

## INFESTAÇÕES POR ANCILOSTOMÍDEOS E *STRONGYLOIDES* *STERCORALIS* EM PERNAMBUCO. INQUÉRITO BASEADO NA IDENTIFICAÇÃO DAS LARVAS

Keizo ASAMI, Yoshinori ENOMOTO e Sachio MIURA

### RESUMO

A incidência das infestações pelos *Ancilostomídeos* e pelo *Strongyloides stercoralis* em Pernambuco foi avaliada pelo método de cultura de Harada-Mori, no qual a identificação da espécie é realizada às custas das larvas filariformes desenvolvidas em tubos de ensaio. A fim de comparar a eficiência deste método com a de outros, os de Hoffman e da formalina-éter foram usados, aproveitando-se o mesmo material. Pelo exame das fezes de pacientes do Instituto de Medicina Tropical da F.M.U.F.Pe., a infestação por *Ancilostomídeos* foi encontrada em 36,9% através do método de cultivo, em 21,2% pela formalina-éter e 15,4% pelo Hoffman. A infestação pelo *Strongyloides stercoralis* foi detectada em 5,1% das amostras.

No presente inquérito tôdas as larvas de *Ancilostomídeos* encontradas foram identificadas como de *Necator americanus*. Nenhuma de *Ancylostoma duodenale* foi achada.

Os Autores dão ênfase à conveniência deste método na identificação das espécies de *Ancilostomídeos* necessária para o tratamento dos pacientes e sugerem a alta eficiência do processo na avaliação do efeito terapêutico das drogas usadas.

### INTRODUÇÃO

É fato bem conhecido que, além das diferenças morfológicas entre as duas espécies humanas de ancilostomídeos — *Ancylostoma duodenale* e *Necator americanus* há a considerar diferenças do ponto de vista clínico, no que tange à patogenicidade e à sensibilidade às drogas, nas respectivas infestações.

Portanto, particularmente em área onde ambos (*A. duodenale* e *N. americanus*) são prevalentes, é preferível identificar a espécie em jôgo, antes de tratar o paciente. Infelizmente, contudo, os métodos de exame de fezes que têm sido rotineiramente utiliza-

dos nos laboratórios não permitem a identificação das espécies, porque os ovos de *Ancylostoma* e de *Necator* são morfológicamente semelhantes.

A propósito da distribuição dos ancilostomídeos no Brasil, é largamente aceito que o *Necator* predomina em todo o país, embora o *Ancylostoma* seja também encontrado em algumas áreas onde vivem imigrantes europeus e asiáticos, que o trouxeram dos seus países de origem nos quais esta espécie do ancilostomídeo é prevalente<sup>10</sup>.

No que diz respeito à distribuição do ancilostomídeo no Nordeste brasileiro vem sen-

Este estudo foi realizado como parte do programa de cooperação técnica entre o Governo do Japão e do Instituto de Medicina Tropical da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Brasil

Departamento de Parasitologia da Escola de Medicina da Universidade de Keio e Laboratório de Parasitologia, do Instituto Kitasato para Doenças Infectuosas (Tóquio, Japão)

do admitido que o *Necator* é prevalente: no entanto, tanto quanto os Autores se referem à literatura nacional, nenhum trabalho apareceu para solucionar o problema.

No presente estudo, os Autores fizeram um inquérito sobre a distribuição das espécies de *Ancilostomídeos*, bem como de *Strongyloides* entre os habitantes do Estado de Pernambuco, usando um método no qual a larva foi utilizada para a identificação da espécie.

#### MATERIAL E MÉTODOS

As fezes foram obtidas de pacientes da Clínica do I.M.T., da F.M.U.F.P. (Diretor: Prof. Ruy João Marques). A fim de comparar a eficiência dos métodos, as amostras eram examinadas por três diferentes processos, isto é, pelo de sedimentação de Hoffman & col., pelo de sedimentação em formalina-éter de Ritchie (Met. MGL.) e pelo cultivo de HARADA-MORI<sup>3</sup>.

