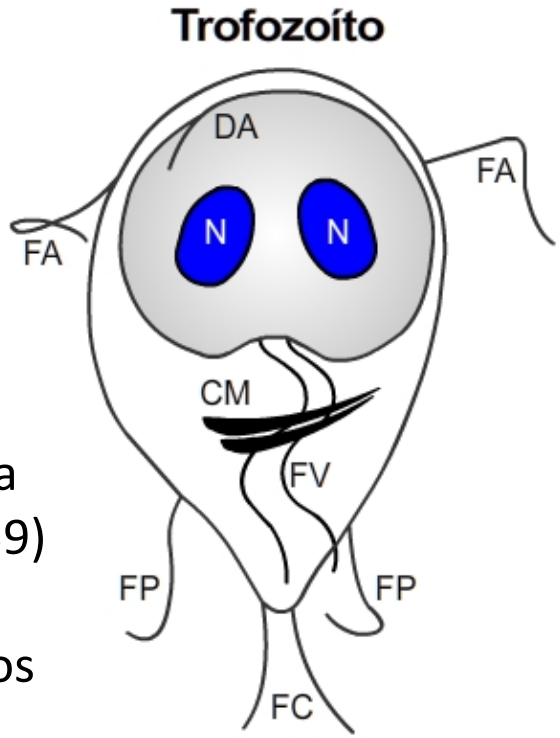
Giardia e giardíase

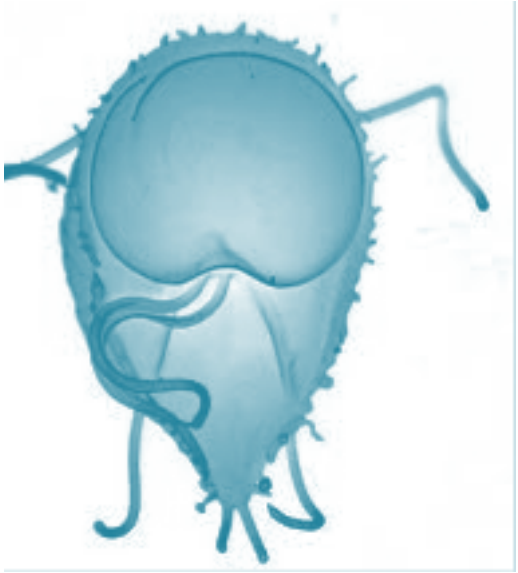
Renata R Tonelli
renata.tonelli@gmail.com

Taxonomia de *Giardia*

- **Taxonomia**

Filo Metamonada
Classe Trepomonadea
Ordem Diplomonadida
Família Hexamitidae
Gênero Giardia
Espécie





- Primeira descrição detalhada da Giardia foi dada por Lambl (1859)

- Flagelados diplozoicos, 2 núcleos diploides transcricionalmente ativos, ausência de mitocôndria e peroxisomos, organela de adesão (disco ventral)

Espécies do gênero *Giardia*

Species	Hosts	Morphological characteristics	Trophozoite dimensions length/width (μm)
G. duodenalis (=Assemblage A)	Wide range of domestic and wild mammals including humans	Pear-shaped trophozoites with claw-shaped median bodies.	12–15/6–8
G. agilis	Amphibians	Long, narrow trophozoites with club-shaped median bodies.	20–30/4–5
G. muris	Rodents	Rounded trophozoites with small round median bodies.	9–12/5–7
G. ardeae	Birds	Rounded trophozoites, with prominent notch in ventral disc and rudimentary caudal flagellum. Median bodies round-oval to claw shaped.	~10/~6.5
G. psittaci	Birds	Pear-shaped trophozoites, with no ventro-lateral flange. Claw-shaped median bodies.	~14/~6
G. microti	Rodents	Trophozoites similar to *G. duodenalis*. Mature cysts contain fully differentiated trophozoites.	12–15/6–8
G. enterica (=Assemblage B)	Humans and other primates, dogs, some species of wild mammals	Pear-shaped trophozoites with claw-shaped median bodies.	12–15/6–8
G. canis (=Assemblage C/D)	Dogs, other canids	Pear-shaped trophozoites with claw-shaped median bodies.	12–15/6–8
G. cati (=Assemblage F)	Cats	Pear-shaped trophozoites with claw-shaped median bodies.	12–15/6–8
G. bovis (=Assemblage E)	Cattle and other hoofed livestock	Pear-shaped trophozoites with claw-shaped median bodies.	12–15/6–8
G. simondi (=Assemblage G)	Rats	Pear-shaped trophozoites with claw-shaped median bodies.	12–15/6–8

Prevalência da *Giardia* no Brasil

Estados brasileiros com prevalência > 30%

As áreas em amarelo refletem a densidade populacional.

Os círculos azuis mostram os estados com prevalência da giardíase > 30%: Amapá, Maranhão, Sergipe, Minas Gerais, São Paulo e Paraná.

Os dados da densidade populacional foram obtidos do Censo de 2010.

PLoS Negl Trop Dis. 2017 Oct; 11(10): e0006005.

Trasmissão da *Giardia*

- A giardíase humana tem duas origens: **surtos** e as **transmissões endêmicas** (infecções esporádicas);
- Muito do nosso conhecimento deriva-se das investigações durante os surtos;
- A giardíase é considerada uma doença de pouca importância e as notificações são escassas;
- Transmissões endêmicas: contato pessoa-pessoa, viagens, consumo de H_2O potável e recreacional;
- Surtos: H_2O potável e recreacional contaminadas com cistos

H_2O potável	H_2O recreacional	Sementes germinadas	Vegetais de folha e frutas cruas	Marisco	Terra e areia

Mais importante → Menos importante

Fatores de risco na infecção por *Giardia*

Fator de risco	Associação	Razão
Idade	As crianças tem maior propensão à infecção e excretam grandes quantidades de cistos	1. Comportamento: maior risco de exposição 2. Imunologia:
Gênero	Homens são mais propensos à infecção	1. Comportamento 2. Diagnóstico falso-positivo
Status nutricional	Indivíduos mal-nutridos são mais propensos à infecção	1. Hipocloridria 2. Atividade enzimática reduzida 3. Baixa motilidade intestinal
Dieta	Consumo de vegetais de folha são um risco	1. Consumidas cruas 2. Lavadas em água contaminada
Urbano/rural	Moradores em centros urbanos são mais infectados que aqueles na área rural	1. Densidade populacional 2. Pobreza e condições sanitárias precárias
Sazonalidade	A incidência pode aumentar nos dias frios e úmidos	1. Os cistos sobrevivem em temperaturas mais baixas
Status sócio-econômico	Baixa condição Alta condição	1. Pobreza 2. Não reportado

Giardia nas fontes de água no Brasil

Detection of *G. duodenalis* cysts in water sources derived through different regions of Brazil.

Only studies using the membrane filtration technique and immunofluorescence or molecular assays are included.

Water Source	City (State)	Filtered Volume	Number of Samples	Frequency of Positivity	Range of Number of cysts/L	Reference
Surface water	Campinas (São Paulo)	0.5L	03	100.0%	33.0–95.0	[16]
Surface water	Campinas (São Paulo)	1L	08	87.5%	2.5–120±	[24]
Surface water	Porto Said and Santa Maria da Serra	5L	28	0	A±	[34]
Surface water; treated water	Maringá (Paraná)	1,000L	15 (surface water); 15 (treated water)	19.9% (surface water); A (treated water)	0.026–0.2	[26]
Surface water; treated water	Londrina (Paraná)	30L (raw water); 100L (treated water)	24 (surface water); 24 (treated water)	8.3% (raw water); 0 (treated water)	0.42–4.2	[25]
Surface water; spring water	Piracicaba, São Lourenço da Serra, São Paulo (São Paulo)	10L	11 (surface water); 1 (spring water)	36.3% (surface water); 0 (spring)	NA	[30]
Spring water	Campos do Jordão (São Paulo)	20L	72	2.7%	0.07–0.1	[35]
Brackish/estuarine water	Cananéia (São Paulo)	1L – 10L	44	18.1% - 36.3% (according to sampling site)	NA±	[32]
Bottled mineral water*	Campinas (São Paulo)	1.5L – 2.0L	26	0	A	[36]
Seawater	Florianópolis (Santa Catarina)	1L – 10L	04	25.0%	NA±	[33]
Groundwater (rural area)	Maringá (Paraná)	100L	40 (from artesian wells; 40 (from commons wells); 01 (of mine)	0	A	[37]

PLoS Negl Trop Dis. 2017 Oct; 11(10): e0006005.

Genótipos de *Giardia*

- A *Giardia* é classificada em 7 grupos (assemblages) baseados em marcadores moleculares: triose fosfato isomerase (*tpi*), subunidade pequena do RNA ribossomal (SSU) e glutamato desidrogenase (*gdh*), β-giardina

Taxonomic group	Known hosts	Genome-scale datasets
Giardiinae		
G. intestinalis		
Assemblage A	Mammals	WB clone 6 ATCC50803
Assemblage B	Mammals	GS ATCC50581
Assemblage C	Dog	
Assemblage D	Dog	
Assemblage E	Livestock	P15
Assemblage F	Cat	
Assemblage G	Rat	

Isolados de humanos

Isolado de porco

Genômica de *Giardia*
Propriedades dos genomas

Assemblage	**A**	**B**	**E**
Isolate	WB	GS	P15
Assembly size (MB)	11.21	11.00	11.52
Number of contigs	306	2931	820
G+C Content	49%	47%	47%
Average contig size (kbp)	36.6	3.8	14.1
Total protein-coding genes	5901	4470	5064
Giardia orthologs present (4074 ortholog groups)	4374	4204	4437
Number of unique orthologs	1190	57	83
Percent amino acid homology to WB	n/a	74%	90%
Percent homology within assemblage	n/a	98%	n/a

Genômica de *Giardia*
Propriedades dos genomas

1. Os isolados WB e GS compartilham aprox. 78% de identidade de aminácidos nas regiões codificantes para proteínas

2. Os 3 isolados compartilham as mesmas famílias multigênicas: VSPs, quinases NEK, proteínas ricas em Cys, endonucleases

3. A análise de ortólogos confirma a extensa conservação de genes entre os genótipos

4. Ortólogos ausentes em 1 ou mais genomas são membros das famílias multigênicas

5. Os genótipos WB e P15 compartilham mais ortólogos que os dois isolados humanos (WB e GS)

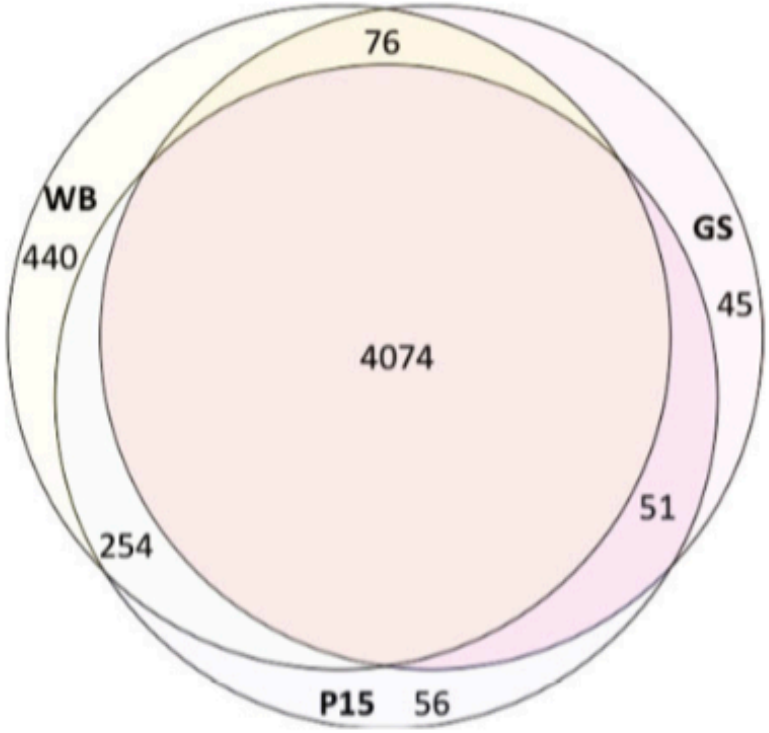
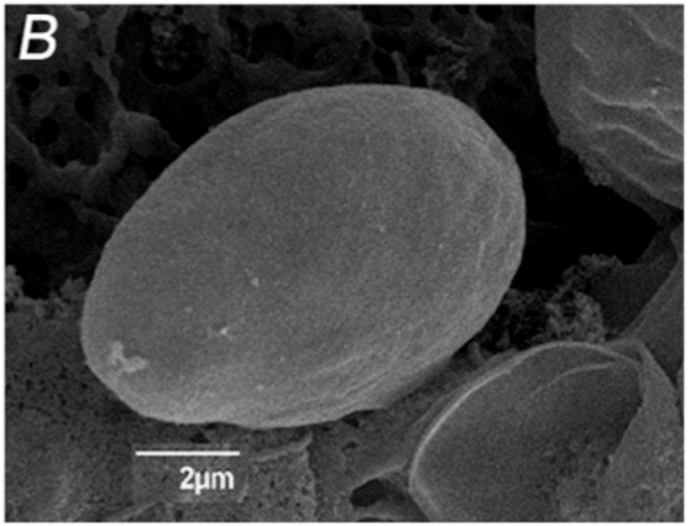
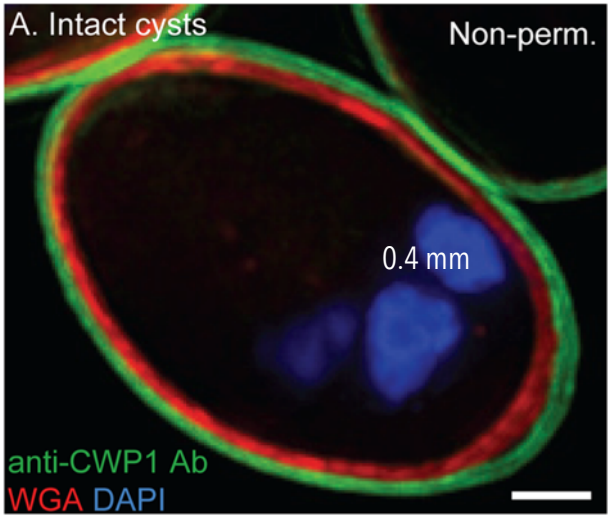


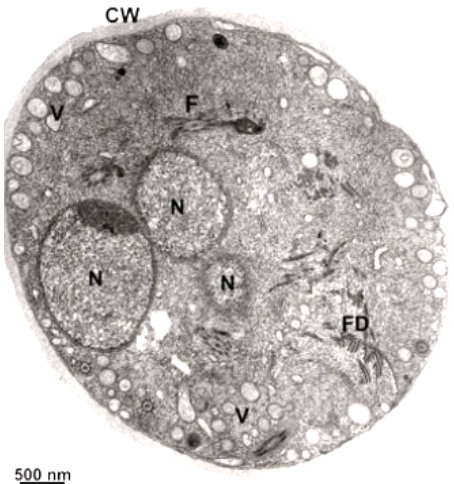
Fig. 5.1 Gene orthologs shared among Assemblages A, B, and E. Numbers represent distinct orthologous groups determined by OrthoMCL

