

AVANÇOS NO IMUNODIAGNÓSTICO SOROLÓGICO DE HELMINTOSES

(Advances in the serological immunodiagnostic of helminthoses)

Anderson Silva DIAS

Laboratório Nacional Agropecuário, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento –
Laboratório de Controle de Produtos Biológicos, Av. Rômulo Joviano, s/n, Pedro
Leopoldo, MG. CEP: 30.360-000. E-mail: anderson.dias@agricultura.gov.br

RESUMO

Os diagnósticos indiretos de afecções helmínticas são muito importantes para o devido combate dessas helmintoses quer na população humana, quer na população animal. Esse diagnóstico, quando da sua suspeita, se realizado de forma prévia, pode contribuir decisivamente para que esses agentes possam ser controlados ou banidos de um grupo animal ou grupo populacional humano em risco. O grande desafio para essas metodologias é assegurar que elas sejam eficazes, ou seja, possam apresentar elevadas sensibilidades e especificidades. Esse presente trabalho tem como objetivo apresentar as metodologias, em especial, as sorológicas, que se apresentam promissoras para o diagnóstico de importantes enfermidades causadas pelos mais importantes helmintos que são responsáveis por importantes e prevalentes enfermidades para o homem e para algumas espécies animais. Neste trabalho, será apresentado um apanhado dessas metodologias que devem se apresentar como práticas, sensíveis, específicas, baratas e disponíveis.

Palavras-chave: Imunodiagnóstico, técnicas sorológicas, helmintoses.

ABSTRACT

Indirect diagnoses of helminthic conditions are very important for the proper combat of these helminthes both in the human population and in the animal population. This diagnosis, if suspected, if carried out in advance, can contribute decisively to the fact that these agents can be controlled or banned from an animal group or human population group at risk. The great challenge for these methodologies is to ensure that they are effective, that is, they can have high sensitivities and specificities. This present work aims to present the methodologies, especially the serological methods, which are promising for the diagnosis of important diseases caused by the most important helminths that are responsible for important and prevalent diseases for man and for some animal species. In this work, collections of these methodologies are presented as practices, sensible, specific, cheap and available.

Keywords: Immunodiagnosis, serological techniques, helminthes.

INTRODUÇÃO

O diagnóstico sorológico é uma ferramenta importante em estudos epidemiológicos por ser capaz de detectar estágios iniciais das infecções. Além disso, em humanos, os testes parasitológicos podem estar negativos mesmo após a patência das infecções, como exemplo na fasciolose (ECHEVARRIA, 2004).

Atualmente, têm sido aprimoradas técnicas capazes de detectar infecção o mais precoce possível, isto se deve à seleção e teste com moléculas específicas que estão relacionadas a uma ou várias fases quanto à presença do parasito no hospedeiro. Hoje em dia, existem métodos com especificidade e sensibilidade altíssimas, o que contribui para se obter o diagnóstico cada vez mais seguro e precoce, e também auxiliar para avanços em estudos epidemiológicos (ECHEVARRIA, 2004).

O presente trabalho tem como objetivo apresentar as metodologias, em especial, as sorológicas, que se apresentam promissoras para o diagnóstico de importantes enfermidades causadas pelos mais importantes helmintos que são responsáveis por importantes e prevalentes enfermidades para o homem e para algumas espécies animais.

DESENVOLVIMENTO

MODELOS EXPERIMENTAIS E DE ROTINA

Schistosoma mansoni

Elisa

Um método imunoenzimático para detecção de anticorpos IgM (ELISA-IgM – *Enzyme-linked immunosorbent assay*) contra uma fração de antígeno de helminto adulto *Schistosoma mansoni*, solúvel em ácido tricloroacético (TCA – fração solúvel purificada por Deelder *et al.* (1976), permitiu padronizar um teste imunoenzimático para pesquisa de IgM (ELISA-IgM), avaliado para propósito epidemiológico em áreas de baixa endemicidade para esquistossomose (NKURUNUNGI *et al.*, 2018). O teste foi aplicado a uma população de região de baixa endemicidade e o resultado foi comparado àquele obtido por imunofluorescência com IgM e com o exame parasitológico Kato-Katz. O método de ELISA-IgM obteve concordância quase perfeita com a imunofluorescência, e esses dois métodos sorológicos obtiveram concordância boa com o teste parasitológico, apresentando boa média geométrica (OGONGO *et al.*, 2018). Os resultados obtidos acima, asseguram que o ELISA-IgM constitui-se um método potencialmente útil para fins de diagnóstico de esquistossomose em indivíduos com baixa carga parasitária, por possuir alta sensibilidade (OLIVEIRA *et al.*, 2003).

O método de ELISA, por possibilitar a automação na leitura, além de proporcionar ensaios quantitativos, mostra-se bem mais adaptado para aplicação em estudos populacionais (MWANGI *et al.*, 2018; OLIVEIRA *et al.*, 2003).

