

Diagnóstico laboratorial dos parasitas sistêmicos

Parte 2

Profa. Dra. Irene Soares

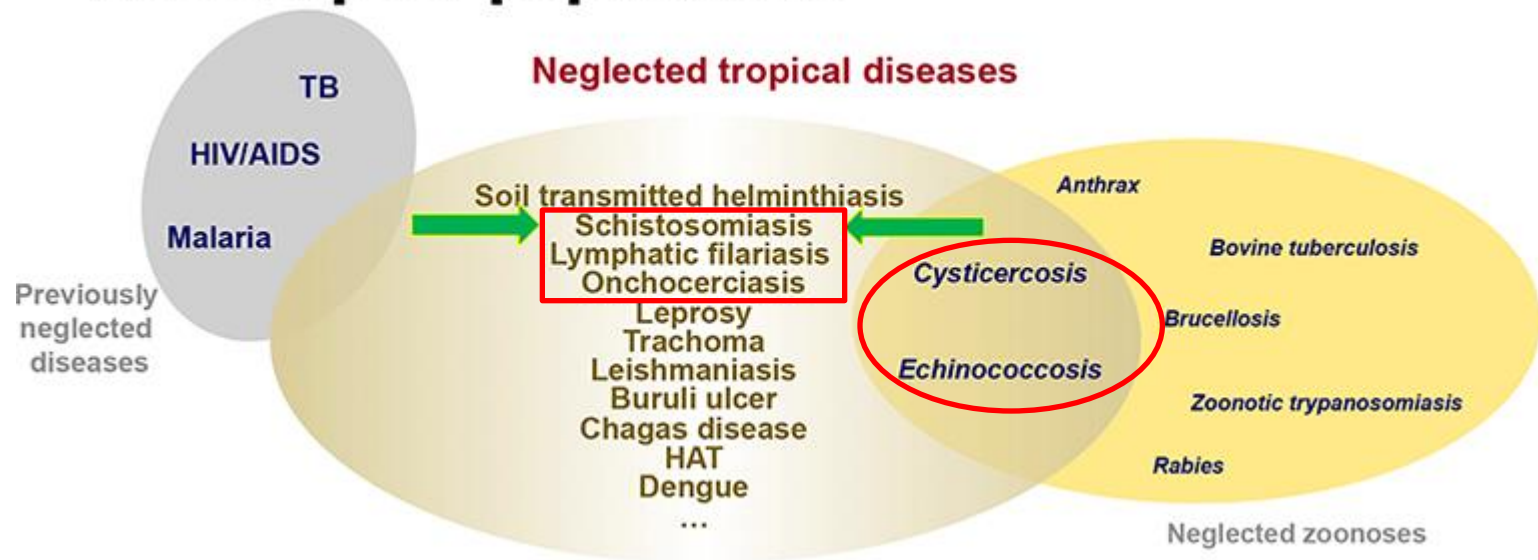
FCF/USP

2020

- Filarioses
- Larva migrans visc. (toxocaríase)* (cão)
- Cisticercose* (suínos)
- Hidatidose* (cão, lobo, raposa)
- Esquistossomose

* zoonoses

NTDs in poor populations



DOI: 10.5772/65282

Filariose

Principais espécies de filárias

Na América Latina:

- ↑ *Wuchereria bancrofti* → Filariose linfática (91% dos casos no mundo)
- ↑ *Onchocerca volvulus* → Oncocercose (tecido subcutâneo e globo ocular - “cegueira dos rios”)
- ↑ *Mansonella ozzardi* e *M. perstans* → cavidade peritoneal e sangue (microfilárias)

Outras espécies: *Loa loa*
Brugia malayi
Brugia timori

Morfologia

Wuchereria bancrofti

Vermes adultos

- Helmintos longos e delgados, translúcidos, cutícula lisa
- Macho: 2-4 cm
- Fêmea: 4-10 cm (vivíparas)



Morfologia

Wuchereria bancrofti

Microfilárias

Apresentam bainha
(casca ovular)

Tamanho: 250-300 μm

Cauda: alongada

sem núcleos

Espaço cefálico: longo e largo



Variação de tamanho: 200-280 μm de comprimento

FIGURA 9-2. Microfilária de *Wuchereria bancrofti*

TABELA 9-4

Microfilária de *Onchocerca volvulus*: Resumo das Principais Características

Parâmetro	Descrição
Variação de tamanho	150–355 µm de comprimento
Bainha	Ausente
Arranjo dos núcleos na cauda	Não se estende até a ponta da cauda



Variação de tamanho: 248-300 µm de comprimento

FIGURA 9-6. Microfilária de *Loa loa*



Variação de tamanho: 148-355 µm de comprimento

FIGURA 9-7. Microfilária de *Onchocerca volvulus*



Comprimento médio: 93 µm

FIGURA 9-10. Microfilária de *Mansonella perstans*

TABELA 9-5

Microfilária de *Mansonella ozzardi*: Resumo das Principais Características

Parâmetro	Descrição
Variação de tamanho	220 µm de comprimento
Bainha	Ausente
Arranjo dos núcleos na cauda	Numerosos; não se estendem até a ponta da cauda



Variação de tamanho: 240-300 µm de comprimento

FIGURA 9-4. Microfilária de *Brugia malayi*

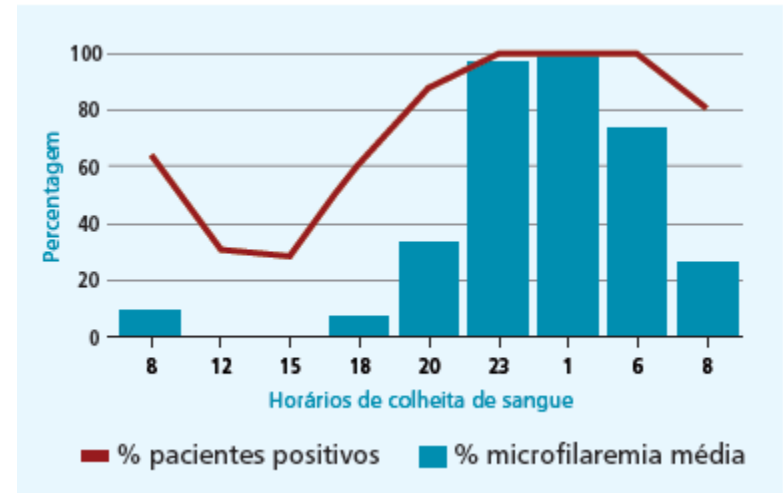


Comprimento aproximado: 88 µm

FIGURA 9-9. Microfilária de *Mansonella ozzardi*

Particularidades do ciclo biológico de *W. bancrofti*

- **Transmissão:** picada do mosquito *Culex quiquefasciatus* (pernilongo ou muriçoca) infectado com larvas (L3) do parasita
- **Local onde vivem os adultos:** sistema linfático
- **Local onde vivem as microfilárias:** sangue
- **Periodicidade:** noturna (22h e 4h)
- **Ciclo biológico:** heteroxênico
- **Período de incubação:** ~ 1 ano
- **Tempo de vida do verme adulto:** 5-8 anos



Manifestações Clínicas

Infecção assintomática (2/3): Microfilárias no sangue
Ausência de sintomas

Período agudo: Febre, dor, inflamação dos gânglios (linfadenite) e vasos linfáticos (linfangite), dilatação dos vasos linfáticos (linfangiectasia), náuseas, vômitos

- ✓ 1 a 20% dos indivíduos infectados evoluem para a cronicidade
- ✓ Desde 2013 não são diagnosticados casos novos no Brasil

Período crônico: Hidrocele, quilúria (urina leitosa) e elefantíase de membros, mamas e órgãos genitais



Elephantiasis of the legs due to filariasis (CDC).

