

6

Protozoários Intestinais

Marcelo Urbano Ferreira e Annette Silva Foronda

- ▶ Amebas intestinais e amebíase, 58
- ▶ *Giardia duodenalis* e giardiase, 63
- ▶ *Balantidium coli*, 67
- ▶ *Blastocystis hominis*, 68
- ▶ Outros protozoários que habitam o trato digestivo humano, 70
- ▶ Bibliografia, 71
- ▶ Leitura sugerida, 71



Os protozoários intestinais mais comuns em hospedeiros imunocompetentes, as amebas *Entamoeba histolytica* e *E. dispar* e o flagelado *Giardia duodenalis* são o principal tema deste capítulo. Diversos outros protozoários podem ser eventualmente encontrados no trato digestivo humano, incluindo aqueles considerados comensais (não patogênicos), os oportunistas (que causam doença somente em hospedeiros imunocomprometidos) e os emergentes (que foram recentemente caracterizados como causa de doença humana). Os parasitos emergentes são objeto do Capítulo 7.

► Amebas intestinais e amebíase

O termo *amebíase* refere-se ao parasitismo humano por *Entamoeba histolytica* e *E. dispar*, acompanhado ou não de manifestações clínicas. Embora durante quase um século *E. histolytica* tenha sido aceita como uma única espécie, definem-se atualmente duas espécies morfológicamente idênticas, que diferem em características bioquímicas, imunológicas, genéticas e epidemiológicas, associadas à amebíase humana: *E. histolytica*, patogênica, e *E. dispar*, não patogênica. Quando o diagnóstico específico não for possível, recomenda-se referir-se ao protozoário como *Entamoeba histolytica/Entamoeba dispar*. A existência de duas espécies distintas explicaria, pelo menos em parte, a grande variedade de manifestações clínicas associadas à amebíase, como originalmente descrito por Émile Brumpt em 1925 (Diamond & Clark, 1993). Uma terceira espécie morfológicamente indistinguível de *Entamoeba histolytica/E. dispar*, originalmente isolada a partir de amostras colhidas na rede de esgotos da cidade de Moscou em 1941, também infecta o homem. Trata-se de *E. moshkovskii*, também descrita, em 1961, como a cepa Laredo de *E. histolytica*. Embora existam atualmente métodos moleculares que permitem o diagnóstico específico de infecções por *E. moshkovskii*, a contribuição relativa dessa espécie como causa de amebíase humana permanece desconhecida.

► Aspectos biológicos

O agente etiológico da amebíase foi descoberto em 1875, em São Petersburgo, pelo médico russo Fiodor Lösch. Em 1903, Fritz Schaudinn afirmou ser *E. histolytica* a única espécie de ameba patogênica para o homem, criando o nome específico definitivo. *E. histolytica* e *E. dispar* são protozoários monoxenos situados, na classificação mais recente (Adl *et al.*, 2005), no grupo Entamoebida do supergrupo Amoebozoa. Seu ciclo vital inclui três formas.

Os trofozoítos de *Entamoeba histolytica/E. dispar* são pleomórficos, de tamanho entre 15 e 20 μm , com movimentação por pseudópodes, tipo lobópodes, divisão assexuada por fissão binária simples, contendo um único núcleo. O núcleo, fora da mitose, apresenta um aglomerado de cromatina, conhecido como *cariossoma* ou *endossoma*, pequeno, compacto e localizado em sua porção central, ainda que possa ter posição excêntrica. A cromatina periférica é delicada, homoganeamente distribuída na periferia do núcleo (Figura 6.1). Estas são algumas das características morfológicas que permitem a diferenciação entre trofozoítos de *E. histolytica/E. dispar* e de outras amebas comensais que habitam o trato digestivo humano, como *E. coli*, *E. hartmanni* e *E. polecki*. As formas

invasivas de *Entamoeba histolytica/E. dispar* são grandes e, em geral, têm hemácias no citoplasma. Alimentam-se por emissão de pseudópodes, por processo de fagocitose. No citoplasma dos trofozoítos, observa-se frequentemente uma nítida separação entre ectoplasma e endoplasma, este último corado de modo mais intenso (Figura 6.1).

Os *pré-cistos* são intermediários entre trofozoítos e cistos, com um núcleo (Figura 6.1B). Os *cistos* são esféricos ou ovais, com tamanho de 10 a 15 μm e parede cística rígida. Apresentam divisão múltipla por esquizogonia; podem conter um a quatro núcleos. Os *cistos* imaturos, isto é, aqueles com um ou dois núcleos, apresentam uma estrutura cilíndrica conhecida como *corpo cromatoide*, constituída por ribossomos agrupados (Figura 6.1).

O *habitat* de *E. histolytica* e *E. dispar* é o intestino grosso. Dos cistos são liberadas, nos últimos segmentos do intestino delgado ou na parte anterior do intestino grosso, formas chamadas de metacísticas. Após rápida divisão, transformam-se em oito *trofozoítos* que passam a colonizar o epitélio do intestino grosso. Os trofozoítos multiplicam-se de modo assexuado, por fissão binária simples. Se levados às últimas porções do intestino grosso, os trofozoítos progressivamente desenvolvem uma membrana cística, sendo liberados para o meio exterior (Figura 6.2A). Contaminam a água e os alimentos, podendo então atingir outros hospedeiros. Os *cistos* são as únicas formas com condições de sobrevivência no ambiente externo, responsáveis pela transmissão ao próximo hospedeiro. As formas invasivas ou trofozoítos penetram no epitélio intestinal e dividem-se intensamente na submucosa. Podem ser eventualmente eliminados nas fezes, em pacientes com disenteria grave. Produzem ulcerações extensas e podem atingir outros órgãos por via hematogênica (Figura 6.2B).

Embora consideradas classicamente como anaeróbicas, essas amebas são microaerófilas, isto é, utilizam pequenas quantidades de oxigênio. Têm estrutura celular simples, com metabolismo semelhante ao das bactérias. Durante muitos anos, as amebas foram consideradas protozoários primitivos, especialmente por não apresentarem uma mitocôndria típica. Entretanto, as amebas têm uma pequena organela, chamada *mitossoma* (Tovar *et al.*, 1999) ou *cripton* (Mai *et al.*, 1999), que exerce várias funções típicas de mitocôndrias. Organelas semelhantes foram identificadas em *Giardia duodenalis* (Tovar *et al.*, 2003) e em diversos microsporídeos. Provavelmente o mitossoma e as mitocôndrias têm um ancestral comum, mas, diferentemente destas, os mitossomas não contêm um genoma próprio. Os genes que codificam as proteínas de mitossomas estão no genoma nuclear das amebas.

A transmissão do protozoário é orofecal (Figura 6.3), por contaminação de água e alimentos com cistos, dependendo de hábitos culturais, idade, saneamento básico, aglomeração populacional e nível socioeconômico.

► Diferenças entre *E. histolytica* e *E. dispar*

A comprovação da existência de duas espécies morfológicamente idênticas de amebas que infectam o homem baseou-se inicialmente em diferenças genéticas caracterizadas bioquimicamente através do padrão de mobilidade de isoenzimas em eletroforese (Sargeunt *et al.*, 1978). O padrão de migração de um grupo de isoenzimas constitui o chamado *zimodema*. Existem vários zimodemas conhecidos, uns associados a cepas invasivas (*E. histolytica*) e outros a cepas não invasivas (posteriormente definidas como *E. dispar*). Observaram-se também

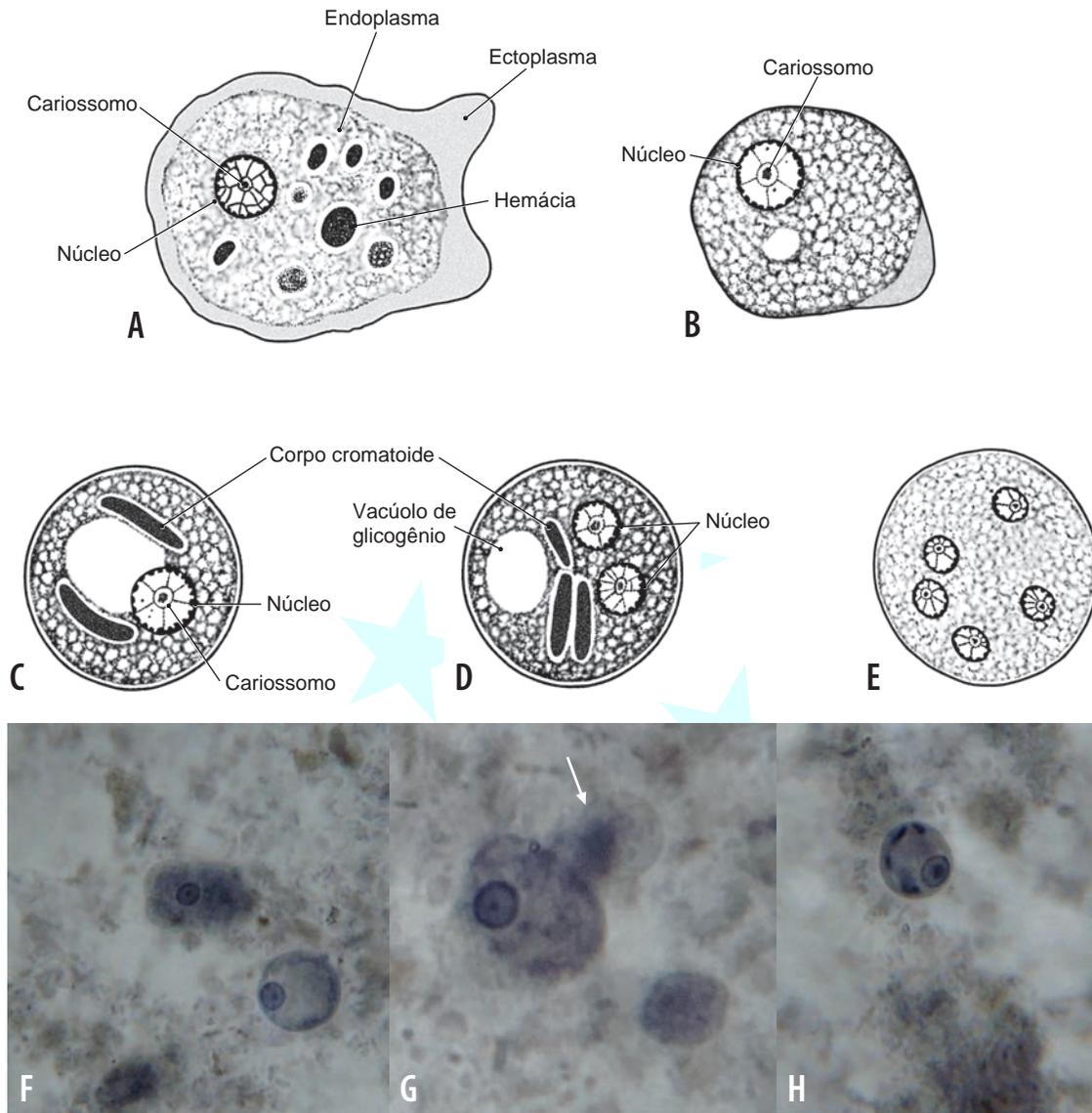


Figura 6.1 Estágios evolutivos de *Entamoeba histolytica*/*E. dispar*. Representação esquemática da morfologia do trofozoíto (A), pré-cistos (B) e cistos (C, D e E) de *E. histolytica*/*E. dispar*. Em F, observam-se um trofozoíto e um cisto uninucleado com vacúolo de glicogênio; em G, um trofozoíto emitindo pseudópode (*seta*), e em H, um cisto uninucleado com corpos cromatóides de *E. histolytica*/*E. dispar*, em preparações coradas com hematoxilina férrica. Observe que o corpo cromatoide tem formato de charuto. (Fotografias cedidas por Marcelo Urbano Ferreira.)

diferenças no padrão de crescimento de amebas pertencentes a zimodemas distintos em culturas axênicas. Em geral, o crescimento em cultura é facilmente obtido em *E. histolytica* mas não em *E. dispar*.

