
DIAGNÓSTICO PARASITOLÓGICO E MOLECULAR DE ENTEROPARASITOS ENTRE CRIANÇAS RESIDENTES E FUNCIONÁRIOS DE UMA INSTITUIÇÃO BENEFICENTE PARA MENORES NO MUNICÍPIO DE NITERÓI-RJ, BRASIL

Roberta de Oliveira Leite¹, Helena Keiko Toma² e Yara Leite Adami¹

RESUMO

Os enteroparasitos são causa importante de agravos à saúde humana e podem interferir de forma significativa no desenvolvimento infantil. Embora as formas de transmissão sejam bem documentadas, a desinformação e as precárias condições socioeconômicas de alguns segmentos da população ainda são fatores que contribuem para a manutenção de parasitos no País, viabilizando a transmissão. Este estudo foi realizado entre crianças residentes e funcionários de uma instituição filantrópica religiosa, situada na cidade de Niterói, Rio de Janeiro, consistindo em um ciclo de palestras educativas, seguido da coleta de amostras fecais para diagnóstico coproparasitológico. Foram coletadas 68 amostras fecais frescas e encontrados enteroparasitos em 41 delas (60%), sendo o *Blastocystis hominis* o parasito mais prevalente (44%). Adicionalmente, sete amostras foram positivas para o complexo *Entamoeba histolytica*/*E. dispar*, sendo uma confirmada como *E. histolytica* pelo ELISA para pesquisa de coproantígeno. Em 37 amostras de fezes foi pesquisada a presença de *E. histolytica* e *E. dispar* pela técnica de Nested-PCR. Entre essas, 12 (32%) amplificaram um fragmento de 195 pb quando utilizados *primers* específicos para *E. dispar*, não havendo amplificação de qualquer produto com os *primers* de *E. histolytica*. Estudo feito no entorno da instituição revelou acúmulo de lixo e a presença de saídas de esgoto no peridomicílio, as quais desembocavam nas proximidades da área de lazer das crianças. É possível que esses pontos sejam responsáveis pela contaminação do solo e mesmo incriminados como uma das possíveis fontes de infestação para as crianças.

DESCRITORES: Parasitos; fezes; *Entamoeba histolytica*; diagnóstico; ELISA; PCR.

-
- 1 Laboratório de Parasitologia, Departamento de Patologia, Faculdade de Medicina da Universidade Federal Fluminense, Niterói, RJ, Brasil.
 - 2 Laboratório de Diagnóstico Molecular e Hematologia, Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Brasil.

Endereço para correspondência: E-mail: yaraadami@vm.uff.br

Recebido para publicação em: 20/2/2014. Revisto em: 21/7/2014. Aceito em: 9/12/2014.

ABSTRACT

Parasitological and molecular diagnosis of enteroparasites among resident children and employees of a child care institution at Niterói city, RJ, Brazil

Intestinal parasites are important agents of human diseases, besides being responsible for impairing childhood development. Although transmission is well known, lack of information and precarious social and economic conditions are risk factors that allow maintenance of parasite cycles, favoring transmission. This study was carried out among resident children and employees of a Catholic Institution, located in Niterói, Rio de Janeiro, and consisted of delivering lectures and collecting fresh stool samples, which were processed through the Willis and Hoffman, Pons and Janer methods. Enteroparasites were found in 41 samples (60%) and *Blastocystis hominis* was the most prevalent (44%). Additionally, in seven samples where microscopic examination was positive for the *E. histolytica*/*E. dispar* complex an ELISA was employed to detect *E. histolytica* and only one reacted positively in the immunoassay. In 37 samples a Nested-PCR was carried out for detection of *E. histolytica* and *E. dispar* and in 12 samples (32%) a product with 195 bp was observed using *E. dispar* primers, while there was no amplification product with *E. histolytica* specific primers. As the Institution has a good pattern of hygiene not related with the results, a superficial analysis of its peripheral area was carried out and showed lots of garbage in the neighborhood and sewage outflow into the play area of the Institution. We concluded that these points may be responsible for the soil contamination and could be incriminated as one of the sources of infection in the children.

KEY WORDS: Parasites; feces; *Entamoeba histolytica*; diagnosis; ELISA; PCR

INTRODUÇÃO

As infecções por enteroparasitos permanecem ainda hoje como um importante problema de saúde pública, pois contribuem para elevadas taxas de morbidade e mortalidade, principalmente nos países em desenvolvimento (Belloto, 2011). No Brasil, tanto o clima quanto as características do solo de cada região podem ser considerados como fatores críticos, pois favorecem a manutenção e disseminação de formas parasitárias, principalmente de agentes responsáveis por afecções intestinais como protozoários e helmintos (Fonseca et al., 2010). Além desses fatores, há também o crescimento de algumas áreas das regiões metropolitanas sem a necessária contrapartida em saneamento, rede de atenção básica à saúde e educação. Adicionalmente, a falta de uma política de educação sanitária profunda, séria e eficaz, torna o problema das enteroparasitoses no Brasil muito grave. As questões relativas à erradicação requerem melhoria das condições socioeconômicas, do saneamento básico e da educação sanitária, além de mudanças nos hábitos culturais de cada população (Tavares-Dias e Grandini, 1999).