O fato do método de ELISA apresentar concordância quase perfeita com a técnica de imunofluorescência deve-se provavelmente ao fato desses métodos se tratarem de serem sorológicos que detectam a presença de anticorpos de mesma classe contra antígenos de natureza polissacarídica, presentes no nível do tubo digestivo do helminto, caracterizado por Nash (1978). A possibilidade de ocorrência de reações cruzadas entre diferentes espécies de helmintos foi verificada subdividindo o grupo estudado em quatro subgrupos de acordo com a presença (positivo) ou não (negativo) de ovos de *Ascaris lumbricoides* e de *Trichuris trichiura* nas fezes. Essa análise permitiu observar que a positividade sorológica para esquistossomose não foi maior nos subgrupos positivos para outros

helmintos, sugerindo ausência de reações cruzadas, pelo menos entre o *Schistosoma mansoni* e essas duas espécies de helmintos, nos métodos imunológicos empregados no presente estudo. Além disso, a baixa positividade sorológica verificada no grupo controle sugere uma boa especificidade do método de ELISA-IgM. Esse grupo, embora composto de indivíduos fortemente parasitados por espécies de helmintos, como *Ascaris lumbricoides*, *T. trichiura* e *Strongyloides stercoralis*, apenas dois indivíduos apresentaram-se positivos para ELISA-IgM e um para RIFI-IgM, conferindo boa especificidade para o método sorodiagnóstico em questão (OLIVEIRA *et al.*, 2003).

Imunofluorescência Indireta (RIFI-IgM)

A técnica de imunofluorescência também tem apresentado índices de sensibilidade e especificidade que variam de 95 a 98%, quando comparada à técnica parasitológica de Kato-Katz em regiões de baixa endemicidade (KANAMURA *et al.*, 1998; LIMA *et al.*, 1998).

A reação de imunofluorescência indireta em cortes parafinados de helmintos adultos para pesquisa de anticorpos IgM (RIFI-IgM) contra antígenos do tubo digestivo (SILVA *et al.*, 1992), vem sendo utilizada como método complementar para diagnóstico individual da esquistossomose (OLIVEIRA *et al.*, 2003).

ELISA-PCR

Senra *et al.* (2018) desenvolveram um método para diagnóstico sorológico de *S. mansoni* por PCR-ELISA.

Fasciola hepatica

Elisa

Testes de detecção de anticorpos são sensíveis e conseguem detectar infecção por *F. hepatica* logo no início da infecção (CALVANI *et al.*, 2018). O método de ELISA, por exemplo, empregando antígenos de excreção de *F. hepática* (FhES), pode detectar infecção com apenas duas semanas de idade do parasito em animais experimentais e também provavelmente em humanos. Porém, os níveis de anticorpos declinam após o tratamento com fasciolícticas (ECHEVARRIA, 2004).

Western Blot

Para *F. hepatica*, testes usando western blot sugerem que bandas de antígenos com 12, 17, 63 e 105 Kda são preditores da infecção, com Fh17 sendo possivelmente um indicador do sucesso do tratamento fasciolíctico (ECHEVARRIA, 2004).

Elisa com sanduíche

Teste para detecção de antígenos de indivíduos com fasciolose, com a utilização de anticorpos anti antígeno secretórios/excretórios (ES) de *F. hepatica*. Um anticorpo monoclonal foi usado para capturar antígeno ES circulantes e um anticorpo policlonal conjugado com a peroxidase foi usado para identificar antígenos ES circulantes. Os resultados sugeriram ausência de reação cruzada (ESPINO *et al.*, 1990).

Cysticercus bovis e *Cysticercus cellulosae*

A cisticercose é uma zoonose cujo agente etiológico é um Cestoda da família Taeniidae, gênero *Taenia* (PONCE *et al.*, 2018). Estes parasitos evoluem em dois hospedeiros, um definitivo (homem) e um intermediário (geralmente os animais domésticos). Duas são as espécies endêmicas no Brasil: *T. solium* e *T. saginata*. A prevalência de *T. saginata* pode ser dividida em três grupos: 1 - altamente endêmica, em países ou regiões com prevalência, na população humana, acima de 10%; 2 – moderada prevalência, com taxa de infecção entre 0,1% e 10% e baixa prevalência, com taxa de infecção inferior a 0,1% ou mesmo livres da endemia (PAWLOWSKI e SCHLTZ, 1972). Rotineiramente, o diagnóstico da cisticercose bovina é baseado na inspeção visual, após cortes específicos na musculatura. Porém, a sensibilidade do método é baixa, especialmente em infecções leves. Vários testes imunológicos têm sido propostos para essa finalidade (CHAPMAN *et al.*, 1998). O desenvolvimento de um método diagnóstico confiável poderia servir como alternativa ou aperfeiçoamento da inspeção nos matadouros, em investigações epidemiológicas e na rastreabilidade deste agente patogênico (PONCE *et al.*, 2018), pois o resultado da aplicação da técnica de ELISA em animais considerados negativos na inspeção demonstrou a presença de anticorpos, isso poderia significar que animais com cisticercose poderiam estar escapando da metodologia de rotina (MINOZZO *et al.*, 2004).

Repetidos exames de rebanhos podem possibilitar inferir um alto risco de introdução do agente na propriedade ou mesmo a preocupação com a presença prevalente de um agente que pode ser responsável por perdas produtivas e/ou econômicas (MINOZZO *et al.*, 2004).

