

Doença de Chagas



✓ Enfoque desta aula:

- Agente etiológico
- Introdução à ordem Kinetoplastida e ao gênero Trypanosoma
- Epidemiologia
- Transmissão - Vetor
- Ciclo de vida
- Diferentes formas do parasita
- Patogenia
- Diagnóstico
- Tratamento
- Controle

O que é a Doença de Chagas?

✓ A Doença de Chagas (ou tripanossomíase americana) é uma doença infecciosa causada pelo parasita

Trypanosoma cruzi.

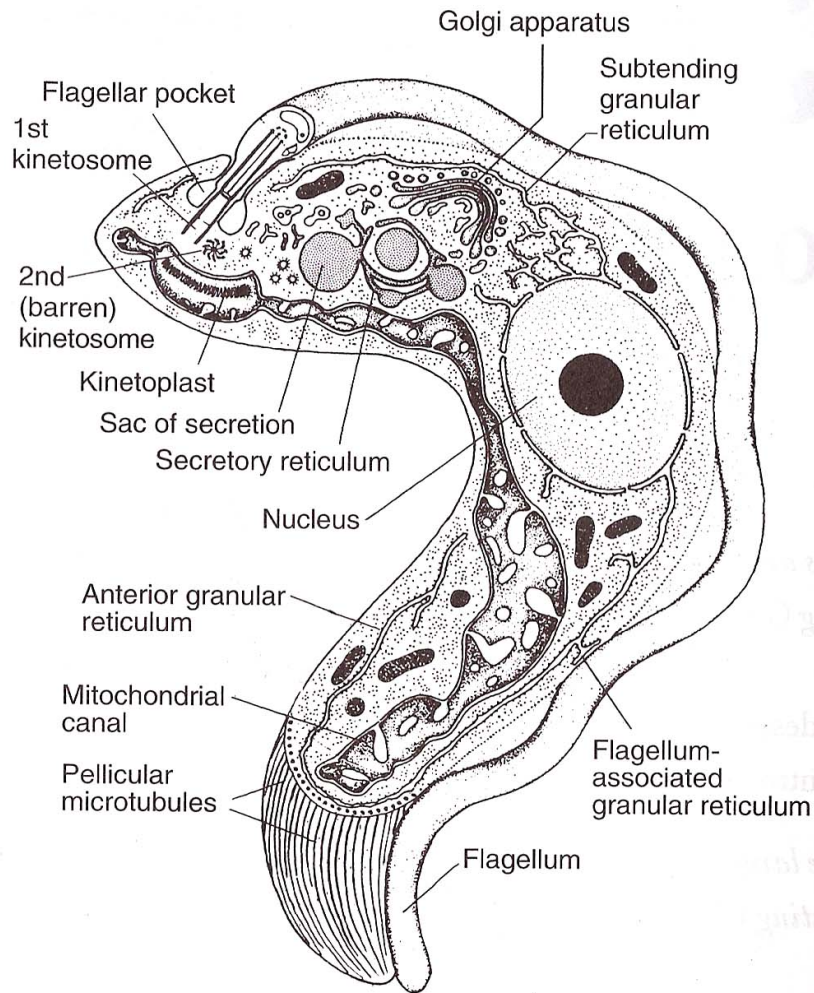
✓ Taxonomia

- Classe - Zoomastigophorea
- Ordem - **Kinetoplastida**
- Família - Trypanosomatidae
- Gênero - *Trypanosoma*



✓ Transmitida por insetos **triatomíneos**.

Ordem Kinetoplastida



➤ Todos os membros deste grupo possuem uma mitocôndria grande e única contendo um **cinetoplasto** localizado na base do flagelo.

➤ O DNA do cinetoplasto (kDNA) é organizado em uma rede de círculos ligados entre si:

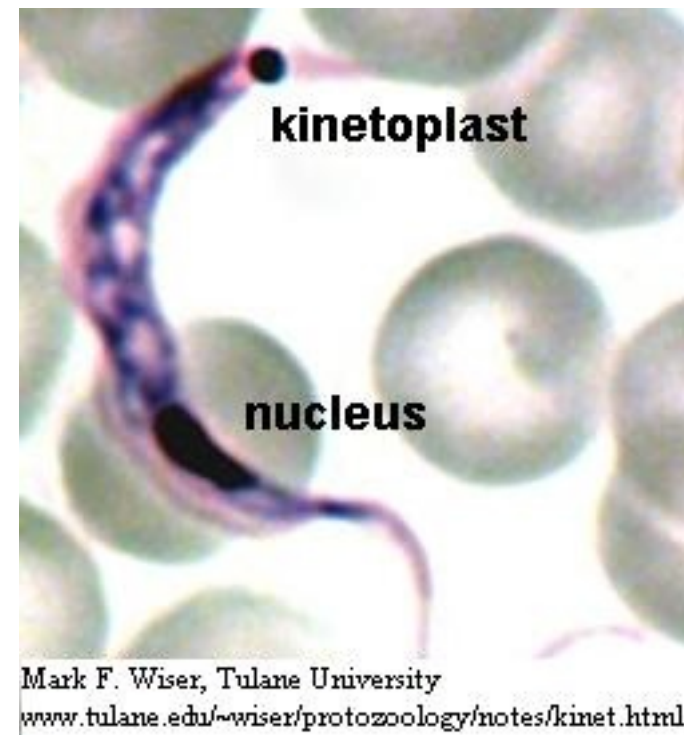
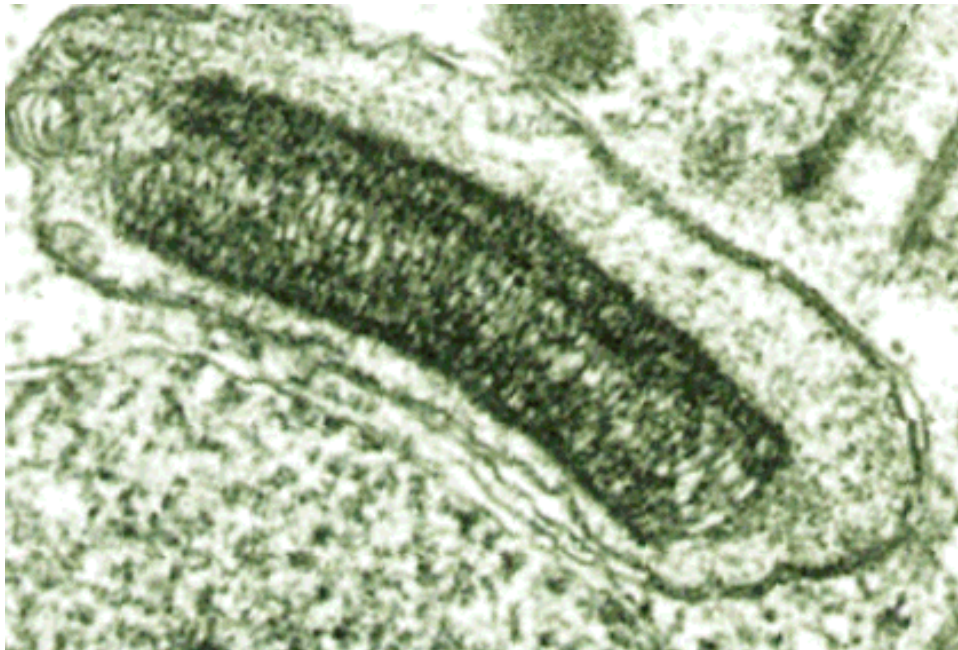
- minicírculos: 20.000
- maxicírculos: 20-50

➤ Possuem glicossomos: onde ocorrem as reações de glicólise.

➤ Possuem pré-RNA policistrônico e uma sequência líder (spliced leader) que é adicionada na frente de cada RNA maduro (monocistrônico).

Cinetoplasto.

- Compartimento que contém DNA e está localizado dentro da mitocôndria.



Gênero *Trypanosoma*

- Centenas de espécies em todo o mundo.
- Grande variabilidade de hospedeiros vertebrados (mamíferos, aves, répteis, peixes e anfíbios).
- Grande variabilidade de hospedeiros invertebrados (moscas, mosquitos, pulgas, carrapatos).
- Espécie-especificidade ou não.

Espécies de importância médica

Humana

T. cruzi
T. brucei gambiense
T. brucei rhodesiense
T. rangeli

Veterinária

T. brucei brucei
T. evansi
T. vivax
T. congolense

Classificação dos tripanosomas de acordo com sua transmissão.

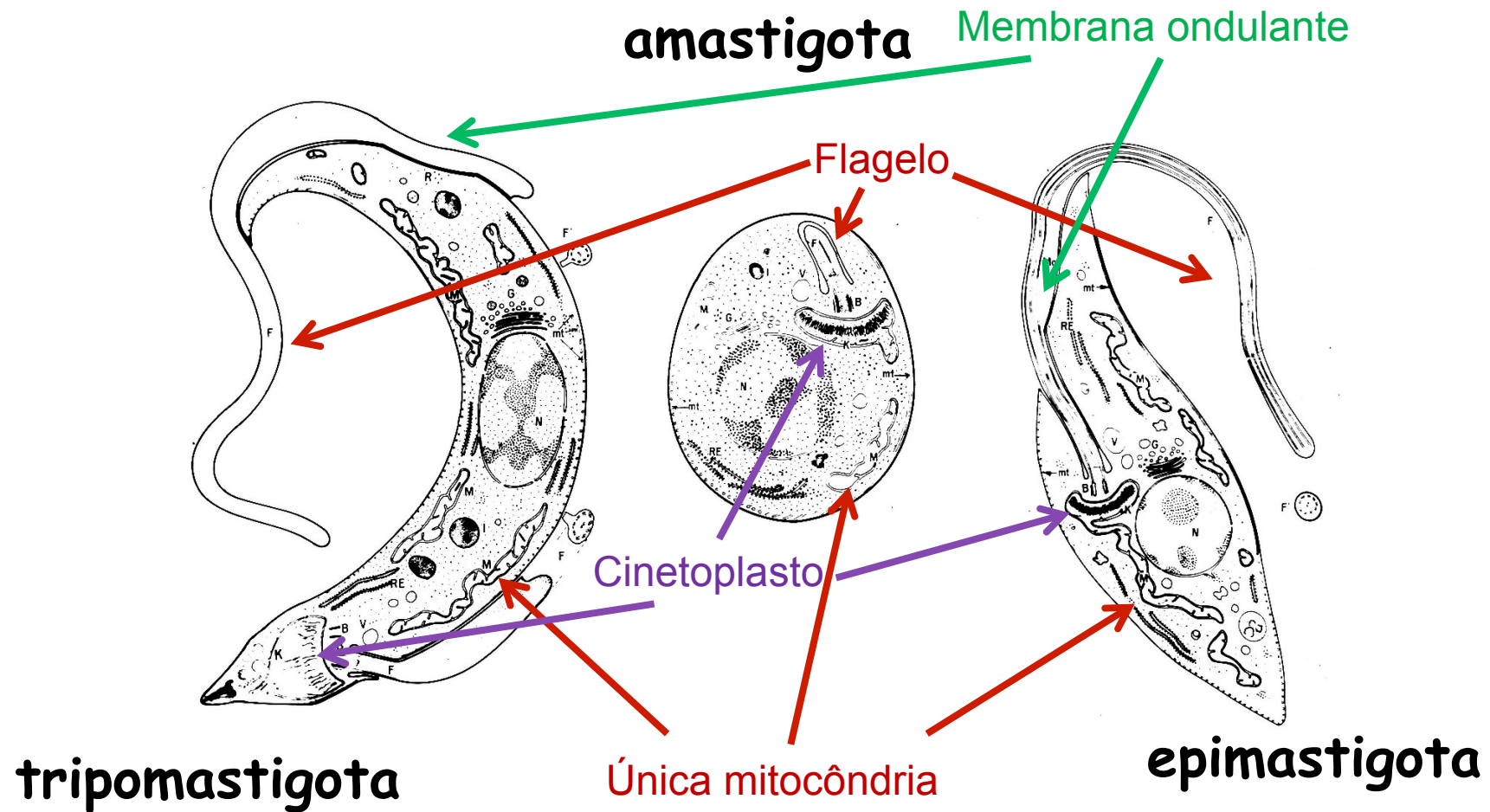
- Dois grupos:
 - ✓ Estercorários: os parasitas desenvolvem-se na porção posterior do inseto vetor e são transmitidos nas fezes
 - Ex.: *T. cruzi*



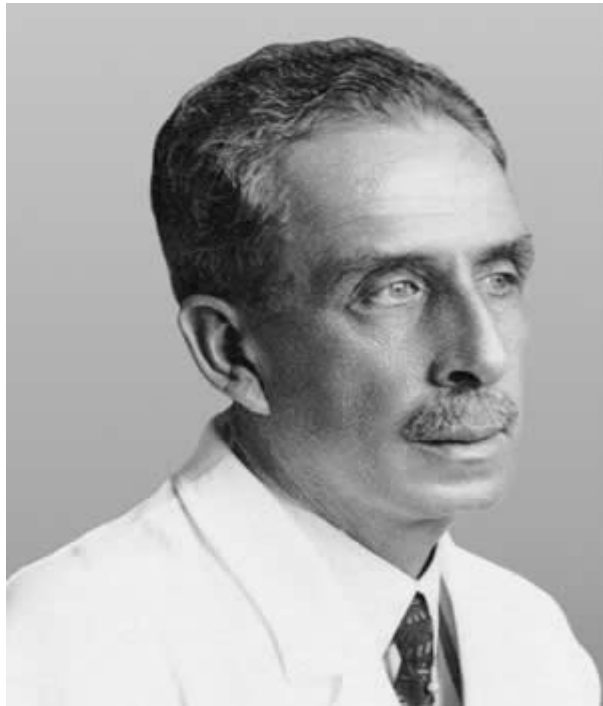
- ✓ Salivários: os parasitas desenvolvem-se na porção anterior do inseto vetor e são transmitidos na saliva
- Ex.: *T. brucei*



Características morfológicas principais do *Trypanosoma cruzi*.