Em nosso país, as pesquisas sobre enteroparasitos demonstram distribuição de frequência bastante heterogênea, variando de acordo com as condições locais de saneamento, as características da amostra analisada e a faixa etária da população estudada. No norte do Brasil, trabalho realizado entre a população infantil ribeirinha em Coari (AM) mostrou que 83% das crianças apresentavam parasitismo intestinal, sendo prevalentes as infecções por helmintos como *Ascaris lumbricoides* e *Trichuris*

trichiura (Santos et al., 2010). Mais recentemente, o padrão acima se repetiu em São Francisco do Laranjal – também no município de Coari, onde um estudo coproparasitológico revelou o mesmo percentual de prevalência de enteroparasitos (83%) com predominância de infecções por *A. lumbricoides* e *T. trichiura* (Silva et al., 2012). Na periferia de São Luís (MA), material subungueal de 45 adolescentes revelou 11% de positividade, sendo encontrados ovos de nematoides como *A. lumbricoides* e *Enterobius vermicularis*, bem como cistos de protozoários intestinais como *Entamoeba coli* e *Entamoeba histolytica* (Silva-Souza et al., 2008). Por outro lado, um estudo realizado entre 294 indivíduos com mais de 65 anos no Piauí demonstrou uma elevada frequência de enteroparasitismo neste segmento da população. Análise das condições de vida no local do estudo demonstrou que esses resultados podem estar relacionados com o grau de insalubridade da área na qual a população está inserida (Furtado e Melo, 2011). Na Região Sul do País, inquérito realizado em Erechim (RS) com 235 amostras fecais de crianças de uma entidade assistencial revelou que mais da metade (54,5%) possuíam formas evolutivas de algum parasito, sendo prevalentes as infecções pelo nematoide *A. lumbricoides*, seguidas por *Giardia lamblia* e *Entamoeba coli* (Biasi, 2010).

Em São Paulo, amostras fecais de indivíduos de ambos os sexos atendidos em serviço ambulatorial de um hospital público revelaram a taxa de prevalência de 44% para enteroparasitos, atribuída ao baixo nível socioeconômico e educacional da população estudada (Tavares-Dias e Grandini, 1999; Biolchini, 2005). Ainda neste estado, a prevalência de 30% de infecções por enteroparasitos foi encontrada entre 310 crianças no município de Mirassol, nas quais predominavam as infecções por *G. lamblia* (Belloto et al., 2011).

No Rio de Janeiro, estudo com 1.381 pré-escolares de quatro áreas de baixa renda da cidade revelou que 54,5% das crianças na faixa etária de 0-5 anos já se apresentavam infestadas por algum enteroparasito. *G. lamblia* e *A. lumbricoides* foram encontrados em 25% das crianças, enquanto ancilostomídeos e *E. vermicularis* foram menos prevalentes com índices de 0,3% e 0,2%, respectivamente (Macedo et al., 1998).

Em Niterói (RJ), estudo com amostras fecais de 372 crianças de creches comunitárias do município detectou mais de 50% das crianças infectadas por enteroparasitos (Uchoa et al., 2009). Esses dados, em geral, revelam que, apesar do crescente processo de urbanização de vários municípios de diferentes regiões do Brasil, não houve muito avanço no que se refere à melhoria das condições higiênico-sanitárias e de educação das camadas menos abastadas da população.

O foco deste trabalho foi avaliar a prevalência de enteroparasitos entre crianças residentes e funcionários de uma instituição mantida por uma associação religiosa católica com bom padrão de higiene e investigar as associações epidemiológicas possíveis.

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado no período de março a outubro de 2011 em uma instituição católica para menores, voltada para a adoção e mantida por meio de doações de cunho público e privado. A instituição está inserida em um dos bairros mais pobres de Niterói – Ititioca – e contava, na época, com 43 crianças na faixa etária de 0-12 e 25 indivíduos adultos, sendo 15 funcionários e 10 colaboradores voluntários da instituição. A primeira etapa do projeto consistiu numa série de palestras educativas, versando sobre infecções por parasitos, suas formas de transmissão, medidas de higiene e profilaxia, sempre de forma bastante acessível. Numa segunda fase, foi feita a explicação detalhada do projeto e seus objetivos e os indivíduos que quiseram participar como voluntários receberam um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido e um questionário contendo dados socioepidemiológicos. A coleta de amostras dos menores da instituição foi autorizada pelo Juiz da Vara da Infância e Juventude de Niterói e pela Madre Superiora responsável pelo local. Os dados das crianças do orfanato foram obtidos das fichas de cadastro na própria instituição. O trabalho foi autorizado pelo Comitê de Ética em Pesquisas com Seres Humanos da Faculdade de Medicina da Universidade Federal Fluminense conforme o Parecer nº 112/11. As crianças são residentes, saindo apenas para as atividades escolares em transporte próprio da instituição, enquanto os funcionários, em sua maioria, são moradores de Ititioca e atuam em escala de plantão.

