

Universidade de São Paulo Instituto de Medicina Tropical de São Paulo Laboratório de Protozoologia



CONTAMINAÇÃO INTRÍNSECA DE ALIMENTOS

Luciana R. Meireles J. Ekman

Laboratório de Protozoologia - IMTSP





CONTAMINAÇÃO INTRÍNSECA DE CARNES

Carne contendo formas parasitárias dos agentes no seu interior

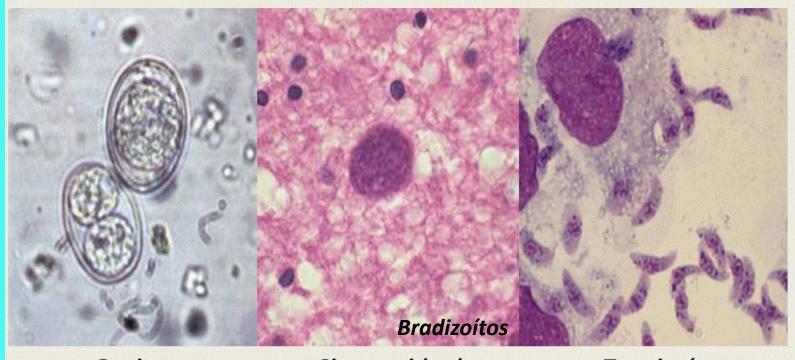
- Transmissão pela carne de animais domésticos:
 - Protozooses
 - Toxoplasmose
 - Sarcocistose
 - Helmintíases:
 - Teníase Cisticercose



INSTITUTO DE MEDICINA TROPICAL DE SÃO PAULO



Toxoplasma gondii



Oocisto Cisto tecidual Taquizoítos

TOXOPLASMOSE





Toxoplasmose: antropozoonose

- Toxoplasma gondii:
 - Hospedeiro definitivo:
 - Felídeos (gato doméstico)
 - Hospedeiros intermediários:
 - Animais de sangue quente, incluindo o HOMEM.
- Implicações:
 - Saúde pública
 - Biodiversidade









Pets



Animais silvestres



Anímaís aquáticos







TOXOPLASMOSE

- Zoonose de importância médica e veterinária.
- Toxoplasma gondii:
 - Altamente imunogênico
- Prevalência:
 - Região geográfica (↓ clima frio)
 - Padrões culturais (alimentação)
 - > 1 bilhão de infectados
 - Brasil: 70% população adulta
 - Grande São Paulo: 60%



