

IMTSP

Protozoários Intestinais

IMT 2001

Dra. Luciana R. Meireles J. Ekman
Laboratório de Protozoologia
lrmeirel@usp.br



Introdução

PROTOZOÁRIOS (REINO PROTISTA)

FILO SARCOMASTIGOPHORA

(Locomoção por pseudópodes ou flagelos)

- Subfilo *Sarcodina* – *Entamoeba histolytica*
- Subfilo *Mastigophora* – *Giardia duodenalis*

FILO APICOMPLEXA

(Complexo apical)

- Família Eimeriidae
 - Cystoisospora belli* (*Isospora belli*)
 - Cyclospora cayetanensis*
- Família Cryptosporidiidae → *Cryptosporidium spp*
- Família Sarcocystidae
 - Toxoplasma gondii*
 - Sarcocystis spp*



Introdução

PARASITA MONOXENO

Exige apenas uma espécie de hospedeiro para completar seu ciclo biológico.

PARASITA HETEROXENO

Necessita passar obrigatoriamente por dois ou mais hospedeiros para que completar seu ciclo biológico. Um deles é o **hospedeiro definitivo** (reprodução sexuada), e os demais são considerados **hospedeiros intermediários** (reprodução assexuada).

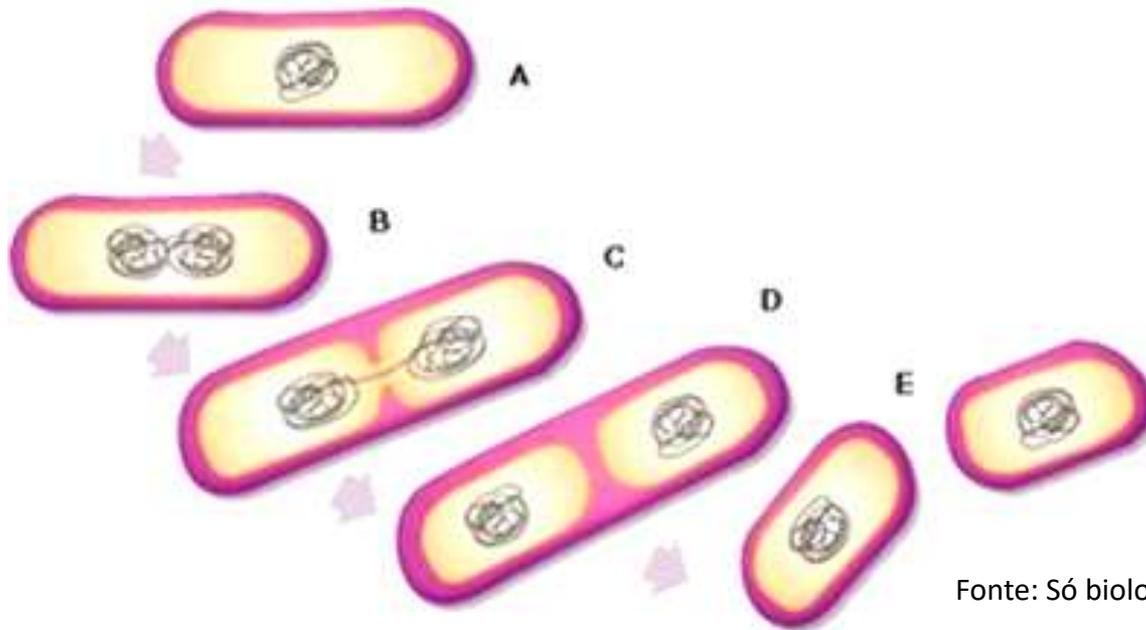
Amebíase



- Agente etiológico: *Entamoeba histolytica* (patogênica)
 - *Entamoeba dispar* (não patogênica)
 - Filo Sarcomastigophora
- Antroponose
- Protozoário monoxeno
- Ciclo de vida inclui 03 formas: **trofozoíto** → **pré-cisto** → **cisto**
 - 1) **Trofozoítos**: 10 a 60 μ m (média 25 μ m).
 - Divisão assexuada por fissão binária simples;
 - Contém 01 núcleo com **endossomo** (também conhecido como **cariossomo**) central e cromatina periférica;
 - Os trofozoítos frequentemente apresentam hemácias semi-digeridas em seu interior.

Introdução

Fissão binária ou **bipartição**: processo de reprodução assexuada dos organismos unicelulares que consiste na divisão de uma célula em duas, cada uma com o mesmo genoma da "célula-mãe".



Amebíase

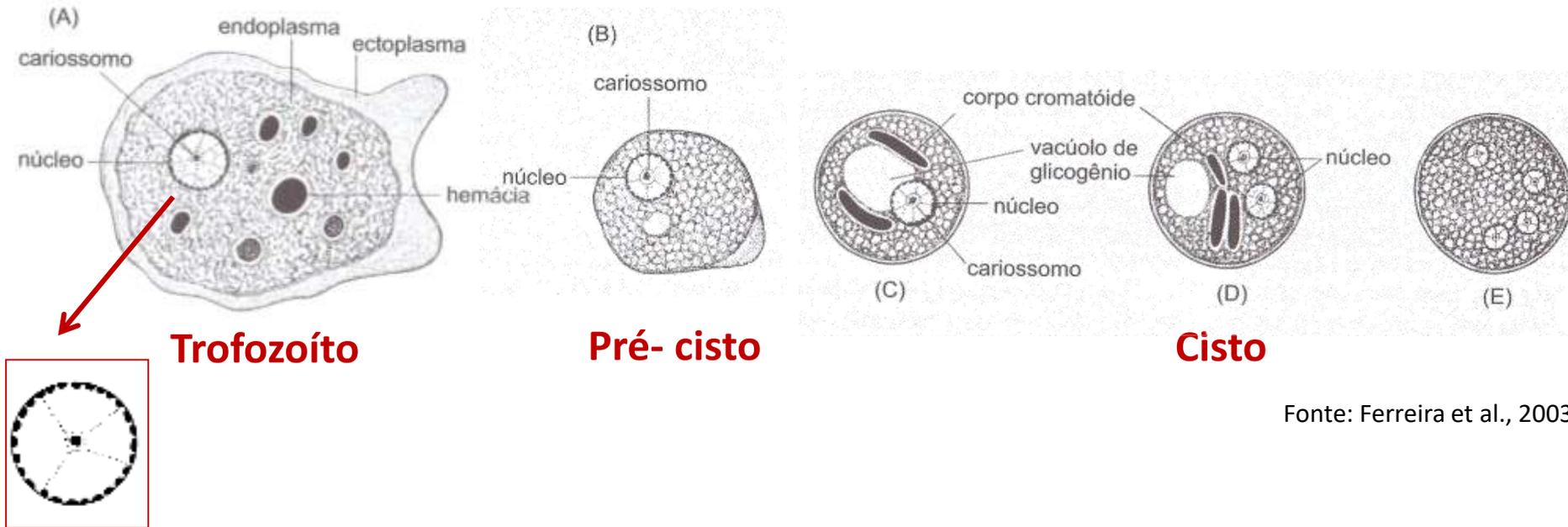


- Ciclo de vida inclui 03 formas:

- 2) **Pré-cistos:** são intermediários entre trofozoítos e cistos, com a presença de 01 núcleo.
- 3) **Cistos:** são esféricos ou ovais, com tamanho de 10 a 20 μ m (média de 12 μ m) e parede cística rígida.
 - Apresentam divisão múltipla e podem conter de 01 a 04 núcleos.
 - Cistos imaturos: apresentam 01 ou 02 núcleos e possuem uma estrutura cilíndrica conhecida como **corpo cromatóide**.

Amebíase

FORMAS EVOLUTIVAS

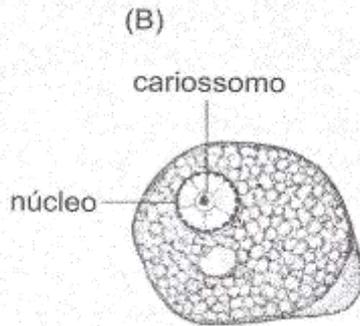


Fonte: Ferreira et al., 2003

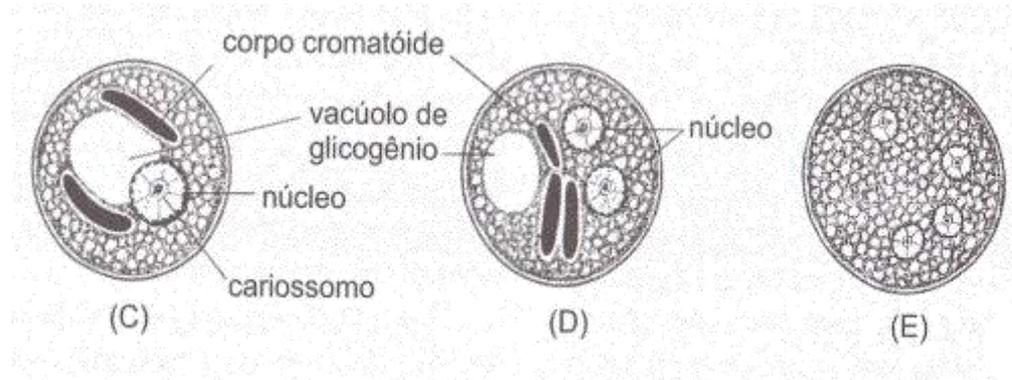
Os protozoários do gênero *Entamoeba* caracterizam-se por terem um núcleo com **cariossomo** ou **endossomo** central ou excêntrico e cromatina periférica disposta em pequenos grânulos situados na face interna da membrana.

Amebíase

FORMAS EVOLUTIVAS



Pré- cisto



Cisto

Fonte: Ferreira et al., 2003

PRÉ-CISTO: o parasita perde seus vacúolos digestivos e elabora um envoltório.

CISTO: contém depósito de polissacarídeo (“**vacúolo de glicogênio**”) e aglomerados de RNA, fortemente corados pela hematoxilina, os **corpos cromatóides**. No cisto, o núcleo divide-se 2 vezes, tornando-se tetranucleado.

Amebíase



- Habitat da *E. histolytica* e *E. dispar*: **intestino grosso**
- Uma vez ingeridos, os cistos liberam no intestino as formas **metacísticas** que se transformam em **trofozoítos** que irão colonizar o epitélio do intestino grosso.
- Trofozoítos multiplicam-se de forma assexuada por fissão binária simples.
- Nas últimas porções do intestino grosso, os trofozoítos desenvolvem uma membrana cística e são liberados com as fezes para o meio exterior.
- **Contaminam a água e os alimentos**, atingindo outros hospedeiros.
- Os cistos são as únicas formas que sobrevivem no meio ambiente.

Amebíase



- Fatores de virulência da *E. histolytica*:

- Adesão das amebas às células alvo é a primeira etapa do processo que leva à erosão do epitélio da mucosa intestinal.
- Todas as amebas apresentam uma molécula de adesão na célula-alvo denominada Gal/GalNAc (lectina de adesão passível de inibição por galactose e N-acetil-galactosamina).
- Uma vez aderidas às células do epitélio intestinal, as amebas invasivas desencadeiam um **processo de citólise** que leva à **erosão epitelial**, e é através destes locais que o parasita invade o hospedeiro.

