

ANCYLOSTOMA DUODENALE E NECATOR AMERICANUS:
DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL DAS LARVAS INFESTANTES
E PREVALÊNCIA EM AMOSTRAS FECAIS PROVENIENTES
DA GRANDE SÃO PAULO *

Lúcia de Lacerda CORRÊA **

Maria Ivani P. Gonçalves da SILVA **

Rita Maria da SILVA **

Rosa Maria Donini Souza DIAS **

RIALA6/485

CORRÊA, L. L.; SILVA, M. I. P. G.; SILVA, R. M. & DIAS, R. M. D. S. — *Ancylostoma duodenale* e *Necator americanus*: diagnóstico diferencial das larvas infestantes e prevalência em amostras fecais provenientes da Grande São Paulo. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 39(2):145-153, 1979.

RESUMO: A falta de quaisquer dados sobre a prevalência do *Ancylostoma duodenale* e do *Necator americanus* entre habitantes da Grande São Paulo foi que motivou a pesquisa que abrangeu 300 amostras fecais. Foi utilizado o método de cultura de larvas de Harada e Mori (1951) e o reconhecimento da espécie foi efetuado através do estudo das larvas filarióides do terceiro estágio, utilizando o critério diagnóstico estabelecido por G. Matsusaki. Para rigoroso aferimento dos parâmetros diagnósticos utilizados, foram recuperados, após medicação adequada, exemplares adultos de *Ancylostoma duodenale* e de *Necator americanus* de alguns dos pacientes estudados. Dentre as 300 amostras fecais cultivadas, 60,3% continha larvas de *Necator americanus*, 14,7% mostrava larvas de *Ancylostoma duodenale* e 25,0% correspondia a portadores de dupla infestação.

DESCRITORES: *Ancylostoma duodenale*, *Necator americanus*, diagnóstico diferencial da larva infestante; *Ancylostoma duodenale*, *Necator americanus*, prevalência em habitantes da Grande São Paulo, Brasil.

INTRODUÇÃO

A ancilostomose, em nosso país, continua a se constituir em grave problema de saúde pública não só pela ação lesiva, debilitante, que condiciona no homem parasitado, como também pelo prejuízo que acarreta ao desenvolvimento sócio-econômico através da somatória das alterações da saúde que causa aos membros da população infestada. Acresce a superposição da parasitose à desnutrição da população atingida, condicionados os dois fatores pelas condições sub-humanas vigentes nas áreas de maior endemicidade.

O *Necator americanus* teria sido trazido para o Brasil pelos milhões de escravos africanos, para aqui exportados desde o século 16, enquanto o *Ancylostoma duodenale* o teria sido, inicialmente, pelos colonizadores portugueses e, posteriormente, com a abolição da escravatura e desenvolvimento da lavoura cafeeira, pelos novos imigrantes europeus e japoneses. Com a intensificação das migrações e das contínuas migrações internas, certamente houve mudança desse panorama.

Exaustiva revisão da bibliografia nacional revela que as pesquisas efetuadas, visando averiguar a prevalência de cada uma das

* Realizado na Seção de Enteroparasitoses do Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, SP.

** Do Instituto Adolfo Lutz.

espécies referidas, baseavam-se na identificação do verme adulto, expulso após administração da terapêutica adequada, tal como o fizeram SMILLIE & PESSÔA¹⁰, PESSÔA⁸ e CARVALHO⁹.

