sato Y, Kobayashi J, Toma H, Shiroma Y. Efficacy of stool examination for detection of *Strongyloides* infection. *Am J Trop Med Hyg* 53: 248-250, 1995b.
53. Schaffel R, Nucci M, Carvalho E, Braga M, Almeida L, Portugal R, Pulcheri W. The value of an immunoenzymatic test (Enzyme-linked immunosorbent assay) for the diagnosis of strongyloidiasis in patients immunosuppressed by hematologic malignancies. *Am J Trop Med Hyg* 65: 346-350, 2001.
54. Siddiqui AA, Berk SL. Diagnosis of *Strongyloides stercoralis* infection. *Clin Infect Dis* 33: 1040-1047, 2001.
55. Silva LP, Barcelos IS, Passos-Lima AB, Espindola FS, Campos DM, Costa-Cruz JM. Western Blotting using *Strongyloides ratti* antigen for the detection of IgG antibodies as confirmatory test in human strongyloidiasis. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 98: 687-691, 2003.
56. Sithithaworn P, Srisawangwong T, Tesana S, Daenseekaew W, Sithithaworn J, Fujimaki Y, Ando K. Epidemiology of *Strongyloides stercoralis* in north-east Thailand: application of the agar plate culture technique compared with the enzyme-linked immunosorbent assay. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 97: 398-402, 2003.
57. Sithithaworn J, Sithithaworn P, Janrungsopa T, Suvatanadecha K, Ando K, Haswell-Elkins MR. Comparative assessment of the gelatin particle agglutination test and an enzyme-linked immunosorbent assay for diagnosis of strongyloidiasis. *J Clin Microbiol* 43: 3278-3282, 2005.
58. Taweethavonsawat P, Chaicumpa W, Chaisri U, Chuenbal U, Sakolvaree Y, Tapchaisri P, Wongsaraj T. Specific monoclonal antibodies to *Strongyloides stercoralis*: a potential diagnostic reagent for strongyloidiasis. *Asian Pac J Allergy Immunol* 20: 247-256, 2002.
59. Upadhyay D, Corbridge T, Jain M, Shah R. Pulmonary hyperinfection syndrome with *Strongyloides stercoralis*. *Am J Med* 111: 167-169, 2001.
60. Uparanukraw P, Phongsri S, Morakote N. Fluctuations of larval excretion in *Strongyloides stercoralis* infection. *Am J Trop Med Hyg* 60: 967-973, 1999.
61. Viney ME. The biology and genomics of *Strongyloides*. *Med Microbiol Immunol (Berl)* 195: 49-54, 2006.
62. Willcox HP, Coura JR. The efficiency of Lutz, Kato-Katz and Baermann-Moraes (adapted) techniques association to the diagnosis of intestinal helminths. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 86: 457-460, 1991.