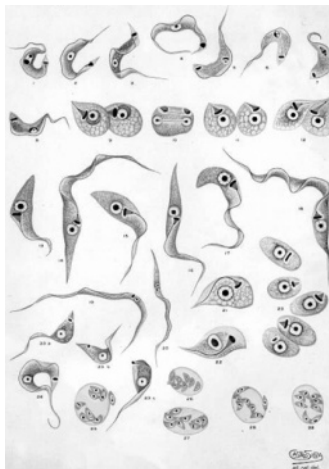


História da Doença de Chagas



Carlos Justiniano Ribeiro Chagas

1909



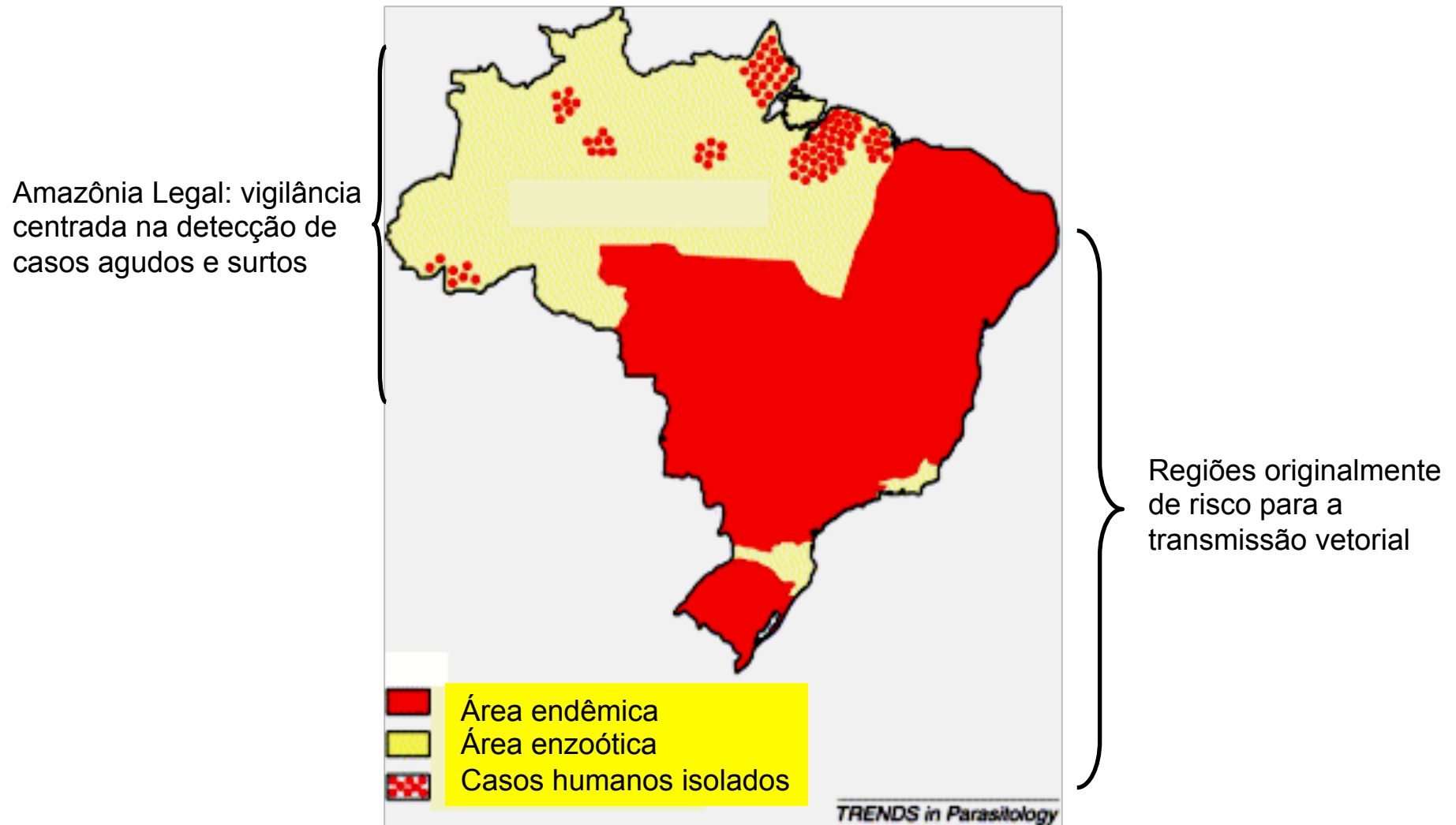
O primeiro caso da Doença de Chagas: Berenice.



Distribuição da Doença de Chagas.



Situação atual da Doença de Chagas no Brasil.



Epidemiologia

- ✓ 16-18 milhões pessoas cronicamente infectadas;
- ✓ 100 milhões de pessoas residem nas áreas de risco (25% da população da América Latina);
- ✓ 100-200 mil novos casos por ano;
- ✓ No Brasil, existem cerca de 5 milhões de pessoas infectadas;
- ✓ Risco de transmissão em áreas não endêmicas.

Vetor

✓ A Doença de Chagas é transmitida por insetos hemípteros hematófagos da família Reduviidae e subfamília Triatominae;

✓ Estes insetos são popularmente conhecidos como barbeiros, chupões, procotós (sertão da Paraíba), vum-vum (Bahia), chupança (Mato Grosso), vinchucas (países andinos), chincha voladora (México), kissing bugs (Estados Unidos);

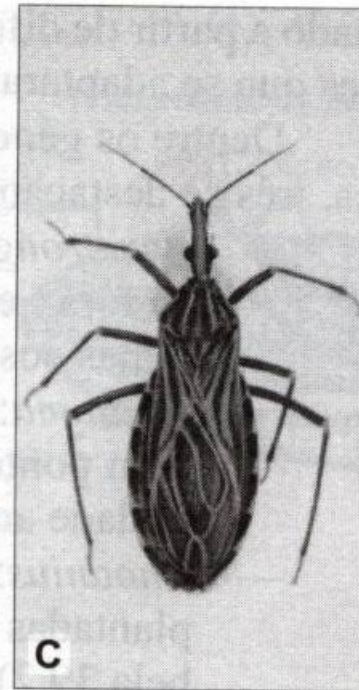
✓ Gêneros: *Panstrongylus*, *Triatoma* e *Rhodnius*.



Panstrongylus



Triatoma



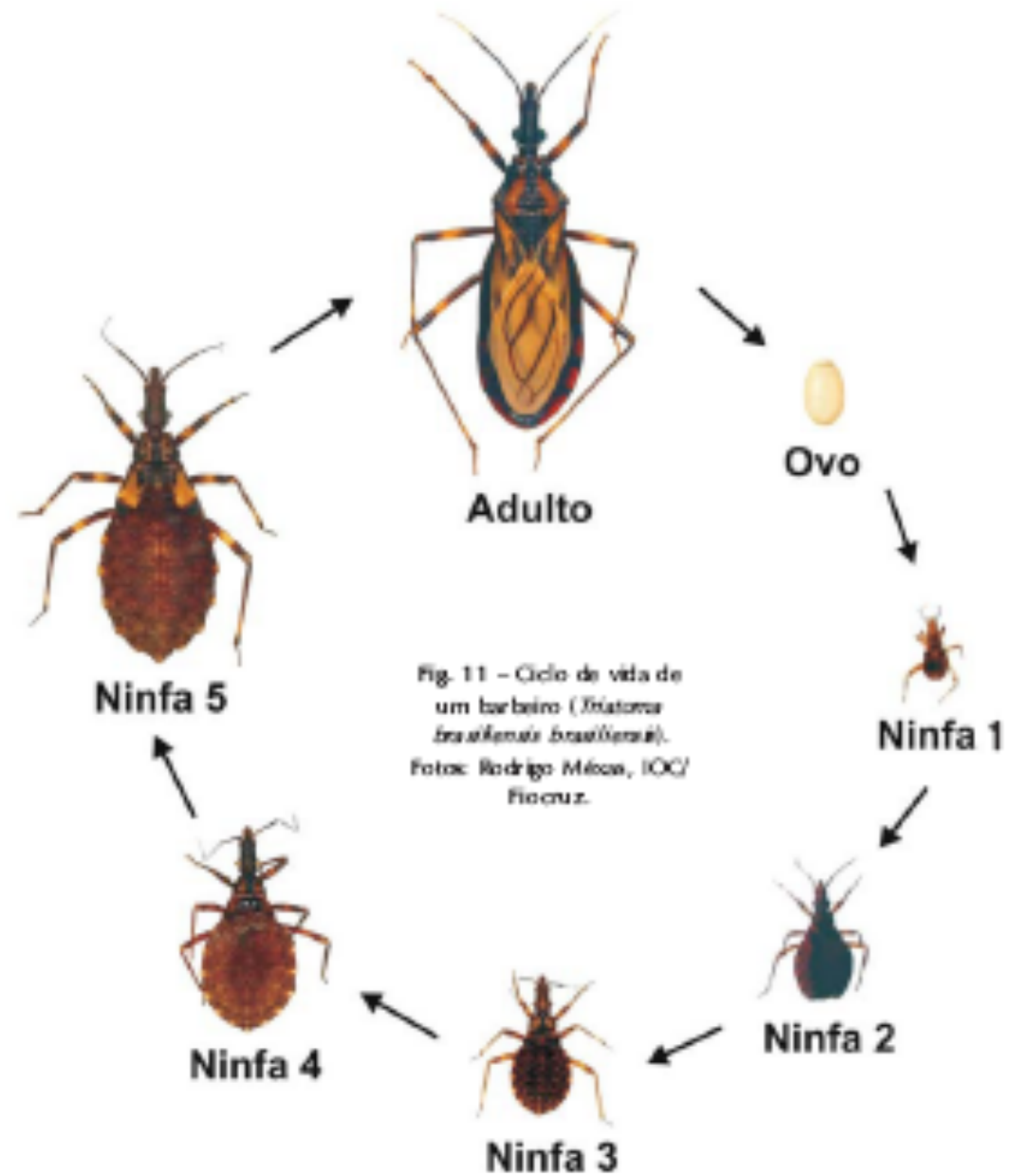
Rhodnius

Vetor

- ✓ 137 espécies conhecidas (da subfamília Triatominae);
- ✓ 48 identificadas no Brasil (30 capturadas em ambiente domiciliar);
- ✓ No Brasil, as espécies mais importantes são:
 1. *Triatoma infestans*
 2. *Triatoma brasiliensis*
 3. *Panstrongilus megistus*
 4. *Triatoma pseudomaculata*
 5. *Triatoma sordida*.

Vetor

Tanto ninfas como adultos de ambos os sexos são hematófagos.



Fotos: Rodrigo Méxas, IOC/Fiocruz.

Vetor

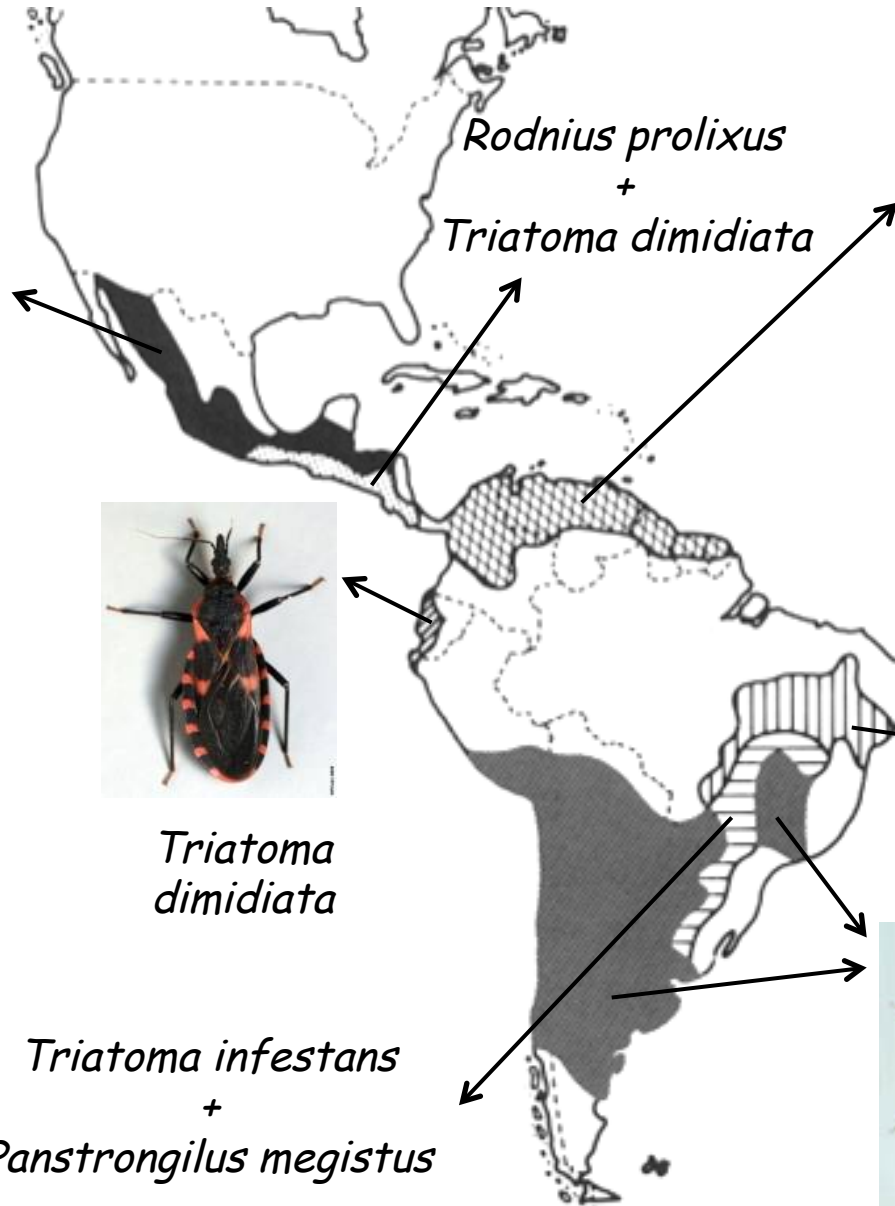
- ✓ Hábitos noturnos;
- ✓ Durante o dia, são encontrados nas fendas das paredes de casas não rebocadas, telhados de palha;
- ✓ Vivem no domicílio e região peridomiciliar;
- ✓ Longevidade do adulto: 9 a 20 meses.