Em apenas dois trabalhos, um em Recife, Pernambuco¹, e outro em Londrina, Paraná⁶, o diagnóstico específico foi feito através do cultivo dos ovos de ancilostomídeos e consequente identificação das larvas em seu estágio infestante. Esta técnica permite o diagnóstico do parasita responsável antes da planificação terapêutica e foi esta faceta que se constituiu em uma das motivações de nossa pesquisa, pois sabemos que o *Ancylostoma duodenale* é mais sensível aos sais de befênio, enquanto o *Necator americanus* o é ao tetracloroetileno. Com o aparecimento de drogas novas, essa maior ou menor suscetibilidade dos dois parasitas deveria ser objeto de estudos adequados, eis que as pesquisas efetuadas em nosso meio com as referidas drogas, objeto de publicações ou teses, não têm permitido conclusões definitivas sobre sua eficácia terapêutica na ancilostomose, exatamente pelo desconhecimento em se saber se os pacientes tratados estavam parasitados pelo *Necator americanus* ou pelo *Ancylostoma duodenale*. Sabemos ademais que cada exemplar adulto de *A. duodenale* suga diariamente de 0,15 a 0,23 ml de sangue de seu hospedeiro, enquanto o *N. americanus* suga cerca de 0,03 ml, que as fêmeas do *A. duodenale* ovipõem duas ou três vezes mais que as de *N. americanus*, e que as larvas de *A. duodenale* resistem bem mais que as de *N. americanus* às condições adversas do meio exterior. Sabemos ainda que as larvas de *Necator*, adquiridas quase exclusivamente por via percutânea, crescem e se desenvolvem nos pulmões do hospedeiro, ao passo que as larvas do *Ancylostoma*, adquiridas por via cutânea ou bucal, passam pelos pulmões sem se desenvolverem, o que vem a acontecer depois, já na mucosa intestinal.

Em face destas particularidades biológicas especiais, AZEVEDO² considerava justificável "a separação das doenças a que, respectivamente, dão lugar".

Um completo quadro das diferentes características da história natural e dos atributos ecológicos do *Ancylostoma duodenale* e do *Necator americanus* foi publicado recentemente por HOAGLAND & SCHAD⁵, em 1978.

MATERIAL E MÉTODOS

Entre as amostras fecais recebidas de diferentes localidades da Grande São Paulo, selecionamos 300, com ovos de ancilostomídeos (fig. 1). Para cultivo dos ovos, escolhemos, devido às suas qualidades técnicas, o método de HARADA & MORI⁴ e seguimos a escala termométrica de STILES¹¹.

Método de Harada & Mori

- a) Usar 0,5 g de fezes;
- b) espalhar essa quantidade nos 4/5 do comprimento de uma fita de papel-filtro de cerca de 15 x 150 mm que é introduzida em um tubo de ensaio de 18 x 180 mm contendo de 3 a 6 ml de água destilada ou fervida, de maneira que a água não toque nas fezes;
- c) tampar com papel celofane preso por meio de um anel de borracha, ou com papel de alumínio, conservando-se o tubo em posição vertical durante 7 a 14 dias à temperatura ambiente ou na estufa, à temperatura de 24 a 28°C (fig. 2);
- d) examinar a água do fundo do tubo para observar o crescimento de larvas;
- e) em caso positivo, retirar o papel obturador e em seguida o papel-filtro;
- f) matar as larvas, colocando o tubo em banho-maria a 50°C, durante cerca de 15 minutos;
- g) as larvas podem ser conservadas para posterior identificação, ou colocadas em lâminas, coradas e imediatamente identificadas (fig. 3).

Tomamos, no entanto, o cuidado de utilizar água proveniente de filtro de carvão, dada a quantidade de cloro existente na água de torneira, o qual tem efeito inibidor sobre o crescimento das larvas.

De cada material foram preparados de 3 a 5 tubos de cultura, colocados na estufa a 27°C. Seguimos a evolução das culturas, diariamente, constatando-se na maioria dos casos, o aparecimento de larvas, desde o segundo dia. Foram colhidas amostras e observadas as diferentes fases de evolução das larvas em seus três estágios, os quais abrangem sete estádios, com duas mudas, até chegarem à larva infestante final.

De acordo com MATSUSAKI⁷, a caracterização dos estágios é a seguinte:

- 1.º estágio: estádios transparente, granuloso e embainhado, quando se processa a 1.ª muda, passando ao
- 2.º estágio: estádios com cavidade bucal aberta, parcialmente fechada e completamente fechada, quando então se processa a 2.ª muda, passando ao
- 3.º estágio: quando são expelidas as velhas peles da cavidade bucal e do reto, formando-se finalmente a larva filarióide, infestante.

