

UNIVERSIDADE SANTO AMARO

Curso de Medicina

Ana Clara Cassine de Souza Medeiros

Giovanna Ribeiro Achur Mastandrea.

**DETECÇÃO DE IgG ANTI-*Strongyloides* EM MULHERES
COM HISTÓRICO DE COVID-19.**

SÃO PAULO

2023

Ana Clara Cassine de Souza Medeiros
Giovanna Ribeiro Achur Mastandrea

**DETECÇÃO DE IgG ANTI-*Strongyloides* EM MULHERES
COM HISTÓRICO DE COVID-19.**

Relatório Final de Pesquisa apresentado ao
Programa Institucional de Bolsas de Iniciação
Científica da Universidade Santo Amaro – UNISA.

Orientador: Prof. Dr. Marcelo Andreetta Corral

SÃO PAULO

2023

RESUMO

A estrogiloidíase é uma infecção parasitária causada pelo nematódeo intestinal *Strongyloides stercoralis*. Esse parasito pode realizar um processo de autoinfecção graças à produção do hormônio ecdisona pela fêmea do parasito, que tem analogia com um produto resultante da metabolização dos corticoides. A utilização exacerbada desses fármacos pode favorecer o aparecimento do ciclo de autoinfecção, dado o aumento da concentração do análogo hormonal provocando casos graves como a Síndrome da Hiperinfecção ou ainda a disseminação hematogênica de enterobactérias. Aproximadamente 50% dos pacientes com o diagnóstico das formas graves podem evoluir para o óbito. As variações hormonais encontradas em mulheres favorecem situações de imunocomprometimento, além disso, sabe-se que diversos pacientes diagnosticados com COVID-19 foram submetidos a corticoterapia para tratamento sobretudo da tempestade de citocinas pulmonar. Diante disso, o estudo teve como objetivo realizar o diagnóstico sorológico da estrogiloidíase em pacientes com histórico de COVID-19. As pacientes foram divididas em dois grupos contemplando o histórico da infecção diagnosticada do SARS-CoV-2 (Grupo I sem histórico e Grupo II com o histórico). Amostras de soro foram coletadas para realização do ELISA utilizando o antígeno de membrana de *Strongyloides venezuelensis* para detecção de anticorpos específicos. O grupo I (n=35, média de idade de 25,6 anos) apresentou 5,71% de positividade para estrogiloidíase, enquanto que o grupo II (n=26, média de idade de 23,6 anos) apresentou 15,38%. Nenhuma das pacientes que testou positivo na sorologia refere “tratamento profilático” com Ivermectina para COVID-19. No grupo II apenas uma paciente com sorologia positiva (25%) refere ter tomado medicamento corticoide para infecção pelo SARS-CoV-2. Em relação a realização do exame de fezes, apenas uma paciente do grupo I com sorologia positiva afirma realizar periodicamente, todas as demais deste grupo e do grupo II afirmam que não realizam. Observa-se que houve maior número de casos de sorologia positiva para estrogiloidíase no grupo com histórico de COVID-19.

Palavras-chave: estrogiloidíase, sorologia, Covid-19.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	4
1.1. Estrongiloidíase.....	4
1.2. O novo coronavírus (SARS-CoV-2) e a COVID-19.....	6
1.3. Estrongiloidíase, COVID-19 e mulheres.....	10
2. OBJETIVO GERAL	11
2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	11
3. METODOLOGIA.....	12
4. RESULTADOS	Erro! Indicador não definido.
5. DISCUSSÃO	Erro! Indicador não definido.
6. CONCLUSÃO.....	Erro! Indicador não definido.
REFERÊNCIAS.....	20
ANEXOS E APÊNDICES	23
ANEXO A - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO.....	23
ANEXO B - QUESTIONÁRIO.....	26

1. INTRODUÇÃO

1.1. Estrongiloidíase

Strongyloides stercoralis é o agente causador da estrongiloidíase em países tropicais e subtropicais como o Brasil ¹. Estima-se que mais de 600 milhões de pessoas estejam infectadas com o parasito em todo o mundo. A doença tem amplo espectro de manifestações, que variam desde assintomática e crônica até hiperinfecção e estrongiloidíase disseminada dependendo do estado de imunocomprometimento por alguma doença de base ou induzido pela utilização de medicamentos como os corticoides^{2,3}.

Os humanos podem adquirir a estrongiloidíase externamente pela penetração ativa da larva filarioide na pele (ciclos direto e indireto) ou a partir de autoinfecção⁴. As larvas filarioides (L3) penetram na pele de um hospedeiro suscetível e alcançam a corrente sanguínea, se deslocam aos capilares alveolares dos pulmões, alcançam a árvore brônquica, a traqueia e a faringe em conjunto com o muco produzido. Nos pulmões passará pelo processo de ecdise larval se transformando de L3 para L4 e de L4 para L5. Esta larva L5 romperá os alvéolos ascendendo pela árvore brônquica e chegando à faringe. Será deglutida atingindo o trato gastrointestinal, permanecendo na lâmina própria do duodeno e jejuno proximal. Nessa fase completa o seu desenvolvimento em fêmeas parasitas que eliminam ovos por partenogênese. Este ovo logo se rompe eclodindo a larva rhabditoide (L1) na luz do intestino delgado. Essa larva é eliminada juntamente com o material fecal com o auxílio do peristaltismo intestinal, e no ambiente sofre transformações (de L1 para L2 e de L2 para L3) e se torna a forma infectante do parasita, chamada de larva filarioide⁵.

Três tipos genéticos de ovos podem ser produzidos pelas fêmeas parasitas, que podem dar origem a três tipos de larvas rhabdoides: as que se diferenciam em larvas filarioides infectantes, as que originam vermes adultos de vida livre que produzem novas gerações de larvas, e as que produzem formas filarioides infectantes no próprio intestino ou à margem do ânus^{4,5}.

O ciclo direto ocorre quando as L3 penetram na pele do hospedeiro, alcançam a circulação, o coração e os pulmões, passam pela árvore brônquica e chegam à faringe, podendo ser expulsas ou novamente deglutidas, e, no intestino delgado, se transformam em fêmeas parasitas⁵.