Distribuição dos vetores mais importantes



Triatoma palidipennis



Rodnius prolixus



Triatoma dimidiata



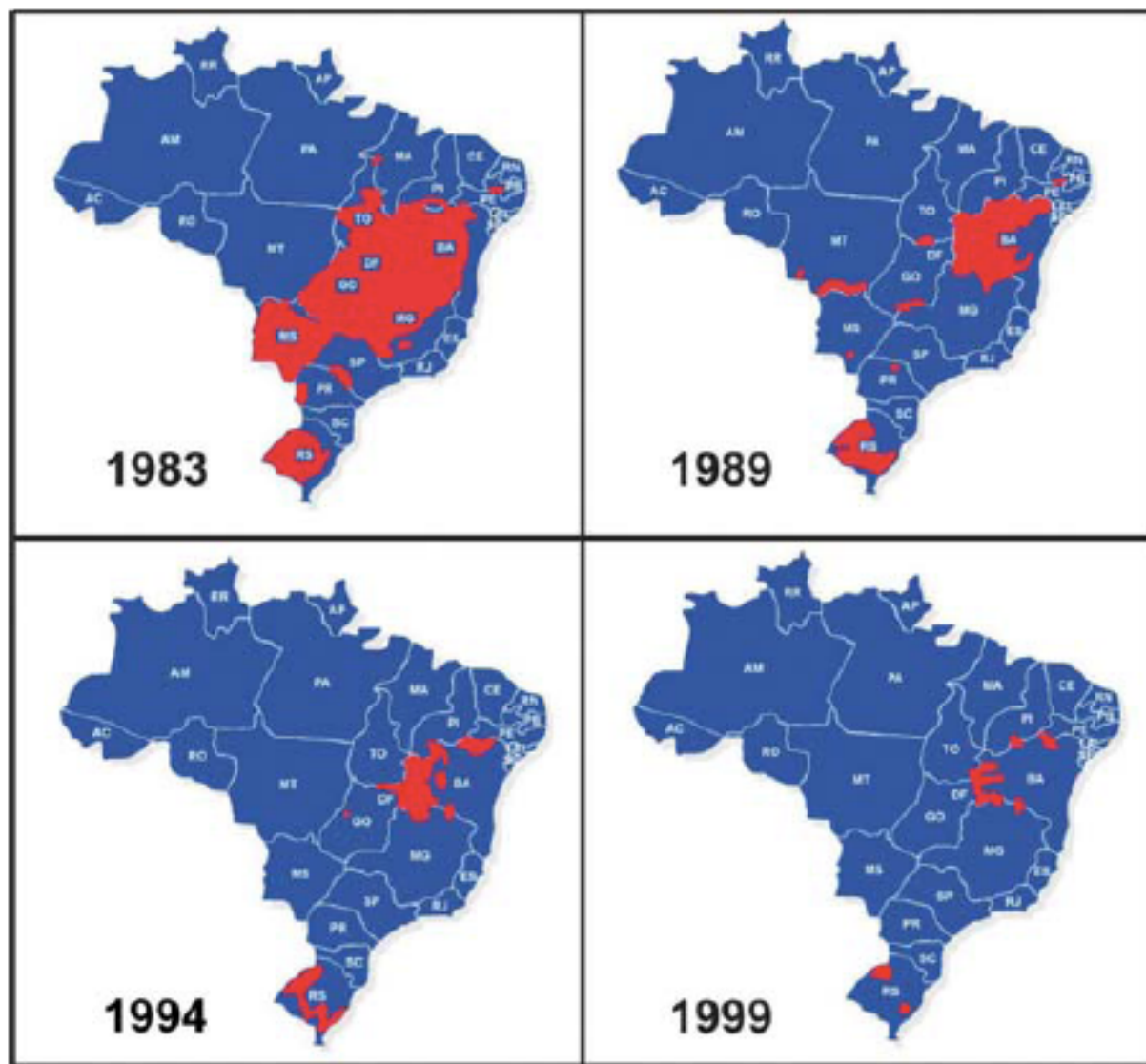
Panstrongilus megistus



Triatoma brasiliensis

Triatoma infestans

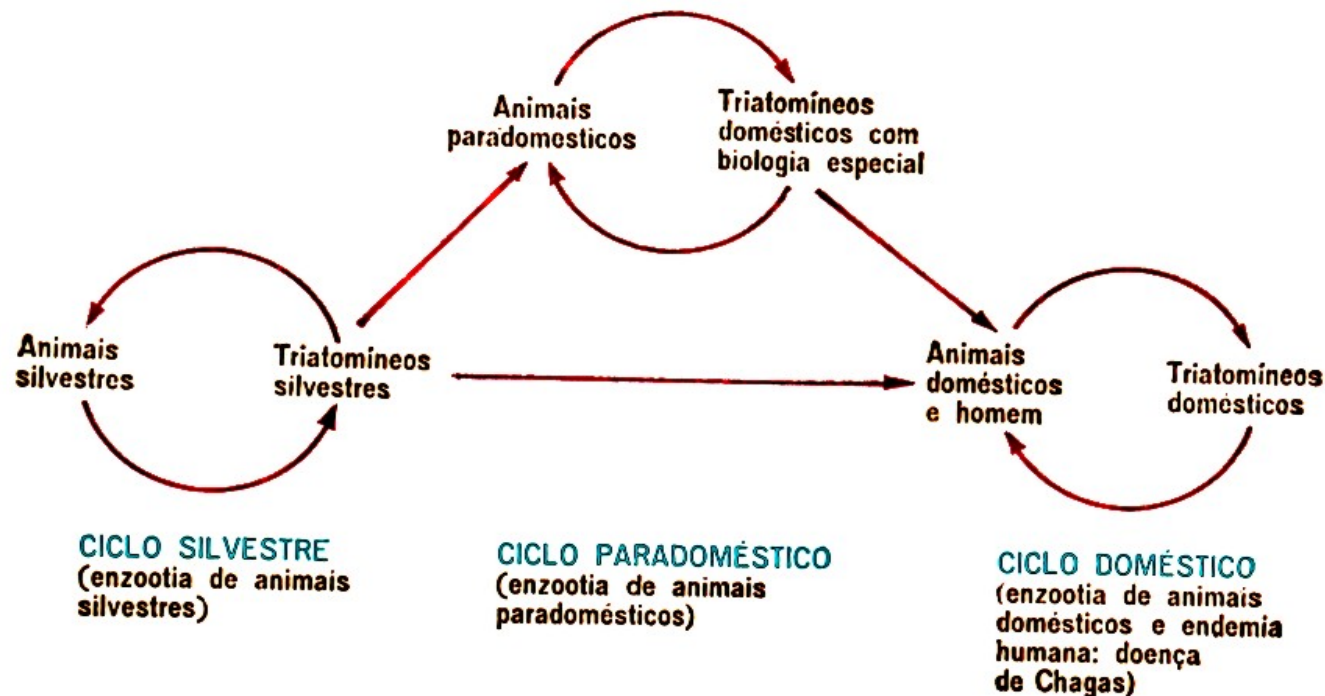
Área de dispersão do *Triatoma infestans* 1983 a 1999



Modificado de Dias (2002).

Ciclos de transmissão

1. Ciclo silvestre (zoonose) - reservatórios silvestres: só mamíferos (gambá, tatu, roedores, tamanduá, preguiça, morcegos, macacos, etc);
2. Ciclo para-doméstico - animais domésticos (cão, gato, porcos) - homem;
3. Ciclo doméstico - homem - triatomíneo doméstico- homem.



Linhagens ou cepas de *T. cruzi*.

- ✓ Mais de 60 linhagens ou cepas já foram descritas;
- ✓ Dividem-se em 6 grupos, de acordo com a tabela abaixo:

TABLE I
2009 nomenclature for *Trypanosoma cruzi* divisions

DTU designation	Abbreviation	Equivalence to former <i>T. cruzi</i> grouping schemes
<i>T. cruzi</i> I	TcI	<i>T. cruzi</i> I ^{a, b} and DTU I ^c
<i>T. cruzi</i> II	TcII	<i>T. cruzi</i> II ^a and DTU IIb ^c
<i>T. cruzi</i> III	TcIII	Z3/Z1 ASAT ^d , Z3-A ^e , DTU IIc ^c and <i>T. cruzi</i> III ^f
<i>T. cruzi</i> IV	TcIV	Z3 ^d , Z3-B ^e and DTU IIa ^c
<i>T. cruzi</i> V	TcV	Bolivian Z2 ^d , rDNA 1/2 ^g , clonet 39 ^h and DTU IIc ^c
<i>T. cruzi</i> VI	TcVI	Paraguayan Z2 ⁱ , Zymodeme B ^j and DTU IIe ^c

a: Anonymous 1999; *b*: Falla et al. 2009; *c*: Brisse et al. 2000; *d*: Miles et al. 1981; DTU: discrete typing units; *e*: Mendonça et al. 2002; *f*: Freitas et al. 2006; *g*: Souto et al. 1996; *h*: Tibayrenc and Ayala 1991; *i*: Chapman et al. 1984; *j*: Carneiro et al. 1990.

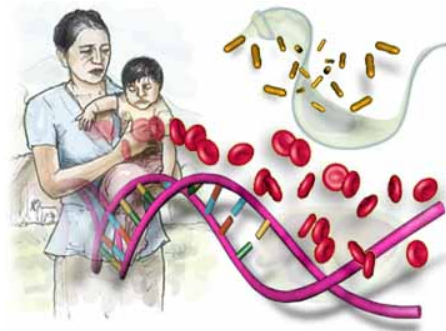
Transmissão

- ✓ Aproximadamente 80% da transmissão é vetorial;
- ✓ Durante a picada o inseto alimenta-se do sangue do hospedeiro e defeca próximo ao local da picada;
- ✓ nas fezes do vetor estão presentes as formas infectantes (tripomastigotas metacíclicas).



Outras formas de transmissão

- ✓ **Transfusão sanguínea (~16%)**
(importante em áreas não endêmicas)



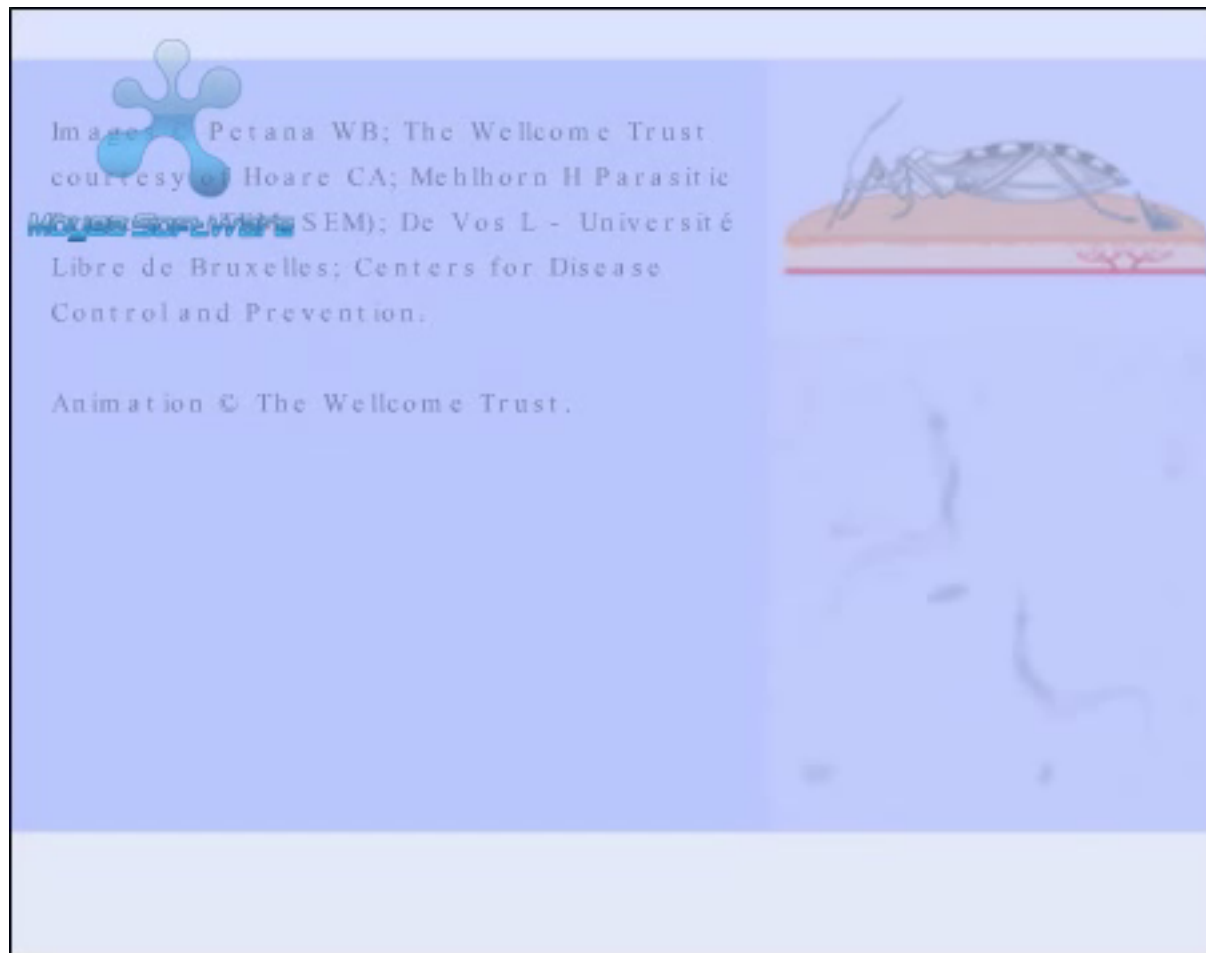
- ✓ **Congênita (<1%)**

- ✓ **Acidentes de laboratório** (fezes de triatomíneos, culturas de *T. cruzi*, manejo de animais em experimentação)