INFECÇÃO COMUM

DOENÇA RARA

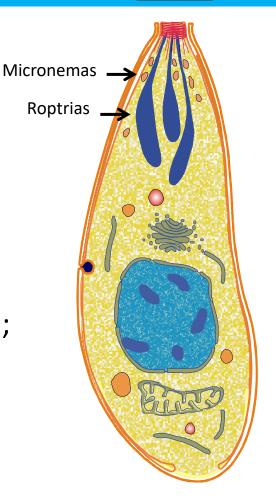






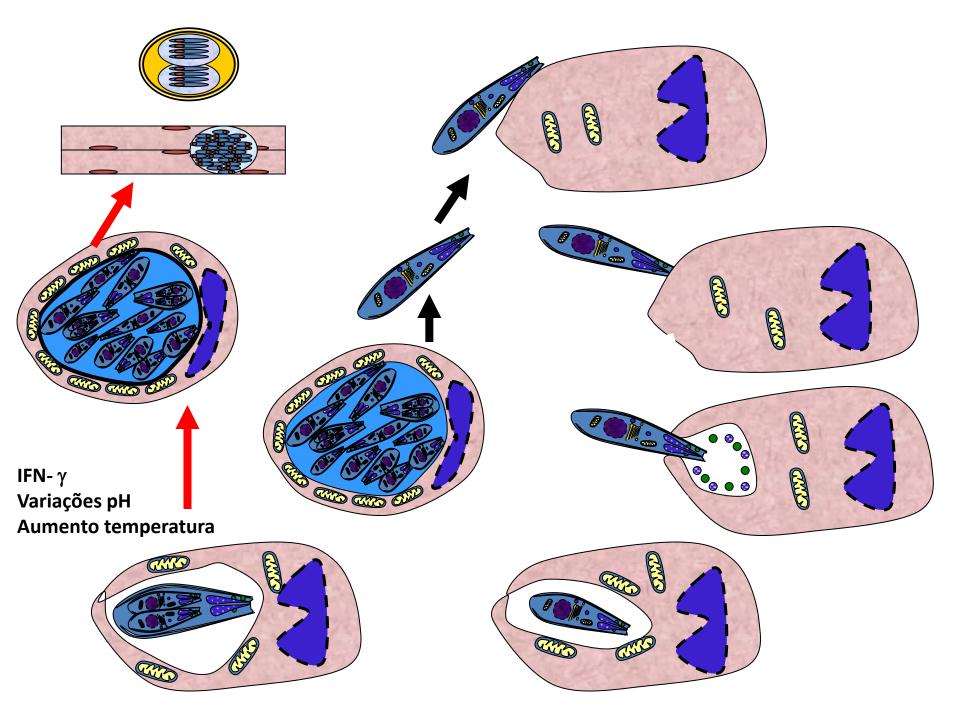
TOXOPLASMOSE

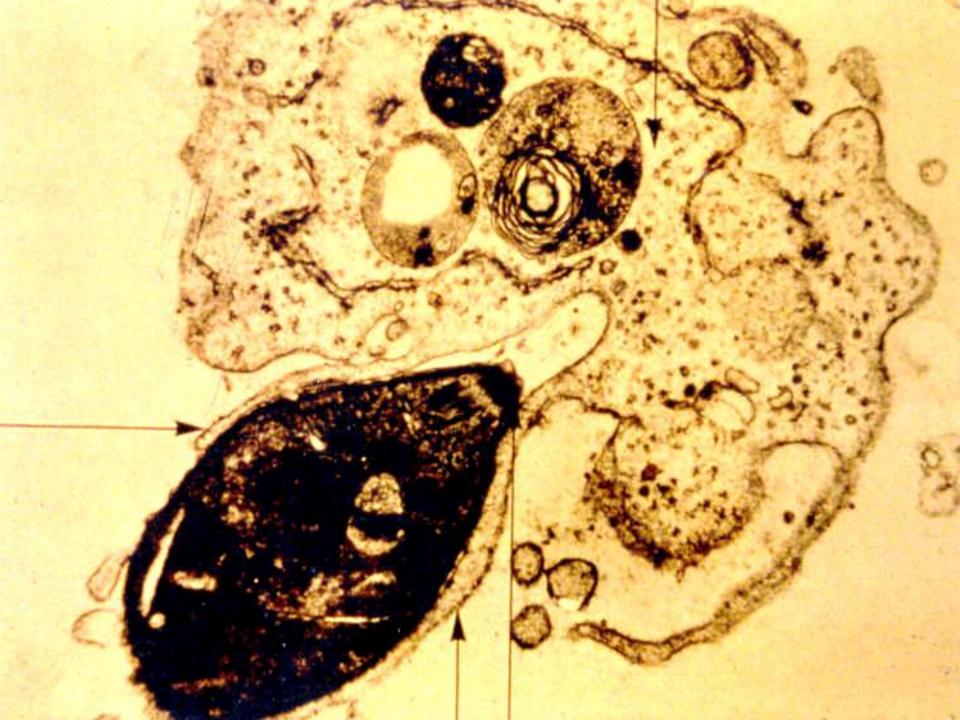
- Toxoplasma gondii:
 - Intracelular obrigatório;
 - Filo Apicomplexa;
 - Penetra ativamente na célula hospedeira;
 - Parasita qualquer célula de animal de sangue quente.

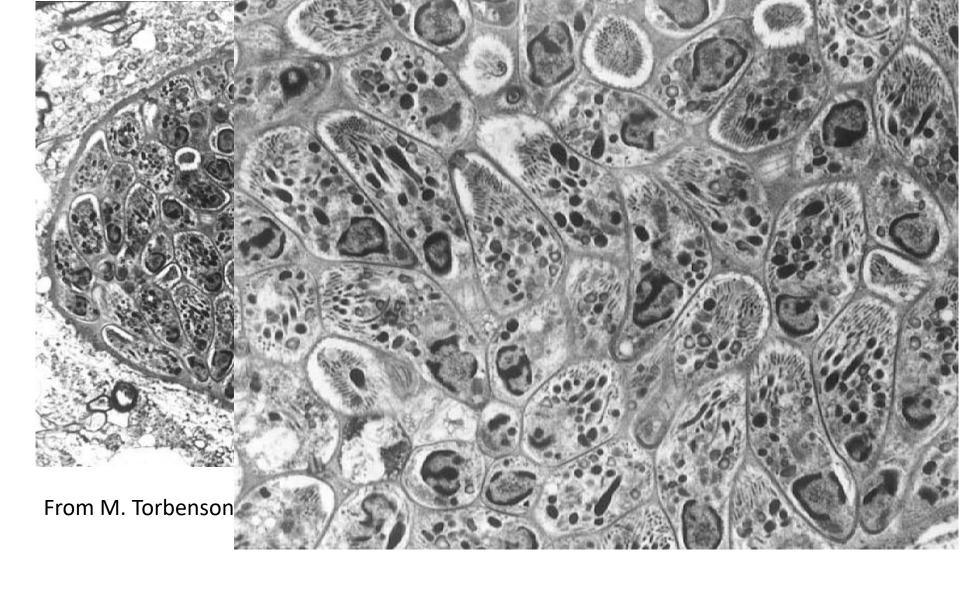


Forma de arco ou crescente







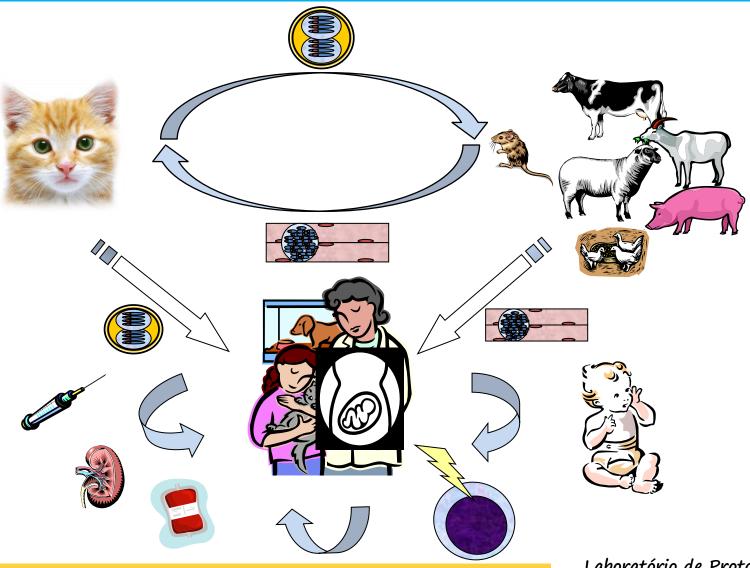


O Cisto é imune a terapia e fica residente nos tecidos por anos, numa localização intracelular, com uma cápsula glicoproteica, o que o torna inatingível a resposta imune.



