

Diagnóstico

HELMINTOLOGÍA

Análisis serológico de anticuerpos anti-*Toxocara canis* en pacientes pediátricos con epilepsia

María de Lourdes Caballero-García¹, Juan Hernández-Aguilar², Benjamín Noguera-Torres³, Enedina Jiménez-Cardoso¹

¹ Laboratorio de Investigación en Parasitología, Hospital Infantil de México Federico Gómez, México, D.F., México

² Departamento de Neurología, Hospital Infantil de México Federico Gómez, México, D.F., México

³ Escuela de Ciencias Biológicas, Instituto Politécnico Nacional, México, D.F., México

Introducción. Actualmente se calcula que en México existen, aproximadamente, 18 de cada 1.000 habitantes con epilepsia, y la toxocariasis es una zoonosis parasitaria frecuentemente reportada en el mundo. Existen factores que desencadenan un tipo de epilepsia secundaria en el que están involucrados agentes infecciosos, como *Toxocara canis*, que en su fase juvenil puede llegar al cerebro humano y causarle daño.

El objetivo del estudio fue determinar anticuerpos anti-*T. canis* y reacciones cruzadas con antígenos de otros helmintos en pacientes pediátricos con epilepsia que acuden a consulta externa en el área de neurología del Hospital Infantil de México "Federico Gómez".

Materiales y métodos. Se utilizaron sueros de 72 pacientes de 6 a 12 años de edad, con diagnóstico confirmado de epilepsia e información de antecedentes clínicos y epidemiológicos. Se analizó la presencia de anticuerpos anti-*T. canis* por la técnica ELISA, utilizando antígenos de excreción-secreción obtenidos de larvas de *T. canis* L₂ cultivadas *in vitro* y antígenos de extractos totales de gusanos adultos de *Ascaris lumbricoides* y *Ancylostoma* spp. para el análisis de reacciones cruzadas. El punto de corte se determinó empleando niños sin trastornos neurológicos.

Resultados. Se encontró que el 19,4 % de los sueros tenían anticuerpos contra antígenos de excreción-secreción de *T. canis* y, de éstos, 2,9 % tuvieron reacción cruzada con antígenos de *A. lumbricoides* y 1,4 % con antígenos de *Ancylostoma* spp. Después de los análisis de reacción cruzada la presencia de anticuerpos anti-*T. canis* en los

sueros positivos de niños con epilepsia fue de 12,5 %.

Conclusiones. El análisis en sueros de pacientes pediátricos con epilepsia, mostró una frecuencia elevada de este parásito con porcentajes bajos de reacción cruzada hacia helmintos caracterizados como *larva migrans*. Esta es la primera vez en México que se establece una relación entre epilepsia y toxocariasis.



Diagnóstico molecular de geohelmintos

M. G. Cabrera, L. S. Martínez, E. A. Guarnera, O. G. Astudillo

Administración Nacional de Laboratorios e Institutos de Salud "Dr. Carlos G. Malbrán", Departamento de Parasitología, Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas, Buenos Aires, Argentina

Introducción. Los helmintos transmitidos por el suelo son considerados como la causa número uno a nivel mundial de morbilidad en niños de 2 a 14 años. Se estima que en el mundo más de dos mil millones de personas están infectadas con geohelmintos, de las cuales, unos 300 millones sufren morbilidad grave asociada con anemia. Entre estos helmintos se encuentran *Ascaris lumbricoides*, *Necator americanus*, *Ancylostoma duodenale*, *Strongyloides stercoralis* y *Trichuris trichiura*. Las infecciones se encuentran ampliamente distribuidas en áreas tropicales y subtropicales, pudiendo haber personas con infecciones múltiples. La carga de la enfermedad se relaciona con inadecuado saneamiento, niveles de hacinamiento y falta de acceso a la atención sanitaria.

Objetivos. Desarrollar e implementar una técnica molecular mediante PCR para diagnóstico de geohelmintos en muestras de materia fecal humana.

Materiales y métodos. Se recolectaron muestras de heces en alcohol al 70 %; se les extrajo el ADN con fenol-cloroformo y se practicó PCR con cebadores genéricos y específicos para cada uno de los geohelmintos diseñados sobre la secuencia del gen COI. El análisis de los amplicones se hizo por electroforesis en geles de agarosa con bromuro de etidio.

Resultados. Con los cebadores específicos y genéricos, el amplicón esperado era de 315 pb. Se visualizó en muestras de *S. stercoralis* y *A. lumbricoides*.

Discusión. Según la OMS, las infecciones parasitarias y las helmintiasis en particular, han sido reconocidas como un importante problema de salud pública. Algunos estudios han evidenciado que las infecciones intestinales, más intensas y frecuentes en la infancia, producen efectos indeseados en los niños. Desde hace años se pugna por el uso de tratamientos antihelmínticos masivos y reiterados. La utilización de herramientas moleculares resulta importante para conocer la prevalencia de estas helmintiasis y, hasta el momento, hemos podido demostrar para algunos de los geohelminthos la especificidad de los cebadores diseñados.

• • •

Reacción cruzada como indicador de moléculas compartidas entre parásitos trematodos y sus huéspedes intermediarios

C. Colmenares¹, B. Alarcón¹, J. P. Pointier², A. Theron², O. Noya¹

¹ Instituto de Medicina Tropical, Universidad Central de Venezuela, Caracas, Venezuela

² Centre de Biologie et d'Ecologie Tropicale et Méditerranéenne, Perpignan, France

Introducción. Se han demostrado moléculas compartidas entre trematodos y sus huéspedes intermediarios, pero se desconocen sus consecuencias. Se explora esta estrategia mediante un inmunoensayo simultáneo de múltiples antígenos.

