

PREVALÊNCIA DE *Giardia duodenalis* EM ESCOLARES DE UM CENTRO MUNICIPAL DE EDUCAÇÃO INFANTIL DA CIDADE DE CAMPO MOURÃO, PARANÁ-BRASIL.

Liara Izabela Lopes Romera (PIBIC/CNPq/FA/UEM), Renata Coltro Bezagio (Doutoranda/PCS/UEM), Andressa de Oliveira Andrade (Faculdade Integrado), Amanda Regina Nichi de Sá (Docente/Faculdade Integrado), Caroline Rodrigues de Almeida (Mestranda/PCS/UEM), Mônica Lúcia Gomes (Orientadora), e-mail: monicaluciagomes@gmail.com

Universidade Estadual de Maringá / Centro de Ciências Básicas da Saúde/Maringá, PR.

Ciências Biológicas / Parasitologia / Protozoologia Parasitária Humana

Palavras-chave: *Giardia duodenalis*, Crianças, Prevalência.

Resumo:

O objetivo do presente trabalho foi determinar a prevalência de *Giardia duodenalis* em escolares de um Centro Municipal de Educação Infantil da cidade de Campo Mourão, Estado do Paraná, comparando os resultados obtidos pelos métodos parasitológico e molecular. Amostras de fezes de 40 escolares foram analisadas pelos métodos parasitológicos (Lutz e Ritchie) e molecular (Reação em Cadeia da Polimerase - PCR) do gene da Glutamato Desidrogenase (GDH). Esse projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética da Faculdade Integrado-Campo Mourão. Das 40 amostras avaliadas, oito (20%) estavam positivas para alguma espécie de enteroparasito, com predominância nas crianças com idade entre 0 e 3 anos. Das 8 crianças que apresentaram resultado coproparasitológico positivo, 7,5% (3/40) estavam infectadas pelo protozoário *G. duodenalis* (uma de 2 anos e duas de 3 anos). O método molecular confirmou os resultados dos métodos parasitológicos. Conclui-se que pela amostra analisada a prevalência de *G. duodenalis* nesse Centro Educacional é baixa. Devido a facilidade de transmissão, principalmente entre crianças, medidas higiênico-sanitárias devem ser implementadas a fim de evitar disseminação ou re-infecção. Conclui-se ainda que houve 100% de concordância dos resultados entre os diferentes métodos de diagnóstico utilizados, indicando que ambos são eficientes na pesquisa de *G. duodenalis*.

Introdução

As enteroparasitoses ainda constituem um problema de Saúde Pública no Brasil, apresentando-se de forma endêmica em diversas áreas do país. Devido aos hábitos higiênicos mais precários ou a ausência de imunidade a

re-infecções, o parasitismo intestinal é mais frequente em crianças, podendo comprometer o crescimento e desenvolvimento intelectual (FERREIRA et al., 2000).

Dentre os parasitos intestinais, estudos revelam que nas faixas etárias mais baixas há predomínio de infecções por protozoários, sendo o mais prevalente *Giardia duodenalis* (FERREIRA et al., 2000, COLLI et al., 2015). A contaminação do homem por esse protozoário geralmente ocorre pela ingestão acidental de cistos presentes na água, alimentos e mãos. Esse parasito apresenta duas formas evolutivas: o cisto que é infectante e resistente ao meio ambiente e o trofozoíto que coloniza o epitélio intestinal causando a doença (GEURDEN et al., 2010).

Na literatura alguns relatos de parasitismo intestinal em crianças que frequentam creches, destacam a importância de se estudar este tipo de instituição, bem como o desenvolvimento de atividades que reduzam a incidência destes agentes (GONÇALVES et al., 2011). Dessa forma, o levantamento coproparasitológico constitui uma ferramenta para o fornecimento de informações epidemiológicas locais que servem como guia para condução e tratamento, possibilitando corrigir deficiências ou desenvolver programas de profilaxia na comunidade.

Para a detecção deste parasito, além das técnicas coproparasitológicas como o método de Ritchie (OLIVEIRA-ROCHA e MELO, 2011) também são utilizadas técnicas de biologia molecular. Os métodos moleculares, baseados na reação em cadeia da polimerase (PCR), permitem maior precisão na obtenção de dados de prevalência quando comparados com os métodos convencionais (COLLI et al., 2015).

O objetivo deste trabalho foi determinar a prevalência de *G. duodenalis* nas fezes de escolares de um Centro Municipal de Educação Infantil da cidade de Campo Mourão, Estado do Paraná, comparando os resultados obtidos pelos métodos parasitológicos e molecular (PCR).

Materiais e métodos

1. *Área de estudo:* O estudo foi realizado no município de Campo Mourão que possui grau de urbanização de 94,7% e população censitária em 2015 de 92.930 habitantes, tendo aproximadamente 1.954 crianças matriculadas em creches.

2. *População de estudo:* Escolares matriculados em um Centro Municipal de Educação Infantil de Campo Mourão com idade de zero a cinco anos. Os pais ou responsáveis pelas crianças assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido.

3. *Coleta das amostras:* As fezes foram coletadas em frascos de polipropileno com tampa de rosca, limpos e etiquetados. As amostras foram encaminhadas ao Laboratório de Parasitologia Ambiental e de Alimentos da Universidade Estadual de Maringá (LPAA/UEM) para análise.