Elefantíase

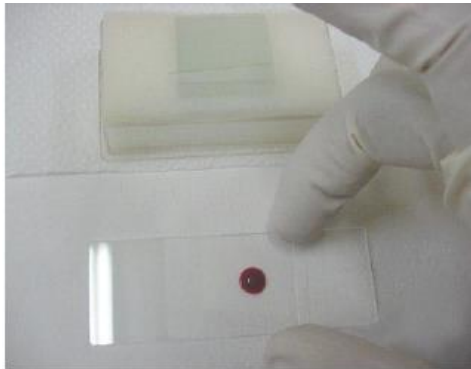


Diagnóstico laboratorial

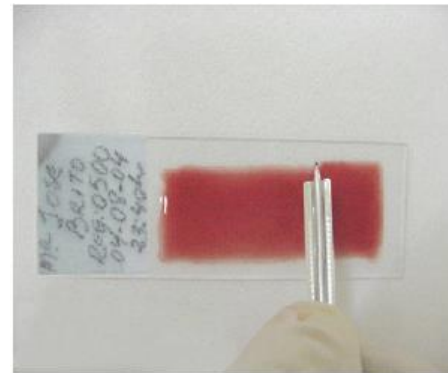
Diagnóstico Parasitológico:

Pesquisa de microfilárias no sangue periférico: de preferência entre as 10h da noite e 4h da manhã

A fresco



Gota espessa



✓ Na fase crônica as microfilárias raramente são detectadas no sangue periférico

Diagnóstico laboratorial

Diagnóstico Parasitológico:

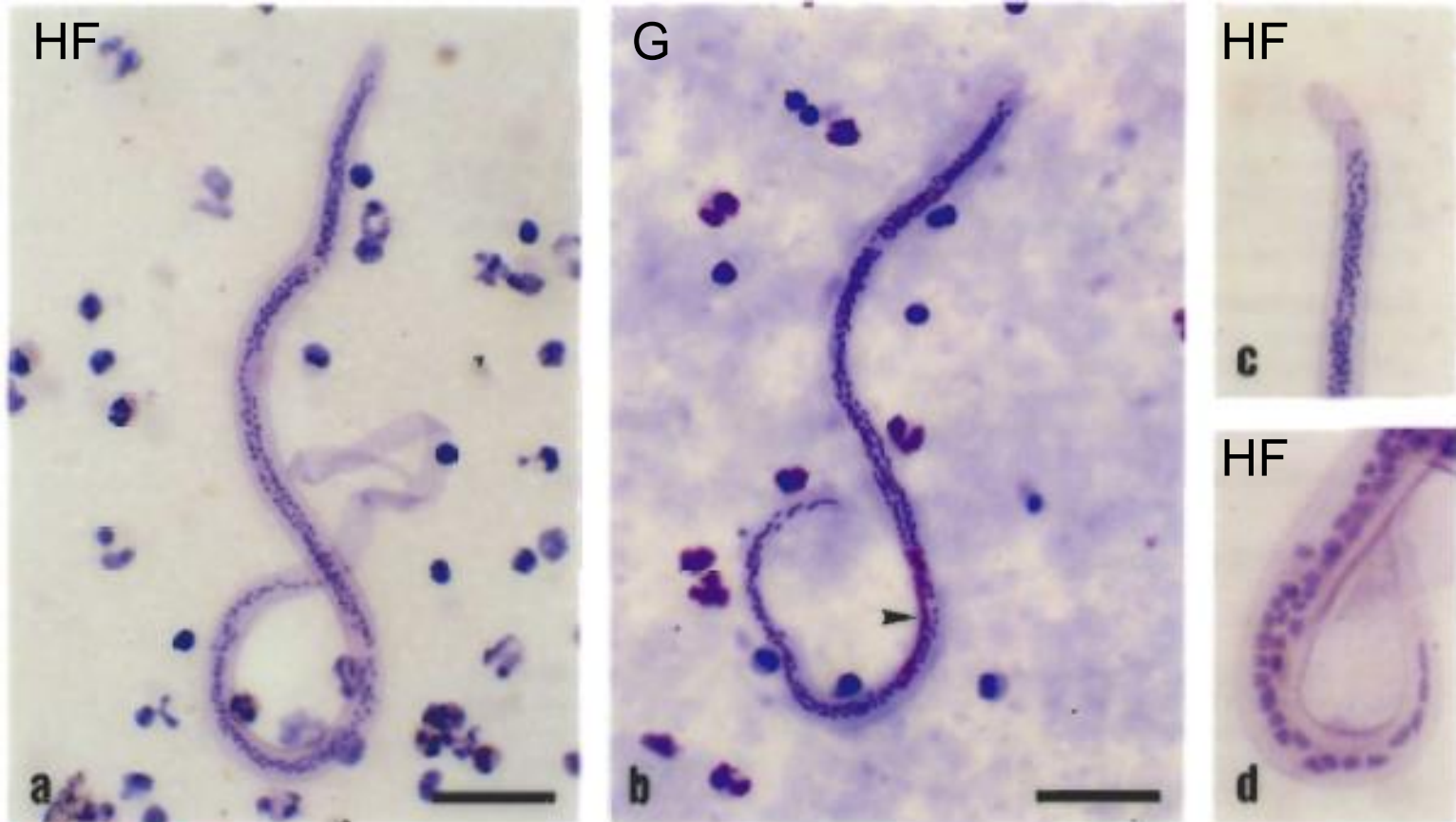
Pesquisa de microfilárias no sangue periférico:

- Método de Knott
(1 mL sangue em 9 mL formalina 2%
→ centrifugação → análise do sedimento)
- Filtração em membrana de policarbonato
(10 mL sangue diluído em solução tamponada)



poros 3 ou 5 μm de diâmetro

Microfilárias



Wuchereria bancrofti microfilariae in haematoxylin (a, c, d) and Giemsa (b) stains. Characteristically, the sheath stains lightly with haematoxylin (a, c) but not with Giemsa stain (b). Key morphological features include a short head space (a, b, c) and discrete nuclei in the body. The column of nuclei does not extend to the end of the tail (d). The innerbody stains pink with Giemsa stain (b, arrowhead) but not with haematoxylin stain.

✓ A bainha de *W. bancrofti* cora bem com Hematoxilina férrica, mas não com Giemsa

Microfilárias



W. bancrofti
(hematoxilina)



W. bancrofti
(Giemsa)



M. ozzardi
Pequena e fina
Aperiódica
Encontrada no sangue e na pele

Diagnóstico laboratorial

Diagnóstico Imunológico:

- Detecção de anticorpos circulantes: ELISA e IFI (↓ especificidade)
- Detecção de antígenos circulantes:
ELISA → AcMo anti-*Onchocerca gibsoni*
(filarídeo bovino)-Og4C3
ICT card → AcMO AD12 específico para Ag do verme adulto



Outros métodos:

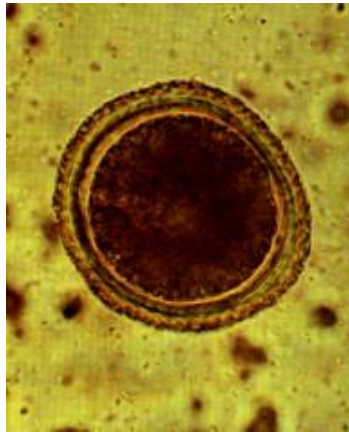
- PCR
- Biópsia de nódulos de vasos linfáticos → histopatológico
- Ultrassonografia (de bolsa escrotal e mama) → visualização dos vermes adultos vivos (“a dança da filária”)

Larva migrans visceral/Toxocaríase

Agente etiológico: *Toxocara canis* (+comum), *T. cati*

Formas evolutivas:

No cão: semelhante ao ciclo de *A. lumbricoides* no homem

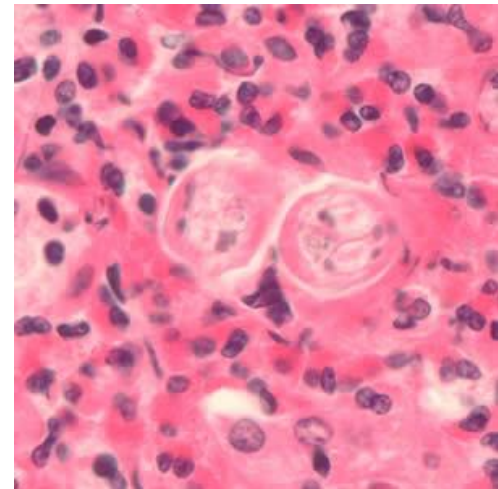
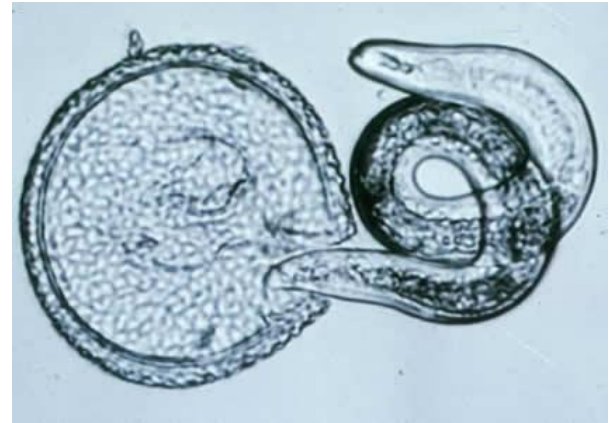