Materiales y métodos. Se evaluaron 23 homogenados: cuerpo total (T), pie, hepatopáncreas (Hp) y hemolinfa (Hm) de *Biomphalaria glabrata* Brasil (BgB), Guadalupe (BgG) y *Lymnaea columella* (Lym); verme adulto (AVA) de *Schistosoma mansoni*-Venezuela (SmV), Brasil (SmB), Guadalupe (SmG), cercarías (cerSmV), somático (ASFh) y excreción-secreción (AESFh) de *Fasciola hepática* (Fh), *S. haematobium* (Shmb), *S. bovis* (Sbovis), *S. guineensis* (Sguin), *S. rodhaini* (Srod), *Echinostoma caproni* (Ec), contra sueros de: a) hámsters inmunizados: con adyuvante (Ady), homogenados totales de BgB, BgG, Lym, AVA y ASFh; y b) humanos y animales infectados: humanos con SmV, SmB y Fh; animales con cepas de Sm, Fh y otras especies de *Schistosoma*.

Resultados. Se registraron intensidades de reacción (IR) de 0 a 6, y se consideró como positivo un IR \geq 3.

Hámsters inmunizados: reconocimiento del 100 % (IR \geq 3) de homogenados homólogos; más del 50 % de los retados con Bg reaccionaron a Lym y a parásitos que hospedan, más del 30 % reaccionó con otros esquistosomas (S), Fh y Ec; 100 % con Lym reaccionó con Bg y Sm, y fue mayor la reacción a otros *Schistosomas* y Ec que a Fh; más del 25 % (IR=3-4) con AVA reaccionó frente a BgBHp, BgGpie y Hm.; el 100 % (IR=6) con Fh reaccionaron con todos los parásitos y no con los caracoles.

Humanos y animales infectados: 95-100 % con *S. mansoni* (Venezuela, Brasil y Guadalupe) reaccionaron con AVA, cerSmV, SmB y SmG. El reconocimiento fue mayor del 50 % a pie de BgB y BgG y variable con otras especies de *Schistosoma*. Con *F. hepática*, los sueros de humanos y bovinos reconocieron Fh y Ec. Más del 25 % de los bovinos reconoció pie de Hl.

Conclusiones. Se demostró reconocimiento homólogo y cruzado trematodo- huéspedes intermediarios, fundamentalmente con pie y Hp, debido probablemente a moléculas compartidas. Es posible que las larvas arrastren moléculas de estos órganos evadiendo la respuesta inmunitaria del huésped definitivo.

• • •

Uso de la técnica de PCR para el diagnóstico de *Mansonella ozzardi* en las yungas argentinas

M. F. Degese, M. Cabrera, S. Krivokapich, E. Guarnera
Administración Nacional de Laboratorios e Institutos de Salud "Dr. Carlos G. Malbran", Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas, Departamento de Parasitología, Buenos Aires, Argentina

Introducción. *Mansonella ozzardi* es un nematodo parásito hematohístico, endémico de las yungas argentinas. Ante la ausencia de enfermedad definida, surge el hallazgo de microfilarias en sangre. Sería necesario disponer de información precisa sobre la prevalencia de la infección para conocer su patogenia.

El objetivo del estudio fue hallar un método, sensible y específico para su diagnóstico, en comparación con la prueba referencial de microscopía.

Materiales y métodos. En la localidad de Sargento Moya (Tucumán) se recolectaron muestras de 117 pacientes, se analizaron extendidos hemáticos finos y gotas gruesas coloreados con Giemsa, técnica de Knott; se fraccionaron muestras de sangre en paquete globular, interfaz y plasma. En El Oculito (Salta) se obtuvieron muestras de sangre de 6 pacientes, se realizaron exámenes

de gota fresca y extendidos finos con Giemsa. Del ADN extraído de sangre, se ensayó la detección de un fragmento de nucleótidos de 295 pb, situado sobre el ITS2 y el ADNr 28 S de *M. ozzardi* mediante PCR. Para determinar la especificidad del ensayo, se extrajo ADN de sangre con *Dirofilaria immitis* y se realizó el análisis de secuencia del amplicón obtenido en comparación con la base de datos genética.

Resultados. En Sargento Moya, la PCR determinó larvas en paquete globular (56 %), interfaz (43 %) y plasma (14 %). El método Knott detectó microfilarias en fresco (46 %), y posterior a la coloración (49 %). Los extendidos finos detectaron 25 % y las gotas gruesas, 5 de 11 muestras. En El Oculito, fueron positivas 5 de 6 muestras en gota fresca, y la PCR detectó las mismas 5 muestras. En los extendidos finos, sólo 3 muestras fueron positivas.

La muestra de *D. immitis* fue negativa por PCR.

Conclusiones. La PCR de muestras de sangre completa sería un método confiable en el diagnóstico de *M. ozzardi* en pacientes con microscopía negativa y diagnóstico de sospecha por residir en sitios endémicos.



Diagnóstico serológico de la infección por *Schistosoma bovis*: utilidad del antígeno 22.6

E. de la Torre-Escudero, V. Díaz-Martín, A. Hernández, R. Manzano-Román, I. Barrera*, R. Pérez-Sánchez, M. Siles-Lucas, A. Oleaga

Grupo de Parasitología. Instituto de Recursos Naturales y Agrobiología de Salamanca, Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Salamanca, España

*Departamento de Estadística, Universidad de Salamanca, Salamanca, España

Introducción. Uno de los problemas del diagnóstico serológico de las infecciones por parásitos es la identificación y producción de antígenos de alta especificidad. En *Schistosoma bovis* el extracto soluble de vermes adultos (AgSo) ha mostrado ser útil para el diagnóstico de la infección en ganado ovino y bovino y, también, para la detección de infecciones humanas por *S. mansoni* y *S. intercalatum*. No obstante, su producción es limitada y laboriosa, y tiene el problema de las posibles reacciones cruzadas, dada la elevada proporción de glucoproteínas que contiene.