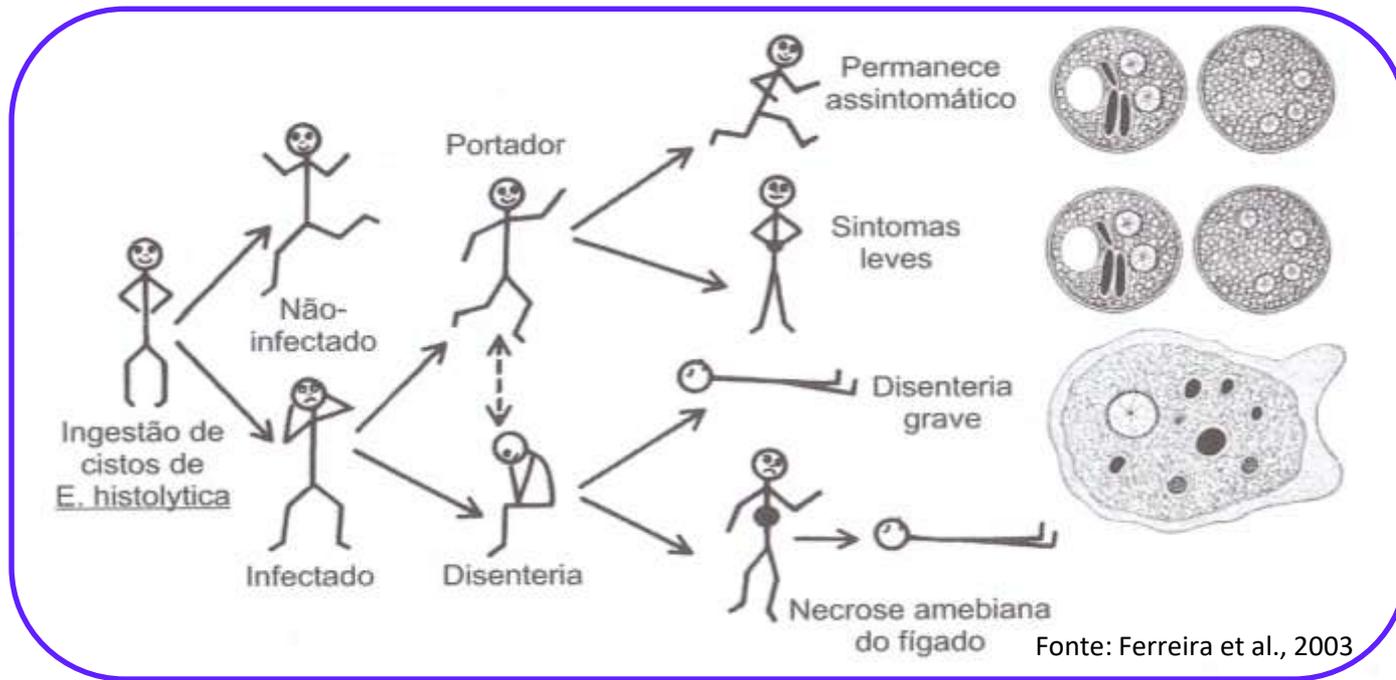
- A amebíase é a quarta causa mais frequente de morte por protozoários, situando-se depois da Malária, Doença de Chagas e Leishmanioses.

Amebíase



- As formas invasivas (**trofozoítos**) penetram no epitélio intestinal e dividem-se intensamente na submucosa e podem ser eventualmente eliminados nas fezes de pacientes com disenteria grave.
- A *Entamoeba histolytica* produz **ulcerações** intensas no epitélio intestinal:
 - Há indivíduos que podem desenvolver também **amebomas** que são lesões pseudotumorais resultantes de necrose, inflamação e edema da mucosa e submucosa do cólon.
- A *Entamoeba histolytica* pode, eventualmente, atingir outros órgãos por via hematogênica (**amebíase extra-intestinal**).
- Aspectos clínicos:
 - Amebíase intestinal;
 - Amebíase extra-intestinal (fígado, pulmão e cérebro).

AMEBÍASE INTESTINAL

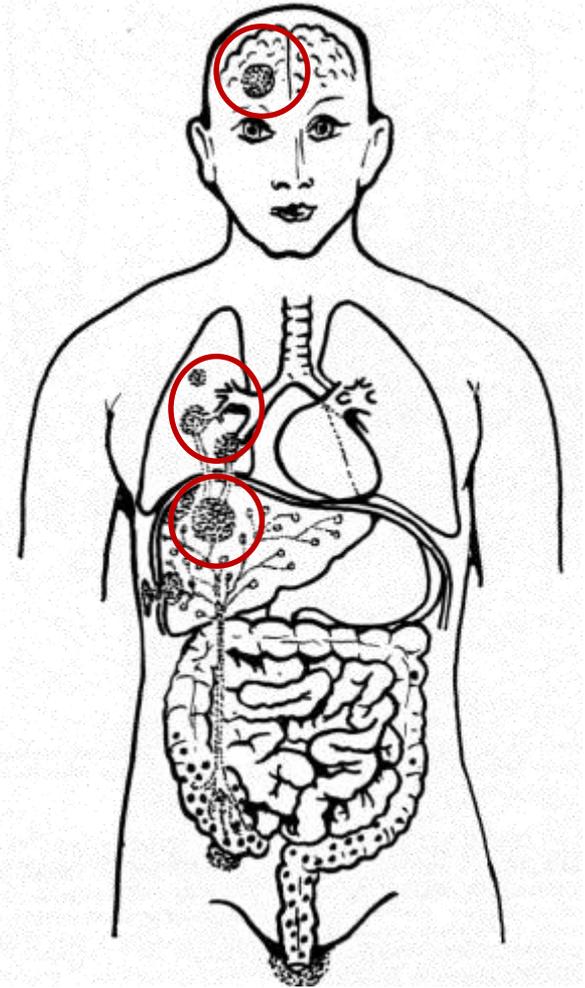


- Os indivíduos que ingerem cistos de *E. histolytica* podem infectar-se ou não. Quando infectados, podem tornar-se portadores crônicos assintomáticos ou apresentar disenteria de moderada a grave.
- As síndromes diarréicas e disentéricas correspondem a 90% dos casos de amebíase intestinal invasiva. Os pacientes apresentam geralmente 03 a 05 evacuações mucossanguinolentas por dia, sem febre. Ocorre dor moderada em cólica precedendo as evacuações.
- Alguns indivíduos podem apresentar colite fulminante de evolução rápida, com 30 ou mais evacuações diárias acompanhadas de cólicas intensas.

Amebíase

• Amebíase extra-intestinal

- Outros órgãos, como o fígado, podem ser afetados secundariamente por *E. histolytica*.
- O fígado é atingido através da disseminação sistêmica das amebas que ocasionam o chamado **abscesso amebiano** de fígado ou **necrose amebiana** de fígado.
- Por contiguidade, o pulmão direito, em geral, é atingido, através do diafragma, a partir de lesões hepáticas.
- As lesões pulmonares também apresentam aspecto necrótico e podem ser múltiplas.
- Em casos graves, relativamente raros, o cérebro também pode apresentar focos necróticos.



Amebíase

Diagnóstico laboratorial

- Baseia-se na pesquisa de formas parasitárias (cistos ou trofozoítos) em amostras de fezes examinadas ao microscópio.

- Quando se encontram somente cistos nas fezes de indivíduos assintomáticos ou com diarreia, as amostras devem ser referidas como positivas para *E.histolytica/E.dispar*.

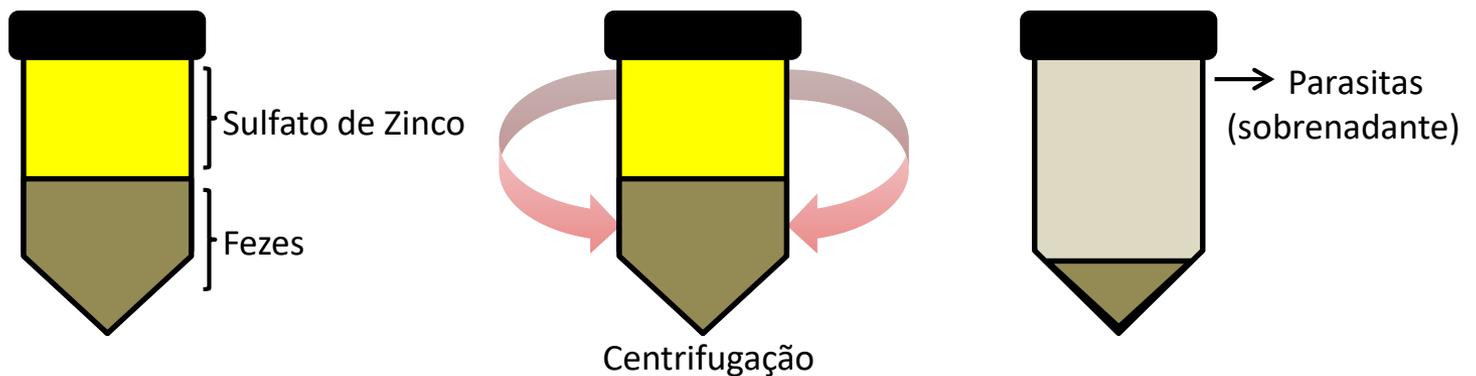
- Existem várias técnicas de concentração de cistos de protozoários de uso rotineiro em laboratórios de Parasitologia. Estes métodos visam separar os cistos dos detritos presentes nas fezes.



Amebíase

Diagnóstico laboratorial

- A técnica mais comum, descrita por Faust e colaboradores, baseia-se na centrifugação de uma suspensão de fezes em solução de sulfato de zinco de densidade de 1,180.
 - Nestas condições, os cistos de protozoários e a maioria dos ovos de helmintos flutuam, enquanto que a maior parte dos detritos se deposita no sedimento.



Diagnóstico laboratorial

- Os cistos são geralmente corados com solução de **Lugol**.
- Obtém-se melhor visualização das estruturas internas dos cistos e trofozoítos, em exame direto, em amostras coradas com **hematoxilina férrica** ou **tricroômio**.
- Atualmente, existem técnicas moleculares para diferenciação de cistos de *E.histolytica* e *E.dispar*, porém são onerosas e não são utilizadas na rotina dos laboratórios clínicos.



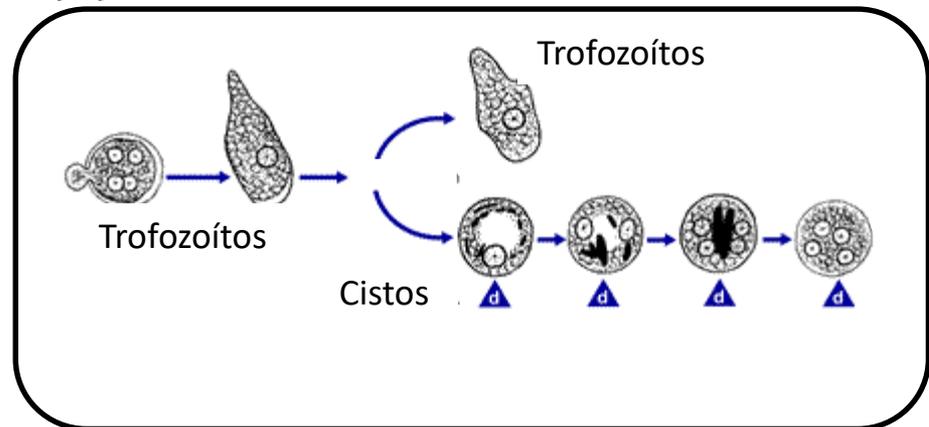
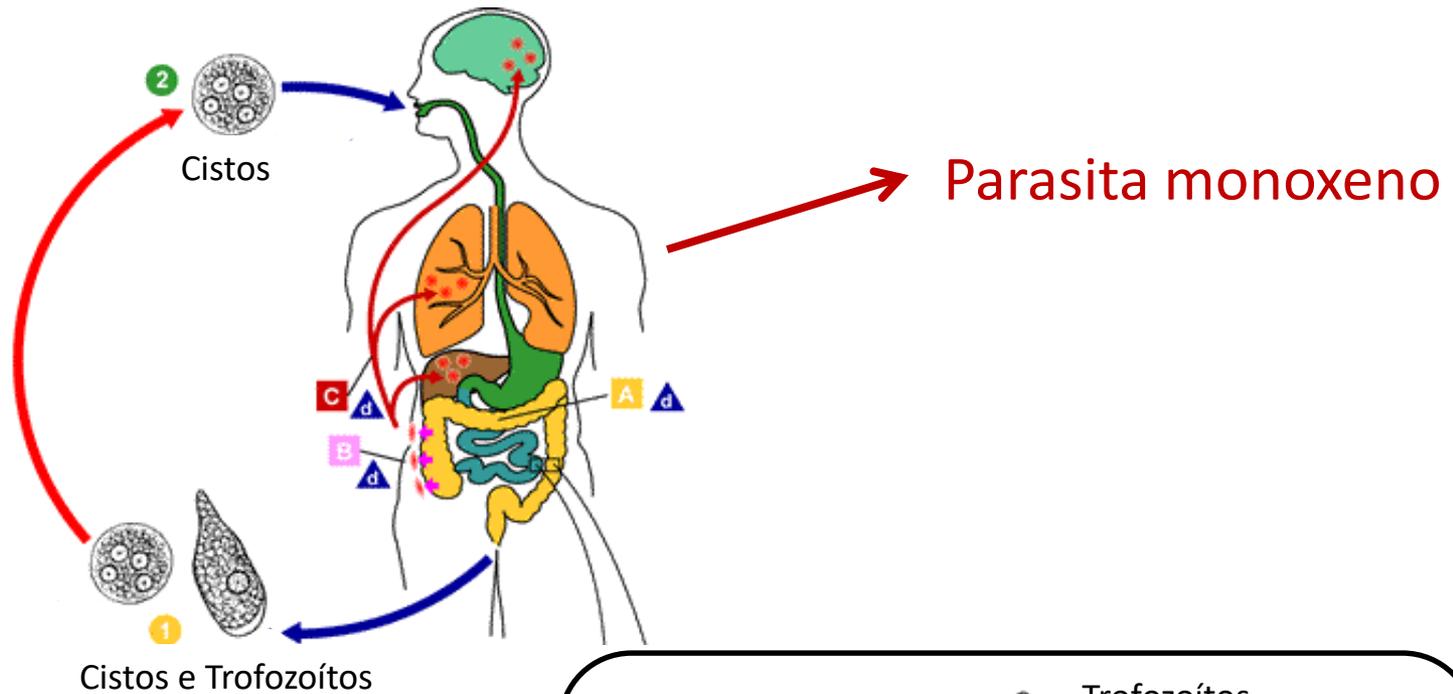
Diagnóstico laboratorial