Elisa Indireto

O método de ELISA indireto foi desenvolvido para pesquisa de anticorpos contra *Cysticercus bovis* em bovinos experimental e naturalmente infectados. Este teste tem como conjugado IgG de cabra anti-IgG bovina conjugada com peroxidase (MINOZZO *et al.*, 2004). O teste de ELISA seguiu os passos propostos por Engval e Perlmann (1971).

Os antígenos empregados para esse estudo foram antígeno parcial de *Cysticercus cellulosae*, antígeno total de *C. bovis* e antígeno total de *C. longicollis*. Esses antígenos foram utilizados em diluições para se fazer a padronização do teste. Os bezerros infectados oralmente com ovos de *T. saginata*. Várias amostras foram coletadas quinzenalmente, sendo que uma produção máxima de anticorpos foi observada entre 30 e 60 dias pós-infecção (MINOZZO *et al.*, 2004).

Depois de 90 dias pós-infecção, os animais foram sacrificados, e o número de cistos contados e comparados com a resposta imunológica dos animais. Com o teste padronizado, foram pesquisados anticorpos contra *C. bovis*, em soros de bovinos considerados não portadores de cisticercos pelo serviço de inspeção e, de 20 amostras de soros analisadas, duas apresentaram valores de absorbância acima do “cut off” indicando serem portadores de cisticercose (MINOZZO *et al.*, 2004).

Elisa

Brandt *et al.* (1992) desenvolveram um método diagnóstico com uso de um anticorpo monoclonal de *Cysticercus bovis*. Guimarães-Peixoto *et al.* (2018) determinaram uma metodologia para diagnóstico sorológico de *C. bovis* por ELISA, que apresentou sensibilidade de 93,3% e especificidade de 95,3%.

Taenia saginata e Taenia solium

Elisa para coproantígeno (sanduíche)

O método de ELISA sanduíche foi desenvolvido para detecção de antígenos solúveis de *Taenia saginata* em banco de amostras de humanos infectados (coproantígenos) em humanos, usando anticorpos policlonais obtidos de coelhos hiperimunizados com antígenos secretórios/excretórios derivados de *T. saginata* (DEPLAZES *et al.*, 1993).

Como resultado ocorreu baixa reação cruzada com antígenos grosseiros de outros helmintos, incluindo *Dipylidium caninum* e *Diphyllobothrium latum*. Assim, a especificidade do ensaio foi de 95% de amostras de pessoas infectadas com *Ascaris lumbricoides*, *Trichuris trichiura*, *Ancylostoma* spp., *Enterobius vermicularis* ou *Himenopalis nana* ou que tinha nenhuma helmintose intestinal detectada. A sensibilidade do teste foi de 85%. Em relação à especificidade prognóstica, o teste permite o acompanhamento e fornece os resultados concernentes à evolução de casos quando é realizado o tratamento (DEPLAZES *et al.*, 1993).

Echinococcus granulosus

Testes

Classicamente, testes como imunoprecipitação, imunodifusão dupla em ágar e hemaglutinação eram usados como referência para diagnóstico de hidatidose humana (KALANTARI *et al.*, 2010). Porém, hoje em dia, esses testes estão sendo substituídos por testes que apresentam maior sensibilidade como ELISA, imunoblot e imunofluorescência (VIRGÍNIO *et al.*, 2003; LETT *et al.*, 2018).

O diagnóstico sorológico de rotina laboratorial para cisto hidático, causado por *Echinococcus granulosus*, depende principalmente da detecção de imunoglobulina da classe G que são diretos contra diferentes antígenos de *E. granulosus* (KALANTARI *et al.*, 2010; LÖTSCH *et al.*, 2018). Dadas a especificidade e a sensibilidade apresentadas por esses testes, o imunodiagnóstico de cisto hidático poderia ser melhorado pela utilização de anticorpos de subclasses específicas contra distintos antígenos de *E. granulosus* (KHALKHALI *et al.*, 2018), e o problema de reação cruzada com soro de pacientes com outras doenças parasitárias parecidas poderiam ser reduzidos significativamente (VIRGÍNIO *et al.*, 2003).

Elisa

Dois testes imunodiagnóstico – ELISAs – baseados em detecção de coproantígenos específicos em gênero ou anticorpos séricos (IgA, IgG e IgE). O ELISA de coproantígeno apresentou uma sensibilidade de 76,9% comparado com 34,6% para o soro

de IgG-ELISA (preparado de protoescólex, com sensibilidade de 91,8% e especificidade de 72,7%, realizado na Austrália) quando avaliado contra 26 cães positivos (contagem de helmintos ou proglotes em fezes variou de um a 4.331) (CRAIG *et al.*, 1995).

A reatividade ao coproantígeno verificada foi positivamente correlacionada ($R=0,65$) à contagem de helmintos ou proglotes em fezes, com um limiar acima de 20 espécimes. Não foi verificada nenhuma correlação positiva de nível de anticorpos com a contagem de helmintos. Em 26 cães positivos para *E. granulosus*, a sensibilidade integral de detecção sorológica aumentou para 69,2% quando a sororreatividade para anticorpos IgA e IgE foram incluídos e para 96,2% para anticorpos e coproantígenos avaliados de forma conjunta. A detecção de anticorpos soro específicos seria útil para avaliar as populações de cães expostas à *E. granulosus* (CRAIG *et al.*, 1995).