Retirado o papel filtro dos tubos (7 a 10 dias, 3.º estágio) seu conteúdo foi conservado pelo T.A.F. (trietanolamina, formol a 40%, água destilada)⁸, escolhido como melhor conservador depois de comparado com outros. Para identificação, as larvas foram colocadas em lâminas e coradas com solução de lugol, solução de sulfato de azul do Nilo ou com

uma mistura de ambas as soluções. Seguimos a chave sistemática utilizada por VIEIRA & ROMBERT¹⁹ e, com mais detalhes, os parâmetros diagnósticos de MATSUSAKI⁷, cujos trabalhos foram os mais completos por nós encontrados sobre o diagnóstico específico das larvas.

Nem sempre é possível encontrar larvas que apresentem todas as características diagnósticas, sendo mais habitual que apresentem determinados detalhes com maior evidência. A posição em que as larvas são observadas é muito importante, sendo necessário fazê-las rolar para permitir exame minucioso.

A tabela 1 apresenta os detalhes morfológicos mais significativos, considerados por nós como fundamentais para o diagnóstico diferencial (fig. 4).

Nos livros de texto e numa série de trabalhos sobre o assunto² é usual encontrarmos a frase dizendo 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 de ancilostomídeo é prevalente.

Efetivamente, a análise da tabela 2, que exhibe a distribuição por espécies nas amostras oriundas da Grande São Paulo, confirma a veracidade desta frase, pois predomina o *Necator* com 60,3%, o *Ancylostoma* comparece com 14,7%, e os 25% restantes são representados por infestações mistas.

A Grande São Paulo abriga brasileiros provenientes da maioria dos outros estados, assim como descendentes de europeus e orientais, o que justifica os resultados obtidos na amostragem examinada. Quanto à distribuição por sexo exibida na tabela 3, predomina o sexo feminino na aquisição de infestações por *Necator* ou mistas, e o masculino predomina na aquisição de infestações por *Ancylostoma*. As faixas etárias de 11 a 20 e de 21 a 30 anos são, como de hábito, as que ostentam maiores índices de infestação (tab. 4).

TABELA 1

Elementos básicos para o diagnóstico diferencial das larvas infestantes

Características da larva	<i>Ancylostoma duodenale</i>	<i>Necator americanus</i>
Comprimento médio	680 micros	630 micros
Largura média	25 micros	32 micros
Extremidade anterior ou cefálica	achatada e larga	arredondada como se fosse a extremidade de um ovo
Cavidade bucal	visível, larga	mais difícil de se ver, estreita
Esôfago	comprido, estreito	curto, largo
Transição esôfago-intestino	mais estreita que o bulbo esofágico, anel de fibras musculares estreito e alto	mais larga que o bulbo esofágico, anel de fibras musculares largo e raso
Extremidade anterior do intestino	estreita	da mesma largura do bulbo esofágico
Extremidade posterior do intestino	formato de funil	formato de U
Posicionamento do primórdio genital	na altura da metade posterior do intestino	na altura da metade anterior do intestino
Extremidade posterior ou cauda	afilada e longa	menos afilada e curta
Espaço entre a extremidade posterior do corpo e a extremidade posterior da bainha	curto	comprido
Estrias transversais da bainha	pouco nítidas e com intervalos estreitos	mais nítidas e com intervalos largos

TABELA 2

Distribuição das espécies em 300 amostras fecais oriundas da Grande São Paulo

Espécies	N.º de casos	Porcentagem
<i>Necator americanus</i>	181	60,3
<i>Ancylostoma duodenale</i>	44	14,7
<i>N. americanus</i> e <i>A. duodenale</i> (infecção mista)	75	25,0
Total	300	100,0

TABELA 3

Distribuição das espécies por sexo

Sexo	<i>A. duodenale</i>		<i>N. americanus</i>		<i>A. duodenale</i> e <i>N. americanus</i> (infecção mista)	
	N.º	%	N.º	%	N.º	%
Feminino	16	36,4	103	57,0	40	53,4
Masculino	28	63,6	78	43,0	35	46,6
Total	44	100,0	181	100,0	75	100,0