No ciclo indireto, as larvas rabditoídes são eliminadas juntamente com as fezes e se diferenciam em machos e fêmeas de vida livre após sofrerem transformações no solo. Os vermes adultos apresentam morfologia bastante distinta da fêmea parasita presente no hospedeiro, e após a cópula, as fêmeas produzem milhares de ovos, que abrigam as larvas rabditoídes. Essas larvas evoluem para larvas filariídes infectantes, que penetram na pele do hospedeiro⁶.

Por fim, o ciclo de autoinfecção é marcado pela transformação das larvas rabditoídes em larvas filariídes infectantes no próprio intestino, na região anal ou na perianal, sem a invasão ou influência do ambiente externo. Decorrente disso, penetram na mucosa, alcançam a corrente sanguínea e realizam o ciclo direto. Esse ciclo resulta na multiplicação do número de vermes no hospedeiro e na perpetuação da infecção por vários anos ou décadas, sem que haja necessidade de reexposição ao parasito. Além disso, pode resultar na hiperinfecção, que corresponde a um processo acelerado de autoinfecção interna podendo atingir outros órgãos e sistemas⁶.

A estrogiloidíase costuma cursar de forma assintomática em indivíduos imunocompetentes, e, quando há o surgimento de sintomas, pode apresentar inicialmente desconforto ou coceira na região da penetração larval. Posteriormente, de modo geral, a infecção pode apresentar sintomas inespecíficos em múltiplos sistemas, com predominância no sistema gastrointestinal, dermatológico e respiratório^{7,8}.

Dessa maneira, os sintomas mais habituais são inchaço abdominal, azia, prisão de ventre ou diarreia, diminuição do apetite, fraqueza e dores disseminadas pelo corpo, anemia, emagrecimento, desidratação, astenia, irritabilidade nervosa e depressão. Dentre as manifestações respiratórias, é possível citar a tosse seca ou seguida de expectoração, febre baixa, mal-estar,

e o chiado pulmonar, e os sintomas levam um período de aproximadamente 2 semanas após a infecção inicial para se manifestarem⁸.

Já o início do quadro de hiperinfecção por *Strongyloides* pode apresentar sintomas genéricos, tais como fraqueza, fadiga e dores disseminadas pelo corpo. Entretanto, os principais e mais importantes sintomas também estão relacionados ao sistema digestivo, podendo ser citados como exemplo acessos de diarreia ou constipação intestinal, desconforto abdominal ou cólicas, náuseas e vômitos. Como há acometimento do duodeno, a possibilidade de úlceras pépticas com acompanhamento de dor ao alimentar-se não deve ser descartada^{6,9}.

Para a diminuição do risco de hiperinfecção por *Strongyloides*, é recomendado que o tratamento seja aplicado tanto em pacientes sintomáticos quanto em assintomáticos, sendo o principal medicamento usado a ivermectina. Esse medicamento é utilizado em substituição ao albendazol e o tiabendazol, drogas anteriormente utilizadas. Em comparação a eles, a ivermectina apresenta menos efeitos colaterais e a mesma eficácia, e o seu uso é associado a grande erradicação de larvas e a baixa toxicidade. Desse modo, quando utilizada no período de 1 a 2 dias, com administração de 200 µg/kg/dia, apresenta cura de 97% dos casos de estrogiloidíase em sua forma intestinal^{3,10,11}.

A profilaxia da estrogiloidíase consiste em ações que minimizem a contaminação da população, tal como o uso de calçados, a educação sanitária e cívica da população, o uso de fossas ou privadas com tratamento de esgoto, o acesso ao saneamento básico e o tratamento dos indivíduos parasitados, que podem constituir grandes fontes de transmissão⁴.

1.2. Diagnóstico da estrogiloidíase

O diagnóstico da estrogiloidíase consiste na observação de larvas principalmente nas fezes. As técnicas parasitológicas de rotina como Baermann-Moraes e Rugai são as mais indicadas, pois baseiam-se no termohidrotropismo positivo larval, mas apresentam baixa sensibilidade, devido a intermitência de liberação de larvas. Nesse contexto as técnicas de cultura parasitológica como

cultura em placa de ágar, Harada-Mori (cultura em papel filtro) e a técnica de Loos (cultura em carvão) ganharam importância, pois aumentam consideravelmente a sensibilidade do método, porém a desvantagem é o tempo necessário para obtenção de resultados apreciáveis (Costa-Cruz *et al.*, 2003; Paula *et al.*, 2013).

As técnicas sorológicas surgem como alternativas e complementares ao diagnóstico parasitológico e apresentam a vantagem de não necessitar da observação de larvas nas fezes. Diversas técnicas vêm sendo relatadas na literatura, mas o ensaio imunoenzimático (ELISA) e a imunodeteção de bandas imunogênicas (Western-blotting) vem se destacando das demais. Neste contexto, estudos de variações antigênicas como o de Corral *et al.*, (2015), que utilizaram as frações solúvel e de membrana de *Strongyloides venezuelensis*, vem se destacando, pois possuem altas sensibilidade e especificidade (superior a 90% em ambos os casos) podendo ser utilizadas em inquéritos soropidemiológicos como o estudo de Toledo *et al.*, (2019).

O desenvolvimento e aprimoramento de métodos de diagnóstico moleculares também vêm sendo relatado na literatura. Recentemente Buonfrate *et al.* (2018) realizaram uma revisão sistemática sobre o tema e concluíram que tanto a PCR convencional como a PCR em tempo real podem ser utilizados como testes confirmatórios diante dos valores apreciáveis de especificidade (95,3% e 95,4%, respectivamente), porém com ressalvas para a triagem de pacientes dada a baixa sensibilidade (61,9% e 56,5%, respectivamente). Tais resultados reforçam os investimentos no desenvolvimento das técnicas sorológicas.

1.3. O novo coronavírus (SARS-CoV-2) e a COVID-19

Em dezembro de 2019, em Wuhan, na China, iniciou-se a epidemia do novo coronavírus (SARS-CoV-2), causada pela Síndrome Respiratória Aguda Grave. Ligeiramente esse vírus se alastrou para outros lugares da China, assim como para outros países, e devido a essa rápida disseminação, foi declarado estado de pandemia pela Organização Mundial da Saúde. Além disso, a OMS

nomeou essa nova doença como “COVID-19”, sendo esse termo a convergência entre as palavras: Corona, Vírus e Doença, indicando que teve início em 2019¹².