INSTITUTO DE MEDICINA TROPICAL DE SÃO PAULO











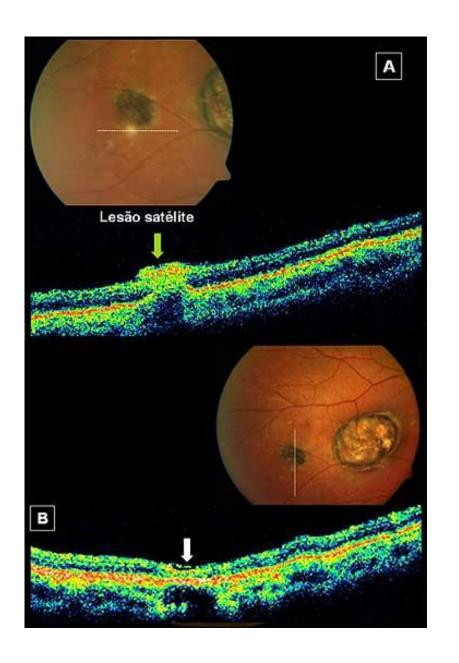
Aspectos Clínicos

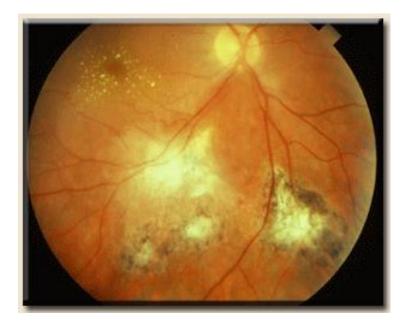
Imunocompetente:

- Assintomática 90% casos;
- Caráter benigno e autolimitado:
 - Imunidade celular e humoral.
- Sintomáticos:
 - Linfoadenopatia (cadeia cervical):
 - Febre, dor de garganta, mialgia e cefaléia
 - Quadros mais graves (sistêmicos):
 - Pneumonite, hepatite e miocardite
 - 2 a 3% desenvolvem a forma ocular:
 - Retinocoroidite (retina → coróide)
 - Formas císticas na retina;
 - Erechim (RS):
 - 17,7% (Glasner et al., 1992)









Retinocoroidite por *T.gondii* com lesão satélite ativa, com espessamento focal devido acúmulo de células inflamatórias (A). Processo de cicatrização após 1 mês de tratamento (B).





Aspectos Clínicos

- Imunocomprometido:
 - Síndrome da Imunodeficiência adquirida:
 - Encefalite (Luft & Remington, 1988);
 - 20% de óbitos em pacientes com AIDS (Passos et al., 2000).
 - Imunossupressões medicamentosas;
 - Transplantes (coração, fígado e medula óssea);
 - Imunologicamente imaturos (feto e recém nascido):
 - Toxoplasmose congênita

Parasita invade órgãos e tecidos causando formas graves







Toxoplasmose Congênita

- Infecção aguda durante a gestação:
 - EUA:
 - 3000 (Roberts & Frenkel, 1990).
 - Brasil:
 - 6000 (Silveira *et al.*, 2001).
 - São Paulo :
 - 230 a 300 crianças (Guimarães et al., 1993).
 - Minas Gerais:
 - 15,2% recém nascidos infectados: bioensaio positivo para amostras de sangue periférico (Carneiro et al., 2010).