Biologia celular de *Giardia*

Estágios de desenvolvimento







Cistos

Forma não proliferativa e infectiva

Célula ovalada (5 μ m x 7-10 μ m ⌀)

Quadrinucleada

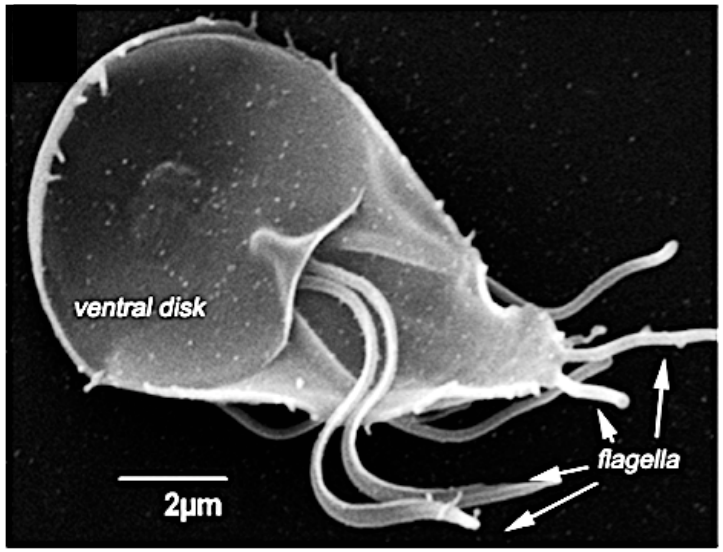
Parede cística (CWPs e fibras de GalNAc)

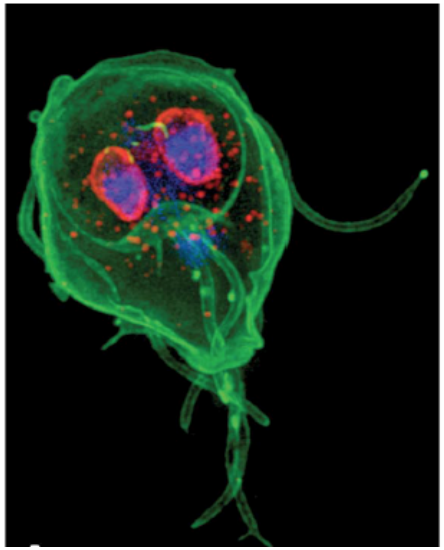
Flagelos internalizados

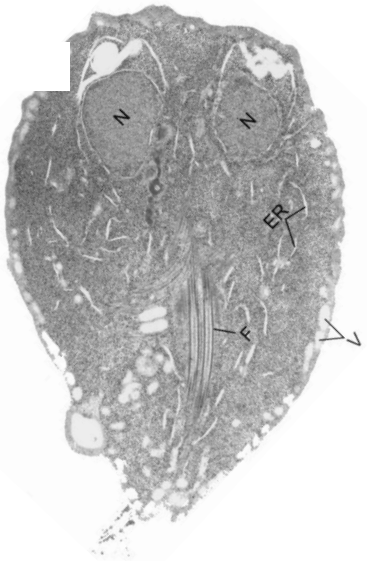
Fragmentos do disco ventral

Biologia celular de *Giardia*

Estágios de desenvolvimento







Trofozoítos

Forma proliferativa e não infectiva

Célula piriforme (12-15 μ m x 5-9 μ m)

Binucleada

4 Pares de flagelos

Corpo mediano (MTOC?)

Mitossomo

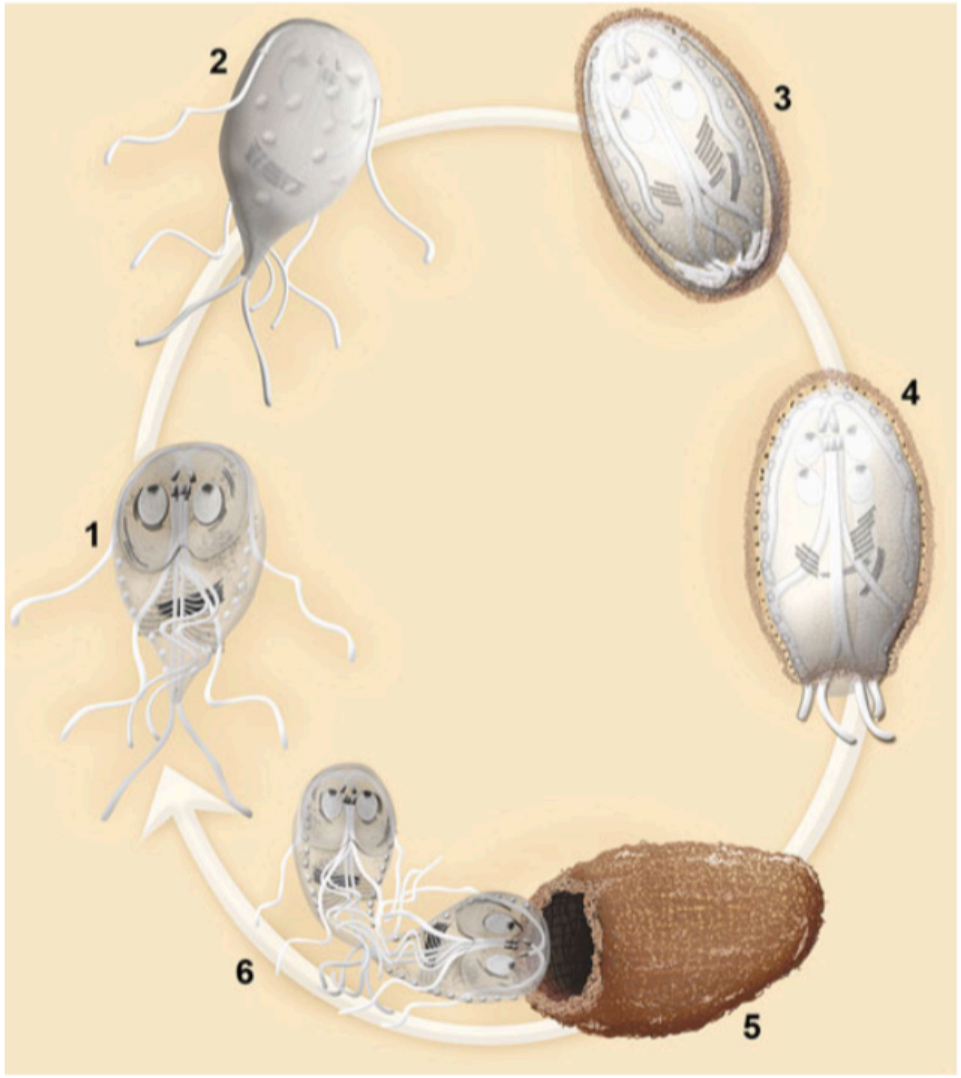
Retículo endoplamático (ao redor do núcleo)

Vesículas periféricas (sistema endo-lisossomal)

Disco ventral (organela de adesão)

Biologia celular de *Giardia*

Ciclo de vida

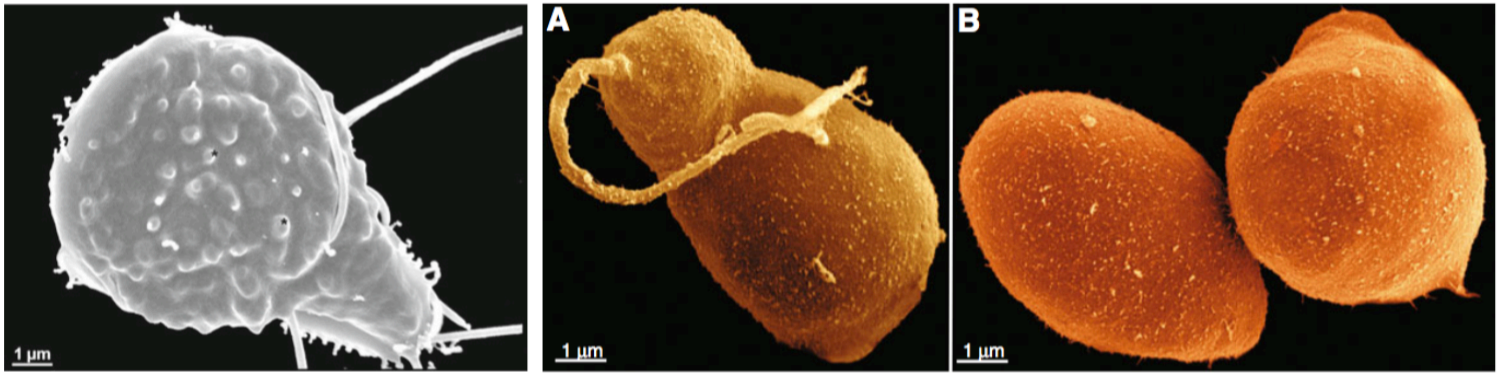


1. **Trofozoíto:** 8 flagelos, corpo mediano, disco ventral e 2 núcleos;
2. **Encistamento**: notam-se as protrusões de ESV (vesículas epecifícas do encistamento) que vão dar origem à parede cística;
3. **Cisto:** parede cística, disco ventral fragmentado, flagelos internados, 4 núcleos;
4. **Desencistamento inicial:** nota-se na parede cística uma abertura por onde os flagelos são externalizados e batem;
5. **Desencistamento final:** o parasita escapa do cisto com a liberação de 2 trofozoítos;
6. **Trofozoíto**

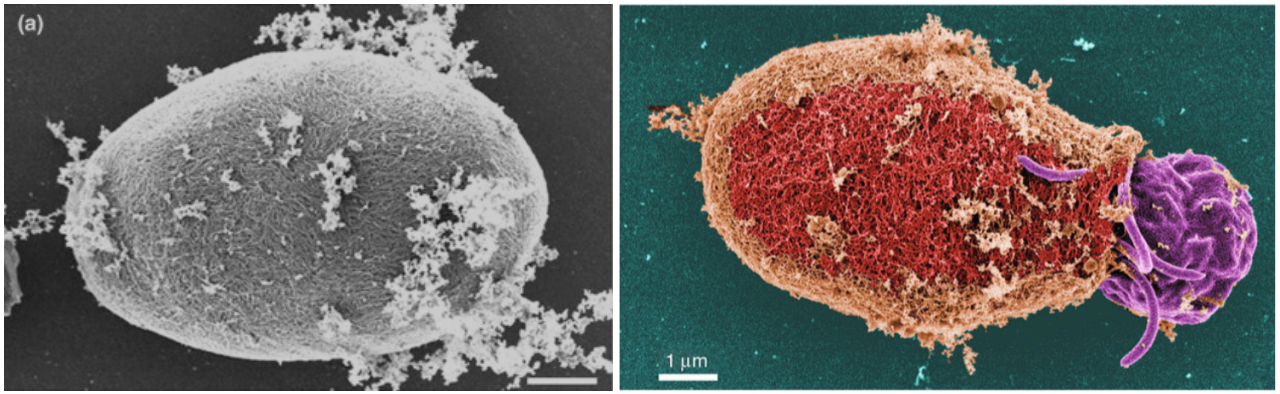
Biologia celular de *Giardia*

Diferenciação celular

Encistamento: notam-se as protrusões de ESV (vesículas epecifícas do encistamento) que vão dar origem à parede cística

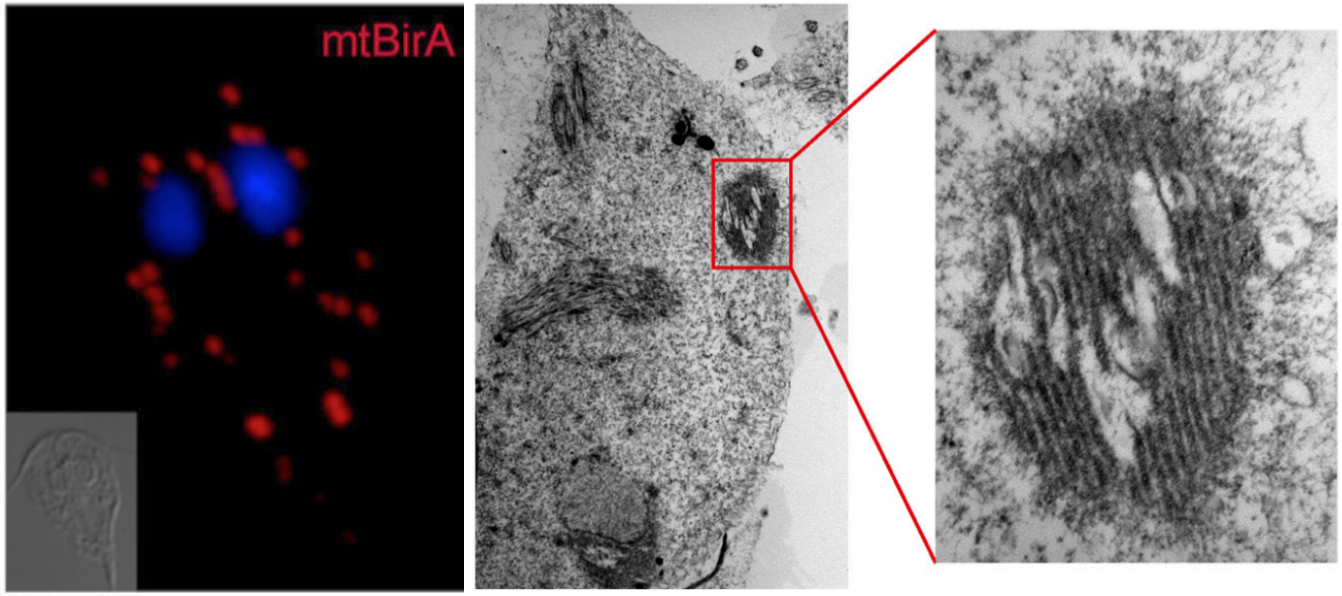


Desencistamento inicial: nota-se na parede cística uma abertura por onde os flagelos são externalizados



Biologia celular de *Giardia*
O mitossomo

- Os mitossomos são formas de mitocôndria e tem aproximadamente 100 nm de tamanho;
- São circundados por 2 membranas, mas não contêm DNA;
- O proteoma dos mitossomos tem um n° limitado de 21 proteínas, que participam da biossíntese das proteínas de Fe-S;
- De 20 a 50% das proteínas não tem função determinada mas tem ortólogos em outros eucariotos.



Mol Cell Biol. 2015 Aug; 35(16): 2864–2874.