Embora as amebas patogênicas difiram das amebas não patogênicas quanto à capacidade de adesão das amebas às células-alvo e de produzir lesão da mucosa intestinal, os determinantes moleculares de padrões distintos de virulência não são completamente conhecidos. Todas as cepas de amebas, invasivas ou não, apresentam uma molécula de adesão, com estrutura altamente conservada, conhecida como *Gal/GalNAc inhibitable adhesion lectin* (lectina de adesão passível de inibição por galactose e N-acetil-galactosamina). No entanto, há diferenças antigênicas (que podem ser detectadas com anticorpos monoclonais específicos) e funcionais entre as lectinas de adesão de *E. histolytica* e *E. dispar*. Há também diferenças na composição de glicoconjugados de membrana, como as moléculas semelhantes a lipofosfoglicano (LPG), abundantes

somente em *E. histolytica*, e lipofosfopeptoglicano (LPPG), comuns às duas espécies.

Do ponto de vista diagnóstico, existem diferenças genéticas, demonstráveis por métodos moleculares, úteis para a distinção entre as duas espécies. Entre os principais alvos está o gene que codifica a subunidade 18S de RNA ribossômico, amplamente explorado com finalidade diagnóstica (Fotedar *et al.*, 2007).

► Lesão intestinal causada por *E. histolytica*

As formas invasivas da amebíase são resultado de uma sequência de eventos bem caracterizados. A adesão das amebas às células-alvo é a primeira etapa do processo que levará a uma erosão do epitélio da mucosa intestinal (Ralston & Petri Jr., 2011). Na adesão às células epiteliais do cólon, desempenha papel fundamental a lectina de adesão inibível por *Gal/GalNAc*, um heterodímero composto de uma cadeia pesada

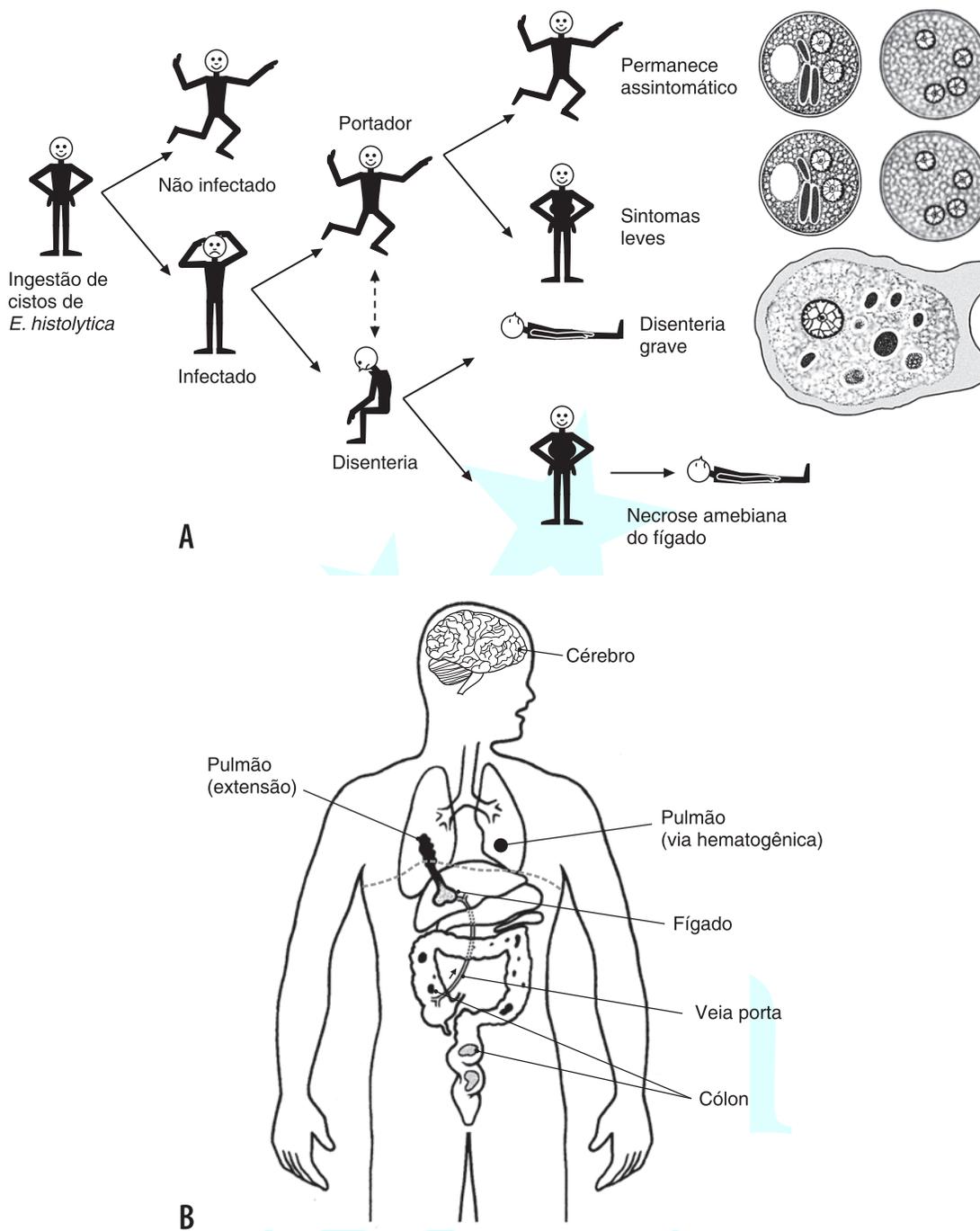


Figura 6.2 Evolução das infecções por *Entamoeba histolytica*/*E. dispar*, com representação dos estágios evolutivos eliminados em cada quadro clínico (A) e localização das lesões mais comuns causadas por *E. histolytica* (B).

(170 kDa) e uma cadeia leve (35 ou 31 kDa), que não somente participa do fenômeno de adesão, mas também bloqueia a deposição, na superfície das amebas, do complexo de membrana do sistema complemento, impedindo sua lise. Essa lectina de adesão é também alvo de imunidade protetora, naturalmente adquirida, mediada por anticorpos de classe IgA (Stanley Jr., 2006). Outras proteínas com ação enzimática, como cisteína-proteases, facilitam o contato inicial com as células-alvo ao degradarem as mucinas que compõem o revestimento mucoso do epitélio intestinal.

Uma vez aderidas, as amebas invasivas desencadeiam a morte das células do epitélio intestinal mediante dois proces-

sos distintos. O primeiro é conhecido como citólise. Os trofozoítos de *E. histolytica* contêm uma proteína formadora de poros, conhecida como *amoebapore*, cuja principal função, no interior dos vacúolos fagocitários, consiste na inativação e morte das bactérias ingeridas pelas amebas. Esta proteína parece também exercer atividade lítica nas células do hospedeiro. Entretanto, as amebas também desencadeiam a morte das células epiteliais por apoptose e fagocitam preferencialmente as células apoptóticas (Ackers & Mirelman, 2006). A morte celular estimula a produção de pré-interleucina (IL) 1 β e de IL-1 β , que, por sua vez, ativam o fator de transcrição nuclear NF- κ B, resultando na produção de diversos mediado-

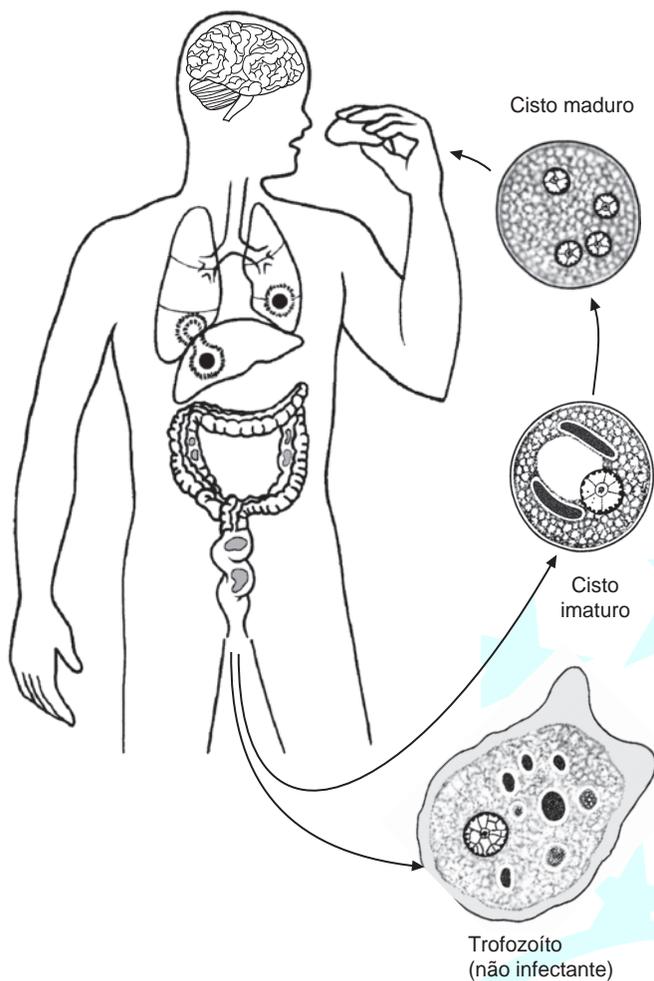


Figura 6.3 Ciclo vital de *E. histolytica*/*E. dispar*. Observe que os trofozoítos eventualmente eliminados nas fezes diarreicas não são infectantes. As localizações mais comuns de acometimento intestinal e extraintestinal também são representadas.

res de inflamação (IL-1 α , IL-8, IL-6, COX-2, GM-CSF) e no recrutamento de neutrófilos. Este processo é facilitado pelas cisteína-proteases das amebas, capazes de converter pré-IL-1 β em sua forma ativa, IL-1 β . A migração de neutrófilos e outros leucócitos, atraídos pelos mediadores liberados, agrava a lesão epitelial. Nas áreas de erosão epitelial inicia-se a invasão das amebas, preferencialmente através do epitélio interglandular. Em sua passagem até as camadas internas da mucosa intestinal, as amebas lisam células e degradam componentes da matriz extracelular. Neste processo agem as diversas cisteína-proteases produzidas pelas amebas. Pelo menos oito cisteína-proteases foram caracterizadas em *E. histolytica*. A morte de neutrófilos recrutados para a lesão resulta na liberação de mais citocinas inflamatórias, como o fator de necrose tumoral (TNF- α), o que contribui para agravar a inflamação e a destruição celular.