- Testes sorológicos (ELISA): são positivos na maioria dos indivíduos com amebíase intestinal invasiva (75%) e abscesso amebiano (90%).
 - Limitações em áreas endêmicas, pois muitos indivíduos saudáveis podem apresentar anticorpos detectáveis meramente em função de infecções prévias.

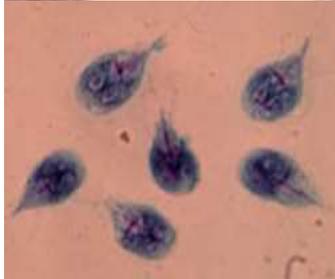
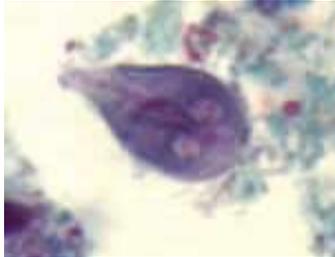


Amebíase

Transmissão



Giardíase



- *Giardia duodenalis*
- 2 sinônimos:
 - *Giardia intestinalis*
 - *Giardia lamblia*
- Filo Sarcomastigophora
- Distribuição mundial;
- Parasita intestinal mais comum em países desenvolvidos;
- Ásia, África e América Latina:
 - 200 milhões de indivíduos sintomáticos
 - 500.000 casos novos por ano



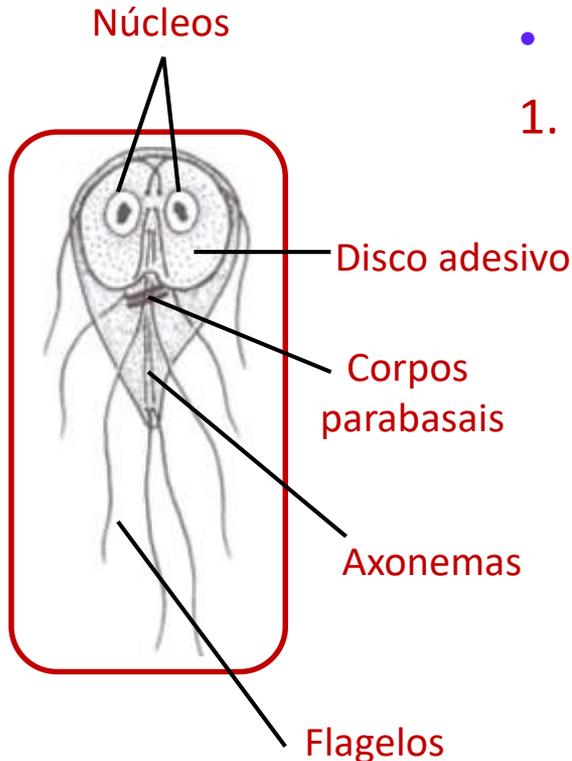
Acomete cães, gatos e bovinos

giardíase

- *G. duodenalis* é um parasito monoxeno.
- Ciclo vital inclui 02 formas:

1. Trofozoítos:

- Medem de 10 a 20 μ m, são piriformes e com simetria bilateral;
- Movimentam-se através de 04 pares de flagelos e dividem-se de modo assexuado por fissão binária.
- Contêm 02 núcleos, 02 **axonemas** (feixes de fibras longitudinais) e 02 **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.



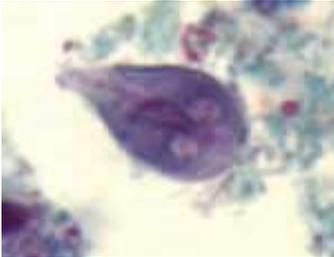
giardíase



2. Cistos:

- Os cistos são ovalados ou elipsóides e medem cerca de 12 μ m.
- São formas de resistência e suas estruturas internas são as mesmas dos trofozoítos, porém duplicadas.
- Habitat: **intestino delgado**, principalmente o duodeno e as primeiras porções do jejuno.
- O ciclo vital é semelhante ao da *Entamoeba histolytica*.

giardíase



- Infecta o homem e animais domésticos (zoonose):
 - Cães, gatos e bovinos.

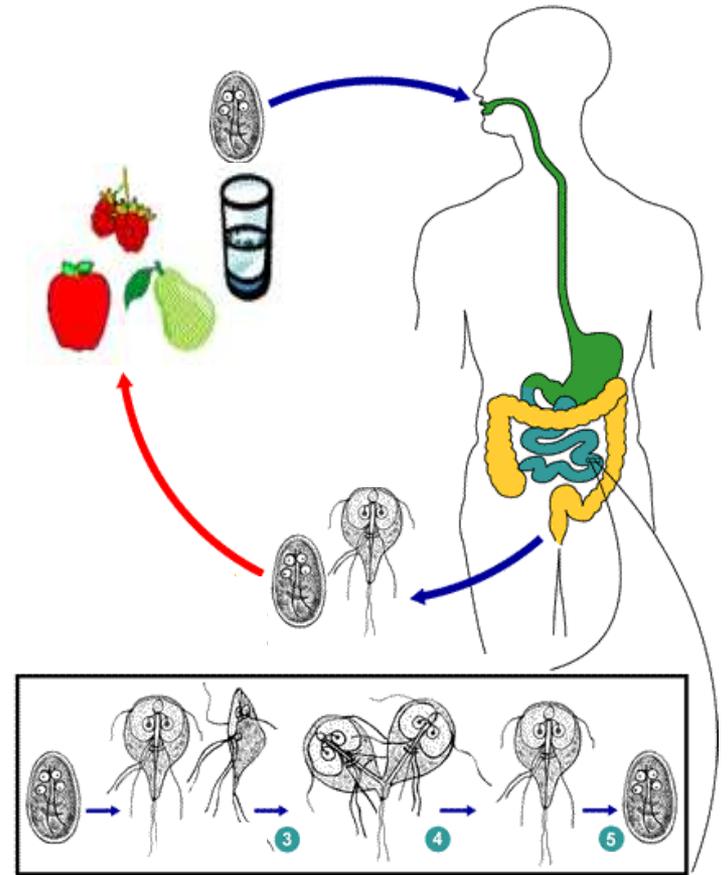
Parasitismo

- Aderem à mucosa intestinal (disco adesivo);
- Não há invasão das células;
- Barreira mecânica para absorção de alimentos;
- Adesão provoca lesões com inflamação.

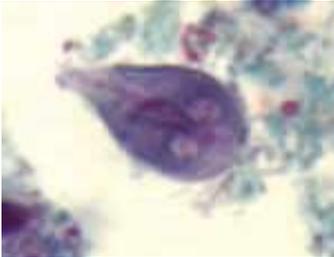
giardíase

Transmissão

- Fecal – oral;
- Ingestão de alimentos e água contaminados com cistos.



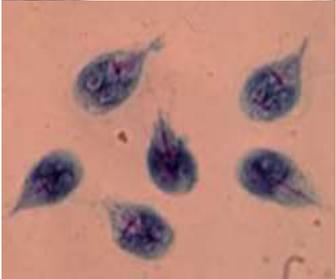
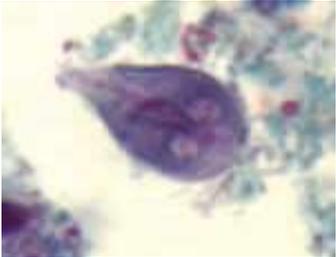
giardíase



Aspectos clínicos

- Diarréia (fezes amolecidas) com duração entre 2 a 4 semanas (autolimitada);
- Esteatorréia, desconforto abdominal, náuseas, vômitos, flatulência e perda de peso;
- 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 viajantes não-imunes, provenientes de áreas de baixa transmissão.
- Período de incubação: 1 a 4 semanas (média 7 a 10 dias).

giardíase



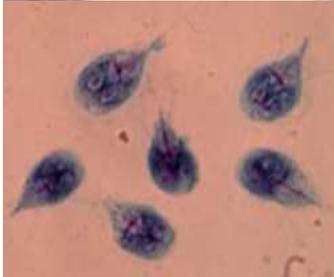
Diagnóstico

- Exame de fezes;
- Pesquisa de cistos:
 - Exame de 03 amostras colhidas em dias alternados;
 - Eliminação de cistos é intermitente.
 - Os cistos são pesquisados com o uso das mesmas técnicas utilizadas para *Entamoeba histolytica* (Método de Faust), com coloração de Lugol, tricrômio ou hematoxilina férrica.