O coronavírus é um vírus zoonótico da família Coronaviridae, e recebe esse nome devido ao formato de coroa observado durante a microscopia. Além do SARS-CoV-2, são conhecidos outros tipos de coronavírus: MERS-CoV, SARS-CoV e HCoV-OC43, que provocam outras síndromes respiratórias¹³.

A transmissão ocorre por meio de uma pessoa doente para outra ou por contato próximo por meio de gotículas de saliva, tosse, espirro, catarro, aerossóis e até por objetos ou superfícies contaminadas, como celulares, mesas, talheres, maçanetas, brinquedos, teclados de computador etc¹⁴.

Por se tratar de uma doença nova e pouco conhecida, os sintomas variam entre os pacientes, variando desde um simples resfriado até uma pneumonia grave, sendo os sintomas mais referidos entre as pessoas: anosmia, aguesia, dispneia, tosse seca, mialgia, cefaléia, fadiga, febre e distúrbios gastrointestinais (náuseas, diarreias, vômitos)¹⁴.

O diagnóstico é realizado clinicamente e epidemiologicamente pelo médico atendente através dos sintomas apresentados e de relatos do próprio paciente de contato próximo ou domiciliar, nos 14 dias antecedentes ao aparecimento dos sintomas, com caso confirmado laboratorialmente para COVID-19 e para o qual não foi possível realizar a investigação laboratorial específica. Além disso, o médico poderá solicitar exames laboratoriais para confirmar a hipótese, como o de biologia molecular (RT-PCR), o imunológico, o ensaio imunoenzimático (ELISA), a imunocromatografia (teste rápido), o imunoenensaio por Eletroquimioluminescência (ECLIA) e a pesquisa de antígenos¹⁴.

Ainda que não haja terapias medicamentosas com total eficácia direcionadas ao tratamento da COVID-19, alguns estudos clínicos estão sendo feitos. O uso da corticoterapia tem trazido resultados benéficos, principalmente para os pacientes com sintomas graves da doença, e a dexametasona, um glicocorticoide com alta potência de ação, está sendo muito testada nos pacientes em estado grave^{15,16}.

Em contrapartida, pacientes tratados com corticoesteróides que apresentam infecção por *Strongyloides* costumam não apresentar bons resultados. Isso ocorre pois os corticoides aumentam a apoptose de células Th2, diminuindo, assim, o número de eosinófilos, que conseqüentemente irão inibir a resposta imune dos mastócitos, causando o agravamento da infecção. Além disso, a elevação da concentração de derivados de glicocorticoides tem afinidade com a ecdisona, que é o hormônio regulador da fecundidade das fêmeas partenogênicas e da transformação das larvas rabditóides em filarióides infectantes. Com isso, o paciente poderá apresentar um quadro de Síndrome de Hiperinfecção por *Strongyloides stercoralis*^{2,17}.

A patologia da COVID-19 é caracterizada pela rápida replicação do SARS-CoV-2, o que leva a uma resposta imune exacerbada, podendo ocorrer uma tempestade de citocinas, comum fator desencadeante de resposta inflamatória severa nos pulmões. Nesse caso, além da utilização de um antiviral, torna-se necessário o uso de medicamentos anti-inflamatórios^{18,19,20}.

Dessa maneira, a ivermectina, fármaco antiparasitário de amplo espectro utilizado no tratamento da estrogiloidíase, demonstrou também poder contra vírus de DNA e RNA. Novos estudos estabelecem o papel da ivermectina na resposta inflamatória causada pelo SARS-CoV-2, sendo assim, além de atividade antiviral a ivermectina poderia ter papel de suporte frente a infecção. Porém, a eficácia desse medicamento não foi efetivamente comprovada, e apesar dos resultados positivos *in vitro*, ainda não é possível saber a sua eficácia para o tratamento de indivíduos com COVID-19¹⁸.

Portanto, não é possível realizar qualquer recomendação quanto ao uso de ivermectina em pacientes com COVID-19, e o seu uso indiscriminado pode causar efeitos adversos, incluindo a hepatite medicamentosa. Além disso, segundo arquivo do Ministério da Saúde, simulações demonstraram que a dose de ivermectina para inibir SARS-CoV-2 excederia a dose mais alta dessa terapia (200 µg/kg – tratamento da estrogiloidíase) em no mínimo nove vezes. Portanto, a descoberta da atividade desse medicamento contra a COVID-19 fornece expectativas, mas seu uso *off-label* e compassivo requer considerações cuidadosas de risco-benefício, especialmente em pacientes gravemente enfermos²¹.

1.4. Estrongiloidíase, COVID-19 e mulheres

Segundo dados de 2019 da PNAD Contínua (Pesquisa Nacional por Amostra de Domicílios Contínua), o número de mulheres no Brasil é superior ao de homens, sendo a população brasileira composta por 51,8% de mulheres e 48,2% de homens. Além disso, a população feminina tem apresentado aumento significativo na expectativa de vida quando relacionada a população masculina²².

Dessa forma, apesar de os homens possuírem um risco maior de adquirir a estrongiloidíase do que as mulheres, as mulheres apresentam constantes alterações hormonais durante toda a vida, estando expostas de forma acentuada a infecção. Além disso, as doenças crônicas não-transmissíveis, como a hipertensão e a diabetes, por exemplo, mais comuns nesse grupo, quando em estágio avançado, constituem um agravante para a Síndrome de Hiperinfecção por Strongyloides, uma vez que essa se estabelece em condições de imunossupressão^{2,23}.

Com relação a COVID-19, devido a alta produção de citocinas pró-inflamatórias induzidas pelo SARS-CoV-2, os corticoesteroides sistêmicos foram inicialmente utilizados no tratamento da doença grave visando reduzir o processo inflamatório nos pulmões. Porém, existem evidências de que o uso desses medicamentos pode diminuir o *clearance viral*, e, em doses indiscriminadas ou em condições de automedicação, podem causar imunossupressão, que pode ser prejudicial nas mulheres quando em conjunto a outras patologias de base e/ou a estrongiloidíase²⁴.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Relacionar as complicações apresentadas em pacientes com estrogiloidíase e a hiperinfecção ao tratamento da COVID-19 com corticosteroides.