► Aspectos clínicos da amebíase

Amebíase intestinal

Os indivíduos que ingerem cistos de *Entamoeba histolytica* podem infectar-se ou não. Quando infectados, podem tornar-se portadores crônicos assintomáticos, apresentar disenteria moderada a grave (a chamada *disenteria amebiana*)

ou ainda apresentar colite sem disenteria (a chamada *colite amebiana não disentérica*). Cerca de 3 a 10% dos portadores assintomáticos de infecção, se não tratados, desenvolvem sintomas de doença invasiva ao final de 1 ano de seguimento. Tradicionalmente, distinguem-se quatro formas clínicas principais de amebíase intestinal invasiva, todas de evolução aguda: disenteria amebiana ou diarreia sanguinolenta, colite fulminante, apendicite amebiana e ameboma do cólon. As síndromes diarreicas e disentéricas correspondem a 90% dos casos de amebíase intestinal invasiva. Os pacientes apresentam geralmente três a cinco evacuações por dia, sem febre. Ocorre dor moderada em cólica precedendo as evacuações, bem como tenesmo retal nos casos de disenteria. A disenteria amebiana é a diarreia com muco e sangue nas fezes. A retossigmoidoscopia mostra a mucosa intensamente inflamada, com ou sem ulcerações. Na colite amebiana não disentérica, observam-se episódios recorrentes de diarreia sem muco ou sangue nas fezes, tendo a mucosa do cólon um aspecto geralmente normal à retossigmoidoscopia. A colite fulminante ou necrosante, que compreende 0,5% dos casos de doença invasiva, é um quadro de evolução rápida, em que os pacientes apresentam 30 ou mais evacuações diárias acompanhadas de cólicas intensas e tenesmo. A letalidade situa-se em torno de 40%. Os amebomas são lesões pseudotumorais resultantes de necrose, inflamação e edema da mucosa e submucosa do cólon.

Nos primeiros estágios de invasão das células epiteliais, as amebas podem causar reações inflamatórias, com edema e hiperemia – lesões inespecíficas precursoras de ulcerações focais. Inicialmente estas ulcerações são superficiais; podem depois estender-se à submucosa, com rápida disseminação das amebas. Esta característica dá à lesão causada por *E. histolytica* um aspecto típico, com lesão epitelial desproporcional à lesão da submucosa. Raramente são encontrados neutrófilos e eosinófilos em úlceras da mucosa intestinal humana, mas se observa um intenso infiltrado linfocitário. Os trofozoítos das amebas são circundados por um halo claro, resultante de citólise; por isso, o nome específico de *histolytica*.

Amebíase extraintestinal

Outros órgãos podem ser infectados secundariamente por *E. histolytica*. O fígado pode ser atingido por disseminação sistêmica, causando o chamado *abscesso amebiano de fígado*, terminologia considerada inadequada para a maioria dos patologistas por não se tratar de verdadeiro abscesso. Prefere-se a denominação de *necrose amebiana de fígado*. O quadro clínico caracteriza-se por início súbito, com dor no hipocôndrio direito que aumenta à inspiração profunda, geralmente acompanhada de febre. Raramente ocorre icterícia. Por motivos desconhecidos, a amebíase hepática é três vezes mais comum em homens do que em mulheres, sendo incomum em crianças.

As lesões podem ser únicas ou múltiplas e, nos casos mais graves, muito extensas. Os protozoários que se desprendem dos bordos das lesões podem penetrar outros locais do fígado. O pulmão direito em geral é atingido por contiguidade ou extensão, pelo diafragma, a partir de lesões hepáticas (Figura 6.2B). As lesões pulmonares apresentam também aspecto necrótico e podem ser múltiplas. Em casos graves, porém relativamente raros, o cérebro também pode apresentar focos necróticos. Eventualmente a pele, sobretudo a região perianal, pode ser lesionada.

► Diagnóstico laboratorial e tratamento da amebíase

O diagnóstico laboratorial da amebíase intestinal é rotineiramente realizado por meio de exame parasitológico de fezes. Em fezes diarreicas ou disentéricas, predominam as formas trofozoíticas; nas fezes formadas predominam os cistos. O encontro de trofozoítos nas fezes exige o exame de amostra fresca ou preservada; se não fixados adequadamente até 30 min após a sua eliminação nas fezes, os trofozoítos tendem a degenerar-se. Para a identificação das características morfológicas que permitem distinguir trofozoítos de *E. histolytica*/*E. dispar* de trofozoítos de amebas comensais, as preparações devem ser coradas, geralmente com hematoxilina férrica ou tricrômico, antes do exame microscópico. O achado de cistos, em fezes formadas, é geralmente feito com o auxílio de métodos de concentração. Entre eles, os mais frequentemente utilizados na prática diagnóstica são os métodos de Hoffmann *et al.*, que se baseia na sedimentação de elementos parasitários por ação da gravidade, e o de Faust *et al.*, que objetiva concentrar os elementos parasitários mediante diversas etapas de centrifugo-flutuação das amostras de fezes.

Embora o cultivo de amebas intestinais seja realizado em laboratórios de pesquisa há mais de 80 anos, seu uso para diagnóstico não é amplamente recomendado. A sensibilidade é relativamente baixa (50 a 70%), mesmo em laboratórios de referência, e o procedimento é excessivamente laborioso para sua implementação na rotina diagnóstica. Entretanto, o cultivo *in vitro* pode ser utilizado para a posterior caracterização biológica e bioquímica de isolados de amebas.

Como o exame microscópico não possibilita distinguir *E. histolytica* de *E. dispar*, o desenvolvimento de métodos imunológicos e moleculares com essa finalidade recebeu grande impulso em décadas recentes (Fotedar *et al.*, 2007). Há cinco imunoenaios comercialmente disponíveis para a detecção específica de antígenos de *E. histolytica* nas fezes com o uso de anticorpos monoclonais, embora nenhum deles seja de uso disseminado em laboratórios de rotina do Brasil.

Os métodos laboratoriais mais sensíveis para o diagnóstico da amebíase humana são aqueles fundamentados na reação em cadeia da polimerase (PCR). O primeiro obstáculo para o desenvolvimento de ensaios moleculares foi a padronização de métodos apropriados para a conservação e a extração de DNA de cistos e trofozoítos do parasito a partir de amostras de fezes, extremamente ricas em substâncias capazes de inibir a ação das DNA polimerases. Atualmente, entretanto, são encontrados diversos produtos comerciais que permitem a extração rápida e eficaz de DNA a partir de amostras fecais frescas ou preservadas. Dos inúmeros alvos moleculares usados em ensaios com diferentes formatos, desde a PCR convencional até os protocolos de PCR em tempo real, o mais comum é o gene que codifica a subunidade 18S de RNA ribossômico (Fotedar *et al.*, 2007). Diversos métodos disponíveis em laboratórios de referência permitem a distinção entre *E. histolytica*, *E. dispar* e *E. moshkovskii*, embora nenhum deles seja amplamente empregado nos laboratórios de rotina diagnóstica do Brasil. Os métodos moleculares permitem também, de modo mais simples e sensível que a análise de zimodemas, examinar níveis de diversidade genética existentes em isolados naturais de *E. histolytica* de diferentes regiões endêmicas, associados a padrões distintos de doença.

O diagnóstico de abscesso amebiano pode ser relativamente difícil, e depende em grande parte de dados clínicos e epide-

miológicos. Exames de imagem, como a ultrassonografia ou a tomografia computadorizada, permitem a identificação de abscessos hepáticos. Em geral não se recomenda a punção dos abscessos amebianos, com finalidade diagnóstica ou terapêutica, diante do risco de contaminação bacteriana secundária. Entretanto, os métodos imunológicos e moleculares de detecção de amebas nas fezes podem também ser utilizados com material obtido por meio de punção de abscessos.

Os testes sorológicos são positivos para anticorpos na maioria dos indivíduos com amebíase intestinal invasiva (75%) e abscesso amebiano (90%). O imunoensaio enzimático (ELISA), considerado teste de referência, tem grande utilidade diagnóstica na amebíase extraintestinal de indivíduos provenientes de áreas não endêmicas, em que a presença de anticorpos em pacientes com um quadro clínico sugestivo pode ser interpretada como a confirmação do diagnóstico. Entretanto, em área endêmica muitos indivíduos saudáveis podem apresentar anticorpos detectáveis meramente em função de infecções prévias. Existem pelo menos sete imunoenaios enzimáticos para a detecção de anticorpos específicos contra *E. histolytica* comercialmente disponíveis. Os testes de aglutinação em látex, desenvolvidos com a mesma finalidade, são raramente utilizados hoje em dia em função de sua baixa especificidade (Fotedar *et al.*, 2007).

O tratamento de amebíase depende da forma clínica encontrada. As estratégias de tratamento baseiam-se em agentes com ação predominante no lúmen intestinal, utilizados nas formas não invasivas, e aqueles com melhor penetração nos tecidos, utilizados nas formas invasivas. Na forma intestinal assintomática, utilizam-se geralmente uma dicloroacetamida (etofamida) ou uma benzilamina (teclosan) como amebicidas de ação luminal nos seguintes esquemas:

- *Etofamida*: 500 mg, 2 vezes/dia, durante 3 dias
- *Teclosan*: 500 mg de 8 em 8 h por 1 dia ou 100 mg, 3 vezes/dia, durante 5 dias.

Alternativamente, pode-se empregar um composto nitroimidazólico com ação tecidual:

- *Tinidazol*: 2 g/dia, durante 2 a 5 dias, em adultos; 50 mg/kg/dia, durante 2 dias, em crianças.

Há poucos ensaios clínicos aleatorizados de boa qualidade metodológica que avaliaram o tratamento da amebíase invasiva ou extraintestinal. Em geral, empregam-se derivados nitroimidazólicos nas seguintes dosagens:

- *Metronidazol*: 500 a 750 mg/dose 3 vezes/dia, durante 10 dias, em adultos; 20-40 mg/dia, durante dez dias, em crianças
- *Tinidazol*: 2 g/dia, durante 2 a 5 dias, em adultos; 50 mg/kg/dia, durante 2 a 5 dias, em crianças.

O esquema fundamentado em tinidazol parece ser ligeiramente superior, em termos de eficácia, no tratamento da colite amebiana, embora o número disponível de estudos para comparação ainda seja pequeno (Gonzales *et al.*, 2009). Nas formas intestinais, sugere-se realizar a pesquisa de cistos e trofozoítos nas fezes, como controle de cura, 7, 14, 21 e 28 dias após o término do tratamento.

► Prevenção e controle da amebíase

Entamoeba histolytica e *E. dispar* são cosmopolitas, embora as infecções amebianas ocorram mais frequentemente na Ásia, na África e na América Latina. Estima-se a ocorrência anual

de 400 milhões de novas infecções por ambas as espécies em todo o mundo. Sabe-se hoje que *E. dispar* é dez vezes mais comum do que *E. histolytica*, motivo pelo qual o número anual de casos de colite amebiana se situa em torno de 40 a 50 milhões. A amebíase é a quarta causa mais frequente de morte por protozoários (70.000 mortes anuais), situando-se depois da malária, da doença de Chagas e das leishmanioses. Nos países desenvolvidos, a ocorrência de amebíase está, em geral, ligada à imigração de trabalhadores vindos de países em desenvolvimento. Nas áreas urbanas do sudeste do Brasil, a amebíase intestinal vem se tornando progressivamente menos comum, sendo raros os casos de disseminação extraintestinal.

A amebíase é uma típica doença de transmissão orofecal, cuja profilaxia depende de condições sanitárias adequadas e de educação sanitária. A principal fonte de infecção são os indivíduos assintomáticos que eliminam cistos por longos períodos sem procurar tratamento; os pacientes com disenteria amebiana são relativamente pouco importantes para a disseminação da infecção, pois eliminam predominantemente trofozoítos que se degeneram ao cair no meio externo e, quando confirmado o diagnóstico, são tratados. O principal veículo de transmissão de cistos é a água, embora alimentos como vegetais e frutas também desempenhem um papel importante. Manipuladores de alimentos também são importantes na transmissão, bem como moscas e baratas, considerados vetores mecânicos. A contaminação pessoa a pessoa é também possível. Como os cistos de *Entamoeba* são sensíveis à dessecação, a transmissão pelo ar não é relatada. A identificação e tratamento dos excretos assintomáticos de cistos é uma estratégia potencial de controle, porém de difícil implementação em áreas de alta transmissão.