Biologia celular de *Giardia*
O núcleo

A *Giardia* tem dois núcleos diploides (2n = 10)
Localizados bilateralmente
Cada núcleo contém 5 cromossomos variando em tamanho entre 1.6 a 3.8 Mb

Dados sugerem que os núcleos são funcionalmente distintos já que apresentam nº e distribuição de poros nucleares distintos

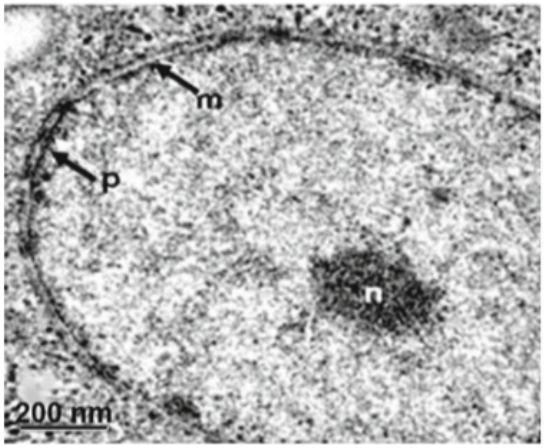


Fig. 9.21 Nucleolus in *Giardia lamblia* seen by TEM: a nucleus is shown in high magnification where an evident nucleolus (*n*), nuclear pores (*p*) and nuclear envelope (*m*) are seen. Bar: 200 nm. From Tian et al. (2010), with permission of Springer

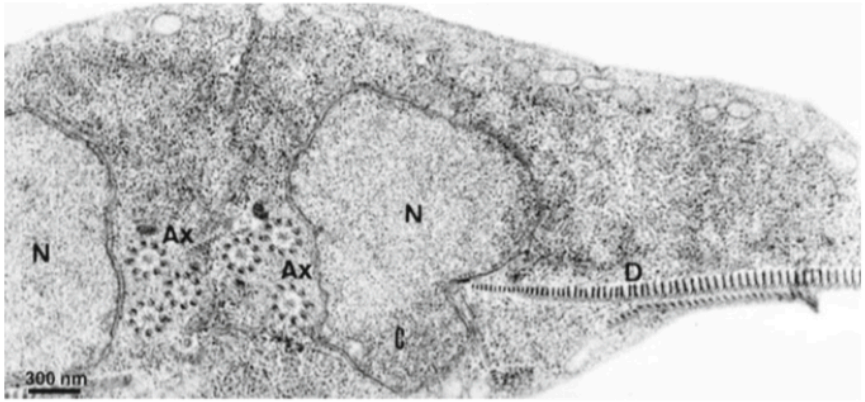
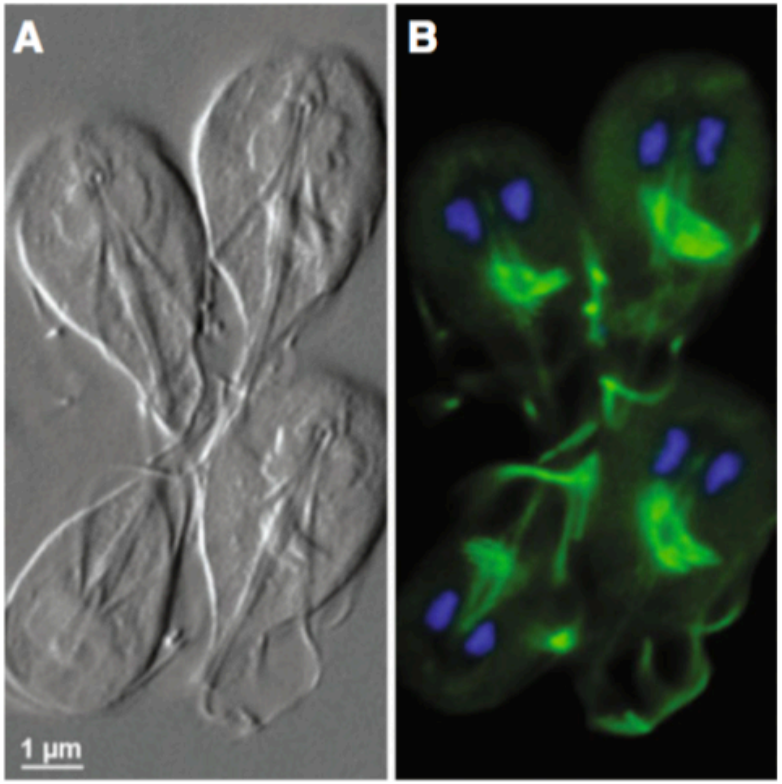


Fig. 9.22 Karyokinesis in *G. lamblia*. Note the disc (*D*) participation in the nucleus (*N*) division. *Ax* Flagella axonemes; *C* chromatin. Bar: 300 nm. From Benchimol (2007)

Biologia celular de *Giardia*
O corpo mediano

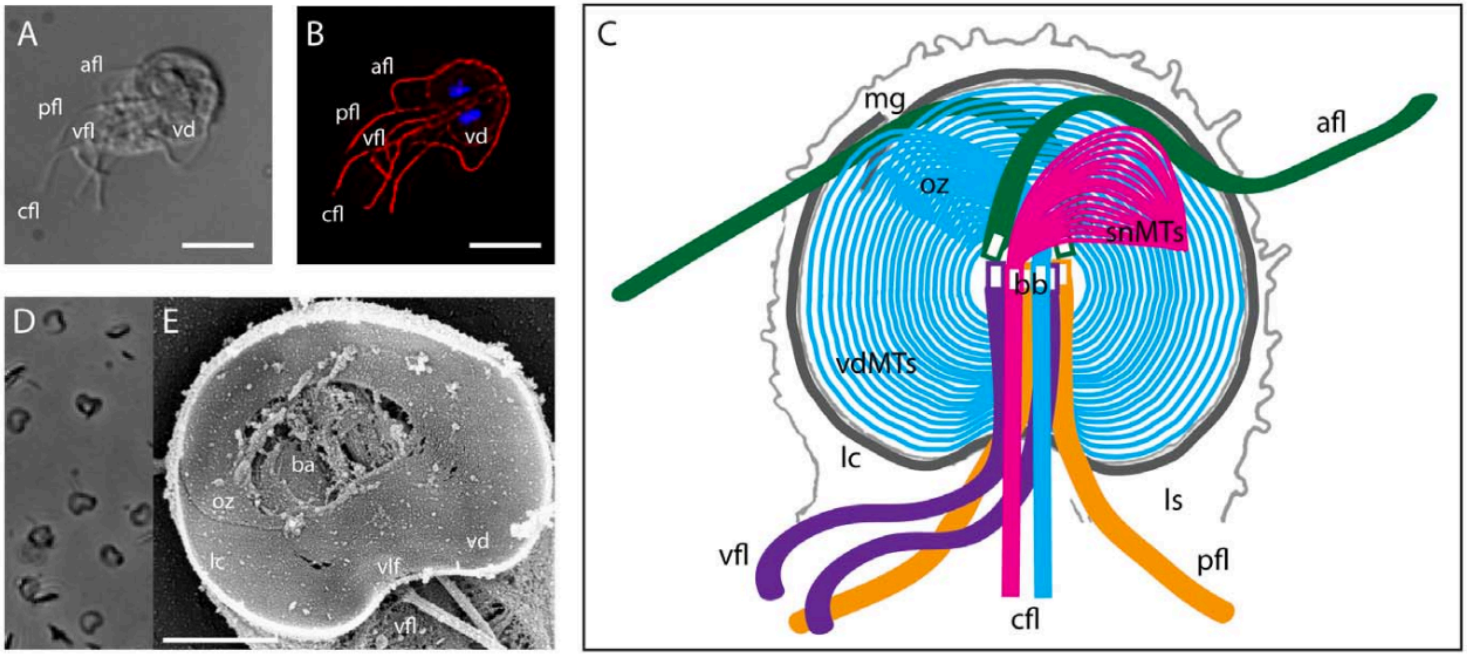
- O corpo mediano está localizado transversalmente no maior eixo da célula
- A função do CM não foi estabelecida mas parece ser um sítio de nucleação de tubulina
- Os CMs são:

(1) Compostos por proteínas contráteis e ligantes de cálcio;
(2) Encontrados em trofozoítos em mitose e intérfase;
(3) Estão presentes em 80% das células;
(4) Estão conectados à membrana plasmática, disco ventral e flagelo caudal;
(5) Podem projetar-se para a superfície das células



Biologia celular de *Giardia*

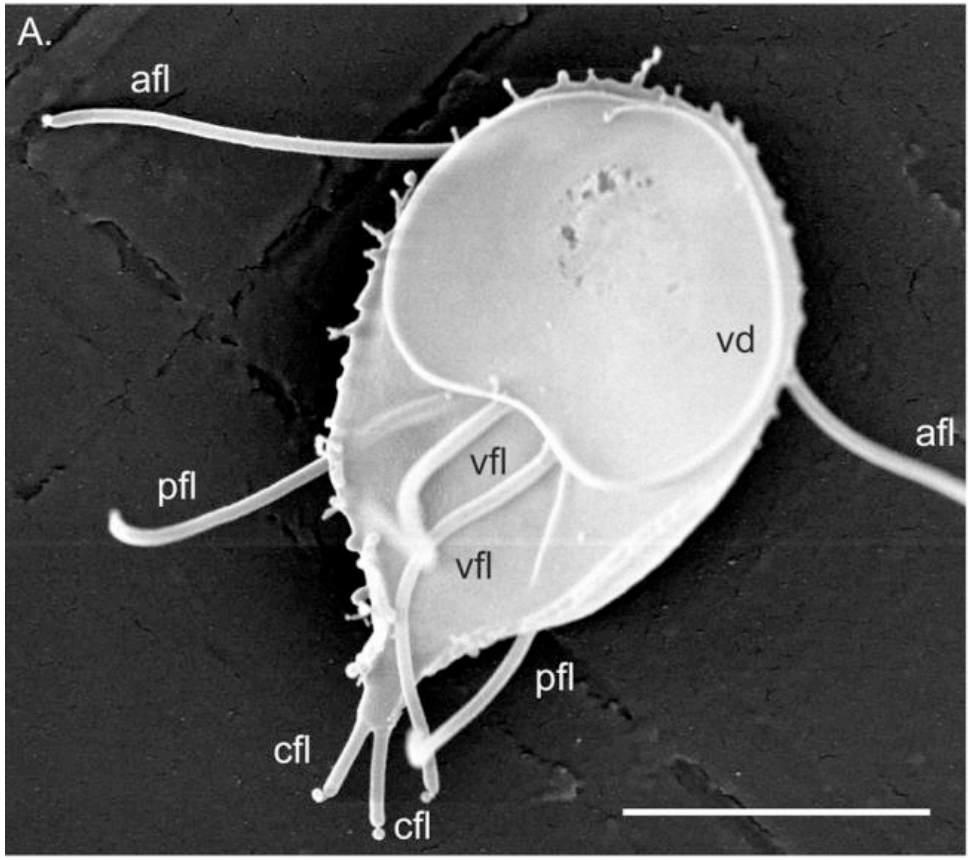
O disco adesivo

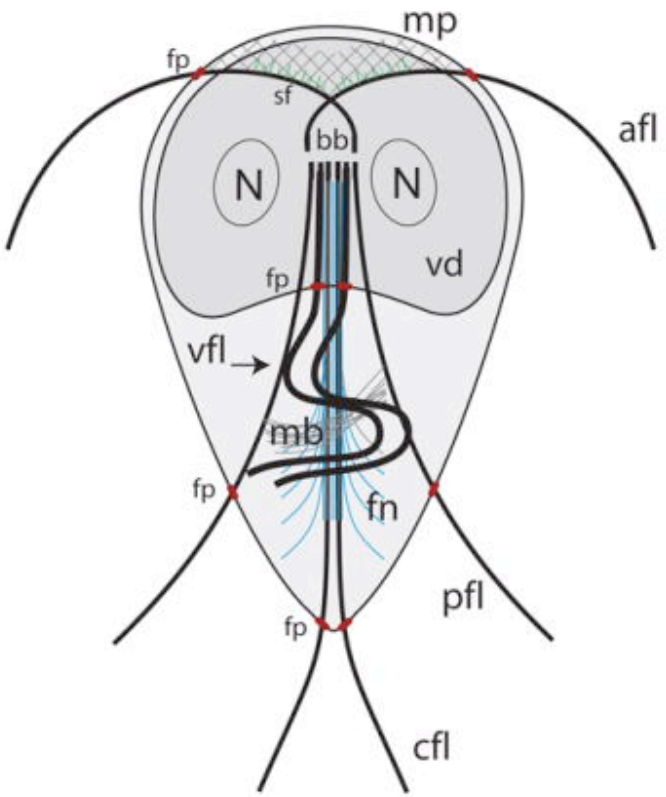


Estrutura do citoesqueleto e do disco ventral em Giardia. Painel A (DIC) e B (anti-alpha-tubulina) ilustram a estrutura primária de microtúbullos em trofozoítos. Escala = 5 um. A estrutura do disco ventral e dos corpos basais estão ilustrados no painel C, incluindo os MTs do disco ventral (vdMTs), da crista lateral (lc), a zona de sobreposição da espiral de MTs (oz), o arranjo de MTs supernumerosos (snMTs), os 4 pares de flagelos e os 8 corpos basais (bb). Outras áreas do disco ventral incluem o escudo lateral (ls) e a o sulco marginal (mg). Escala = 2 um. **doi:10.1371/journal.pntd.0001442.g001**

Biologia celular de *Giardia*

Os flagelos





Vista ventral dos trofozoítos de Giardia por SEM (A) (Escala = 5 µm). As estruturas associadas a axonemas são mostradas no esquema à direita.