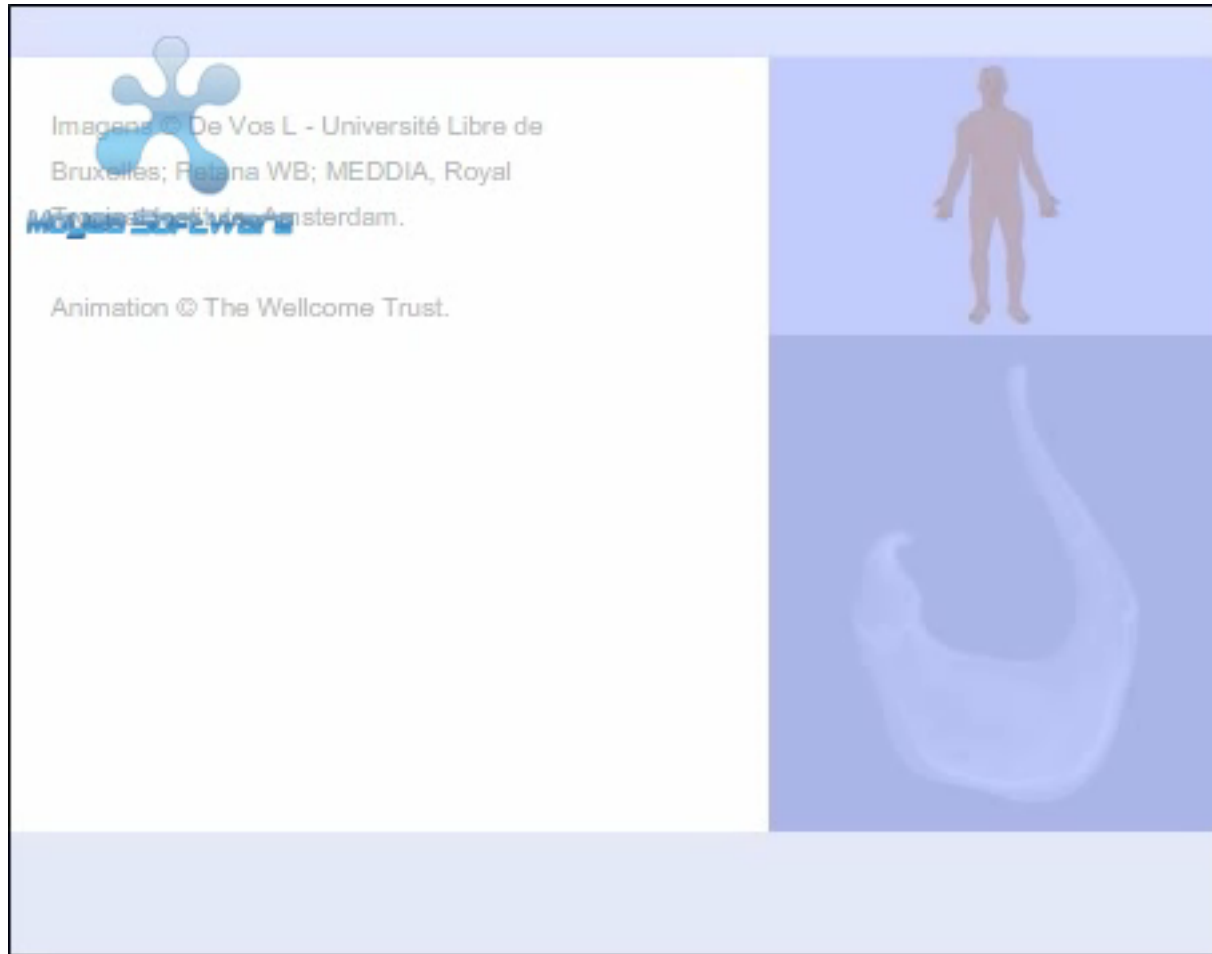
- ✓ **Oral** (triatomíneos infectados macerados junto com alimentos, p. ex. açaí, caldo de cana): tem adquirido importância epidemiológica devido aos surtos ocorridos nos últimos anos

- ✓ **Transplante de órgãos**

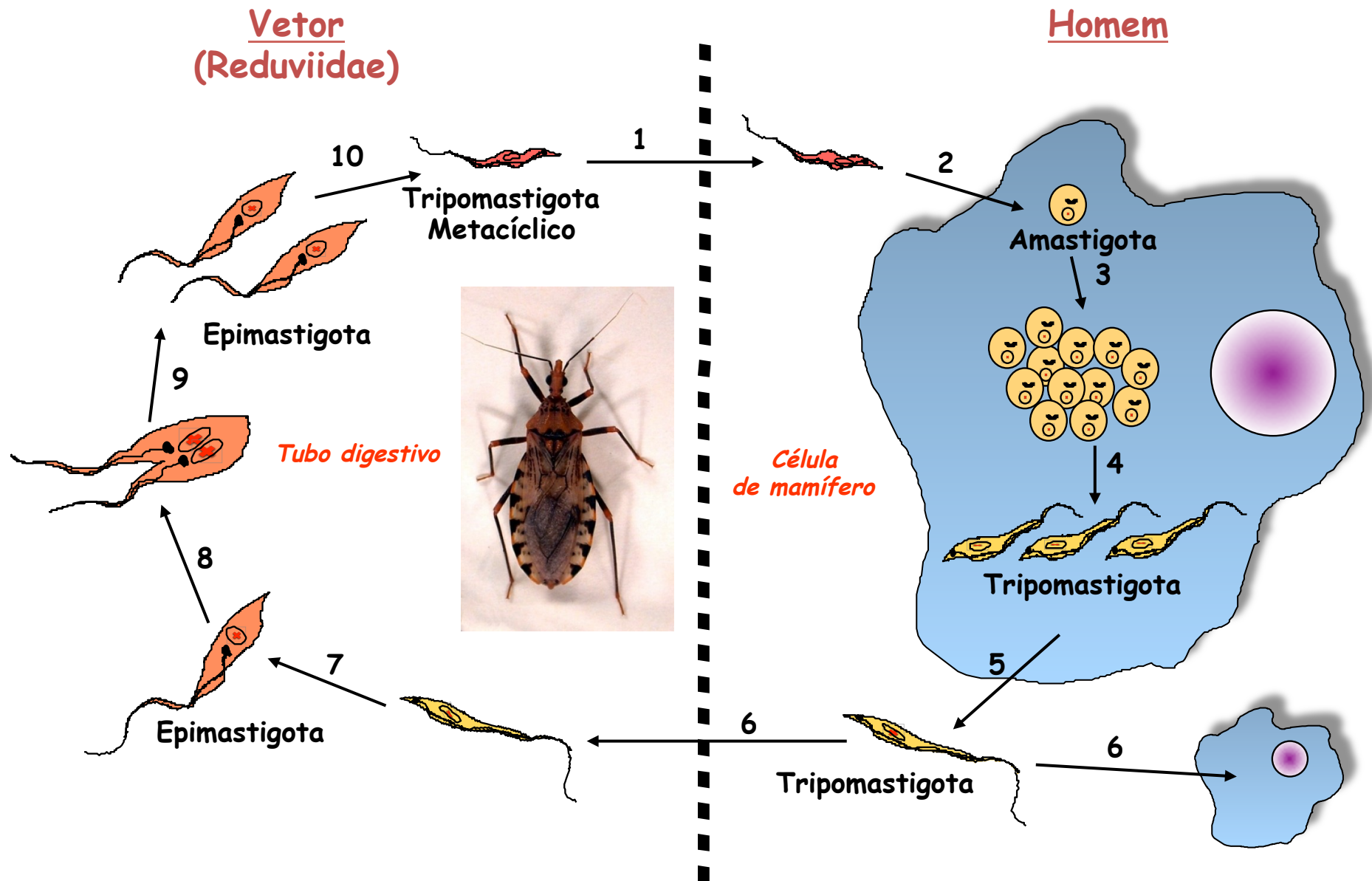
Ciclo evolutivo no hospedeiro vertebrado



Ciclo evolutivo no hospedeiro invertebrado

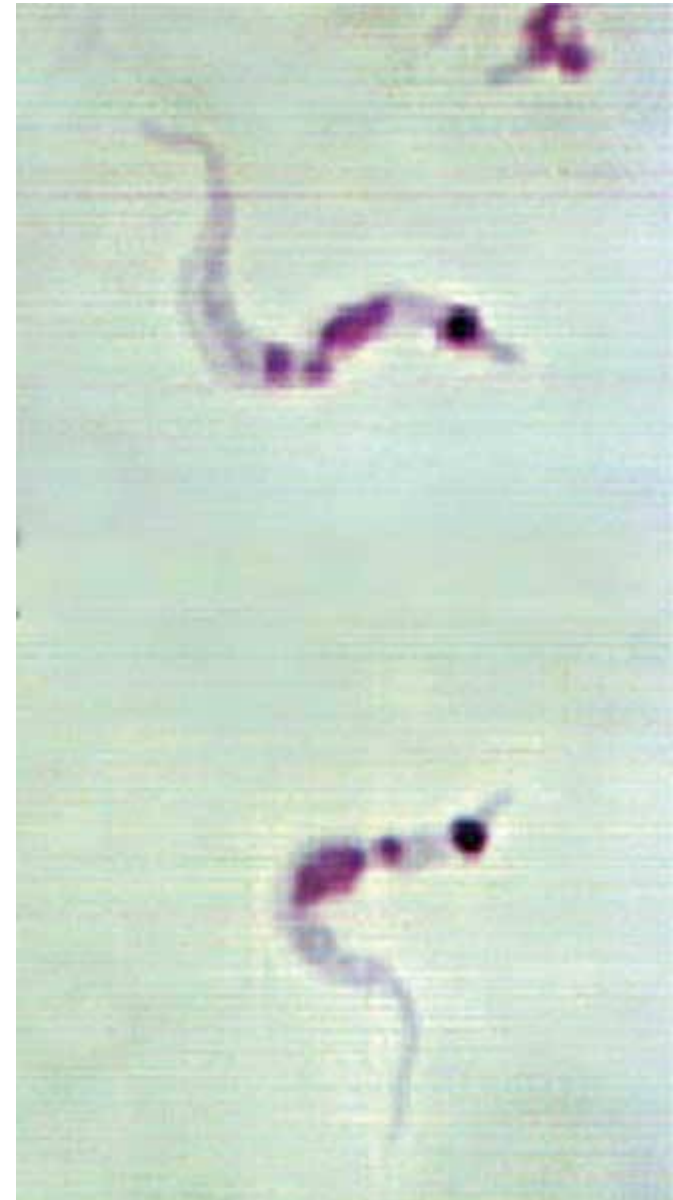


Ciclo evolutivo



O tripomastigota metacíclico

- ✓ É a forma infectiva encontrada no intestino posterior do inseto vetor;
- ✓ Mede cerca de 17 μm de comprimento;
- ✓ É fina e com cinetoplasto grande;
- ✓ Membrana ondulante estreita;
- ✓ Curto flagelo livre;
- ✓ Tem capacidade invasiva para atravessar mucosas e a conjuntiva, ou penetrar pelas soluções de continuidade da pele.

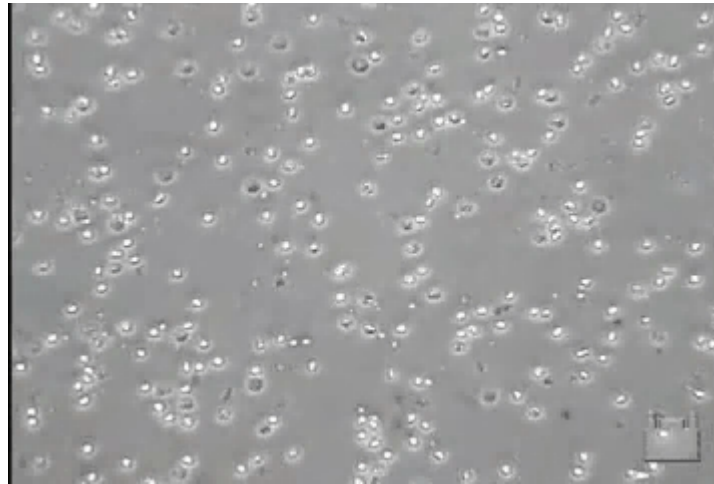


O tripomastigota sanguíneo

- ✓ É capaz de infectar diferentes tipos celulares;
- ✓ Mede cerca de 20 μm de comprimento por 2 μm de largura;
- ✓ Apresenta cinetoplasto grande e redondo, bastante saliente;
- ✓ O flagelo representa cerca de 1/3 do comprimento total;
- ✓ Há duas formas distintas:
 - ✓ **Finas**: penetram rapidamente nas células do hospedeiro e são mais sensíveis às reações imunológicas;
 - ✓ **Largas**: não penetram nas células do hospedeiro e são mais resistentes às reações imunológicas. São bastante infectivas para os triatomíneos.