5-15% das infecções resultam em aborto 8-10% em lesões graves oculares ou do SNC





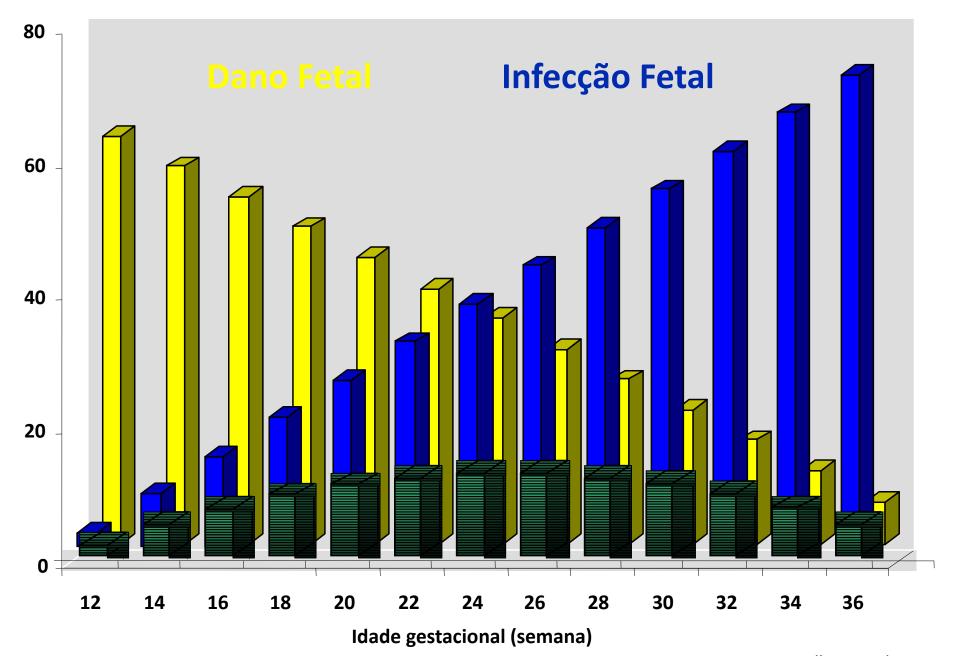


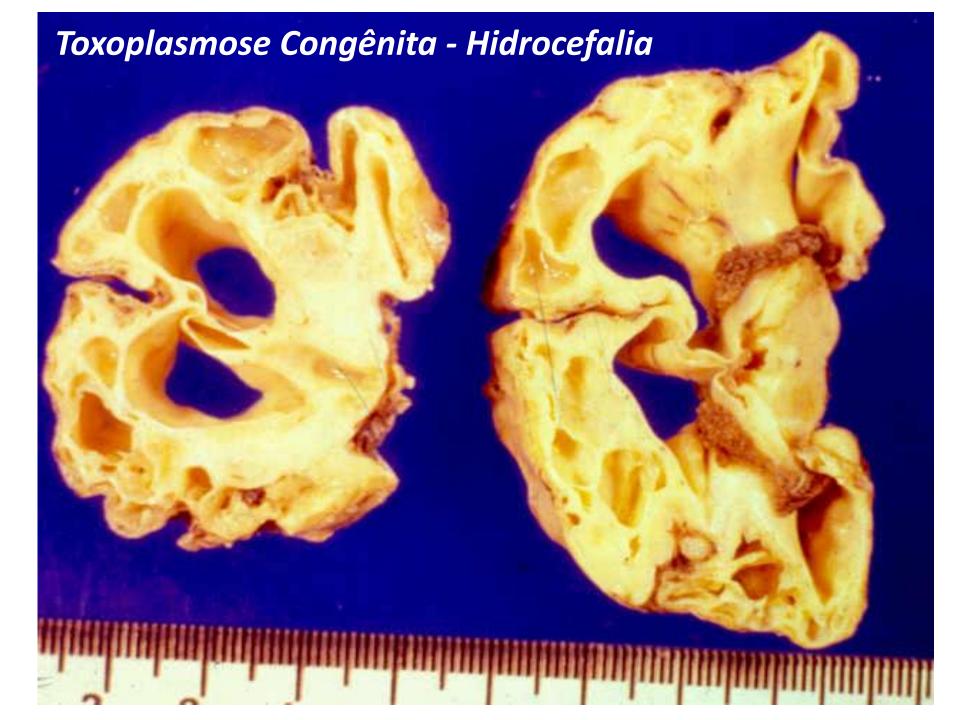
Toxoplasmose Congênita

- Infecção fetal:
 - ↓ 1º trimestre de gestação
 - ↑ 3º trimestre da gestação
- Dano fetal:
 - 1º trimestre da gestação
 - ↓ 3º trimestre de gestação
 - Tétrade de Sabin













Diagnóstico

- Clínico: Limitado
- Laboratorial:
 - Diagnóstico Parasitológico:
 - Isolamento do agente:
 - Inoculação em camundongos
 - Cultivo celular
 - Detecção morfológica do agente:
 - Microscopia
 - Colorações específicas
 - Detecção de ácidos nucleicos:
 - PCR
 - Diagnóstico Histológico
 - Diagnóstico Sorológico



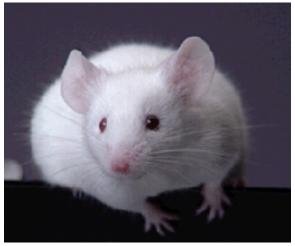








Diagnóstico Parasitológico





- Inoculação em camundongos:
 - Sangue (camada leucocitária);
 - Sedimento da centrifugação:
 - Líquido cefalorraquidiano;
 - Líquido amniótico;
 - Lavado brônquico-alveolar;
 - Amostras de carne previamente digeridas.
- Inoculação intraperitoneal em camundongos soronegativos:
 - Soroconversão do animal;
 - Achado de taquizoítos no líquido peritoneal;
 - Cistos em cérebro.

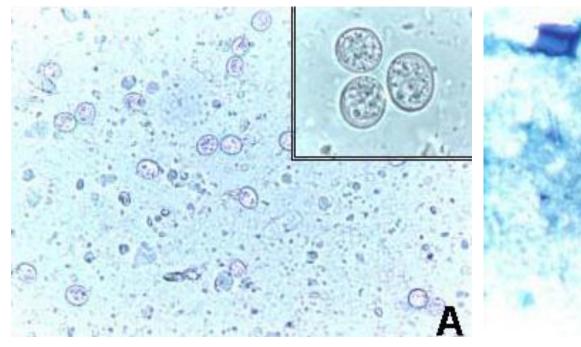


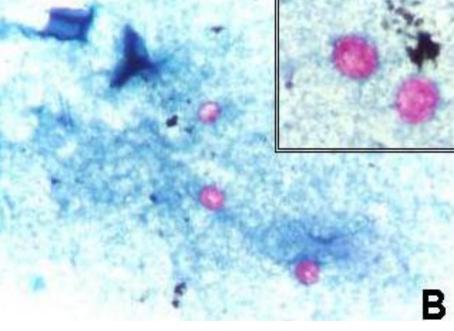




Pesquisa de oocistos

- Método de centrífugo flutuação em sacarose (A)
- Coloração de Kinyoun (B)
 - Esfregaço das fezes filtradas





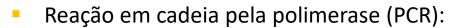








Pesquisa de Ácidos Nucleicos



- Detecção de segmentos específicos de ácidos nucléicos após amplificação pela PCR:
 - Técnica sensível;
 - Rotina em muitos laboratórios de diagnóstico;
 - Resultado em menos de 48 horas;
 - Cuidados especiais para contaminação;
 - Amplificação de vários segmentos de DNA de diferentes genes:
 - SAG1, B1, DNA ribossomal
 - Aplicação em diferentes materiais:
 - Líquido amniótico;
 - Sangue venoso;
 - Líquido cefalorraquidiano;
 - Amostras de carne previamente digeridas pela pepsina ou tripsina.