2.2 Objetivos Específicos

- Coletar amostras de soro de mulheres com e sem histórico de COVID-19.
- Avaliar a detecção de anticorpos IgG Anti-*Strongyloides* em mulheres com e sem histórico de COVID-19.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Casuística

As voluntárias foram abordadas individualmente e pessoalmente pela equipe de pesquisa, que explicou a cada um deles os termos da pesquisa, explicitando o caráter voluntário do estudo (anexo 1).

Além da coleta de sangue para obtenção de amostras de soro foi questionado (anexo 2) para as pacientes a idade, o status vacinal e o histórico de COVID-19 diagnosticado.

As pacientes foram divididas em dois grupos conforme a tabela 1 a seguir.

Tabela 1. Identificação dos grupos de pacientes estudados, 2022.

Grupo	n	Descrição
I	35	Sem histórico de COVID-19
II	26	Com histórico de COVID-19
Total	61	

3.2. Imunodiagnóstico

3.2.1 Obtenção dos antígenos brutos

Para este estudo foi utilizado um antígeno clássico, bem descrito pela literatura (CORRAL et al., 2015). Aproximadamente 200.000 larvas filarioides de *S. venezuelensis* (gentilmente cedidas pela Dra. Fabiana Martins de Paula, pesquisadora científica VI do Laboratório de Investigação Médica (LIM-06) do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo) foram ressuspensas em tampão de homogeneização 10mM Tris-HCl pH 7.5, 1mM DTT, suplementado com coquetel de inibidores de protease.

Em seguida a solução de larvas passou por sonicação e posterior centrifugação a 12400g/4°C por 30 minutos. O pellet foi ressuspensão em tampão

de rehidratação (Ureia 7M, Tiourea 2M e CHAPS 2%), homogeneizado por 30 min/4°C e centrifugado a 12400g/4°C por 30 minutos. O sobrenadante deu origem a fração de membrana.

3.2.2 Caracterização do antígeno

Uma alíquota da fração antigênica foi destinada a avaliação da concentração proteica pela técnica desenvolvida por Lowry *et al.* (1951). Paralelamente, foi realizada eletroforese em gel de poliacrilamida em condições desnaturantes (SDS-PAGE).

Para determinar o perfil de bandas, aproximadamente 20µg/mL por cm de gel da fração antigênica foi submetida a eletroforese, de acordo com Laemmli (1970). O gel de poliacrilamida de 12% foi preparado em suporte vertical para mini-gel. As amostras foram ressuspensas em tampão de amostra (125mM Tris-HCl pH 6,8, SDS 2%, glicerol 20%, 50mM DTT, Azul de bromofenol 0,01%) e aquecidas a 100°C em banho-maria por cinco minutos. Após a adição do tampão de corrida (25mM Tris, 192mM Glicina, 3,5mM SDS) foi realizada a eletroforese a 20mA/gel por aproximadamente duas horas. Foi utilizado padrão de massa molecular (10 a 260kDa - BioRad) para determinação das bandas proteicas relativas.

3.2.3 ELISA

A técnica de ELISA foi realizada de acordo com Corral *et al.* (2015), sendo que as placas de poliestireno foram sensibilizadas por um período de 16 horas com 10µg/ml da fração antigênica, em tampão carbonato-bicarbonato 0,06M pH 9,6 a 4°C. Após lavagem com PBS-T (tampão fosfato acrescido de Tween 20),

foram adicionados os soros padrões negativos e positivos, bem como soros-testes e controles diluídos em PBS-TM (PBS-T acrescido de leite em pó). Após 45 minutos a 37°C, nova lavagem com PBS-T. Em seguida, foi adicionado o conjugado anti-IgG humano fração Fc marcado com peroxidase em PBS-TM. Após 45 minutos a 37°C, foi adicionado 100µL de reagente cromogênico TMB (3,3', 5,5;-tetrametilbenzidino – Life Technologies, Carlsbad, CA, Estados Unidos) na ausência da luz por 6 minutos. A reação foi interrompida com H₂SO₄ 2N. Os valores de absorbância foram determinados em leitor de ELISA no comprimento de onda de 450nm.

3.3 Análise dos dados

Foi construída uma curva ROC (*Receiver Operating Characteristic*) (GREINER *et al.*, 1995) com as amostras controle positivas e negativas para obtenção do cut off. Os resultados foram analisados a partir da obtenção do Índice ELISA (IE) (Média da Densidade Óptica dividido pelo Cut off), sendo que o IE<1 indicou positividade.

3.4 Normas de Biossegurança

Os procedimentos laboratoriais estiveram em conformidade com as normas de biossegurança descritas por Mineo *et al.* (2005) e pela Sociedade Brasileira de Patologia Clínica e Medicina Laboratorial (2013).

4. RESULTADOS

4.1 Caracterização da população de estudo

O grupo I foi composto por 35 participantes, que apresentaram média de idade de 25,6 anos, enquanto o grupo II a média foi de 23,6 anos. Toda as participantes do estudo já tinham tomado pelo menos 2 doses da vacina para COVID-19.

4.2 Caracterização da fração de membrana de *Strongyloides venezuelensis*

Foi realizado um SDS-PAGE 12% para caracterização das frações antigênicas e observou-se bandas mais evidentes na região de 40-35kDa (Figura 1).

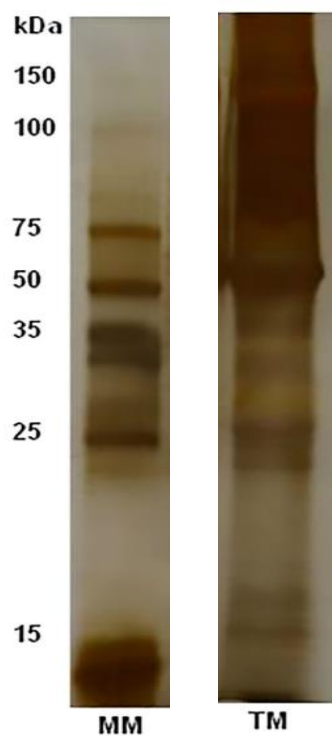


Figura 2. SDS-PAGE 12% corado com nitrato de Prata identificando as bandas proteicas do antígeno de membrana de *Strongyloides venezuelensis*.