► *Giardia duodenalis* e giardíase

Somente no final da década de 1970 *Giardia duodenalis*, o agente causal da giardíase, foi amplamente reconhecida como causador de doença. Em 1981, foi colocada pela Organização Mundial da Saúde na lista de protozoários patogênicos. *G. duodenalis* tem distribuição global, sendo o parasito intestinal mais comum em países desenvolvidos. Na Ásia, na África e na América Latina, cerca de 200 milhões de indivíduos apresentam giardíase sintomática, com 500.000 novos casos relatados a cada ano. É também encontrada com frequência em animais domésticos, principalmente em cães, gatos e no gado (Thompson, 2000).

Existem diversas controvérsias na classificação do gênero *Giardia*. Na primeira metade do século 20, dezenas de espécies foram descritas com base nos hospedeiros em que foram encontradas e em discretas variações morfológicas, nem sempre confirmadas de modo independente. A partir do trabalho clássico de Filice (1952), passou-se geralmente a admitir a existência de somente três espécies morfológicamente distintas de *Giardia*: *G. duodenalis*, que ocorre na maioria dos mamíferos, incluindo o homem e animais domésticos; *G. agilis*, de anfíbios; e *G. muris*, de roedores. Mais recentemente, duas outras espécies foram descritas em pássaros: *G. psittaci* e *G. ardeae*. *G. duodenalis* tem dois sinônimos frequentemente encontrados na literatura médica: *G. lamblia* e *G. intestinalis*.

Características genéticas permitem a definição de seis agrupamentos (*assemblages* A, B, C, D, E, F e G) de *G. duodenalis* com características epidemiológicas distintas, ainda que mor-

fologicamente esses isolados sejam indistinguíveis. Alguns desses grupos de parasitos circulam em hospedeiros específicos e podem corresponder a espécies definidas com base no hospedeiro em que foram originalmente encontradas. Entretanto, os dois principais grupos, A e B, compreendem parasitos capazes de infectar um grande número de animais domésticos e silvestres, além do homem, evidenciando o potencial zoonótico da infecção. Embora os critérios para a definição de novas espécies de *Giardia* ainda não sejam consensuais, predomina atualmente a tendência de referir-se aos parasitos que infectam homem, pertencentes aos agrupamentos A e B, como *G. duodenalis* e *G. enterica*, respectivamente (Monis *et al.*, 2009). *Giardia duodenalis* que circula exclusivamente em cães (agrupamentos C e D) e em gatos (agrupamento F) corresponderiam a duas espécies distintas, *G. canis* e *G. cati*, respectivamente. De modo análogo, *G. bovis* e *G. simondi* seriam as novas espécies correspondentes aos isolados de *G. duodenalis* reunidos nos agrupamentos E (encontrados em bovinos, suínos e equinos) e G (encontrados em ratos), respectivamente. O primeiro genoma completo de *G. duodenalis* disponível foi obtido de um isolado humano, conhecido como WB, pertencente ao agrupamento A (Morrison *et al.*, 2007); subsequentemente, foram sequenciados os genomas completos de isolados do agrupamento B (de origem humana) e E (de origem suína). *G. duodenalis* é o termo taxonômico empregado neste capítulo para referir-se às espécies de *Giardia* que infectam o homem, abrangendo *G. duodenalis* e *G. enterica*.

G. duodenalis talvez tenha sido o primeiro protozoário a ser detectado em fezes humanas. Foi observado por Antony van Leeuwenhoek, em 1681, que verificou estar ele próprio infectado. No entanto, credita-se a Vilem Lambl a primeira descrição do flagelado, em 1859. Na classificação mais recente, *G. duodenalis* é incluída no clado Diplomonadida (protozoários flagelados binucleados) do supergrupo Excavata, grupo Fornicata, subgrupo Eopharyngia, ainda que não apresente um citóstoma funcional (Adl *et al.*, 2005). Estão ausentes algumas organelas de eucariotos, como mitocôndria e complexo de Golgi típicos. O papel de mitocôndria é desempenhado pelo mitossoma (Tovar *et al.*, 2003), organela também presente em *Entamoeba*.

G. duodenalis é um parasito monoxeno, cujo ciclo vital inclui duas formas. Os trofozoítos medem 12 a 15 µm de comprimento e 6 a 8 µm de largura, e são piriformes, com simetria bilateral (Figura 6.4). Movimentam-se por intermédio de quatro pares de flagelos e dividem-se de modo assexuado, por fissão binária longitudinal. Contêm dois núcleos, dois *axonemas* (feixes de fibras longitudinais) e dois *corpos parabasais* em forma de vírgulas, de função desconhecida. Na superfície ventral há um *disco adesivo* ou *disco suctorial*, principal responsável pela fixação do protozoário às células epiteliais do intestino. Os trofozoítos alimentam-se através de pinocitose.

Os cistos são ovalados ou elipsoides e medem cerca de 12 µm (Figura 6.5). São formas de resistência. As estruturas internas são as mesmas dos trofozoítos, só que duplicadas. São necessários de 10 a 100 cistos para que ocorra a infecção no homem. Os cistos são bastante resistentes, podendo permanecer viáveis na água a 4°C por até 3 meses.

O *habitat* deste flagelado é o intestino delgado, principalmente o duodeno e as primeiras porções do jejuno. O ciclo vital é semelhante ao de *Entamoeba histolytica*. No lúmen intestinal, as giárdias se desencistam e aderem à mucosa por meio de um eficiente mecanismo em que participam o disco suctorial e a corrente líquida produzida pelo batimento dos flagelos. O homem infecta-se ingerindo cistos (Figura 6.6).

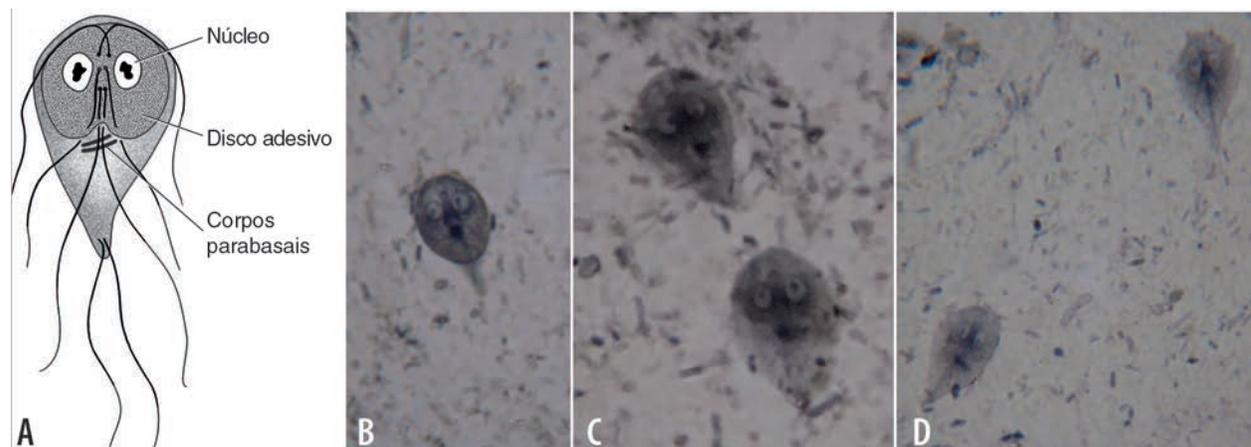


Figura 6.4 Trofozoítos de *Giardia duodenalis*. **A.** Representação esquemática do trofozoítio de *Giardia duodenalis*. Observe o formato piriforme. O trofozoítio apresenta dois núcleos, quatro pares de flagelos e corpos parabasais em forma de vírgula. **B a D.** Trofozoítos de *Giardia duodenalis* em amostras de fezes (preparações coradas com hematoxilina férrica). (Fotografias cedidas por Marcelo Urbano Ferreira.)

► Lesão intestinal causada por *Giardia duodenalis*

Em seres humanos, a infecção por *Giardia* pode ser assintomática ou produzir até síndromes graves de má absorção. Os fatores que possivelmente contribuem para esta variabilidade de expressão clínica incluem a virulência das cepas de *Giardia*, o número de cistos ingeridos, e a idade e o estado imunitário do hospedeiro no momento da infecção. As infecções prévias por *Giardia* produzem certo grau de proteção

contra formas clínicas em infecções subsequentes. Por isso, em áreas endêmicas a maioria das infecções sintomáticas em indivíduos imunocompetentes ocorre em crianças ou em viajantes não imunes, provenientes de áreas de baixa transmissão. Em pacientes semi-imunes, a fase aguda pode resolver-se espontaneamente. Se isso não acontecer, segue-se um estágio crônico. A aquisição de imunidade protetora é, pelo menos em parte, restrita pelo fenômeno de variação clonal antigênica, que permite ao parasito mudar rapidamente suas glicoproteínas de superfície mais imunogênicas (ver, ao final do capítulo, o boxe Parasitologia em foco).

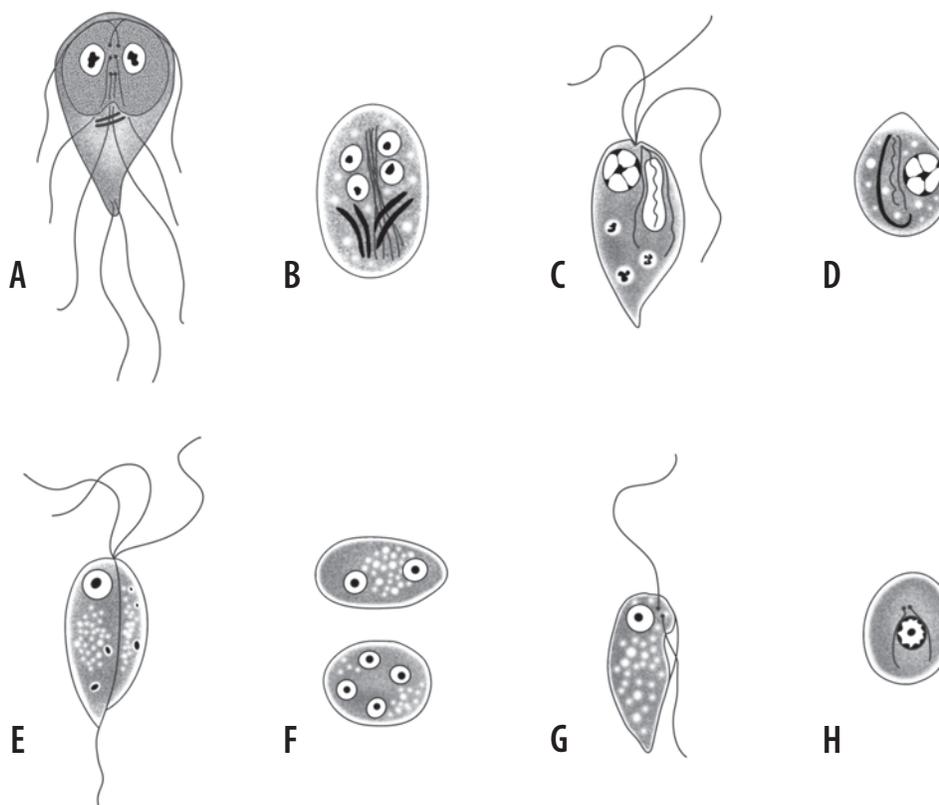


Figura 6.5 Representação esquemática dos trofozoítos (**A**) e cistos (**B**) de *Giardia duodenalis* e de outros flagelados intestinais. Observe que os cistos de *Giardia duodenalis* são ovalados (**B**). Podem apresentar dois (cistos imaturos) ou quatro núcleos (cistos maduros), correspondendo, respectivamente, a um ou dois trofozoítos em desenvolvimento em seu interior. Apresentam-se também características morfológicas dos seguintes flagelados comensais do trato digestivo humano: trofozoítos (**C**) e cistos (**D**) de *Chilomastix mesnili*, trofozoítos (**E**) e cistos (**F**) de *Enteromonas hominis*, e trofozoítos (**G**) e cistos (**H**) de *Retortomonas intestinalis*.