TABELA 4

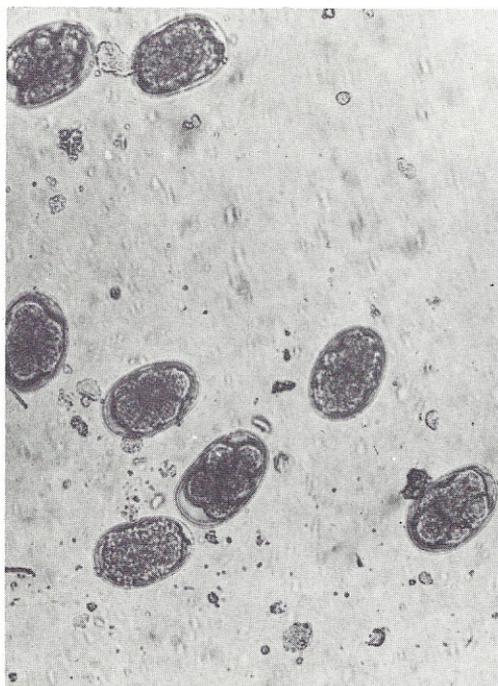
Distribuição das espécies por faixa etária

Faixa etária anos	<i>A. duodenale</i>		<i>N. americanus</i>		<i>A. duodenale</i> e <i>N. americanus</i> (infecção mista)	
	N.º	%	N.º	%	N.º	%
Até 10	3	6,82	27	14,92	4	5,33
11 — 20	9	20,45	48	26,52	23	30,67
21 — 30	23	52,27	68	37,57	37	49,33
31 — 40	6	13,64	25	13,81	6	8,00
41 — 50	2	4,55	8	4,42	2	2,67
Mais de 51	1	2,27	5	2,76	3	4,00

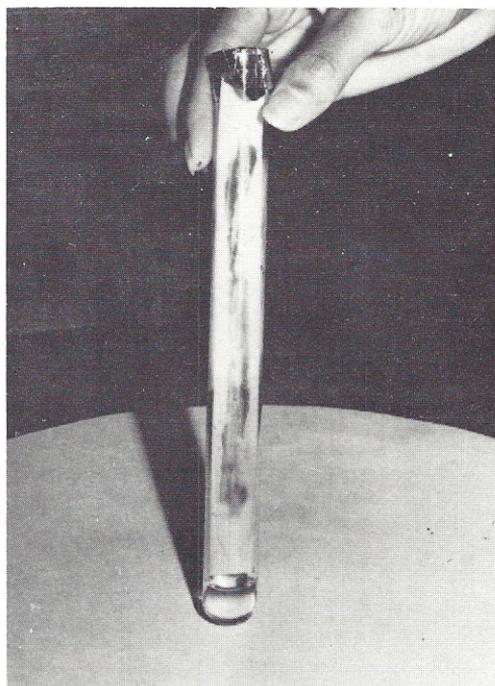
Para comprovação da exatidão dos elementos de diagnóstico utilizados para a diferenciação das larvas, administramos medicação apropriada a vários pacientes portadores de infestação isolada ou dupla, diagnosticadas pelo estudo das larvas. Das fezes colhidas após medicação, foram extraídos os vermes adultos que foram corados, pelo carmin clorídrico, para identificação (fig. 5 e 6). Em todos os casos, a confrontação dos resultados

demonstrou a exatidão do critério diagnóstico utilizado (fig. 7 a 13).

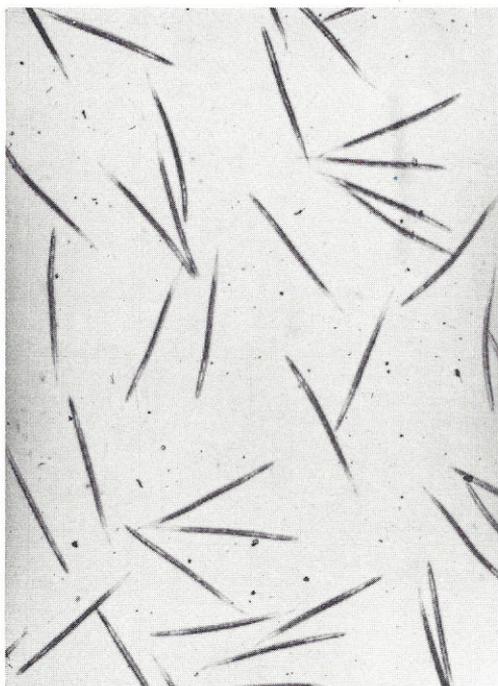
Com base na tecnologia empregada neste trabalho, o estudo da real prevalência da ancilostomose e da necatorose em populações de diferentes regiões do país, em particular entre coletividades indígenas, apresenta relevante interesse em face das razões apontadas na primeira parte deste trabalho.