4.3 Detecção de anticorpos IgG Anti-*Strongyloides*

O grupo I apresentou 5,71% (2/35) de positividade para estrogiloidíase, enquanto que o grupo II apresentou 15,38% (4/26). Não houve diferença estatística significativa entre a taxa de positividade dos grupos (Figura 2).

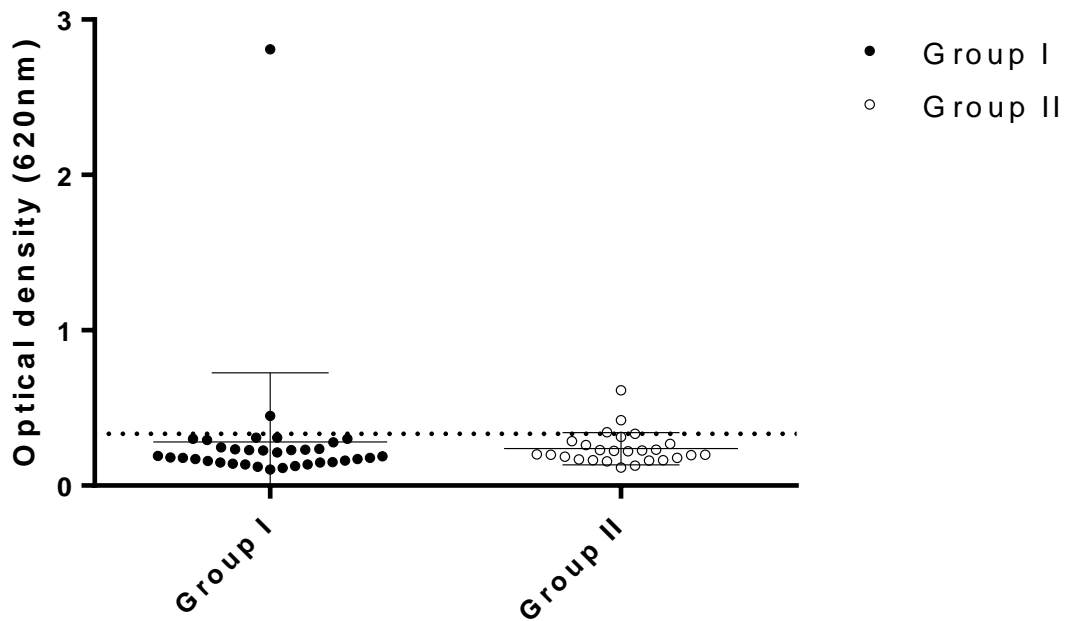


Figura 2. Densidade ótica (DO) das amostras de soro das pacientes sem (Grupo I) ou com (Grupo 2) histórico da infecção pelo SARS-CoV- 2 a partir da realização do ELISA indireto para detecção de anticorpos específicos anti-*Strongyloides* utilizando o antígeno de membrana derivado de *Strongyloides venezuelensis*. Pacientes com DO a cima da linha pontilhada foram considerados positivos.

5. DISCUSSÃO

O diagnóstico da estrogiloidíase é baseado em técnicas parasitológicas, sobretudo aquelas que possuem o termohidrotropismo larvário positivo como fundamento (Baermann, 1917; Moraes, 1948; Rugai *et al.*, 1954) ou por técnicas de cultura como a placa de ágar (Koga *et al.*, 1991; Paula *et al.*, 2013). Entretanto, quando realizadas isoladamente, apresentam baixa sensibilidade, principalmente pela intermitência na liberação larvária e baixa carga parasitária nos casos crônicos, sendo necessárias coletas de múltiplas amostras fecais ou associação entre técnicas parasitológicas. Estes métodos não costumam ser adotados na rotina laboratorial dada a quantidade de amostra fornecida e o incorreto estado de conservação, como refrigeração e utilização de substâncias conservantes (Uparanukraw *et al.*, 1999; Zaha *et al.*, 2000).

Diante dos problemas enfrentados na detecção direta de formas parasitárias de *S. stercoralis*, a literatura vem propondo medidas alternativas de diagnóstico que não dependam diretamente da liberação e detecção das larvas nos materiais biológicos. O desenvolvimento de técnicas sorológicas e moleculares, cada vez mais aprimoradas, vem sendo o objeto de estudo de diversos grupos pelo mundo. De forma geral, os valores dos parâmetros de diagnósticos das técnicas sorológicas sobressaem os das moleculares (Levanhagen e Costa-Cruz, 2014; Buonfrate *et al.*, 2018).

Muito se tem discutido sobre a forma de obtenção, caracterização e aplicação de diferentes frações antigênicas no imunodiagnóstico da estrogiloidíase humana (Buonfrate *et al.*, 2015b; Nutman, 2016). A técnica mais explorada na literatura é o ensaio imunoenzimático (ELISA), seguido por alguns

relatos da utilização da reação de imunofluorescência indireta e do WB (Levenhagen; Costa-Cruz, 2014).

Este trabalho se destaca por ser o primeiro a ser realizado buscando correlacionar o histórico da infecção pelo SARS-CoV-2 e detecção de anticorpos específicos anti-Strongyloides em mulheres jovens. Os resultados encontrados neste estudo refletem a principal hipótese deste estudo, que versa sobre a maior frequência de anticorpos nas pessoas que fizeram algum tipo de tratamento quando desenvolveram a COVID-19.

Mesmo diante de uma ausência de diferença estatística entre os grupos, é possível observar uma maior frequência de positividade de detecção de anticorpos no grupo que se infectou e tratou com medicamentos corticoides.

6. CONCLUSÃO

Há maior taxa de detecção de anticorpos anti-Strongyloides em pacientes com histórico da infecção pelo SARS-CoV-2. O presente estudo reforça a necessidade da triagem sorológica para pacientes nesta categoria, o que corrobora com a literatura no que tange a utilização dos medicamentos corticoides.