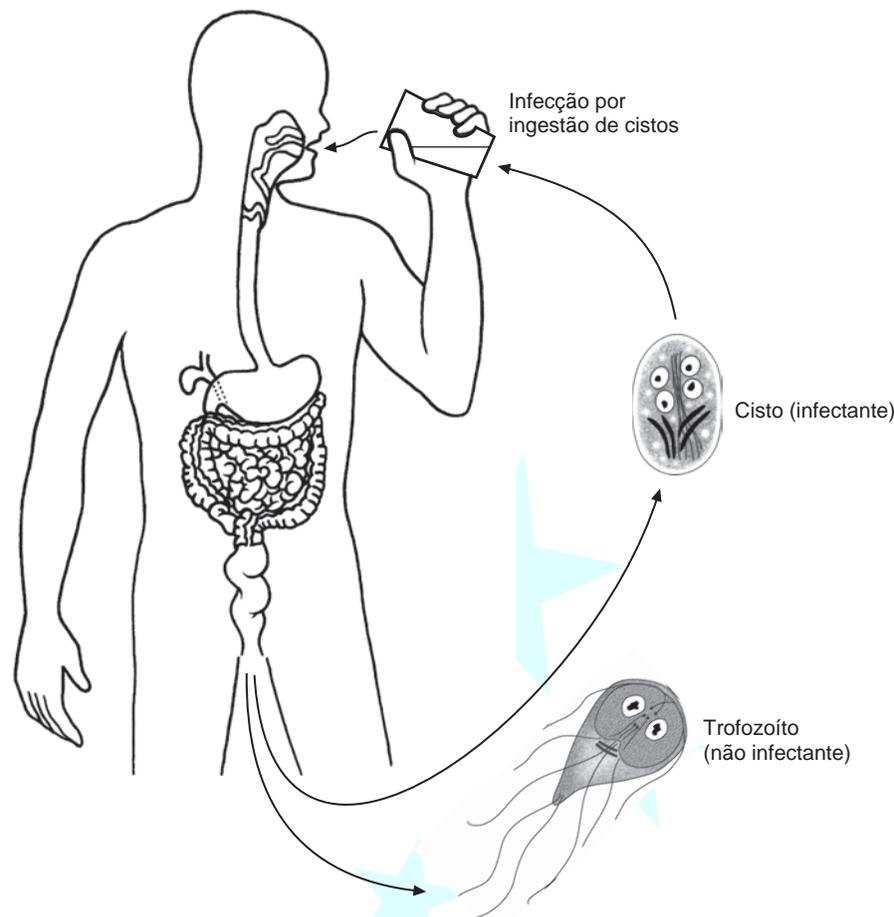


Figura 6.6 Ciclo vital de *Giardia duodenalis*. Observe que os trofozoítos eventualmente eliminados nas fezes diarréicas não são infectantes.

Não se conhece em detalhes a fisiopatologia das alterações intestinais na giardíase. *Giardia* coloniza preferencialmente o duodeno e o jejuno, um ambiente hostil em que poucos microrganismos são capazes de sobreviver. Os trofozoítos não invadem as células intestinais do hospedeiro, revestidas por uma camada de muco; no entanto, aderem-se ao epitélio com auxílio do disco adesivo presente em sua superfície ventral, bem como de proteínas com ação de lectina. Entre elas, destaca-se a giardina α -1, que se liga a moléculas sulfatadas no epitélio intestinal, uma das proteínas imunodominantes na superfície de *G. duodenalis* (Roxström-Lindquist *et al.*, 2006).

Em textos clássicos menciona-se que os parasitos aderidos à mucosa intestinal podem constituir uma barreira mecânica para a absorção de nutrientes. A grande reserva funcional do intestino delgado, cuja área é equivalente à de uma quadra de tênis, torna esta hipótese insustentável diante das pequenas dimensões do parasito. As lesões mais evidentes na morfologia da mucosa intestinal são a atrofia de vilos e a hiperplasia das criptas, que podem reduzir a superfície disponível para a absorção de nutrientes. No entanto, podem ocorrer sintomas em pacientes sem atrofia de vilos, sugerindo que esta alteração não explica completamente a patogênese da giardíase.

Há dados experimentais indicando que *G. muris* e *G. duodenalis* afetam a maturação dos enterócitos, especialmente do duodeno, o que poderia explicar as alterações na digestão e absorção de nutrientes. Do ponto de vista funcional, a alteração mais frequentemente associada à infecção por *G. duodenalis* é a redução da atividade de diversas enzimas da mucosa

intestinal, como a maltase, a sucrase, a lactase, a sacaridase e outras, bem como de enzimas do lúmen intestinal, como a tripsina, a quimiotripsina, a amilase e a lipase. Os fatores que levam à redução de atividade dessas enzimas permanecem desconhecidos, mas suas consequências (essencialmente a redução da absorção de carboidratos, gorduras e vitaminas) são bem documentadas na literatura. A giardíase produz também aumento da permeabilidade intestinal, provavelmente como consequência de inflamação da mucosa e apoptose de enterócitos (Troeger *et al.*, 2007), bem como aumento da secreção de cloretos, levando ao acúmulo de líquido no lúmen intestinal durante a infecção (Buret, 2007).

► Aspectos clínicos da giardíase

A *infecção assintomática* ocorre tanto em adultos como em algumas crianças. É possível que alguns indivíduos classificados como assintomáticos apresentem episódios de diarreia transitória. A *giardíase aguda* caracteriza-se como uma doença diarreica, com duração entre 2 e 4 semanas. Os sinais e sintomas mais comuns são a esteatorreia e o desconforto abdominal, podendo haver náuseas, vômitos e perda de peso. Embora a infecção seja autolimitada na maioria dos indivíduos imunocompetentes, cerca de 30 a 50% deles apresentam diarreia crônica (duração superior a 2 semanas). Em um quarto dos pacientes não imunes, os sintomas podem persistir por 7 semanas ou mais. Nesses casos, a perda de peso pode ser pronunciada em função das dificuldades de absorção de diver-

mentos nutrientes. Pode haver deficiência secundária de lactase, criando dificuldades de absorção de lactose. Se não tratadas, as infecções podem durar vários meses, com exacerbação periódica do quadro diarreico.

► Diagnóstico laboratorial e tratamento da giardíase

A infecção humana por *G. duodenalis* é, em geral, diagnosticada por meio de exame parasitológico de fezes. Em fezes diarreicas espera-se encontrar trofozoítos do parasito, situação em que amostras recém-emitidas devem ser examinadas por meio do método direto, preferencialmente com coloração pela hematoxilina férrica ou pelo tricrômico. Nas fezes formadas predominam cistos. Para o diagnóstico, são geralmente necessárias técnicas de concentração, para separar os cistos de partículas interferentes presentes nas fezes. Os métodos de sedimentação de Hoffman *et al.* e de centrifugo-flutuação de Faust *et al.* são os mais utilizados, em nosso meio, com essa finalidade. Os cistos podem ser corados com solução de Lugol, hematoxilina férrica ou tricrômico (Figura 6.7). Como os trofozoítos e, principalmente, os cistos de *G. duodenalis* são eliminados intermitentemente nas fezes, sugerem-se a coleta e o exame de pelo menos três amostras fecais, colhidas ao longo de 1 semana, para aumentar a sensibilidade do exame parasitológico. Estima-se que a sensibilidade de um único exame de fezes esteja em torno de 60 a 80%, enquanto três exames seriados seriam capazes de detectar mais de 90% das infecções por *G. duodenalis*.

É possível pesquisar trofozoítos de *G. duodenalis* em amostras de suco duodenal, obtidas por meio de um dispositivo disponível no comércio (Enterotest®), que consiste em uma cápsula contendo um cordão em seu interior com um anel de náilon. A cápsula ingerida pelo paciente degrada-se no intestino delgado, liberando o cordão com o anel em que se aderem os trofozoítos. A extremidade proximal desse cordão é fixada à face do paciente com fita adesiva. O cordão é recuperado, colocado em solução salina e examinado. Ocasionalmente, aspirados duodenais são obtidos para o diagnóstico de giardíase pelo encontro de trofozoítos. A obtenção de amostras de tecido por biópsia é raramente justificada, mas o achado do parasito é possível em

amostras obtidas por aposição do fragmento de tecido em uma lâmina, seguida de fixação e coloração.

Existem também pelo menos nove produtos comerciais para a detecção de antígenos de *G. duodenalis* nas fezes, através de imunoenensaio enzimático (ELISA) de captura, com sensibilidade entre 85 e 98% e especificidade superior a 90%. Alguns dos testes comercialmente disponíveis detectam não somente antígenos de *G. duodenalis*, mas também de outros protozoários intestinais como *E. histolytica/dispar*, *Cryptosporidium parvum* e *C. hominis*. Os métodos moleculares para o diagnóstico de giardíase, que se baseiam na amplificação de sequências de DNA do parasito com a reação em cadeia da polimerase (PCR), bem como as técnicas de cultivo do parasito *in vitro*, permanecem essencialmente restritos ao ambiente de pesquisa. Por outro lado, os métodos de detecção de anticorpos séricos contra *G. duodenalis* são utilizados em estudos epidemiológicos, com o objetivo de estimar a população exposta ao parasito, mas não distinguem infecções atuais de pregressas. Por isso, não são em geral aplicados na rotina diagnóstica.

Os compostos nitroimidazólicos, como metronidazol, tinidazol, secnidazol, ornidazol e nitorazol, são os principais agentes atualmente empregados no tratamento da giardíase. Em geral são recomendados os seguintes esquemas terapêuticos:

- *Tinidazol, secnidazol, ornidazol, nitorazol*: 2 g, dose única, em adultos; 50 mg/kg, também dose única, em crianças
- *Metronidazol*: 250 mg, 3 vezes/dia, durante 5 a 10 dias, em adultos; 5 mg/kg/dia, 3 vezes/dia, durante 5 a 10 dias, em crianças.

As alternativas aos nitroimidazólicos são a furazolidona (100 mg/2 vezes/dia/7 a 10 dias em adultos e 2 mg/kg/2 vezes/dia/7 a 10 dias em crianças) e o albendazol (400 mg/dia/5 dias em adultos e 15 mg/kg/dia [dose máxima, 400 mg]/5 a 7 dias em crianças (Gardner & Hill, 2001). Sugere-se realizar novos exames parasitológicos de fezes, 7, 14 e 21 dias após o término do tratamento, como controle de cura.