#### Sumária descrição do método de Cultivo

Preparar tubos de ensaio e papel de filtro. Este é cortado em fita cujo tamanho é um pouco menor que o diâmetro do tubo em largura e um pouco mais longo que o seu comprimento. A amostra de fezes é emulsionada adicionando certa quantidade de água destilada, se necessário, já que a consistência das fezes deve ser tal que permita ser usada no papel de filtro. As fezes emulsionadas — quase 0,5 g são colocadas na porção central da fita, deixando suas extremidades livres de fezes. A extremidade inferior da fita — pelo menos 3 cm — deve ser deixada absolutamente livre de fezes a fim de evitar contaminação da água contida no tubo. O papel de filtro no qual as fezes foram espalhadas é inserido no tubo de ensaio o qual deve conter aproximadamente 5 ml de água destilada. A boca do tubo será fechada com rólha de borracha e a extremidade superior do papel será mantida entre a rólha e a parede do tubo, a fim de não cair na água. O tubo de ensaio assim preparado é conservado em uma incubadora de baixa temperatura, a 25°C ou em temperatura do quarto, se adequada, durante 2 dias. No decorrer

do período de incubação, as larvas escapam e migram das fezes para a água e se desenvolvem, desde a forma rãbitiforme até a filariforme. Após a incubação, o papel de filtro é retirado, sendo, então, a água do fundo do tubo examinada para pesquisa de larvas em microscópio de inversão ou de disseção.

Se positivo, as larvas são pipetadas em lâmina e a identificação das espécies é realizada microscópicamente.

O exame das preparações obtidas pelos métodos de Hoffman e MGL foram realizados por S.M.S., técnica de parasitologia do I.M.T.

#### RESULTADOS

Foram feitos exames em 214 amostras de fezes, ao acaso. Dentre estas amostras 104 casos foram examinados em triplicata pelo Hoffman, MGL e pelo método de cultivo, simultaneamente e os outros 110 foram examinados pelo Hoffman e pelo método de cultivo.

Como se vê no Quadro I, as larvas filariformes foram encontradas em 88 dos 214 casos examinados pelo método de cultivo. Larvas de *Ancilostomídeos* e de *Strongyloides* puderam ser achadas, respectivamente, em 79 e 11 dos 88 casos positivos, incluindo dois de dupla infestação, com as duas espécies de parasitas.

A incidência de *Ancilostomídeos* obtido pelo cultivo mostrou-se aparentemente mais alta do que a encontrada pelos outros métodos, sendo estes os resultados: 36,9% pelo cultivo, 21,2% pelo MGL e 15,4% pelo método de Hoffman.

Tôdas as larvas de *Ancilostomídeos* detectadas foram identificadas como de *Necator americanus*, com base nas suas características morfológicas: forma da cabeça, estrutura da boca, idem da cauda, etc.

Larvas de *Ancylostoma duodenale* não foram, absolutamente, vistas no presente inquérito.

*Strongyloides stercoralis* foi achado em 5,1% das amostras examinadas. Suas larvas filariformes puderam ser confirmadas

QUADRO I

Comparação da incidência dos *Ancilostomídeos* e do *Strongyloides stercoralis* obtida pelo Hoffman, MGL e cultivo

Método	N.º de exames	<i>Ancilostomídeos</i>		<i>S. stercoralis</i>		Larvas não identificadas *	
		N.º de positivos	%	N.º de positivos	%	N.º de positivos	%
Hoffman .....	214	33	15,4	—	0	17	8,0
MGL .....	104	22	21,2	—	0	6	5,8
Cultivo .....	214	79 **	36,9	—	5,1	—	0

\* Os exames microscópicos foram realizados pelo técnico de laboratório

\*\* Todos os casos positivos foram identificados como *N. americanus*

QUADRO II

Eficiência dos métodos para diagnósticos da infestação pelo Ancilostomídeo. Análise de 44 casos positivos pelos três métodos

Cultivo N.º de positivos 36 (81,8%)	MGL N.º de positivos 22 (50,0%)	Hoffman N.º de positivos 13 (29,5%)	N.º de casos
+	+	+	10
+	+	—	5
+	—	+	0
+	—	—	21
—	+	+	2
—	—	+	1
—	+	—	5
Total .....			44

com relativa facilidade através de seu esfago longo sem estrutura, primórdio genital grande (o que é dificilmente reconhecido na larva dos Ancilostomídeos) e da morfologia da extremidade posterior do corpo.