REFERÊNCIAS

1. Andrade EC, Leite ISG, Rodrigues VO, Cesca MG. Parasitoses intestinais: uma revisão sobre seus aspectos sociais, epidemiológicos, clínicos e terapêuticos. Rev. APS. 2010 abr-jun;12(2):231-40.
2. Santana ATS, Loureiro MB. Síndrome de hiperinfecção e/ou disseminação por *Strongyloides stercoralis* em pacientes imunodeprimidos. RBAC. 2017;49(4):351-8.
3. Luna OB, Grasselli R, Ananias M, Pinto TS, Bozza FA, Soares M, et al. Estrongiloidíase Disseminada: Diagnóstico e Tratamento. RBTI. 2007 out-dez;19(4):463-8.
4. Grove DI. Human strongyloidiasis. Adv Parasitol 38: 251-309, 1996.
5. Anschau J, Peralta KM, Machado LT, Lazzari MB, Blumm M, Buffon MP, et al. Estrongiloidíase: artigo de revisão. Revista Conhecimento Online. 2013 jan-jun;1:1-12.
6. Ferreira MU. Parasitologia Contemporânea, 2 ed. Rio de Janeiro: Grupo GEN, 2020.
7. Mora Carpio AL, Meseeha M. Strongyloides Stercoralis. [internet]. StatPearls. 2021 jan. Treasure Island; 2021. [acesso em 2021 mar 28]. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK436024/>.
8. Gonzales DJ; Chackraborty RK; Climaco A. Strongyloidiasis. [internet]. Treasure Island, 2021. [acesso em 2021 mar 28]. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28613526/>.
9. Lier AJ, Davis MW, Topal JE. Antimicrobial Management of Disseminated Strongyloidiasis in a COVID-19 Patient. Am J Trop Med Hyg. 2020

- nov;103(5):2150. Aarestrup FM. Imunopatologia da COVID-19 e suas complicações clínicas. *Arq Asma Alerg Immunol*. 2020 jun;4(2):172-80.
10. Buonfrate D, Salas-Coronas J, Muñoz J, Maruri BT, Rodari P, Castelli F, et al. Multiple-dose versus single-dose ivermectin for *Strongyloides stercoralis* infection (Strong Treat 1 to 4): a multicentre, open-label, phase 3, randomised controlled superiority trial. *Lancet Infect Dis*. 2019 nov;19(11):1181-90.
11. CDC – Centers for Disease Control and Prevention. Parasites - *Strongyloides*. [internet]. Georgia, 2020. [acesso em 2021 mar 18]. Disponível em: https://www.cdc.gov/parasites/strongyloides/health_professionals/index.html
12. Vilelas JMS. O novo coronavírus e o risco para a saúde das crianças. *Rev. Latino-Am. Enfermagem*. 2020 abr;28.
13. Lima CMAO. Informações sobre o novo coronavírus (COVID-19). *Radiol Bras*. 2020 mar-abr;53(2):5-6.
14. Ministério da Saúde. Sobre a doença – Coronavírus. [internet]. Brasília; 2020. [acesso em 2021 mar 18]. Disponível em: <https://coronavirus.saude.gov.br/sobre-a-doenca>.
15. Oliveira MJ. Dexamethasone and COVID-19: Strategies in Low – and Middle – Income Countries to Tackle Steroid -Related *Strongyloides* Hyperinfection. *Am J Trop Med Hyg*. 2021 mar;00(0):1-2.
16. Stauffer WM, Alpern JD, Walker PF. COVID-19 and Dexamethasone: A Potential Strategy to Avoid Steroid-Related *Strongyloides* Hyperinfection. *JAMA*. 2020 ago;324(7):623-4.
17. Marchese V, Crosato V, Gulletta M, Castelnuovo F, Cristini G, Matteelli A, et al. *Strongyloides* infection manifested during immunosuppressive therapy for SARS-CoV-2 pneumonia. *Infection*. 2020 set Cabral AC. Estudo da

- Estrongiloidíase Intestinal em Hospital Universitário no Rio de Janeiro. [Dissertação]. Rio de Janeiro: Fundação Oswaldo Cruz; 2015.
18. Formiga FR, Leblanc R, Rebouças JS, Farias LP, Oliveira RN, Pena L. Ivermectin: an award-winning drug with expected antiviral activity against COVID-19. *Journal of Controlled Release*. 2020.
 19. Tilli M, Olliaro P, Gobbi F, Bisoffi Z, Bartoloni A, Zammarchi L. Neglected tropical diseases in non-endemic countries in the era of COVID-19 pandemic: the greath forgotten. *Journal of Travel Medicine*. 2020 set;28(1):1-2.
 20. Wilton A, Nabarro LE, Godbole GS, Chiodini PL, Boyd A, Woods K. Risk of Strongyloides Hyperinfection Syndrome when prescribing dexamethasone in severe COVID-19. *Travel Med Infect Dis*. 2021 jan;40.
 21. Ministério da Saúde. Informe diário de evidências - Coronavírus. [internet]. Brasília; 2020. [acesso em 2021 mar 28]. Disponível em: <https://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2020/July/15/N69-InformeDiario-referente-13-07.pdf>.
 22. IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Conheça o Brasil – População: Quantidade de homens e mulheres. [internet]. Rio de Janeiro, 2021. [acesso em 2021 mar 28]. Disponível em: <https://educa.ibge.gov.br/jovens/conheca-o-brasil/populacao/18320-quantidade-de-homens-e-mulheres.html>.
 23. Cabral AC. Estudo da Estrongiloidíase Intestinal em Hospital Universitário no Rio de Janeiro. [Dissertação]. Rio de Janeiro: Fundação Oswaldo Cruz; 2015.
 24. Aarestrup FM. Imunopatologia da COVID-19 e suas complicações clínicas. *Arq Asma Alerg Imunol*. 2020 jun;4(2):172:80.

ANEXOS E APÊNDICES

ANEXO A - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

PROTOCOLO: A correlação entre *Strongyloides stercoralis* e Sars-CoV-2 em mulheres.

Investigador Principal: Marcelo Andreetta Corral

Vínculo Institucional: Universidade de Santo Amaro (UNISA)

Telefone para Contato com o investigador principal: 55 11 99963-9342

Estes esclarecimentos estão sendo apresentados para solicitar sua participação livre e voluntária no projeto “A correlação entre *Strongyloides stercoralis* e Sars-CoV-2 em mulheres”, do Curso de Medicina da Universidade de Santo Amaro - UNISA, que será realizado pelo pesquisador Marcelo Andreetta Corral, pela assistente Priscila Paruci e pela equipe de pesquisa formada pelas alunas Ana Clara Cassine de Souza Medeiros, Carolina Victoria Marcitelli Pereira e Giovanna Ribeiro Achur Mastandrea do Curso de Medicina.