► Prevenção e controle da giardíase

Nos EUA, estima-se que 4 a 7% dos exames parasitológicos de fezes realizados em laboratórios especializados sejam

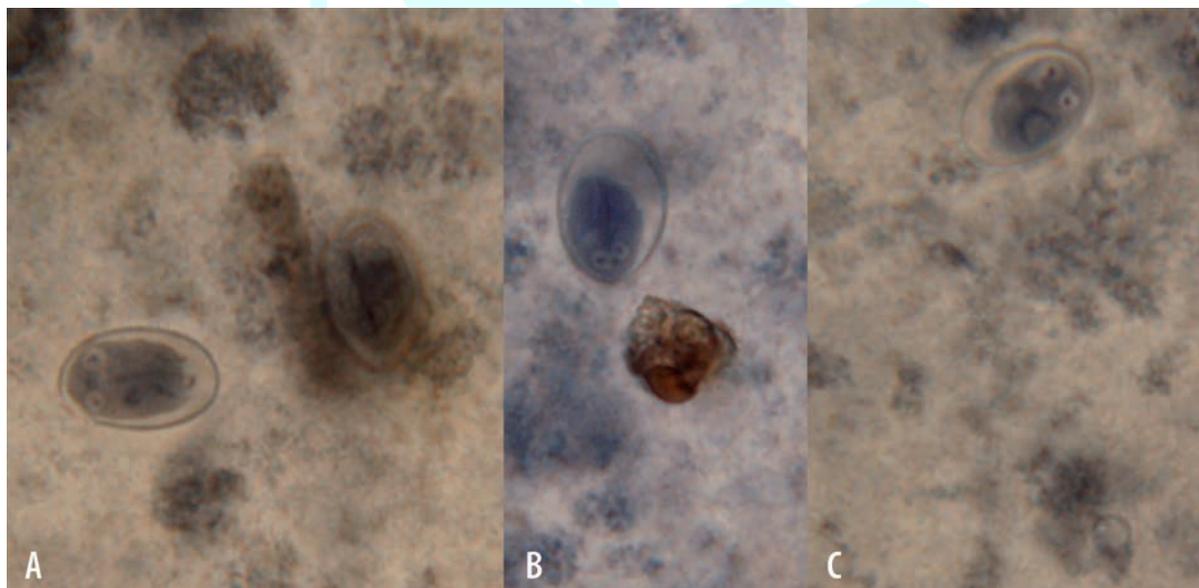


Figura 6.7 A a C. Cistos de *Giardia duodenalis* em amostras de fezes. Preparações coradas com hematoxilina férrica. (Fotografias cedidas por Marcelo Urbano Ferreira.)

positivos para *Giardia duodenalis*. No Brasil, observa-se uma tendência de queda pronunciada da prevalência de helmintos intestinais entre crianças, especialmente de área urbana, ao longo das três últimas décadas, tornando *G. duodenalis* o parasito intestinal mais comum em diversas populações (Muniz *et al.*, 2002). As cargas parasitárias são distribuídas de modo heterogêneo em populações de hospedeiros; a maioria dos indivíduos não está infectada ou excreta pequenas quantidades de cistos, compatíveis com uma baixa carga parasitária. Poucos excretam quantidades de cistos sugestivas de grandes cargas parasitárias (Figura 6.8).

O uso de métodos bioquímicos e moleculares para a caracterização de isolados de *G. duodenalis* possibilitou esclarecer o papel de reservatórios animais como fonte potencial de infecção humana. Existem variantes eurixenas de *G. duodenalis*, reunidas nos grupos genéticos (*assemblages*) A e B, que circulam entre seres humanos e diversos outros mamíferos, enquanto outras variantes são estenoxenas, confinadas a espécies individuais de hospedeiros, como cães (agrupamentos C e D), gatos (agrupamento F), bovinos, suínos e equinos (agrupamento E) e roedores (agrupamento G). Um dos principais obstáculos para o controle da giardíase humana reside em seu potencial zoonótico. A importância relativa do reservatório animal na infecção humana varia em diferentes contextos epidemiológicos. Em um surto de giardíase de veiculação hídrica no Canadá, por exemplo, a aplicação de métodos bioquímicos permitiu incriminar esquilos como a fonte de infecção (Isaac-Renton *et al.*, 1993). Em áreas urbanas da Austrália, proporções semelhantes de cães são infectados com variantes de *G. duodenalis* com potencial zoonótico (agrupamentos A e B) e variantes exclusivamente caninas, sugerindo a possibilidade de transmissão de *G. duodenalis* entre animais de estimação e o homem (Thompson, 2000). Existe uma vacina comercialmente disponível para a prevenção da giardíase canina (Olson *et al.*, 2000).

A água é reconhecida como importante veículo para a transmissão da giardíase. É também importante mencionar o papel de alimentos contaminados por manipuladores e dos insetos atuando como vetores mecânicos para o transporte de cistos. Os contatos pessoa a pessoa também são relevantes na

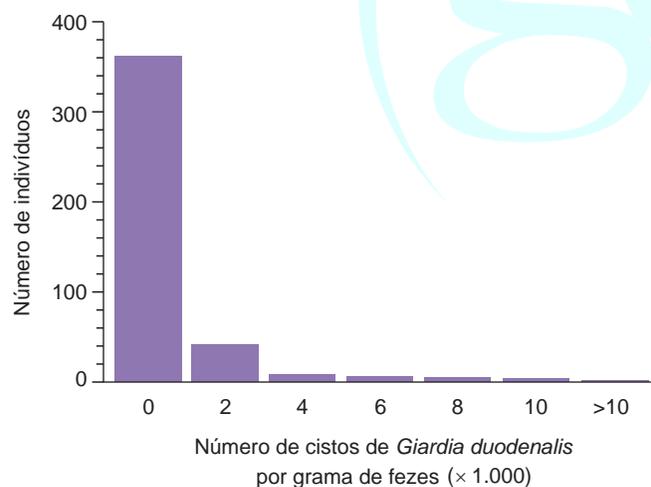


Figura 6.8 Distribuição de indivíduos segundo número de cistos de *Giardia duodenalis* eliminados nas fezes em duas populações brasileiras. As contagens de cistos foram expressas como número de cistos por grama de fezes. Pouco mais de 1% dos hospedeiros excretam mais de 6.000 cistos por grama de fezes, contagem sugestiva de alta carga parasitária. (Dados de Ishida, M. M. I. *A coproscopia no diagnóstico da giardíase*. Dissertação de Mestrado, Universidade de São Paulo. São Paulo, 1995, p. 47.)

transmissão, especialmente em instituições como creches e asilos. A transmissão pessoa-pessoa não se restringe necessariamente a situações em que as condições sanitárias são precárias. Explica-se assim, em parte, a persistência da giardíase em comunidades com acesso adequado a água encanada e esgoto tratado, mesmo quando os demais parasitos intestinais se tornam raros.

► *Balantidium coli*

Dois outros protozoários intestinais patogênicos são ocasionalmente encontrados em infecções humanas: *Balantidium coli* e *Blastocystis hominis*. Ambos os agentes são membros do supergrupo Chromoalveolata; o ciliado *Balantidium coli* pertence ao subgrupo Ciliophora do grupo Alveolata, enquanto o gênero *Blastocystis* pertence ao subgrupo Opalinata do grupo Stramenopiles (Adl *et al.*, 2005).

A infecção humana pelo ciliado *B. coli*, também encontrado em vários mamíferos, especialmente em suínos, é raramente relatada no Brasil. Pode haver subdiagnóstico, pois os cistos desse protozoário são raramente encontrados nas fezes humanas e, portanto, o diagnóstico laboratorial requer o exame de fezes frescas em busca de trofozoítos. Os seres humanos adquirem a infecção ingerindo cistos existentes em verduras ou água contaminada com excrementos de suínos e potencialmente de diversos outros animais (roedores, primatas não humanos e eventualmente cães e gatos) que albergam protozoários morfológicamente semelhantes a *B. coli* (Figura 6.9). *Balantidium suis*, por exemplo, um parasito comum em suínos, tem características morfológicas muito semelhantes a *B. coli* e a outros parasitos de animais, colocando em dúvida a existência de inúmeras espécies distintas de *Balantidium*. Os trofozoítos ovais são recobertos de cílios (Figura 6.9), medindo geralmente 30 a 150 μm em seu maior diâmetro. Contêm dois núcleos: um macronúcleo extremamente grande, em forma de feijão ou de rim, e um micronúcleo arredondado, bem pequeno. Os trofozoítos são liberados no intestino delgado e colonizam o intestino grosso, onde se multiplicam e finalmente se encistam. Embora habitem um ambiente muito pobre em oxigênio, os trofozoítos apresentam estruturas semelhantes a mitocôndrias, ainda que sem cristas ou túbulos, que podem ser hidrogenossomos; não têm, entretanto, um complexo de Golgi típico (Schuster & Ramírez-Ávila, 2008). Os cistos, esféricos ou ligeiramente ovalados, medem geralmente 40 a 60 μm em seu maior diâmetro. Tanto trofozoítos quanto cistos são eliminados nas fezes de indivíduos infectados, sendo, portanto, estágios diagnósticos. Entretanto, somente os cistos, geralmente presentes em fezes formadas, são infectantes para os próximos hospedeiros. Esses estágios são sensíveis ao hipoclorito de sódio na concentração de 1%.

Embora a maioria das infecções humanas por *B. coli* seja assintomática, em alguns pacientes observam-se diarreia intermitente, dor abdominal e perda de peso ou, mais raramente, uma diarreia aguda com a eliminação de fezes com sangue e muco. Nesses casos, pode haver ulceração e perfuração intestinal com disseminação do parasito, por via hematogênica, para o fígado e pulmões. O aspecto das lesões intestinais, ao exame retossigmoidoscópico, lembra o encontrado na amebíase. As infecções tendem a ser mais graves em indivíduos imunocomprometidos, por exemplo em portadores da infecção pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV). O diagnóstico

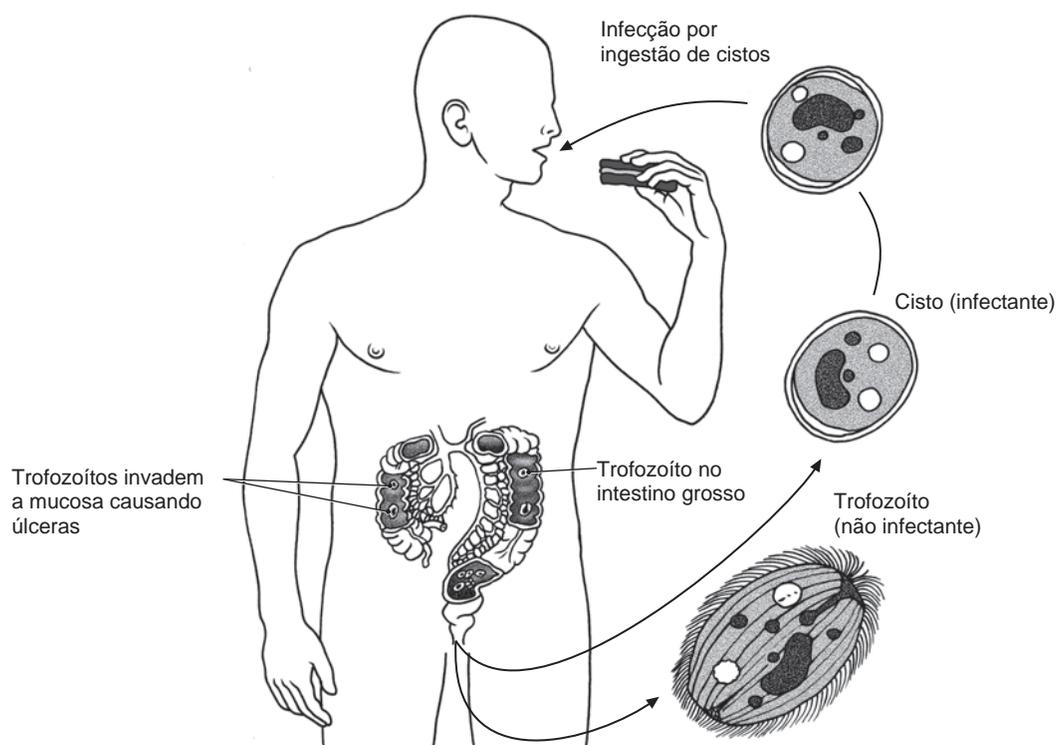


Figura 6.9 Ciclo vital de *Balantidium coli* e características morfológicas de seus trofozoítos e cistos. Observe que os trofozoítos eliminados nas fezes diarréicas não são infectantes.

laboratorial é feito mediante o exame parasitológico de fezes, com o achado de trofozoítos e, mais raramente, de cistos, corados com solução de Lugol, hematoxilina férrica ou tricrômico. Sugere-se a coleta de amostras seriadas de fezes, pois a eliminação de cistos e trofozoítos pode ser intermitente.