giardíase

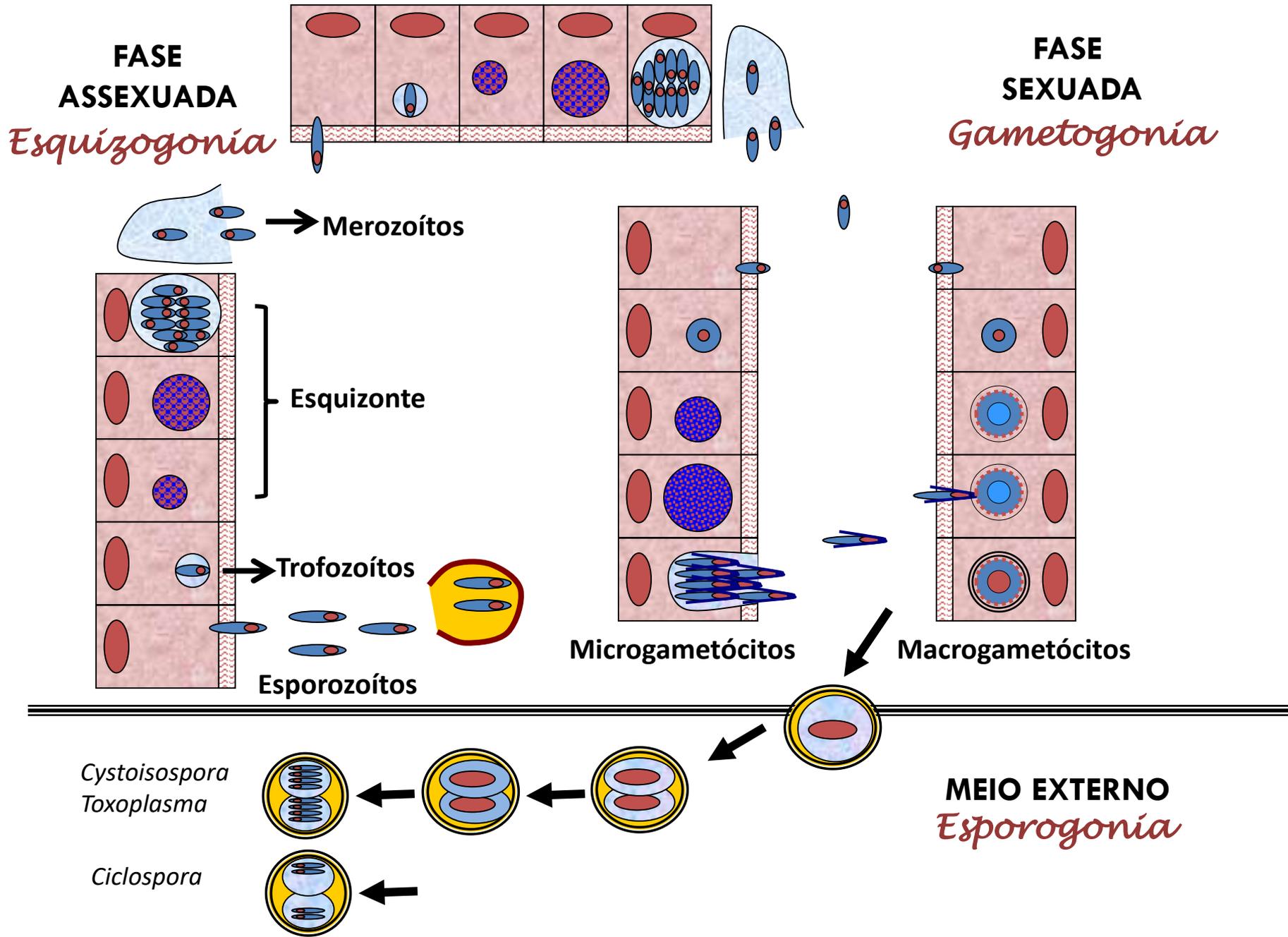
Controle

- Difícil
- Grupos A e B circulam entre seres humanos e animais.
 - Austrália: alta proporção de cães infectados com os grupos A e B → transmissão entre animais de estimação e o homem.
 - 1993: surto no Canadá (veiculação hídrica) = esquilos como fonte de infecção (Isaac-Renton et al., 1993).
- Saneamento básico;
- Educação sanitária;
- Filtração da água;
- Lavar bem frutas e verduras.

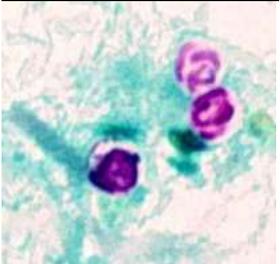
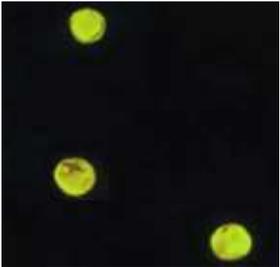
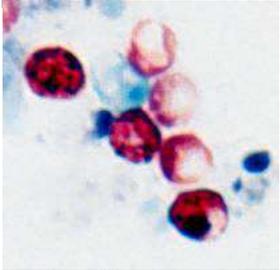


Coccídeos

- Filo **Apicomplexa**
 - Subclasse **Coccidia**
 - Ciclo → 02 fases reprodutivas:
 - **FASE ASSEXUADA = ESQUIZOGONIA ou MEROGONIA**
Esporozoíto → **ESQUIZONTE ou MERONTE** (merozoítos)
 - **FASE SEXUADA = GAMETOGONIA**
Merozoíto → **GAMETÓCITOS** → Masculino (**MICROGAMETÓCITO**)
→ Feminino (**MACROGAMETÓCITO**)
- Fusão dos gametas → zigoto → **OOCISTO**
- Ambiente → Esporulação oocisto → **ESPOROGONIA**

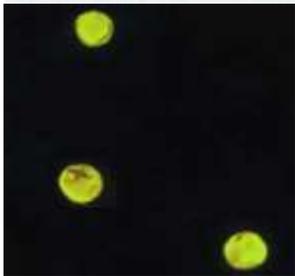
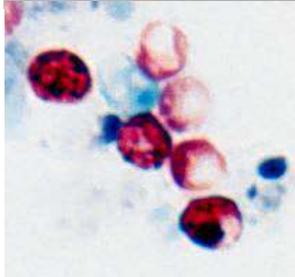


Críptosporídiase



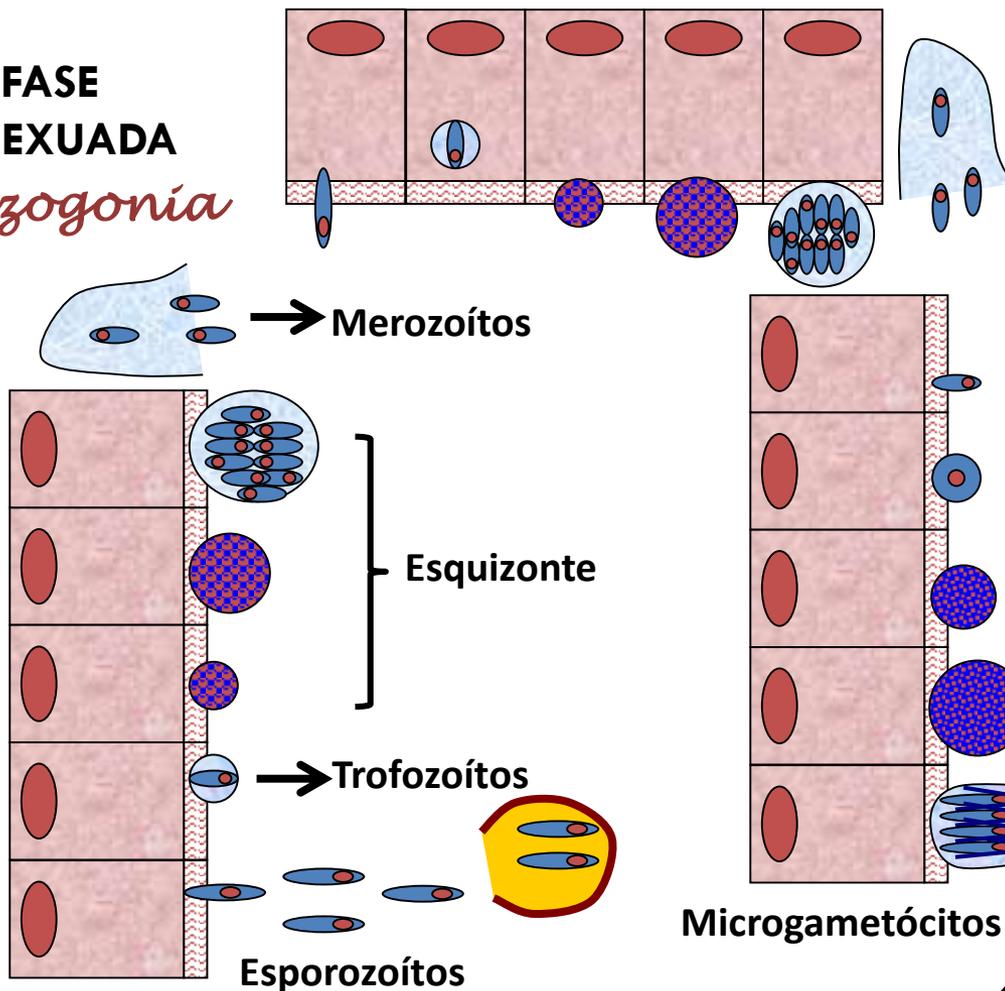
- Agente etiológico: *Cryptosporidium* sp
 - *Cryptosporidium parvum* (potencial zoonótico)
 - *Cryptosporidium hominis*
- Distribuição mundial
 - Freqüente em países em desenvolvimento.
- Pertence ao Filo Apicomplexa e subclasse Coccidia.
- Protozoário intracelular obrigatório:
 - Seu habitat principal são as células epiteliais do **intestino delgado**, mas pode ser encontrado em qualquer segmento do trato digestivo;
 - Particularidades: tem **localização extracitoplasmática** → faz fusão com a membrana do enterócito, mas localiza-se fora do citoplasma da célula hospedeira.
 - Formas graves em pacientes aidéticos.

Críptosporídiase

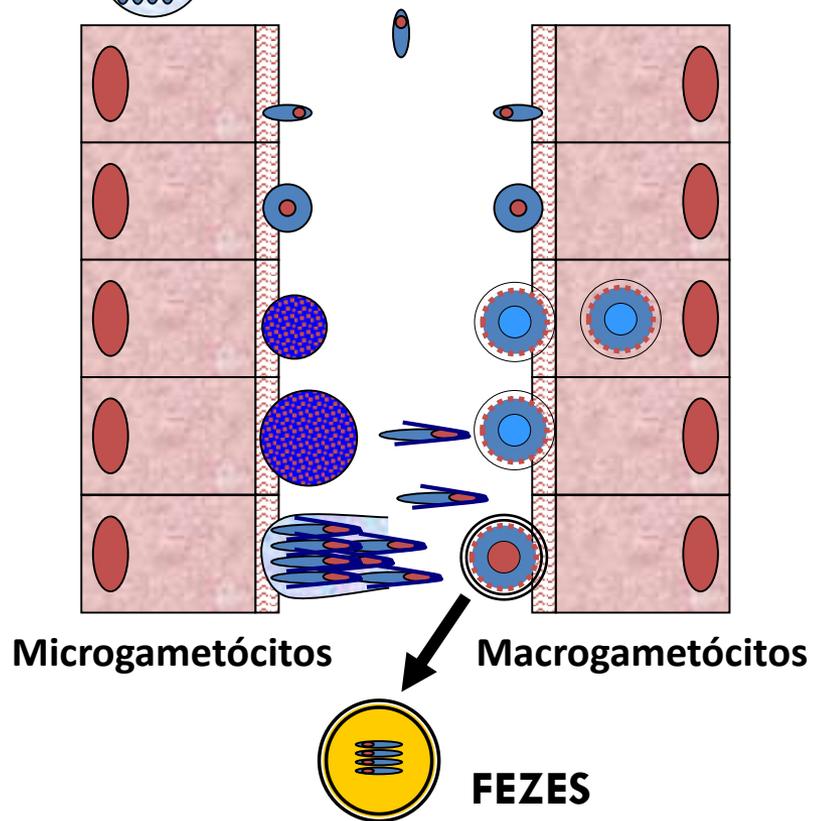


- Ciclo vital em um hospedeiro:
 - Parasita monoxeno
- Oocistos de *C.parvum* e *C.hominis* são esféricos e medem de 2 a 4 μ m e contêm 04 **esporozoítos nus**.
 - São **eliminados esporulados** → é possível a liberação dos esporozoítos na luz intestinal.
- Fatores de virulência:
 - *Cryptosporidium* sp invade as células epiteliais do intestino delgado, sem atingir as camadas mais profundas da mucosa.
 - Ocorre mal absorção de nutrientes, com redução de enzimas digestivas como a lactase e a fosfatase alcalina.
 - Reduções da absorção de vitamina B12 estão relacionadas com a intensidade da infecção.

**FASE
ASSEXUADA**
Esquizogonia



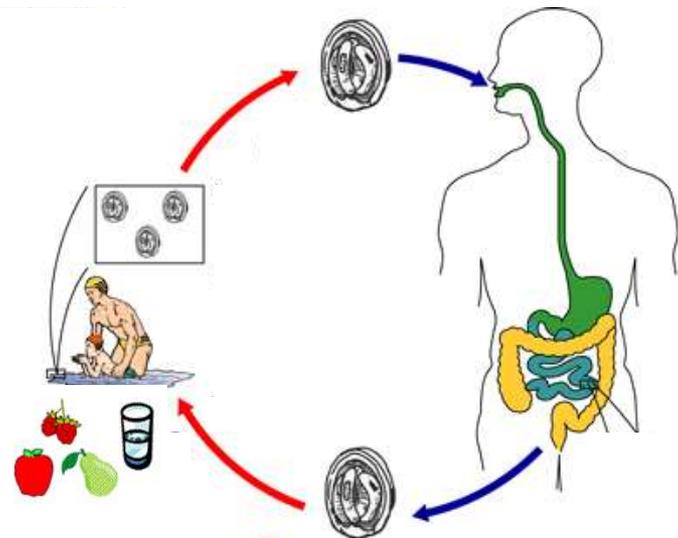
**FASE
SEXUADA**
Gametogonia



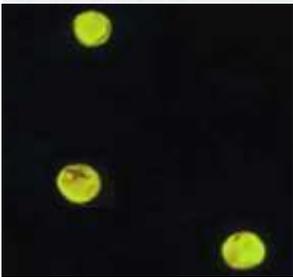
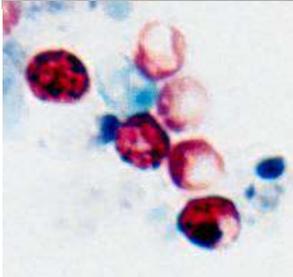
Críptosporídiase

- Transmissão

- Fecal – oral;
- Ingestão de água e alimentos contaminados com oocistos;
- Água recreacional contaminada.