Os funcionários ficaram responsáveis pela coleta de amostras fecais frescas das crianças, as quais foram acondicionadas em frascos coletores universais, sem conservadores e armazenadas em geladeira até serem retiradas pela equipe do projeto. As amostras foram transportadas em caixas de isopor refrigeradas até o Laboratório de Parasitologia do Serviço de Patologia Clínica do Hospital Universitário Antônio Pedro, Niterói-RJ.

Processamento de amostras fecais

Uma parte das amostras fecais foi alíquotada e armazenada em tubos Eppendorff e congelada a -20°C para posterior utilização em imunoenensaio e diagnóstico molecular. Outra parte foi armazenada em formol a 10% para posterior uso em métodos coproparasitológicos.

Exame coprológico

Para a detecção de enteroparasitos foram utilizados os métodos de Hoffmann, Pons e Janner (1934) e o de Willis (1921), baseados na sedimentação espontânea e na flutuação em solução saturada de cloreto de sódio, respectivamente. Os resultados dos exames parasitológicos foram entregues em fichas individuais

inseridas em envelopes lacrados e encaminhados à direção da instituição. O médico voluntário da instituição fez a prescrição da medicação adequada a cada caso, tanto para crianças quanto para os funcionários.

Pesquisa de coproantígenos

O diagnóstico diferencial entre as espécies *Entamoeba histolytica* e *E. dispar* foi feito com o emprego do *kit* comercial Detecção do Antígeno de *Entamoeba histolytica* II ELISA: da Techlab (Inc. Blacksburg, VA, USA), o qual se baseia na detecção da adesina - lectina inibidora de N-acetil-D-galactosamina, presente na membrana do parasito e que faz a mediação da ligação dos trofozoítos às células da mucosa intestinal. Foram seguidos os procedimentos descritos pelo fabricante.

Detecção e diferenciação de *E. histolytica* e *E. dispar* por Nested PCR

A extração de DNA foi realizada com cerca de 220 mg de amostras fecais congeladas por meio do QIAamp DNA Stool Mini Kit da Qiagen, seguindo-se as instruções do fabricante. O DNA extraído foi estocado a -20°C até a sua utilização. Em seguida, cerca de 5µL do DNA obtido do material fecal foi submetido à amplificação por meio do Nested PCR de acordo com o protocolo proposto por Paglia e Visca (2004). A amplificação inicial do fragmento de 1076 pb da subunidade menor do RNA ribossomal foi realizada utilizando-se tampão (100mM Tris-HCl pH 8,8, 500mM KCl, 0,8% v/v Nonidet P420), 0,2 mM de cada nucleotídeo, 1,5 mM de MgCl₂, 1U de DNA polymerase e 10 pmol dos primers E1 (5'-TGCTGTGATTTAAAACGCT-3') e E2 (5'-TTAACTATTTCAATCTCGG-3') nas seguintes condições: após um ciclo, a 95°C por 3 minutos, o DNA foi submetido a 40 ciclos de 94°C por 50 segundos, 50°C por 90 segundos e 72°C por 2 minutos, e um ciclo de extensão a 72°C por 7 minutos. A reamplificação para diferenciar as duas espécies foi realizada com 5 µL de DNA da primeira PCR em duas reações separadas utilizando-se os *primers* para *E. histolytica* Eh-L (5'-ACATTTTGAAGACTTTATGTAAGTA-3') e Eh-R (5'-CAGATCTAGAAACAATGCTTCTCT-3') que amplifica um fragmento de 427 pb e para *E. dispar* Ed-L (5'-GTTAGTTATCTAATTTTCGATTAGAA-3') e Ed-R (5'-ACACCACTTACTATCCCTACC-3') que amplifica um fragmento de 195 pb. As reações foram realizadas nas mesmas concentrações e condições com exceção da temperatura de anelamento que foi de 58°C. Amostras de DNA extraídos de cultura de *E. histolytica* e de *E. dispar*, gentilmente cedidas pela Dra. Helena Santos (Fiocruz), foram utilizadas como controles positivos e amostra sem DNA foi utilizada como controle negativo. O produto da segunda PCR foi submetido à corrida eletroforética em Gel de Agarose a 2%, corado com Brometo de Etídeo e posterior visualização sob luz ultravioleta.

Análise estatística

Os dados foram analisados empregando-se os testes de Fisher e do Qui-quadrado e foram considerados significativos valores de P (Probabilidade de Significância) $<0,05$. Os testes foram aplicados com uso do *software* GraphPad Prism versão 4.0 para Windows, GraphPad Software San Diego, California USA, www.graphpad.com.

RESULTADOS

Com a metodologia adotada, foi possível observar uma elevada taxa de prevalência de infecções por enteroparasitos (Tabela 1), mais elevada entre as crianças do que em adultos, sem, entretanto, apresentar diferença significativa ($p=0,3$).

Tabela 1. Prevalência de infecções por enteroparasitos detectada por meio de pesquisa em amostras fecais coletadas em instituição para adoção de menores na Comunidade Ititioca, Niterói-RJ (2011)

| Grupos | n | np | P (%) |
|--------------|----|----|-------|
| Crianças | 43 | 30 | 70 |
| Funcionários | 25 | 11 | 44 |
| Total | 68 | 41 | 60 |

Nota - Sinais convencionais utilizados: n = total de amostras; np =total de amostras positivas; P = Prevalência; $p>0,05$ para todas as comparações

O protozoário *B. hominis* foi encontrado em 44% das amostras fecais analisadas, seguido por *Endolimax nana* e *G. lamblia*. Foram positivas para espécies do complexo *E. histolytica/E. dispar* sete amostras (10%), enquanto *E. coli* foi vista em cinco amostras (7%).