Trata-se a balantídiase com tetraciclina (30 a 50 mg/kg/dia divididos em três doses [500 mg 3 vezes/dia em adultos], durante 10 dias. Em gestantes e crianças com idade inferior a 8 anos, em que a tetraciclina é contraindicada, pode-se usar metronidazol (20 a 50 mg/kg/dia [dose máxima, 2 g] divididos em três doses) durante 5 a 7 dias. Outras alternativas terapêuticas são a paromomicina, a nitazoxanida e o iodoquinol.

► *Blastocystis hominis*

Blastocystis hominis, originalmente descrito por Emile Brumpt em 1912, é um microrganismo cuja patogenicidade é controversa. Embora a infecção humana por *B. hominis* seja extremamente comum, os trofozoítos desse agente são lisados quando colocados em contato com a água e outras soluções empregadas nos métodos de concentração mais comuns. Portanto, os trofozoítos de *Blastocystis* somente são encontrados ao exame direto, sem concentração, de amostras de fezes coradas com a hematoxilina férrica, o tricrômico ou a tionina; os cistos podem ser encontrados no exame direto ou em amostras concentradas com solução de ácido isopícnico. Os trofozoítos são extremamente pleomórficos, com diferentes estágios (ameboides, avacuolares, vacuolares, multivacuolares e granulares) variando em tamanho entre 2 e 200 μm (Stenvold *et al.*, 2008). Os cistos, descritos detalhadamente

somente nos últimos 20 anos, têm de 1 a 4 núcleos e medem de 3 a 10 μm de diâmetro. Estima-se que somente um quinto dos indivíduos infectados excretem cistos. Todos esses fatores sugerem que a maior parte das infecções deixa de ser diagnosticada com os exames parasitológicos de rotina.

A posição taxonômica de *Blastocystis* é incerta (Tan *et al.*, 2008). Na classificação mais recente, situam-se entre os protozoários do supergrupo Chromoalveolata, que apresentam uma organela semelhante ao cloroplasto adquirida de um endossimbionte. Como ocorre com *G. duodenalis*, os isolados de *B. hominis* encontrados em infecções humanas apresentam grande diversidade genética, sendo classificados em nove subtipos que podem corresponder a espécies distintas com diferentes reservatórios animais. Diferentes subtipos predominam em populações humanas de diferentes países. Organismos semelhantes a *Blastocystis* são encontrados em diversos primatas não humanos, roedores, pássaros, répteis, anfíbios e insetos. A infecção humana ocorre mediante a ingestão de cistos (geralmente binucleados). Após o excistamento, os trofozoítos vacuolares colonizam o intestino grosso, dividem-se por fissão binária e podem dar origem a formas granulares ou ameboides. A presença de reprodução assexuada por esquizogonia, frequentemente mencionada em textos didáticos, não está comprovada (Tan, 2008).

Não se sabe como classificar *B. hominis* quanto à patogenicidade; há quem o considere um parasito ou um comensal que habita o cólon humano sem produzir lesão significativa. Embora muitos indivíduos infectados apresentem diarreia, náuseas e vômitos, dor abdominal, flatulência ou anorexia, é difícil se estabelecer onexo causal entre a infecção e os sintomas diante da possibilidade de coinfeção com outros patógenos gastrintestinais, também adquiridos por via orofecal. Além disso, a infecção é mais comum, em diversas populações estuda-

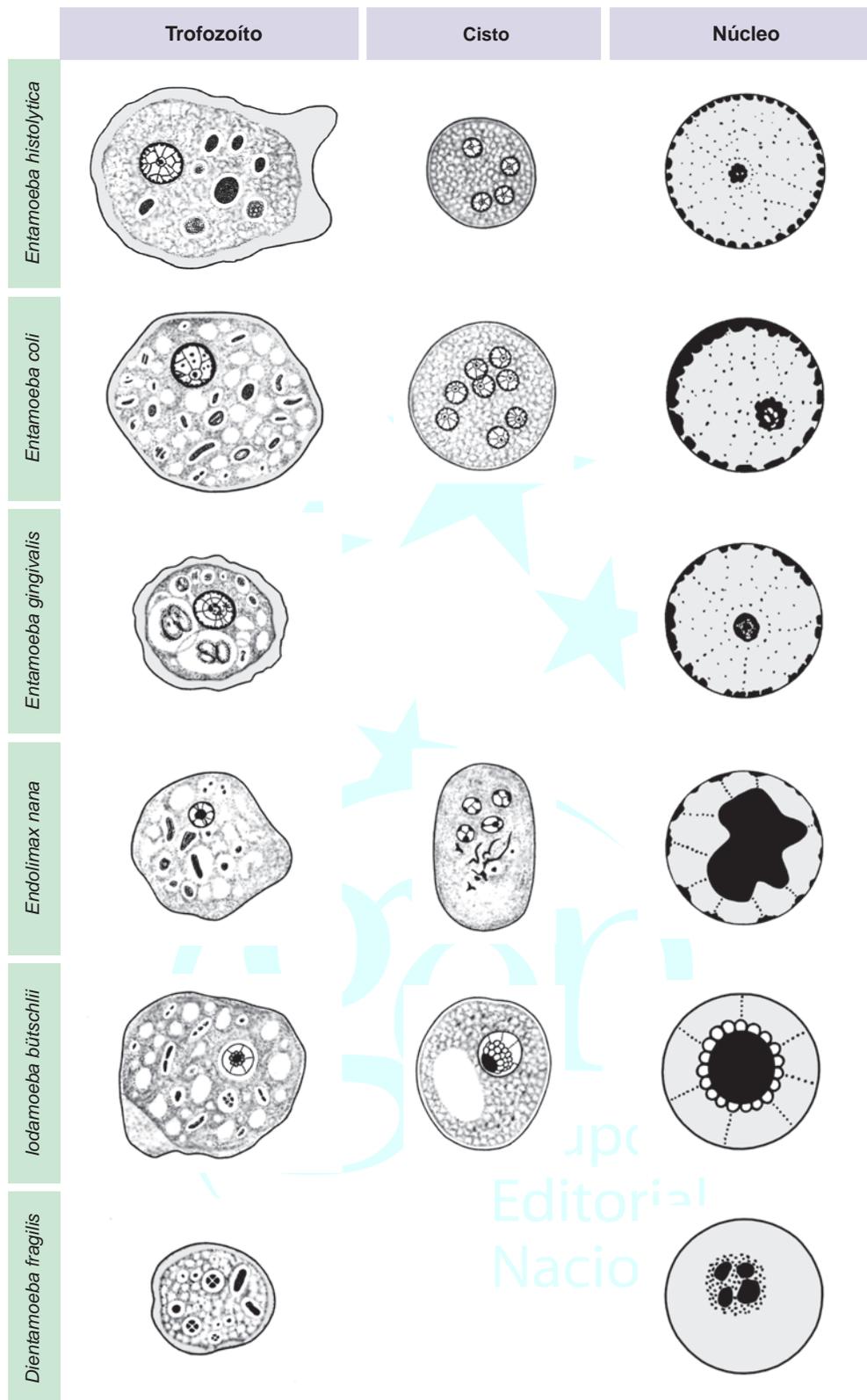


Figura 6.10 Representação esquemática das características morfológicas dos trofozoítos e cistos das amebas que habitam o trato digestivo humano e representação esquemática dos núcleos. Com exceção de *E. gingivalis*, encontrada na cavidade oral, todas as demais espécies habitam o intestino grosso. Observe que os trofozoítos de *E. histolytica*/*E. dispar* apresentam nítida separação entre ectoplasma e endoplasma e podem ter hemácias semidigeridas em seu citoplasma. O núcleo dos trofozoítos e cistos (até quatro núcleos nos cistos maduros) apresentam cariossoma central e cromatina periférica delicada. O comensal *E. coli*, frequentemente encontrado em fezes humanas, apresenta trofozoítos sem separação nítida entre ectoplasma e endoplasma e sem hemácias (mas com grande quantidade de bactérias) nos vacúolos digestivos de seu citoplasma. Os núcleos apresentam cariossoma excêntrico e cromatina periférica mais grosseira e heterogeneamente distribuída. Os cistos maduros de *E. coli* apresentam oito núcleos. *Dientamoeba fragilis*, representada na figura, é atualmente considerada um flagelado. *E. hartmanni*, que não é representada na figura, apresenta essencialmente as mesmas características morfológicas de *E. histolytica*/*E. dispar*, mas distingue-se pelo menor tamanho. Seus cistos raramente chegam a 10 μm de diâmetro (média: 6 a 7 μm).

das, em indivíduos completamente assintomáticos. Entretanto, indivíduos imunocomprometidos, quando infectados, parecem mais suscetíveis à doença. É possível que os parasitos de diferentes genótipos difiram quando à virulência, mas os dados disponíveis não são conclusivos a este respeito. A critério médico, as infecções humanas podem ser tratadas com metronidazol, nas mesmas doses sugeridas para o tratamento da amebíase.

▶ Outros protozoários que habitam o trato digestivo humano

Existem protozoários que, embora considerados não patogênicos, podem ser encontrados no trato digestivo humano:

- *Entamoeba coli*
- *Entamoeba hartmanni*
- *Entamoeba gingivalis*
- *Iodamoeba bütschlii*
- *Endolimax nana*

- *Dientamoeba fragilis*
- *Chilomastix mesnili*
- *Pentatrichomonas hominis*
- *Retortamonas intestinalis*
- *Enteromonas hominis*

Seriam, então, de acordo com alguns conceitos, comensais, pois dependem do intestino humano para sua sobrevivência. Os quatro primeiros são amebídeos e os cinco últimos, flagelados. *Retortamonas intestinalis* e *Enteromonas hominis* são de encontro raro. Existem relatos de casos de diarreia por *Dientamoeba fragilis*, mas estes são episódios autolimitados. Os indivíduos que albergam estes protozoários não devem ser tratados, mas estão potencialmente expostos à transmissão orofecal de agentes patogênicos. A Figura 6.10 ilustra características morfológicas dos trofozoítos e dos cistos de cinco amebas comensais encontradas no trato digestivo humano, comparando-as com *E. histolytica/E. dispar*. A Figura 6.11 ilustra a morfologia de *E. coli* e *I. bütschlii*. As características morfológicas de alguns flagelados comensais do trato digestivo humano estão representadas na Figura 6.5.