Esse projeto é necessário para estabelecer uma relação entre as manifestações de estrogiloidíase e de COVID-19 em mulheres, sendo de grande relevância no contexto atual, uma vez que não há um tratamento com eficácia comprovada para a COVID-19, e as doses de corticoides normalmente utilizadas podem agravar as manifestações da estrogiloidíase em indivíduos contaminados com essa parasitose, que são, em sua maioria, do sexo feminino.

A estrogiloidíase é uma parasitose endêmica em países tropicais ou com saneamento básico precário, que infecta cerca de 30 a 100 milhões de pessoas em todo o mundo. A doença tem grande variedade de manifestações, que variam desde doença assintomática e crônica até hiperinfecção e estrogiloidíase disseminada. O presente trabalho propõe estabelecer uma relação entre as manifestações de estrogiloidíase e de COVID-19 em mulheres, sendo de grande relevância no contexto atual, uma vez que não há um tratamento com eficácia comprovada para a COVID-19, e as doses de corticoides normalmente utilizadas para o tratamento dessa doença podem agravar as manifestações da estrogiloidíase em indivíduos contaminados com essa parasitose. O objetivo principal da pesquisa é relacionar as complicações apresentadas em pacientes com estrogiloidíase ao tratamento da COVID-19 feito com corticoides. Além disso, objetivamos analisar a incidência de estrogiloidíase e de COVID-19 em mulheres, tal como a frequência da realização de exame de fezes nessas voluntárias.

Para a realização da pesquisa, primeiramente os voluntários serão chamados individualmente e pessoalmente pela equipe de pesquisa, que irá explicar a cada um deles os termos da pesquisa, explicitando o caráter voluntário do estudo e a não necessidade da resposta de todas as perguntas em caso de constrangimento. Após isso, será solicitada a participação dos voluntários. Os membros da equipe de pesquisa estarão vestindo jaleco, utilizando um dispositivo móvel (tablet, celular) e uma prancheta com o questionário. Os voluntários serão abordados sempre dentro do Hospital Escola Wladimir Arruda (HEWA) localizado no campus I da Universidade Santo Amaro, no setor de Ginecologia e Obstetrícia. Antes do início dos questionamentos, a equipe de pesquisa irá conversar com os voluntários novamente sobre a possibilidade de eles desistirem da pesquisa em qualquer momento, ou em se negarem a responder algumas das questões do questionário se não se sentirem confortáveis.

Rubrica do Participante: _____ Rubrica do pesquisador: _____ Pág. 1 de 3

Assim, iniciará a leitura desse Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) do início ao fim, com possibilidade de pausas para esclarecer dúvidas. Depois de lido, o voluntário deverá assinar o termo. Dessa forma, o Questionário sobre Infecção por COVID-19 e strongiloidíase será iniciado por uma das três pessoas da equipe, sempre com a presença do pesquisador responsável. Ao final das respostas, os questionários serão guardados em uma pasta, a fim de garantir segurança quanto ao sigilo das informações do voluntário. Em seguida, será realizada a análise dos resultados. As informações coletadas por meio do questionário serão analisadas estatisticamente através de gráficos e/ou tabelas visando confirmar ou descartar a hipótese proposta, e, por fim, realizaremos a divulgação dos resultados através de artigos e pôsteres científicos.

Entre os desconfortos e riscos da pesquisa, os voluntários poderão apresentar desconforto quando perguntados sobre a ocorrência de infecção por Sars-CoV-2 (COVID-19) e/ou strongiloidíase, tal como risco de constrangimento com algumas das perguntas presentes no Questionário proposto. Já entre os benefícios, encontram-se a obtenção de maiores informações sobre o assunto do estudo, que pode trazer benefícios a toda a população e ajudar na disseminação de conhecimento à essa área, considerando que é um assunto recente ainda com poucas informações comprovadas cientificamente, constituindo um benefício tanto para as gerações atuais quanto às gerações futuras.

É garantido o acesso, em qualquer etapa do estudo, aos profissionais responsáveis pela pesquisa para esclarecimento de eventuais dúvidas ou informações sobre os resultados parciais das pesquisas, quando em estudos abertos, ou de resultados que sejam do conhecimento dos pesquisadores.

O pesquisador responsável é o Prof. Marcelo Andretta Corral (Telefone: 99963-9342; e-mail: mcorral@prof.unisa.br), que pode ser encontrado no endereço Rua Prof. Enéas de Siqueira Neto, 340, Jardim das Imbuías, SP – UNISA Campus I Telefone: (11) 2141-8687. Se você tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP-UNISA) – Rua Prof. Enéas de Siqueira Neto, 340, Jardim das Imbuías, SP – Tel.: (11) 2141-8687.

É garantida sua liberdade de retirada de consentimento a qualquer momento e deixar de participar do estudo, sem qualquer prejuízo à continuidade de qualquer benefício que você tenha obtido junto à Instituição, antes, durante ou após o período deste estudo. As informações obtidas pelos pesquisadores serão analisadas em conjunto com as de outros participantes, não sendo divulgada a identificação de nenhum deles.

Não há despesas pessoais para o participante em qualquer fase do estudo, incluindo exames e consultas. Também não há compensação financeira relacionada à sua participação. Se existir qualquer despesa adicional, ela será absorvida pelo orçamento da pesquisa.

Em caso de dano pessoal, diretamente relacionado aos procedimentos deste estudo (nexo causal comprovado), a qualquer tempo, fica assegurado ao participante o respeito a seus direitos legais, bem como procurar obter indenizações por danos eventuais.

Uma via deste Termo de Consentimento ficará em seu poder.

Rubrica do Participante: _____ Rubrica do pesquisador: _____ Pág. 2 de 3

São Paulo, ____/____/____

(pesquisadores)

Se você concordar em participar desta pesquisa assine no espaço determinado abaixo e coloque seu nome e o nº de seu documento de identificação.

Nome: (do participante):

Doc. Identificação:

Ass:

Declaro que obtive de forma apropriada e voluntária o Consentimento Livre e Esclarecido deste participante para a participação neste estudo, conforme preconiza a Resolução CNS 466, de 12 de dezembro de 2012, IV.3 a 6.