Toxocaríase humana

Transmissão: ingestão de ovos



Larvas migram pelos tecidos sem sofrer mudas: fígado, rins, pulmões, coração, medula óssea, músculos estriados, olhos



Larva de *Toxocara sp*
no fígado

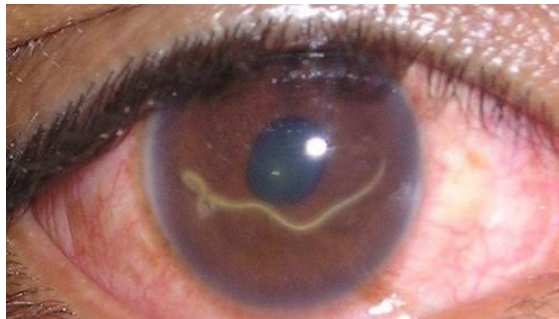
Manifestações Clínicas

Síndromes clássicas:

- Toxocaríase Visceral: febre, hepatomegalia e manifestações pulmonares

Manifestações neurológicas, cardíacas e cutâneas (raras)

- Toxocaríase Ocular: formação de granulomas e comprometimento visual (retina)



Diagnóstico laboratorial

- Demonstração das larvas nos tecidos: ↓ sensibilidade
- Detecção de antígenos no soro (ELISA) ou granulomas (imunohistoquímica)
- Pesquisa de anticorpos (soro e fluidos oculares):
 - ELISA (antígeno total, de excreção-secreção ou recombinante) – testes comercialmente disponíveis (ELISA NOVUM, ELISA PU e Toxocara CHEK)
 - Immunoblot (teste confirmatório) →
- Biópsia → PCR
- Ultrassonografia (US), Tomografia computadorizada (TC), Ressonância Nuclear Magnética (RNM)

<https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2012.12.028>



Cisticercose

Etiologia: *Taenia solium*

- Cisticercose Cerebral (neurocisticercose)
- Cisticercose Muscular
- Cisticercose Ocular
- Cisticercose Sub-cutânea

Cisticercose

A infecção humana pela forma larvária ocorre pela ingestão de ovos de *T. solium*

O quadro clínico da cisticercose humana varia em função de:

- características dos cisticercos (ativo ou inativo)
- resposta imune do hospedeiro
- número e localização dos cisticercos

Manifestações Clínicas

Neurocisticercose

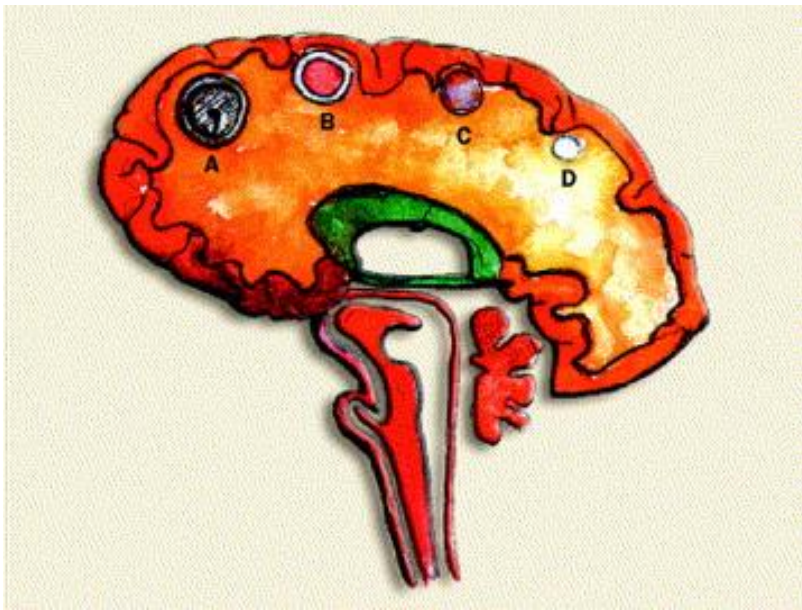
(70% a 80% dos casos)

Ativa: cistos vivos (~6 anos)

Inativa: cistos mortos (calcificados)

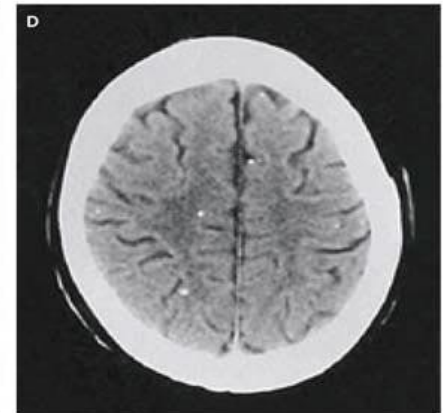
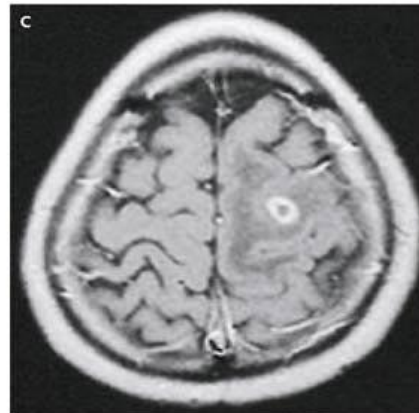
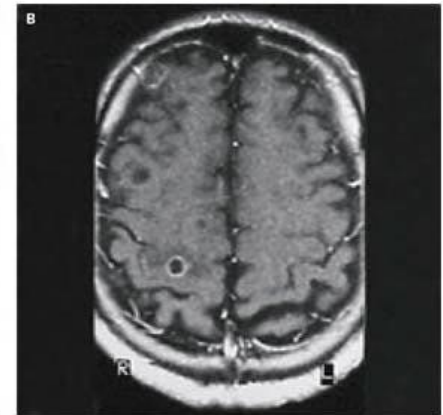
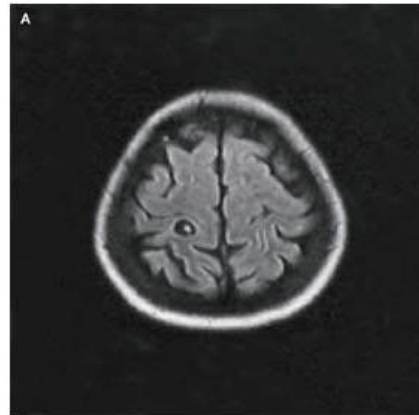
Principais sintomas: cefaléia, convulsões, distúrbios visuais ou perda de capacidade motora

Complicações cerebrais: crises epiléticas, hipertensão intracraniana, hidrocefalia, meningite, distúrbios psiquiátricos



Vesicular

Coloidal



Parasitas no cérebro:

- (A) vesicular – não inflamatório
- (B) Coloidal – em degeneração, c/ inflamação
- (C) granular-nodular
- (D) Calcificado - parasita morto

Granular

Calcificado

Garcia, H. H. et al. N Engl J Med 2004;350:249-258

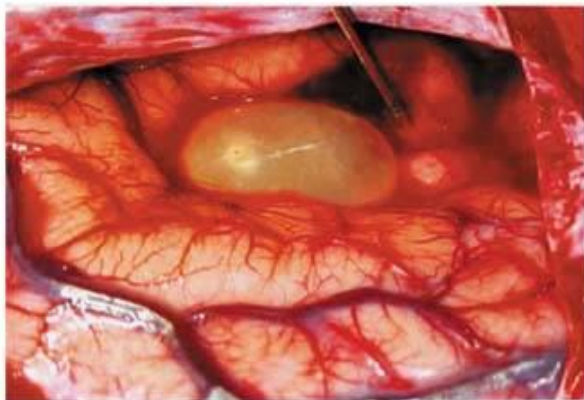
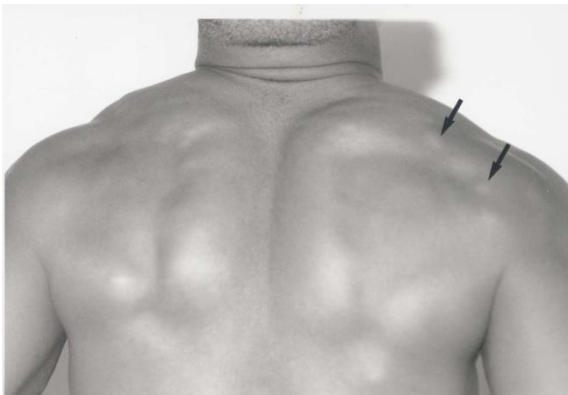


Figura 3. Cisto de *T. solium* encontrado durante a neurocirurgia.