Elisa com antígenos recombinantes

A utilização de clones recombinantes expressando antígenos de *E. granulosus* obtidos de soros de paciente com cisto hidático ou de antissor hiperimune de coelho contra fração lipoprotéica de fluido de cisto de bovino. Sendo que seis desses antígenos foram expressos em *Escherichia coli*, e as proteínas recombinantes purificadas foram testadas pelo método de ELISA para IgG específica. Com o emprego de soro de indivíduos clinicamente normais e de pacientes cirurgicamente e imunologicamente diagnosticados e soro de indivíduos com outras afecções helmínticas, foram avaliados para especificidade. O *cut off* foi determinado pelas características de cada antígeno em reações (VIRGÍNIO *et al.*, 2003).

Angistrongylus vasorum

Apesar do exame parasitológico de fezes ser o melhor método de diagnóstico no período patente da enfermidade, não é raro a ocorrência de animais com sintomatologia clínica e sem a eliminação de larvas nas fezes (CURY *et al.*, 1996). Portanto, outros exames devem ser realizados, sempre seguindo a avaliação do profissional clínico que acompanha o caso (CALDEIRA *et al.*, 2003; BARÇANTE, 2004).

Dado que, para este caso, o diagnóstico parasitológico é pouco conclusivo, novas metodologias têm sido estudadas no intuito de se obter novas técnicas para o acompanhamento e diagnóstico da infecção. De maneira geral, as infecções causadas por helmintos têm características de induzir uma resposta aguda inicial que tende a se tornar crônica e de longa duração. Tal característica pode também ser aplicada para a infecção do cão por *A. vasorum*, na qual a fase aguda da angiostrongilose corresponde ao período de maior antigenicidade do parasito (BARÇANTE, 2004).

Nas infecções por *A. vasorum*, a eosinofilia associada a aumentos nos níveis de IgE parece não estar associada somente a fatores relacionados à resistência contra o parasito, mas também, àqueles relacionados com a patogenia provocada pelo agente (BARÇANTE, 2004).

Além da eosinofilia pulmonar, a periférica é um achado frequente em cães infectados por *A. vasorum*. Durante a fase aguda da infecção, o aumento do número médio de eosinófilos do sangue periférico ultrapassa 100 células por mm^3 de sangue. Os picos de

eosinofilia coincide com as fases de desenvolvimento do parasito no hospedeiro definitivo, como também já foi observado em infecções por *Angiostrongylus cantonensis* (YOSHIMURA *et al.*, 1994; LEE *et al.*, 2017). Esse aumento do número de eosinófilos em animais infectados induz à discussão sobre o papel dessas células na resistência às infecções helmínticas (NKURUNUNGI *et al.*, 2018). Os eosinófilos em conjunto com o sistema complemento, ou em associação com anticorpos, principalmente IgE, através de um mecanismo conhecido com citotoxicidade celular mediada por anticorpos (ADCC), podem desempenhar um importante papel na morte de larvas de helmintos de importância médica e veterinária (LEE *et al.*, 2017).

Elisa

No estudo de metodologia para o diagnóstico e prognóstico da angiostrongilose canina, o método de ELISA também tem sido empregado para a obtenção de dados relacionados com a resposta humoral no sangue periférico e nos fluidos pulmonares, durante a infecção pelo *A. vasorum* (BARÇANTE, 2004).

Animais infectados por *A. vasorum* apresentam, a partir da infecção, uma elevação nos níveis de todos os anticorpos (IgM, IgG, IgA e IgE), tanto no sangue periférico como nos fluidos pulmonares. Embora a cinética de anticorpos tenha uma característica própria, durante a infecção, verificam-se algumas semelhanças entre elas. Para todos os isotipos, ocorrem elevações significativas durante a fase aguda de infecção. A primeira pode ser observada no período que corresponde à chegada dos helmintos adultos nos pulmões e à maturidade sexual. A segunda elevação, verificada nos níveis de anticorpos específicos contra antígenos de larva e verme adulto, ocorre no período de maior postura e eliminação de L1 nas fezes (BARÇANTE, 2004).

O aumento dos níveis de IgM estaria relacionado à ativação do complemento, e o aumento de IgA estaria relacionado à ativação de eosinófilos em superfícies mucosas para a expulsão dos helmintos. Mas as alterações mais significativas se referem ao aumento dos níveis de IgE específicos para antígenos de larvas e de adulto, principalmente, na fase aguda da infecção (BARÇANTE, 2004).

De uma maneira geral, a concentração de IgE sérica é a mais baixa de todos os demais isotipos, em função do influxo desta imunoglobulina para o sítio da infecção. Todavia, devido à excreção-secreção de produtos de *A. vasorum* na corrente sanguínea, ocorre uma resposta marcante de IgE no soro sanguíneo de animais também além da localizada (ORTEGA-PIERRES *et al.*, 1996).