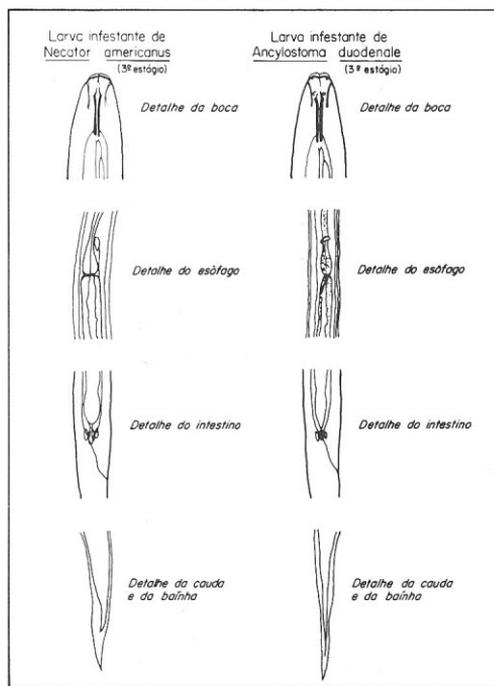
1



2



3



4

Fig. 1 — Ovos de *Ancylostomidae*.

Fig. 2 — Tubo de cultura: método de Harada & Mori.

Fig. 3 — Cultura de larvas.

Fig. 4 — Diagnóstico diferencial das espécies: elementos básicos.

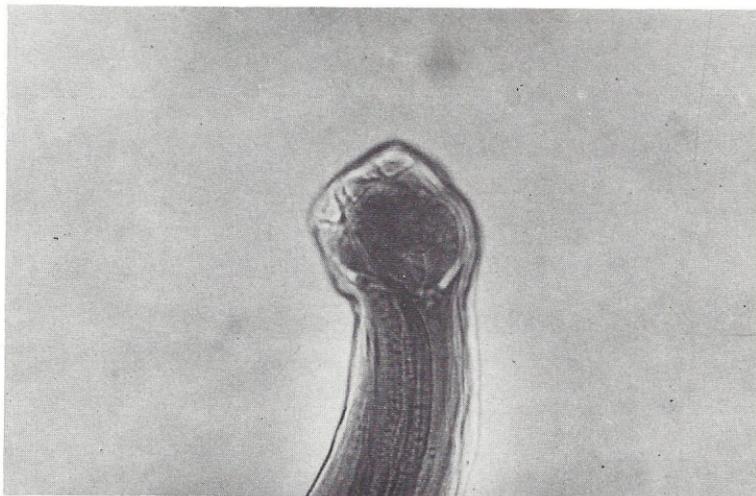


Fig. 5 — *Ancylostoma duodenale* adulto, detalhe da cabeça.



Fig. 6 — *Necator americanus* adulto, detalhe da cabeça.