Críptosporídiase



- Surtos ligados à transmissão por água:
 - 1993 Milwaukee (EUA): 400 mil pessoas infectadas.
- Parasita permanece viável por meses no ambiente:
 - Resistentes ao cloro;
 - Inativação:
 - Altas temperaturas (60°C);
 - Congelamento.

Críptosporídiase

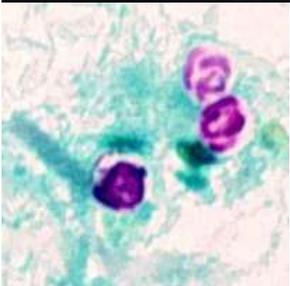
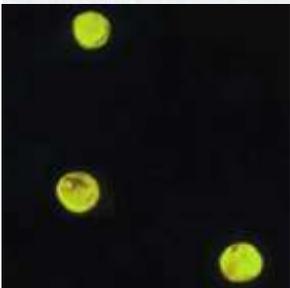
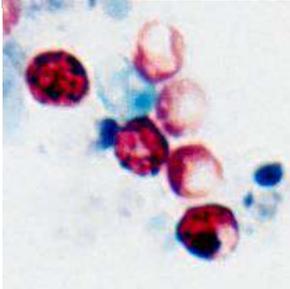
- **Sintomas**

- **Imunocompetentes:**

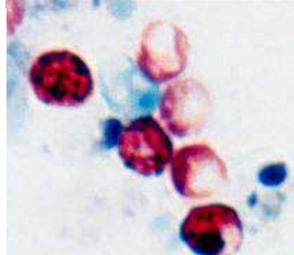
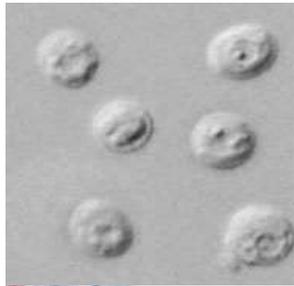
- Diarréia aquosa, intermitente ou contínua, dores abdominais e perda de peso.
- *Cryptosporidium* é um dos principais responsáveis por diarreias infantis em crianças de 2 a 5 anos que frequentam creches.

- **Imunodeprimidos:**

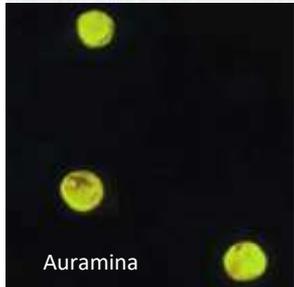
- Diarréia severa, com várias evacuações;
- Perda de +20L de líquido/dia.



Críptosporídiase



Safranina-azul de metileno



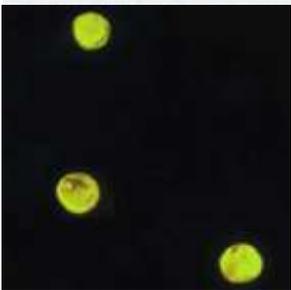
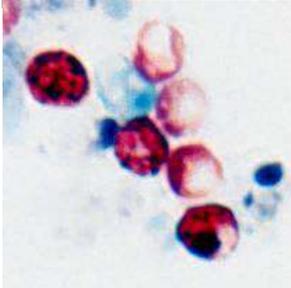
Auramina



Kinyoun

- **Diagnóstico laboratorial**
- Pesquisa do parasita em fezes:
 - Concentração por **flutuação em sacarose**.
 - Visualização pode ser feita:
 - Exame a fresco: microscopia convencional
 - Material corado pelas técnicas de Ziehl-Neelsen modificada (Kinyoun), Safranina-azul de metileno, Auramina e similares.
- Histologia: microscopia óptica, corando-se o material com hematoxilina-eosina, ou utilizando-se a microscopia eletrônica.
- Métodos imunológicos:
 - Pesquisa de anticorpos séricos.
- Técnicas moleculares: PCR (Reação em cadeia pela polimerase).

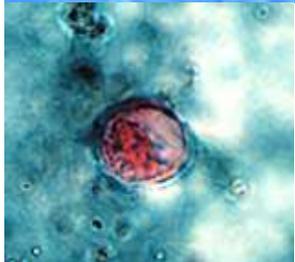
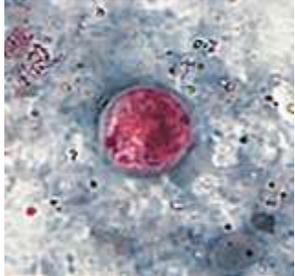
Críptosporídiase



- **Controle**

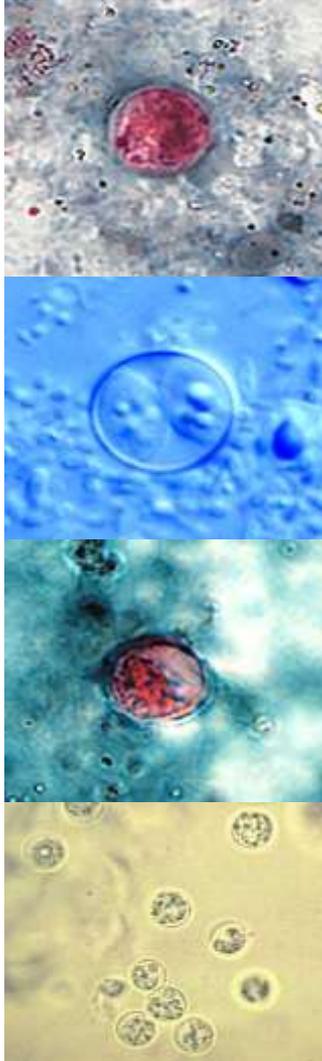
- Saneamento Básico e Educação sanitária;
- Filtração da água;
- Lavar muito bem frutas e verduras;
- Controle da contaminação ambiental com fezes de animais infectados.

Ciclosporíase



- Agente etiológico: *Cyclospora cayetanensis*
- Protozoário intracelular obrigatório
 - Filo Apicomplexa, subclasse Coccidia
- Habitat: **intestino delgado**
- Desenvolve-se em um único hospedeiro (monoxeno)
- Ciclo vital (não está totalmente esclarecido) → semelhante ao do *Cryptosporidium*
- Oocistos eliminados nas fezes na forma não-esporulada:
 - Não se sabe ao certo o tempo para esporulação para se tornarem infectantes.
 - Condições experimentais: 5 a 11 dias.
 - Oocistos esporulados: são esféricos e medem de 8-10µm e apresentam 02 esporocistos com 02 esporozoítos cada um.

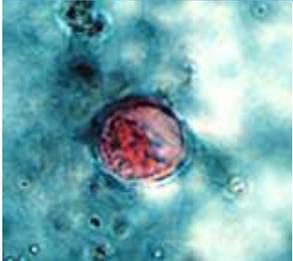
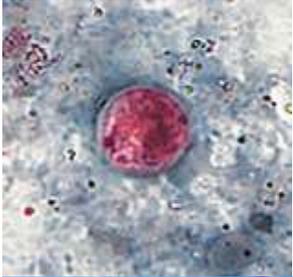
Ciclosporíase



- Transmissão: via fecal-oral e água e alimentos contaminados.
- Reservatórios da infecção não foram identificados até o momento → potencial zoonótico desconhecido.
- Aspectos clínicos: quadro de diarreia semelhante ao provocado pelo *Cryptosporidium* :
 - Além da diarreia aquosa pode ocorrer também fadiga profunda, indigestão, sensação de queimação no estômago, náuseas, dores abdominais, perda de peso e vômitos;
 - Doença é autolimitada, mas pode prolongar-se por várias semanas;
 - Em pacientes imunocomprometidos → a infecção pode ser prolongada e severa.

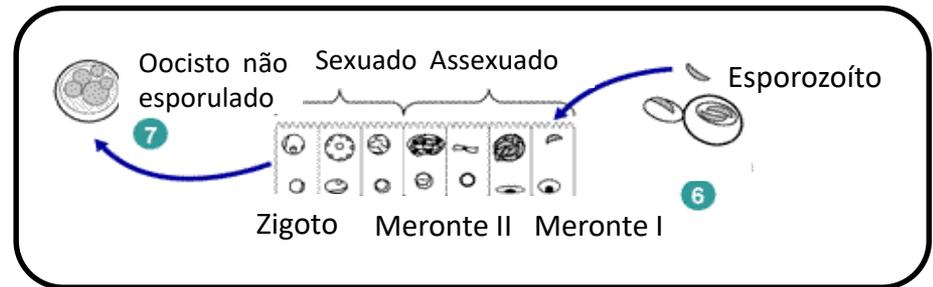
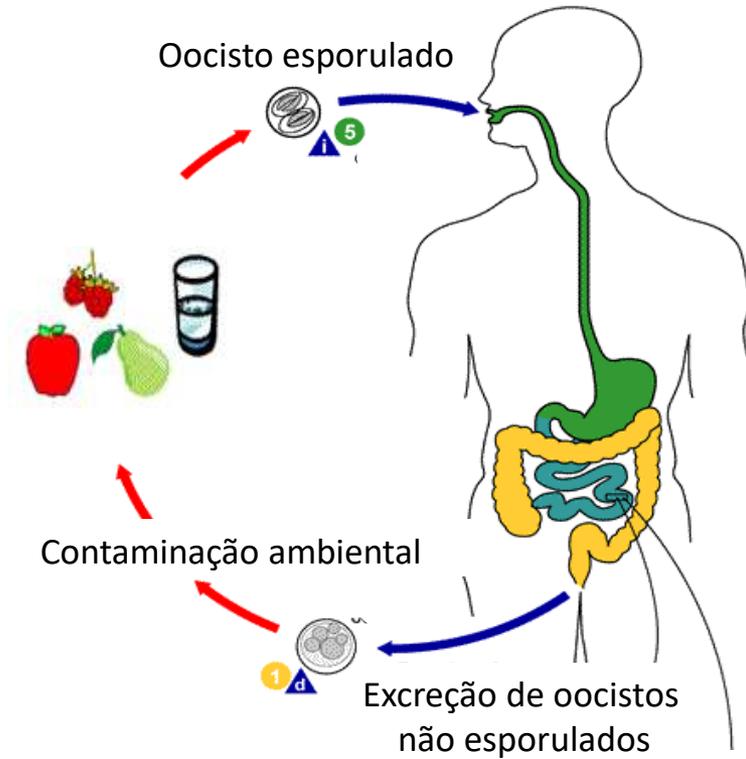
Ciclosporíase

- **Diagnóstico laboratorial**
- Pesquisa de oocistos nas fezes → centrífugo - flutuação
- Visualização em microscopia óptica → material a fresco
- Coloração pelas mesmas técnicas utilizadas para *Cryptosporidium*:
 - Ziehl-Neelsen modificada (Kinyoun)
 - Safranina-azul de metileno e auramina
- Detecção de anticorpos séricos
- Técnicas de biologia molecular (PCR)