Schnyder *et al.* (2011) também desenvolveram um método para diagnóstico por ELISA para diagnóstico em cães infectados por *A. vasorum* e verificaram que o método apresentou elevada eficácia. A sensibilidade do teste apresentada foi de 95,7% e a especificidade apresentada foi de 94%. Esse método foi considerado confiável para identificar animais positivos que foram tratados um mês pós-infecção e apresentou-se consistente em situações para inquéritos soropidemiológico, pois o anticorpo investigado apresenta pico sérico após um mês de infecção e persiste por aproximadamente um ano pós-infecção.

Brugia malayi* e *Wuchereria bancrofti

O diagnóstico de infecção de filárias de *Brugia malayi* de rotina se baseia em pesquisa de microfilárias no sangue periférico (LOBOS *et al.*, 1991; REAVES *et al.*, 2018). Esse teste não possui alta sensibilidade (SHARMA *et al.*, 2018) e baseado nesse fato. Pesquisas em direção de se padronizar um teste sorológico mais sensível e específico tem sido alvo de muitos grupos de pesquisadores, o que já se conseguiu recentemente para *Wuchereria bancrofti* (teste para detecção de antígenos circulantes) (HAARBRINK *et al.*, 1999).

Infecções humanas com filárias de *W. bancrofti* e *B. malayi* induzem geralmente a um alto nível de anticorpos parasito específico IgG 4 (JHA *et al.*, 2017). Após o tratamento, o nível de IgG 4 decresce, ou seja, esta imunoglobulina apresenta ótimo valor de prognóstico (HAARBRINK *et al.*, 1999).

Elisa

O teste foi aplicado em amostras de áreas endêmicas, e possibilitou inferir que há correlação positiva entre indivíduos positivos para o teste imunológico associado à presença de microfilárias detectadas pelo teste de pesquisa no sangue. A análise de regressão apresentou que possivelmente existe uma forte influência de microfilárias em relação ao nível de IgG 4 (HAARBRINK *et al.*, 1999).

Elisa ou IFAT

As metodologias de diagnóstico sorológicas (ELISA ou IFAT) utilizando extratos do helminto todo ou de microfilárias como antígenos podem ser usados para demonstrar anticorpos filariais. A detecção de anticorpos é útil quando as microfilárias não podem ser demonstradas, mas estes, não são espécies – específicas e exibem a reação cruzada com outras espécies de filárias (MOODY e CHIODINI, 2000).

Em decorrência de esses testes serem pouco específicos, técnicas sorológicas envolvendo ampliações por PCR, tem se apresentado um método mais sensitivo de detecção de infecção sem a detecção de microfilárias circulantes (MOODY e CHIODINI, 2000).

Existem três testes para detecção de infecção de *Wuchereria bancrofti* no mercado, sendo que os três se baseiam em detecção de antígenos circulantes, a especificidade e a sensibilidade para detecção de casos filarêmicos em teste foram 100% para os três testes comerciais (MOODY e CHIODINI, 2000).

Onchocerca volvulus

O teste de diagnóstico parasitológico de microfilárias é considerado insensível para detecção de infecções em fase pré-patente e em baixos níveis de infecção (CROWE *et al.*, 2018; LAGATIE *et al.*, 2018). Por isso, há uma limitação em diagnóstico para oncocercose, principalmente, quando se considera a detecção de baixo nível no início da infecção. O uso de uma proteína hibrida recombinante tem sido altamente sensível e específico em imunodiagnóstico.

O uso de antígenos recombinantes de *O. volvulus* em testes para detecção de anticorpos tem identificado proteínas altamente específicas, e alta sensibilidade tem sido apresentada quando se combina algumas proteínas (NDE *et al.*, 2002).

As proteínas Ov33 e Ov20 têm apresentado alta sensibilidade (> que 90%) e alta especificidade no reconhecimento de soro positivo para oncocercose (NDE *et al.*, 2002).

Ciatostomíneos

Elisa

O diagnóstico definitivo dessas helmintoses são difíceis de se determinar devido à falta de método diagnóstico em período pré-patente da infecção (DOWDALL *et al.*, 2002). Além do fato das larvas desses agentes se apresentarem em estágio de hipobiose por meses (MITCHELL *et al.*, 2016).

O teste ELISA foi desenvolvido para investigação de isotipos de resposta antígenos somáticos de ciatostomíneos. As respostas antilarval de IgG (T) apresentaram elevado potencial imunodiagnóstico. Um aumento no nível de resposta de IgG (T) a um antígeno larval foi observado por cinco semanas pós infecção em equinos infectados. Quando se realiza o tratamento dos animais com antihelmíntico, percebe-se que o nível de IgG (T) diminuiu e foi a única classe que apresentou diferenças em nível entre os grupos tratados e controle (DOWDALL *et al.*, 2002).

CONCLUSÃO

Verifica-se um determinado avanço ao redor do mundo para o diagnóstico precoce de helmintoses em humanos e em animais, em geral, essas enfermidades são negligenciadas e são esquecidas na população humana e animal. Porém são disseminadas em populações que vivem em condições sanitárias muitas vezes inadequadas. Esse trabalho sumarizou as metodologias de imunodiagnóstico e seus avanços para agentes responsáveis por importantes helmintoses necessárias para saúde pública e para a sanidade animal de algumas espécies. Foi verificado que alguns agentes apresentaram avanços em direção de diagnóstico mais precoce, mais segura e mais específico, o que poderá contribuir para diminuir os danos com populações e prejuízos na produção animal.