El objetivo del presente trabajo fue evaluar el valor diagnóstico del antígeno 22.6 de *S. bovis*. Su elección se basa en que esta proteína, exclusiva del género *Schistosoma*, está presente en su

tegumento, es reconocida por sueros de animales infectados y no se encuentra "glicosilada".

Materiales y métodos. Tras la clonación del antígeno 22.6 en el vector PGEx y su obtención en forma recombinante (rSb22.6) evaluamos su comportamiento en ELISA, comparándolo con el antígeno AgSo (prueba de referencia). La sensibilidad, especificidad y punto de corte para ambos antígenos se determinó mediante las curvas ROC resultantes del análisis de 64 sueros de bovinos positivos y 74 negativos.

Resultados. Una vez establecido el umbral de resultados positivos/negativos para cada antígeno con los sueros positivos y negativos, se analizaron 281 sueros de bovinos procedentes de 11 explotaciones ganaderas. Los resultados de ELISA con los dos antígenos coincidieron en el 97 % de los sueros sin que se detectaran diferencias significativas en la proporción de animales positivos identificados con uno u otro antígeno.

Conclusiones. Para la detección de explotaciones positivas la proteína rSb22.6 ofrece importantes ventajas frente al empleo de extractos crudos del parásito.



TF-Test é um novo método para o diagnóstico laboratorial da estromboloidíase?

Elizabete J. Inês, Emerson S. Moreira, Joelma N. Souza, Márcia C. A. Teixeira, Neci M. Soares
Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas,
Faculdade de Farmácia, Universidade Federal da Bahia, Salvador, Brasil

Introdução. Os métodos laboratoriais para o diagnóstico das doenças parasitárias são de extrema relevância, uma vez que as infecções por enteroparasitos estão entre os mais frequentes agravos à saúde humana no mundo. A sensibilidade das técnicas parasitológicas convencionais pode variar a depender da intensidade da infecção e do parasito a ser pesquisado. O método ideal seria aquele que permitisse diagnosticar todos os parasitos intestinais. Porém, nenhum dos métodos atualmente em uso apresenta esta característica, sendo que os métodos com maior sensibilidade continuam prevalecendo no emprego do diagnóstico de determinada enteroparasitose.

Este trabalho tem como objetivo comparar as técnicas de sedimentação espontânea, Baermann-Moraes com o método TF-Test. Especificamente, demonstrar a sensibilidade do método TF-Test para o diagnóstico da estromboloidíase.

Material e métodos. O TF-Test é um kit fabricado em escala industrial, constituído de três tubos coletores que são acoplados a um sistema de filtragem e a um tubo de centrifugação, para que as três amostras sejam processadas de uma só vez. Esta técnica elimina de forma rápida o excesso de material fecal e concentra os parasitos no sedimento para posterior identificação pela microscopia.

Resultados. Das 117 amostras analisadas até o momento, o TF-Test demonstrou uma maior sensibilidade para o diagnóstico dos protozoários, enquanto que para o *Strongyloides stercoralis* a sensibilidade foi relativamente baixa (60%), quando comparado com o Baermann-Moraes.

Conclusão. O TF-Test é prático, rápido, racionaliza o espaço físico e a manipulação das fezes e pode ser indicado para amostras fecais colhidas em localidades distantes, no entanto possui baixa sensibilidade para o diagnóstico da estrogiloidíase.



Eficácia da cultura em placas de agar para o diagnóstico da estrogiloidíase em amostras fecais

Elizabete de J. Inês¹, Renata C. S. Santos¹, Joelma N. de Souza¹, Emerson S. Moreira¹, Eliane S. Souza¹, Monica L. S. Silva¹, Moacir P. Silva², Márcia C. A. Teixeira¹, Neci M. Soares¹

¹ Faculdade de Farmácia, Universidade Federal da Bahia, Bahia, Brasil

² Instituto de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Bahia, Bahia, Brasil

Introdução. O *Strongyloides stercoralis* é um nematódeo amplamente distribuído nas regiões tropicais e subtropicais. O diagnóstico imunológico da estrogiloidíase apresenta reações cruzadas com outros nematódeos e não diferencia a infecção passada da atual. O diagnóstico definitivo é baseado no encontro das larvas, sendo o método de cultivo em placas de agar (CPA) um dos mais sensíveis. O objetivo deste estudo foi avaliar o diagnóstico diferencial entre a estrogiloidíase e a ancilostomíase, através dos padrões de migração das larvas no agar, e a sensibilidade da CPA.

Material e métodos. Foram utilizadas amostras de fezes positivas para *S. stercoralis* (n=115) e para ancilostomídeos (n=92), de pacientes atendidos na Faculdade de Farmácia. Um total de 92 (95,7%) das amostras positivas para *S. stercoralis* and 89 (96,7%) para os ancilostomídeos mostraram resultados concordantes entre os padrões de migração das larvas e a morfologia. Para comparar

a sensibilidades dos métodos, amostras de fezes de 634 pacientes foram examinadas pelos métodos de CPA, Baermann-Moraes e sedimentação espontânea.

Resultados. A CPA mostrou maior sensibilidade tanto para *S. stercoralis* (95%) como para os ancilostomídeos (77%), detectando 14 e 30 casos adicionais, respectivamente, quando comparada ao método de Baerman-Moraes. Para o diagnóstico da ancilostomíase a CPA também demonstrou maior sensibilidade do que a sedimentação espontânea.

Conclusão. Através das características microscópicas dos caminhos traçados no agar pelas larvas do *S. stercoralis*, que descreve um padrão retilíneo com mudanças suaves de direção, e dos ancilostomídeos, que descreve um padrão com mudanças abruptas de direção, pode-se realizar o diagnóstico diferencial das duas espécies, evitando a manipulação das larvas infectantes. A CPA além de ser o método mais sensível comparado com o de Baermann-Moraes e o de sedimentação espontânea é de fácil realização, de custo relativamente baixo e deve ser utilizado na rotina dos laboratórios clínicos.