4. *Detecção e isolamento de cistos de Giardia duodenalis*: As amostras de fezes foram processadas pelo método de Lutz e Ritchie (OLIVEIRA-ROCHA e MELLO, 2011) com modificações: substituindo o formol pela água destilada.

No sedimento resultante da técnica de Ritchie acrescentou-se 3 gotas de água destilada. O correspondente a uma gota do sedimento ressuspensionado foi utilizada para leitura em microscopia ótica (10x e 40x) e o restante foi utilizado na extração do DNA.

5. *Extração de DNA*: Foi realizada utilizando o Kit comercial “PureLink PCR Purification[®]”, conforme as recomendações do fabricante. Foi extraído o DNA de todas as amostras positivas para *G. duodenalis* e de igual número de amostras negativas pela microscopia, de acordo com COLLI et al. (2015).

6. *Reação em cadeia da polimerase (PCR)*: O fragmento de aproximadamente 432pb do gene da Glutamato Desidrogenase (GDH) foi amplificado em reação de seminested PCR com modificações (COLLI et al., 2015). Os iniciadores utilizados foram: GDHeF (1ª reação), GDHiF (2ª reação) e GDHiR (1ª e 2ª reações).

7. *Detecção dos produtos amplificados pela PCR*: Os produtos amplificados foram visualizados pela eletroforese em gel de poliacrilamida a 4,5% revelados com sais de prata, fotografados e documentados digitalmente.

8. *Entrega dos resultados*: O resultado de todos os exames de fezes foi entregue para os pais ou responsáveis pelas crianças para que as mesmas fossem encaminhadas para o tratamento etiológico nos casos de resultados positivos.

9. *Aspectos éticos*: Este projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética da Faculdade Integrado de Campo Mourão sob parecer nº 1.594.078.

Resultados e Discussão

Dos 40 escolares avaliados 13 tinham até um ano de idade, 10 dois anos, nove três anos, quatro quatro anos e quatro cinco anos. Do total de amostras, oito (20%) estavam positivas para enteroparasitos, incluindo poliparasitismo. Entre estas, três eram de crianças de zero a um ano (duas com *Endolimax nana* e uma com *Dipylidium caninum*); duas crianças de dois anos (uma com poliparasitismo por *G. duodenalis* e *E. nana* e uma com *D. caninum*) e três crianças de três anos (uma com *Entamoeba coli*, uma com *G. duodenalis* e uma com *G. duodenalis* e *E. nana*). Todas as crianças de quatro e cinco anos apresentaram resultados parasitológicos negativos. A predominância de enteroparasitoses foi na faixa de 0 a 3 anos, o que pode estar relacionado as condições socio-econômicas, a precariedade dos hábitos higiênicos e resposta imune, quando comparado a crianças com maiores idades.

Das oito crianças que apresentaram o exame coproparasitológico positivo, 7,5% (3/40) estavam infectadas por *G. duodenalis* (uma com dois anos e

duas com três anos). Os resultados do método molecular confirmaram em 100% os resultados dos métodos parasitológicos, tanto para amostras positivas como para as negativas. Esses resultados estão em discordância com os observados por Colli et al. (2015), que encontraram maior sensibilidade do método molecular em relação ao parasitológico.

Conclusões

A prevalência de *G. duodenalis* nas crianças desse Centro Educacional é baixa, mas indica precárias condições socio-econômicas e higiênicas.

A giardíase predominou em crianças de 0 a 3 anos.

Houve 100% de concordância dos resultados dos métodos parasitológico e molecular, indicando que ambos são eficientes na pesquisa de *G. duodenalis*.

Agradecimentos

Ao PIBIC/CNPq - FA - UEM

Referências

COLLI, C.M.; BEZAGIO, R.C.; NISHI, L.; BIGNOTTO, T.S.; FERREIRA, É.C.; FALAVIGNA-GUILHERME, A.L.; GOMES, M. L. Identical Assemblage of *Giardia duodenalis* in Humans, Animals and Vegetables in an Urban Area in Southern Brazil Indicates a Relationship among Them. **PlosOne**, v. 10, n. 3, e0118065, 2015.

FERREIRA, M.U.; FERREIRA, C.S.; MONTEIRO, C.A. Tendência secular das parasitoses intestinais na infância na cidade de São Paulo (1984- 1986), **Revista Saúde Pública**, v. 34, p.73-82, 2000.

GEURDEN, T.; VERCRUYSSSE, J.; CLAEREBOUT, E. Is *Giardia* a significant pathogen in production animals? **Experimental Parasitology**, v. 124, p. 98-106, 2010.

GONÇALVES, A.L.R.; BELIZÁRIO, T.L.; PIMENTEL, J.B.; PENATTI, M.P.A.; PEDROSO, R.S. Prevalence of intestinal parasites in preschool children in the region of Uberlândia, State of Minas Gerais, Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, 44: 191-193, 2011.

OLIVEIRA-ROCHA, M.; MELLO, R.T. Exame Parasitológico de Fezes. In: NEVES, D. P.; MELO, A. L.; LINARDI, P. M.; VITOR, R. W. A. (Ed.). **Parasitologia Humana**. 12 th ed. São Paulo: Atheneu, 2011. cap. 56, p. 509-522.