As infecções por helmintos foram menos prevalentes que aquelas causadas por protozoários, porém foram encontradas amostras com ovos de *Hymenolepis nana*, *E. vermicularis*, *T. trichiura* e *A. lumbricoides* (Tabela 2). Não foram detectadas infecções por ancilostomídeos em todas as amostras processadas pelo método de Willis.

Na maioria das amostras analisadas, predominaram os casos de monoparasitismo, mas não houve diferença estatisticamente significativa quando esses casos foram comparados aos de poliparasitismo ($p>0,05$) (Tabela 3).

Todas as faixas etárias estudadas demonstraram elevados índices de infecções por enteroparasitos, mas a maioria dos casos foi detectada entre os indivíduos nas faixas de 6-8 e 9-12 anos (Tabela 4). Todavia, a comparação entre os diferentes grupos não denotou diferença estatística significativa entre eles ($p>0,05$ para todas as possibilidades).

Tabela 2. Prevalência de enteroparasitos distribuída por espécies em amostras fecais coletadas em instituição para adoção de menores na Comunidade Ititioca, Niterói-RJ (2011)

| Enteroparasitos | npe/np | P (%) | npe/n | P (%) |
|-------------------------------------|--------|-------|-------|-------|
| <i>Blastocystis hominis</i> | 30/41 | 73 | 30/68 | 44 |
| <i>Endolimax nana</i> | 10/41 | 24 | 10/68 | 15 |
| <i>Giardia lamblia</i> | 08/41 | 19,5 | 8/68 | 12 |
| <i>Entamoeba histolytica/dispar</i> | 7/41 | 17 | 7/68 | 10 |
| <i>Entamoeba coli</i> | 5/41 | 12 | 5/68 | 7 |
| <i>Hymenolepis nana</i> | 2/41 | 5 | 2/68 | 3 |
| <i>Enterobius vermicularis</i> | 2/41 | 5 | 2/68 | 3 |
| <i>Ascaris lumbricóides</i> | 1/41 | 2 | 1/68 | 1,5 |
| <i>Trichuris trichiura</i> | 1/41 | 2 | 1/68 | 1,5 |

Nota - Sinais convencionais utilizados: npe = total de amostras positivas por espécie; np = total de amostras positivas, n= total de amostras; P = Prevalência em percentual

Tabela 3. Prevalência de infecção associada em amostras fecais coletadas em instituição para adoção de menores na Comunidade Ititioca, Niterói-RJ (2011)

| Tipo de Associação | np/n | P (%) |
|--------------------|-------|-------|
| Monoparasitismo | 22/68 | 32 |
| Poliparasitismo | 14/68 | 21 |

Nota - Sinais convencionais utilizados: np = total de amostras positivas; n = total de amostras; P = Prevalência em percentual

Tabela 4. Distribuição da prevalência de infecções por enteroparasitos por faixa etária, em instituição para adoção de menores na Comunidade Ititioca, Niterói-RJ (2011)

| Faixa etária (anos) | np/n | P (%) |
|---------------------|--------------------|-------|
| 0-2 | 2/6 ^a | 33,3 |
| 3-5 | 8/13 ^b | 61,5 |
| 6-8 | 12/14 ^c | 85,7 |
| 9-12 | 8/10 ^d | 80 |
| >18 | 11/25 ^e | 44 |

Nota – Sinais convencionais utilizados: np = total de amostras positivas; n= total de amostras; P = Prevalência em percentual

aXb: p=0,6749; aXc: p = 0,4221; aXd: p = 0,4198; aXe: p = 1,00; bXc: p = 0,7674; bXd: p = 0,7520; bXe: p = 0,5747; cXd: p = 1,00; cXe: p = 0,2878; dXe: p = 0,3724.

Conforme os dados da Tabela 5, pode-se verificar que as infecções por enteroparasitos se distribuíram de forma semelhante entre os voluntários do sexo feminino e masculino na amostra estudada.

Sete amostras foram positivas para o complexo *Entamoeba histolytica/E. dispar* por meio do método parasitológico. As mesmas amostras foram analisadas

pelo teste de ELISA por meio do *kit E. histolytica* II que detecta a presença de adesina específica para o parasito, e apenas uma apresentou absorvância superior ao *cut off* de 0,05 do *kit*.

Tabela 5. Distribuição de infecções por enteroparasitos entre os gêneros, em instituição para adoção de menores na Comunidade Ititioca, Niterói-RJ (2011)

| Sexo | n | np | P (%) |
|-----------|----|----|-------|
| Masculino | 35 | 21 | 60 |
| Feminino | 33 | 20 | 61 |
| Total | 68 | 41 | 60 |

Nota – Sinais convencionais utilizados: n = total de amostras; np = total de amostras positivas; P (%) = Prevalência em percentual

Foi extraído DNA de 37 amostras fecais previamente congeladas. Do total de amostras submetidas a Nested-PCR, 12 (32,4%) – entre elas a amostra positiva pelo Teste Imunoenzimático – amplificaram um fragmento de cerca de 195 pb quando utilizados os *primers* específicos de *E. dispar*. As outras 25 amostras (67,6%) não amplificaram nenhum produto. Também não houve amplificação de qualquer produto quando utilizados os *primers* específicos para *E. histolytica*.