Larvas não identificadas foram vistas pelo MGL e pelo Hoffman em 5,8% e 8,0%, respectivamente.

Pelo exame dos 104 casos para os quais os três métodos foram adotados simultânea-

mente, as larvas dos *Ancilostomídeos* apareceram em 44. A incidência de positividade em cada método acha-se indicada no Quadro II. Como está ali assinalado, 81,8% dos casos positivos foram detectados pelo cultivo, ao contrário, os métodos MGL e Hoffman revelaram 50,0% e 29,5% do total de positivities, respectivamente. Apenas um caso foi positivo pelo Hoffman, sendo negativo através dos dois outros métodos.

#### DISCUSSÃO

No que diz respeito a incidência de infestação pelos *Ancilostomídeos* e *Strongyloides*, em Pernambuco, alguns trabalhos têm sido publicados por diversos investigadores. Quase todos eles, com exceção de um<sup>8</sup>, têm assinalado que a incidência dos *Ancilostomídeos* é maior que 30%, usando-se o método direto<sup>6, 7, 9</sup>, o de HOFFMAN<sup>4, 5, 13</sup> ou combinação do Hoffman com o método de FAUST<sup>1, 2</sup>. Entre tais trabalhos apenas os de LUCENA<sup>5, 7</sup> descrevem a espécie como *Necator americanus*, embora seja omitido o método através do qual a identificação tenha sido feita.

Os demais Autores usaram a denominação *Ancilostomídeos*, sem determinar a espécie.

É largamente aceito que a diferenciação da espécie pelo ovo é impossível e, além disso, a diferenciação da espécie pela larva rãbitiforme é, na prática, muito difícil, pois exige, de quem examina, uma larga experiência.

Por outro lado na larva filariforme do *Necator* e do *Ancylostoma*, as características diferenciais morfológicas são muito mais claras que na rãbitiforme. Portanto, como já foi dito, é preferível identificar as espécies no estágio de larva filariforme.

De acôrdo com os resultados do presente inquérito, a espécie de Ancilostomídeo prevalente em Pernambuco é apenas o *Necator americanus*, embora o número de casos examinados não seja grande. Maior investigação é necessário para confirmar a ausência do *Ancylostoma duodenale* neste Estado, particularmente em colônias de imigrantes.

A alta eficiência do método de cultivo de Harada-Mori para detectar infestação pelos

*Ancilostomídeos* ficou demonstrado, pelos resultados comparados com os obtidos com o Hoffman e com o MGL. A incidência de *Ancilostomídeos* pela cultura é significativamente mais alta do que a determinada pelos outros processos. Aliás, a eficiência do método de cultivo, neste particular, já foi extensivamente avaliada por investigadores japoneses<sup>11, 14</sup>.

Tal método é também valioso na avaliação do efeito de um tratamento, uma vez que a pequena carga de vermes que sobrevivem após a terapêutica causa, freqüentemente, resultados negativos falsos, quando as fezes são examinadas pelos processos habituais. YOSHIDA<sup>14</sup> assinalou muito maior eficiência de cultivo, em comparação com o método de flutuação que é considerado o melhor para detectar ovos de Ancilostomídeos.

No que tange a fatores que influenciam os resultados do método de cultivo, a temperatura antes e durante o exame é considerado o principal. A amostra de fezes deve ser conservada na temperatura de 10°-25°C.

Temperaturas mais baixas suprimem a saída das larvas, particularmente as de *Necator*. A temperatura ótima para incubação é cerca de 25°C. As temperaturas mais elevadas inibem o desenvolvimento do *Ancylostoma*<sup>12</sup>.

O *Strongyloides stercoralis* é detectado com relativa facilidade, também pelos métodos rotineiros de exame, porque a larva rãbitiforme do parasita tem claras características morfológicas, em comparação com as dos *Ancilostomídeos*. Contudo, poderia ser identificado, muito mais facilmente a larva filariforme do que a rãbitiforme, porque o longo e filariforme esôfago e a estrutura da cauda da cápsula são muito características da espécie.

