

FILÁRIAS

Nematóides Parasitas humanos

2 bilhões infecções por *Ascaris*, ancilostomídeos ou *Trichuris*

150 milhões - infecção por filárias

120 milhões filariose linfática

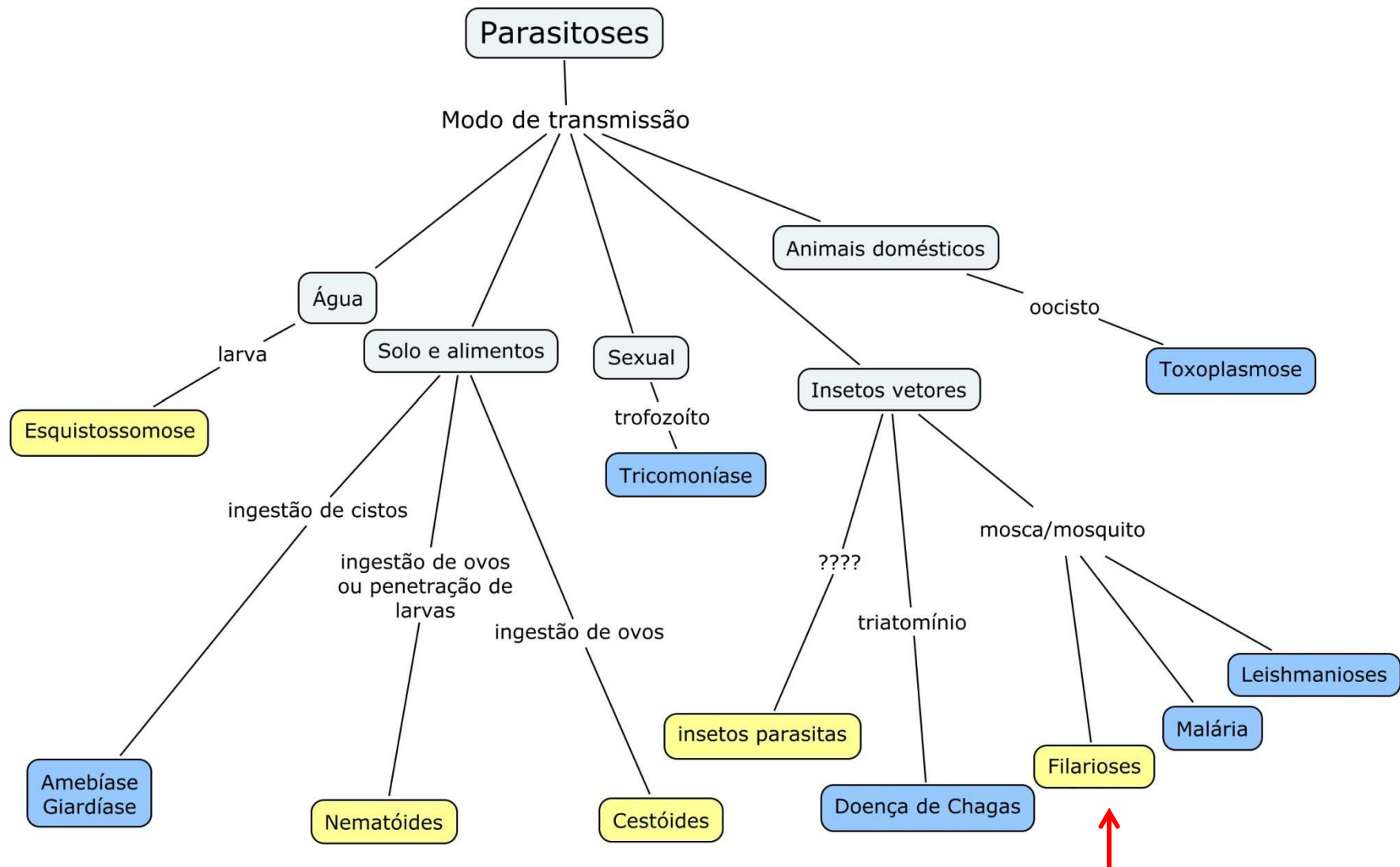
37 milhões oncocercose

Table 1. The Major Parasitic Diseases Affecting Man (Adapted from [7])

Disease	Population at Risk ($\times 10^6$)	Cases ($\times 10^6$)	Mortality ($\times 10^3$)
Malaria	>2100	270–400	1120
African trypanosomiasis	>60	0.3–0.5	49
Chagas disease	120	17	13
Leishmaniasis	350	12	57
Schistosomiasis	600	>200	15
Onchocerciasis	120	18	0
Lymphatic filariasis	1000	120	0
Intestinal protozoa	3500	450	65
Geohelminths	4500	~3000	17



Transmissão de parasitas



NEMATÓDEOS

Formas de transmissão:

- Transmissão oro-fecal
- Ingestão ovos do ambiente
- Penetração pela pele
- Vetor (inseto)

Localização:

- Intestinal
- Tecidos/ vasos

Características das Filárias

Tamanho variado (2-50cm)

Fusiformes, alongadas e não segmentadas

♂ e ♀ (♀ 2x ♂)

4 estágios larvais

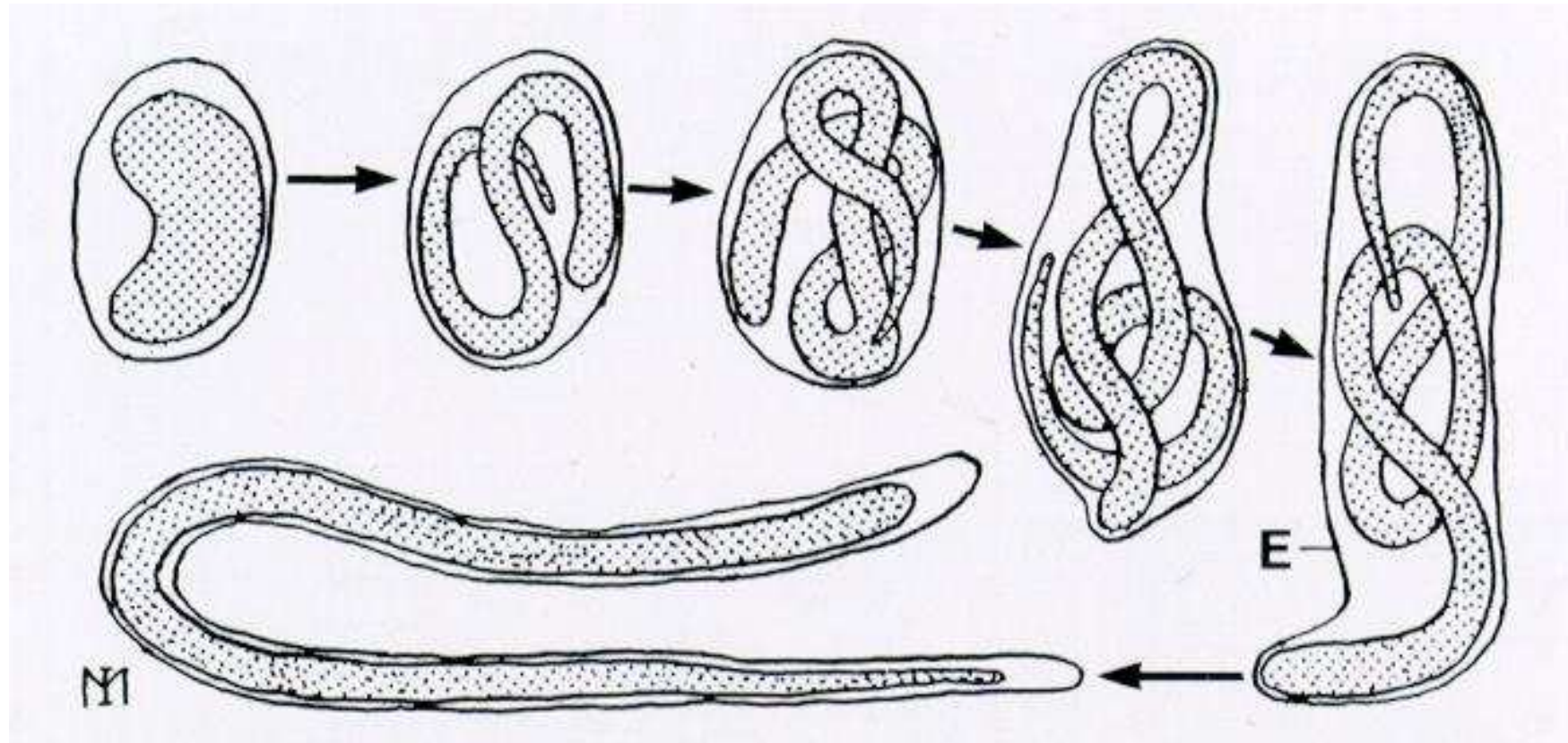
Vivíparas (geram microfilárias)

Vetor invertebrado

Multiplicação no hospedeiro vertebrado

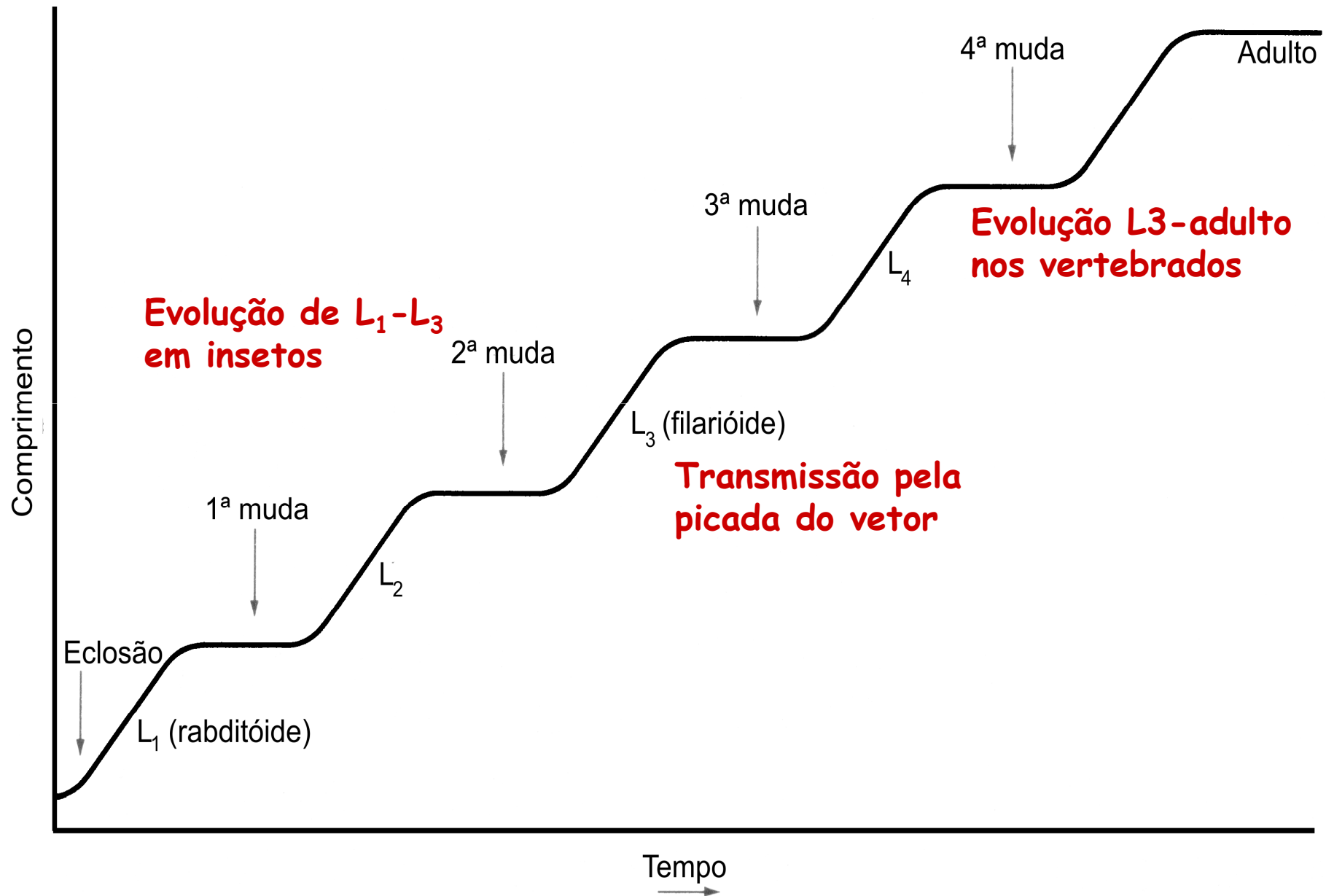
Simbiose com *Wolbachia* (fertilidade)