Invasão da célula pelo tripomastigota



- ✓ A formas tripomastigotas são capazes de invadir diferentes tipos celulares, especialmente:
 - ✓ células do sistema fagocítico mononuclear
 - ✓ fibras musculares estriadas (tanto cardíacas como esqueléticas)
 - ✓ fibras musculares lisas
 - ✓ células nervosas

Interação *T. cruzi*-célula hospedeira

Fagócito
macrófago

penetração passiva

fagocitose clássica

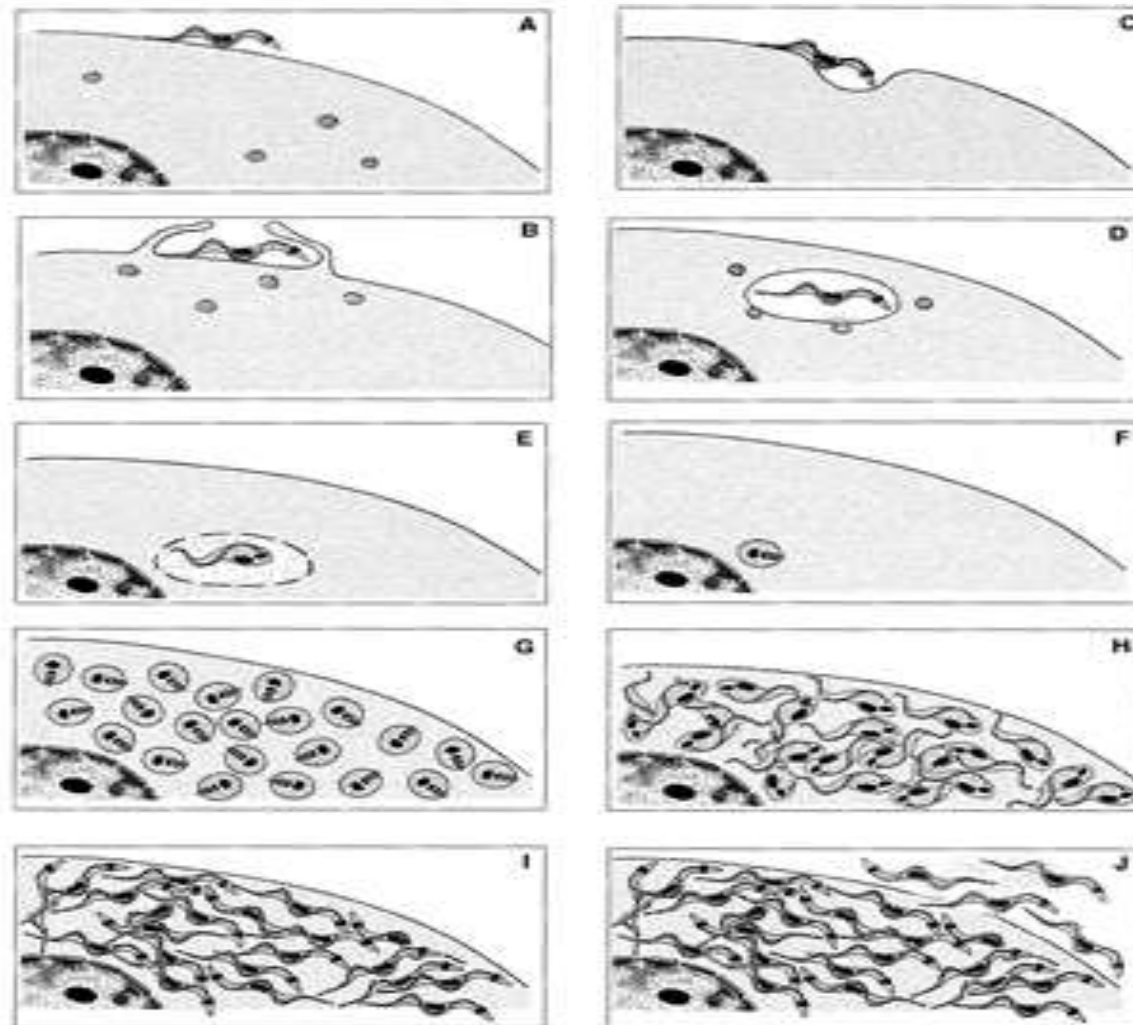
Células não fagocíticas
epiteliais, musculares, nervosas

penetração ativa

fagocitose induzida

Adesão e invasão de células

1. Células fagocíticas: fagocitose clássica



Adesão e invasão de células

2. Células não fagocíticas



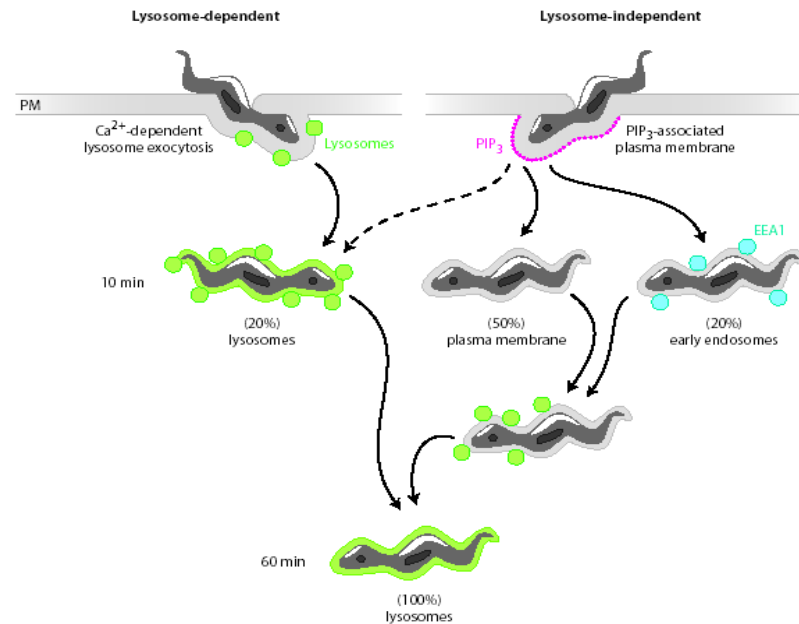
adesão

Sinalização

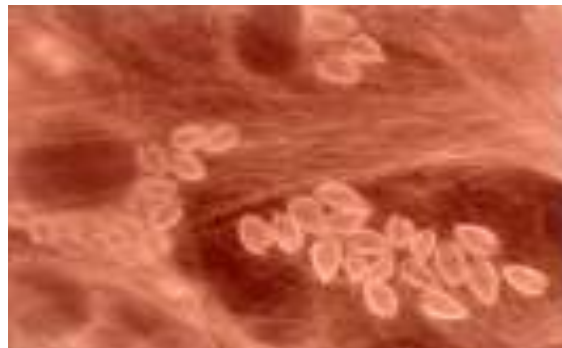


invasão

Escape do vacúolo parasitóforo.



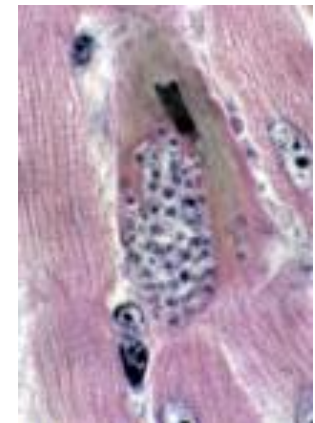
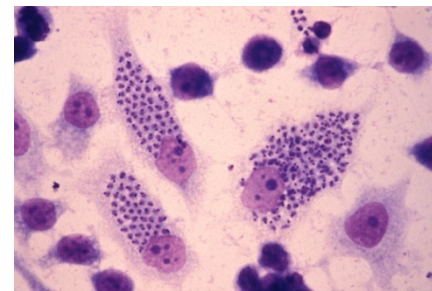
Escape do vacúolo
parasitóforo
TcTOX
Hemolisina (TS)



Amastigotas
Livres no citoplasma

O amastigota

- ✓ É a forma encontrada dentro da célula parasitada;
- ✓ É ovóide e mede 4 μm no maior diâmetro;
- ✓ Não possui flagelo ou membrana ondulante;
- ✓ Núcleo ovóide e compacto e cinetoplasto com aspecto de disco convexo-côncavo próximo ao núcleo;
- ✓ Multiplica-se por divisão binária simples (12 horas);
- ✓ O ciclo intracelular dura cerca de 5-6 dias e produz cerca de 9 gerações de parasitas.

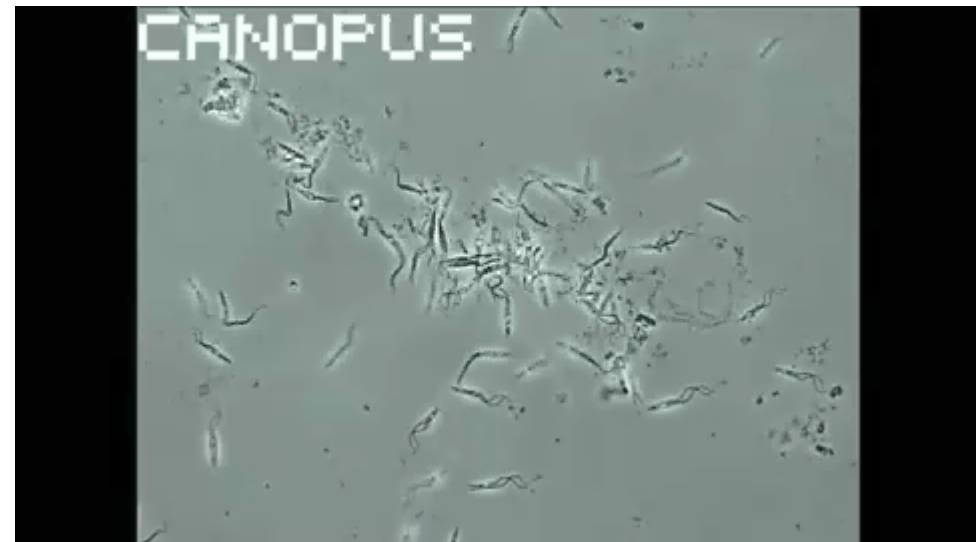


Tripomastigotas - Amastigotas - Tripomastigotas.



O epimastigota

- ✓ Desenvolve-se na porção posterior do intestino médio do inseto;
- ✓ Dimensões variáveis;
- ✓ Citoplasma abundante;
- ✓ Cinetoplasto situado perto do núcleo;
- ✓ Reproduz-se por divisão binária longitudinal;
- ✓ Muitas vezes os epimastigotas agrupam-se formando rosáceas, com as extremidades flageladas voltadas para o centro.



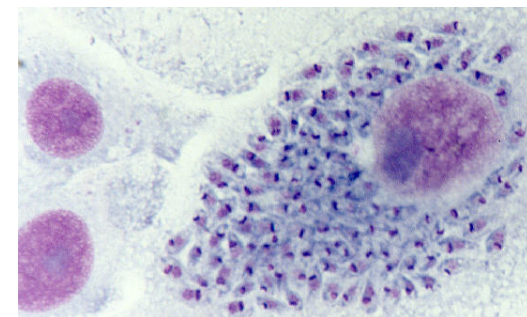
Forma	Hospedeiro	Multiplicação	Localização
Epimastigotas	Inseto	Divisão binária	Trato digestivo anterior e médio
Tripomastigotas Metacíclicos	Inseto	Não se multiplica	Trato digestivo posterior
Amastigotas	Mamífero	Divisão binária	Interior de células nucleadas
Tripomastigotas Sanguíneos	Mamífero	Não se multiplica	Sangue



Epimastigota



Tripomastigota



Amastigota

Período de incubação.

- ✓ Depende do inóculo, da via de penetração, da cepa do parasita e das condições do paciente;
- ✓ Transmissão vetorial: 5-15 dias;
- ✓ Transmissão oral: 3 a 22 dias;
- ✓ Transfusão sanguínea: 30-40 dias podendo estender-se por mais de 60 dias.
- ✓ Transmissão vertical: pode ocorrer em qualquer período da gestação ou durante o parto.

Patogenia

Fase Aguda

duração 3-4 meses

Sintomática ou Assintomática

✓ Manifestações locais:

- Sinal de Romaña (edema na região da pálpebra)
- Chagoma de inoculação (resposta inflamatória no local da entrada do parasito)



✓ Manifestações gerais: Parasitemia patente

✓ Outros sintomas

- Febre, mal estar, cefaléia e anorexia;
- Linfadenomegalia e hepatoesplenomegalia sutis;
- Miocardite aguda com alterações eletrocardiográficas (raramente);
- Meningoencefalite (raramente).

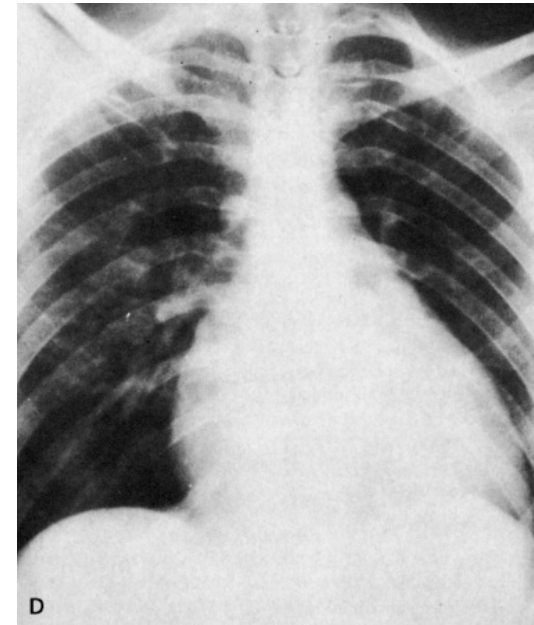


Patogenia

Fase Crônica

duração 5 a 30 anos

1. Formas indeterminadas;
2. Cardiopatia chagásica crônica;
3. Formas digestivas (megas).



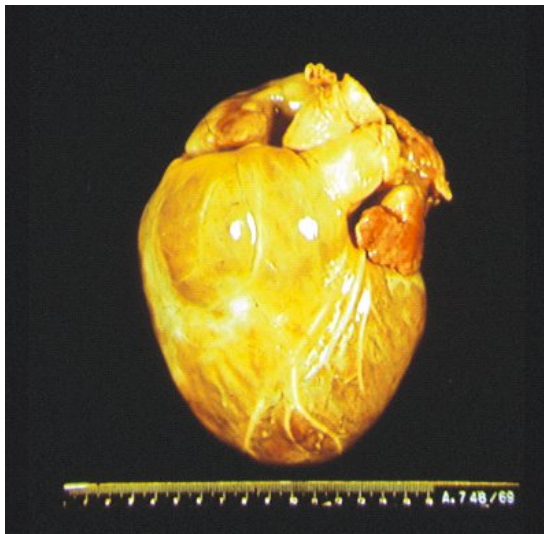
1. Forma indeterminada ou de latência.