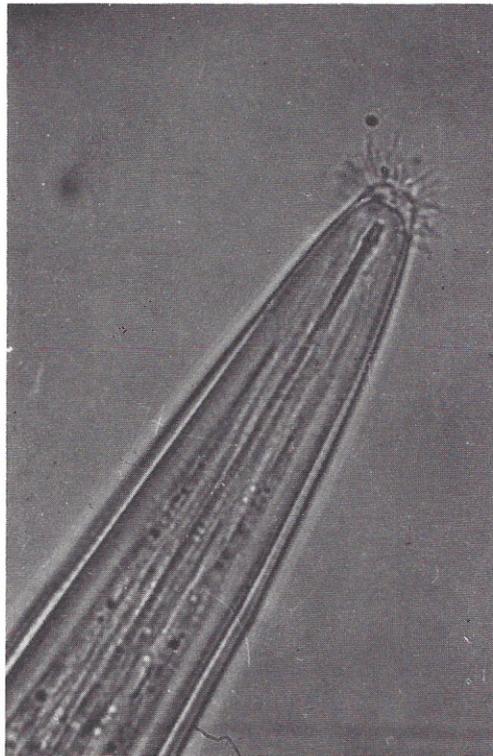
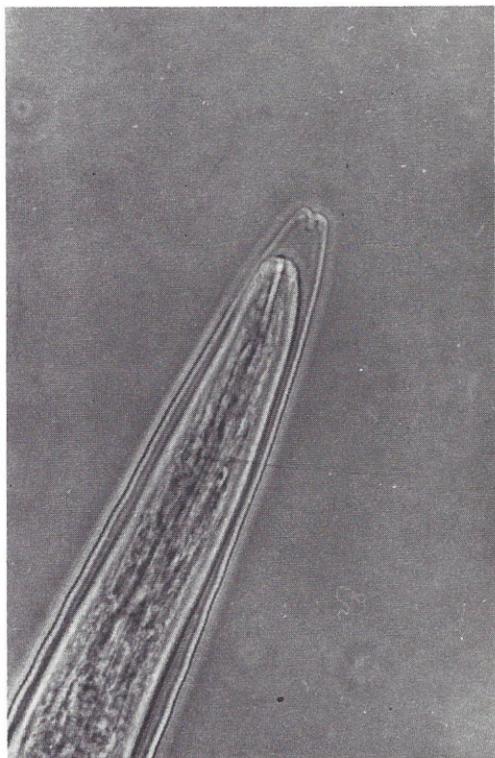
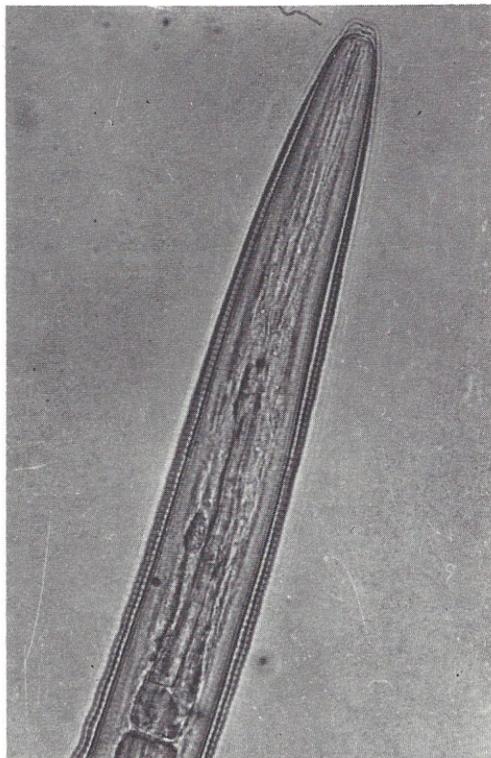


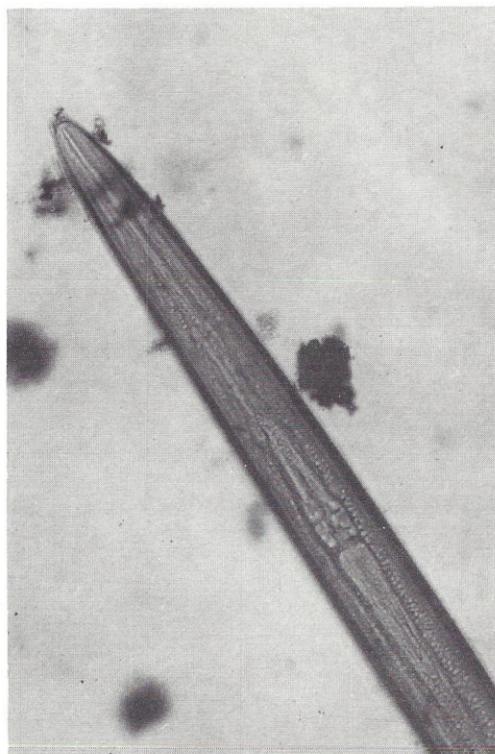
Fig. 7 — Larva de *Ancylostoma duodenale* (3.º estágio), detalhe da boca.