Desenvolvimento das microfilárias no útero



E = "membrana do ovo" (sem casca)—bainha da microfilária em algumas spp (Wuchereria)

Desenvolvimento

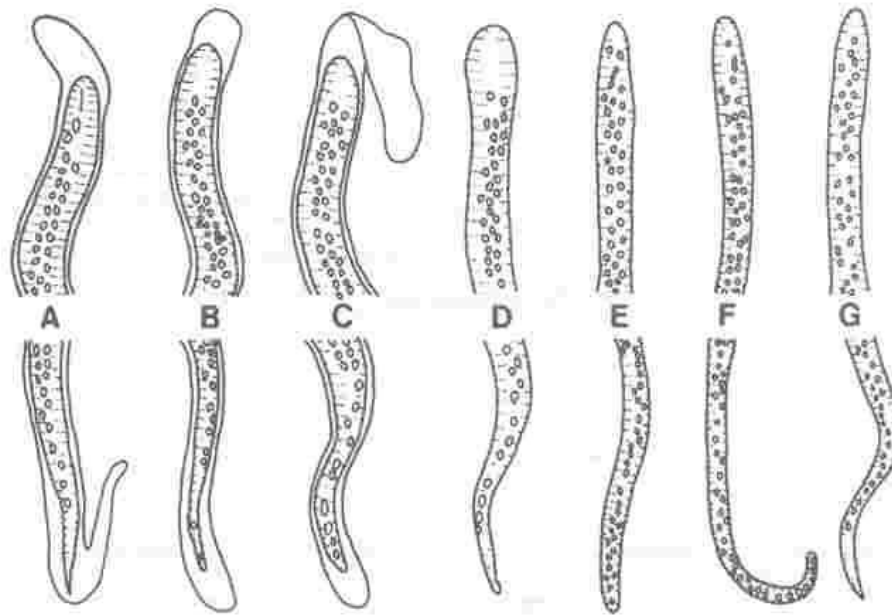


Principais filárias :

- *Wuchereria bancrofti* - filariose linfática ou elefantíase
- *Onchocerca volvulus* - oncocercose ou cegueira dos rios
- *Dirofilaria immitis* - parasita cães (zoonose), casos humanos
- *Mansonella ozzardi* - não patogênica, comum na Amazônia

Microfilárias- diferenciação de espécies

coloração azul metileno/Giemsa



- A. *Wuchereria bancrofti*
- B. *Brugia malayi* (Ásia)
- D. *Oncocerca volvulus*
- G. *Mansonella ozzardi*

Núcleos caudais: céls germinativas
Bainha presente ou não

Filariose (Filaríase) linfática

Principais agentes etiológicos: *Wuchereria bancrofti*
(*Brugia malayi* na Ásia)

O homem é o único hospedeiro definitivo

1,4 bilhões de indivíduos em risco

120 milhões de indivíduos infectados

40 milhões de indivíduos incapacitados ou desfigurados

Prevalência da filariose linfática

www.cdc.gov

Américas:

*Haiti,
República
Dominicana,
Guiana e
Brasil*

73 países (WHO)

BR: urbano- Norte, NE- Belém, Recife, Jaboatão, Olinda, Maceió

Filariose linfática

Origem: Ásia- África- América (escravos)

1863, Desmarquay- microfilárias na linfa escrotal

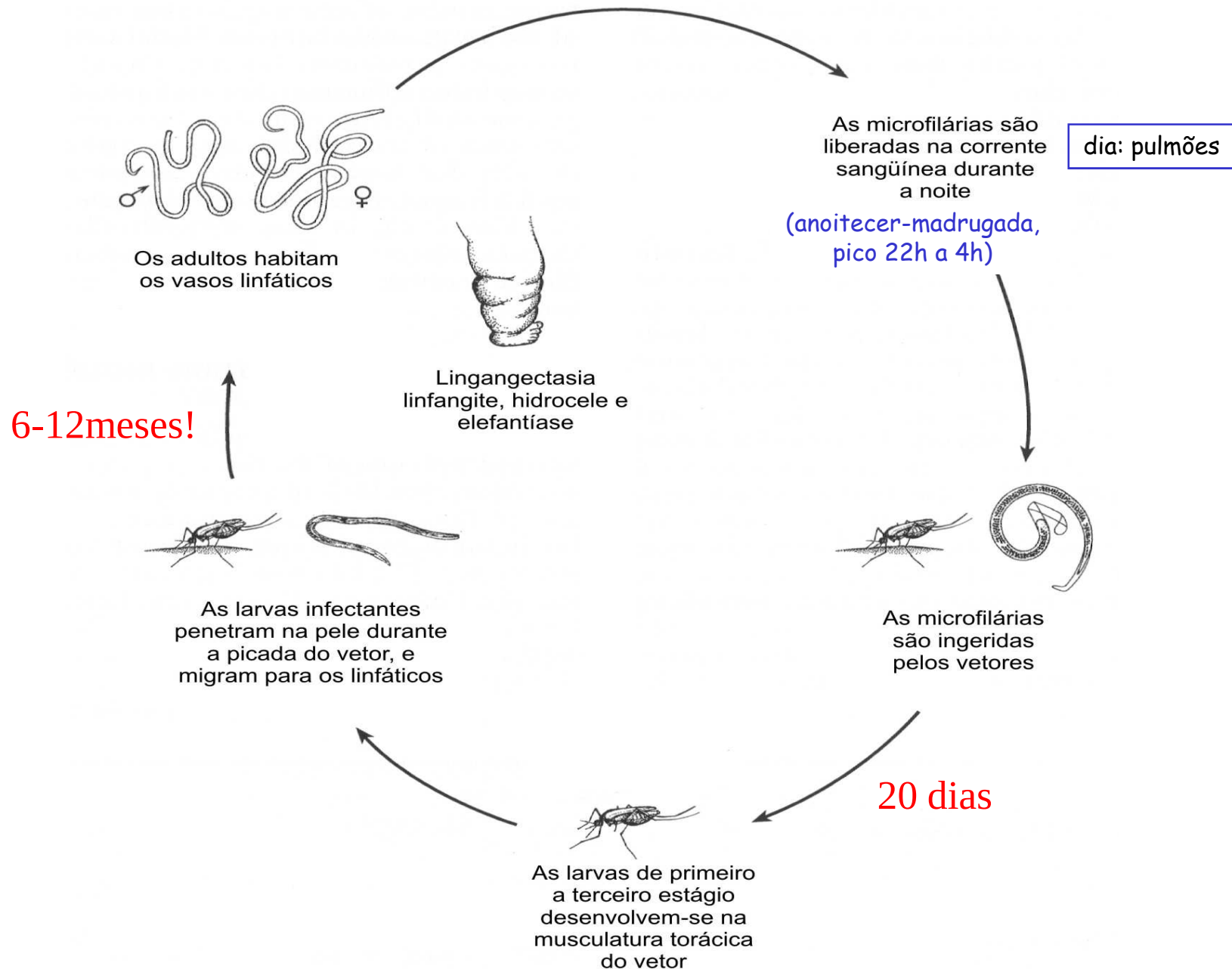
1866, Wucherer

1868, Silva Lima (Bahia)

1876, Bancroft (Austrália)- verme adulto

Anos depois, Manson- transmissão por mosquitos

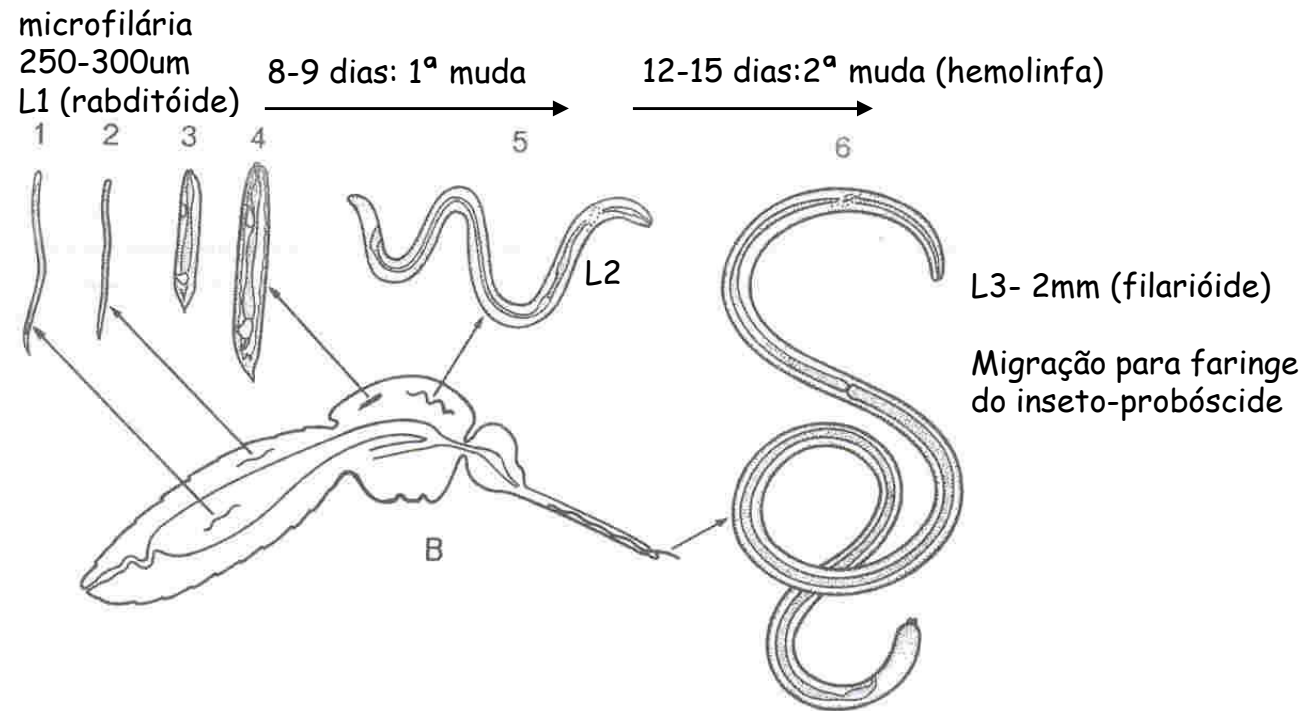
Ciclo vital de *Wuchereria bancrofti*



<http://www.liquidjigsaw.com/science/animation/animations/lymfil/lymfil-lifecycle.html>

Ciclo da microfilária no inseto vetor

Wuchereria bancrofti



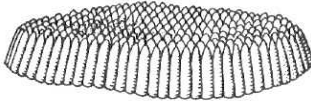
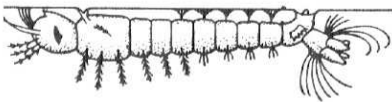
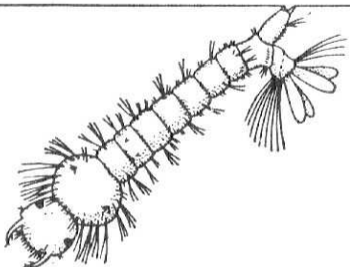
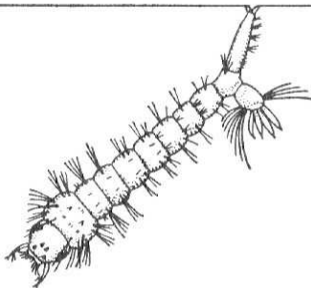
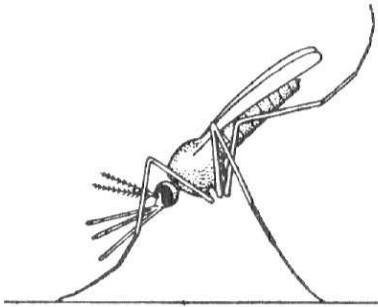
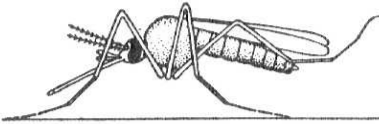
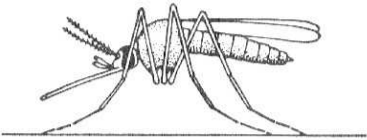
Filariose linfática

- ❖ Vetores: mosquitos
 - Culex*: Américas
 - Anopheles*: África
 - Aedes* e *Mansonia*: Ásia