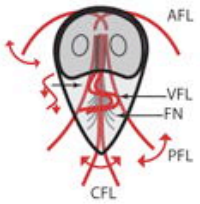
Curr Opin Microbiol. 2010, 13(4): 480-490

Biologia celular de *Giardia*

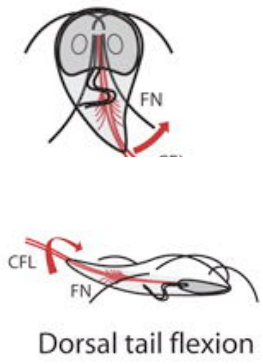
Os movimentos dos flagelos

A. Trofozoítos aderidos

Motilidade flagelar

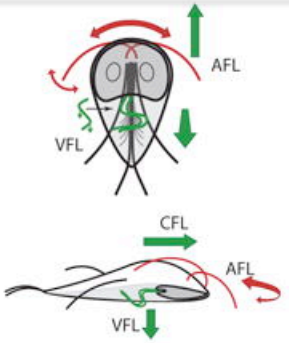


Flexão lateral da cauda

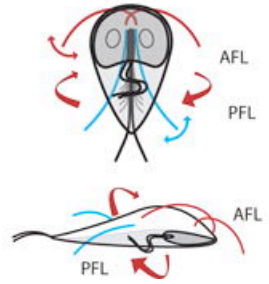


B. Trofozoítos não aderidos

Movimento direcional



Movimento rotacional

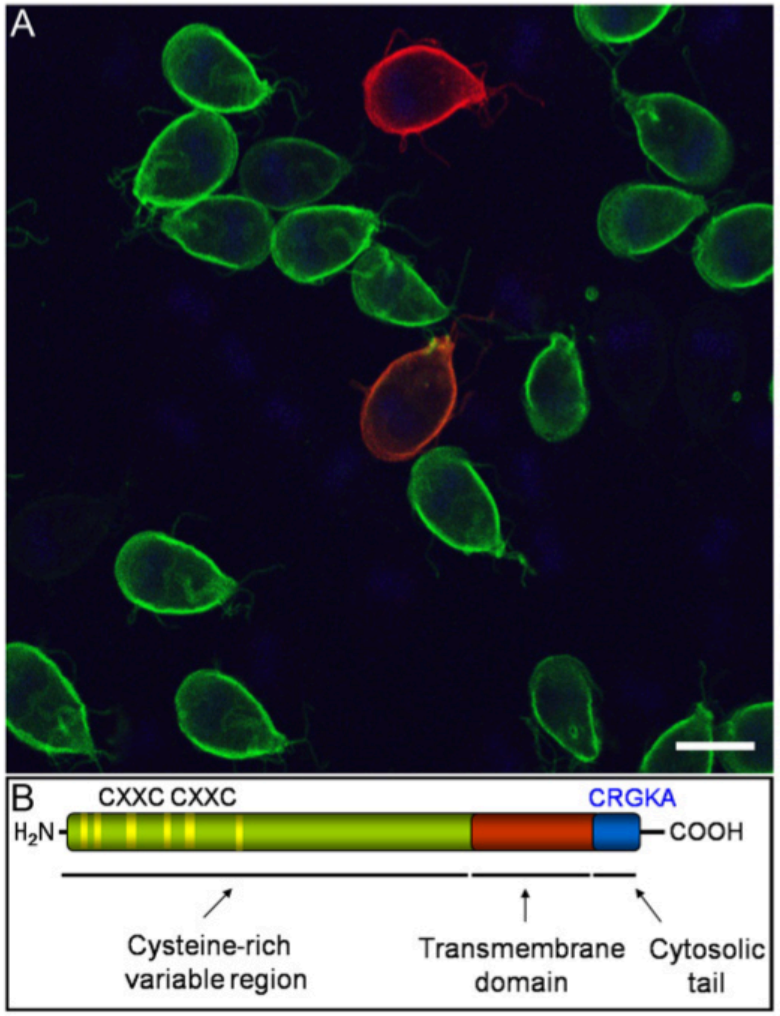


Curr Opin Microbiol. 2010, 13(4): 480-490

Biologia celular de *Giardia*

A superfície dos trofozoítos

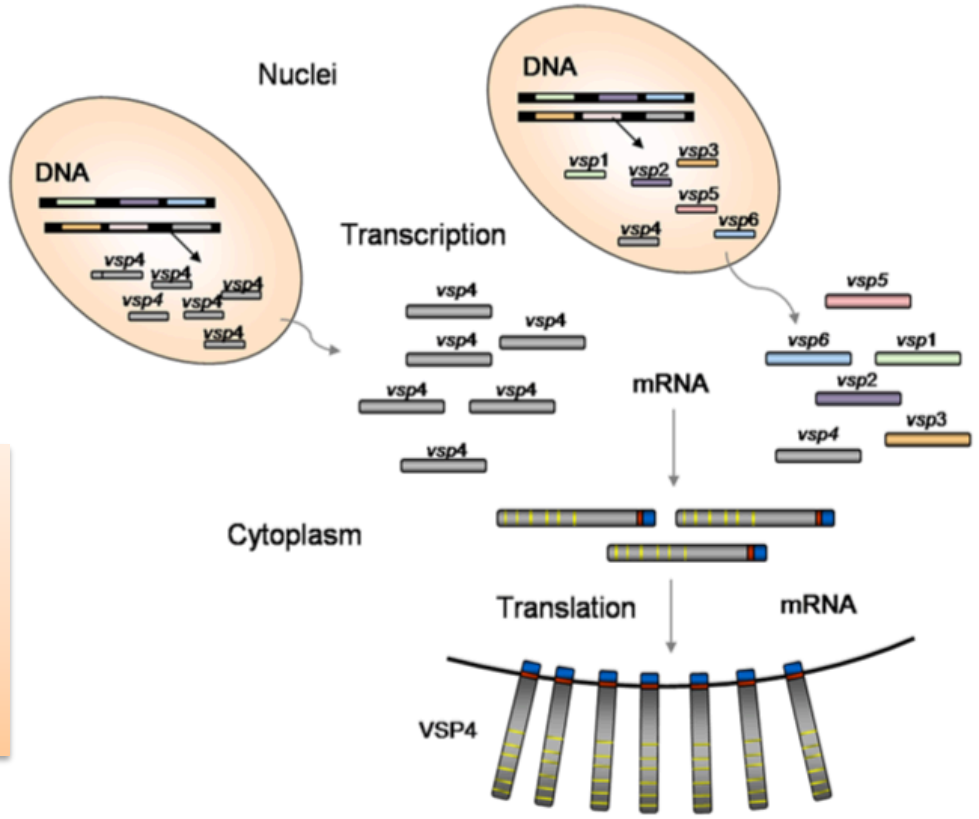
- É inteiramente recoberta por proteínas variantes de superfície (VSPs)
- As VSPs formam uma família multigênica (aprox 200 genes)
- As VSPs são proteínas transmembrânicas, com uma cauda citossólica (C-terminal) e uma região variável rica em resíduos de cisteína (N-terminal)
- Apesar de similares as VSPs variam em tamanho (20-200 kDa), número e posição dos motivos variáveis, e antigenicidade



Essays Biochem. (2011) 51, 177–191

Biologia celular de *Giardia*
Variação antigênica

- É uma variação fenotípica
- Consiste na expressão sequencial de determinantes antigênicos expostos na superfície do parasita



O mecanismos de variação antigênica em *Giardia* assemelha-se ao RNA de interferência e acontece espontâneamente (sem estímulos) a cada 13 gerações

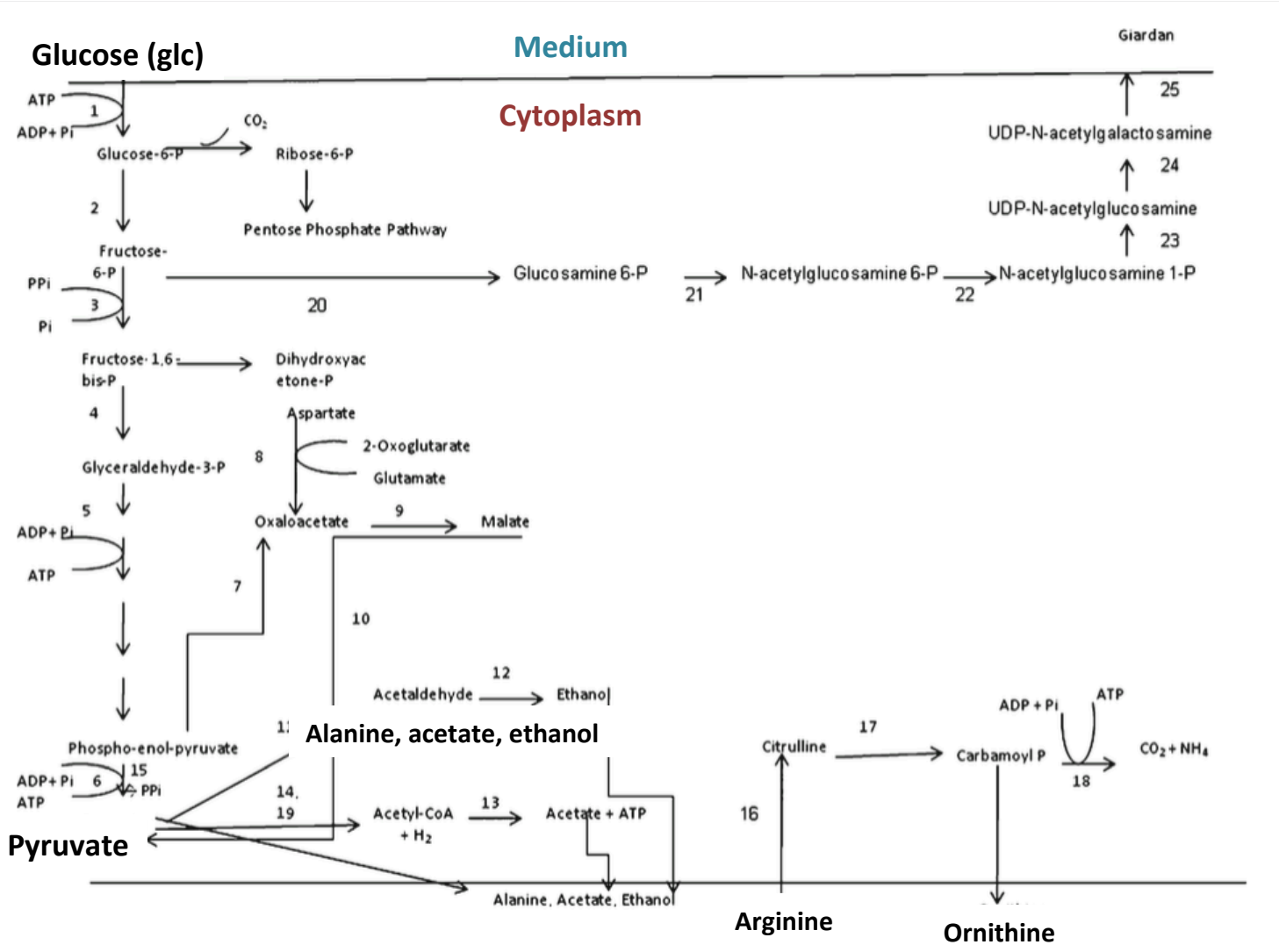
Essays Biochem. (2011) 51, 177–191

Biologia celular de *Giardia*
Metabolismo

- Tem uma capacidade biosintética mínima: NÃO tem síntese de novo de lipídeos, de purinas, e pirimidinas
- NÃO tem mitocôndria e fosforilação oxidativa mediada por citocromos
- Os trofozoítos usam a glicólise (a partir de glicose exclusivamente) e a via da arginina dihidrolase
- A produção de energia é baseada na fosforilação a nível de substrato
- A glicose também alimenta a via das pentoses
- As enzimas responsáveis pela produção de energia são solúveis e não estão em organelas subcelulares

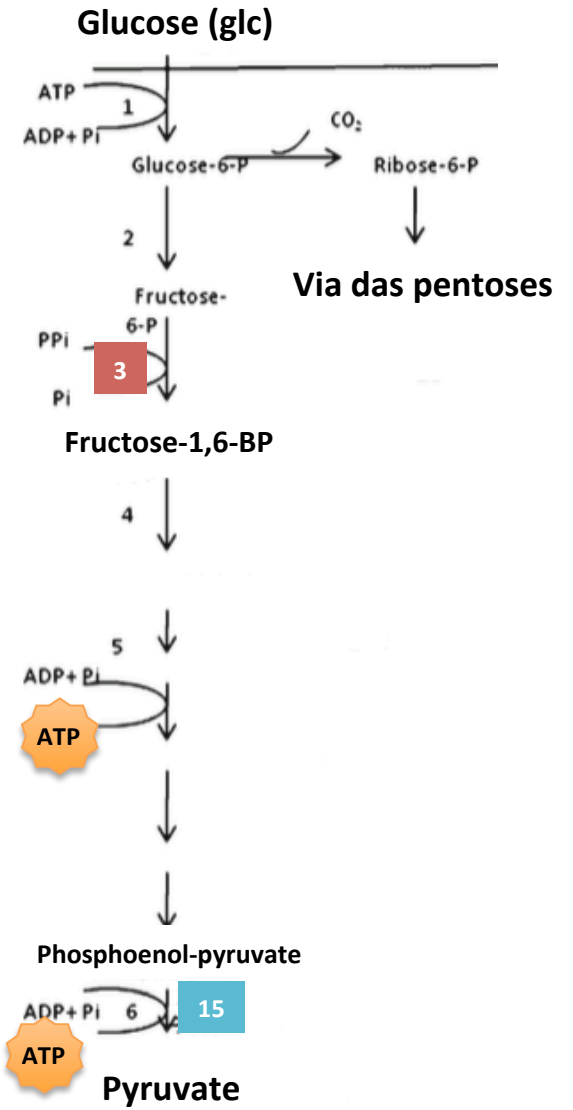
Biologia celular de *Giardia*

Metabolismo de carboidratos



Biologia celular de *Giardia*

Metabolismo de carboidratos

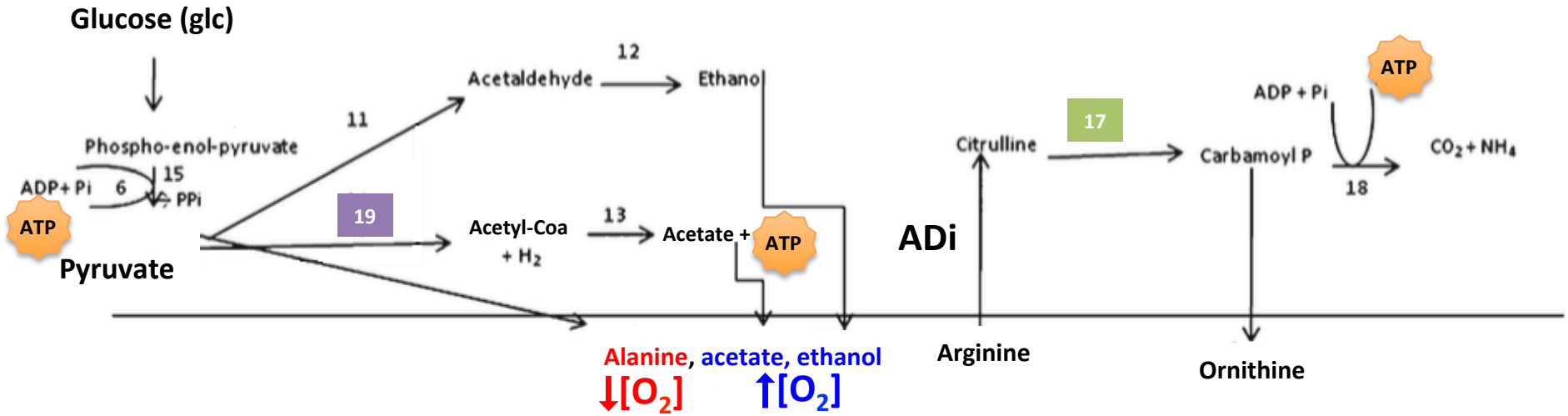


3 A conversão da frutose-6-phosphate a frutose-1,6-BP é **reversível** e é catalisada pela fosfofrutoquinase dependente de pirofosfato (PPi-PFK)