A instituição na qual o projeto foi realizado conta com água potável para consumo e as crianças tinham contato, dentro do prédio, com um pequeno animal de estimação da raça Poodle. Porém, as visitas ao entorno da instituição revelaram saídas de esgoto dentro do terreno que funciona como área de lazer para as crianças, bem como uma quantidade incomensurável de lixo (orgânico e inorgânico) acumulado nas áreas dos terrenos da encosta limitrofe.

DISCUSSÃO

As instalações da instituição na qual o trabalho foi realizado denotam uma grande preocupação com limpeza e asseio, o que ficou evidenciado durante todo o trabalho, visto que foi possível notar espaços amplos, organizados, agradáveis e muito limpos em seus diversos cômodos. Apesar desses cuidados, foi encontrada uma elevada prevalência de enteroparasitos tanto entre as crianças quanto entre os adultos alocados na instituição. Em Porto Alegre, Roque et al. (2005) encontraram 36% de amostras positivas em escolares da periferia do município. Por outro lado, entre crianças institucionalizadas em creches no Rio Grande do Sul, Chaves et al. (2006) encontraram quase 40% de positividade, enquanto Barçante et al. (2008) relataram resultados semelhantes entre crianças de creches públicas localizadas em Minas Gerais.

É provável que o enteroparasitismo apresente elevadas prevalências entre moradores das diversas comunidades do município de Niterói, embora ainda exista

escassez de dados relativos ao assunto. Uma pesquisa realizada entre crianças e funcionários de oito creches no município detectou mais de 50% das crianças parasitadas e quase 40% dos funcionários na mesma situação (Uchoa et al., 2009). No município do Rio de Janeiro, a avaliação de 1.381 pré-escolares em quatro áreas de baixa renda revelou que mais de 50% das crianças apresentavam parasitismo intestinal, com um elevado grau de poliparasitismo (Macedo et al., 1998).

A amebíase é a terceira maior causa de mortes por doenças infecto-parasitárias, compreendendo cerca de 100.000 óbitos anuais (WHO, 1997). Estima-se que 50 milhões de pessoas estejam infectadas no mundo e cerca de 10% desenvolvam doença sintomática relacionada com a espécie *E. histolytica*. Duas hipóteses são sugeridas: a primeira seria que indivíduos estejam infectados por cepas de *E. histolytica* com baixa patogenicidade e a outra seria a ocorrência de colonização por *E. dispar*, espécie considerada não patogênica e comensal do intestino (Santos e Soares, 2008). A prevalência de infecções pelo complexo *E. histolytica/E. dispar* detectadas por meio da coproscopia foi de 10%, resultado semelhante ao encontrado por Barçante et al. (2008) quando estudaram amostras de crianças matriculadas em creches públicas de Vespasiano (MG). Por outro lado, foi superior aos resultados descritos por Uchoa et al. (2009) em crianças e funcionários de creches comunitárias de Niterói e Macedo et al. (2010) que detectaram 2% de positividade em estudo retrospectivo realizado com 1.749 amostras de pacientes atendidos em hospital universitário no mesmo município. O diagnóstico da infecção por *E. histolytica/dispar* é facilmente realizado por meio de métodos coproparasitológicos, mas a diferenciação entre as duas espécies é difícil, visto que ambas são morfologicamente idênticas. Uma das maneiras de se proceder ao diagnóstico diferencial é por meio da análise do perfil isoenzimático, mas esta técnica é laboriosa e ineficaz na prática clínica, pois necessita do cultivo axênico do parasito (Santos e Soares, 2008).

Por isso, tem sido proposto o emprego de técnicas imunológicas como a pesquisa de coproantígenos por meio do Método Imunoenzimático, visando auxiliar na diferenciação entre as espécies do complexo.

Neste trabalho, foram encontradas sete amostras positivas pelo método coproparasitológico, entretanto, quando foi aplicado o teste imunológico, apenas uma amostra apresentou positividade para a espécie *E. histolytica*. Os resultados da detecção de coproantígenos por esse *kit* são comparáveis aos obtidos por meio das técnicas isoenzimáticas e de biologia molecular, consideradas padrão-ouro para o diagnóstico da infecção (Haque et al., 1998).

A utilização de métodos moleculares é uma alternativa para o diagnóstico, tanto pela melhor sensibilidade, pois é possível detectar o DNA do parasito mesmo em reduzidas concentrações – quanto pela possibilidade de diferenciação entre as espécies.