8



9

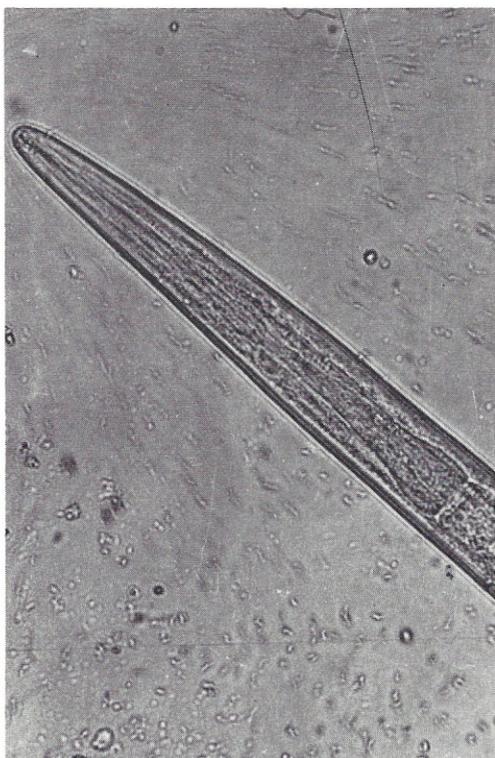


10

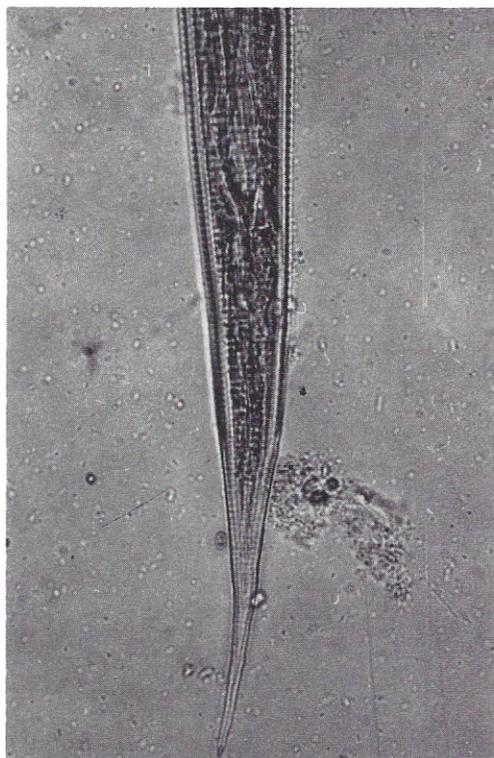
Fig. 8 — Larva de *Necator americanus* (3.º estágio), detalhe da boca.

Fig. 9 — Larva de *Ancylostoma duodenale* (3.º estágio), detalhe do esôfago.

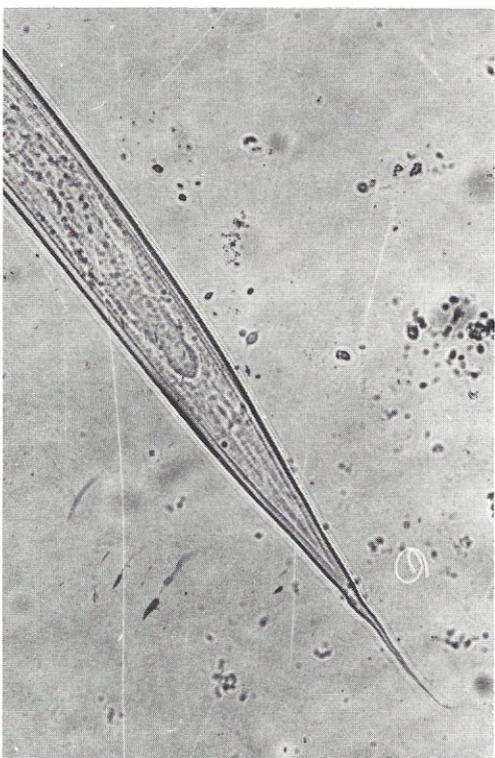
Fig. 10 — Larva do *Ancylostoma duodenale* (3.º estágio), detalhe do esôfago.