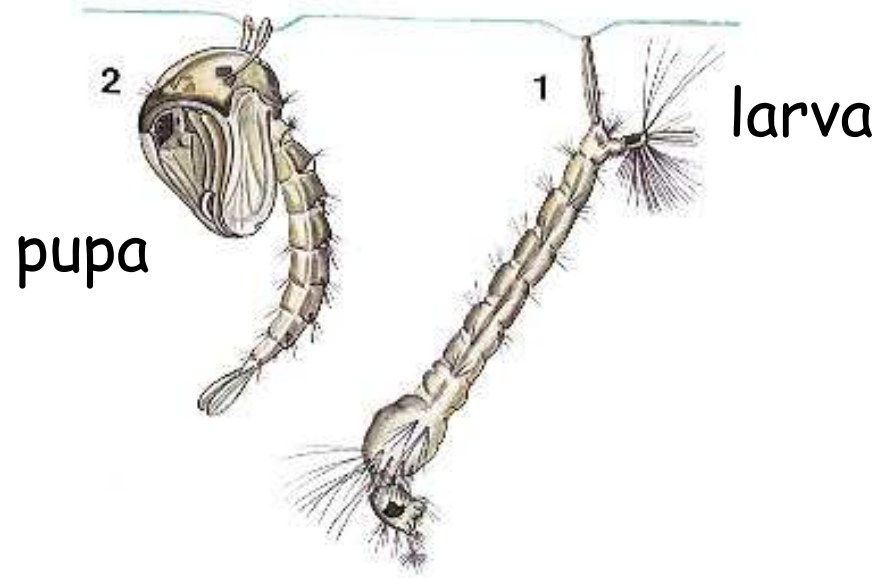


www.cdc.gov

Vetores da filariose linfática-família Culicidae

subfamílias	Anofelinos	Culicíneos	
	<i>Anopheles</i>	<i>Aedes</i>	<i>Culex</i>
Ovos			
Larva			
Posição de pouso			

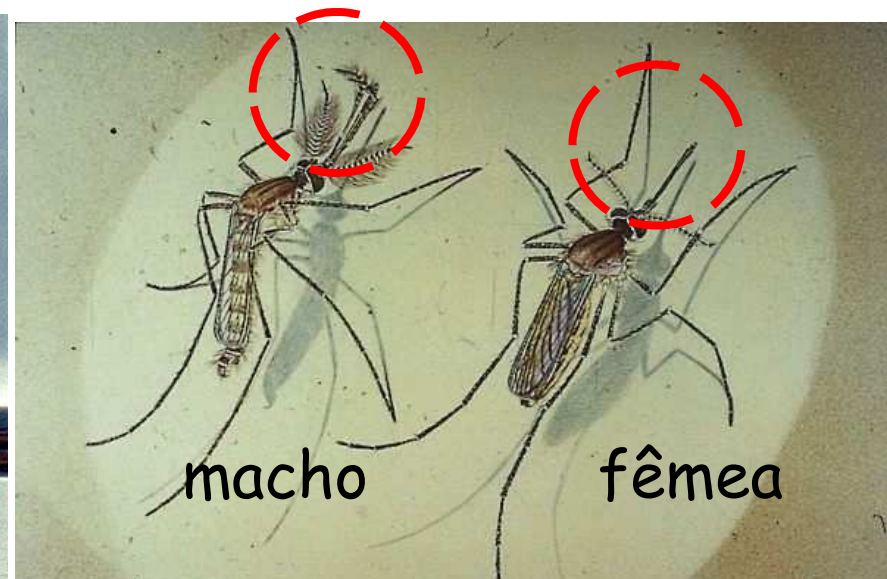
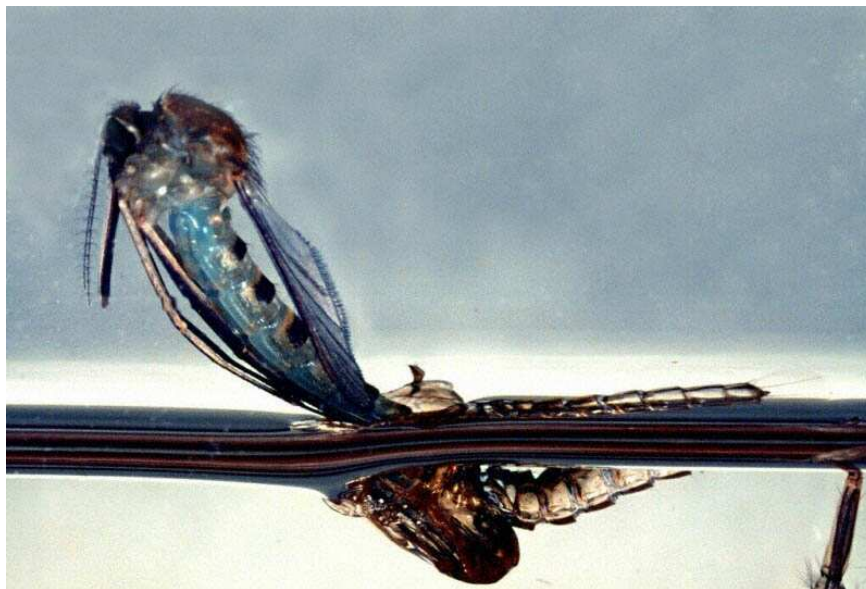
Culex quinquefasciatus



ovos



adultos



Culex- ciclo de vida



MPEG

VETORES E CONTAMINAÇÃO:

Poucas larvas/mosquito, poucos mosquitos parasitados
=Contaminação depende do número de picadas

Parasitismo sem produção de microfilárias: infecção
unissexual ou falta de acasalamentos
(isolamento espacial)

PERIODICIDADE:

Semelhante entre parasitas e seus vetores:
noturna para *W.bancrofti* (*Culex*)

QUAL O MECANISMO DA PERIODICIDADE?

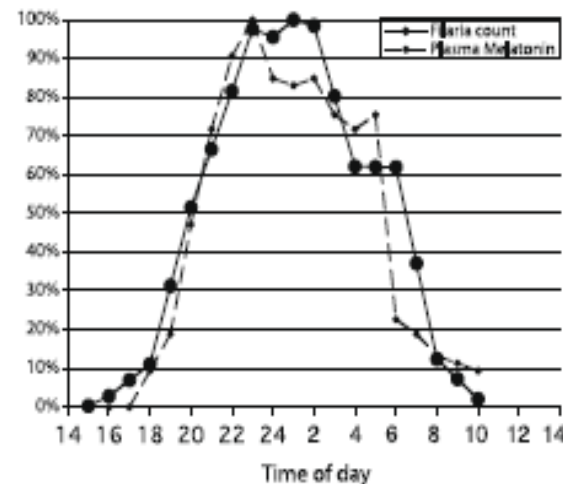
Geração intermitente de microfilárias?

Geração contínua mas chegada à corrente em condições específicas? O₂/CO₂, temperatura no sono?

Microfilaremia começa antes de dormir e antes de acordar, independe da presença de vermes adultos

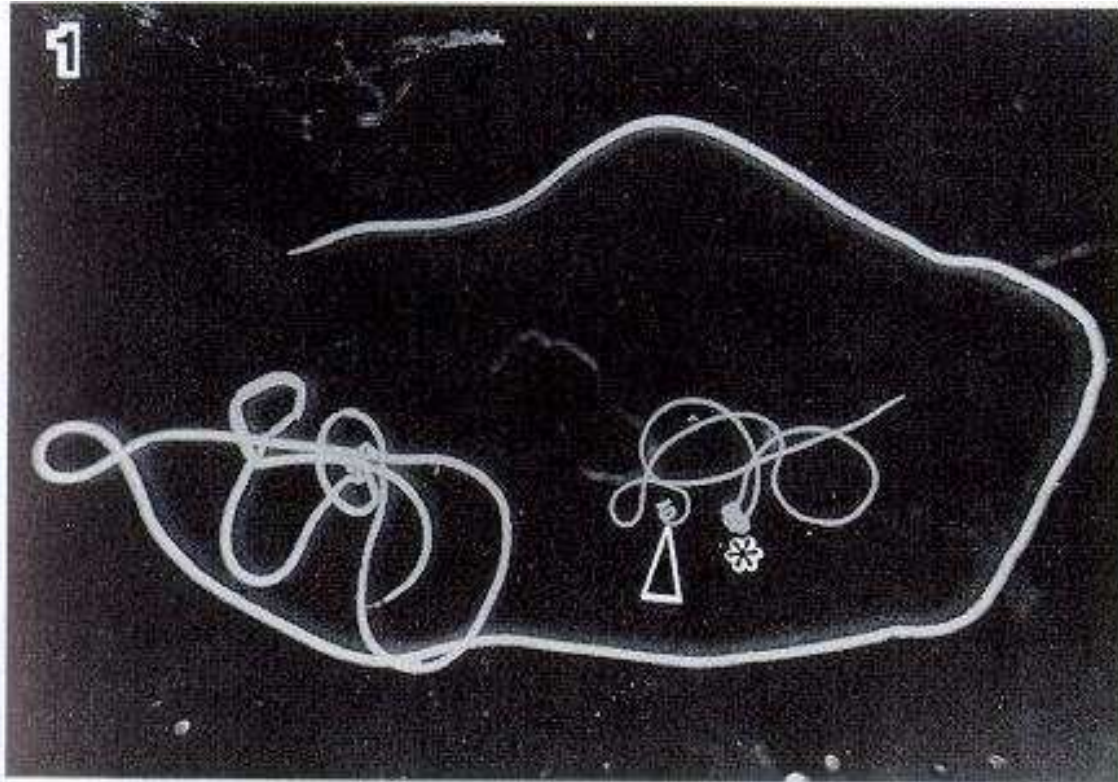
Seleção adaptativa do parasita ao hábito do vetor?

Host melatonin secretion is a timing signal for the release of *W. bancrofti* microfilaria into the circulation



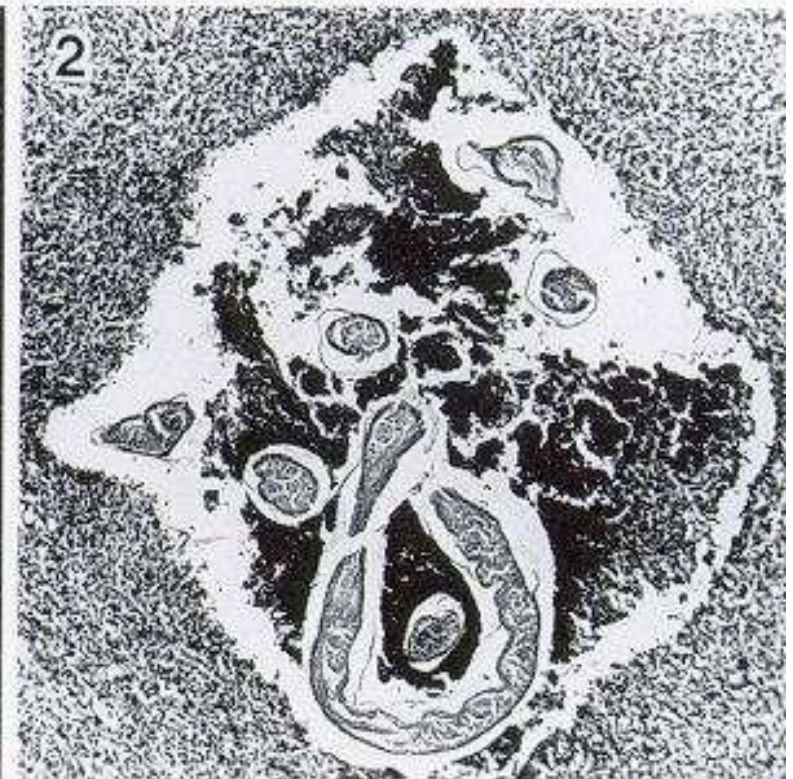
Sack, RL 2009 Medical Hypothesis

Adultos de *W. bancrofti* em humanos



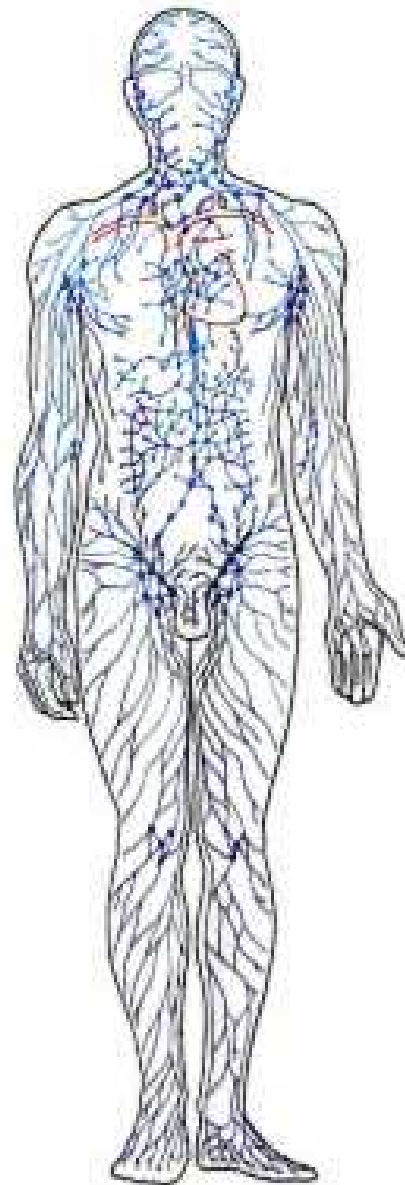
Macho e fêmea adultos removidos
de um vaso/gânglio linfático