115 bp

A = Padrão 50 bp B = Controle positivo





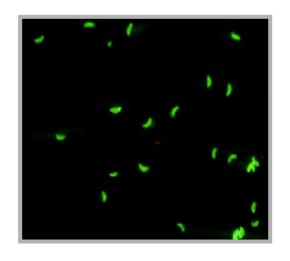


Testes Sorológicos

- Vários testes:
 - Reação de neutralização;
 - Reação de Sabin & Feldman;
 - Reação de fixação do complemento;
 - Reações de aglutinação:
 - Hemaglutinação
 - Aglutinação em látex

- Aglutinação direta (taquizoítos fixados em formaldeído ou acetona):

- ✓ MAT
- Reação de imunofluorescência indireta;
- Reações imunoenzimáticas (ELISA):
 - Exsudato cárneo como material biológico.





Cromógeno

Conjugado anti-

IgG do soro





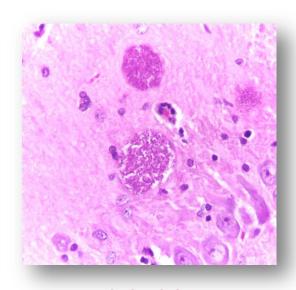
Toxoplasmose: transmissão

FECAL - ORAL



00CISTOS Alímentos Água

CARNIVORISMO



CISTOS Carne crua Embutídos frescos

CONGÊNITA



TAQUIZOÍTOS Infecção Transplacentária







TRANSMISSÃO POR OOCISTOS







• Frutas, legumes e verduras;



Contato direto fezes:











Surtos de Transmissão Hídrica no Brasil

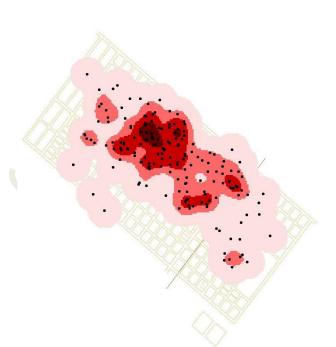
- 2001: Santa Isabel do Ivaí, Paraná (de Moura et al., 2006):
 - 155 casos confirmados;
 - Ingestão de água não filtrada do reservatório municipal de água;
 - Amostra de água: bioensaio e PCR;
- Resultado da investigação:
 - Reservatório foi fechado e um novo reservatório foi construído;
 - Toxoplasmose felina endêmica (Dubey et al., 2004):
 - 58 gatos: 49/58 (84,4%) de soropositividade;
 - Bioensaio em gatos: isolamento de T.gondii;
 - Cepas do tipo I e tipo III (1ª descrição de genotipagem em gatos domésticos).

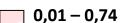






Surtos de Transmissão Hídrica no Brasil







Concentração de casos na área central abastecida por um dos reservatórios de água municipal.











TRANSMISSÃO POR CISTOS















CARNE como Fonte de Infecção

- Toxoplasma gondii em animais de produção:
 - Perdas econômicas → aborto → ovelhas e cabras (Buxton,1990; Dubey & Adams,1990);
 - Implicação em Saúde Pública → CARNE.
 - Nos EUA é considerada uma das principais doenças transmitidas por alimentos, atingindo o mesmo nível da Salmonelose e Campilobacteriose (Kijlstra & Jongert, 2008)
 - Cistos podem se desenvolver em 6-7 dias após a infecção do hospedeiro intermediário (Dubey et al., 1998).
 - Cistos persistem por toda a vida do hospedeiro:
 - Variação no número de cistos.



FETO CAPRINO Normal Munificado Tempo de Gestarão 09/08/89 145 dias







CARNE como Fonte de Infecção

Frequency of tissue cysts in meat

pigs, sheep, goats

free-ranging poultry, pigeons, farm deer, game animals (including hares and birds), domestic rabbits, dogs

horses, commercially raised poultry

buffaloes, cattle

Fonte: Tenter et al., 2000





Carne e leite de cabra

- Soroprevalência:
 - Maior: França = 77% (Chartier et al., 1997)
 - Brasil:
 - São Paulo: 17% (Meireles et al., 2003);
 - Minas Gerais: 18,4% (Figueiredo et al., 2001);
- Consumo de leite crú e produtos lácteos foram descritos como fonte de transmissão de surtos epidêmicos no homem e em porcos (Riemann et al., 1975; Sacks et al., 1982; Skinner et al., 1990; Meerburg et al., 2006).





Carne de animais de caça

- European Food Safety Authority (EFSA, 2007):
 - Cerca de metade dos animais de caça são soropositivos para T.gondii;
 - 13 a 39,2% dos cervos caçados são soropositivos (Vikoren et al., 2004; Gaffuri et al., 2006; Gamarra et al., 2008);
 - 8% a 38% dos javalis são soropositivos (Antolova et al., 2007);
 - 22% dos cangurus são soropositivos:
 - Os cangurus são altamente suscetíveis à infecção pelo *T.gondii* (Canfield et al., 1990);
 - Carne de canguru foi atribuída como a causa de surto de toxoplasmose na Austrália em 1994 (Robson et al., 1995).
 - Surto de toxoplasmose no Canadá foi atribuído à ingestão de carne crua de renas (McDonald et al., 1990).





Produtos Cárneos

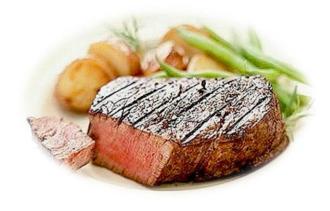


- Presença de cistos viáveis de T.gondii foram detectados em lingüiças frescas de porco comercializadas em Londrina, PR (Dias et al., 2005):
 - 13/149 (8,7%): linguiças positivas (bioensaio);
 - 36/47 (76,6%): amostras de soro de trabalhadores do Serviço de Inspeção Municipal de Londrina.