Assinatura do pesquisador responsável pelo estudo

Data / /

Rubrica do Participante: _____ Rubrica do pesquisador: _____ Pág. 3 de 3

ANEXO B - QUESTIONÁRIO

Pesquisa: COVID-19 e Estrongiloidíase

Idade: _____

Data de nascimento: _____

Peso: _____

Altura: _____

1. Você já teve COVID-19?

- a) Sim
- b) Não

2. Se sim, a COVID-19 você procurou auxílio médico para o diagnóstico?

- a) Sim
- b) Não

3. Qual foi o método diagnóstico utilizado?

- a) RT-PCR em swab combinado de nasofaringe
- b) RT-LAMP
- c) RT-PCR em saliva
- d) Teste rápido
- e) Sorologia

Outro: _____

4. Se você já teve COVID-19, você manifestou sintomas da doença?

- a) Sim
- b) Não

5. Quais foram os sintomas manifestados?

- () Febre
- () Anosmia (perda de olfato)
- () Ageusia (perda do padalar)

- () Tosse
- () Falta de ar

Outros: _____

6. Por quanto tempo os sintomas foram manifestados? _____

7. Você já foi vacinado contra a COVID-19?

- a) Sim
- b) Não

8. Se sim, qual a marca da vacina?

- a) Coronavac (Butantan)
- b) AstraZeneca (Fiocruz)
- c) Pfizer (BioNTech)

9. Você apresentou algum evento adverso decorrente da vacina?

- a) Sim
- b) Não

10. Se sim, qual(is)? _____

11. Você já fez uso do medicamento Ivermectina?

- a) Sim
- b) Não

12. Você já realizou exame de fezes?

- a) Sim
- b) Não

13. Se sim, qual a frequência em que você realiza esse exame?

- a) Mensalmente
- b) De seis em seis meses
- c) Anualmente
- d) Apenas quando solicitado pelos médicos

Outra frequência: _____

14. Você já ouviu falar sobre a Estrongiloidíase?

- a) Sim
- b) Não

15. Você possui alguma doença crônica e/ou de base?

- a) Sim
- b) Não


16. Se sim, qual(is)?

17. Você faz uso crônico de alguma medicação? Se sim, qual(is), em qual(is) dose(s), e há quanto tempo?

APÊNDICE 1

Trabalho aprovado para apresentação no Congresso Brasileiro de Parasitologia

608368 7 Autores Resumo Helminologia - Diagnóstico IgG anti-Strongyloides detection in women with a COVID-19 history [Aprovado](#) [Carta de Aceite](#) [Visualizar](#) [Excluir](#)



PARASITO 2023
100º CONGRESSO DA ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PARASITOLOGIA

RESULTADO DA AVALIAÇÃO

O trabalho intitulado "IgG anti-Strongyloides detection in women with a COVID-19 history" foi **APROVADO** no evento Parasito 2023

- **Título:** IgG anti-Strongyloides detection in women with a COVID-19 history
- **Número:** 608368
- **Data de Submissão:** 19/01/2023
- **Modalidade:** Resumo
- **Área Temática:** Helminologia - Diagnóstico
- **Autores:** Giovanna Ribeiro Achur Mastandrea, Ana Clara Cassine De Souza Medeiros, Carolina Victoria Marcitelli Pereira, Marina Tiemi Shio, Ronaldo Cesar Borges Gryscek, Fabiana Martins de Paula, Marcelo Andreetta corral

APÊNDICE 2

Pôster apresentado no Congresso Brasileiro de Parasitologia

IgG anti-*Strongyloides* detection in women with a COVID-19 history

Giovanna Ribeiro Achur Mastandrea¹, Ana Clara Cassine de Souza Medeiros¹, Carolina Victoria Marcitelli Pereira¹, Marina Tiemi Shio², Ronaldo Cesar Borges Grysczek³, Fabiana Martins de Paula³, Marcelo Andreetta Corral^{1,3}

1. Medicine Graduation Course, Santo Amaro University, São Paulo, Brazil.
2. Post-graduation Program in Health Sciences, Santo Amaro University, São Paulo, Brazil.
3. Laboratório de Investigação Médica (LIM-06) do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, São Paulo, Brazil.

INTRODUCTION

Strongyloidiasis is a parasitic infection caused by the intestinal nematode *Strongyloides stercoralis*. This parasite can develop a process of self-infection, which can be favored by the prolonged use of corticoids (analogous to the parasite's molting hormone). The exacerbated or prolonged use of these drugs may further the appearance of severe cases such as Hyperinfection Syndrome and/or disseminated disease, where approximately 50% of patients may lead up to death. Knowing that patients diagnosed with SARS-CoV-2 infection underwent corticosteroid therapy, the present study aimed to carry out the serological diagnosis of *S. stercoralis* infection in women without or with a history of COVID-19.

METHODS

Serum samples were divided into two groups contemplating SARS-CoV-2 infection (Group I without history and Group II with history). An ELISA was performed using the heterologous membrane antigen of *Strongyloides venezuelensis* for the detection of anti-*Strongyloides* IgG antibodies.

Patients	ELISA
	<ul style="list-style-type: none">-10 mg heterologous membrane antigen of <i>Strongyloides venezuelensis</i>.-Blocked with PBS Tween milk 5%;-Serum diluted 1:200;-Secondary antibody diluted 1:30,000;-Revelation with TMB.

RESULTS AND DISCUSSION

Group I (n=35, mean age 25.6 years) had 5.71% (2/35) of positivity for strongyloidiasis, while group II (n=26, mean age 23.6 years) presented 15.38 % (4/26) (Figure 1). None of the patients with a positive ELISA report "prophylactic treatment" with ivermectin for COVID-19. In group II, only one patient with a positive ELISA reported having used corticosteroids for the treatment of SARS-CoV-2 infection.

Figure 1 Optical density (OD) of patients' serum samples without (Group I) ou with (Group II) SARS-CoV- 2 Infection by ELISA test using heterologous membrane antigen from *Strongyloides venezuelensis*. Patients with OD upper the line was considered positive.

RESULTS AND DISCUSSION

Regarding the completion of the stool test, only one patient (group I) with positive serology claims to perform it periodically, all the others state that they do not perform it. It is noted that there were more cases of positive serology for strongyloidiasis in the group with a history of COVID-19. The present results reinforce the need to carry out serological screening for *S. stercoralis* infection in individuals with a history of COVID-19.