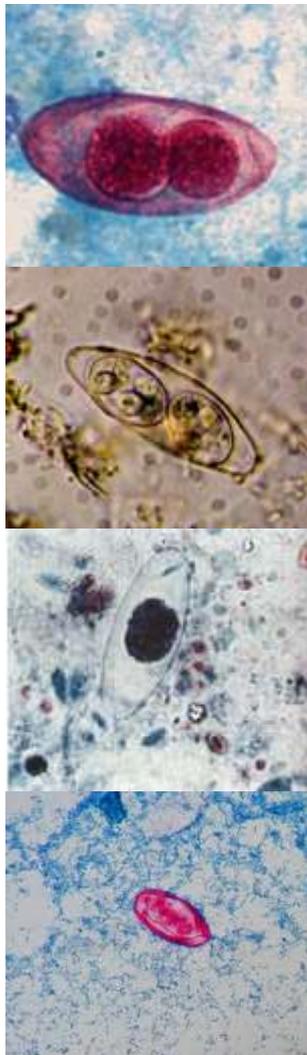


Ciclosporíase

Transmissão

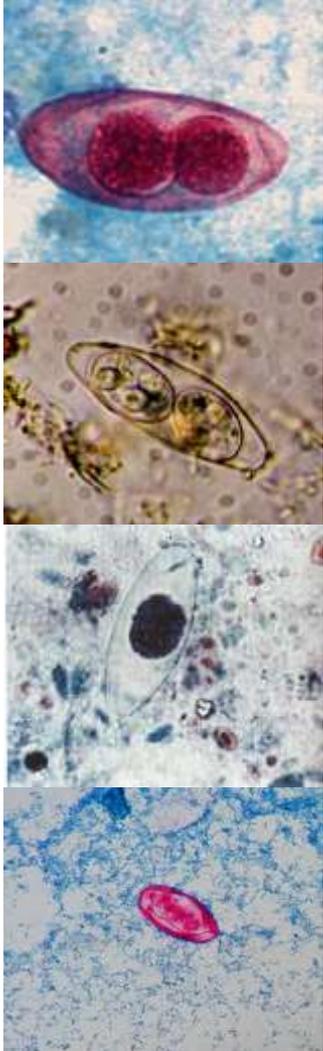


Cystoisosporíase

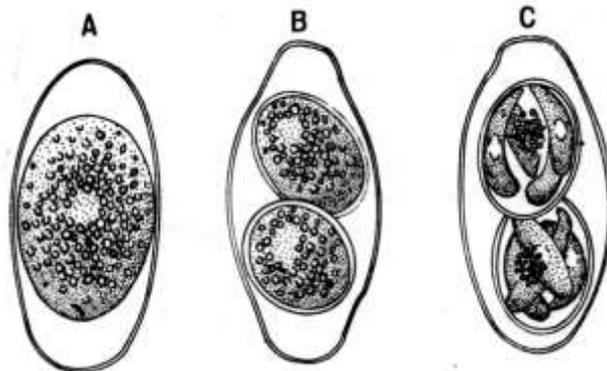


- Também denominada isosporíase e isosporose.
- Agente: *Cystoisospora belli* (*Isospora belli*).
- Todas as espécies de *Cystoisospora* são intracelulares obrigatórias.
- As infecções entéricas por *Cystoisospora belli* eram relativamente raras até o advento das síndromes de imunodeficiência.
- Protozoário do Filo Apicomplexa.
- Completa seu ciclo num só hospedeiro (=monoxeno).
- Estudos de filogenia molecular indicam que os parasitos do gênero *Cystoisospora* são em termos evolutivos, mais próximos de *Toxoplasma* e *Neospora*.

Cystoisosporíase



- Ciclo vital compreende duas fases: uma assexuada e uma sexuada.
 - Fase assexuada: esquizogonia
 - Fase sexuada: gametogonia
- Forma infectante: oocisto → ovalado (20 a 33 μ m por 10-19 μ m)
- Oocistos eliminados nas fezes na forma **não esporulada (não-infectante)**.
- Esporulação no meio ambiente: 24-48horas.
- Oocistos: contêm 02 esporocistos, cada um com 04 esporozoítos.



Oocistos de *Cystoisospora belli* em diferentes fases de maturação: A, fase inicial, com um só esporoblasto; B, com 2 esporoblastos transformados em esporocistos; C, oocisto maduro, onde cada esporocisto já formou 4 esporozoítos.

Cystoísosporíase



- **Transmissão**

- Ocorre pela ingestão de oocistos presentes em água ou alimentos.

- **Aspectos clínicos**

- Quadro clínico caracterizado por 08 a 10 evacuações líquidas por dia.
- Indivíduos imunocompetentes: diarreia é autolimitada.
- Na maioria das vezes, a infecção permanece assintomática.
- Nos demais casos há febre, diarreia, anorexia e cefaléia, com início 7 a 10 dias após a contaminação, com duração de 10 dias ou mais.
- A evolução é para a cura espontânea, mesmo sem medicação.

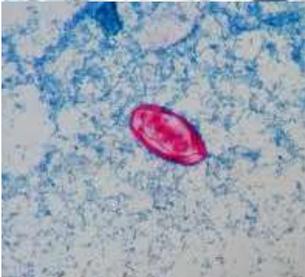
Cystoísosporíase

- **Diagnóstico laboratorial**

- Pesquisa de oocistos nas fezes.
- A visualização é feita por:
 - Exame a fresco → microscopia óptica convencional
 - Coloração específica: Ziehl-Neelsen modificada (Kinyoun), safranina-azul de metileno, auramina.

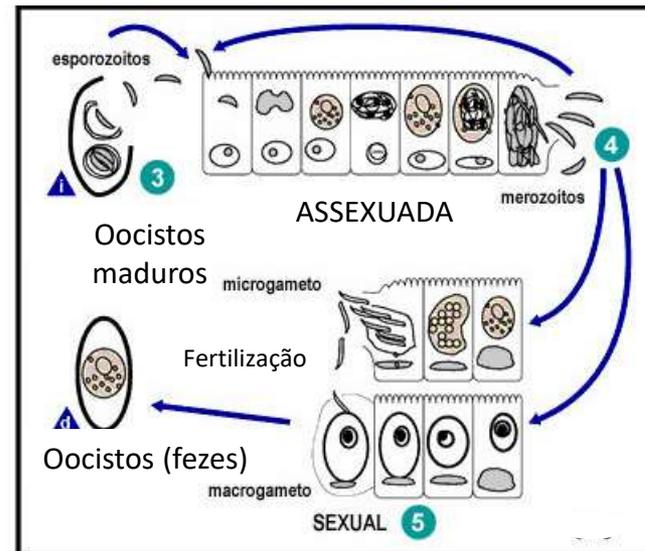
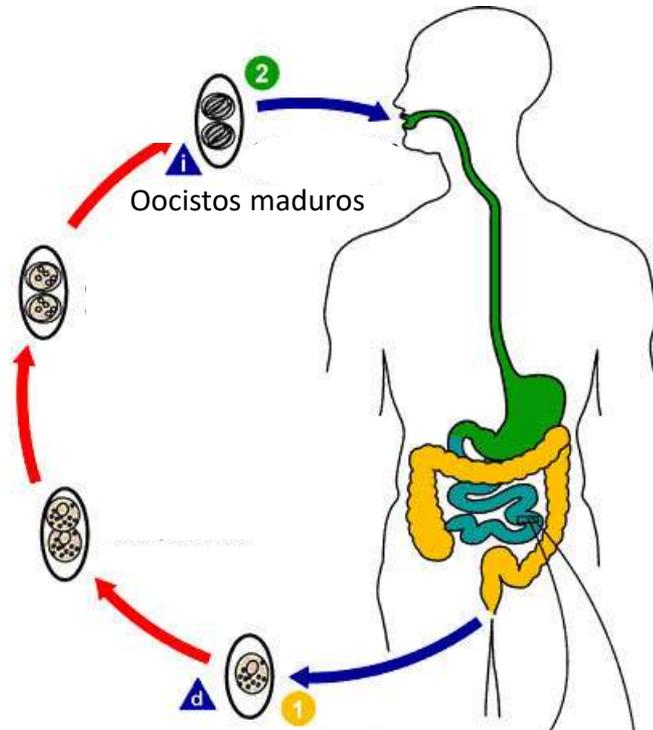
- **Prevenção e controle**

- Saneamento básico
- Educação sanitária
- Filtração da água
- Evitar a ingestão de alimentos crus.



Cystoísosporíase

Transmissão



Oocistos

Cryptosporidium

Tamanho: 4 μ m, contendo 4 esporozoítos nus.



Cyclospora cayetanensis

Tamanho: 10 μ m, contendo 2 esporocistos com 2 esporozoítos.



Cystoisospora belli

Tamanho: 25 μ m, contendo 2 esporocistos com 4 esporozoítos.



Adaptado de Ferreira et al., 2003



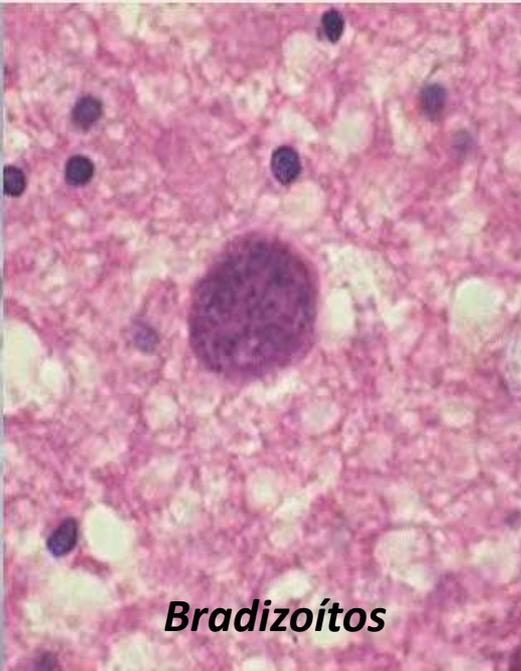
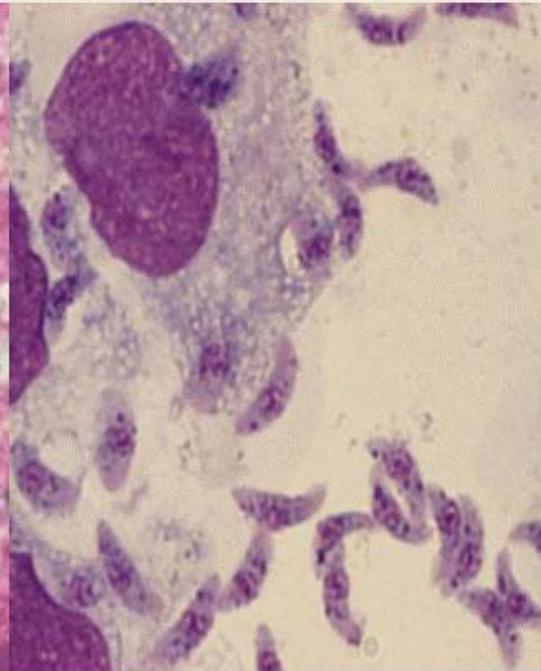
**Universidade de São Paulo
Instituto de Medicina Tropical de São Paulo
Laboratório de Protozoologia**



IMT

PROTOZOÁRIOS APICOMPLEXA DE TRANSMISSÃO ALIMENTAR

Luciana R. Meireles J. Ekman
Laboratório de Protozoologia - IMTSP

Toxoplasma gondii*Oocisto**Bradizoítos**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