Neste trabalho foi empregada a técnica desenvolvida por Paglia e Visca (2004) que faz a diferenciação entre as espécies por meio da Nested-PCR pela

qual foi possível analisar 37 das 68 amostras fecais. Empregando-se esta técnica, foi encontrado o índice de 32,4% (12/37) de amostras positivas, em comparação com o exame morfológico, que revelou 10,3% (7/68), este foi um resultado com significado estatístico ($p < 0,05$). Além disso, o diagnóstico molecular permitiu identificação específica, uma vez que todas as amostras positivas amplificaram um fragmento quando submetidas a PCR com *primers* específicos de *E. dispar*. Ainda, a PCR empregada foi mais específica que o Teste Imunoenzimático que possui sensibilidade e especificidade variáveis, podendo ter sido influenciada por uma possível desnaturação antigênica por sucessivos descongelamentos (Santos e Soares, 2008). A *E. histolytica* é a única espécie considerada patogênica dentre as espécies de amebas que podem colonizar o trato intestinal humano. O fato de terem sido encontradas somente amostras positivas para *E. dispar* merece atenção, visto que, em virtude das limitações do diagnóstico morfológico, muitos pacientes podem estar recebendo tratamento medicamentoso sem necessidade.

O monoparasitismo predominou significativamente sobre o poliparasitismo. O percentual de infecção múltipla associada ao encontro de protozoários, tanto em crianças como em adultos, são indicadores de baixas condições de higiene e contaminação fecal do ambiente em que esses indivíduos estão inseridos. Ainda, a avaliação estatística da prevalência levando em conta sexo e faixa etária não apresentou uma diferença significativa, apontando que, nas condições encontradas, estavam todos sujeitos aos mesmos fatores de risco, portanto tiveram as mesmas chances de infectar-se.

Blastocystis hominis foi o protozoário mais prevalente, presente em 73% das amostras positivas. Em vários estudos epidemiológicos, *Blastocystis spp* é o parasito isolado com maior frequência, apresentando prevalência elevada em países em desenvolvimento (Coyle et al., 2012). De fato, mais de 50% das crianças alocadas em creches na região serrana do Rio de Janeiro (Vaillant, 2011) apresentaram o protozoário em suas amostras fecais e a avaliação de 9.100 amostras de indivíduos residentes em diferentes bairros do Rio de Janeiro denotou a presença deste protozoário em 70% delas (Silva, 2006). Estes dados reforçam a importância epidemiológica crescente que o *B. hominis* vem apresentando em nosso meio, mas infelizmente o significado patogênico da infecção por esse protozoário ainda permanece inconclusivo (Macedo et al., 2010).

Os resultados encontrados permitiram observar que as infecções por protozoários prevaleceram em várias amostras positivas, dados corroborados por outros trabalhos realizados em creches e escolas que, assim como orfanatos, são ambientes de elevada aglomeração. Komagone et al. (2007) avaliaram 145 crianças e funcionários de creches em Itambé (PR) e encontraram 43% de amostras positivas para protozoários, mas apenas 1,4% de amostras apresentavam formas evolutivas de helmintos. Os estudos de Uchoa (2009) no município de Niterói também reforçaram essa tendência, isto é, a maior frequência em ambientes coletivos fechados, como as creches, de infecções por protozoários.

As infecções por helmintos foram observadas em poucos espécimes fecais, com índices baixos de infecção por *Enterobius vermicularis* e *Hymenolepis nana*, bem como *Ascaris lumbricoides* e *Trichuris trichiura* detectados neste trabalho. É importante ressaltar que esses resultados foram obtidos com um número amostral reduzido, pois a instituição contava com poucas crianças na época. Além disso, a metodologia empregada para o processamento das amostras fecais não era a mais adequada para detectar infecções por *E. vermicularis*, especialmente por sua baixa sensibilidade e especificidade, logo os valores obtidos para este parasito, especificamente, podem estar subestimados. Mesmo assim, na Região Sudeste, inquérito realizado no município de Estiva Gerbi (São Paulo) já sinalizava uma baixa prevalência de geo-helmintos entre crianças na faixa de 6 meses a 7 anos (Ferreira e Andrade, 2005). Em Mirassol, São Paulo, também prevaleceram as infecções por protozoários com baixo percentual de helmintos (Belloto et al., 2011). Adicionalmente, na Região Sul do Brasil, apesar de a prevalência de infecções por helmintos continuar elevada entre crianças, estudos indicam uma tendência de retração nesses índices (Basso et al., 2008). Por outro lado, na Região Norte do Brasil, estudos conduzidos entre habitantes de comunidades ribeirinhas do município de Coari, médio Solimões, denotaram prevalências elevadas de infecções por helmintos entre crianças (Santos et al., 2010; Silva et al., 2009; Silva et al., 2012). Os resultados paradoxais em diferentes regiões do Brasil podem refletir melhorias nas condições de moradia, de saneamento (abastecimento de água e esgotamento sanitário), cuidados de higiene e de saúde, educação materna e poder aquisitivo, contrastando com outras regiões onde comunidades inteiras permanecem em condições de vida insalubres.