Apoio. FAPESB



Dados preliminares da ocorrência de *Mansonella ozzardi* em comunidades ribeirinhas do rio Solimões, município de Codajás, Amazonas, Brasil

Jansen F. Medeiros¹, Marilaine Martins²

¹ Universidade do Estado do Amazonas/Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus, Brasil

² Fundação de Medicina Tropical "Heitor Vieira Dourado"/Universidade do Estado do Amazonas, Manaus, Brasil

Introdução. A mansonelose é uma filariose ainda pouco estudada, mas com ampla distribuição entre as populações ribeirinhas e indígenas do estado Amazonas. Essa filariose têm como um dos agentes etiológico a *Mansonella ozzardi* que é transmitida por duas famílias distintas de insetos: Simuliidae e Ceratopogonidae (Diptera).

Objetivo. O objetivo desse trabalho foi estimar as prevalências de *M. ozzardi* em comunidades ribeirinhas do município de Codajás, Amazonas.

Materiais e métodos. O estudo foi desenvolvido nas comunidades ribeirinhas do rio Solimões, no município de Codajás, Amazonas, Brasil. O diagnóstico de *M. ozzardi* foi realizado através da técnica de gota espessa, com coleta de sangue da polpa digital e sangue venoso para realização

do diagnóstico através do método de filtro em membrana.

Resultados. Foram examinados pelo método de gota espessa um total de 144 indivíduos (64 homens e 80 mulheres), deste oito (8) estavam com a infecção, apresentando uma prevalência de 5,6%. Somente os homens estavam parasitados, com uma prevalência de 12,5%. Pelo método de filtro em membrana foram examinados 81 indivíduos (30 homens e 51 mulheres), desses 11 apresentaram a infecção, apresentando uma prevalência de 13,6%. Os homens apresentaram maiores prevalências (30,0% - 30 examinados/9 microfilarêmicos) em relação às mulheres (3,9% - 51 examinadas/2 microfilarêmicos).

Conclusão. Os resultados preliminares desse trabalho indicam baixas prevalências da infecção por *M. ozzardi*, entretanto é necessário ampliar o número de pessoas examinadas para se estimar os índices de prevalências com maior segurança para Codajás, pois possivelmente nessa região esses índices são maiores do que os encontrados nesse trabalho.



Hiperinfecção por *Strongyloides stercoralis*: um relato de caso em um paciente portador de hanseníase

Joelma N. Souza¹, Elizabete J. Inês¹, Mônica S. Silva¹, Moacir P. Silva², Paulo L. Machado³, Márcia C. A. Teixeira¹, Neci Matos Soares¹

¹ Faculdade de Farmácia, Universidade Federal da Bahia, Bahia, Brasil

¹ Instituto de Ciências e Saúde, Universidade Federal da Bahia, Bahia, Brasil

³ Ambulatório de Hanseníase, Hospital Universitário Professor Edgard Santos, Universidade Federal da Bahia, Bahia, Brasil

Introdução. O *Strongyloides stercoralis*, um parasitoendêmico nas áreas tropicais e subtropicais, infecta cerca de 200 milhões de pessoas em todo o mundo. Nos casos graves da doença pode ocorrer hiperinfecção, com evolução do quadro clínico para a forma disseminada, principalmente em pacientes com a imunidade comprometida, como aqueles em uso prolongado de glicocorticóides e outros imunossupressores.

O objetivo deste trabalho foi descrever um caso clínico de hiperinfecção por *S. stercoralis* em um portador de hanseníase.

Materialemétodo. O paciente L.S., sexo masculino, 55 anos foi diagnosticado com hanseníase virchowiana há 8 anos. Após o diagnóstico, o paciente usou albendazol profilático, para começar

a terapia com prednisona (dose inicial de 60 mg/dia, e manutenção de 5 mg/dia e suspensão com a remissão dos sinais e sintomas). O paciente vem fazendo uso de talidomida, 100 mg/dia com acompanhamento no Hospital Universitário Prof. Edgar Santos. Em março de 2011, ele relatou queixas de dores abdominais, enjôos, falta de ar e tosse.

Resultados. Durante a investigação clínica, os exames laboratoriais mostraram resultados nos limites de normalidade, com exceção do hemograma, com intensa eosinofilia (38 %), e do parasitológico de fezes que demonstrou presença de numerosas larvas de *S. stercoralis* (4000 larvas/g de fezes). O paciente foi tratado com albendazol e um mês após o tratamento a pesquisa de larvas nas fezes foi positiva, demonstrando que não ocorreu a cura, mas uma redução da infecção (150 larvas/g de fezes). O paciente foi reencaminhado ao Ambulatório de Hanseníase para uma nova avaliação e mudança da abordagem terapêutica.

Conclusão. Em regiões onde a estrogiloidíase é endêmica a pesquisa regular do *S. stercoralis*, nos pacientes em uso de glicocorticóides deve ser adotada, e o tratamento com ivermectina deve ser proirizado, devido a maior eficácia terapêutica.

Apoio. FAPESB.



Prevalência de ovos de helmintos em cães comercializados em pet shops, recolhidos pelo centro de controle de zoonoses ou mantidos em instituição filantrópica

Maiara Almeida Vieira¹, César Gómez Hernández², Gabriela Lícia do Santos Ferreira¹, Karine Rezende de Oliveira¹

¹ Universidade Federal de Uberlândia, Campus do Pontal, Minas Gerais, Brasil

² Universidade Federal do Triângulo Mineiro, Minas Gerais, Brasil

Introdução. As parasitoses intestinais apresentam grande importância médico-veterinária. Cães podem ser acometidos por diferentes parasitoses intestinais e considerando a íntima convivência com os seres humanos, observa-se que estes animais constituem uma fonte de infecção ao homem e ao ambiente no quais ambos compartilham, representando risco potencial a saúde pública.