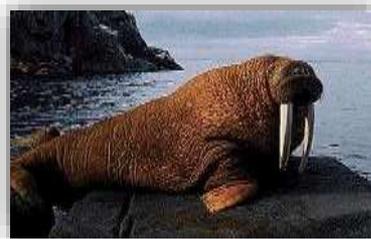
Pets



Animais produção



Animais silvestres



Animais 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%



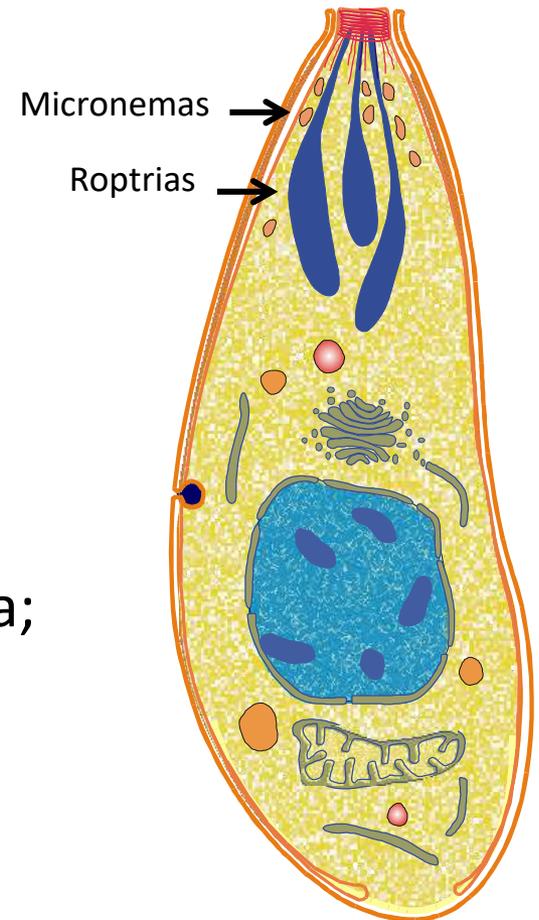
INFECÇÃO
COMUM

DOENÇA
RARA



TOXOPLASMOSE

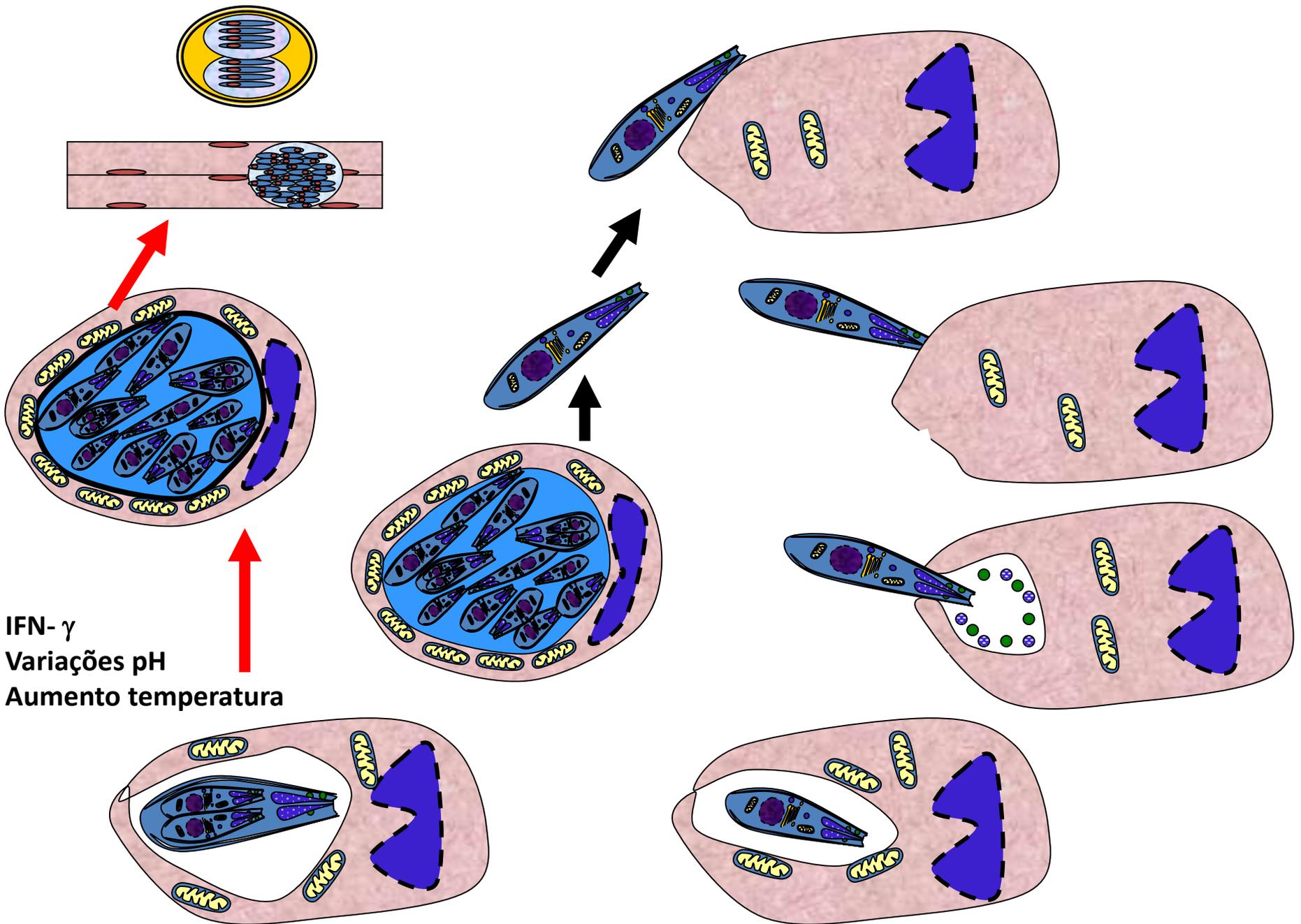
- *Toxoplasma gondii*:
 - Intracelular obrigatório;
 - Filo Apicomplexa;
 - Penetra ativamente na célula hospedeira;
 - Parasita qualquer célula de animal de sangue quente.