15 A piruvato fosfato diquinase dependente de pirofosfato (PPi-PPdK) converte fosfoenolpiruvato em piruvato + 2(ATP)

Biologia celular de *Giardia*

Metabolismo de carboidratos



19 O piruvato é convertido em acetil-CoA e ferredoxina pela ação da **piruvato oxigênio-sensível: ferredoxina oxidoredutase (PFOR)**

Acetil-CoA é convertido em acetato + ATP pela acetil-CoA sintetase

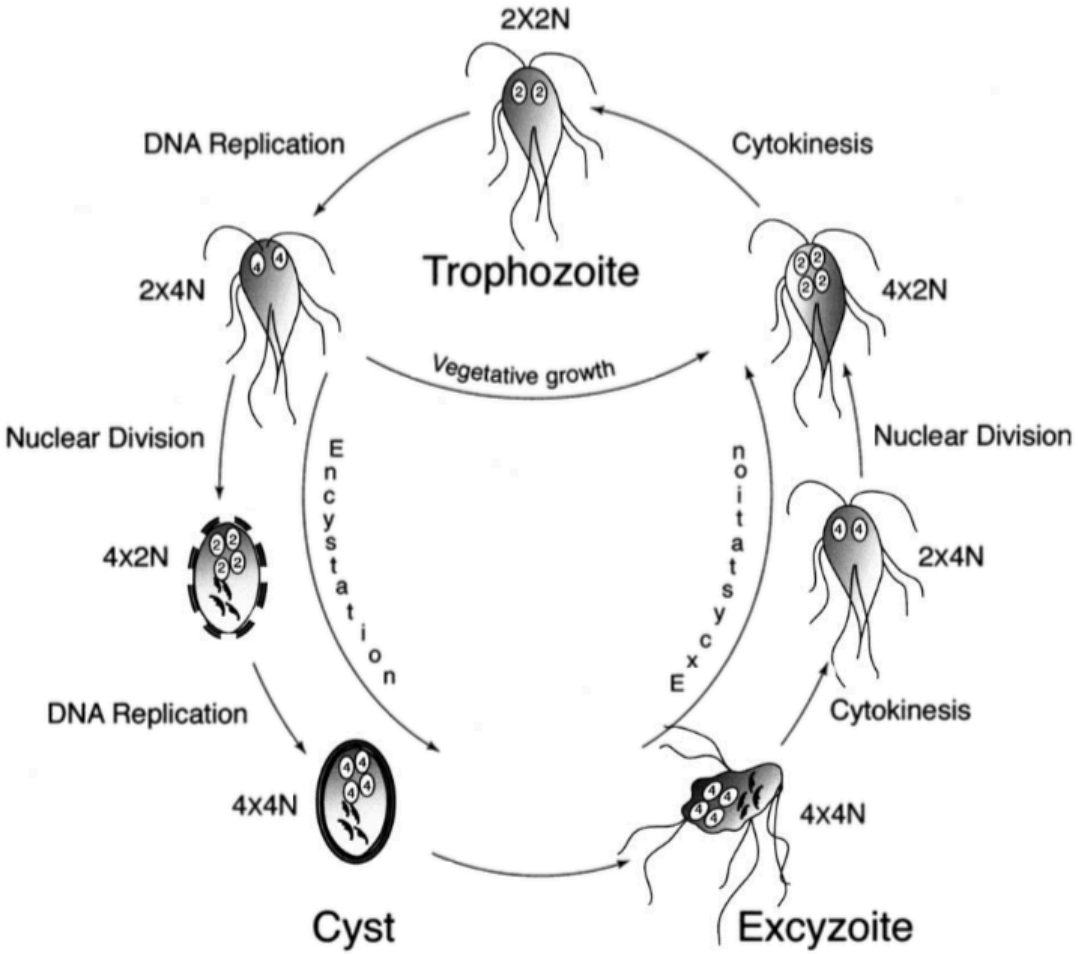
↓$[O_2]$ = anaerobiose
↑$[O_2]$ > 0,25 µM

No intestino $[O_2]$ varia de 0 – 60 µM

17 Arginina é convertida a ornitina via citrulina pela **Arginina Dihidrolase (ADiH)**

Biologia celular de *Giardia*

Ploidia no ciclo de vida



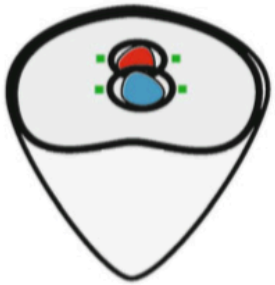
FEMS Microbiol Letters (2003) 218:3-7

Biologia celular de *Giardia*

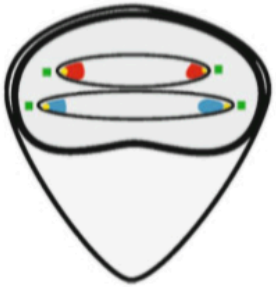
Divisão celular

Interfase

Prófase: Condensação da cromatina

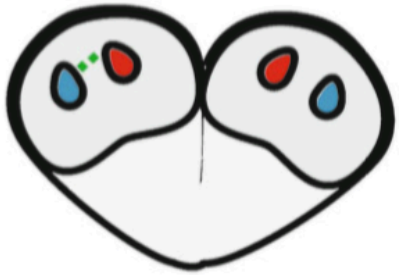


Metafase: Congregação dos cromossomos no eixo



Anáfase: Separação das cromátides em direção aos pólos

Telofase: Reconstituição do envelope nuclear

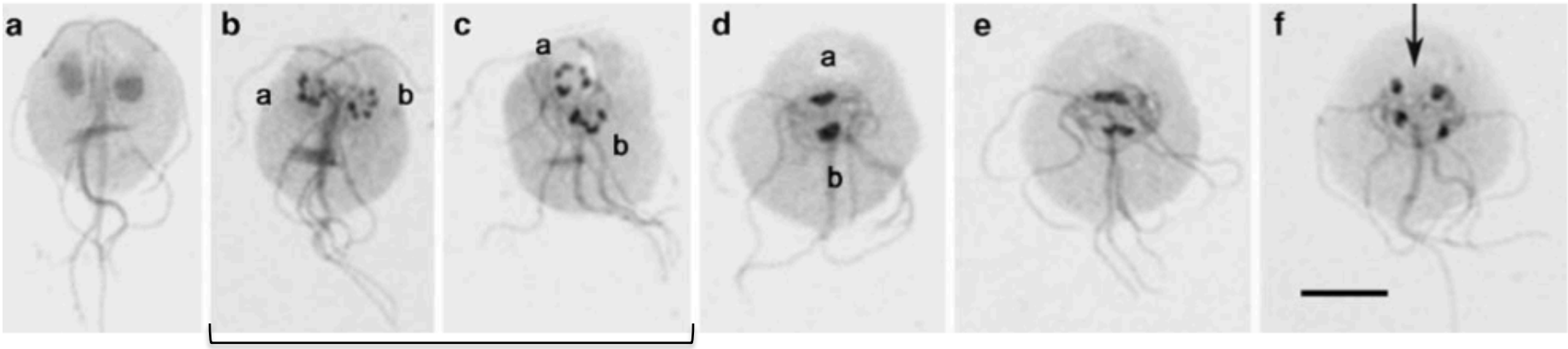


Citocinese: Separação em 2 células-filhas

Biologia celular de *Giardia*

Divisão celular

Direção da citocinese



Interfase

Prófase
Condensação da cromatina

Metafase:
Congregação dos cromossomos no eixo equatorial

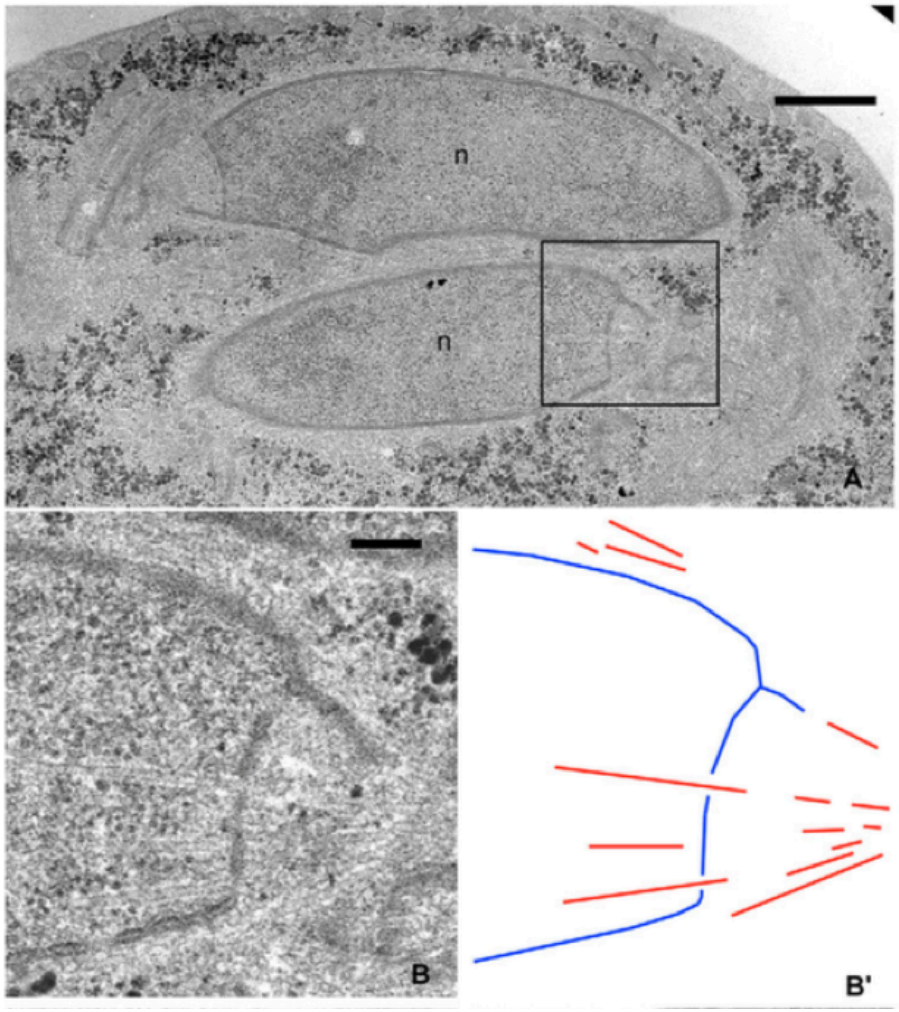
Anáfase
Separação das cromátides em direção aos pólos

Telofase
Reconstituição do envelope nuclear

Chromosome (2007) 116:65

Biologia celular de *Giardia*
Mitose (metafase)

- A mitose é semi-aberta
- O envelope nuclear está presente ao longo de toda a mitose
- Nos pólos do núcleo tem-se 2 aberturas para a passagem dos fusos mitóticos
- Não há observações diretas da associação de MTs ao cinetocoro (complexo de proteínas onde os fusos ligam-se aos cromossomos)
- Segregação dos cromossomos é dependente dos MTs e inibida por Taxol.



J Cell Science (2006) 119: 4889–4900

Interação *Giardia*-hospedeiro
Fatores envolvidos na (des)adesão

Agent	Possible target/mechanism	Experimental model	Reference
Concentrated/diluted TYI-S-33 medium	Cell membrane osmoregulation	Glass, human epithelial cell line (C2BBc-1)	Hansen and Fletcher (2008)
Mucins	Electrostatic repulsion	Polystyrene	Roskens and Erlandsen (2002)
Antibodies	δ-giardin	Glass	Jenkins et al. (2009)
	200-kDa surface molecule	Dog and human epithelial cell lines (MDCK, IEC6) and Mongolian gerbils	Hernández-Sánchez et al. (2008)
	VSP9B10A-like	Dog epithelial cell line (MDCK)	Bermúdez-Cruz et al. (2004)
Monosaccharides (GluNAc, GalNAc, Glucose, Galactose, Fucose, Mannose-6-phosphate) or lectins (Concanavalin A)	Lectins	Human epithelial cell lines (Caco-2, Int-407)	Pegado and de Souza (1994), Magne et al. (1991), Sousa et al. (2001)
D-mannosyl-containing sugars and glycoproteins	Surface mannose-binding lectin	Isolated rat intestinal epithelial cells	Inge et al. (1988)
Colonic mucus	Lectins?	Glass	Zenian and Gillin (1985)
Formononetin	Nucleoside hydrolase?	Glass, human epithelial cell line (Caco-2) and murine small intestinal explants	Lauwaet et al. (2010)
E-64, TPCK	Cysteine proteases	Human epithelial cell line (IEC6)	Rodríguez-Fuentes et al. (2006)
Iodoacetic acid	Energy metabolism (glycolysis)	Polystyrene	Feely and Erlandsen (1982)
Cytochalasin-B	Actin	Polystyrene	Feely and Erlandsen (1982)
Microtubule-acting drugs (Albendazole, mebendazole, thiabendazole, nocodazole and colchicine)	Tubulin	Human epithelial cell lines (Caco-2, Int-407)	Magne et al. (1991), Katelaris et al. (1994), Sousa et al. (2001)

Interação *Giardia*-hospedeiro
Fatores envolvidos na (des)adesão

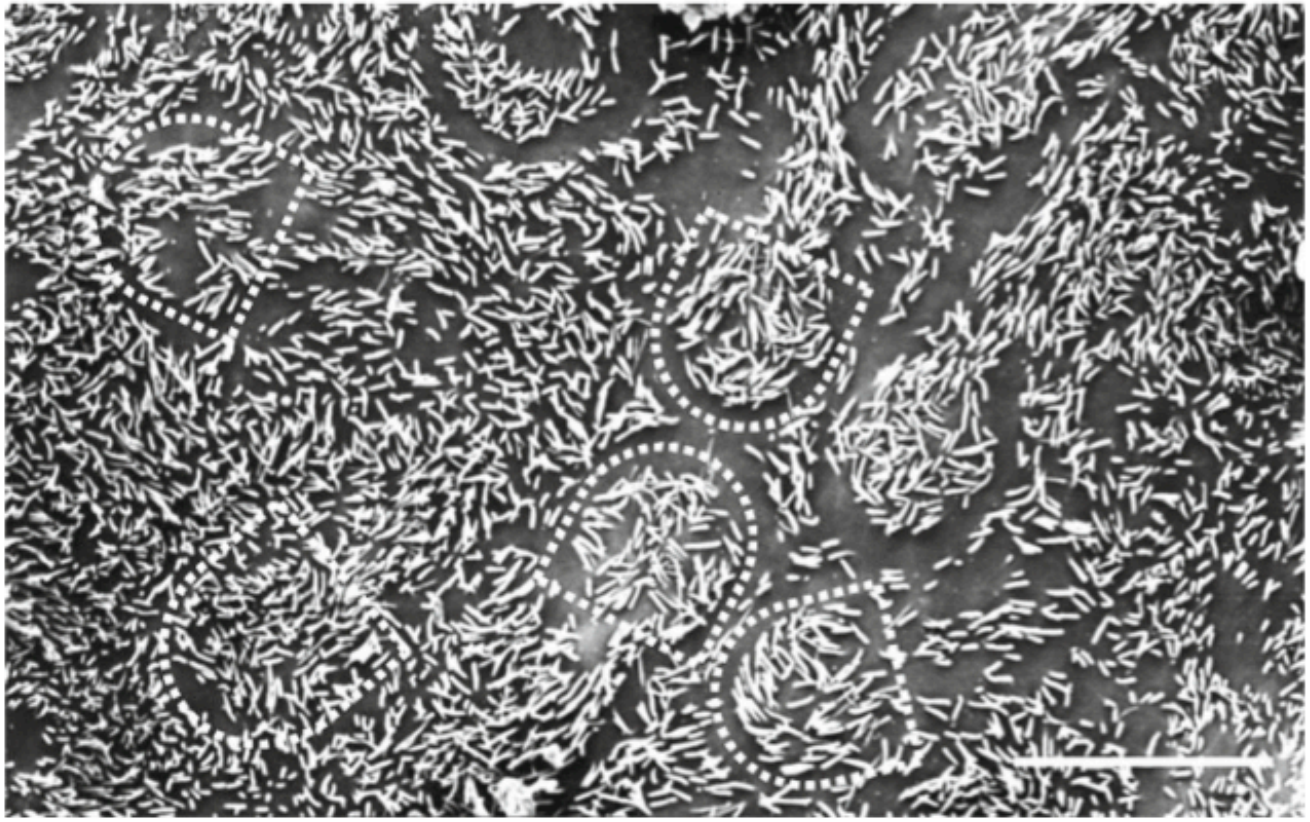


Fig. 17.2 Micrograph of MDCK epithelial cell monolayer displaying microvilli after interaction with *G. duodenalis* trophozoites. Dashed traces indicate the horse shoe shape areas where parasites have made contact with the epithelial cell surface. Kindly provided by Bibiana Chavez-Munguía (Department of Infectomics and Molecular Pathogenesis, Cinvestav-IPN, Mexico). Scale bar: 10 μm