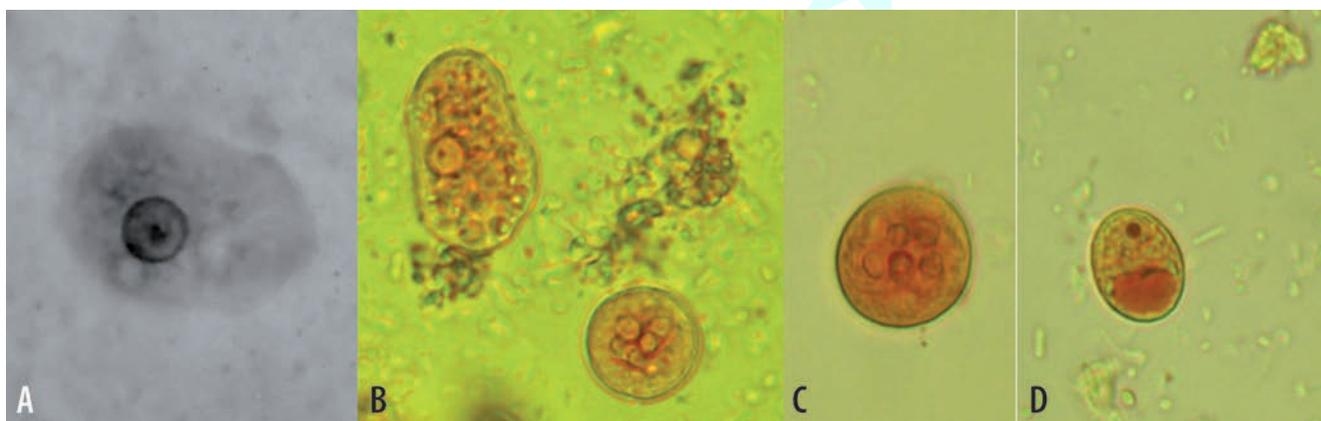


Figura 6.11 Características morfológicas de amebas comensais do trato digestivo humano. **A.** Trofozoíto de *Entamoeba coli* (coloração: hematoxilina férrica); **B.** trofozoíto e cisto multinucleado de *Entamoeba coli* (coloração: solução de Lugol); **C.** cisto multinucleado de *Entamoeba coli* (coloração: solução de Lugol); **D.** cisto de *Iodamoeba bütschlii* (coloração: solução de Lugol). (Fotografias cedidas por Cláudio Santos Ferreira.)

Parasitologia em foco

Variação antigênica em *Giardia*

Variação antigênica é o mecanismo pelo qual uma linhagem clonal de microrganismos expressa sucessivamente formas alternativas de um antígeno sem alterações de genótipo. É um fenômeno bem conhecido em plasmódios e em tripanossomas africanos.

Em *Giardia*, as primeiras evidências de variação antigênica foram obtidas *in vitro* em experimentos realizados em meados da década de 1980. Linhagens de *G. duodenalis* mantidas em cultivo axênico variavam, ao longo do tempo, os determinantes antigênicos expressos na superfície dos trofozoítos, abolindo seu reconhecimento por alguns anticorpos monoclonais (Nash & Aggarwal, 1986). A

variação antigênica foi interpretada como um mecanismo adaptativo que permite ao parasito a flexibilidade fenotípica necessária para sobreviver em um ambiente hostil como o intestino delgado, para infectar diferentes hospedeiros e para escapar da resposta imune desenvolvida por esses hospedeiros. Pouco depois, demonstrou-se a ocorrência de variação antigênica em infecções experimentais humanas (Nash *et al.*, 1990).

As proteínas de superfície de *Giardia* que sofrem variação antigênica são conhecidas como *variant surface proteins* (proteínas variantes de superfície), ou VSP. Trata-se de uma família de proteínas altamente imunogênicas, glicosiladas e ricas em cisteína, com massa molecular entre 20 e 200 kDa. O genoma de *G. duodenalis* contém 165 sequências de nucleotídeos correspondentes a

proteínas ricas em cisteínas com todas as características de VSP. Entretanto, apenas uma variante é expressa na superfície de cada trofozoíto, sugerindo a existência de um mecanismo muito eficiente de controle da variação antigênica nesse parasito.

O mecanismo molecular de controle da expressão de VSP, elucidado em 2008, envolve moléculas análogas ao RNA de interferência que atuam após a transcrição dos genes (Prucca & Lujan, 2009). Diversas VSP são transcritas nos núcleos de um trofozoíto e transportadas para o citoplasma. Esses transcritos são reconhecidos por uma RNA polimerase dependente de RNA que somente é ativa quando mais de um transcrito de VSP está presente. Essa enzima cataliza a síntese de transcritos complementares, com pareamento de fitas e a formação de complexos de RNA de dupla fita. Esses complexos são alvos de RNA endonucleases que reconhecem RNA de dupla fita, com a produção de pequenas moléculas de RNA resultantes da clivagem do RNA mensageiro transcrito, mas não traduzido, de VSP. Essas pequenas moléculas, análogas ao RNA de interferência que controla a expressão de genes em geral, ligam-se especificamente a alguns transcritos de VSP e impedem sua tradução.

A única VSP transcrita é aquela para a qual não existem transcritos complementares e, conseqüentemente, não foram produzidas moléculas de RNA de interferência. Entretanto, ainda não se sabe como um único transcrito é capaz de escapar do mecanismo de silenciamento de tradução; uma hipótese a ser investigada é a de que a probabilidade de um transcrito específico de VSP a ser traduzido depende de sua abundância relativa. O fenômeno de variação antigênica também ocorre *in vitro*, sem pressão exercida pelo sistema imune do hospedeiro, mas não se conhecem os sinais que desencadeiam a troca periódica de VSP a ser expressa.

Bibliografia

- Nash, T.E. & Aggarwal, A. 1986. Cytotoxicity of monoclonal antibodies to a subset of *Giardia* isolates. *Journal of Immunology* 136: 2628-32.
- Nash, T.E., Herrington, D.A., Levine, M.M., Conrad, J.T. & Merritt, J.W. 1990. Antigenic variation of *Giardia lamblia* in experimental human infections. *Journal of Immunology* 144: 4362-9.
- Prucca, C.G. & Lujan, H.D. 2008. Antigenic variation in *Giardia lamblia*. *Cellular Microbiology* 11: 1706-15.

Bibliografia

- Adl, S.M., Simpson, A.G., Farmer, M.A. *et al.* 2005. The new higher level classification of eukaryotes with emphasis on the taxonomy of protists. *Journal of Eukaryotic Microbiology* 52: 399-451.
- Buret, A.G. Mechanisms of epithelial dysfunction in giardiasis. *Gut* 56: 316-7.
- Diamond, L.S. & Clark, C.G. 1993. A redescription of *Entamoeba histolytica* Schaudinn, 1903 (emended Walker, 1911) separating it from *Entamoeba dispar* Brumpt, 1925. *Journal of Eukaryotic Microbiology* 40: 340-4.
- Filici, F.P. 1952. Studies on the cytology and life story of a *Giardia* from the laboratory rat. *University of California Publications in Zoology* 57: 53-146.
- Fotedar, R., Stark, D., Beebe, N. *et al.* 2007. Laboratory diagnostic techniques for *Entamoeba* species. *Clinical Microbiology Reviews* 20: 511-32.
- Gardner, T.B. & Hill, D.R. Treatment of giardiasis. 2001. *Clinical Microbiology Reviews* 14: 114-28.
- Gonzales, M.L.M., Dans, L.F. & Martinez, E.G. 2009. Antiamoebic drugs for treating amoebic colitis. *Cochrane Database of Systematic Reviews* 2: CD006085.
- Isaac-Renton, J., Cordeiro, C., Sarafis, K. & Shahriari, H. 1993. Characterization of *Giardia duodenalis* isolates from a waterborne outbreak. *Journal of Infectious Diseases* 167: 431-40.
- Mai, Z., Ghosh, S., Frisardi, M. *et al.* 1999. Hsp60 is targeted to a cryptic mitochondrion-derived organelle ('crypton') in the microaerophilic protozoan parasite *Entamoeba histolytica*. *Molecular and Cell Biology* 19: 2198-205.
- Monis, P.T., Caccio, S.M. & Thompson, R.C.A. 2009. Variation in *Giardia*: towards a taxonomic revision of the genus. *Trends in Parasitology* 25: 93-100.
- Morrison, H.G., McArthur, A.G., Gillin, F.D. *et al.* 2007. Genomic minimalism in the early diverging intestinal parasite *Giardia lamblia*. *Science* 317: 1921-6.
- Muniz, P.T., Ferreira, M.U., Ferreira, C.S. *et al.* 2002. Intestinal parasitic infections in young children in São Paulo, Brazil: prevalences, temporal trends and associations with physical growth. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology* 96: 503-12.
- Olson, M.E., Ceri, H. & Morck, D.W. 2000. *Giardia* vaccination. *Parasitology Today* 16: 213-7.
- Roxtröm-Lindquist, K., Palm, D., Reiner, D. *et al.* 2006. *Giardia* immunity – an update. *Trends in Parasitology* 22: 26-31.
- Sargeant, P.G., Williams, J.E. & Greene, J.D. 1978. The differentiation of invasive and non-invasive *Entamoeba histolytica* by isoenzyme electrophoresis. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 72: 519-21.
- Schuster, F.L. & Ramirez-Ávila, L. 2008. Current world status of *Balantidium coli*. *Clinical Microbiology Reviews* 21: 626-38.
- Ralston, K. S. & Petri Jr., W.A. 2011. Tissue destruction and invasion by *Entamoeba histolytica*. *Trends in Parasitology* 27: 253-62.
- Stanley Jr., S.L. 2006. Vaccines for amoebiasis: Barriers and opportunities. *Parasitology* 133: S81-S86.
- Stensvold, C.R., Nielsen, H.V., Molbak, K. & Smith, H.V. 2009. Pursuing the clinical significance of *Blastocystis* – diagnostic limitations. *Trends in Parasitology* 25: 23-9.
- Tan, K.S.W. New insights on classification, identification, and clinical relevance of *Blastocystis* spp. *Clinical Microbiology Reviews* 21: 639-65.
- Thompson, R.C.A. 2000. Giardiasis as a re-emerging infectious disease and its zoonotic potential. *International Journal for Parasitology* 30: 1259-67.
- Tovar, J., Fischer, A. & Clark, C.G. 1999. The mitosome, a novel organelle related to mitochondria in the amitochondrial parasite *Entamoeba histolytica*. *Molecular Microbiology* 32: 1013-21.
- Tovar, J., León-Ávila, G., Sánchez, L.B. *et al.* 2003. Mitochondrial remnant organelles of *Giardia* function in iron-sulphur protein maturation. *Nature* 426: 172-6.
- Troeger, H., Eppe, H.J., Schneider, T. *et al.* 2007. Effect of chronic *Giardia lamblia* infection on epithelial transport and barrier function in human duodenum. *Gut* 56: 328-35.

Leitura sugerida

- Ackers, J.P. & Mirelman, D. 2006. Progress in research on *Entamoeba histolytica* pathogenesis. *Current Opinion in Microbiology* 9: 367-73.
- Monis, P.T., Caccio, S.M. & Thompson, R.C.A. 2009. Variation in *Giardia*: towards a taxonomic revision of the genus. *Trends in Parasitology* 25: 93-100.