Objetivos. Avaliar a prevalência de ovos de helmintos em cães comercializados em pet shop, recolhidos no centro de controle de zoonoses e instituição Filantrópica.

Material e métodos. Foram colhidas após eliminação espontânea e analisadas, 67 amostras de fezes de cães oriundos de um pet shop, centro de controle de zoonoses e uma instituição filantrópica. As amostras foram recolhidas com auxílio de uma pá estéril e armazenadas em potes coletores. As amostras foram processadas e preparadas para análise utilizando método de sedimentação espontânea. As amostras foram colocadas em cálices de sedimentação por duas horas, sendo que após este período foram realizadas trocas de água afim de se retirar a quantidade máxima de resíduos que pudessem atrapalhar a análise das amostras. Após 24 horas, foi colhido uma pequena porção do sedimento e o mesmo corado com lugol e levado ao microscópio onde pudesse ser detectada a presença de ovos de helmintos. As lâminas preparadas foram visualizadas com objetivas de 40 e 100×. Os dados foram descritos quantitativamente utilizando o programa Excel.

Resultados. Foram analisadas duas lâminas de cada amostra. Foi detectada prevalência 23,88% (16) para ancilostomídeos, 13,43% (9) *Toxocara* spp. e 10,44% (7) *Dipylidium* spp. Embora não seja uma técnica adequada para visualização de cistos, foi observado a presença de cistos de *Giardia* sp. em três amostras de fezes.

Conclusão. Estes dados demonstraram uma significativa prevalência de ovos de helmintos em fezes de cães de diferentes origens, sugerindo a possibilidade de infecção humana por alguma destas parasitoses através do contato com animal contaminado.



Avaliação da sensibilidade de diferentes métodos para o diagnóstico de *Mansonella ozzardi* e a sua prevalência em cinco comunidades ribeirinhas do município de Coari, Amazonas, Brasil

Marilaine Martins^{1,2}, Felipe Pessoa², Jacob Cohen³, Edmar Vaz de Andrade³, Gilberto Fontes⁶, Jansen F Medeiros^{1,3}

¹ Fundação de Medicina Tropical “Heitor Vieira Dourado”, Manaus, Brasil

² Universidade do Estado do Amazonas, Manaus, Brasil

³ Universidade Federal do Amazonas, Manaus, Brasil

⁴ Centro de Pesquisa Leônida e Maria Deane, Fiocruz, Adrianópolis, Brasil

⁵ Universidade Federal de São João Del Rei, Divinópolis, São João del Rei, Brasil

⁶ Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus, Brasil

Introdução. *Mansonella ozzardi* é um dos agentes da mansonelose e no Brasil é encontrada em algumas áreas geográficas como Alto Rio Solimões e ao longo dos rios Purus e Negro. Os métodos para o diagnóstico se baseiam na visualização das microfilárias no sangue periférico e através da amplificação do DNA genômico pela reação em cadeia da polimerase (PCR).

Objetivo. Avaliar a sensibilidade entre diferentes métodos de diagnóstico para *M. ozzardi* e estimar suas prevalências em cinco comunidades ribeirinhas do município de Coari, AM, BR.

Materiais e métodos. Os parasitados foram identificados através da gota espessa do sangue periférico e venoso; o sangue total foi utilizado para realizar metodologias de concentração das microfilárias pelas técnicas de filtração em membrana de policarbonato e por Knott. O DNA genômico e a sua amplificação foram obtidos através da PCR.

Resultados. Amostras de sangue de 192 indivíduos foram examinados pelo método da gota espessa, 190 pelos métodos de filtração de membrana, Knott e PCR e 188 por gota venosa. A sensibilidade dos métodos quantitativos foram de 67 (35.3%) para o filtro 56 e de (29.5%) para o Knott. A PCR detectou 100% dos microfilarêmicos cujas cargas parasitárias foram acima de 51 microfilárias/ml de sangue. O filtro foi o mais sensível em três das cinco comunidades: Iracema (46.7%), Nossa Senhora do Barro Alto (48.9%) e Divino Espírito Santo (17.2%); em São Pedro de Vila Lira o filtro apresentou sensibilidade igual a gota espessa (29.6%) e em Chaves com a gota espessa; Knott e PCR (33.3%).

Conclusão. O filtro de membrana foi o método mais sensível, seguido pelo Knott. A gota espessa apresentou 26.6% de microfilarêmicos, foi o terceiro método mais sensível, demonstrando um fator de correção de aproximadamente 1.31 (67/51) em relação ao filtro de membrana e 1.09 (56/51) ao Knott. A sensibilidade da PCR foi relacionada diretamente a microfilaremia.



Diagnóstico de larvas de nematodos por cultivo en placas de agar en una población rural del departamento de Córdoba

Mayra Raciny-Alemán, Indira Espitia-Vargas
Grupo de Investigaciones Microbiológicas y Biomédicas de Córdoba, Universidad de Córdoba, Montería, Colombia

Introducción. Las técnicas de rutina en los laboratorios clínicos para diagnosticar nematodos intestinales transmitidos por estadios larvarios son poco sensibles. Un adecuado procesamiento de materia fecal puede favorecer la eclosión de los huevos y recuperar las larvas después de una incubación, obteniendo estructuras diagnósticas visibles que facilitan el diagnóstico y no generen subregistros.

El objetivo del estudio fue identificar larvas de nematodos con una técnica no convencional en una población rural del departamento de Córdoba.

Materiales y métodos. Se recolectaron muestras de materia fecal en envases plásticos nuevos y limpios, con boca ancha y tapa rosca. De cada muestra se tomaron dos gramos y se pusieron en el centro de una caja de Petri que contenía agar nutritivo, se selló con parafilm y se dejó a temperatura ambiente por 48 horas. Posterior a la incubación se observó macroscópicamente y microscópicamente la formación de canales en el agar, se agregó 10 ml de formol al 10 % y se lavó la superficie del agar con esta solución, se recolectó la suspensión en un tubo y se centrifugó a 500 rpm por cinco minutos, se hizo un montaje directo en solución salina y lugol. Del examen del sedimento obtenido, se informa la presencia o ausencia de larvas. Para la diferenciación de los principales géneros se tuvieron en cuenta las características morfológicas de las larvas.