♀ 4-10cm, ♂ 2-4cm
Vivem 5-10 anos
Fertilidade? *D. immitis*: 10mil-3mi/fêmea

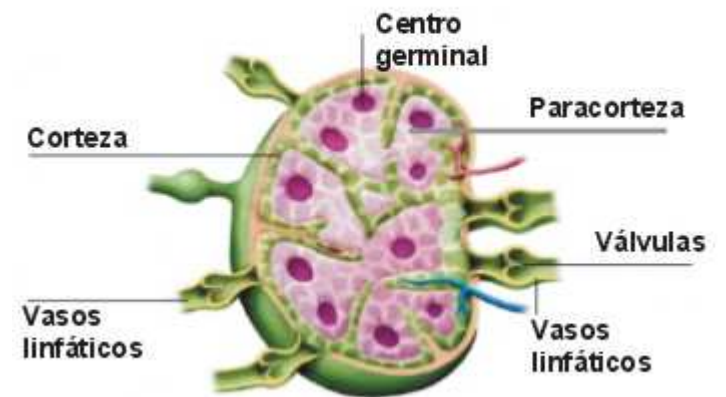


Secção de adultos parasitas num
vaso linfático

Vermes por "novelo" ~20
(fêmeas: machos 5:1)
Reação inflamatória, obstrução



gânglio
linfático/linfonodo



PATOLOGIA

Larvas de 3º estadio são silenciosas

Larvas de 4º estadio e adultos jovens geram inflamações locais

Manifestações patológicas: vermes adultos nos linfonodos/ vasos linfáticos

PATOLOGIA

Número baixo de parasitos no vetor

Infecção/ patologia depende do número de picadas

No máximo $1/3$ dos infectados com sintomas

Sintomatologia

2/3 assintomáticos

Linfangiectasia (aumento vasos linfáticos) subclínica

Período agudo- fenômenos inflamatórios

Linfadenites- inflamação linfonodos

Linfangites- inflamação vasos linfáticos

Febre, dor de cabeça

Período crônico-10 a 15 % dos casos

Obstruções e edemas

PATOLOGIA

Morte de vermes adultos=inflamação

-Lesões genitais:

- testículos (hidrocele)
- túnica vaginal (quilocele)

-Obstruções: edemas, ascites- quilúria (linfa na urina)

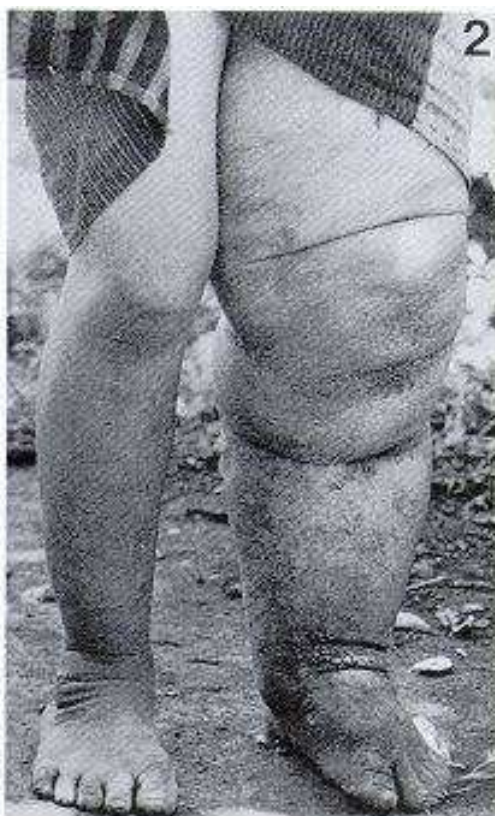
-Inflamação, fibrose, edema e infecção bacteriana (*Streptococcus*) 2^{aria}: elefantíase

Principais órgãos: pernas, escroto, mamas

Três pacientes com elefantíase (gordura e linfa em matriz fibrosa- 10 anos)



Mulher de 33 anos
(Kyushu, Japão)



Mulher de 43 anos
(Kyushu, Japão) perna
esquerda começou a
inchar com 20 anos

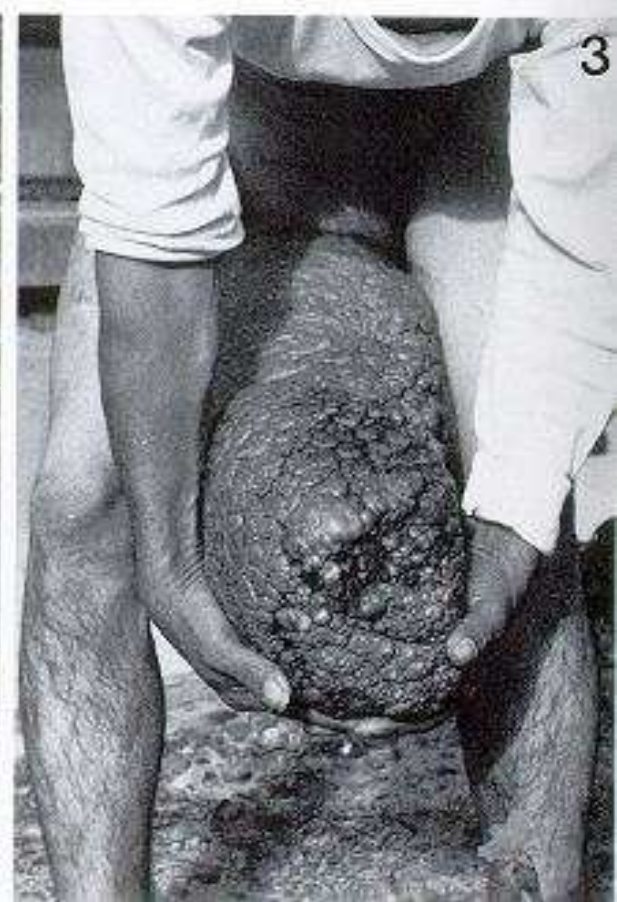
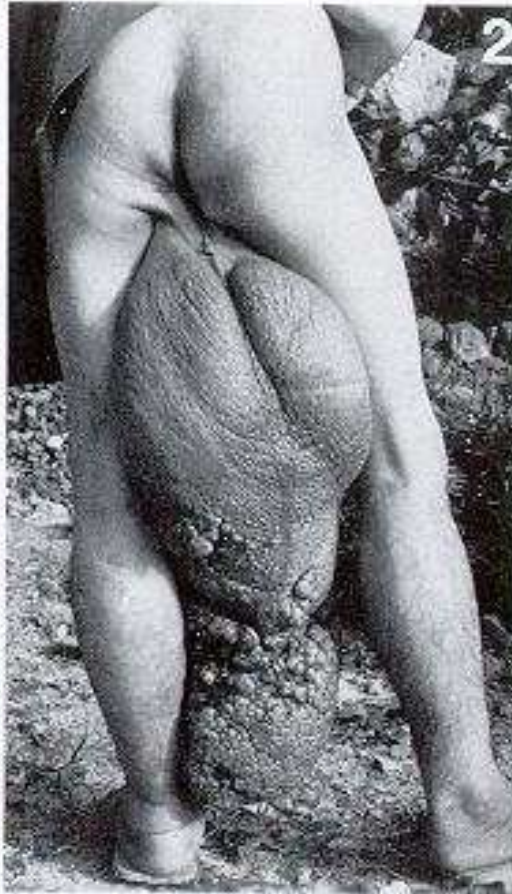


Mulher Africana
(Monrovia, Liberia)

Casos de elefantíase de Kagoshima (Kyushu, Japão)



Homem de 40 anos com osquehidrocele



Homem de 44 anos com elefantíase penescrotal. A lesão pesava 18,5 kg. Dos 14 aos 30 anos tinha febre uma ou duas vezes por semana. A partir dos 17 anos o foco começou a inchar

RESPOSTA IMUNE

Linfócitos reagem pouco a antígenos do parasita
Céls Langerhans e outras DCs ativam pouco LTs
Baixos níveis de anticorpos (indivíduo com microfilaremia)

Pneumopatia eosinófila tropical- 1% (Ásia): hiperreatividade a antígenos parasitários, muitos anticorpos, eosinófilos e linfócitos- infiltrado pulmonar, asma e deficiências respiratórias

Evasão do sistema imune:

infecções longas, 7 anos

microfilárias no sangue: 1 ano

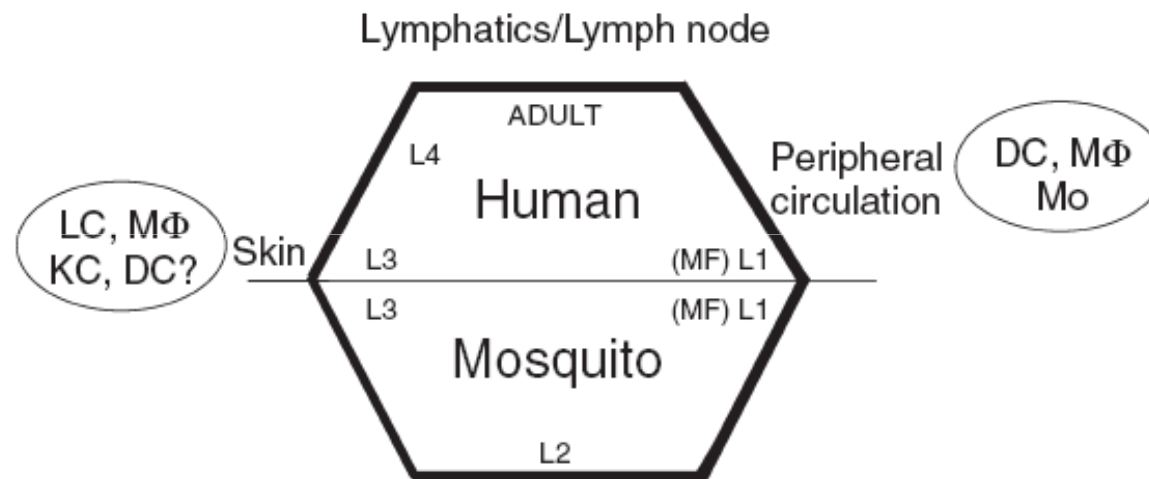
Moléculas regulatórias/moduladoras

Induz função supressora na célula hospedeira

Não há vacina

Roshanak Tolouei Semnani
Thomas B. Nutman

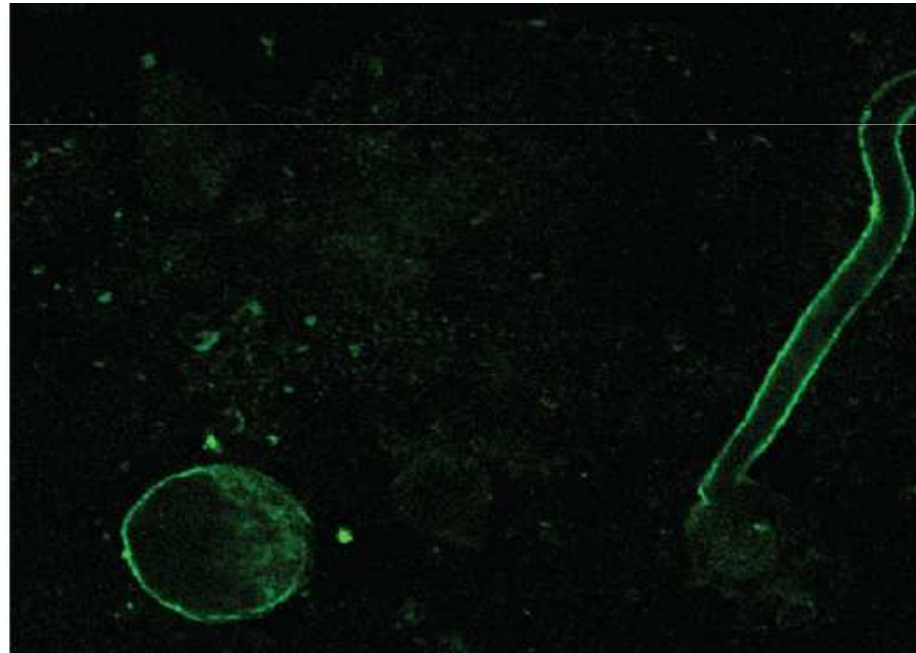
Toward an understanding of the interaction between filarial parasites and host antigen-presenting cells