A instituição pesquisada está inserida dentro de um dos bairros mais pobres de Niterói, classificado entre as localidades do município com piores indicadores socioeconômicos, incluindo condições de moradia. Estima-se que menos de 55% dos domicílios possuam ligação à rede de esgoto (Prefeitura de Niterói, 2013). A pedido da diretoria da instituição, foram realizadas palestras mensais sobre enteroparasitos, meio ambiente, educação sanitária e destinação do lixo, tendo como alvo os moradores do bairro e, principalmente, aqueles que habitavam o entorno da instituição, mas a participação foi pequena. Por outro lado, durante a apresentação de nossas palestras sobre enteroparasitos e educação sanitária para funcionários da instituição, foi possível notar seu elevado grau de desconhecimento sobre o tema exposto. Vale destacar que a grande maioria deles era formada por moradores do bairro.

Os elevados índices de infecção encontrados também podem ter sido influenciados pela constante inserção de novas crianças na instituição. Muitas são abandonadas pelos pais em situações precárias e uma vez infectadas podem contribuir para a disseminação de enteroparasitos entre as crianças já residentes em um ambiente coletivo fechado e muito propício.

As condições ambientais externas da instituição também podem constituir fator de risco. No peridomicílio, foi possível observar diversos pontos, incluindo

saídas de esgoto, com grande potencial para a disseminação de formas evolutivas de parasitos. Esses locais, conforme já relatado, ficam bem próximos à área de lazer das crianças. Como as noções higiênicas neste grupo ainda não estão bem consolidadas, as crianças entram em contato com o meio ambiente contaminado com muita facilidade, o que favorece a infecção por enteroparasitos. Por outro lado, a instituição dispõe de água tratada, mas outra possível explicação seria o fato relatado por algumas crianças de que, no momento de seus folguedos, bebiam água de uma bica situada no peridomicílio, próxima à área de lazer.

Em síntese, são muitos os fatores de risco que devem ser considerados e podem estar agindo como fontes de infecção dentro desse microcosmo no Bairro da Ititioça, o qual pode ser um reflexo da situação em outras localidades menos abastadas de Niterói. Um estudo mais abrangente em várias áreas insalubres do município poderia ajudar a compreender melhor o *status quo* atual dos cidadãos daquela que já foi considerada a primeira em qualidade de vida do Brasil e que ainda detém um dos maiores Índices de Desenvolvimento Humano (IDH) do Brasil.

REFERÊNCIAS

1. Barçante TA, Cavalcanti DV, Silva GAV, Lopes PB, Barros RF, Ribeiro GP, Neubert LF, Barçante JMP. Enteroparasitoses em crianças matriculadas em creches públicas do município de Vespasiano, Minas Gerais. *Rev Patol Trop* 37: 33-42, 2008.
2. Basso RMC, Silva-Ribeiro RT, Soligo DS, Ribacki SI, Callegari-Jacques SM, Zoppas BCA. Evolução da prevalência de parasitoses intestinais em escolares em Caxias do Sul, RS. *Rev Soc Bras Med Trop* 41: 263-268, 2008.
3. Belloto MVT, Junior JES, Macedo EA, Ponce A, Galisteu KJ, Castro E, Tauyr LV, Rossit ARB, Machado RLD. Enteroparasitoses in a population of students from a public school in the Municipality of Mirassol, São Paulo State, Brazil. *Rev Pan-Amaz Saude* 2: 37-44, 2011.
4. Biasi LA. Prevalência de enteroparasitoses em crianças de entidade assistencial de Erechim/RS. *Perspectiva, Erechim* 34: 173-179, 2010. Disponível em http://www.uricer.edu.br/new/site/pdfs/perspectiva/125_85.pdf. Último acesso: 22/05/2013.
5. Biolchini CL. Enteroparasitoses na Infância e na Adolescência. *Adolescência e Saúde*, 2 (1):29-32, 2005. http://www.adolescenciaesaude.com/detalhe_artigo.asp?id=195. Último acesso: 21/05/2013.
6. Chaves EMS, Vazquez L, Lopes K, Flores J, Oliveira L, Rizzi L, Fares EY, Querol, MQ. Levantamento de Protozooses e Verminoses nas sete creches municipais de Uruguaiana, Rio Grande do Sul – Brasil. *Rev Bras Anal Clin* 38: 39-41, 2006.
7. Coyle CM, Varughese J, Weiss LM, Tanowitz HB. *Blastocystis*: To Treat or Not To Treat. *Clin Infect Dis* 54: 105-110, 2012.
8. Ferreira GR, Andrade CFS. Alguns aspectos socioeconômicos relacionados a parasitoses intestinais e avaliação de uma intervenção educativa em escolares de Estiva Gerbi, SP. *Rev Soc Bras Med Trop* 38: 402-405, 2005.
9. Fonseca EOL, Teixeira MG, Barreto ML, Carmo EH, Costa MCN. Prevalência e fatores associados às geo-helmintíases em crianças residentes em municípios com baixo IDH no Norte e Nordeste brasileiros. *Cad Saúde Públ* 26: 143-152, 2010.
10. Furtado LFV, Melo ACFL. Prevalência e aspectos epidemiológicos de enteroparasitoses na população geronte de Parnaíba, Estado do Piauí. *Rev Soc Bras Med Trop* 44: 513-515, 2011.
11. Haque R, Ali IKM, Akther S, Petri JRWA. Comparison of PCR, isoenzyme analysis and antigen detection for diagnosis of *Entamoeba histolytica* infection. *J Clin Microbiol* 36: 449-453, 1998.