- ✓ Ausência de manifestações clínicas, radiográficas e eletrocardiográficas;
- ✓ A maioria dos pacientes permanece na forma indeterminada, sem apresentar sintomatologia, por toda a vida;
- ✓ Parasitemia - subpatente.

2. Cardiopatia chagásica crônica - CCC.

- ✓ Aparecimento cerca de 15-20 anos após a infecção inicial;
- ✓ É a mais importante forma de limitação ao doente chagásico e principal causa de morte;
- ✓ Pode apresentar-se sem sintomatologia, mas com alterações eletrocardiográficas;
- ✓ Caracterizada por miocardite crônica progressiva, dilatação de cavidades e hipertrofia ventricular, distúrbios de condução elétrica, arritmias e insuficiência cardíaca.

Cardiomegalia



Aneurisma de ponta



3. Formas digestivas (megas).

➤ Caracterizam-se por alterações ao longo do trato digestivo

✓ destruição de neurônios dos plexos mioentéricos (parassimpático)

✓ esfíncteres em contração permanente (simpático)

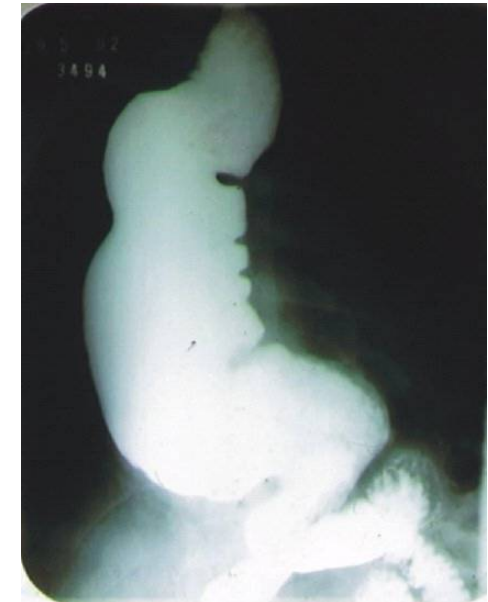
❖ Dificuldade de trânsito de alimentos/ fezes

- cárdia: acúmulo de alimentos -

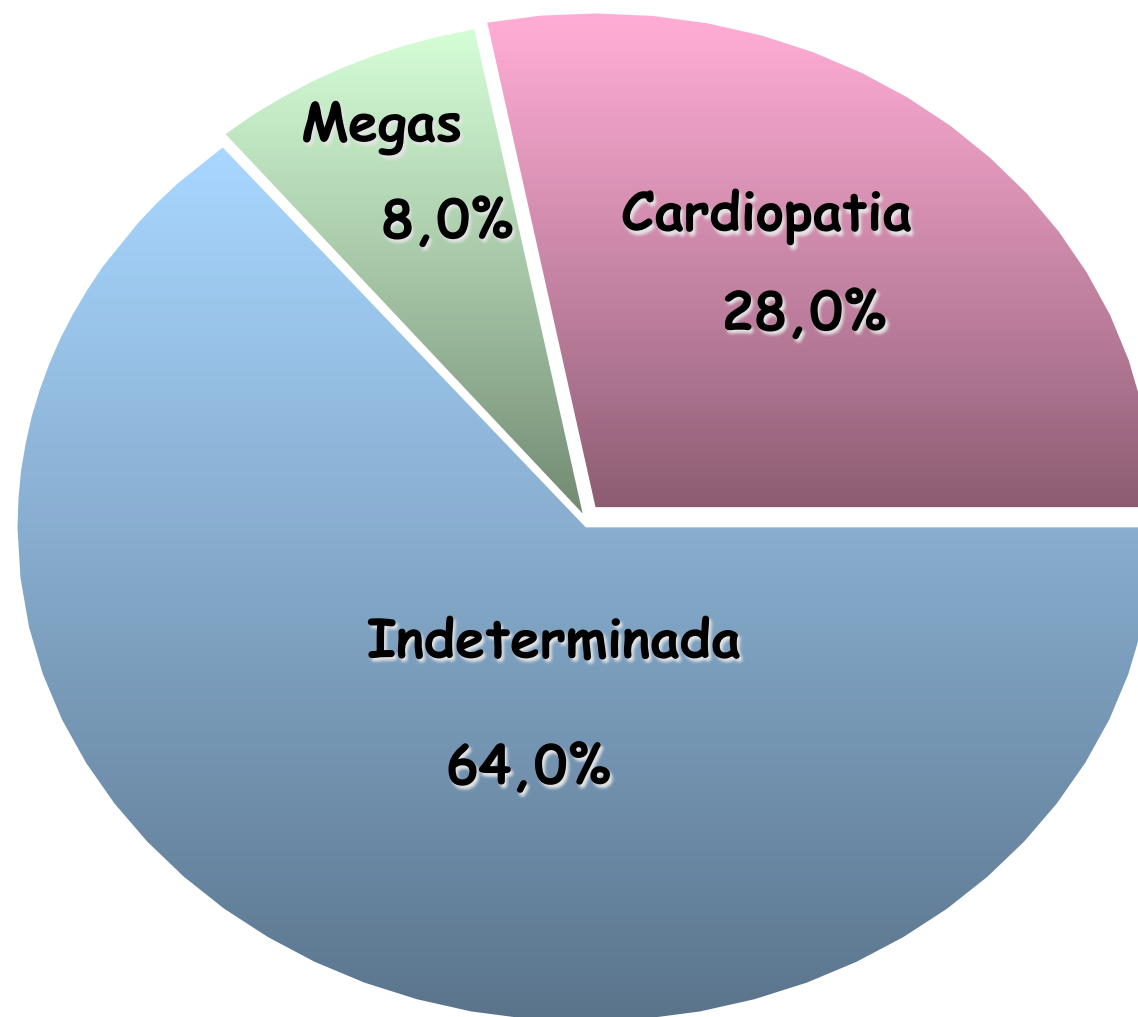
megaesôfago

- reto-sigmóide: acúmulo de fezes -

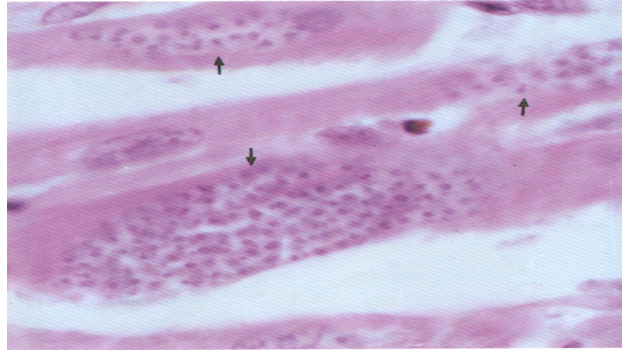
megacólon



Fase Crônica



Mecanismos de Patogenicidade

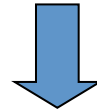


- Destruição células parasitadas pelo *T. cruzi*.
- ✓ Antígenos de *T. cruzi* expressos na membrana de células do hospedeiro em complexos peptídeo-MHC

- Destruição células não parasitadas pelo *T. cruzi*.
- ✓ Autoimunidade: Antígenos *T. cruzi* reagem cruzadamente com antígenos de células hospedeiras - reatividade cruzada

Resposta imune

T. cruzi



Resposta imune do hospedeiro

Celular

Humoral

Inata



Adaptativa



Protetora

MØs

Células dendríticas

Células NK

Linfócitos T

Linfócitos B

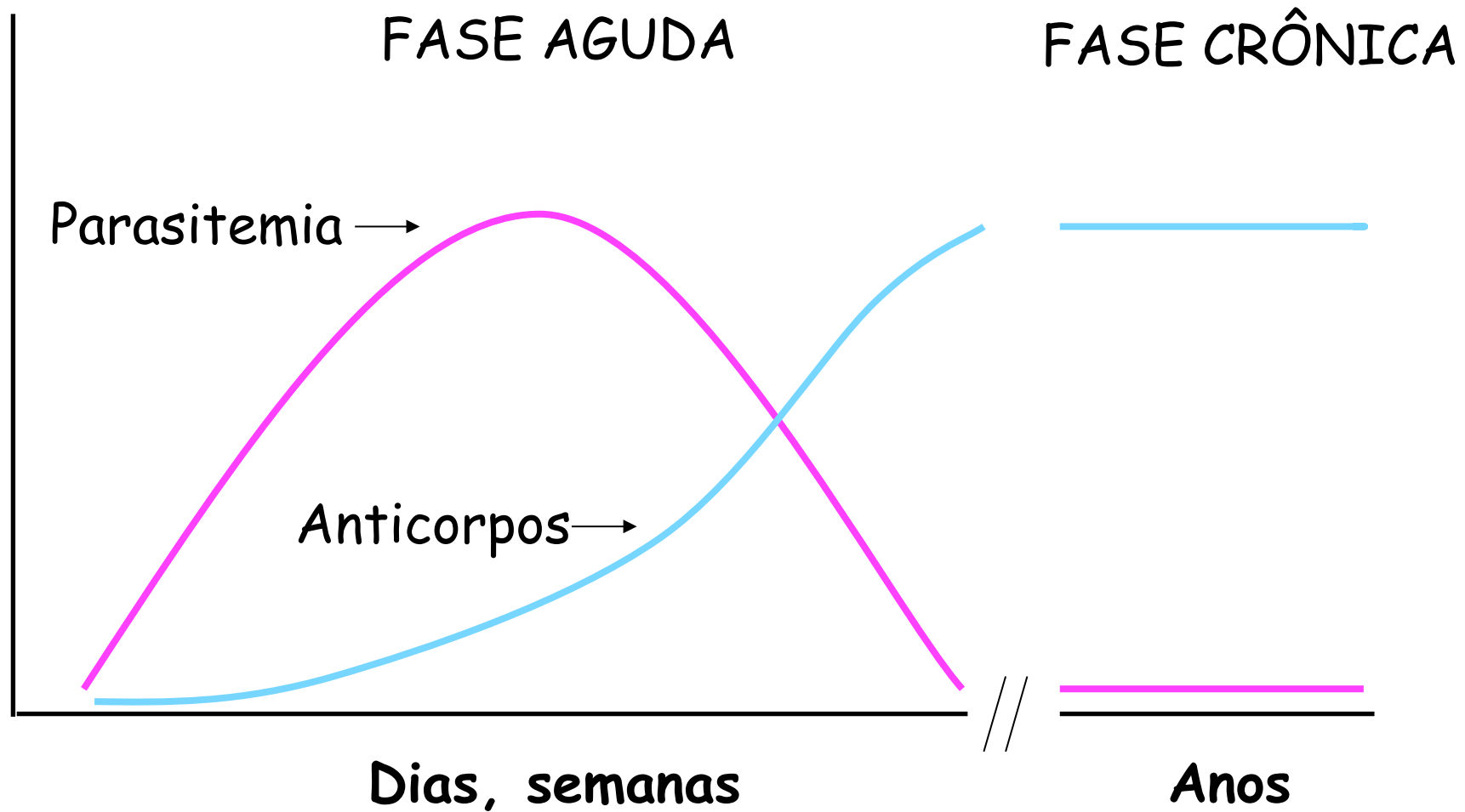
Anticorpos líticos

Resposta imune.

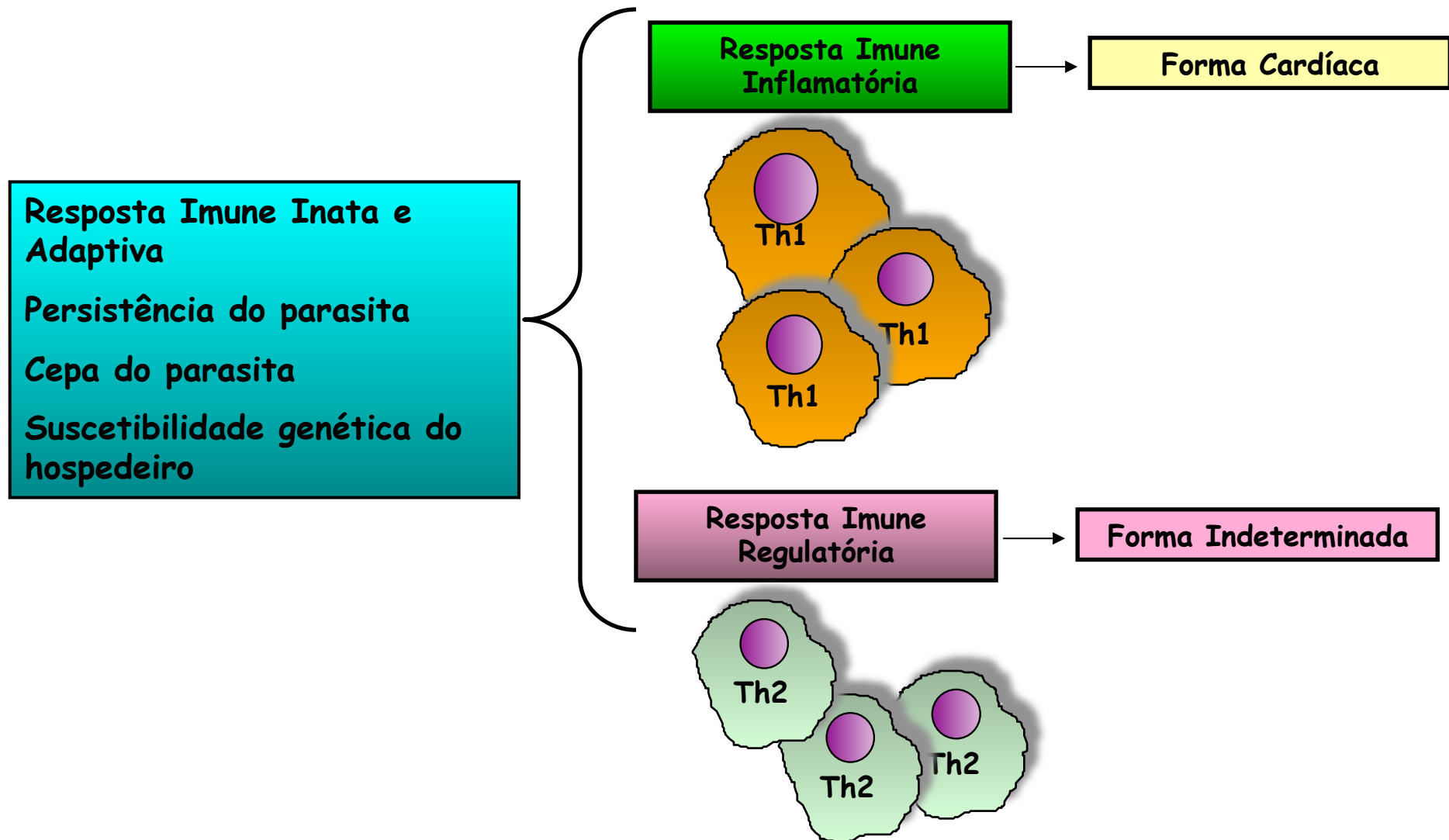
Equilíbrio relação parasito-hospedeiro

- Parasitemia baixíssima - Parasita nunca é totalmente eliminado
- Resposta Imune Humoral
 - ✓ anticorpos IgG anti-tripomastigotas
 - ✓ opsonização: macrófagos ativados matam parasita
 - ✓ bloqueio da penetração
 - ✓ lise complemento, ADCC ("antibody-dependent cell mediated cytotoxicity")
- Resposta Imune Celular
 - ✓ Células efectoras - T, NK, Macrófagos