Surtos Envolvendo o Consumo de Carne Crua

- 1993 (Bandeirantes, PR):
 - 17 casos \rightarrow carne de carneiro
- 2006 (Guarujá, SP):
 - 06 casos → "steak tartar"
- 2006 (Goiânia e Anápolis):
 - 11 casos em Goiânia
 - 26 casos em Anápolis
 - Carne bovina (churrasco) → fator de risco







Inativação de cistos de T.gondii

- Cistos de *T.gondii* podem ser inativados por diferentes processos:
 - Calor
 - Congelamento
 - Irradiação
 - Alta pressão
 - Acidificação
 - NaCl
- O tratamento pelo calor é o método mais seguro (Kijlstra & Jongert, 2008).







Inativação por congelamento

Table 2

Effect of salting, freezing and heating on viability of Toxoplasma gondü tissue cysts

imple	Salt	Temperature (°C)	Time	Efficacy	* Reference
Pork meat spiked with Toxoplasma cysts	2%	4	7 days	+	Hill et al. (2004)
	1%	4	45 days	_	,
		67	immediate	+	Dubey et al. (1990)
		-20	2 days	+	Sommer et al. (1965)
	15% NaNO ₃ /NaCl	5	4-21 days	+ e	Scupin (1968)
		-12		+	Kotula et al. (1991)
	Various enhancing solutions	4	8 h	+	Hill et al. (2006)
Meat from experimentally infected pigs	Various enhancing solutions	-25 4	6-35 days 8 h	+ +	Grossklaus and Baumgarten (1968 Hill et al. (2006)
		−7 to −12		_	Kuticic and Wikerhauser (1996)
Meat from infected sheep	Salt & sugar	4	64 h	+	Lunden and Uggla (1992)
	Smoking	<50	24-48 h	+	

Fonte: Kijlstra A, Jongert E. 2008. Control of the risk of human toxoplasmosis transmitted by meat. Int J Parasitol, 38:1359-1370.







Inativação pelo calor

Table 2

Effect of salting, freezing and heating on viability of Toxoplasma gondii tissue cysts

Sample	Salt	Temperature (°C) Time	Efficacy ^a	Reference
Tissue cysts from infected rat brain	0.85%	4	0-24 days	_	Jacobs et al. (1960)
	0.1%	18-20	12 h	+	
	0%	18-20	30 m in	+	
	0.1-2.1%	18-20	24 h	+	
	0.85%	50	1 h	+	
	0.85%	56	10 m in	+	
	0.85%	50	15 min	+	
Pork meat spiked with Toxoplasma cysts	2%	4	7 days	+ н	ill et al. (2004)
	1%	4	45 days		
		67	immediate ·	+ D	ubey et al. (1990)
		-20	2 days	+ S	ommer et al. (1965)
	15% NaNO₃/NaCl	5	4-21 days	+e So	cupin (1968)
		-12		+ K	otula et al. (1991)
	Various enhancing solutions	4	8 h	+ H	ill et al. (2006)
Meat from experimentally infected pigs		-25	6-35 days ·	+ ^b G	rossklaus and Baumgarten (1968)
	Various enhancing solutions				ill et al. (2006)
		−7 to −12			uticic and Wikerhauser (1996)
Meat from infected sheep	Salt & sugar	4	64 h	+ L	unden and Uggla (1992)
	Smoking	<50	24-48 h	+	

O cozimento da carne no microondas NÃO garante a inativação dos cistos → aquecimento não é uniforme (Lunden & Uggla,1992).



















PREVENÇÃO

- · Evitar o consumo de carne crua ou mal cozída;
- · Cuídado ao manípular as fezes de gatos (usar luvas);
- · Proteger os tanques de areía,
- · lavar as mãos antes de manípular os alímentos;
- · Filtrar a água;
- · Lavar muíto bem frutas e verduras.





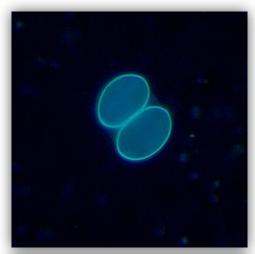


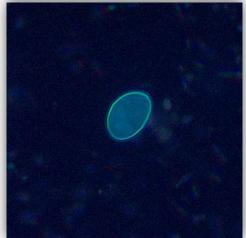
SARCOCISTOSE



Sarcocistose

- Também conhecida como sarcosporidiose e sarcosporidíase.
- Conhecida há mais de 150 anos como doença invasiva muscular.
- Causada por um protozoário:
 - Sarcocystis spp.
 - Oocisto assemelha-se ao de Cystoisospora.
 - Formas teciduais: lembram a toxoplasmose.
 - Maior tamanho do cisto de *Toxoplasma* corresponde ao menor tamanho do cisto de *Sarcocystis* (Tuon,2008).





http://www.dpd.cdc.gov/dpdx/HTML/Sarcocystosis.htm







Etiologia

Doença Muscular

Doença Intestinal

Espécie	Hospedeiro Intermediário	Hospedeiro Definitivo
S. hominis	Boi), homem	Primatas, incluindo homem
S. suihominis	Porco	Primatas, incluindo homem
S.ovifelis	Gato	Ovelha
S.cruzi	Boi, búfalo, bisão	Cão
S. neurona	Cavalo	Gambá



Epidemiologia

- **Casos humanos:**
 - Relato de casos ou série de casos.
- Doença cosmopolita, com a maioria dos casos restrita a áreas tropicais e subtropicais, sobretudo nos países em desenvolvimento.
 - Animais: relacionada com as condições de controle e manejo (bovinos e suínos) \rightarrow animais têm contato com oocistos.
 - Homem: dificuldade de obtenção de dados epidemiológicos:
 - Método diagnóstico para pesquisa de cistos: histopatologia.
 - Não é determinada a etiologia específica do cisto.
- Inquéritos sorológicos demonstram que a sarcocistose é muito mais prevalente do que se imagina:
 - Sudeste Asiático e na Malásia: 20% de prevalência (precariedade das condições higiênicas e sanitárias).