REFERÊNCIAS

- BARÇANTE, J.M.P. Aspectos parasitológicos, clínicos e imunológicos de cães experimentalmente infectados por *Angiostrongylus vasorum*. Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária, v.13, n.1, p.96-99, 2004.
- BRANDT, J.R.A.; GEERTS, S.; DE DEKEN, R.; KUMAR, V.; CEULEMANS, F.; BRIJS, L.; FALLA, N.A monoclonal antibody-based ELISA for the detection of circulating excretory-secretory antigens in *Taenia saginata* cysticercosis. International Journal of Parasitology, v.22, n.4, p.471-477, 1992.

CALDEIRA, R.L.; CARVALHO, O.S.; MENDONÇA, C.L.F.G.; GRAEFF-TEIXEIRA, C.; SILVA, M.C.F.; BEN, R.; MAURER, R.; LIMA, W.S.; LENZI, H.L. Molecular Differentiation of *Angiostrongylus costaricensis*, *A. cantonensis*, and *A. vasorum* by Polymerase Chain Reaction Restriction Fragment Length Polymorphism. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, v.98, n.8, p.1039-1043, 2003.

CROWE, A.; KOEHLER, A.V.; SHEOREY, H.; TOLPINRUD, A.; GASSER, R.B. PCR-coupled sequencing achieves specific diagnosis of onchocerciasis in a challenging clinical case, to underpin effective treatment and clinical management. Infection, Genetics and Evolution, v.66, p.192-194, 2018.

CRAIG, P.S.; GASSER, R.B.; PARADA, L.; CABRERA, P.; PARIETTI, S.; BORGUES, C.; ACUTTIS, A.; AGULLA, J.; SNOWDEN, K.; PAOLILLO, E. Diagnosis of canine echinococcosis: comparison of coproantigen and serum antibody tests with arecoline purgation in Uruguay. Veterinary Parasitology, v.56, n.4, p.293-301, 1995.

CALVANI, N.E.D.; GEORGE, S.D.; WINDSOR, P.A.; BUSH, R.D.; ŠLAPETA, J. Comparison of early detection of *Fasciola hepatica* in experimentally infected Merino sheep by real-time PCR, coproantigen ELISA and sedimentation. Veterinary Parasitology, v.251, n.15, p.85-89, 2018.

CHAPMAN, P.S.; GLASSBOROW, S.; LAKE, A.P.; BRISTON, P.W.; CORBETT, M. E.; FELGER, C.S.; HATCHETT, N.J.; HARTLEY, M.P.; HUDSON, S.J.; MERCER, A.G. Field evaluation in Botswana of a novel diagnostic test for *Taenia saginata* cysticercosis. Royal Veterinary College Undergraduate Research Team, v.6, n.4, p.353-355, 1998.

CURY, M.C.; LIMA W.S. Aspectos clínicos de cães infectados experimentalmente com *Angiostrongylus vasorum*. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, v.48, n.1, p.27-34, 1996.

DEELDER, A.M.; KLAPPE, H.T.M.; VAN DEN AARDWEG, G.J.M.J.; VAN MEERBEKE, E.H.E.M. *Schistosoma mansoni*: demonstration of two circulating antigens in infected hamsters. Experimental Parasitology, v.40, n.1, p.189-197, 1976.

DEPLAZES, P.; ECKERT, J.; PAWLOWSKI, Z.S.; MACHOWSKA, L.; GOTTSTEIN, B. An enzyme-linked immunosorbent assay for diagnostic detection of *Taenia saginata* copro-antigens in humans. Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene, v.85, n.3, p.391-396, 1991.

DOWDALL, S.M.J.; MATTHEWS, J.B.; MAIR, T.; MURPHY, D.; LOVE, S.; PROUDMAN, C.J. IgG (T) responses in natural and experimental cyathostomin infection. Veterinary Parasitology, v.106, n.1, p.225-242, 2002.

ECHEVARRIA, F. Fasciolose. Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária, v.13, n.1, p.100-102, 2004.

ENGVAL, E.; PERLMAN, P. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Quantitative assay of immunoglobulin G. Immunochemistry, v.8, n.9, p.871-4, 1971.

GUIMARÃES-PEIXOTO, R.P.M.; PINTO, P.S.A.; SANTOS, M.R.; ZILCH, T.J.; APOLINÁRIO, P.F.; SILVA-JÚNIOR, A. Development of the multi-epitope chimeric antigen rqtSA-25 from *Taenia saginata* for serological diagnosis of bovine cysticercosis. *Plos Neglected Tropical Diseases*, v.12, n.4, p.63-71, 2018.

ESPINO, A.M.; MARCET, R.; FINLAY, C.M. Detection of circulating excretory secretory antigens in human fascioliasis by sandwich enzyme-linked immunosorbent assay. *Journal of Clinical Microbiology*, v.28, n.12, p.2637-40, 1990.

HAABRINK, M.; TERHELL, A.J.; ABADIR, K.; ASRI, M.; MEDEIROS, F.; YASDANBAKHS, M. Anti-filarial IgG in men and women living in *Brugia malayi* endemic areas. *Tropical Medicine and International Health*, v.4, n.2, p.93-97, 1999.