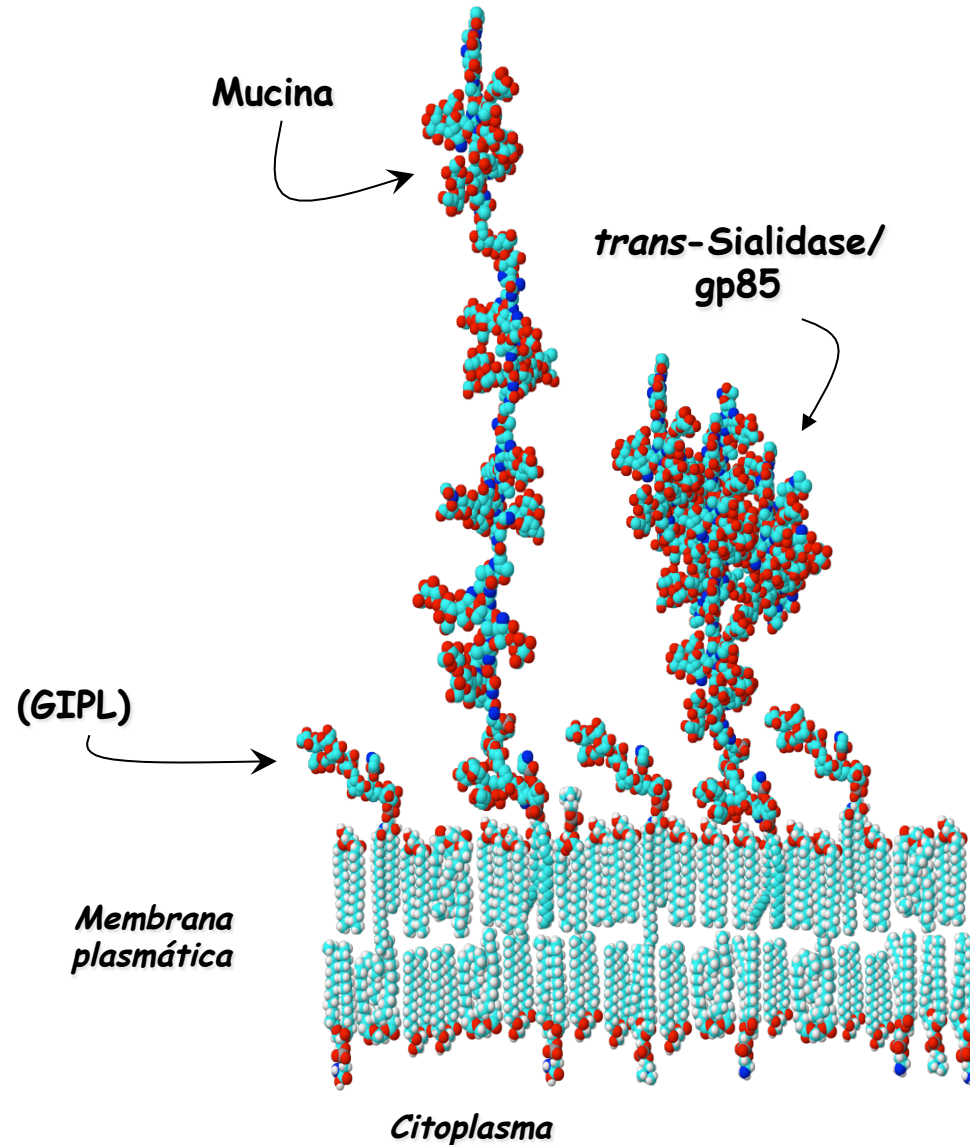
Resposta imune de anticorpos IgG.



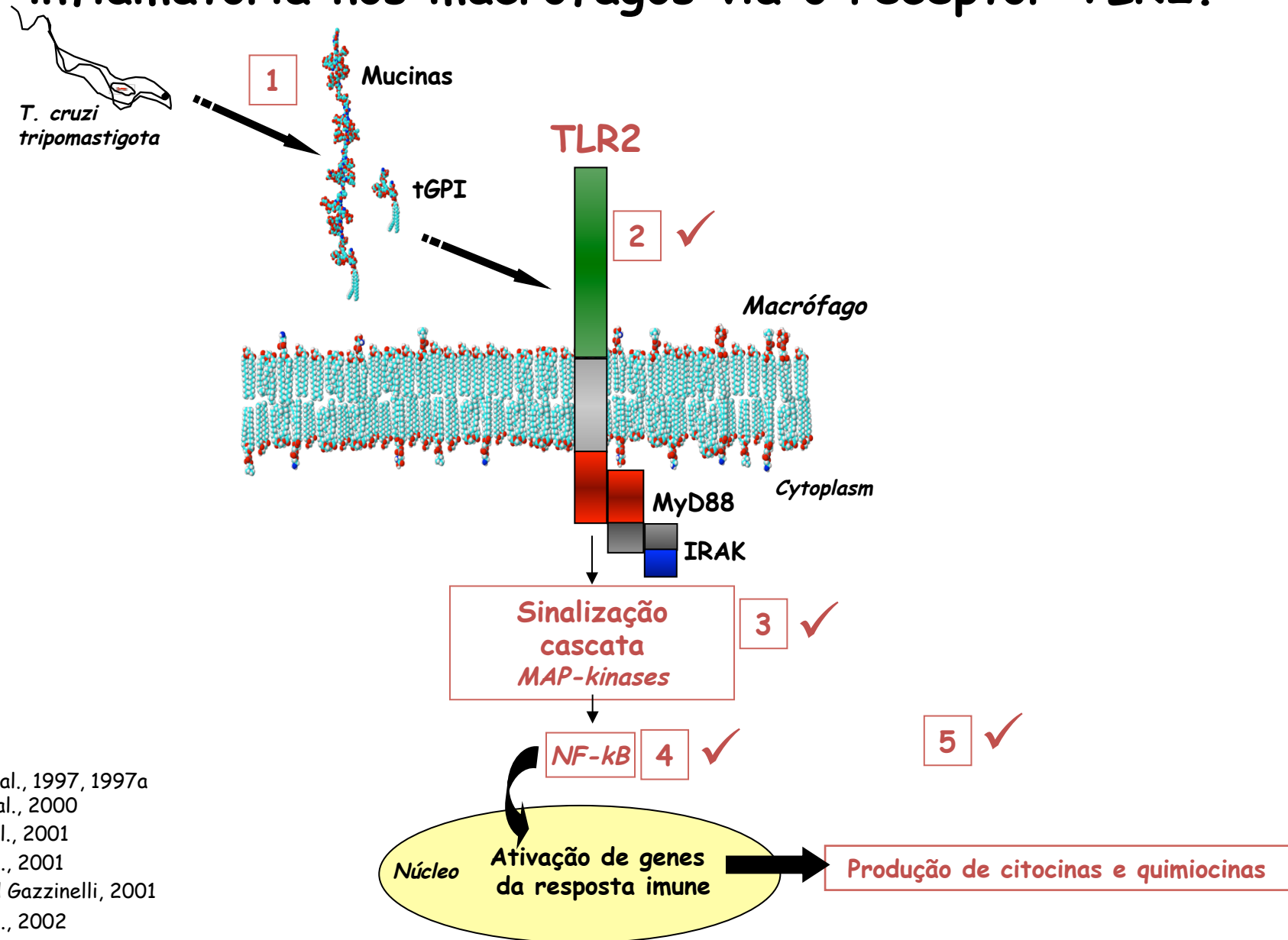
O balanço da resposta imune pode definir o estabelecimento das formas cardíaca ou indeterminada da doença de Chagas.



Principais moléculas de superfície do parasita envolvidas na resposta imune.



As mucinas e GPIs induzem uma forte resposta pró-inflamatória nos macrófagos via o receptor TLR2.



Camargo et al., 1997, 1997a
Almeida et al., 2000
Campos et al., 2001
Ropert et al., 2001
Almeida and Gazzinelli, 2001
Ropert et al., 2002

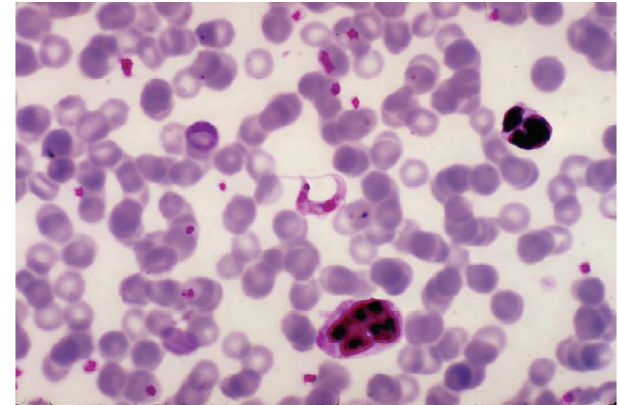
Mecanismos de Escape

- ✓ Localização intracelular;
- ✓ Imunossupressão fase aguda;
- ✓ Escape do fagolisossoma para o citoplasma da célula;
- ✓ Capping-shadding;
- ✓ Fatores interferem cascata complemento;
- ✓ Indução de apoptose de células T.

Diagnóstico Parasitológico

✓ Diretos - FASE AGUDA

- Exame a fresco em lâmina (motilidade)
- Gota espessa ou esfregaço corado com Giemsa ou Leishman (morfologia)
- Centrifugação em tubos capilares (micro-hematócrito) - baixa parasitemia

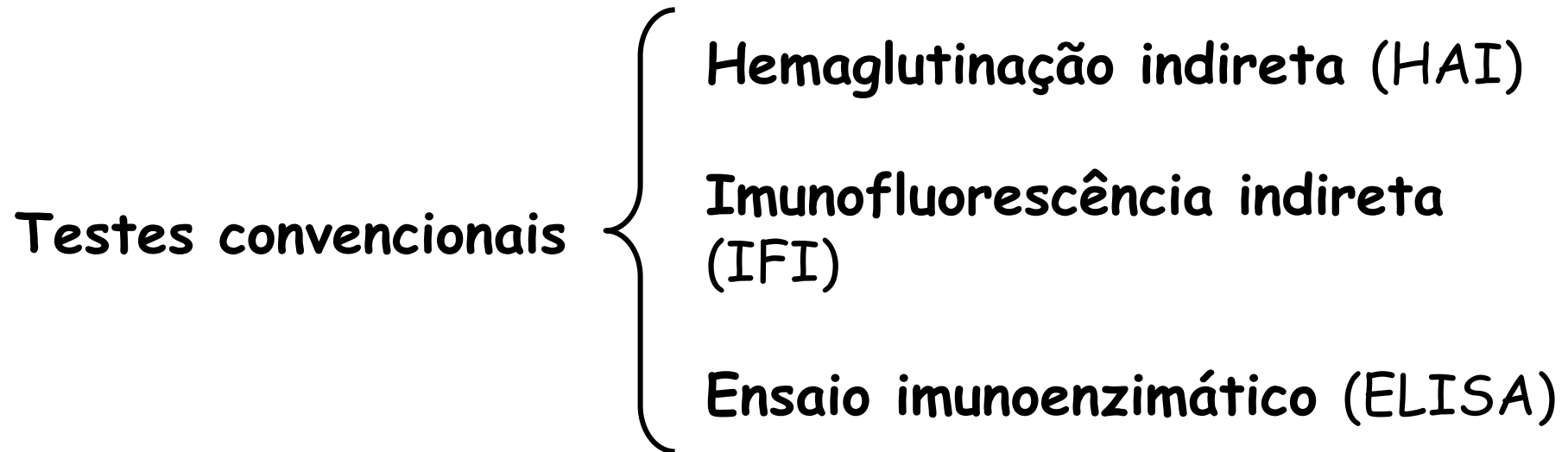


✓ Indiretos - FASE CRÔNICA

- Xenodiagnóstico (alimentação de ninfas de triatomíneos não infectadas com o sangue de pacientes).
- Hemocultura (cultura do sangue em meio LIT)
Leitura: 30, 60, 90 e 120 dias