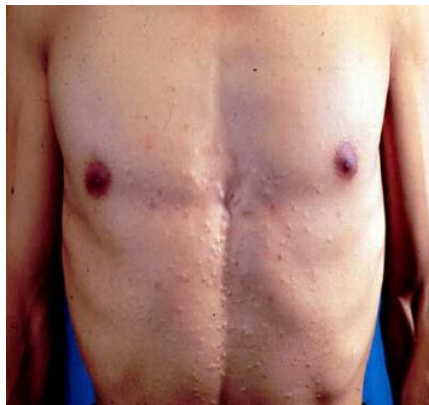
Costa, F.A.O. J. Epilepsy Clin. Neurophysiol. v.13 n.4 . 2007

Manifestações Clínicas

Cisticercose muscular (5 a 6% dos casos)



Cisticercose ocular (18% a 20% dos casos)



Cisticercose subcutânea (10% a 12% dos casos)

Diagnóstico Laboratorial

Da Neuro-Cisticercose humana:

Diagnóstico Imunológico → Detecção de anticorpos
no soro e LCR

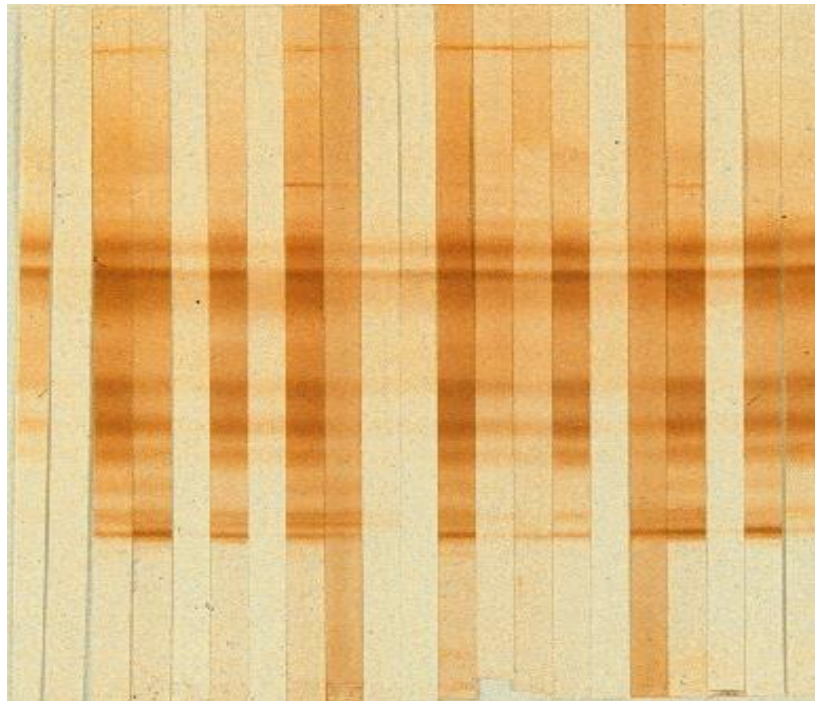
Imunofluorescência indireta

ELISA

Immunoblot

Diagnóstico Laboratorial

Immunoblot – Fonte de antígenos: *T. solium*

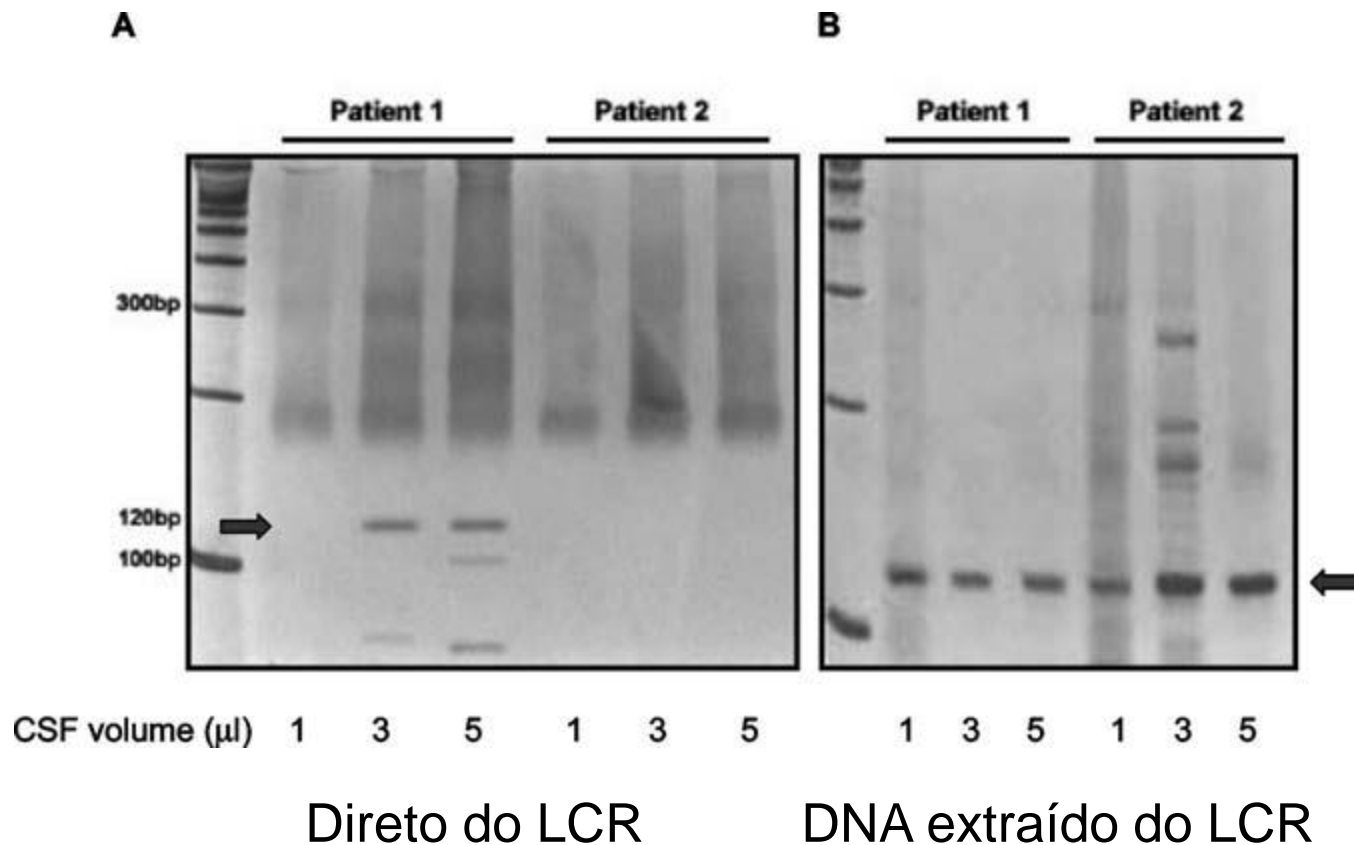


<i>Patient type</i>	<i>Specificity</i>	<i>Sensitivity</i>
2 or more cysts	100%	98%
Single cyst (USA)	100%	~60%
Single cyst (Peru)	100%	~80%
Single cyst (India)	100%	~79%

Disponível comercialmente
QualiCode™ Cysticercosis Western
Blot Kit (Immunetics)

Diagnóstico Laboratorial

Diagnóstico Molecular → Detecção do DNA do parasita no LCR



Diagnóstico Laboratorial

Métodos de imagem:

- Tomografia computadorizada (TC):
 - Mais acessível, menor custo
 - Apresenta falhas em mais de 60% dos casos
 - Mais eficaz na identificação de lesões inativas ou calcificadas
- Ressonância nuclear magnética (RNM):
 - Eficaz em identificar o número, localização e estágio de evolução do parasita
 - Alto custo, menos acessível