11



12



13

Fig. 11 — Larva de *Necator americanus* (3.º estágio), detalhe do esôfago.

Fig. 12 — Larva do *Ancylostoma duodenale* (3.º estágio), detalhe do intestino e cauda.

Fig. 13 — Larva do *Necator americanus* (3.º estágio), detalhe do intestino e cauda.

CORRÊA, L. L.; SILVA, M. I. P. G.; SILVA, R. M. & DIAS, R. M. D. S. — Differential diagnosis and prevalence of infesting larvae of *Ancylostoma duodenale* and *Necator americanus* in fecal specimens obtained in the Greater São Paulo, Brazil. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 39(2):137-145, 1979.

SUMMARY: Harada & Mori's method (1951) for cultivation of larvae of *Ancylostoma duodenale* and *Necator americanus* was employed in a search for their prevalence in feces from inhabitants of the Greater São Paulo. Identification was made through Matsusaki's criterium after examination of third-stage filarioid larvae. As a check of the diagnostic procedure employed, adult specimens were obtained after adequate therapy of several patients. Of 300 fecal specimens, 60,3% contained *N. americanus*, 14,7% included *A. duodenale* and 25,0% showed double infestation.

DESCRIPTORS: *Ancylostoma duodenale*, *Necator americanus*, differential diagnosis of infesting larvae; *Ancylostoma duodenale*, *Necator americanus*, prevalence in inhabitants from the Greater São Paulo, Brazil.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ASAMI, K.; ENOMOTO, Y. & MIURA, S. — Infestações por ancilostomídeos e *Strongyloides stercoralis* em Pernambuco. Inquérito baseado na identificação das larvas. *Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo*, 12: 31-5, 1970.
2. AZEVEDO, J. F. apud VIEIRA, R. A. & ROMBERT, P. C. — Estudos sobre ancilostomídeos. *Anais Esc. nac. Saúde Pública Med. trop.*, 2:129-162, 1968.
3. CARVALHO, A. A. — *Anemia ancilostomótica na criança. Aspectos de sua etiopatogenia.* São Paulo, 1956. [Tese — Fac. Méd. Univ. São Paulo]
4. HARADA, Y. & MORI, O. — A simple culture method of *Ancylostoma duodenale*. *Med. Biol.*, 20(2):65-7, 1951.
5. HOAGLAND, K. E. & SCHAD, G. A. — *Necator americanus* and *Ancylostoma duodenale*: life history parameters and epidemiological implications of two sympatric hookworms of humans. *Expl. Parasit.*, 44:36-49, 1978.
6. MARZOCHI, M. C. A. & CHIEFFI, P. P. — Estudo dos fatores envolvidos na disseminação dos enteroparasitas. IV — Distribuição do *Necator americanus* e do *Ancylostoma duodenale* na população periurbana e rural do Município de Londrina, Paraná, Brasil. *Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo*, 20(1):36-40, 1978.
7. MATSUSAKI, G. — Studies on the life history of the hookworms — Part V. The morfological studies on the development of the 2nd. and 3rd. stage larvae of *Ancylostoma duodenale* and *Necator americanus*. *Yokohama med. Bull.*, 13(5):321-46, 1962.
8. PESSÔA, S. B. — Pesquisas sobre a ancylostomose em São Paulo. VII. Sobre a eliminação de *Necator americanus* e de *Ascaris lumbricoides* após tratamento antelmínthico. *Folha med.*, 19:13-4, 1938.
9. SANTIAGO, M. A. M. — *Identificação das larvas dos nematódeos parasitas dos ruminantes.* São Paulo, Johnson & Johnson, 1972. p. 6.
10. SMILLIE, W. G. & PESSÔA, S. B. — Treatment of hookworm disease with a mixture of carbon tetrachlorid and ascaridol. *Am. J. trop. Med.*, 5:71-86, 1925.
11. STILES, C. W. — Condensed hookworm thermometer. *J. Parasit.*, 7(4):192, 1921.
12. VIEIRA, R. A. & ROMBERT, P. C. — Estudos sobre ancilostomídeos. *An. Esc. nac. Saúde Pública Med. trop.*, 2:129-62, 1968.

Recebido para publicação em 23 de março de 1979.