Diagnóstico sorológico

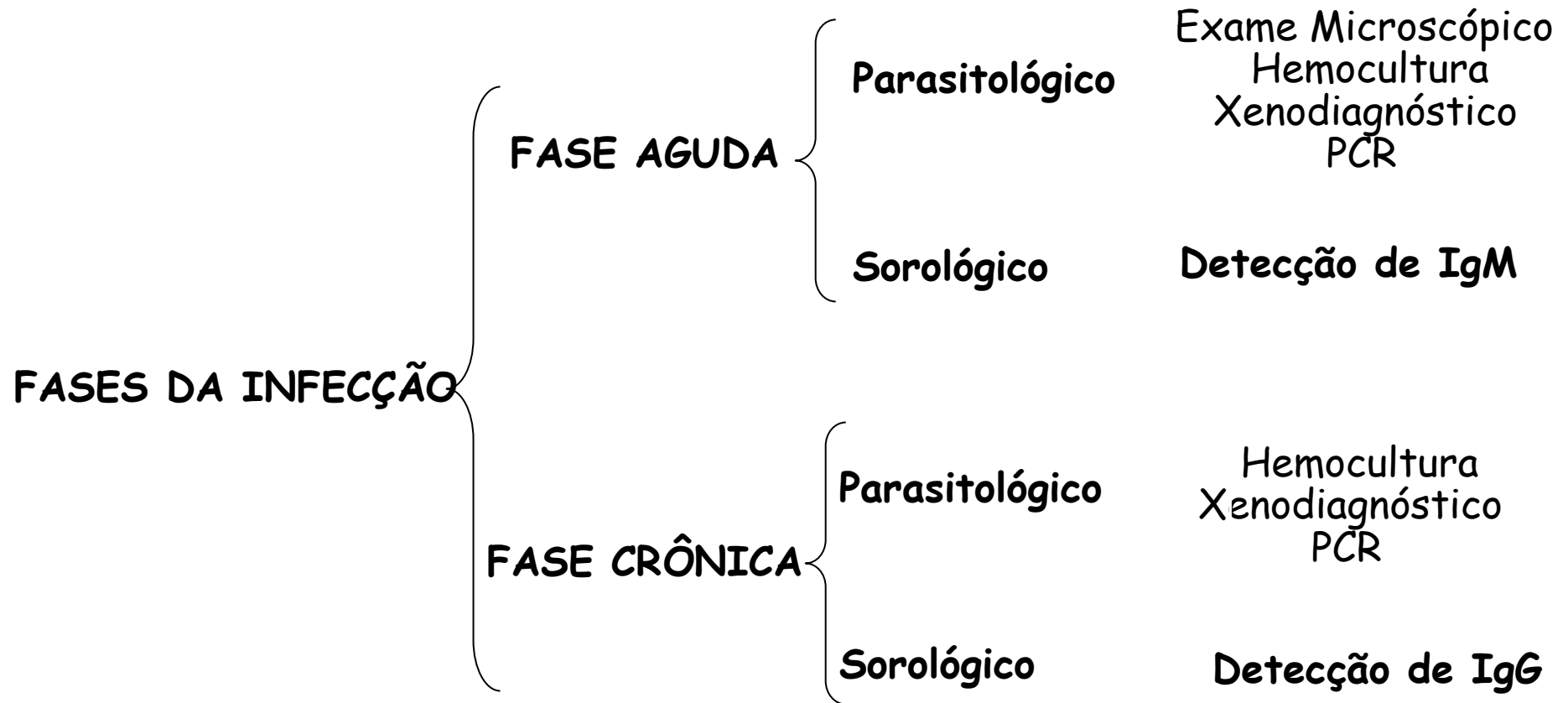


Antígenos de *T. cruzi*: Extratos totais
Frações semi-purificadas (epimastigotas)

- ✓ Fase aguda: detecção de IgM
- ✓ Fase crônica: detecção de IgG

➤ Pelo menos dois testes sorológicos devem ser realizados para confirmação dos resultados.

Diagnóstico laboratorial da doença de Chagas



Outros métodos disponíveis

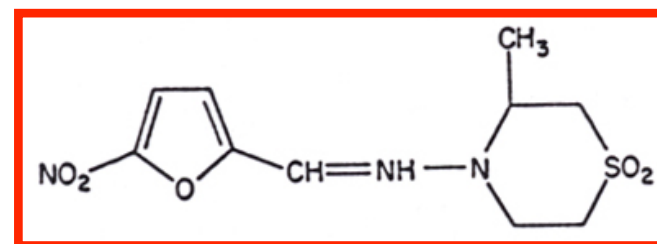
- ✓ **Teste de aglutinação em partículas de gelatina**
- ✓ **Sorologia ("western blot")** utilizando antígenos nativos: antígenos de excreção-secreção (tripomastigotas)
- ✓ **Sorologia (ELISA)** utilizando antígenos recombinantes: (i) H49/JL7, A13, B13, JL8, IF8; (ii) FRA e CRA
- ✓ **PCR**

- **Antígenos purificados** (baixo rendimento e custo alto)
- **Antígenos recombinantes**
- **Peptídeos sintéticos**
- **Combinação de antígenos recombinantes e de peptídeos sintéticos**

Tratamento

Nifurtimox (Lampit):

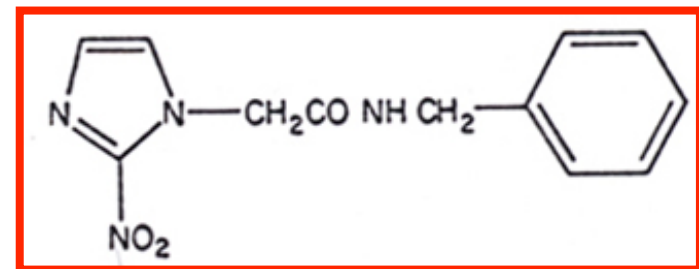
- ✓ Nitro-derivado que age através da produção de radicais livres. O parasita é mais sensível devido a uma deficiência no seu repertório de enzimas anti-oxidantes.;
- ✓ Toxicidade frequente (anorexia, náusea, vômitos, reações alérgicas);
- ✓ Parcialmente efetivo na fase aguda;
- ✓ Inativo na fase crônica (??);
- ✓ Tratamento prolongado (até 90 dias);
- ✓ 100 mg/Kg por dia;
- ✓ Somente disponível nos EUA e Canadá.



Tratamento

Benznidazole (Rochagan):

- ✓ Modo de ação ainda não completamente claro. Parece inibir a síntese de RNA e proteína;
- ✓ Toxicidade frequente (Anorexia, cefaléia, dermatopatia, gastralgia, insônia, náuseas, perda de peso, polineuropatia, vômitos);
- ✓ Parcialmente efetivo na fase aguda;
- ✓ Inativo na fase crônica (??);
- ✓ Tratamento prolongado (até 60 dias);
- ✓ adultos: 5 mg/Kg por dia.
- ✓ crianças: 5-10 mg/Kg por dia.



Tratamento



Profilaxia

✓ **Transmissão vetorial:** controle químico de vetores com inseticidas quando a investigação entomológica indicar a presença de triatomíneos domiciliados; melhoria habitacional em áreas de alto risco suscetíveis a domiciliação.

✓ **Transmissão transfusional:** manutenção do controle de qualidade rigoroso de hemoderivados. Na ausência de condições, pode-se utilizar cristal violeta nas bolsas de sangue.

✓ **Transmissão vertical:** identificação de gestantes chagásicas na assistência pré-natal ou de recém-nascidos por triagem neonatal para tratamento precoce.

✓ **Transmissão oral:** cuidados de higiene na produção e manipulação artesanal de alimentos de origem vegetal.

Transmissão acidental: utilização de equipamento de biossegurança.

Vacina???

- ✓ inúmeras tentativas: de parasitas atenuados a recombinantes

- ✓ Problemas
 - como avaliar?
 - autoimunidade?

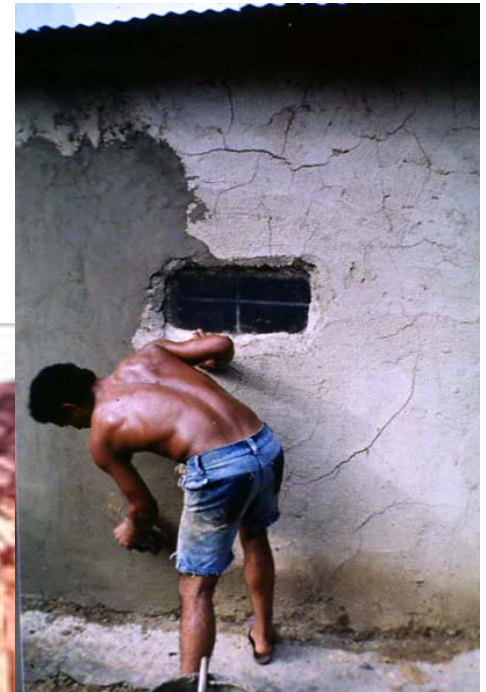
Profilaxia: Controle dos vetores.



Aplicação de
inseticidas



Uso de pintura contendo inseticida e melhoria das condições de moradia.

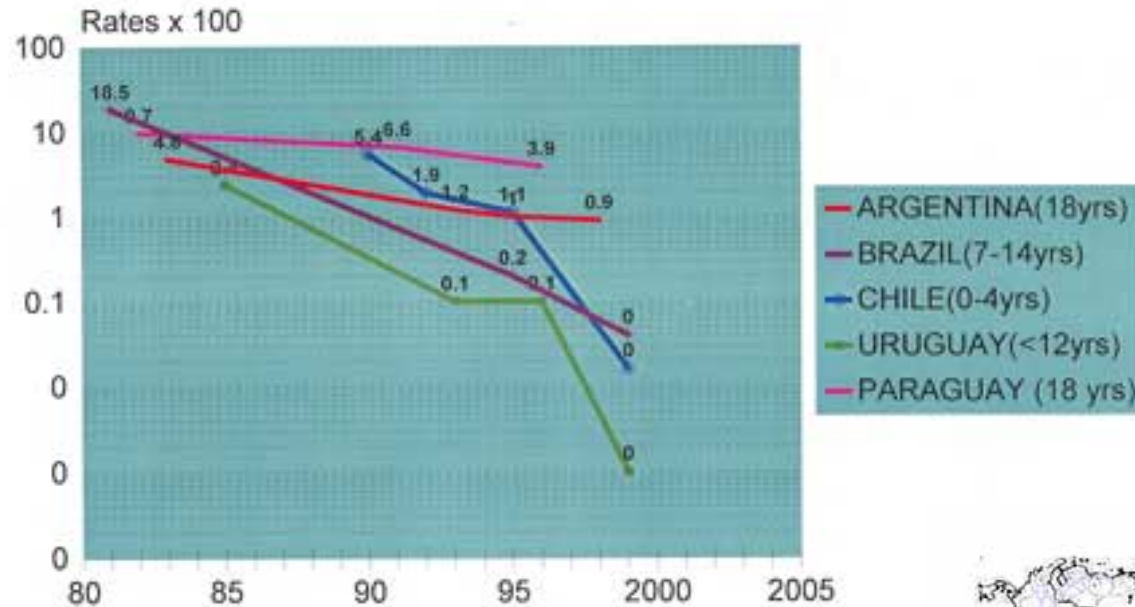


http://www-nt.who.int/tropical_diseases/databases/imagelib.pl?imageid=9105006

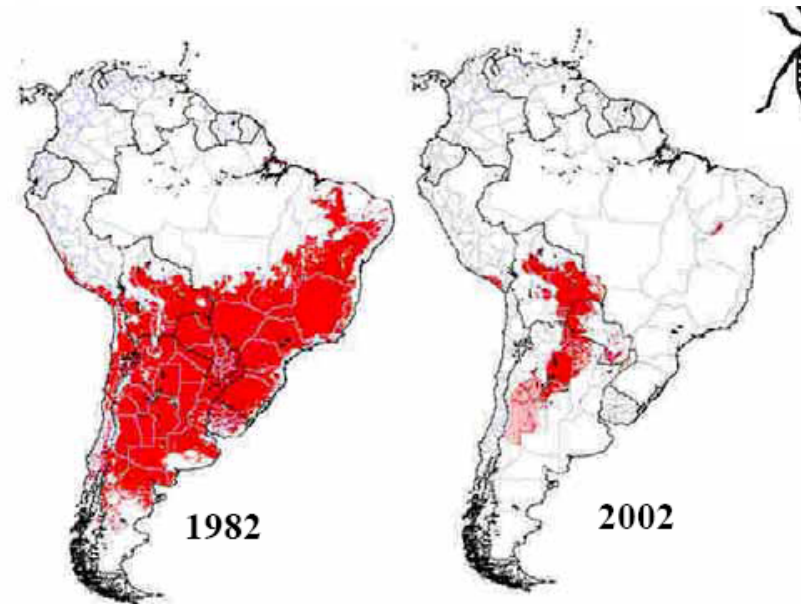
SOUTHERN CONE INITIATIVE

Controle Vetorial

Elimination of Transmission: Incidence of infection 1980-2000



Source: Reports by National Chagas disease control program



Recursos gastos para controle da doença de Chagas no Brasil (2003 a 2006).

Melhorias habitacionais	R\$ 61 milhões
Equipamentos e veículos	R\$ 9,1 milhões
Repasse a estados e municípios para atividades de controle	R\$ 3,2 milhões
Inquérito Nacional de Soroprevalência	R\$ 2,7 milhões
Reuniões de avaliação, capacitações, publicações, congressos e acompanhamento do programa junto aos estados.	R\$ 2,6 milhões
Aquisição de insumos (inseticidas)	R\$ 18 milhões
Pesquisa sobre transmissão congênita	R\$ 600 mil
Pesquisa sobre o <i>Triatoma rubrofasciata</i> em São Luis (MA)	R\$ 100 mil
Avaliação da eficácia dos kits sorológicos	R\$ 120 mil
TOTAL	R\$ 97 milhões