Resultados. Se estudiaron 233 muestras de materia fecal, de las cuales, 66 (28 %) fueron positivas para larvas de nematodos. El tipo de larvas identificadas correspondieron en mayor proporción a larvas de vida libre (53 %), seguida de larvas de uncinarias (45 %) y, en menor proporción, las larvas de *S. stercoralis* (2%).



Anemia grave por ancilostomídeos: un relato de caso

Mônica L. Sampaio Silva, Elizabete J. Inês, Joelma N. Souza, Márcia C. A. Teixeira, Neci M. Soares
Faculdade de Farmácia, Universidade Federal da Bahia, Salvador, Bahia, Brasil

Introdução. A infecção por ancilostomídeos é uma das mais prevalentes nos países em desenvolvimento. Os parasitos expoliam os seus hospedeiros e quando associados à deficiência nutricional pode causar anemia ferropriva grave. O objetivo do estudo foi descrever um caso clínico de um paciente com anemia ferropriva, sem tratamento específico para ancilostomíase por dois anos.

Material e métodos. Paciente do sexo masculino, 60 anos, natural de Salvador, Bahia, Brasil, ao exame clínico apresentava sinais de anemia, queixas de cansaço e dores nas pernas. Relatou que já havia sido internado por duas vezes e que na última internação sofreu transfusão sanguínea e foi tratado com sulfato ferroso. Pela gastroendoscopia foi diagnosticada gastrite de grau leve.

Resultados. Um ano depois, com o retorno e agravamento dos sintomas, o paciente foi reavaliado e os exames laboratoriais mostraram 6700 leucócitos/ml, sem eosinofilia, microcitose, hipocromia, policromasia, hemoglobina 4,7 g/dl, ferro sérico 23,0 mcg/dl, ferritina 2,4 ng/dl. Foram identificados numerosos ovos e larvas de ancilostomídeos no exame parasitológico e a presença de sangue oculto nas fezes. No exame quantitativo de Kato-Katz, foram encontrados 1.400 ovos/g de fezes. O paciente foi tratado com duas doses de albendazol, 400 mg, no intervalo de quinze dias, e sulfato ferroso. Dois meses após o tratamento a hemoglobina e o ferro sérico retornaram aos níveis normais e não foram encontrados ovos e/ou larvas de ancilostomídeos nas fezes.

Conclusões. O diagnóstico da ancilostomíase ainda que tardio foi determinante para o tratamento do paciente. A espoliação sanguínea, pela elevada carga parasitária, possivelmente foi a principal causa da anemia, visto que o paciente relata ter uma alimentação balanceada. Nos dias atuais, a medicina tem priorizado os exames de elevada complexidade em detrimento de exames simples, porém essenciais para resolutividade de determinadas enfermidades, como o exame parasitológico de fezes, que neste caso elucidou o diagnóstico.



Inmunodiagnóstico de toxocariasis en fase aguda en niños indígenas y criollos de tres regiones de Venezuela usando la técnica ELISA-avidez de IgG

Olinda M. Delgado, Jairé Ortegoza, Elder Duarte, Virginia Coraspe, María Rivas, Sylvia Silva, Alfonso J. Rodríguez-Morales
Sección de Inmunoparasitología, Instituto de Medicina Tropical Félix Pifano, Universidad Central de Venezuela, Caracas, Venezuela

Introducción. Recientemente se ha determinado la utilidad de la técnica de ELISA-avidez de IgG para el diagnóstico de la toxocariasis en fase aguda. Sin embargo, aún son pocos los estudios publicados, especialmente en Latinoamérica, que

documenten su uso en el diagnóstico de rutina de la enfermedad. Además, hay escasos estudios en población indígena pediátrica.

Materiales y métodos. En el presente trabajo se emplearon las técnicas de ELISA convencional, ELISA-avidez de IgG y Western blot, usando antígenos de excreción-secreción de *Toxocara canis* (TES), y sueros previamente absorbida con antígenos de *Ascaris suum*, en el diagnóstico de 220 niños evaluados: 165 indígenas del estado Bolívar (n=83), Delta Amacuro (n=82) (zona rural tropical sur de Venezuela), y 55 criollos del Distrito Capital (región metropolitana, norte, urbana de Venezuela).

Resultados. Del total de muestras, 66,4 % (50,6 % Bolívar, 62,7 % Delta Amacuro, 94,5 % Distrito Capital, $p < 0,01$) resultaron positivas por la técnica ELISA, 27,66 % de ellas con dilución $\geq 1:256$). En las muestras en las que se aplicó la prueba de ELISA-avidez 45,9 % tuvieron avidez < 50 % y 54,1 %, ≥ 50 %. Los resultados se confirmaron con la prueba Western blot usando antígenos de TES (7,3, 18,9, 26,1, 31,4, 49,1, 81, 117 y 211 KDa).

Conclusiones. Los resultados permitieron diagnosticar casi a la mitad de la población evaluada como casos agudos de toxocariasis y discriminarlos de aquellos casos crónicos que suelen ser la mayoría. En toxocariasis existe una clara necesidad de estudios, como el presente, que estén particularmente orientados a mejorar el diagnóstico y conocer mejor la realidad epidemiológica de la enfermedad en diferentes contextos de población.