Epidemiologia

- Europa:
 - Forma intestinal: 10% de prevalência (coproparasitológico positivo).
- Brasil:
 - Pena et al. (2001): mostraram o alto grau de contaminação da carne crua com cistos de Sarcocystis, utilizada no preparo de quibe em 25 restaurantes de comida árabe de São Paulo.
 - Todas as amostras (n=50) foram positivas (microscopia óptica e eletrônica);
 - 7 voluntários: 6 excretaram oocistos nas fezes.
- Casos de sarcocistose muscular humana são raros:
 - Cistos medindo desde 57x45μm até aqueles medindo 5,3cm x 322μm:
 - Musculatura esquelética, cardíaca ou da laringe.

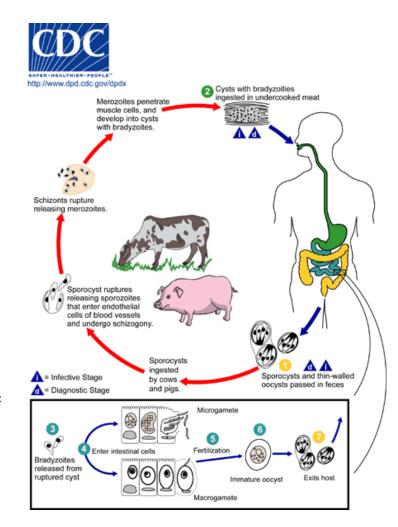






Transmissão

- Sarcocystis spp:
 - Parasitos heteroxenos:
 - Hospedeiro definitivo
 - Hospedeiro intermediário
- Oocistos no ambiente → ingestão pelo H → ID → esporozoítos → enterócitos → corrente sanguínea → tecidos → reprod.assexuada → cistos (sarcocistos) = FORMA MUSCULAR
- Ingestão de carne com cistos → bradizoítos→ID→reprod.sexuada →oocistos = FORMA DIGESTIVA









Patogenia

Forma intestinal:

- Homem é hospedeiro definitivo.
- Ingestão de carnes cruas ou malcozidas contendo sarcocistos.
- Estágio sexuado do parasita (lâmina própria) = eliminação do parasito nas fezes.
- Período de eliminação: 40 dias ou mais.
- Longo período de eliminação = propagação da infecção = reinfecções humanas.
- Processo inflamatório → diarréia (gastroenterite aguda).
- Náuseas, vômitos, mal-estar, dor abdominal, diarréia discreta a moderada.

Forma muscular:

- Homem é o hospedeiro intermediário.
- Ingestão de oocistos ou esporocistos → sarcocistos → processo inflamatório → dor muscular.
- Sarcocistos: musc.esquelética > musc. cardíaca > cérebro.
- Mialgias, febre, fraqueza e disfunção cardíaca em casos graves.
- Vários casos assintomáticos → diagnóstico de autópsia.



Diagnóstico

- Hemograma:
 - Eosinofilia: discreta a moderada;
 - Enzimas musculares: CPK e CK-MB → elevadas
 → forma muscular.
- Exame parasitológico de fezes:
 - Técnicas de centrífugo-flutuação.
 - Oocistos (membrana delicada) e esporocitos.
 - Exame deve ser feito após 05 a 10 dias da ingestão do alimento suspeito (carne) = período para eliminação de oocistos nas fezes.
 - Exame seriado: pesquisa em mais de uma amostra.
 - Exame direto n\u00e3o pode identificar as esp\u00e9cies de Sarcocystis.





http://www.dpd.cdc.gov/dpdx/HTML/Sarcocystosis.htm



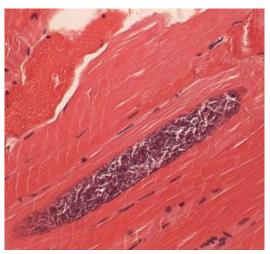


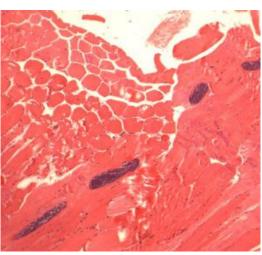




Diagnóstico

- Exame histopatológico:
 - Coloração de PAS: cistos de diversos tamanhos.
 - Microscópicos a formações com vários centímetros de comprimento.
 - Interior dos cistos: metrócitos redondos (não infectantes) → bradizoítos (infectantes).
- Exame macroscópico:
 - Estrias brancas correndo paralelamente às fibras musculares.
 - Cisto é envolvido por parede nítida.
- Técnicas moleculares:
 - Identificação de espécies de Sarcocystis spp.
- Estudos sorológicos:
 - Disponíveis para pesquisa, mas pouco aplicados na rotina laboratorial convencional.





http://www.dpd.cdc.gov/dpdx/HTML/Sarcocystosis.htm







Profilaxia

- Cozimento da carne com sarcocistos:
 - 100°C por pelo menos 5 minutos;
- Fervura da água para eliminação dos oocistos;
- Cuidados básicos de higiene e limpeza dos alimentos;
- Eliminação de carcaças e vísceras parasitadas (matadouros);
- Europa: alguns países eliminaram a sarcocistose suína pelos cuidados higiênicos em suas criações.