Hidatidose

Etiologia: *Echinococcus granulosus*

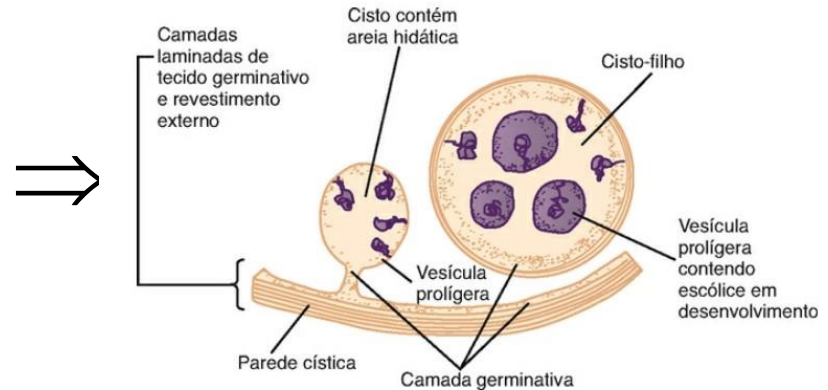
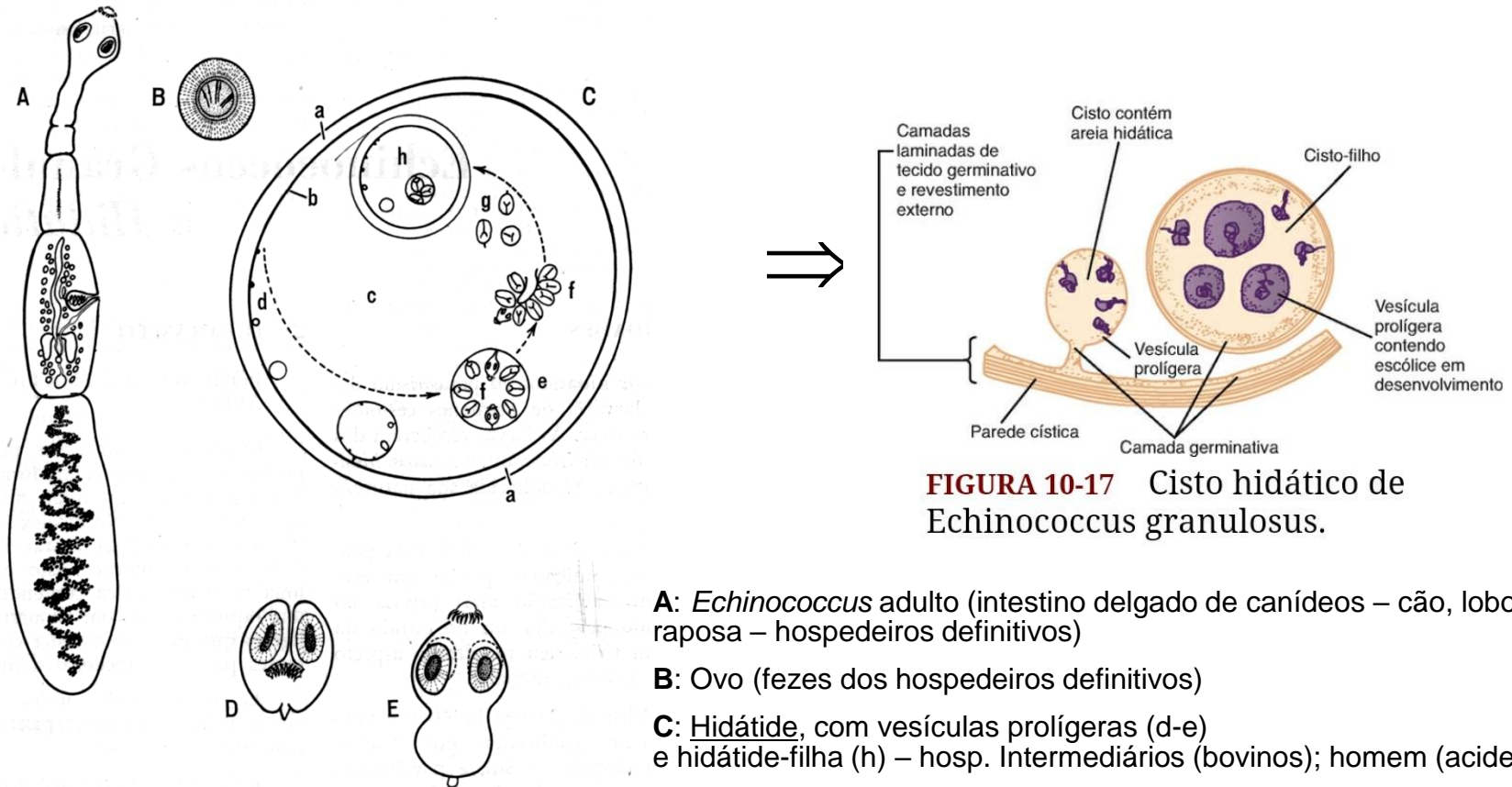


FIGURA 10-17 Cisto hidático de *Echinococcus granulosus*.

Formas evolutivas

- A: *Echinococcus* adulto (intestino delgado de canídeos – cão, lobo, raposa – hospedeiros definitivos)
- B: Ovo (fezes dos hospedeiros definitivos)
- C: Hidátide, com vesículas prolíferas (d-e) e hidátide-filha (h) – hosp. Intermediários (bovinos); homem (acidental)
- D: Proto-escólex invaginado
- E: Proto-escólex desinvaginado

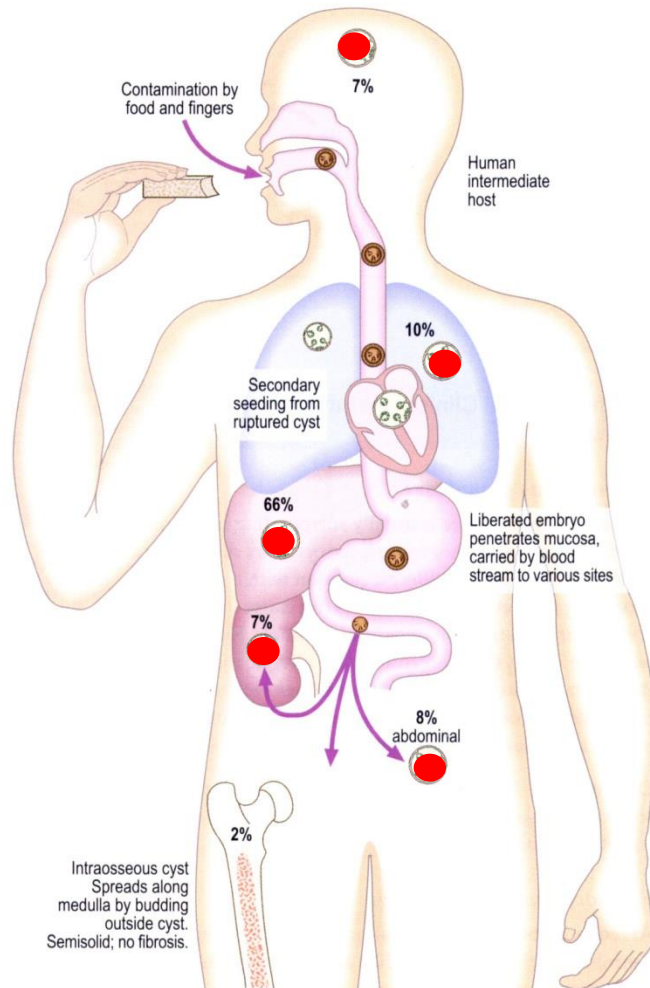
Outras espécies encontradas no Brasil:

(causam hidatidose policística)

- ***E. vogeli*** *
 - Hosp. definitivo: cão
 - Hosp. intermediário: roedores (pacas)
- ***E. oligarthrus*** * (rara)
 - Hosp. definitivo: felinos
 - Hosp. intermediário: roedores (cutia)

* *Encontradas na Amazônia Brasileira*

Manifestações Clínicas

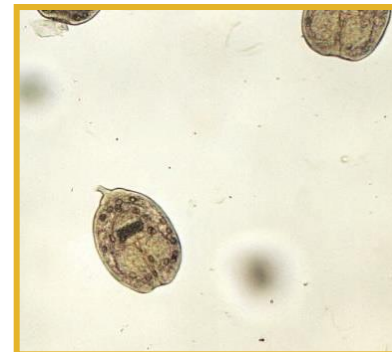


- A sintomatologia está relacionada ao número de cistos e órgãos em que se desenvolvem: fígado (60-70%), pulmões (20-25%), musculatura esquelética, cérebro e ossos
- As formas graves são decorrentes do rompimento dos cistos e metástases de novos cistos
 - » O cisto cresce de 1 a 5 cm/ano, podendo chegar a 20 cm de diâmetro
 - » O rompimento do cisto pode causar choque anafilático e edema pulmonar.