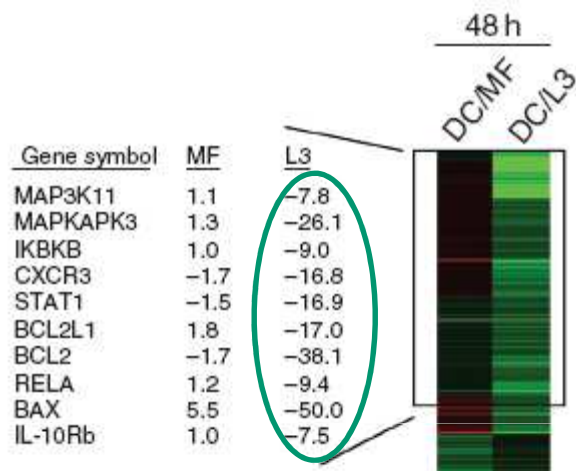
Life cycle of *Brugia malayi* and its interaction with host APCs.
LC= cél de Langerhans, KC= queratinócito

Células dendríticas apresentam antígenos de microfilárias

Células dendríticas em contato com microfilárias (mf) vivas de *Brugia malayi* apresentam seus antígenos (verdes)



O contato de DCs com larvas L3 ou mf por 48h altera sua expressão gênica (microarray)



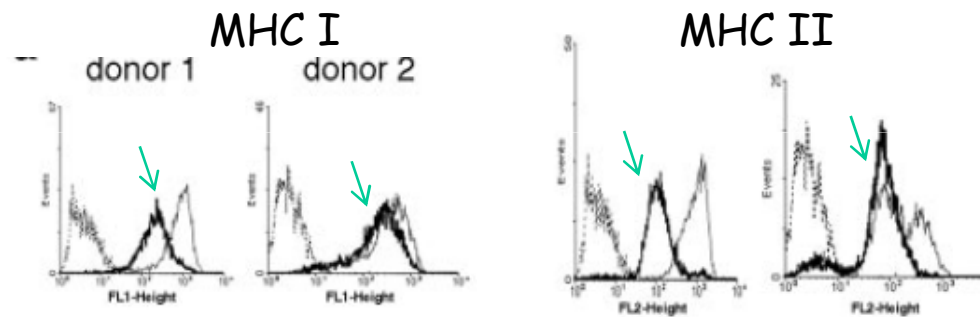
Redução da expressão de genes de sinalização (MAP3K11, MAPKAPK3, IKBKB e STAT1) ou apoptose (BCL2L1, BCL2, RELA e BAX) com L3

Mf vivas induzem morte de DCs (mas não de macrófagos ou monócitos) por apoptose.

As DCs que permanecem vivas estão funcionalmente prejudicadas: a pré-exposição de DCs a mfs suprime a produção de IL-12 e IL-10.

LCs internalizam antígenos de L3.

LCs em contato com L3: menor expressão de MHCs I e II e outros genes envolvidos em apresentação de antígenos



= menor capacidade de ativar
células T CD4 para produzirem
citocinas/quimiocinas

Moléculas contendo fosforilcolina (PC) isoladas de *Brugia malayi*
inibem a ativação de células T humanas

Macrófagos parecem ser importantes na morte dos parasitas, mas pouco se sabe sobre sua ativação *in vivo*

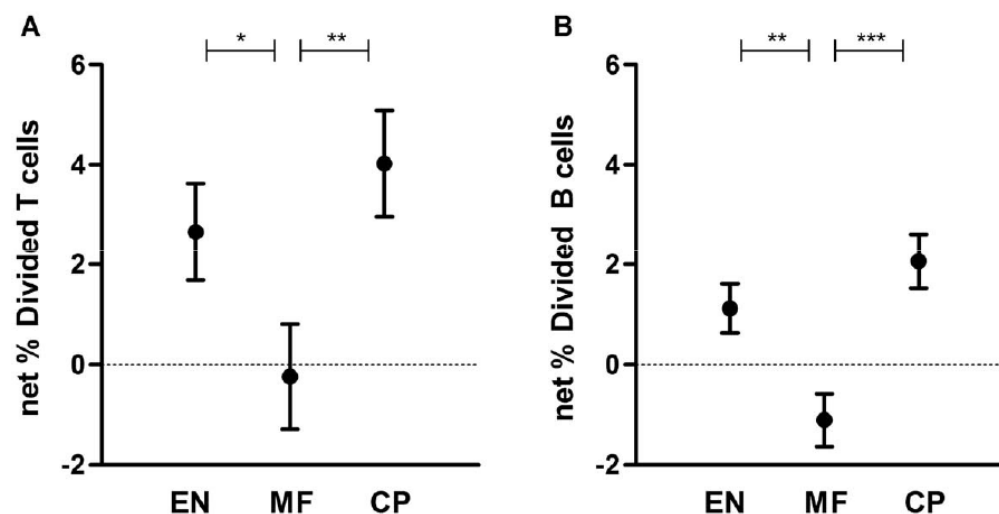
Responsáveis por parte da patologia da filariose linfática: formam lesões granulomatosas em torno de vermes mortos

Debris solúveis de *B. malayi* induzem produção *in vitro* de citocinas inflamatórias como TNF, IL-1, e NO por macrófagos, em parte pelo LPS da *Wolbachia* simbiote

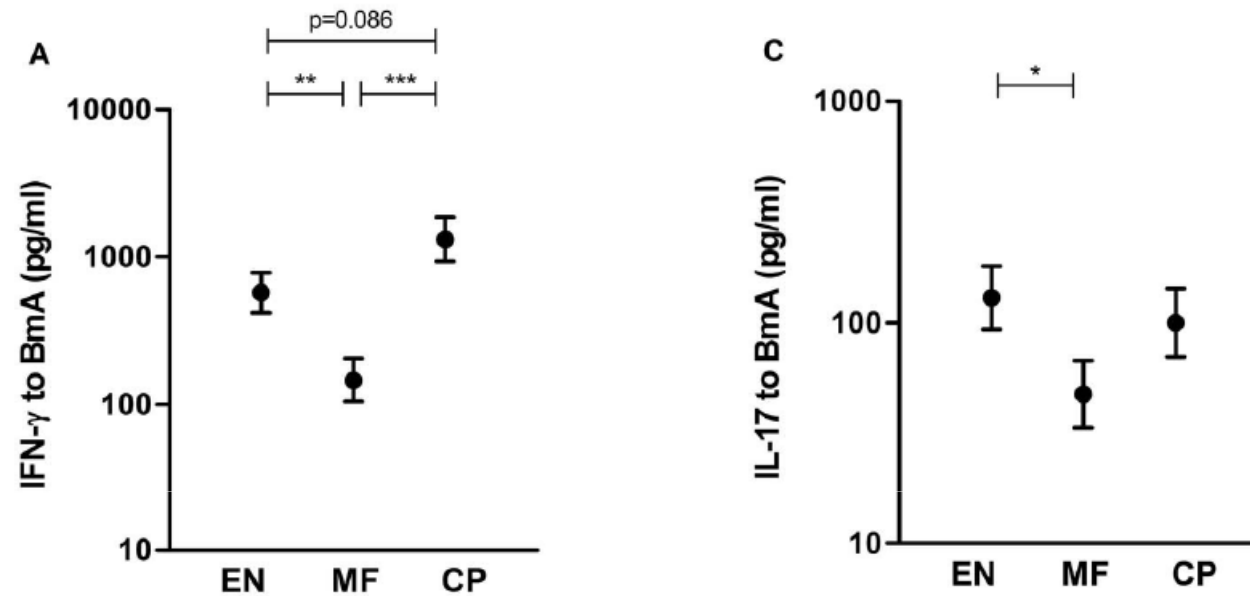
Regulatory T Cells in Human Lymphatic Filariasis: Stronger Functional Activity in Microfilareemics

2012

Linda J. Wammes^{1,2*}, Firdaus Hamid^{1,3}, Aprilianto E. Wiria^{1,2}, Heri Wibowo², Erliyani Sartono¹, Rick M. Maizels⁴, Hermelijn H. Smits¹, Taniawati Supali², Maria Yazdanbakhsh^{1*}



Menor proliferação de céls T e B em indivíduos com microfilaremia (MF) de *B. malayi* comparados com crônicos (CP) e não infectados (EM)



Cytokine production by PBMCs from uninfected endemic normals (EN), microfilaremic (MF) and chronic pathology (CP) subjects stimulated with BmA for 4 days

A depleção de Tregs aumentou a proliferação de linfócitos e a produção de IL-13 no grupo MF

Filarial Genome Project- WHO 2002

100 milhões de pares de bases, 15.000-20.000 genes

Table 1 Gene and protein sequences from filarial nematodes in public databases (as of 8 January 2001)

	Nucleotide sequences	Protein sequences	Protein structures	ESTs
Human pathogens				
<i>Brugia malayi</i>	517	153	3	22392
<i>Onchocerca volvulus</i>	581	256	0	13806
<i>Wuchereria bancrofti</i>	35	30	0	131
Animal models				
<i>Acanthocheilonema viteae</i> (jird)	18	23	0	0
<i>Brugia pahangi</i> (jird/cat)	57	79	0	28
<i>Dirofilaria immitis</i> (dog)	61	64	0	0
<i>Litomosoides sigmodontis</i> (mouse)	14	15	0	198
<i>Onchocerca ochengi</i> (cow)	6	5	0	60
Other human parasites				
<i>Brugia timori</i>	1	0	0	0
<i>Loa loa</i>	8	5	0	0
<i>Mansonella perstans</i>	1	0	0	0
Total (including additional minor datasets)	1329	641	3	36615

macrophage migration inhibitory factor (MIF)

antioxidant proteins

TGF- β homologues

DIAGNÓSTICO

Microfilárias no sangue:

Gota espessa ou esfregaço da polpa digital, filtração de 5ml de sangue (corar membrana)

Sedimentação de microfilárias em formalina (Knott)

-Das 22h as 4h ou

-Provocar parasitemia diurna com DEC, coleta após 20-60min

Quadro clínico (dor inguinal ou perna, febres) e epidemiologia

Deteção de anticorpos (ELISA)

Biópsia de linfonodo (vermes)

Ultra-som- "sinal da dança das filárias"

PCR- sangue, líquido escrotal, linfonodo

Tratamento Filariose Linfática

DEC (dietilcarbamazina)- 40 anos, oral, mais usada. 10-14 dias
Ação depende do SI (não funciona *in vitro*). Altera metabolismo do ácido aracdônico na microfilária e na CE =vasoconstrição= adesão endotelial, imobilização do parasito circulante, aderência e citotoxicidade de plaquetas e granulócitos.
Microfilaricida (90%), efeito menor sobre adultos, alguns efeitos colaterais.

DEC+ Ivermectina, DEC+albendazol - microfilaricida. 1 dose
Ivermectina- agonista de GABA. Microfilaricida

Antibióticos (tetraciclina) x bactéria simbiote *Wolbachia*
Antibióticos x infecção secundária (*Streptococcus*)

Casos complicados:
Drenagem e cirurgia

Controle da Filariose Linfática

Potencialmente erradicável (sem reservatórios animais)
Tratamento dos doentes

Controle de vetores

inseticidas para mosquitos e larvas
controle biológico larvas (peixes larvófagos, *Bacillus*)
telagem das coleções de água
drenagem águas pluviais e esgotos
telas domésticas e mosquiteiros (com piretróides)

Medida de melhor impacto: tratamento de doentes

1997: World Health Organization (WHO) - Programa Global para Eliminação da Filariose até 2020.