TENÍASE - CISTICERCOSE





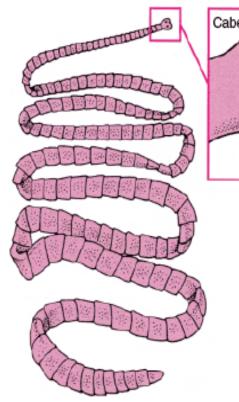


Teníases

- Vermes de corpo achatado ("fita");
- Conhecidos como "solitária"
- Cabeça: escólex
- Corpo: estróbilo
 - Segmentos = proglotes
 - Proglotes grávidas são eliminadas nas fezes ou ativamente pelo ânus.

Escólex

Ventosas



Estróbilo









Teníase - Cisticercose

- Endêmica nos países latino-americanos, asiáticos e africanos.
- Brasil: endêmico em 16 estados brasileiros
 - Maiores notificações no Sul e Sudeste ;
 - Procedentes de outros estados (Norte e Nordeste).
- EUA (Nova York, Chicago, Los Angeles): casos importados.
- Países islâmicos:
 - Proibição do consumo de carne suína
 - Doença é inexistente.









Teníase

- Tênia da carne de porco:
 - Taenia solium
- Tênia da carne bovina:
 - Taenia saginata
- Ingestão de carne contendo larvas;
 - Verme adulto no intestino do homem.

Cisticercose

- Ingestão de ovos de *Taenia* solium
- Salada, frutas e verduras.
 - Larvas nos tecidos (cérebro)











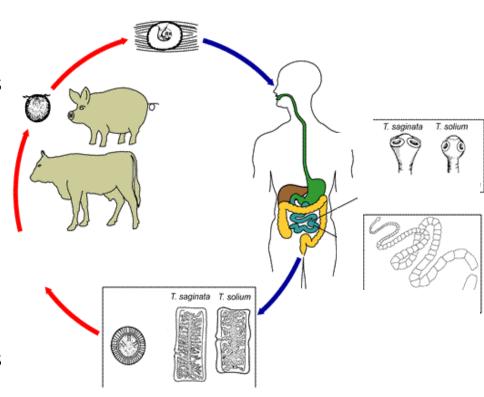


Taenia saginata

- 4 a 12 metros de comprimento;
- 1000 a 2000 proglotes;
- 40.000 a 80.000 ovos por proglote;
- Proglote grávida: ramificações uterinas numerosas;
- Ovo embrionado = embrião hexacanto com casca espessa.

Taenia solium

- 1,5 a 4 metros de comprimento;
- 700 a 900 proglotes;
- Escólex com coroa dupla (acúleos);
- Proglote grávida: ramificações uterinas pouco numerosas;
- Ovo embrionado = embrião hexacanto com casca espessa.









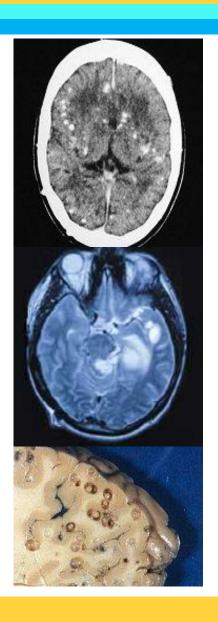


Sintomas

- Teníase (parasitose intestinal):
 - Maioria dos casos assintomática;
 - Dores abdominais, náuseas, debilidade, perda de peso, flatulência, diarréia ou constipação.
 - Retardo no crescimento e desenvolvimento das crianças e baixa produtividade no adulto.
- Período de incubação: cerca de 3 meses após a ingestão da carne contendo larvas.
- Longevidade: 25 a 30 anos.
- Complicações:
 - Obstrução do apêndice, colédoco, ducto pancreático:
 - Intervenção cirúrgica







Cisticercose

- Período de incubação: 15 dias a anos.
- Sistema nervoso central:
 - Sintomas neuropsiquiátricos:
 - Convulsões
 - Hipertensão intracraniana
 - Distúrbio de comportamento (sistema límbico)
- Globo Ocular:
 - Turvação visual até cegueira;
 - Cisticerco causa inflamação intensa, com eventual destruição do olho.







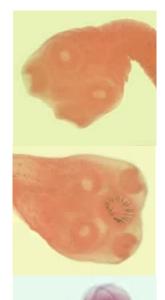


Tratamento

- Teníase:
 - Mebendazol
 - Praziquantel
 - Albendazol
- Neurocisticercose :
 - Terapia de suporte (uso de anticonvulsivantes).
 - Em casos específicos:
 - Hospitalização;
 - Praziquantel associado à Dexametasona para reduzir a resposta inflamatória, consequente à morte dos cisticercos;
 - Albendazol associado a Metilpredinisolona.
- Orientação médica.







Controle

- Educação sanitária:
 - Medidas de higiene pessoal;
 - Ingestão de carne bem cozida.
- Inspeção sanitária da carne:
 - Reduzir a comercialização ou o consumo de carne contaminada por cisticercos.
- Fiscalização de produtos de origem vegetal:
 - Proibir a irrigação de hortas e pomares com água de rios e córregos, que recebam esgoto ou outras fontes de águas contaminadas com ovos de *Taenia* sp.
- Cuidados na suinocultura:
 - Impedir o acesso do suíno às fezes humanas e a água e alimentos contaminados com material fecal.









Revista VEJA (10/03/2013)

Cerca de 30% da carne consumida no Brasil tem origem clandestina.



http://veja.abril.com.br/noticia/brasil/cerca-de-30-da-carne-consumida-no-brasil-tem-origem-clandestina