Diagnóstico laboratorial

Da hidatidose humana:

- Testes imunológicos (detecção de anticorpos)
ELISA, Immunoblot (confirmatório) : —————→
QualiCode™ Hydatid Disease Kit (Immunitics)
IgG - Abcam® → antígenos da membrana cística, do líquido hidático e do protoescólex
- Métodos de imagens (Rx, US)
- Punção dos cistos: detecção de protoescólices (não recomendada)

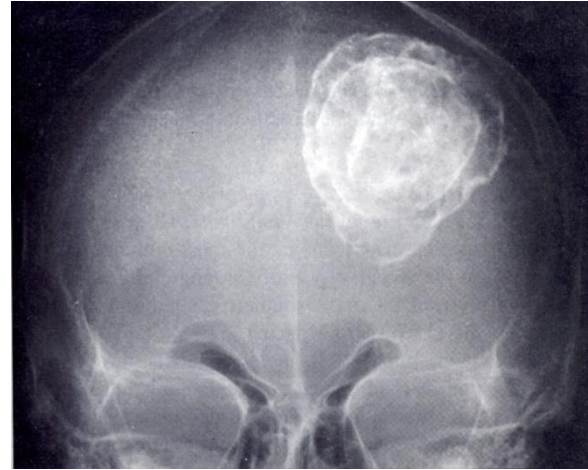


Areia hidática

Orgãos contendo cistos hidáticos



Fígado



Cérebro

Esquistossomose

Principais espécies que infectam o homem

Espécie	Doença que causa	Característica dos ovos	Hospedeiros intermediários (moluscos)
<i>S. mansoni</i>	Esquistossomose mansônica	Espículo lateral	<i>Biomphalaria</i>
<i>S. haematobium</i>	Esquistossomose vesicular	Espículo terminal	<i>Bulinus</i>
<i>S. japonicum</i>	Esquistossomose japônica	Espículo lateral pequeno	<i>Oncomelia</i>

Outras espécies: *S. intercalatum*, *S. mekongii*

Formas evolutivas

Schistosoma mansoni

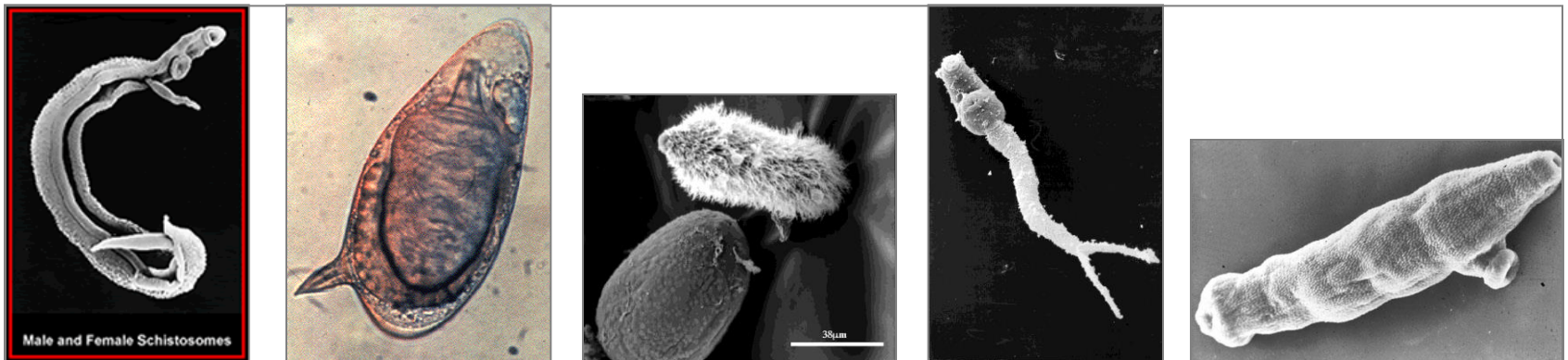
Vermes adultos: Fêmeas e Machos

Ovos

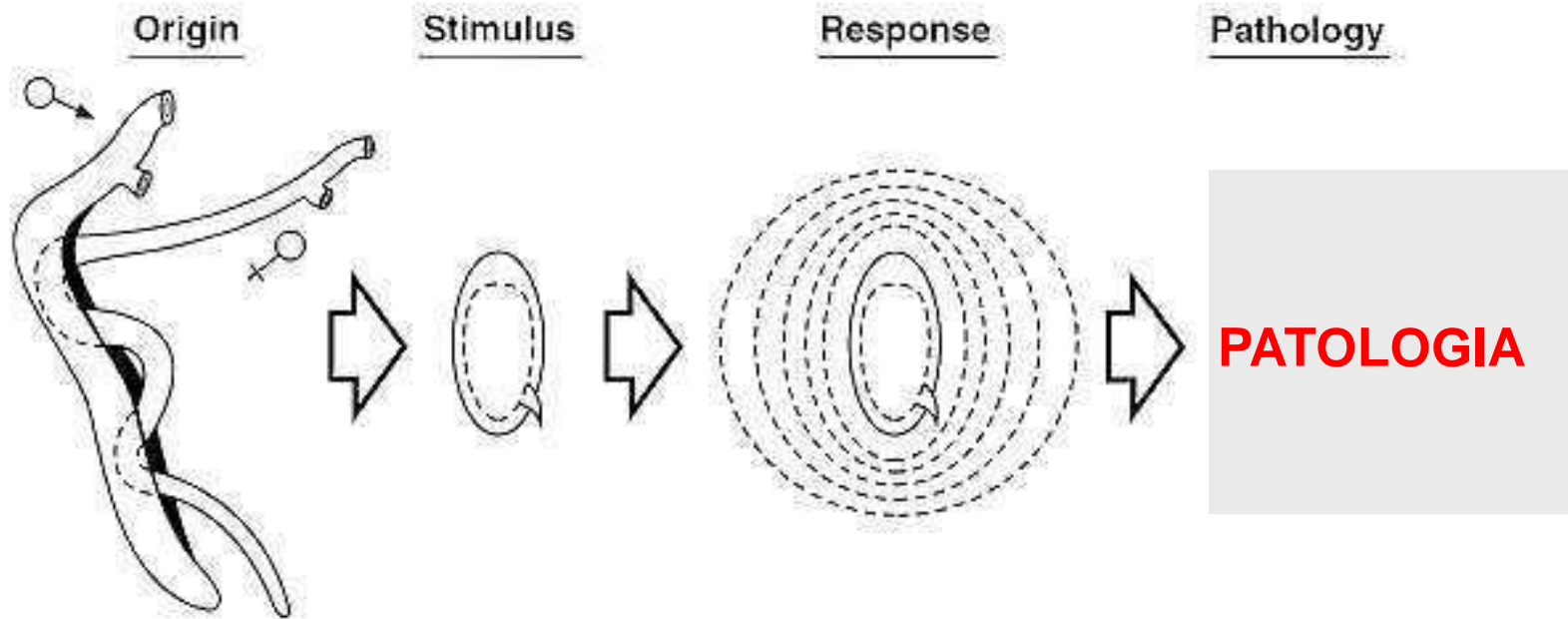
Formas larvárias: miracídio

cercária

esquistossômulo



Caramujo



Vermes adultos

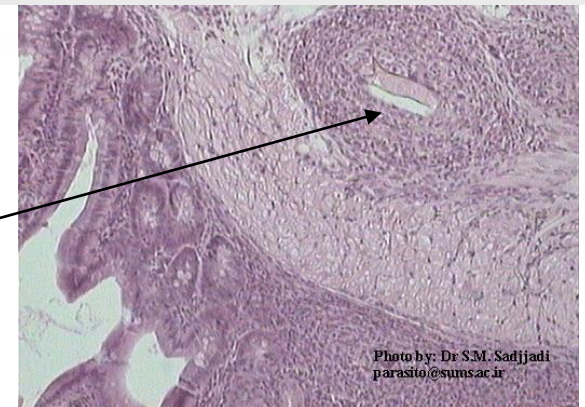
Ovo

Granuloma

Fibrose

Resposta inflamatória em torno dos ovos de *S. mansoni* (granuloma)

Biópsia de tecido (intestino)



Manifestações Clínicas

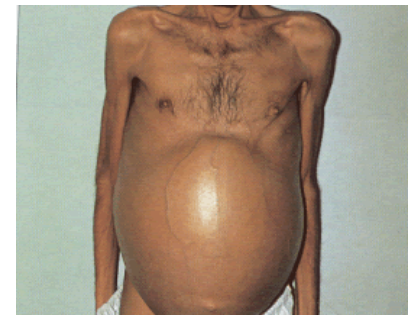
Dermatite cercariana

Esquistossomose aguda: Assintomática ou com alterações sistêmicas (febre de Katayama)