12. Hoffman WA, Pons JA, Janer JL. The sedimentation concentration method in schistosomiasis. *Puerto Rico J Publ Health* 9: 281-298, 1934.
13. Komagone SH, Romagnoli MPM, Previdelli ITS, Falavigna DLM, Dias MLGG, Gomes ML. Fatores de risco para infecção parasitária intestinal em crianças e funcionários de creche. *Cienc Cuid Saúd* 6: 442-447, 2007.
14. Macedo HW, Gonçalves AMH, Almeida CB, Bernardes LV, Muniz MF. Infecção por *Blastocystis hominis* e *Entamoeba histolytica/Entamoeba dispar* em Pacientes Atendidos em um Hospital Localizado em Niterói, Rio de Janeiro. *Rev Patol Trop* 39: 56-62, 2010.
15. Macedo LMC, Silva JRM, Silva RR, Oliveira LM, Vianna MSR. Enteroparasitoses em Comunidades favelizadas da Cidade do Rio de Janeiro, Brasil. *Cad Saúde Públ* 14: 851-855, 1998.
16. Paglia MG, Visca P. An improved PCR-based method for detection and differentiation of *Entamoeba histolytica* and *Entamoeba dispar* in formalin-fixed stools. *Acta Trop* 92: 273-277, 2004.
17. Prefeitura de Niterói. Projeto Niterói que queremos. Diagnóstico Socioeconômico de Niterói. Síntese Executiva 2013. Disponível em <http://www.niteroiqueremos.com.br/static/files/etapa3.pdf>. Último acesso: 10/07/2014.
18. Roque FC, Borges FK, Signori LGH, Chazan M, Pigatto T, Coser TA, Mezzari A, Wiebbling AMP. Parasitos Intestinais: Prevalência em escolas Da Periferia de Porto Alegre – RS. *NewsLab*, 69. 2005. Disponível em: http://www.newsLab.com.br/ed_antiores/69/art06.pdf. Último acesso: 28/05/2013.
19. Santos FLN, Soares NM. Mecanismos fisiopatogênicos e diagnóstico laboratorial da infecção causada pela *Entamoeba histolytica*. *J Bras Patol Med Lab* 44: 249-261, 2008.
20. Santos FS; Gama ASM; Fernandes AB; Reis Junior JDD, Guimarães J. Prevalência de Enteroparasitismo em crianças de comunidades ribeirinhas do Município de Coari, no Médio Solimões, Amazonas, Brasil. *Rev Pan-Amaz Saude* 1: 23-28, 2010.
21. Silva AA. Incidência de *Blastocystis hominis* na População da Cidade do Rio de Janeiro, RJ. *NewsLab* 76, 2006. Disponível em: http://www.newsLab.com.br/ed_antiores/76/art01/art01.pdf. Último acesso: 28/05/2013.
22. Silva EF, Silva EB, Almeida KS, Jonilson J, Sousa N, Freitas FLC. Enteroparasitoses em Crianças de Áreas Rurais do Município de Coari, Amazonas, Brasil. *Rev Patol Trop* 38: 35-43, 2009.
23. Silva EF, Silva VBC, Freitas FLC. Parasitoses Intestinais em Crianças Residentes na Comunidade Ribeirinha São Francisco do Laranjal, Município de Coari, Estado do Amazonas, Brasil. *Rev Patol Trop* 41: 97-101, 2012.
24. Silva-Souza N, Ferreira MS, Cavalcante AN, Costa DS, Silva SEFC, Moraes EC, Moraes GC, Lima FL, Almeida RB, Silva NRF, Ribeiro GA, Sousa MA, Gomes SCS, Moreira VR, Galvão LS, Sousa EOF, Souza Silva GA, Moreira HDM. Ocorrência de Enteroparasitos em Escolares da Periferia da Universidade Estadual do Maranhão. *Pesquisa em Foco* 16: 7-14, 2008. Disponível em: http://ppg.revistas.uema.br/index.php/PESQUISA_EM_FOCO/article/viewFile/8/191. Último acesso: 23/05/2013.
25. Tavares-Dias M, Grandini AA. Prevalência e aspectos epidemiológicos de enteroparasitoses na população de São José da Bela Vista, São Paulo. *Rev Soc Bras Med Trop* 32: 63-65, 1999.
26. Uchoa CMA, Albuquerque MC, Carvalho FM, Falcão AO, Silva P, Bastos OMP. Parasitismo Intestinal em Crianças e Funcionários de Creches Comunitárias na Cidade de Niterói-RJ, Brasil. *Rev Patol Trop* 38: 267-278, 2009.
27. Vaillant VS. Avaliação de Enteroparasitoses em Duas Creches Localizadas na Região Central do Rio de Janeiro – Serra e Baixada. Niterói. Trabalho de Conclusão de Curso em Biomedicina, UFF, 2011.
28. Willis II. A simple levitation method for the detection of hookworm ova. *Med J Aust* 8: 375-376, 1921.
29. World Health Organization. Amoebiasis. Report on the WHO/Pan American Health Organization/ UNESCO Expert Consultation, Mexico City. Geneva-WHO. *World Health Organization-Wkly Epidemiol Rec* 72: 97-100, 1997.