Metas: (i) reduzir prevalência até impedir transmissão
(ii) Manejo da morbidade prevenindo incapacitação

GlaxoSmithKline e Merck & Co. Inc. doarão as drogas necessárias

Resultados:

- China e República da Korea eliminaram a doença como problema de saúde pública em 2007 e 2008, respectivamente.
- Dos 72 países endêmicos (WHO) 68 mapearam seus focos
- Países com tratamento em massa (MDA) : 12 em 2000, 59 em 2010
- População tratada (MDA): de 2.9 milhões para 500 millions
- 17 países de 53 completaram 5 ou mais ciclos com 100% de cobertura

Brazil: tratamento parcial com DEC em 2011

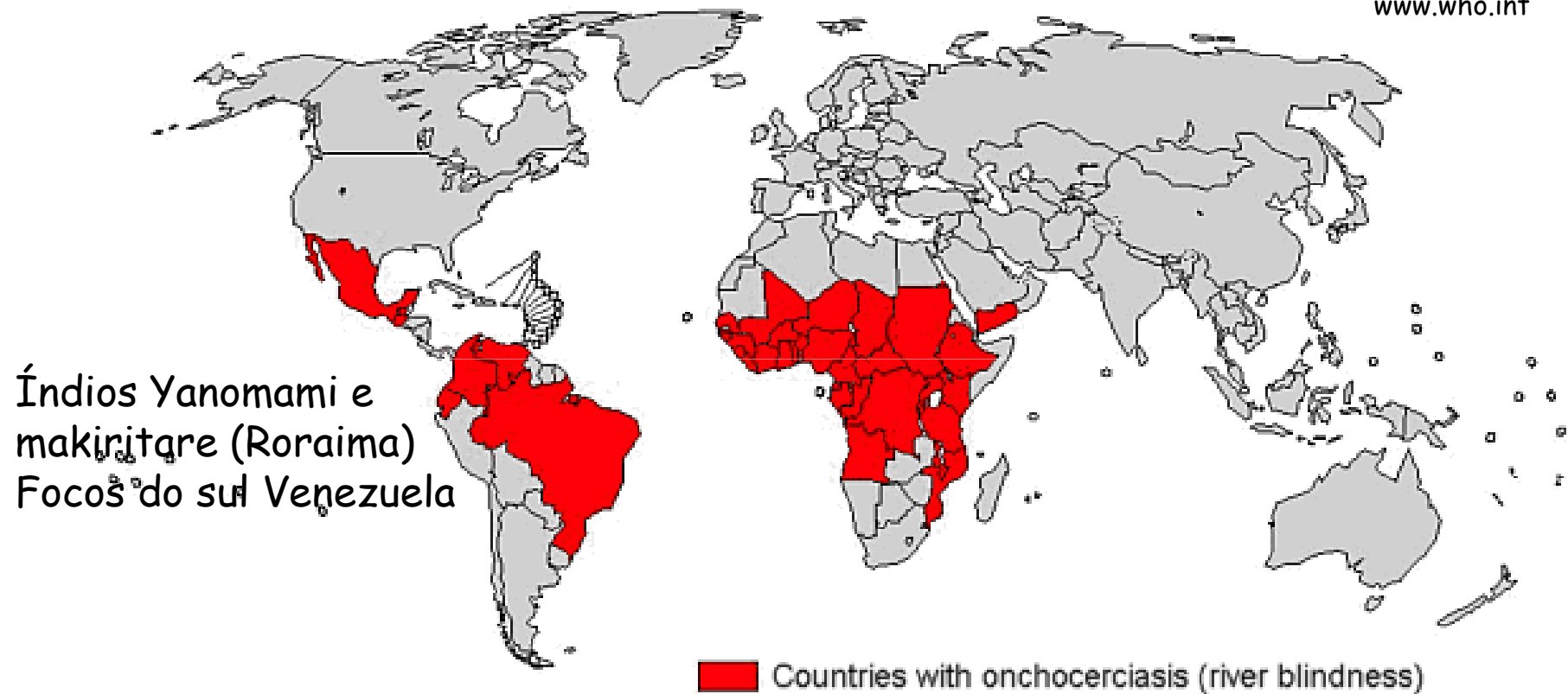
Oncocercose/Oncocercíase

Cegueira dos rios ("river blindness")

- Agente etiológico: *Onchocerca volvulus*
- Endêmica em 37 países da África Ocidental e Central, México, América Central e do Sul, Iêmen
- 15-37 milhões de indivíduos infectados
- 217.000 indivíduos com cegueira

Prevalência da oncocercose

www.who.int

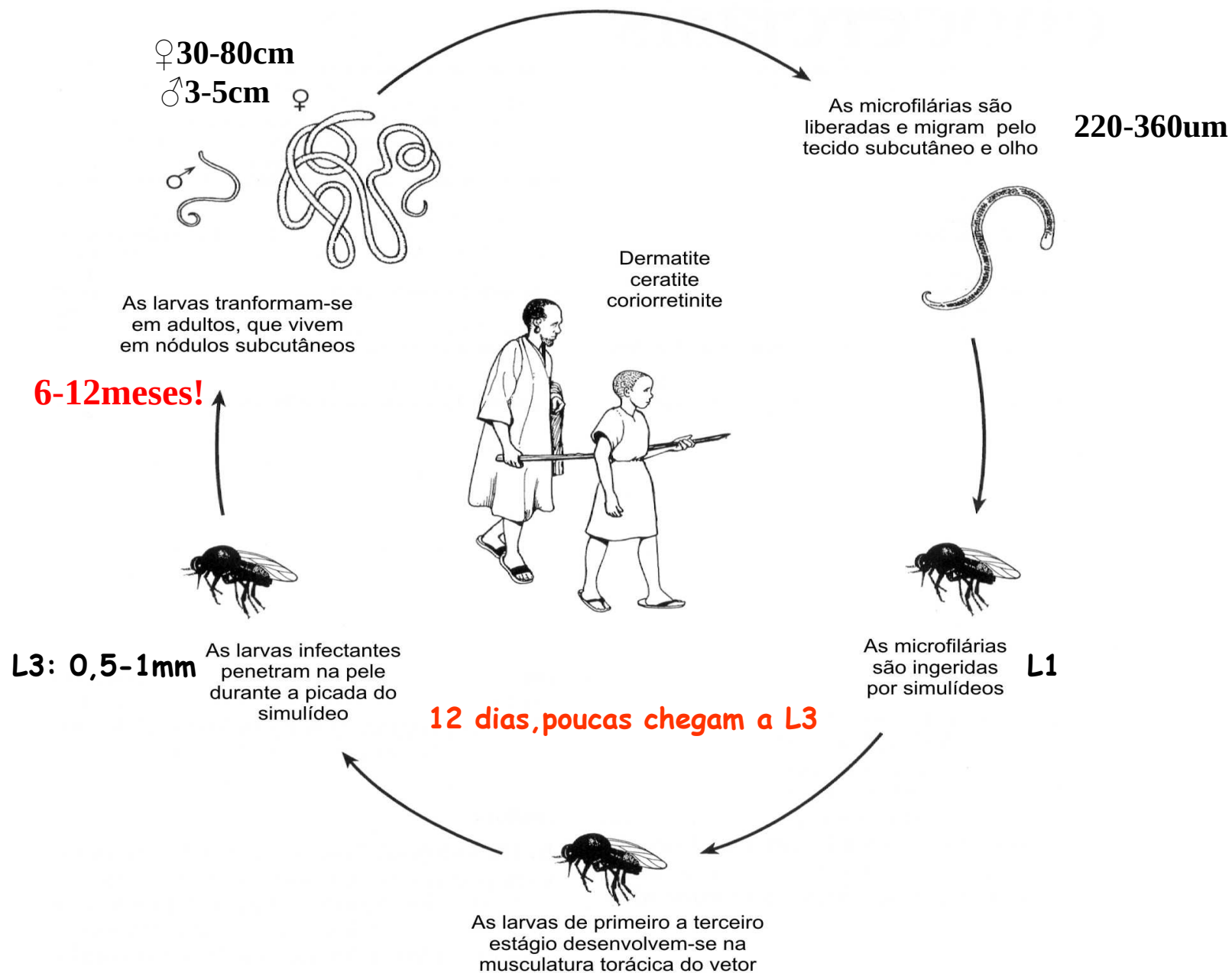


100.000 casos nas Américas, 5000 no Brasil

Onchocerca volvulus

- homem é único hospedeiro definitivo
- vermes adultos habitam nódulos subcutâneos encapsulados= **oncocercomas**= por 9-14 anos
Nódulo: 1-7 vermes geralmente enovelados
- fêmeas adultas: 700-1000 microfilárias/dia por 2-4 meses, 3-4 ciclos/ano
- microfilárias vivem de 6-24 meses
Tecido subcutâneo e vasos linfáticos, dia e noite
Migração: pele e olho

Ciclo vital de *Onchocerca volvulus*



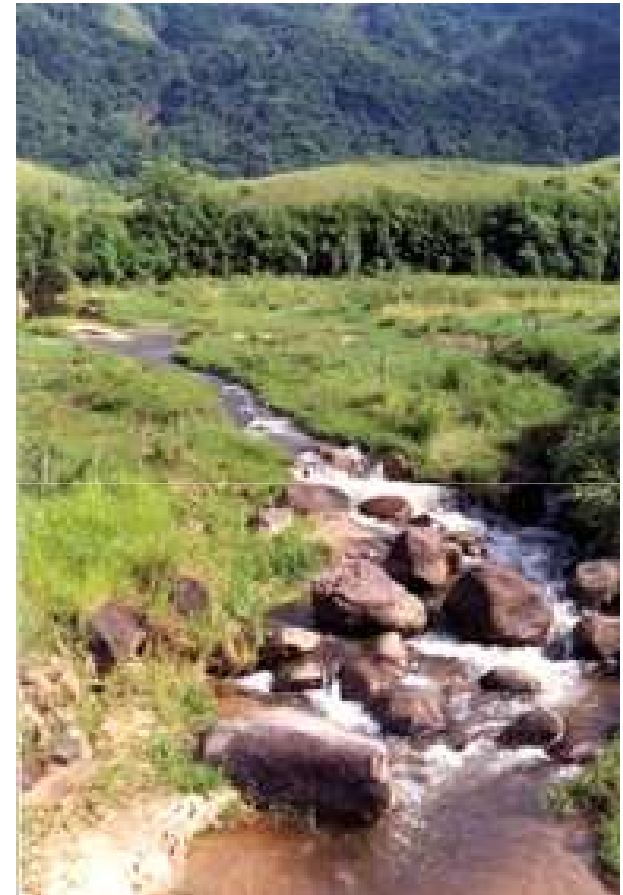


Família Simuliidae
Simulídeos ou **borrachudos**

Fêmeas
2-4mm
escuros
coceira

Vetores no norte do Brasil

- *Simulium guianense*
- *Simulium incrustatum*
- *Simulium oyapockense*
- *Simulium roraimense*



Ovos em águas rápidas, aderidos a pedras

Principais manifestações clínicas da oncocercose

oculares



"Cegueira dos rios"

cutâneas



"Pele de leopardo"

Reação inflamatória às microfilárias (geralmente as mortas)