JHA, R.; GANGWAR, M.; CHAHAR, D.; BALAKRISHNAN, A.S.; NEGI, M.P.S.; MISRA-BHATTACHARYA, S. Humans from *Wuchereria bancrofti* endemic area elicit substantial immune response to proteins of the filarial parasite *Brugia malayi* and its endosymbiont *Wolbachia*. *Parasites & Vectors*, v.10, n.40, p.1-14, 2017.

KALANTARI, E.; BANDEHPOUR, M.; PAZOKI, R.; TAGHIPOOR-LAILABADI, N.; KHAZAN, H.; MOSAFFA, N.; NAZARIPOUYA, M.R.; KAZEMI, B. Application of recombinant *Echinococcus granulosus* antigen B to ELISA kits for diagnosing hydatidosis. *Parasitology Researches*, v.106, n.4, p.847-51, 2010.

KANAMURA, H.Y.; DIAS, L.C.; SILVA, R.M.; GLASSER C.M.; PATUCCI R.M.J.; VELLOSA, S.A.G.; ANTUNES J.L.F. A comparative epidemiologic study of specific antibodies (IgM and IgA) and parasitological findings in an endemic area of low transmission of *Schistosoma mansoni*. *Revista do Instituto de Medicina Tropical*, v.40, n.2, p.85-91, 1998.

KHALKHALI, H.R.; FOROUTAN, M.; KHADEM VATAN, S.; MAJIDIANI, H.; ARYAMAND, S.; KHEZRI, P.; AMINPOUR, A. Prevalence of cystic echinococcosis in Iran: a systematic review and meta-analysis. *Journal of Helminthology*, v.92, n.3, p.260-268, 2018.

LEE, C.Y.; CHENG, P.C.; HO, C.H.; FAN, C.K.; CHAO, D. Immunologic evaluation of extracted intestinal proteins from *Angiostrongylus cantonensis* adult worms. *Journal of Microbiology and Immunological Infection*, v.25, n.1, p.1684-1693, 2017.

LETT, W.S.; BOUFANA, B.; LAHMAR, S.; BRADSHAW, H. Canine echinococcosis screening in foxhound hunts in England and Wales using coproantigen ELISA and copro PCR. *Parasitology Open*, v.4, n.1, p.17-24, 2018.

LAGATIE, O.A.; VERHEYEN, N.I.J.S.; VAN DORST, E.B.; DEBRAH, L.B.; DEBRAH, A.; SUPALI, T.; SARTONO, E.; STUYVER, L.J. Evaluation of the diagnostic performance of *Onchocerca volvulus* linear epitopes in a peptide enzyme-linked immunosorbent assay. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, v.98, n.3, p.779-785, 2018.

LIMA, V.L.C.; GUERCIO, V.M.F.; RANGEL, O., KANAMURA, H.Y.; DIAS, L.C.S. Immunofluorescence Test on *Schistosoma mansoni* Worm Paraffin Sections (IgM-IFT) for

the Study of Schistosomiasis Transmission in Campinas, São Paulo, Brazil. Mem Inst Oswaldo Cruz, v.93, n.1, p.283-288, 1998.

MEEUSEN, E.N.; BALIC, A. Do eosinophils have a role in the killing of helminth parasites? Parasitology Today, v.16, n.3, p.95-101, 2000.

LOBOS, E.; WEISS, N.; KARAM, M.; TAYLOR, H.R.; OTTESEN, E.A.; NUTMAN, T.B. An immunogenic *Onchocerca volvulus* antigen: a specific and early marker of infection. Science, v.251, n.5001, p.1603-1605, 1991.

LÖTSCH, F.; MOMBO-NGOMA, G.; MISCHLINGER, J.; GROGER, M.; VELETZKY L.; ADEGNIKA A.A.; LELL B.; AGNANDJI, S.T.; BOUYOU-AKOTET, M.; OBERMÜLLER, M.; WASSERMANN, M.; SCHNEIDER, R.; AUER, H.; RAMHARTER, M. Preliminary Evidence for the Absence of Cystic Echinococcosis in Gabon: A Cross-Sectional Pilot Survey in Humans and Definitive Hosts. American Journal of Tropical Medicine and Hygiene, v.99, n.1, p.97-101, 2018.

MINOZZO, J.C.; THOMAZ-SOCCOL, V.; OLORTEGUI C.C.; SOARES, V.E.; COSTA, A.J. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for immunodiagnostic of bovine cysticercosis and kinetics of antibodies production against-*Cysticercus bovis*. Ciência Rural, v.34, n.3, p.857-864, 2004.

MITCHELL, M.C.; TZELOS, T.; HANDEL, I.; MCWILLIAM, H.E.; HODGKINSON, J.E.; NISBET, A.J.; KHARCHENKO, V.O.; BURGESS, S.T.; MATTHEWS, J.B. Development of a recombinant protein-based ELISA for diagnosis of larval cyathostomin infection. Parasitology, v.143, n.8, p.1055-66, 2016.

MOODY, A.H., CHIODINI, P.L. Methods for the detection of blood parasites. Clinical and Laboratorial Haematology, v.22, n.4, p.189-201. 2000.