Estudios preliminares de evaluación de péptidos sintéticos en el diagnóstico de la estrogiloidosis en la zona endémica de La Safor, Valencia, España

Pau Laullón¹, M. Victoria Domínguez², Araceli Molina De Diego³, María Trelis¹, Carla Muñoz-Antolí¹, Rafael Toledo¹, Dolores Bernal⁴, J. Guillermo Esteban¹, Antonio Marcilla¹

¹ Área de Parasitología, Departamento de Biología Celular y Parasitología, Facultat de Farmacia, Universitat de Valencia, Valencia, España

² Servicio de Microbiología y Parasitología, Hospital General de Castellón, Castellón, España

³ Servicio de Microbiología y Parasitología, Hospital Francesc de Borja, Gandía, Valencia, España

⁴ Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultat de Ciències Biològiques, Universitat de València, Valencia, España



Introducción. *Strongyloides stercoralis*, causante de la estrogiloidosis, se distribuye a nivel mundial, con una estimación aproximada de más de 100 millones de personas parasitadas en todo el mundo, incluyendo zonas de endemia en zonas de clima templado, como la comarca de La Safor en la Comunidad Valenciana, España. La enfermedad cursa en muchos casos de manera asintomática, lo que dificulta su diagnóstico.

En este contexto, en la actualidad, las técnicas de elección son el coprocultivo, así como la utilización de técnicas inmunoenzimáticas, como ELISA, basadas en la reacción de los sueros de pacientes frente a antígenos de *Strongyloides* spp., lo que indica la necesidad de buscar nuevas dianas que permitan un diagnóstico más rápido y específico.

Materiales y métodos. Se han diseñado y evaluado siete péptidos sintéticos derivados de regiones no homólogas a las proteínas de otros helmintos a partir de cuatro proteínas de larvas L3 de *S. stercoralis*, previamente identificadas mediante técnicas de inmunoproteómica por nuestro grupo de investigación. Dichos péptidos se derivan de: metaloproteínasa (péptidos MET1 y MET2), galectina-5 (GAL1 y GAL2) y tropomiosina (TRO1 Y TRO2) y de la proteína 14-3-3 (péptido 14). Los péptidos se evaluaron mediante técnicas ELISA indirecta a 26 sueros positivos de pacientes autóctonos, a cinco sueros negativos de la misma zona endémica, y a un suero de un paciente no autóctono.

Resultados. Todos los péptidos fueron reconocidos por sueros positivos empleando diluciones 1/200; los péptidos mejor reconocidos fueron MET1 (reconocidos por el 85,2 % de los sueros) y TRO1 (66,6 % de los sueros). Ninguno de los sueros negativos reaccionó con los péptidos utilizados.

Conclusiones. Estos estudios preliminares confirmarían la utilidad de péptidos sintéticos en el diagnóstico de la estrogiloidosis, requiriendo menor concentración de los sueros de pacientes. Estudios futuros han de evaluar la especificidad utilizando sueros frente a otras helmintosis.

Financiación. Estudios financiados por los proyectos PS09/02355 del Fondo de Investigación Sanitaria (FIS) del Ministerio de Ciencia e Innovación (España) y FEDER; PROMETEO/2009/081 de la Conselleria de Educación de la Generalitat Valenciana y UV-AE-10-23739 de la Universitat de València, Valencia, España.

Infecção humana por *Trichostrongylus* sp. em residentes de áreas urbanas de Salvador, Bahia, Brasil

Robson P. Souza, Joelma N. Souza, Joelma F. Menezes, Marcelo C. M. Menezes, Leda M. Alcântara, Neci M. Soares, Márcia C. A. Teixeira
Faculdade de Farmácia, Universidade Federal da Bahia, Bahia, Brasil

Introdução. As prevalências da infecção humana por *Trichostrongylus* são geralmente baixas em áreas urbanas. A parasitose é provavelmente subdiagnosticada devido a casos assintomáticos, ou porque o parasito é comumente confundido com os membros da família Ancylostomidae. No presente estudo, nós investigamos a frequência e a sazonalidade das infecções por *Trichostrongylus* em pacientes atendidos no Laboratório de Análises Clínicas da Faculdade de Farmácia, Universidade Federal da Bahia, Brasil.

Materiais e métodos. As amostras de fezes de 9.283 indivíduos foram avaliadas através das técnicas de sedimentação espontânea e de Baermann, entre janeiro de 2006 a maio de 2008. As amostras positivas tanto para *Trichostrongylus* quanto para ancilostomídeos foram posteriormente analisadas para reavaliar as características morfológicas diferenciais entre os nematódeos. Dados sobre bairro de residência, idade, sexo e nível de eosinófilos sanguíneos foram obtidos dos prontuários médicos.

Resultados. Foram confirmados 110 (1,2%) pacientes infectados pelo *Trichostrongylus*. Os casos positivos foram significativamente mais frequentes no sexo feminino (73,6%; $P < 0,05$), com distribuição elevada, mas não estatisticamente significativa, nas faixas etárias entre 11 a 30 anos (45,4%; $P < 0,05$), independente do sexo. Todos os indivíduos infectados por *Trichostrongylus* viviam em áreas urbanas de Salvador, um dos principais centros metropolitanos do Brasil. As análises hematológicas de 60 indivíduos parasitados pelo *Trichostrongylus* demonstraram níveis normais de eosinófilos na maioria destes. As infecções humanas por *Trichostrongylus* em Salvador foram mais comuns no outono (40 casos) e mostrou uma distribuição homogênea nas outras estações (21-25 casos).

Conclusões. Os dados revelam que a ocorrência da infecção por *Trichostrongylus* em residentes de Salvador é mais frequente do que as relatadas em outras regiões urbanas, e que é essencial distinguir o parasito de outros nematódeos em exames laboratoriais de rotina para traçar a rota de transmissão e medidas de controle adequadas.