Alterações cutâneas

Hiperqueratose e despigmentação=leopardo

Dermatite oncocercosa= prurido

Forma grave *Sowda*= *liquenificação*

Fáceis oncocercótica

Diferenças regionais=diferentes cepas do parasita

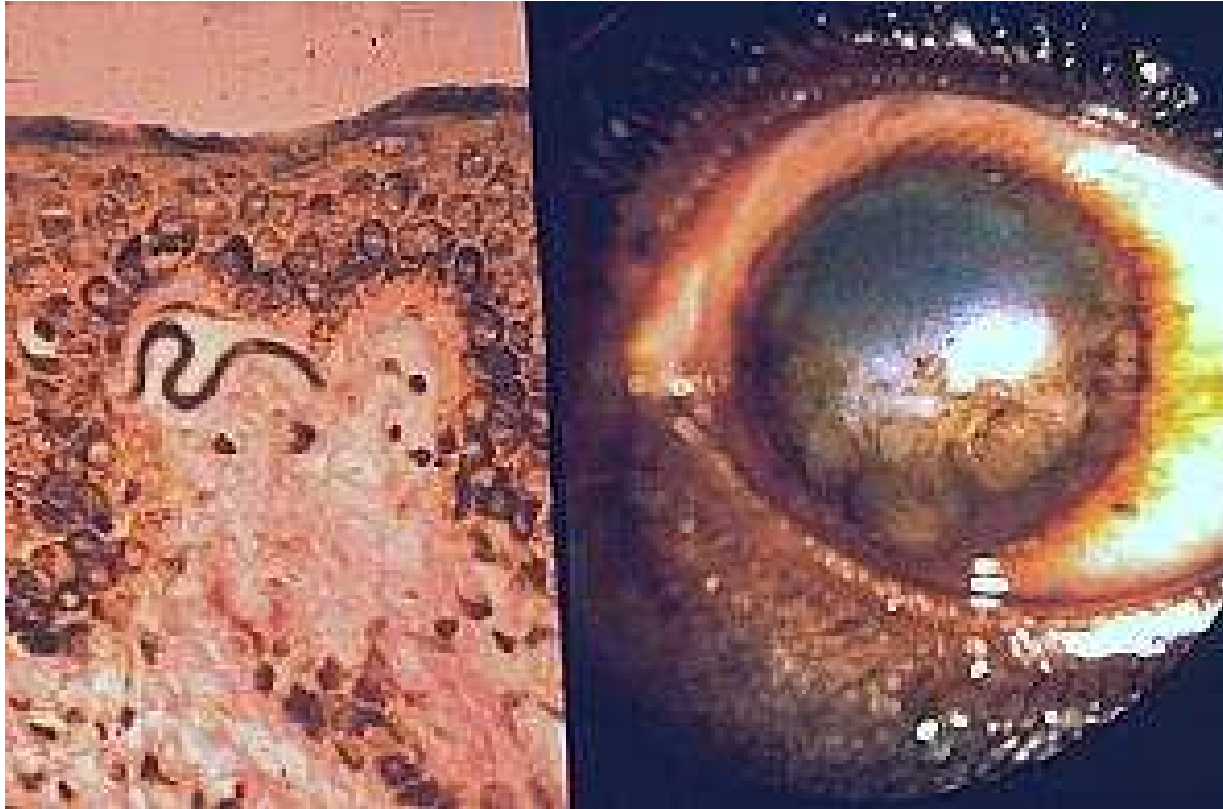
Fáceis oncocercóide



Sowda

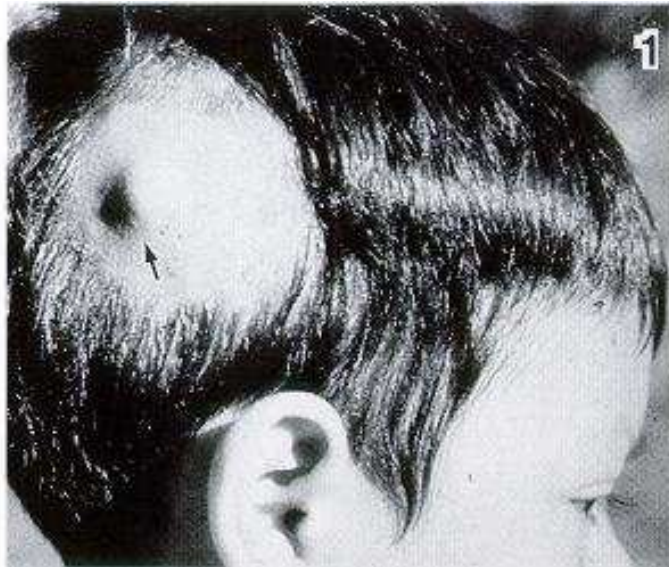


Problemas visuais

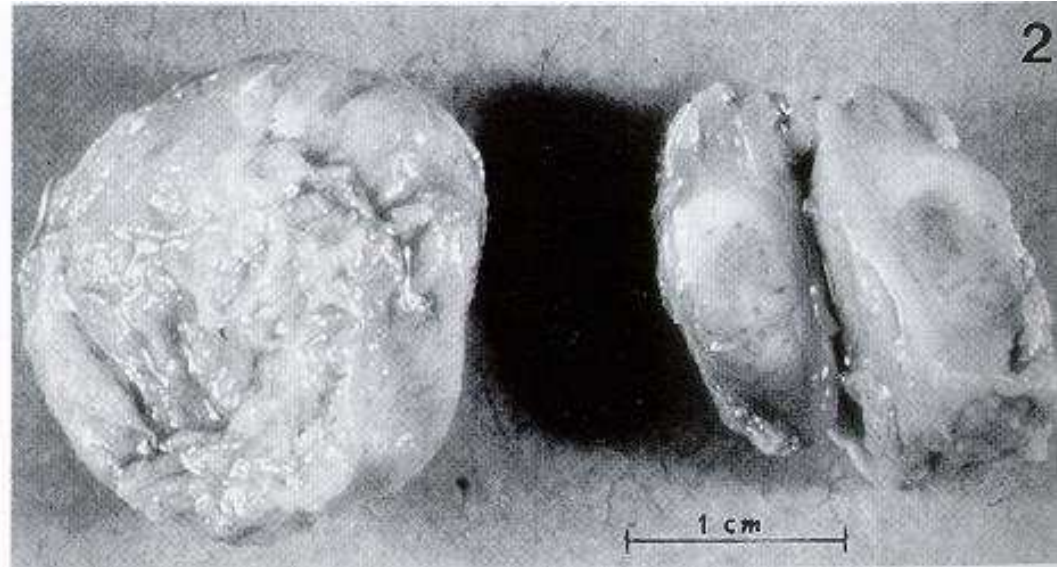


Lesões oculares: 30% dos parasitados nas Américas,
85% nas savanas da África (cepas diferentes-bioquímica)

Oncocercomas-Adultos de *O. volvulus*



Na cabeça de um menino guatemalteco



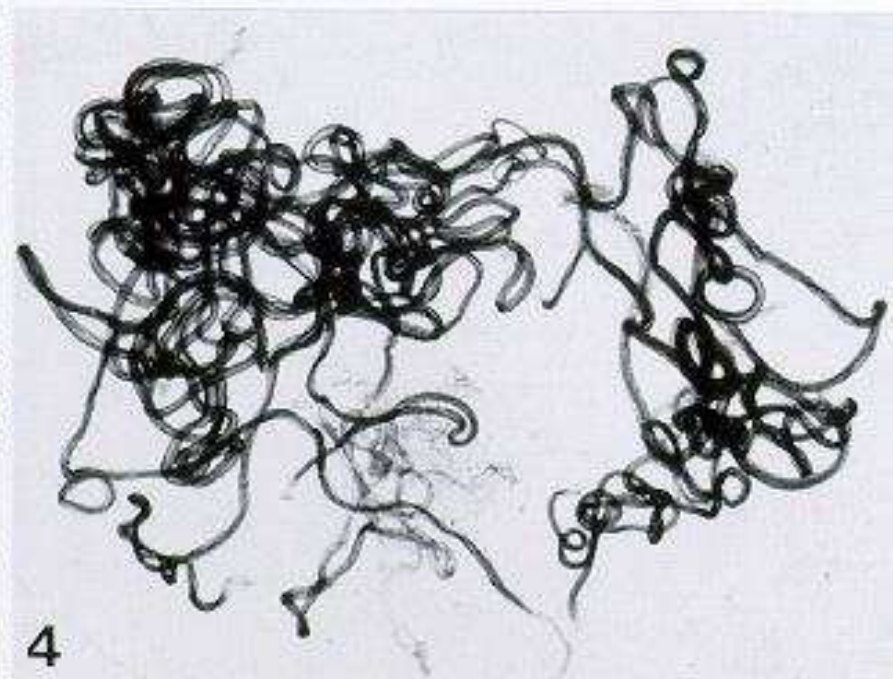
Tumores removidos

Nódulos subcutâneos: 5-30cm diâmetro
África: tronco, coxas, braços (2/3 abaixo cintura)
Américas: cabeça e ombros
Diferenças nas picadas dos vetores

Adultos de *O. volvulus*



Corte de um oncocercoma mostrando secções de vermes adultos

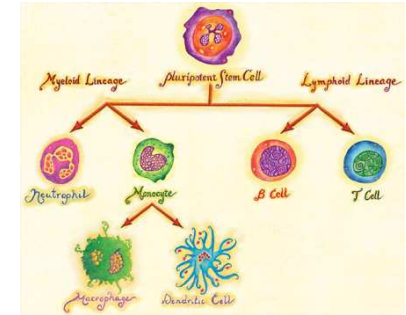


Adultos removidos de um tumor



Região Amazônica do Brasil – índios Yanomamis

RESPOSTA IMUNE



Linfócitos não reagem a antígenos do parasita em pacientes com microfilarodermia (RID fraca)

Alta resposta de anticorpos

Indivíduos sem microfilarodermia: forte resposta celular, baixa de anticorpos

Fase aguda? crianças

Fase crônica: altos IgG, IgM, IgE- proliferação policlonal

IgE: reação inflamatória aguda

Soro favorece aderência de granulócitos a microfilárias

L3 e sua morte (reações inflamatórias locais)

Diagnóstico da Oncocercose

Clínico: nódulos, dermatite, prurido, distúrbios visuais

Parasitológico:

- Microfilárias em biópsia de pele, meio 37°C por pelo menos 24h- **o melhor**
- Exame oftalmológico (lâmpada de fenda)
- Histopatologia de nódulos
- Ecografia do oncocercoma ($\neq$ tumor)

Teste de Mazzotti: DEC e manifestações cutâneas (24h)
contra microfilárias- **perigoso**

Moleculares: -coquetel 3 antígenos- em teste na África
-sondas de DNA- em estudo, caro

Tratamento da Oncocercose



Ivermectina- microfilaricida, dose única. Repetir a cada 6-12 meses

Não tóxica

Merck & Co: Prog Doação Mectizan

Suramina- Inibe a glicerol-3-fosfato desidrogenase

Derivado de uréia, tóxica (hospitalização),

Microfilaricida, 6-7 semanas

Usada apenas se tto com ivermectina não funcionar

Nodulectomia

Controle da Oncocercose

Potencialmente erradicável- Sem reservatórios

Controle de vetores- inseticida e *Bacillus*

OCP (OMS) 1974: 750mil km² larvicidas na África
1995: 9mi doses ivermectina

Medida de melhor impacto: tratamento de doentes

Filariasis: new drugs and new opportunities for lymphatic filariasis and onchocerciasis

Current Opinion in Infectious Diseases 2008,

Achim Hoerauf

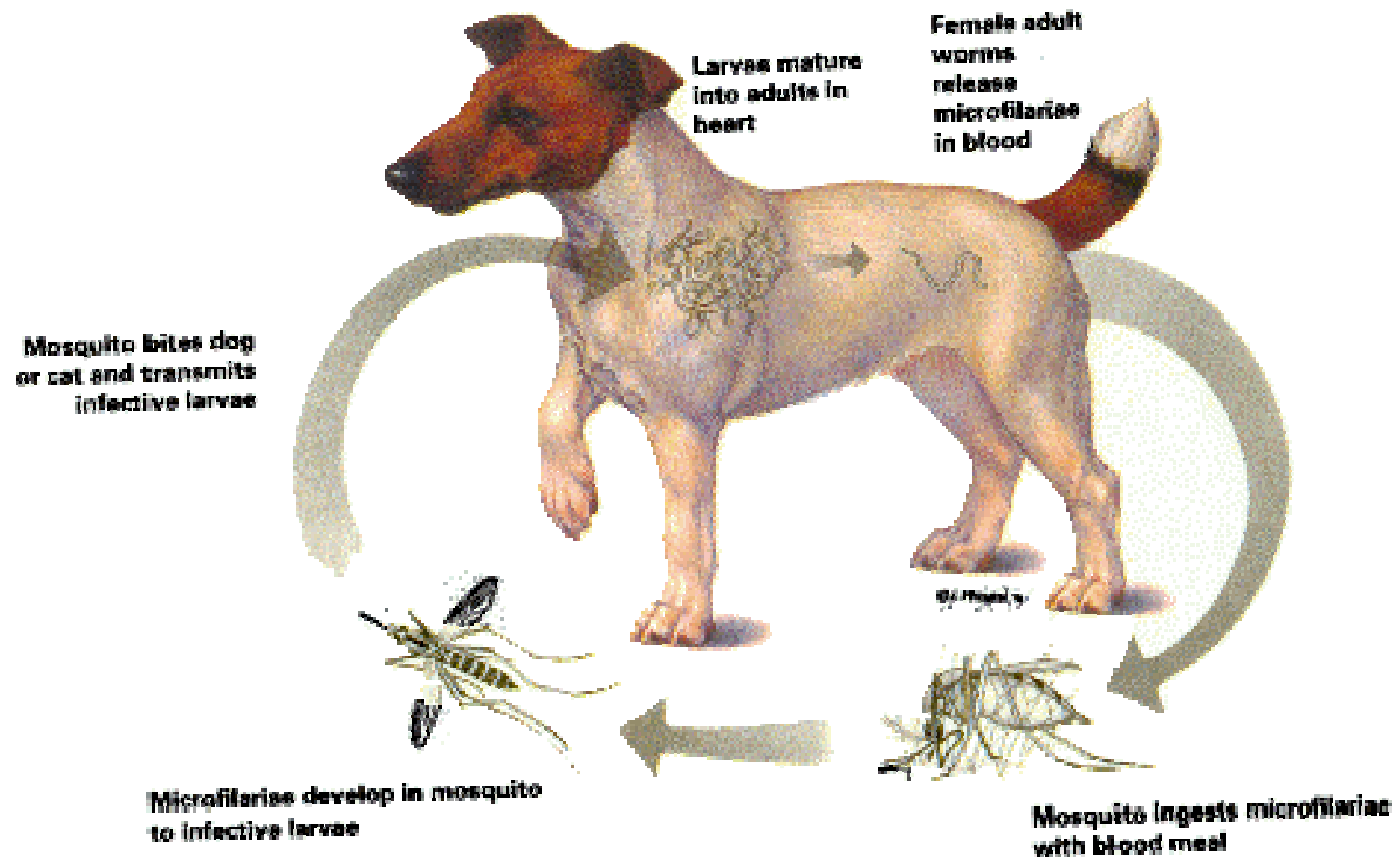
Filárias (exceto *Loa loa*): simbiose com *Wolbachia* (ordem Rickettsiales)