Usando o método de cultivo, a diferenciação do *Necator americanus*, *Ancylostoma duodenale* e *Strongyloides stercoralis* parece ser realizada facilmente, mesmo por técnicos de laboratório que não tenham profundos conhecimentos acerca da morfologia das larvas do parasita encontráveis no intestino humano.

SUMMARY

*Incidence of hookworm and Strongyloides infection in Pernambuco. A survey based on identification of larvae*

Incidence of hookworm and *Strongyloides* infection in Pernambuco was examined by Harada-Mori's cultivation method, in which identification of the species is performed on filariform larva developed in test tube. In order to compare effectivity of this method with that of others, Hoffman's and formalin-ether method were used for the same materials.

By the stool examination of patients in the Institute of Tropical Medicine, F.M. U.F.Pe., hookworm infection was found in 36.9% by cultivation method, in 21.2% by formalin-ether and in 15.4% by Hoffman method. *Strongyloides stercoralis* infection was found in 5.1%.

In the present survey, all of the hookworm larvae found was identified to be *Necator americanus*, and no *Ancylostoma duodenale* was detected.

The Authors emphasized a conveniency and reliability of this method in identification of species of hookworms which is necessary to the selection of remedies, and also in the evaluation of effect of the drug used.

AGRADECIMENTOS

Os Autores desejam expressar muitos agradecimentos ao Prof. Ruy João Marques, Diretor do Instituto, por sua ajuda, no decorrer desta pesquisa e a Srta. Síría Maria da Silva, por sua assistência técnica.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. DOBBIN Jr., J. E. — Parasitos intestinais em Santo Amaro (Recife). *An. Fac. Farm. Univ. Recife* 1:79-85, 1958.
2. DOBBIN Jr., J. E. — Parasitos intestinais na Encruzilhada (Recife). *An. Fac. Farm. Univ. Recife* 2:141-145, 1969.

3. HARADA, Y. & MORI, O. — Método simplificado para cultivo de ovos de ancilostomídeos (em japonês). *Igaku Seibutsu* 20: 65-67, 1951.
4. HUGGINS, D. & CORREIA, U. — Incidência de parasitos intestinais em escolares do Recife. II — *Rev. Brasil. Med.* 25:466-468, 1968.
5. HUGGINS, D. & CORREIA, U. — Incidência de parasitos intestinais em escolares do Recife. *Rev. Brasil. Med.* 25:157-159, 1968.
6. LUCENA, D. — Alguns dados sobre as mais frequentes parasitoses intestinais em Pernambuco. *Medicina Acadêmica* 7:23-26, 1941.
7. LUCENA, D. & NETO, M. B. — Índices de infestação humana por helmintos na cidade de Vitória e na povoação de Pontezinha. *An. Soc. Biol. Pernambuco* 3:13-36, 1942.
8. MARQUES, R. J. — Incidência de parasitos intestinais em 1.000 pacientes da secção de gastroenterologia de um consultório particular da cidade de Recife. *Brasil Méd.* 68:1-5, 2 a 30 de janeiro, 1954.
9. MARQUES, R. J. — Associações helmínticas. Boletim trimestral da Clínica de Doenças Tropicais e de Nutrição do Hospital Pedro II, 3-10, 1954.
10. PESSÓA, S. B. — *Parasitologia Médica*. Rio de Janeiro, Koogan, 1958.
11. SASA, M.; TANAKA, H.; ABE, Y.; SUGIURA, A.; UCHIYAMA, H. & IZUMI, K. — Incidência de infecções parasitárias em Amami. I (em japonês). *Jap. J. Parasit.* 7:357-362, 1958.
12. SHIRASAKA, R. — Estudo sobre ecologia de larva infectante de parasitos nematódios. (2) (em japonês). *Jap. J. Parasit.* 8:1-7, 1959.
13. SIQUEIRA, M. S. — Contribuição ao estudo das parasitoses intestinais. *An. Fac. Med. Univ. Recife* 22:127-139, 1962.
14. YOSHIDA, Y. — Estudo sobre epidemiologia e tratamento de doenças por ancilostomídeos (em japonês). I. Kyoto Furitsu. *Idai Shi.* 59:278-288, 1956.

Recebido para publicação em 12/6/1969.