Esquistossomose crônica:

- Forma Intestinal
- Forma Hepatointestinal
- Forma Hepatoesplênica

✓ Nos casos mais graves:
aumento do volume do abdômen
(ascite=barriga d'água)



Diagnóstico Laboratorial

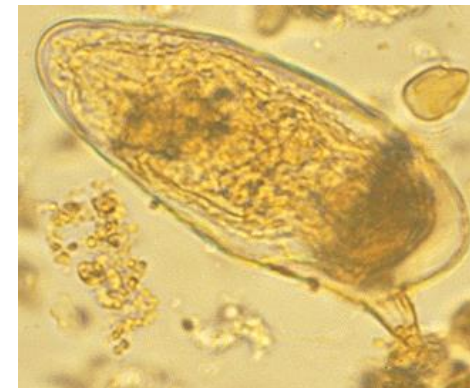
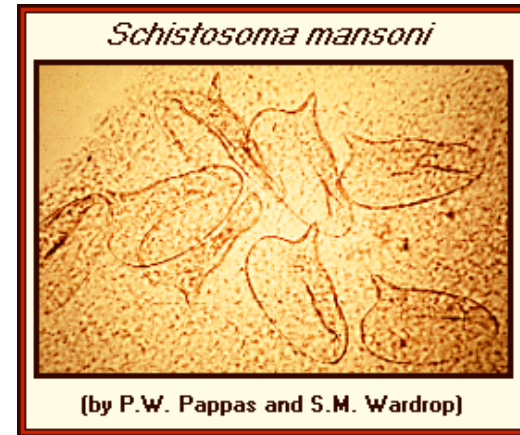
Diagnóstico Parasitológico: pesquisa de ovos nas fezes

- Técnica de Hoffman
- Técnica de Kato-Katz (quantitativa)

{
quantitativo
fácil operacionalização
baixo custo
método de referência

- Biópsia Retal → identificação de ovos retidos na mucosa do reto (nos casos suspeitos em que o exame de fezes é repetidamente negativo)

- ✓ A produção diária de ovos/fêmeas é muito pequena → examinar pelo menos 3 amostras de fezes



Diagnóstico Laboratorial

Diagnóstico Imunológico:

Detecção de anticorpos:

Imunofluorescência indireta (IFI)

Ensaio imunoenzimático (ELISA)

Limitações: baixa especificidade, persistência após a cura

* Ensaio utilizando subunidades de antígenos estão em fase de desenvolvimento (ELISA)

Diagnóstico Laboratorial

Diagnóstico Imunológico:

Detecção de antígenos (testes rápidos):

- Antígeno Circulante Catódico (CCA):
produzido pelos vermes adultos
- Antígeno Circulante Anódico (CAA)

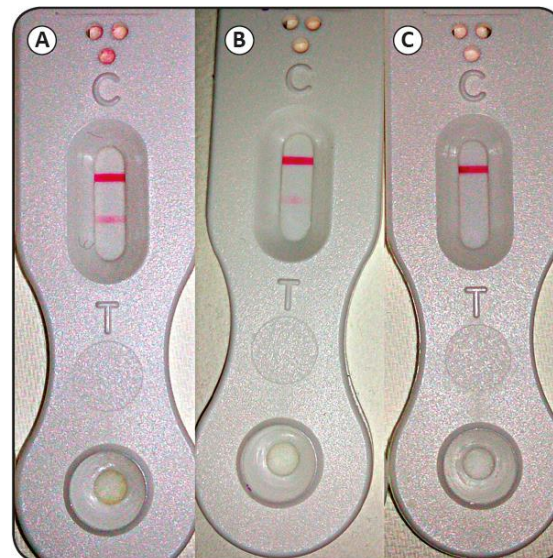


FIGURE 2 - POC-CCA® test results. A. Positive. B. Trace and C. Negative. POC-CCA: point-of-care-circulating cathodic antigen.

doi: 10.1590/0037-8682-0070-2016

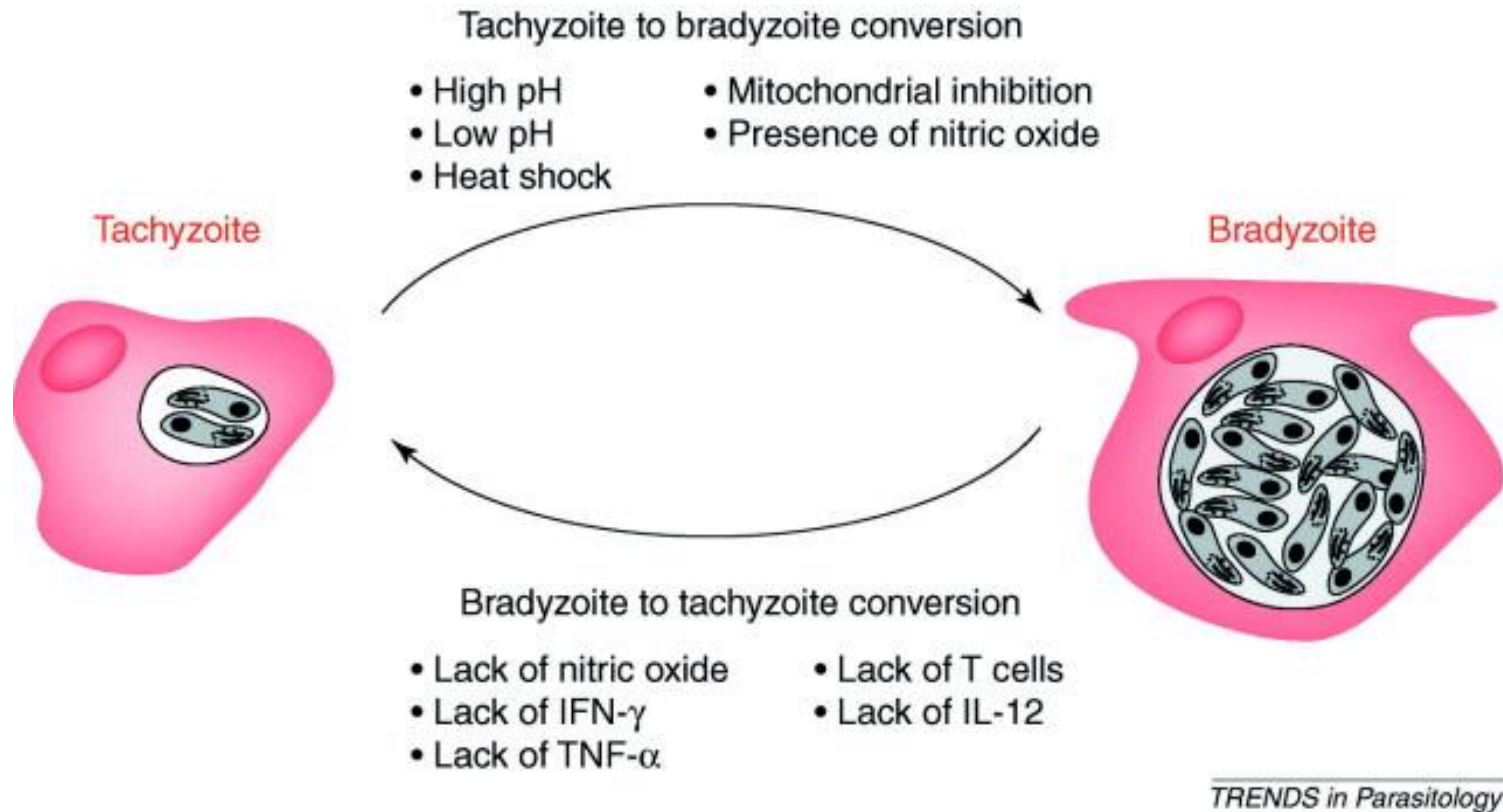
Intradermorreação: Reação de hipersensibilidade do Tipo I a antígenos de verme adulto – não é mais recomendada

Limitações: reações cruzadas; permanece positiva após a cura

Parasitas que afetam o SNC (protozoários)

Protozoan	Disease
<i>Toxoplasma gondii</i>	Toxoplasmose
<i>Trypanosoma brucei</i> <i>gambiense/rhodesiense</i>	Tripanosomíase Africana (D. Sono)
<i>Plasmodium falciparum</i>	Malária
<i>Entamoeba histolytica</i>	Amebíase
Amebas de vida livre	Meningoencefalite e encefalite amebiana

Reativação de infecções crônicas



- » Em imunocomprometidos: reativação de infecções crônicas latentes (cérebro, olho)

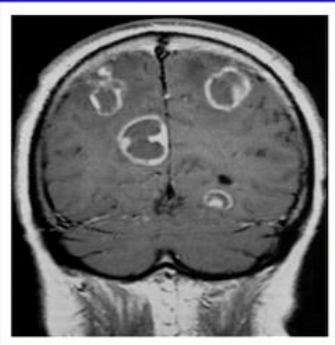
Manifestações Clínicas (SNC)

- Perturbações da função intelectual, especialmente desorientação, dificuldade de concentração ou alterações do comportamento
- Febre, dores de cabeça, convulsões
- Perturbações da função neurológica, especialmente movimentos anormais, dificuldades na marcha, dificuldades na fala e perda parcial da visão.