Wolbachia: fertilidade fêmea filária, muda da larva, sobrevida vermes sensível a Tetraciclina (doxiciclina)

Table 1 Overview of studies using doxycycline to treat human onchocerciasis and lymphatic filariasis

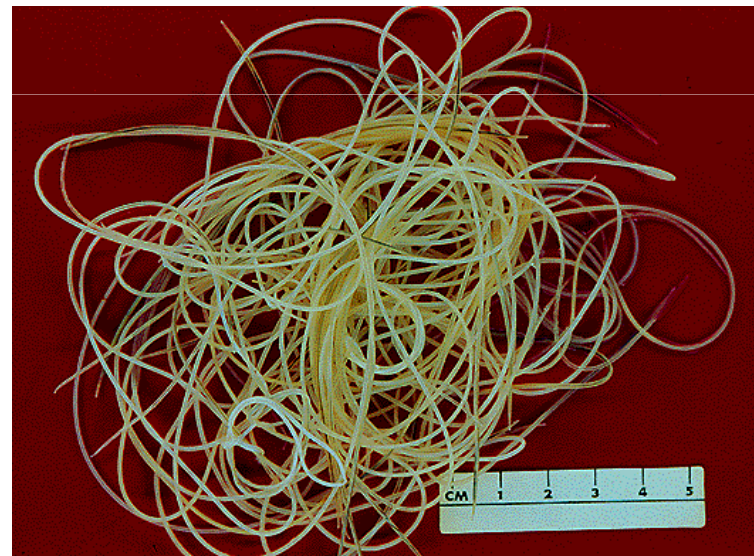
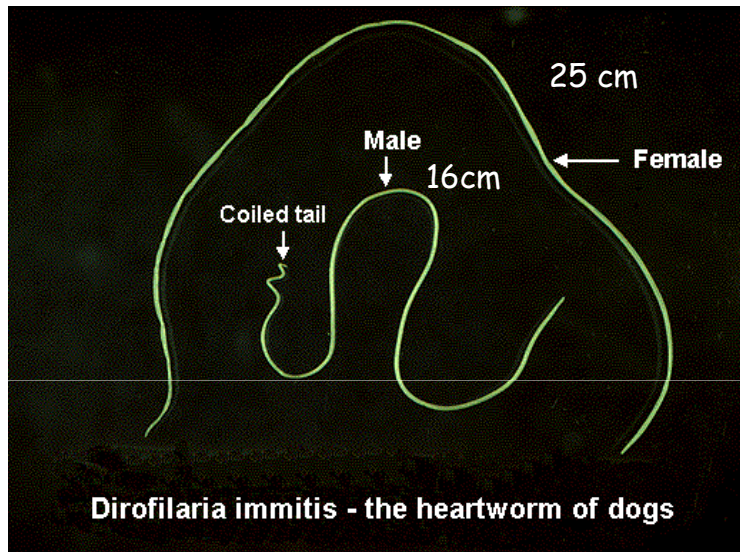
Infection	Regimen ^a	Macrofilaricidal effect (%)	Female worm sterility	Amelioration of disease
Onchocerciasis	100 mg doxycycline, 6 weeks	NT	+	+ ^b
	200 mg doxycycline, 4 weeks	51 ^c	+	+
	200 mg doxycycline, 6 weeks	62 ^c	+	+
	100 mg doxycycline, 5 weeks ^d	49 ^c	+	+
Lymphatic filariasis (bancroftian filariasis)	200 mg doxycycline, 8 weeks ^d	78 ^e	+	NT
	200 mg doxycycline, 6 weeks	92 ^f	+	+
	200 mg doxycycline, 4 weeks	83 ^g	+	NT
	200 mg doxycycline, 3 weeks	15 ^h	+	NT
Lymphatic filariasis (brugian filariasis)	100 mg doxycycline, 6 weeks	NT	+	NT

Dirofilaria immitis



Dirofilaria immitis

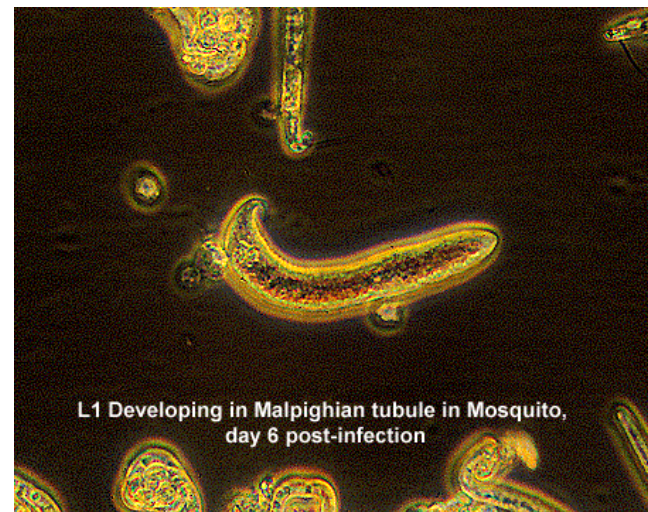
Parasita cosmopolita de cães e gatos e silvestres
Vermes: ventrículo direito e artéria pulmonar



Dirofilaria immitis

Microfilárias no sangue dia e noite (> noite)

Mais de 60 espécies de mosquitos são vetores:
Aedes, *Culex*, *Mansonia*, *Anopheles*



Dirofilaria immitis

Parasita ocasional em humanos

Doenças benignas:

Dirofilaríase pulmonar

$\frac{1}{2}$ assintomática

$\frac{1}{2}$ dor torácica, febre, mal-estar

Geralmente 1 verme, nódulo inflamatório

Dirofilaríase cutânea

localização variável, inclusive ocular



Radiografia de tórax
Lesão pulmonar secundária em forma de moeda
por *Dirofilaria immitis* em homem adulto.

Diagnóstico: microfílarias no sangue
Tratamento: Ivermectina
Controle: vetor, cães

Distribuição geográfica de *Mansonella ozzardi*



Novo Mundo- América do Sul e Central e Antilhas

Mansonella ozzardi

Confusão diagnóstico *W.bancrofti*

Fêmea: 6-8cm, Macho ?

No mesentério e tecido conjuntivo peritoneal, tecido adiposo das vísceras

Microfilárias no sangue, sem periodicidade

Vetores de *Mansonella*: *Culicoides*, *Simulium*

Não patogênico?

Patogênico? dor articular, frieza nas pernas, adenite inguinal, placas, cefaléia

Diagnóstico e tratamento ~filariase linfática

Controle de mosquitos

Inseticidas

Organoclorados: DDT, o hexaclorociclohexano (HCH ou BHC), o dieldrin.

Organofosforados: malation, fenitrothion, diclorvos e outros.

Carbamatos: carbaril, propoxur.

Piretróides: deltametrina, permetrina, cipermetrina, ciflu-trina e lambdacialotrina.

Uso racional de inseticidas para evitar o desenvolvimento de resistência

Utilização rotativa: mudança de droga

Áreas vizinhas tratadas com inseticidas diferentes

Associação com outros procedimentos de controle:

Emprego de meios físicos como a telagem das casas e o uso de mosquiteiros e cortinas (inclusive os impregnados com inseticidas)



Roupas: evitar exposição da pele ao mosquito

Repelentes



Associação com outros procedimentos de controle:

Hormônios juvenis (methoprene) e os inibidores da formação de quitina (TH.6040)

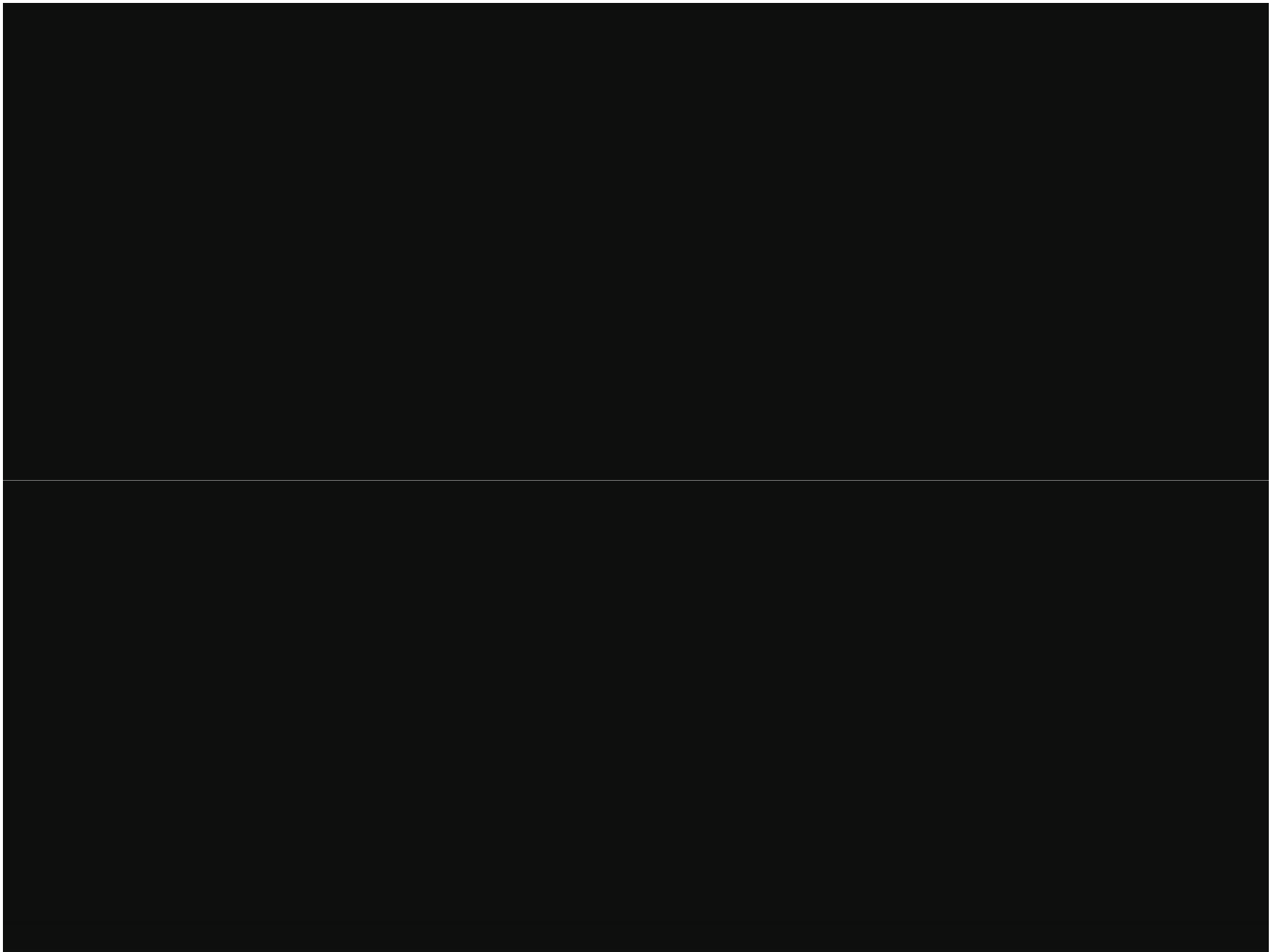
Feromônios a fim de atrair os machos para as armadilhas ou para perturbar a reprodução: produtos vegetais com vários tipos de ação

Liberação de machos estéreis em áreas endêmicas;

Controle biológico: *Bacillus thuringiensis* e *B. sphaericus*, produtores de uma endotoxina protéica que mata as larvas que os ingerirem

 Êxito para o controle das larvas dos simulídeos transmissores da oncocercíase, larvas de *Aedes*, de *Anopheles* e de *Culex*.

Peixes predadores de larvas como *Gambusia affinis* e outros



MPEG