NASH, T.E.; OTTESEN, E.A., CHEEVER, A.W. Antibody response to a polysaccharide antigen present in the schistosome gut. American Journal of Tropical Medicine and Hygiene, v.27, n.938-943, 1978.

MWANGI, I.N.; AGOLA, E.L.; MUGAMBI, R.M.; SHIRAHU, E.A.; MKOJI, G.M. Development and evaluation of a loop-mediated isothermal amplification assay for diagnosis of *Schistosoma mansoni* infection in faecal samples. Journal of Parasitology Research, v.20, p.1-7, 2018.

NDE, P.N.; POGONKA, T.; BRADLEY, J.E.; TITANJI, V.P.; LUCIUS, R. Sensitive and specific serodiagnosis of onchocerciasis with recombinant hybrid proteins. American Journal of Tropical Medicine and Hygiene, v.66, n.5, p.566-571, 2002.

NKURUNUNGI, G; KABAGENYI, J; NAMPIJJA, M; SANYA, R.E.; WALUSIMBI, B, NASSUUNA, J, WEBB, EL, ELLIOTT, A.M. *Schistosoma mansoni*-specific immune responses and allergy in Uganda. Parasite Immunology, v.40, n.1, 2018.

OLIVEIRA, S.A.; BARBOSA, A.A.JR.; GOMES, D.C.; MACHADO-SILVA, J.R.; BARROS, A.F.; NEVES, R.H.; COUTINHO, E.M. Morphometric study of *Schistosoma*

mansoni adult worms recoveral from undernourished infected mice. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, v.98, n.5, p.623-627, 2003.

PAWLOWSKI, Z.; SCHULTZ, M.G. Taeniasis and cysticercosis (*Taenia saginata*). Advanced in Parasitology, v.10, n.1, p.269-343, 1972.

OGONGO, P.; KARIUKI, T.M.; WILSON, R.A. Diagnosis of schistosomiasis mansoni: an evaluation of existing methods and research towards single worm pair detection. Parasitology, v.145, n.11, p.1355-1366, 2018.

PONCE, R.; LEÓN-JANAMP, N.; GILMAN, R.H.; LIENDO, R.; RONCAL, E.; QUIÑONES-GARCIA, S.L.S.; SILVERSTEIN, Z.; GARCÍA, H.H.; GONZALES, A.; SHEEN, P.; ZIMIC, M.; PAJUELO, J.A.M. Novel enolase from *Taenia solium* metacestodes and its evaluation as an immunodiagnostic antigen for porcine cysticercosis for the Cysticercosis. Experimental Parasitology, v.191, p.44-54, 2018.

REAVES, B.J.; WALLIS C.; MCCOY, C.J.; LORENZ, W.W.; RADA, B; WOLSTENHOLME, J.A. Recognition and killing of *Brugia malayi* microfilariae by human immune cells is dependent on the parasite sample and is not altered by ivermectin treatment. International Journal for Parasitology: Drugs and Drug Resistance, v.8, n.3, p.587-595, 2018.

SCHNYDER, M.; TANNER, I.; WEBSTER, P.; BARUTZKI, D.; DEPLAZES, P. An ELISA for sensitive and specific detection of circulating antigen of *Angiostrongylus vasorum* in serum samples of naturally and experimentally infected dogs. Veterinary Parasitology, v.179, n.1-3, p.152-158, 2011.

SENRA C, GOMES LI, SIQUEIRA LMV, COELHO PMZ, RABELLO A, OLIVEIRA E; SALIMI-BEJESTANI, M.R.; MCGARRY, J.W.; FELSTEAD, S.; ORTIZ, P.; AKCA, A.; WILLIAMS, D.J.L. Development of a laboratorial platform for diagnosis of schistosomiasis mansoni by PCR-ELISA. BMC Res Notes. v.11, n.1, p.455, 2018.

SHARMA, A.; SHARMA, P.; GANGA, L.; SATOEYA, N.; MISHRA, S.; VISHWAKARMA, A.L.; SRIVASTAVA, M. Infective larvae of *Brugia malayi* induce polarization of host macrophages that helps in immune evasion. Frontiers in Immunology, v.12, n.9, p.1-15, 2018.

SILVA, R.M.; SILVA, M.I.P.G.; VELLOSA, S.A.G.; KANAMURA, H.Y. Pesquisa de anticorpos IgM contra tubo digestivo do verme para o diagnóstico da esquistossomose mansônica. Revista Brasileira de Patologia Clínica, v.28. p.39-42, 1992.

VIRGINIO, V.G.; HERNÁNDEZ, A.; ROTT, M.B.; MONTEIRO, K.M.; ZANDONAI, A.F.; NIETO, A.; ZAHA, A.; FERREIRA, H.B. A set of recombinant antigens from *Echinococcus granulosus* with potential for use in the immunodiagnosis of human cystic hydatid disease. Clinical and Experimental Immunology, v.132, n.2, p.309-15, 2003.

YOSHIMURA, K.; SUGAYA, H.; ISHIDA, K. The role of eosinophils in *Angiostrongylus cantonensis* infection. Parasitology Today, v.10, n.6, p.231-3, 1994.