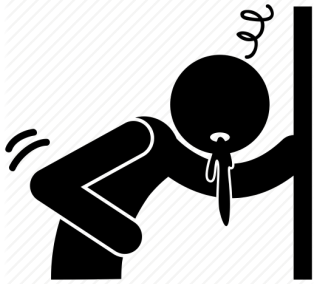
Manifestações clínicas
Giardíase aguda

Sintomas gastrointestinais associados à giardíase:

Diarreia

Dor abdominal

Nausea

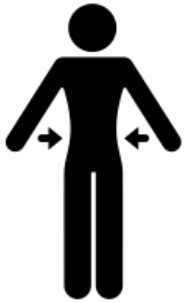

Vômito

Inchaço

1. As manifestações surgem de 7-10 dias pós-infecção (período pré-patente ~9 dias)
2. A quantidade de cistos eliminados pode chegar a 10^7/g de fezes
3. As fezes são frouxas e aquosas e podem conter trofozoítos
4. Em alguns pacientes observa-se a presença de muco (esteatorreia)

Manifestações clínicas
Giardíase aguda

Efeitos prejudiciais da giardíase aguda (relação causa-efeito):



Perda de peso

Dificuldade para ganhar peso

1. A perda de peso também acontece em animais de produção e de estimação
2. É uma séria preocupação para os criadores e para a indústria de alimentação
3. Pode resultar em **Síndrome do Intestino Irritável**

Manifestações pós-infecção

Sítios extra-intestinais

Circulação
Eosinofilia
Hipocalemia (carência de K)
Aumento dos níveis de IgE

Juntas e músculos
Artalgia
Artrite
Miopatia
Artrite reativa

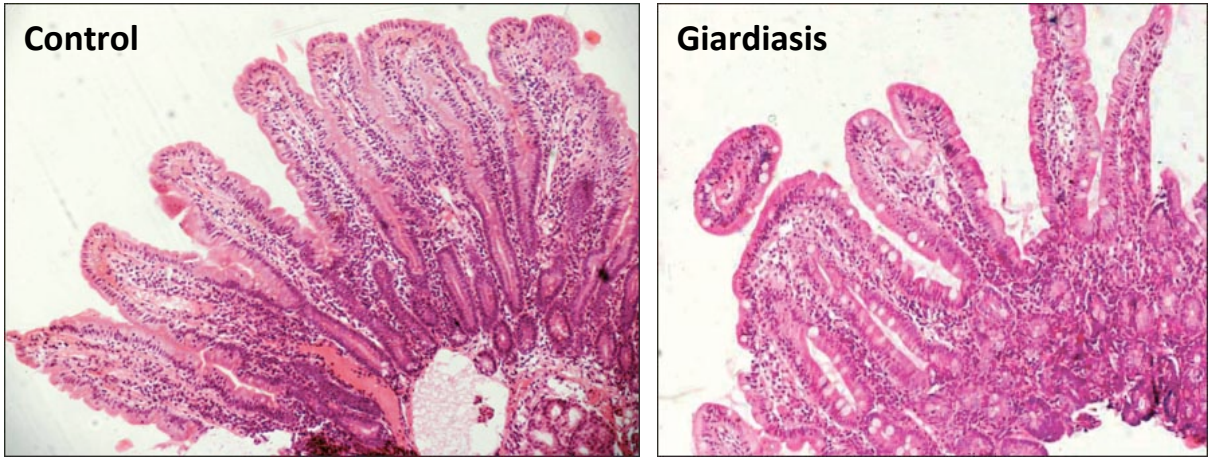
Deficiência de nutrientes
Ferro
Zinco
Vitamina A
Vitamina B_{12}

Ocular
Lesões não-progressivas da retina
Arterite retinal
Uveite

Pele
Eritema nodoso (lesões modulares e dolorosos nos membros inferiores)
Granuloma anular (degeneração do tecido colágeno)
Prurido
Urticária

Mecanismos patofisiológicos
Atrofia das microvilosidades

Encurtamento difuso das microvilosidades da borda em escova do intestino delgado



1. Redução da área total da superfície de absorção
2. Redução da expressão de enzimas da borda em escova

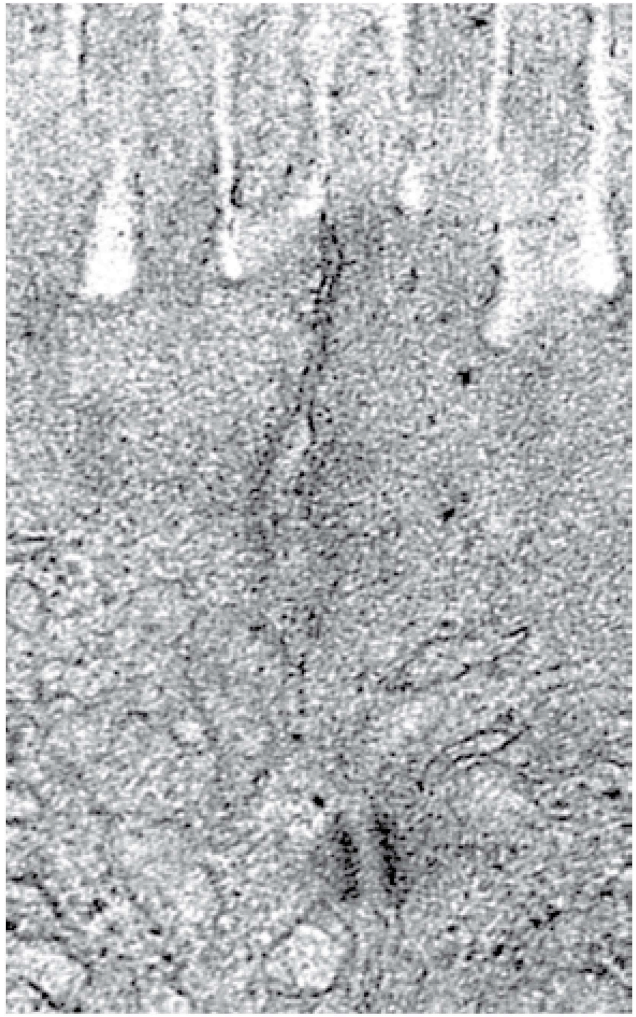
Ann Trop Med Public Health (2015) 8:50-4

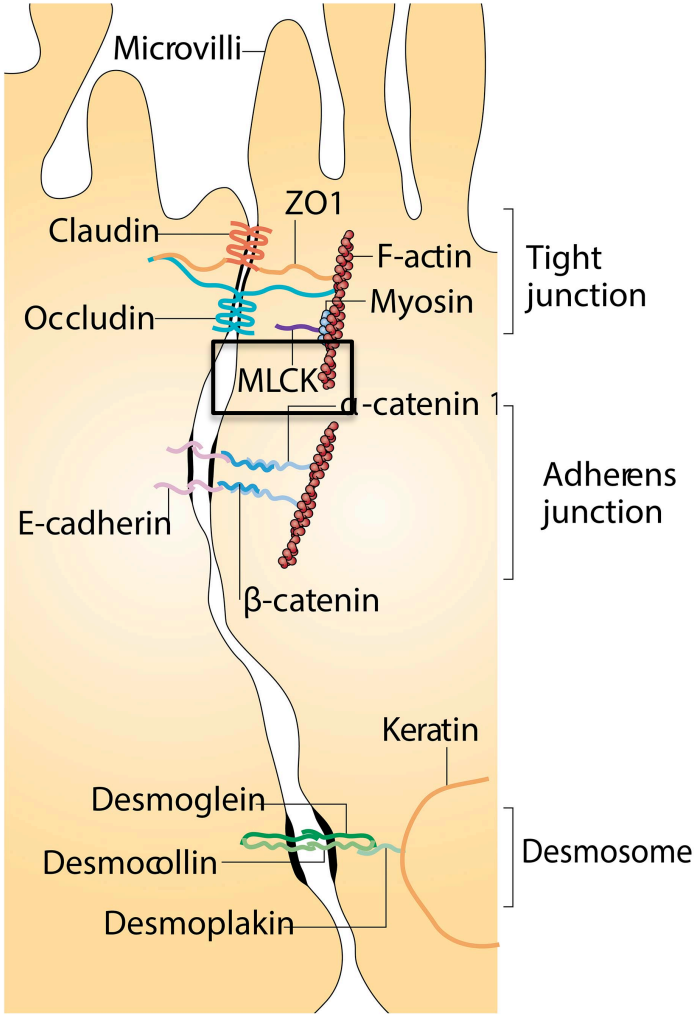
Mecanismos patofisiológicos
Deficiência de enzimas digestivas

Enzimas	Modelo de estudo	Atividade
Maltase	Humanos, camundongos, gerbilos e gado	Maltose → Glicose
Isomaltase	Camundongos e gerbilos	Isomaltose e dextrinas
Sacarase	Humanos, camundongos e gerbilos	Sacarose → Glicose + frutose
Lactase	Humanos, camundongos, gerbilos e ratos	Lactose → Glicose + galactose
Trealose	Camundongos e gerbilos	Osmoproteção
Glicoamilase	Camundongos	Amilose → Glicose + maltose + amilopectina
Fosfatase alcalina	Humanos, camundongos, gerbilos e ratos	Remove grupos fosfato
Tripsina	Humanos	Protease
Quimotripasina	Humanos	Protease