Em imunocomprometidos
(HIV e outros)

Toxoplasmose congênita

Encephalitis



Chorioretinitis

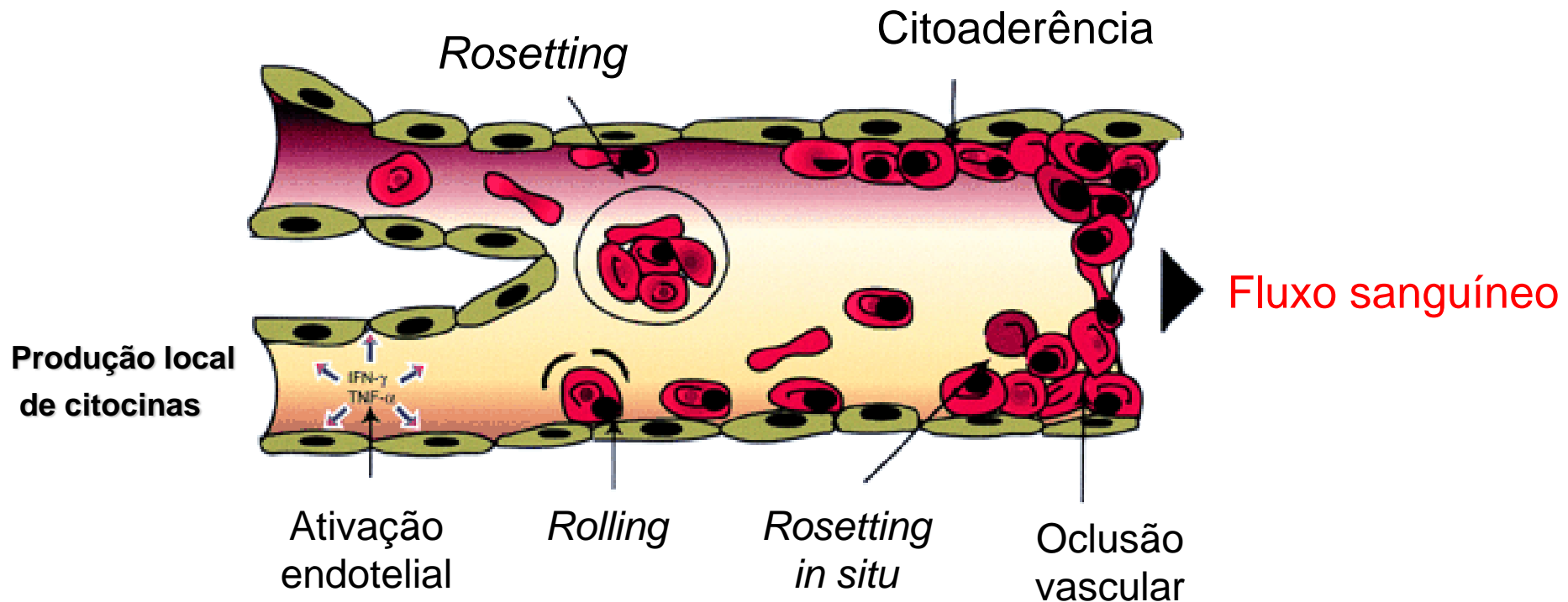


Hydrocephalus



Malária cerebral

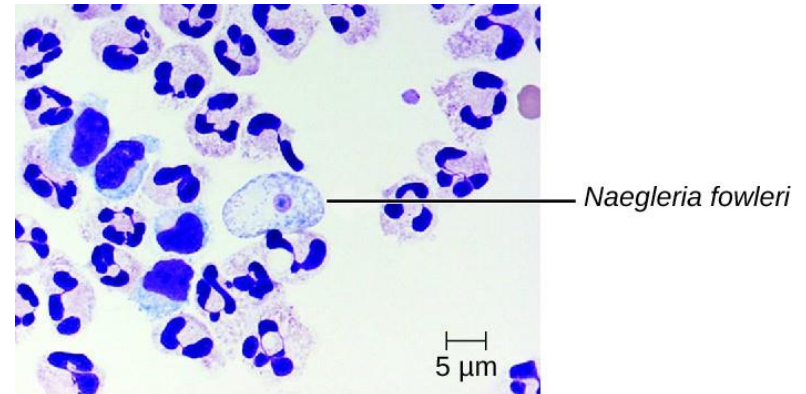
Etiologia: *P. falciparum*



Seqüestramento nos microcapilares impede destruição no baço, onde os antígenos são apresentados para células efetoras da resposta imune

Amebas

- *Entamoeba histolytica*
- Amebas de vida livre



Free-living amoeba in human brain tissue from a patient suffering from PAM. (credit: modification of work by the Centers for Disease Control and Prevention)

Amebas

Doença

Naegleria fowleri

Meningoencefalite amebiana primária

Acanthamoeba species

Encefalite amebiana granulomatosa

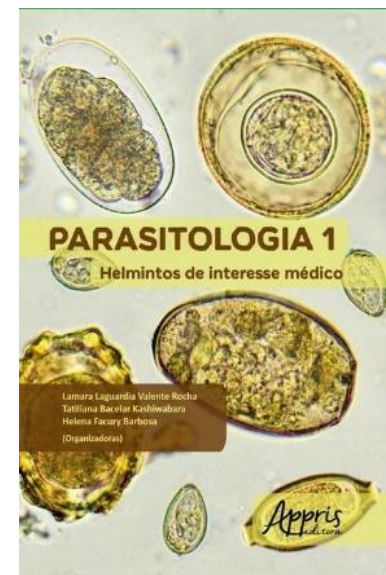
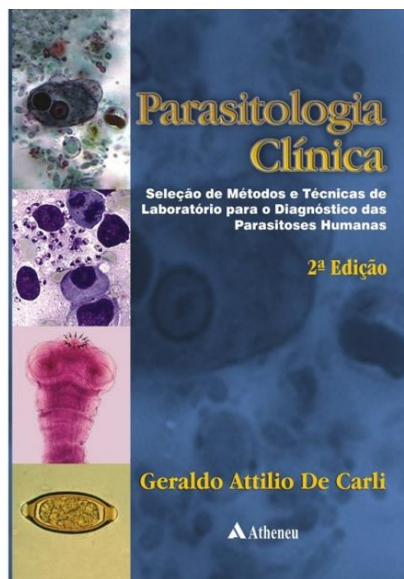
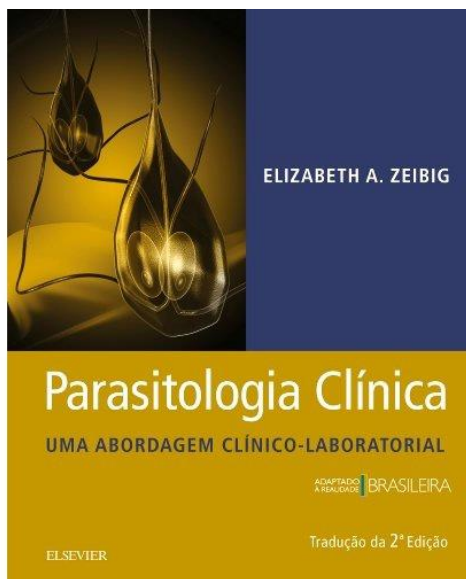
Balamuthia mandrillaris

Encefalite amebiana

Parasitas que afetam o SNC (helmintos)

Helminto	Doença
<i>Taenia solium</i>	Cisticercose
<i>Echinococcus granulosos</i> e <i>E. multilocularis</i>	Hidatidose
<i>Schistosoma</i>	Esquistossomose
<i>Toxocara canis</i> e <i>T. cati</i>	Toxocaríase

Referências bibliográficas



CDC/DPDx - Laboratory
Identification of Parasites
of Public Health Concern

Roteiro de métodos
parasitológicos
FCF-USP (a ser enviado)