PCR en materia fecal: nueva herramienta para diagnóstico y seguimiento de pacientes con strongiloidosis fuera de área endémica

Silvia Repetto¹, Catalina D. Alba-Soto¹, Lía Tayeldin¹, María S. Cuello¹, Silvia Cazorla¹, Carlota López¹, María Elisa Solana¹, Valeria Tekiel², Stella González-Cappa¹

¹ Departamento de Microbiología, Parasitología e Inmunología, Facultad de Medicina, Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina

² Universidad Nacional de San Martín, Buenos Aires, Argentina

Introducción. *Strongyloides stercoralis*, endémico en Argentina, resulta en infecciones crónicas por autorreinfección. La hiperinfección/diseminación requiere factores predisponentes como el tratamiento con glucocorticoides y alcanza una mortalidad de hasta 80 %. El diagnóstico habitual es por observación de larvas en materia fecal por métodos directos. En infecciones crónicas, la sensibilidad de éstos es de 30 %. En nuestro laboratorio el cultivo en agar nutritivo mostró: sensibilidad de 90 % y valor predictivo negativo de 91 %. Para incrementar la sensibilidad desarrollamos una PCR artesanal en materia fecal que detecta hasta 0,25 larvas/g/materia fecal. Aquí se compara la utilidad de esta PCR con métodos tradicionales y cultivo en agar nutritivo, para diagnóstico y seguimiento después del tratamiento.

Materiales y métodos. Se estudiaron pacientes, con antecedentes de vivir en área endémica, sin riesgo de infección exógena actual. En la primera evaluación se utilizaron la técnica de Ritchie, el examen en fresco, el cultivo en agar nutritivo, la PCR en materia fecal (2 a 3 muestras) y el recuento de eosinófilos. Los positivos fueron tratados con ivermectina. Se seleccionaron siete que se evaluaron entre 15 y 1.095 días después del tratamiento.

Para la extracción de ADN se utilizaron la lisis mecánica más química con proteinasa K, el tratamiento con fenol: cloroformo: isoamílico, la precipitación con etanol. Se usó PCR en controles positivos para ADN de *S. stercoralis* y, como controles negativos, el ADN de voluntarios sanos. Los cebadores se diseñaron a partir del gen 18S ARNr.

Resultados. Pacientes 1, 2 y 3: recibían metilprednisona por artritis reumatoidea. Pacientes 1 y 2: asintomáticos con eosinofilia, cultivo positivo en agar nutritivo, segunda muestra. Paciente 3: meningitis por *E. coli* sin eosinofilia con larvas

en el primer examen en fresco. Paciente 4: con VIH y 12 linfocitos T CD4/mm³, con eosinofilia, asintomático y larvas en el primer cultivo en agar nutritivo. Pacientes 5, 6 y 7: inmunocompetentes con eosinofilia. Pacientes 5 y 6: cultivo positivo en agar nutritivo de la primera muestra, Paciente 7: cultivo positivo en agar nutritivo en la segunda muestra. Las PCR fueron positivas desde la primera muestra en los siete pacientes.

Todos recibieron ivermectina. El paciente 3 continuó con profilaxis secundaria. Todos los exámenes parasitológicos convencionales se tornaron negativos después del tratamiento y el cultivo en agar nutritivo fue negativo, sin eosinofilia. No obstante, las PCR continuaron positivas.

Conclusiones. La PCR puede ser útil en el diagnóstico precoz y el seguimiento después del tratamiento.

• • •

Correlación entre geohelmintiasis intestinales y variables químicas, hematológicas y la IgE, en indígenas de la etnia yukpa, estado Zulia, Venezuela

Zulbey Rivero¹, Osmaly Churio², Angela Bracho¹, Marinella Calchi¹, Ellen Acurero¹, Rafael Villalobos³

¹ Escuela de Bioanálisis, Facultad de Medicina, Universidad del Zulia, Maracaibo, Venezuela

² Facultad Experimental de Ciencias, Universidad del Zulia, Maracaibo, Venezuela

³ Escuela de Medicina Universidad del Zulia, Maracaibo, Venezuela

Introducción. Las helmintiasis intestinales se han relacionado comúnmente con el detrimento de las condiciones físicas y mentales de sus huéspedes, aunque algunos autores señalan que en muchos casos se establece un equilibrio entre parásito y huésped.

Para evaluar la relación entre algunas geohelmintiasis intestinales y diversos parámetros de

laboratorio, se hizo una evaluación parasitológica, hematológica, química y serológica, en individuos de una comunidad indígena yukpa en el municipio Perijá del estado Zulia, en el año 2009.

Materiales y métodos. Las muestras de heces se evaluaron mediante examen coproparasitológico directo, concentración con formol-éter, Kato-Katz cuantitativo y cultivo de Harada-Mori. Los parámetros hematológicos se evaluaron mediante autoanalizadores. Las proteínas totales, albúminas, globulinas y relación A/G, se determinaron por autoanalizadores bioquímicos. La IgE se determinó por inmunoensayo enzimático. La asociación entre las variables estudiadas se analizó mediante la prueba de ji al cuadrado (χ^2).

Resultados. El 73 % (27/37) de los indígenas estudiados, presentaron una o más especies de helmintos en sus heces. Las especies predominantes fueron *Ascaris lumbricoides* y *Trichuris trichiura*, ambos con 35,6 % de prevalencia. En segundo lugar se encontraron los Ancylostomideos (27,1 %). Según el recuento de huevos, todos los casos de esta infección se consideraron leves, mientras que en ascariasis el mayor porcentaje de los casos fueron moderados y en trichuriasis resultaron leves. De los 37 cultivos de Harada-Mori realizados, 10 fueron positivos para larvas filariformes, las cuales se identificaron como larvas de *Necator americanus*. La mayoría de los individuos estudiados presentó eosinofilia intensa ($\bar{x} = 3.384$ eosinófilos/ml) y valores de IgE por encima de lo normal (>150 UI/ml). Los valores de proteínas totales, albúmina, globulinas, relación albúmina-globulina, hemoglobina, hematocrito y conteo de plaquetas, fueron normales en la mayoría de los indígenas.

Conclusiones. Se observó que estadísticamente las geohelmintiasis intestinales se correlacionan con eosinofilia intensa y niveles elevados de IgE.

• • •