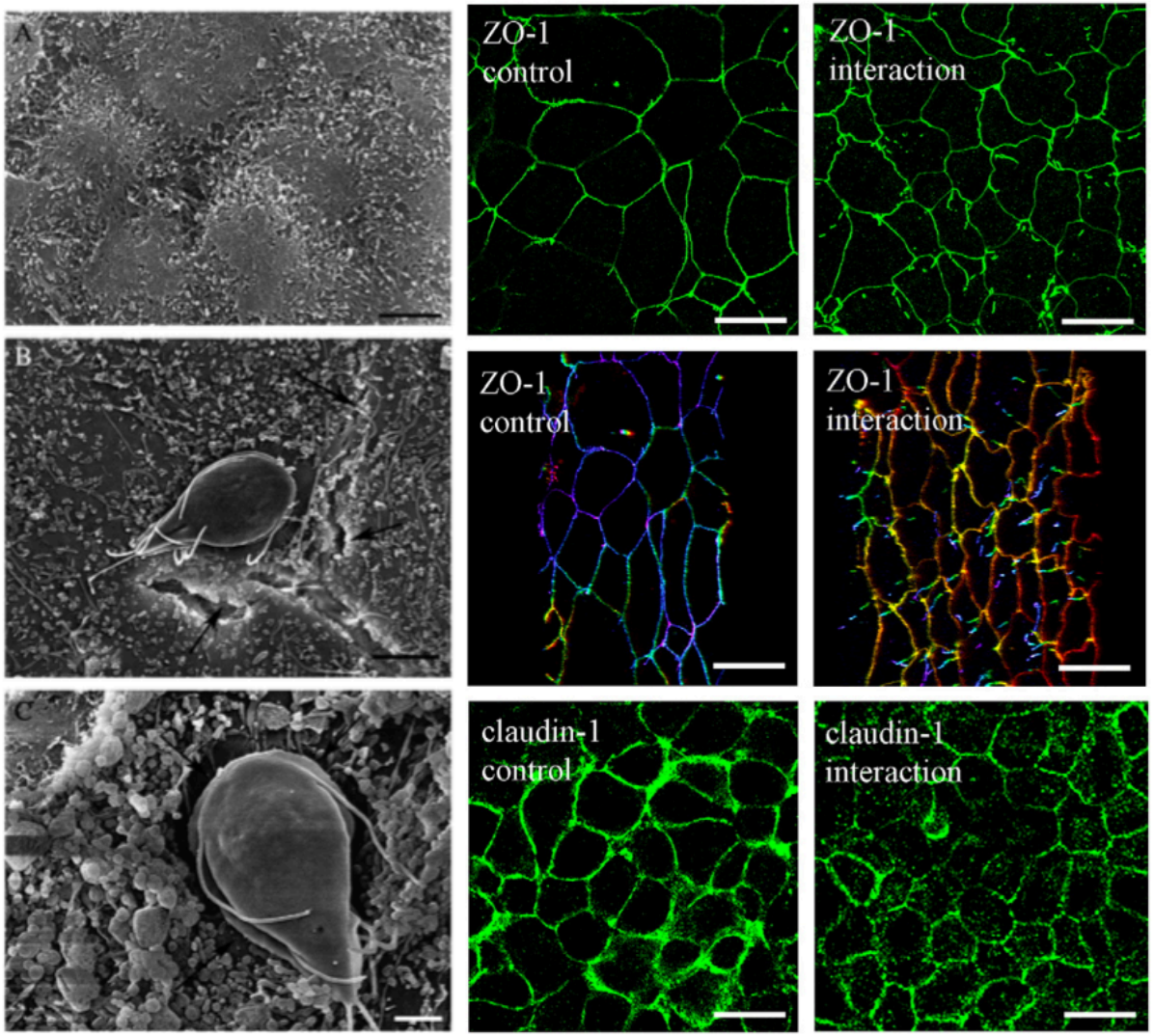
Anatomia do intestino

Junções intercelulares



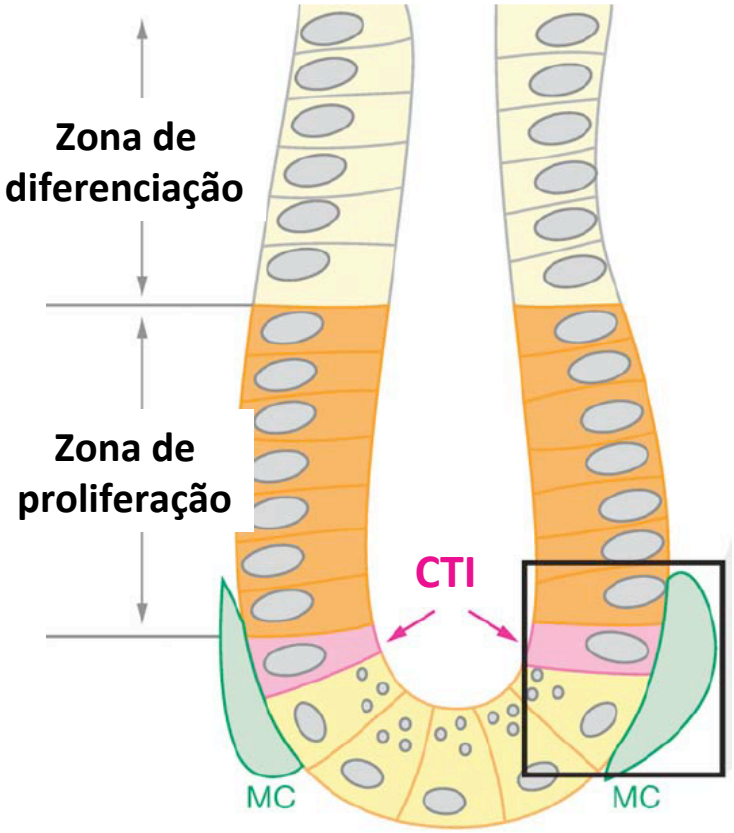


Mecanismos patofisiológicos
Ruptura das junções intercelulares



Parasitology International (2012) 61:280–287

Anatomia do intestino
Apoptose de enterócitos



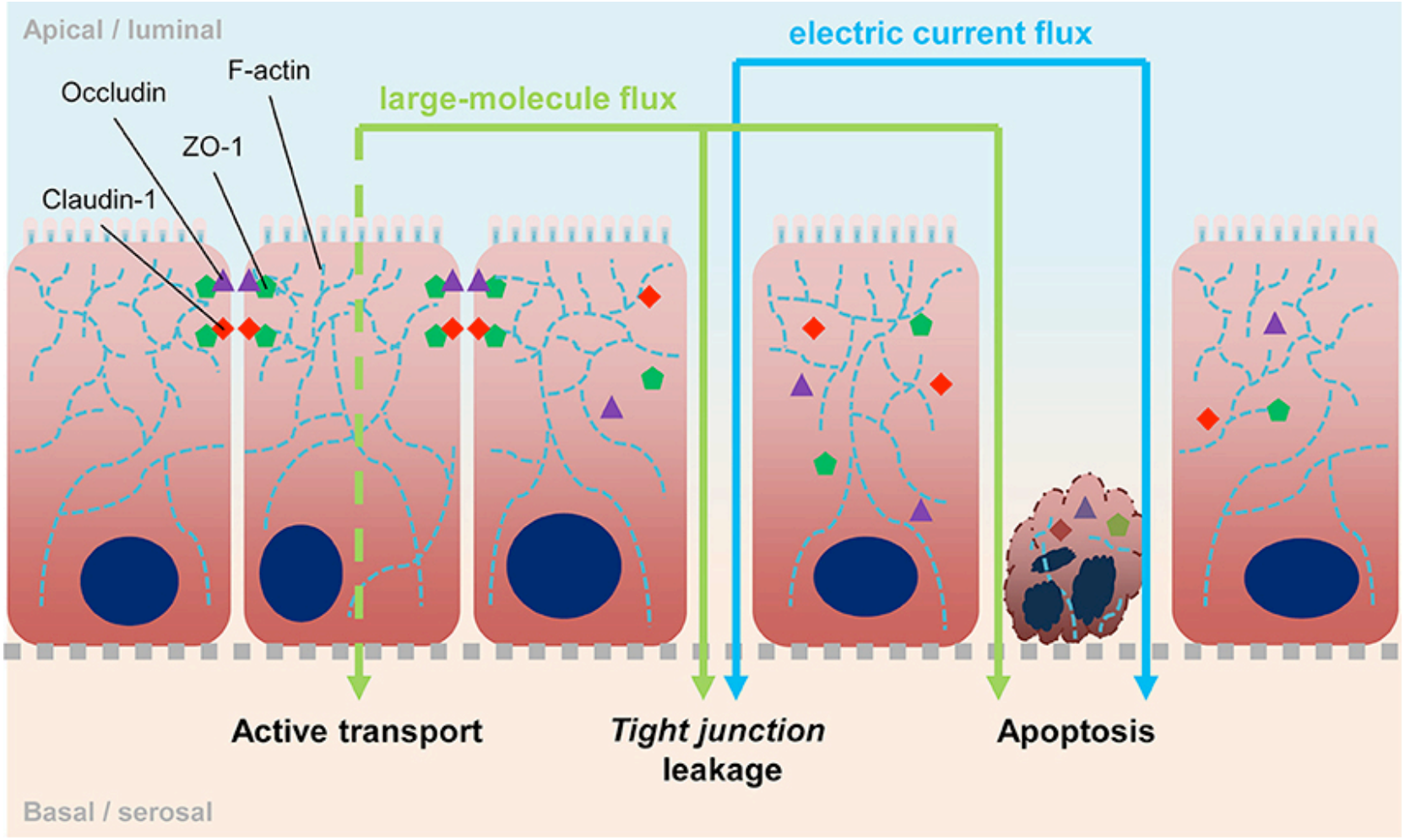
Cripta intestinal

CTI = células-tronco intestinais

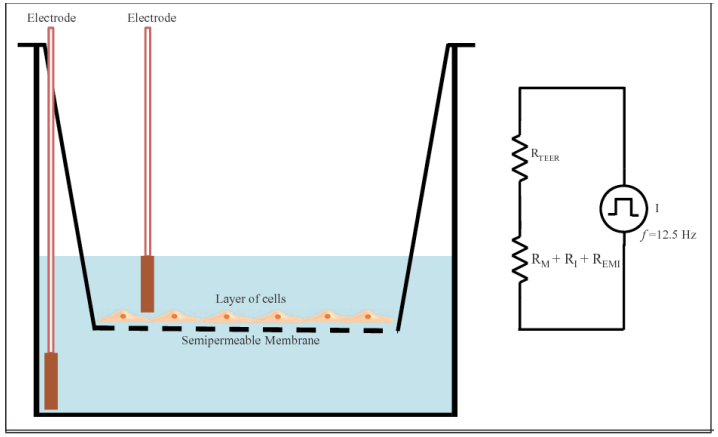
MC = células mesenquimais

- Desbalanço no "*turn-over*" das células epiteliais intestinais
- Altos níveis de apoptose de enterócitos
- Perda da permeabilidade epitelial
- Capacidade reduzida de absorção de H_2O e nutrientes
- Hipersecreção de íons

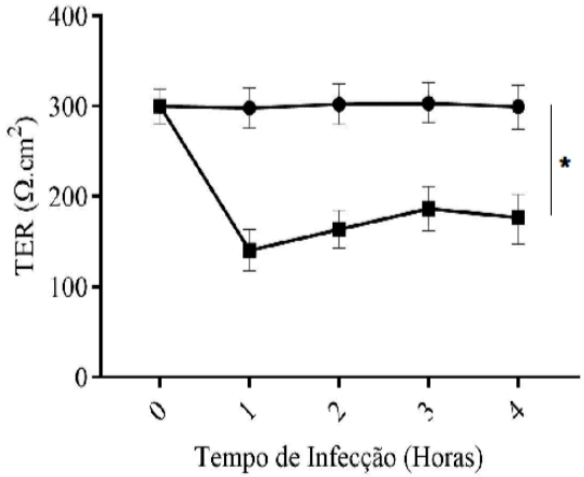
Mecanismos patofisiológicos
Aumento do fluxo paracelular



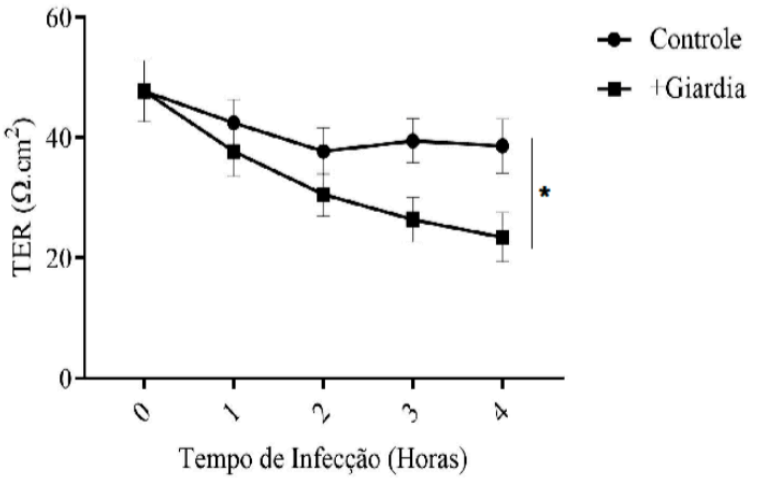
Mecanismos patofisiológicos
Diminuição da TEER



- **R**esistência **E**létrica **T**rans**E**pitelial (**TEER**): Diferença do potencial elétrico entre compartimentos apical e basolateral
- É usado como controle de uniformidade da monocamada e de junções intercelulares.

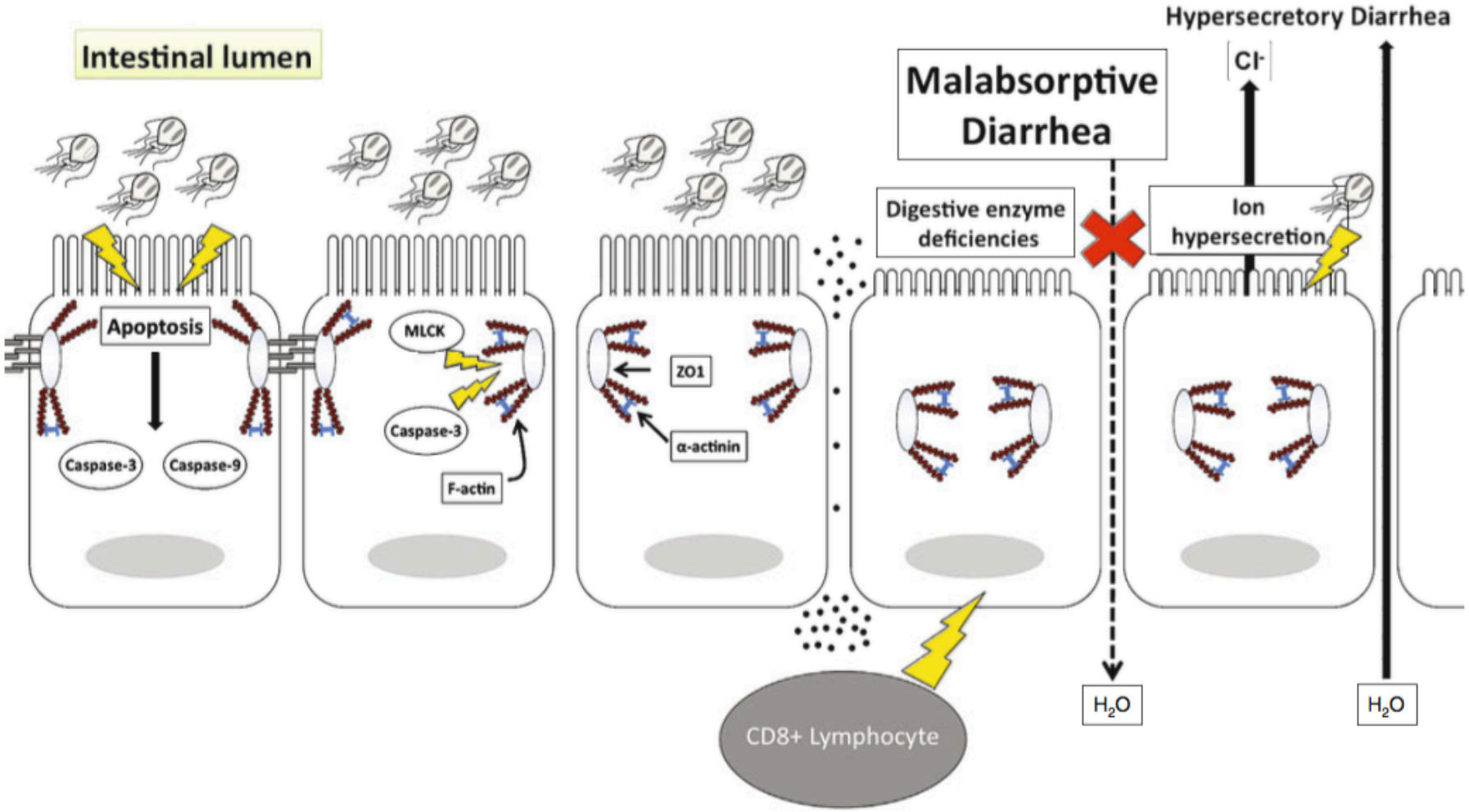


Caco-2



Hutu-80

Mecanismos patofisiológicos
A giardíase é multi-fatorial



Mecanismos patofisiológicos
Fatores que contribuem para a giardíase

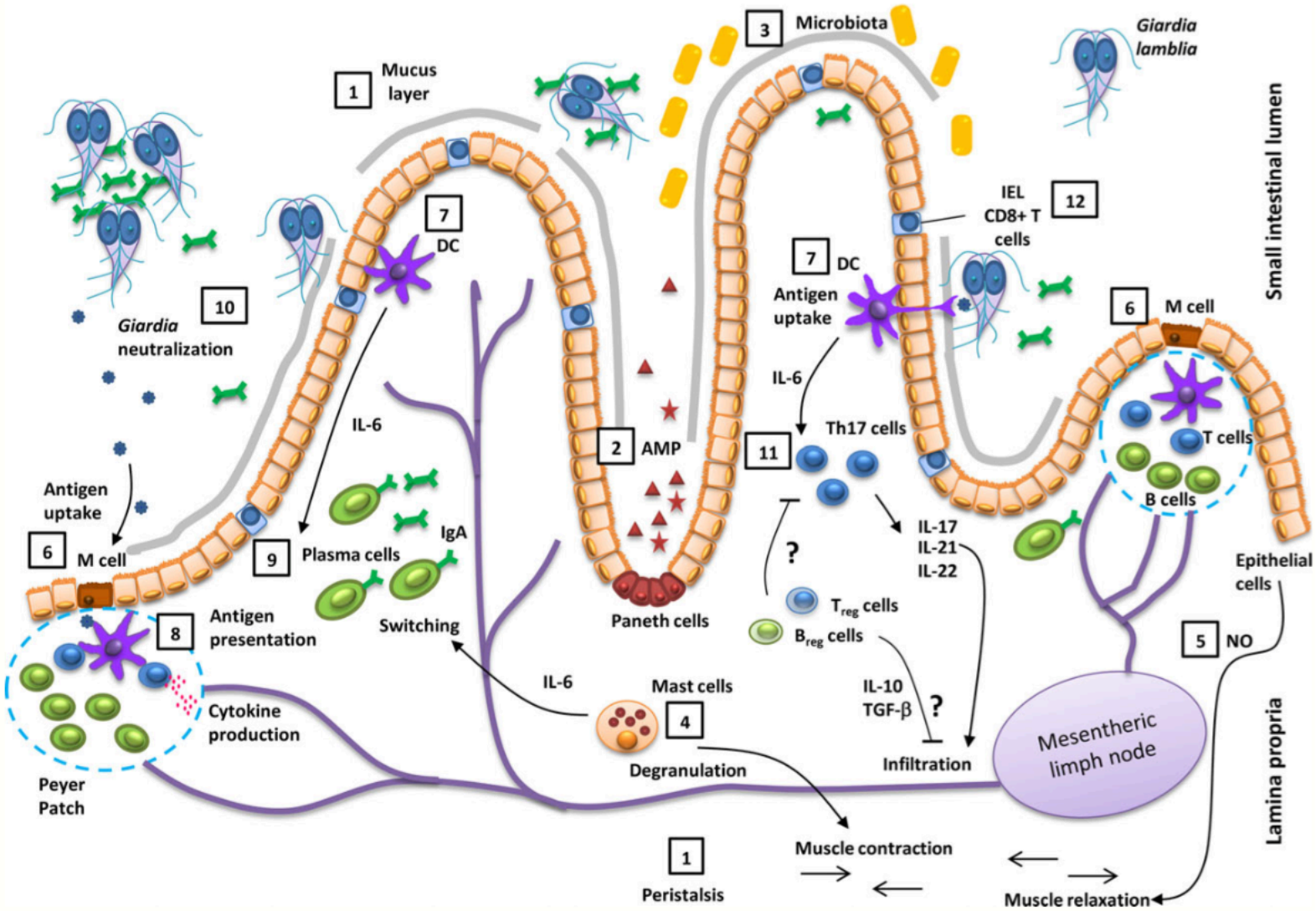
Estabelecimento da infecção

Mecanismo de ação	Fator
Adesão aos enterócitos	Cisteíno protease desconhecida VSPs Taglina (lectina ligante de manose-6P) δ-Giardina (ligante de heparan sulfato)

Resposta patofisiológica nos enterócitos

Mecanismo de ação	Fator
Ruptura das proteínas de JOs a. Ativação da MLCK b. Indução da apoptose	?
Hipersecração de íons a. Ativação de cascatas de sinalização	Enterotoxina de 58 kDa
Acúmulo de fluido luminal	Enterotoxina de 58 kDa
Deficiências de dissacaridases	Proteína desconhecida (32-200 kDa)

Imunologia na giardíase
Nas infecções experimentais



Imunologia na giardíase
Vacinação – considerações

Não há uma vacina contra a giardíase

Pergunta: Que estágio (cisto ou trofozoíto) deve ser alvo da vacina?

Estágio	Trofozoíto	Cisto
Controle	Patologia	Transmissão
Região	Áreas endêmicas	Áreas não-endêmicas (surtos)
Ação	Imunoterapêutica e profilática (reduzir a severidade dos sintomas)	Reduzir a carga de cistos infectivos liberados no meio ambiente
Indicação	Cuidadores de crianças, crianças em creches, crianças em idade escolar, viajantes internacionais, caminhantes, campistas e nadadores	Animais domésticos e de criação (transmissão zoonótica)
Custo	Mais cara	Mais barata

Imunologia na giardíase

Principais proteínas imunogênicas

Name	Molecular weight (kDa)	Localization	Protective immunity
Structural proteins			
α-1-Giardin	32	Ventral disc	Yes
α-2-Giardin	33	Ventral disc	NE
α-7.3-Giardin	33	Ventral disc	NE
α-7.1-Giardin	43*	Ventral disc	NE
α-11-Giardin	35	Ventral disc	NE
SALP-1	27	Ventral disc	NE
β-Giardin	27	Cytoskeleton	NE
α-2-Tubulin	50*	Cytoskeleton	NE
β-Tubulin	55	Cytoskeleton	NE
GHSP-115	115	Intracellular	NE
Metabolism proteins			
ADI	64*	Intracellular	NE
OCT	33·5	Intracellular	NE
FBA	37	Intracellular	NE
UPL-1	38	Intracellular	NE
Enolase	50	Intracellular	NO
Variant surface proteins			
VSPH7	57*	Membrane	NE
VSP9B10, VSP1267, VSPA6, VSPS1, VSPS2, VSPS7, VSPS12 and VSPS6[a]	39–76	Membrane/Intracellular	Yes
TSA 417	25	Membrane	NE
Heat-shock proteins			
BIP	71	ER/ESV	NE
Cyst proteins			
CWP1	26	ESV	NE
CWP2	39	Cyst wall	Yes
Others			
GTA-1	20		NE
GTA-2	27	Intracellular	NE

[a]Simultaneous expression by antigenic variation disruption.

Imunologia na giardíase
Vacina para os pets

- Em 1996 Olson et al geraram uma vacina anti-*Giardia* para reduzir a patologia em animais de companhia como cães e gatos
- Baseada em extratos de trofozoítos de *G. duodenalis*
- Proteção aos filhotes reduzindo ou eliminando os trofozoítos intestinais e os cistos nas fezes
- Fort Doge Animal Health (divisão da Wyeth/Pfizer) licenciou a vacina no USDA (Depto de Agricultura dos EUA)

***Giardia*Vax (cães)**
Felo-O-Vax *Giardia*Vax (gatos)

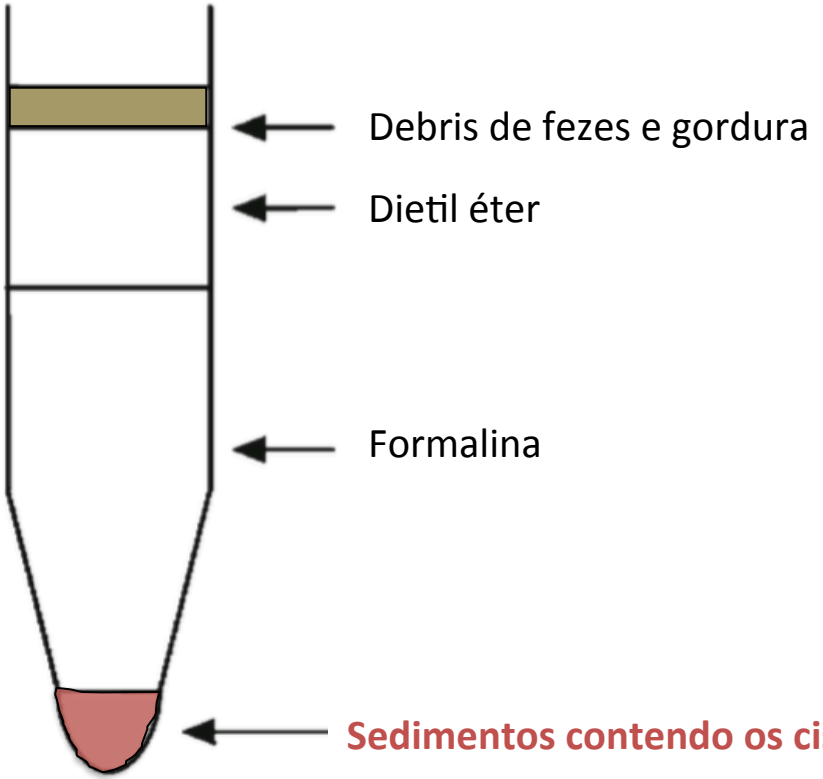
✗ Não há informações sobre como a vacina estimula o sistema imune
✗ Não há dados inequívocos de proteção

Diagnóstico da giardíase humana
Procura de parasitos nas fezes

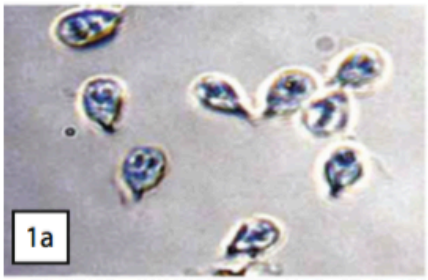
Teste	**Análise direta**	**Concentração**
Material de partida	Fezes frescas (recém coletadas)	Suspensão de fezes
Estágio do parasita	Cistos e trofozoítos	Cistos
Método	Microscopia direta (coloração com lugol ou Giemsa)	Microscopia direta (coloração com lugol ou Giemsa)
Desvantagens	1. Baixa ou excreção intermitente de cistos 2. Pode requerer exames semanais	1. Depende da densidade do parasita 2. Robustez dos estágios do parasita ao(s) diluente(s)
Vantagem	1. Método barato 2. Em infecções maciças é suficiente para o diagnóstico	1. Rápido e efetivo 2. Concentra a amostra entre 15-50x
Técnicas	1. Parasitológico direto	1. Formol-Éter 2. Centrífugo flutuação

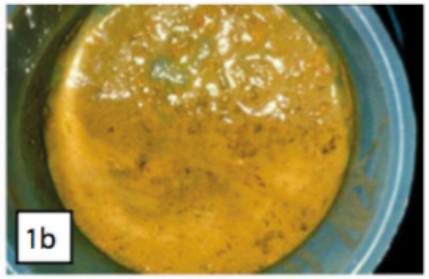
Diagnóstico da giardíase humana
Procura de parasitos nas fezes

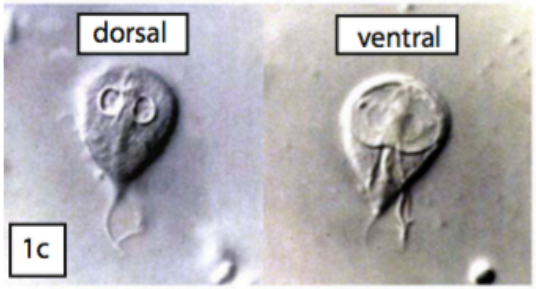
1. 500 mg – 1 g de fezes
2. Trasnferir para um tubo de centrífuga contendo 7 mL de 10% formalina
3. Emulsificar com o auxílio de uma espátula de madeira
4. Filtrar a suspensão em uma peneira em um béquer
5. Despejar a solução filtrada de volta no tubo de centrífuga
6. Adicionar 3 mL de dietil éter
7. Agitar por inversão
8. Centrifugar a 750 xg por 30 s
9. Transferir o material sedimentado para uma lâmina de microscópio
10. Identificar e definir características morfológicas ao microscópio (objetiva 40x)

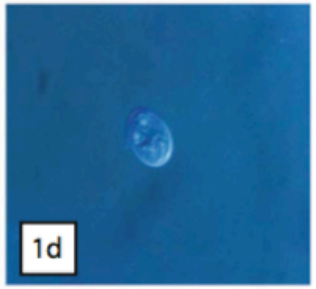


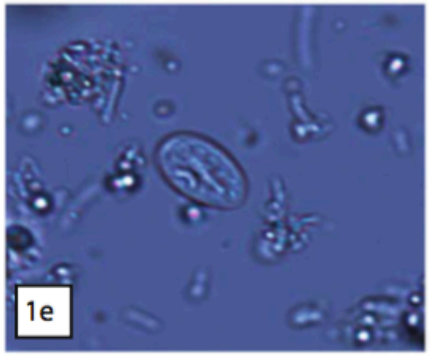
Método de concentração em formol-éter. Diagrama das 4 fases vistas em um tubo cônico após centrifugação

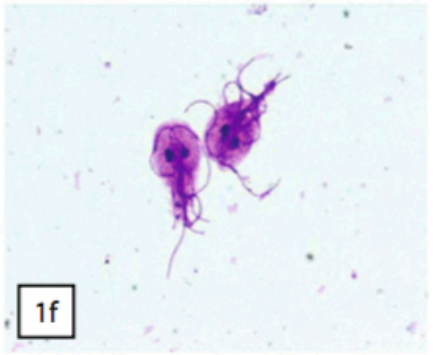


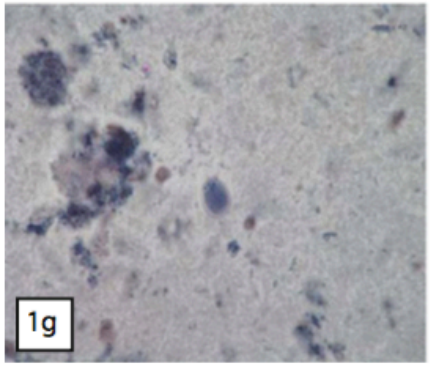


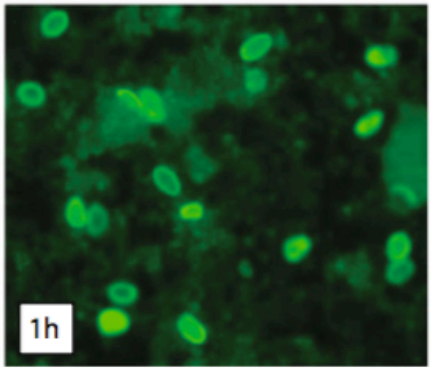












1a) Trofozoítos de Giardia corados com cristal violeta

1b) Fezes de um paciente com giardíase. Note-se que é volumoso, espumoso, gorduroso e flutua na água

1c) Vista dorsal e ventral de um trofozoíto (1000x)

1d) Cisto imaturo corado com DAPI (1250x)

1e) Cisto maduro (1250x)

1f) Trofozoitos corados com Giemsa em fezes diarreicas secas (1250x)

1g) Cistos corados com hematoxilina em fezes fixadas

1h) Cistos marcados com um anticorpo comercial anti-Giardia conjugado com FITC (500x)

Tratamento da giardíase

Composto ativo	5-nitroimidazolólicos	5-nitrofuranos	Benzimidazólicos
Ação	Reduz o grupo nitro para formar radicais livres	Reduz o grupo nitro para formar radicais livres	Ligam-se à tubulina e interferem no citoesqueleto
Encontrado em	Metronidazol	Furazolidona Nitazoxanida	Albendazol Fenbendazol Mebendazol
IC_{50}	0,8 ug/mL	0,65 ug/mL	52,4 ug/mL
Vantagem	Tratamento +curto Dano celular reduzido no fígado e rins	Tratamento +curto Dano celular reduzido no fígado e rins	
Desvantagem	Nausea, vômito e dor de cabeça	Hemólise	Alguns isolados desenvolvem resistência