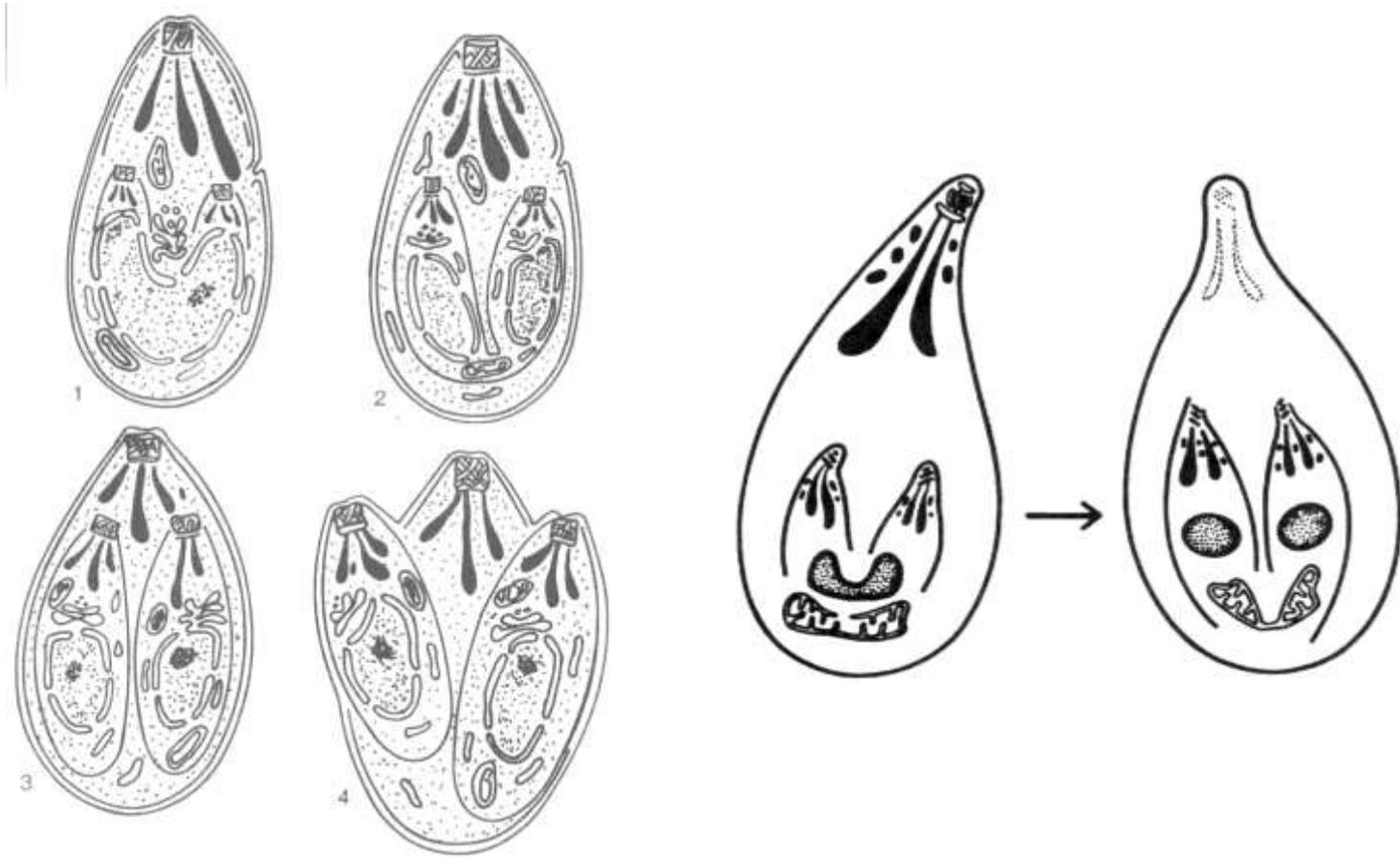
Forma de arco
ou crescente

Laboratório de Protozoologia

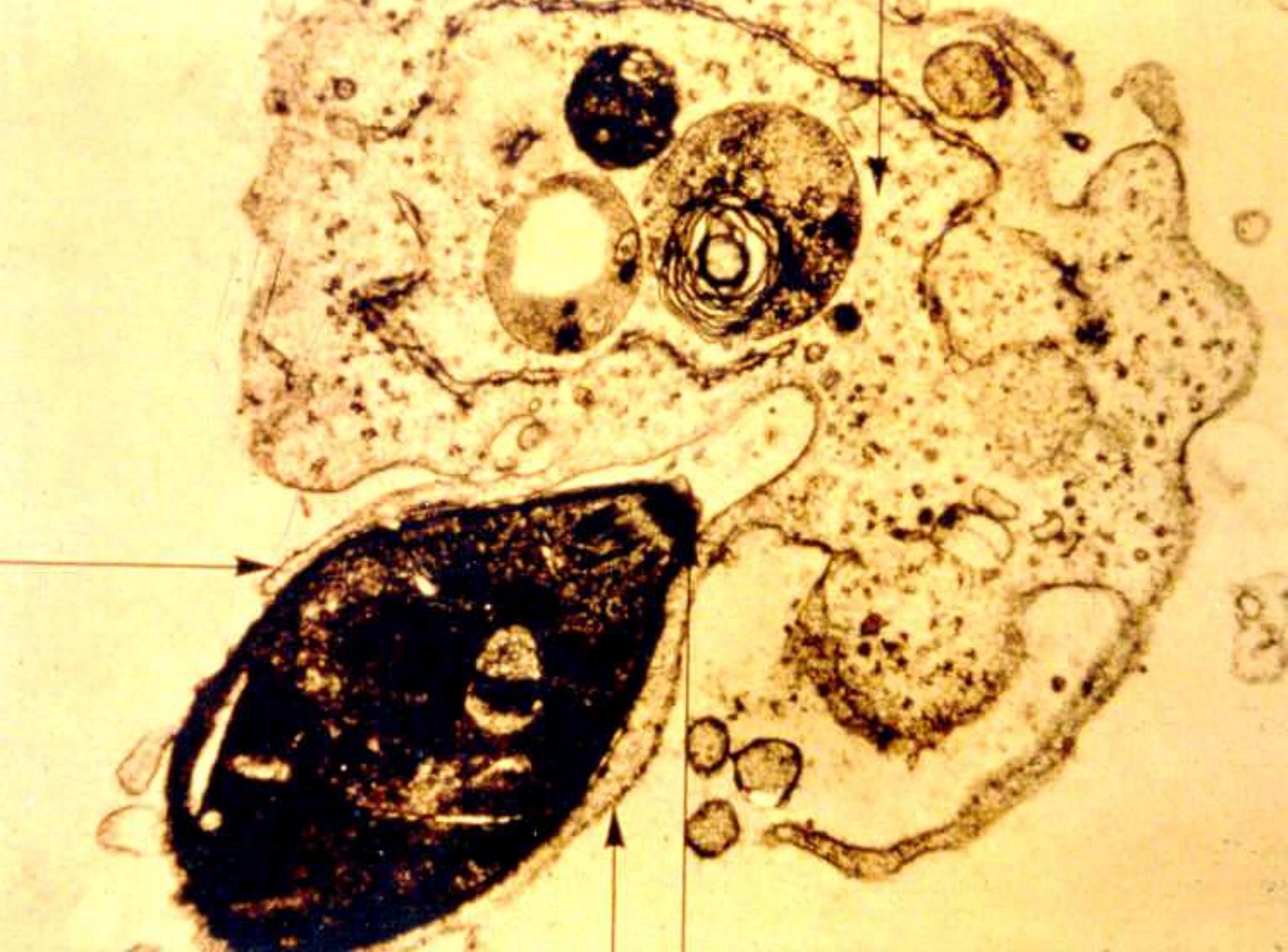


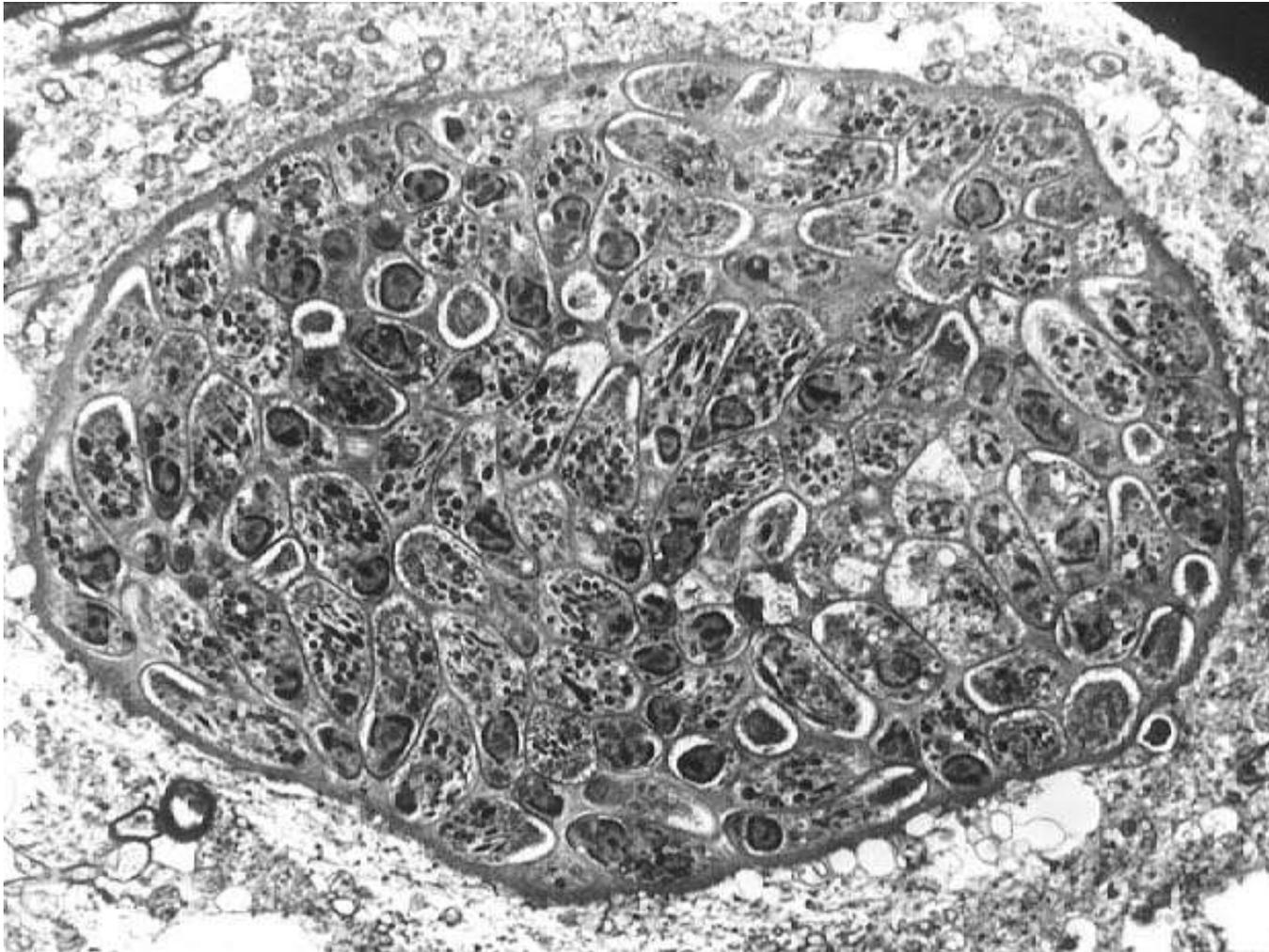


ENDODIOGENIA



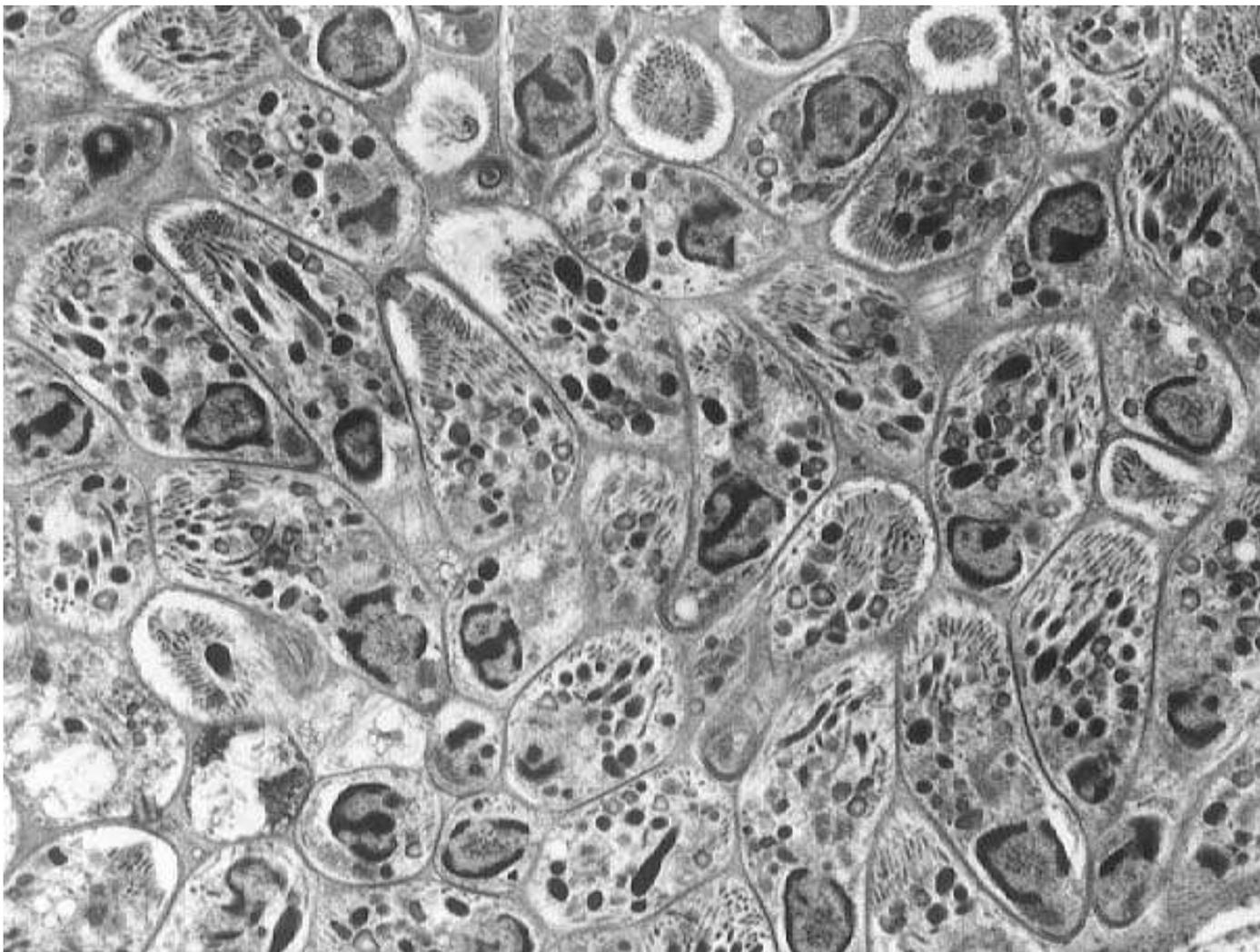
Endodiogenia: formam-se 2 indivíduos dentro da célula mãe.





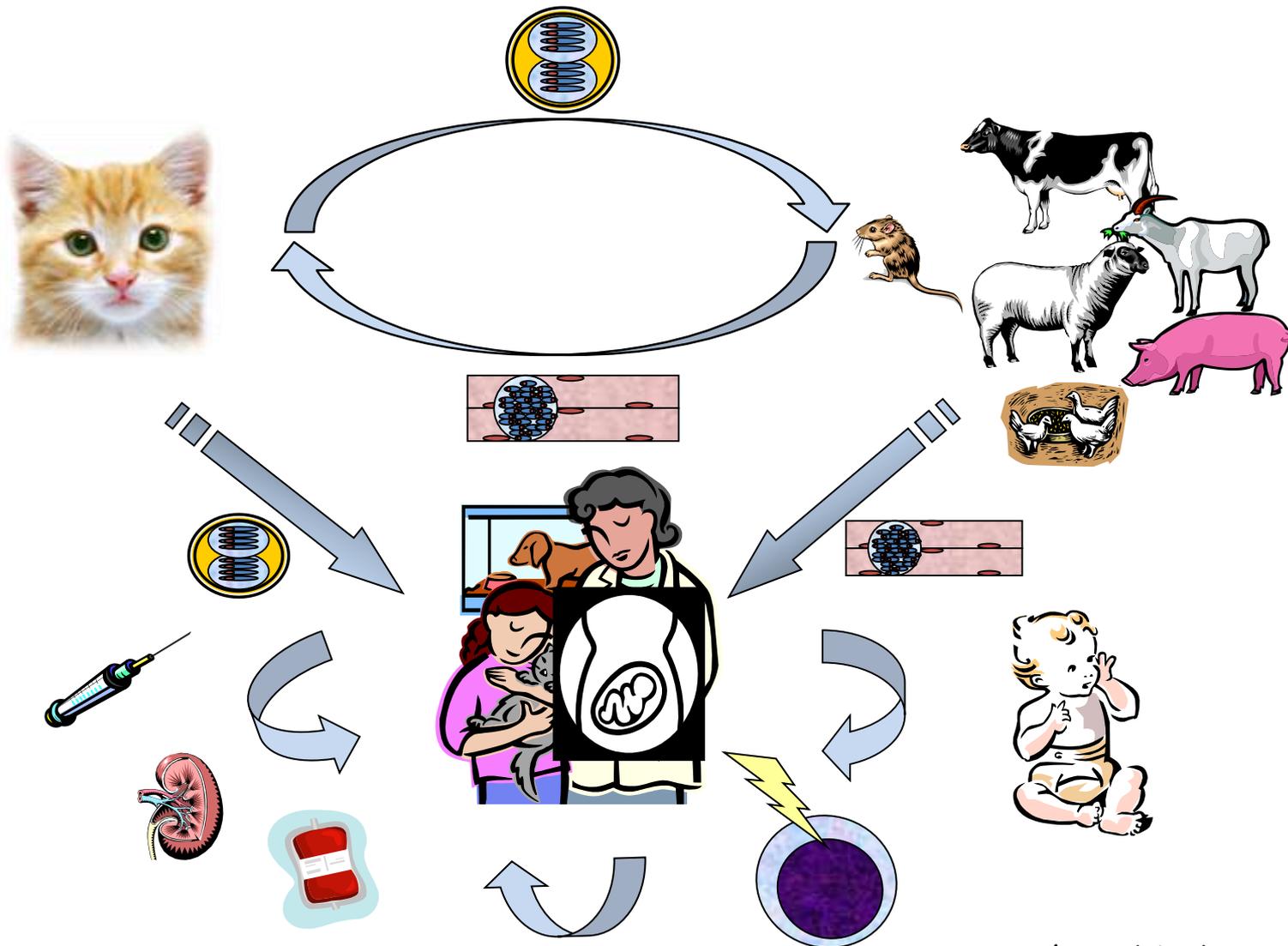
From M. Torbenson

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.



From M. Torbenson

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.



Laboratório de Protozoologia

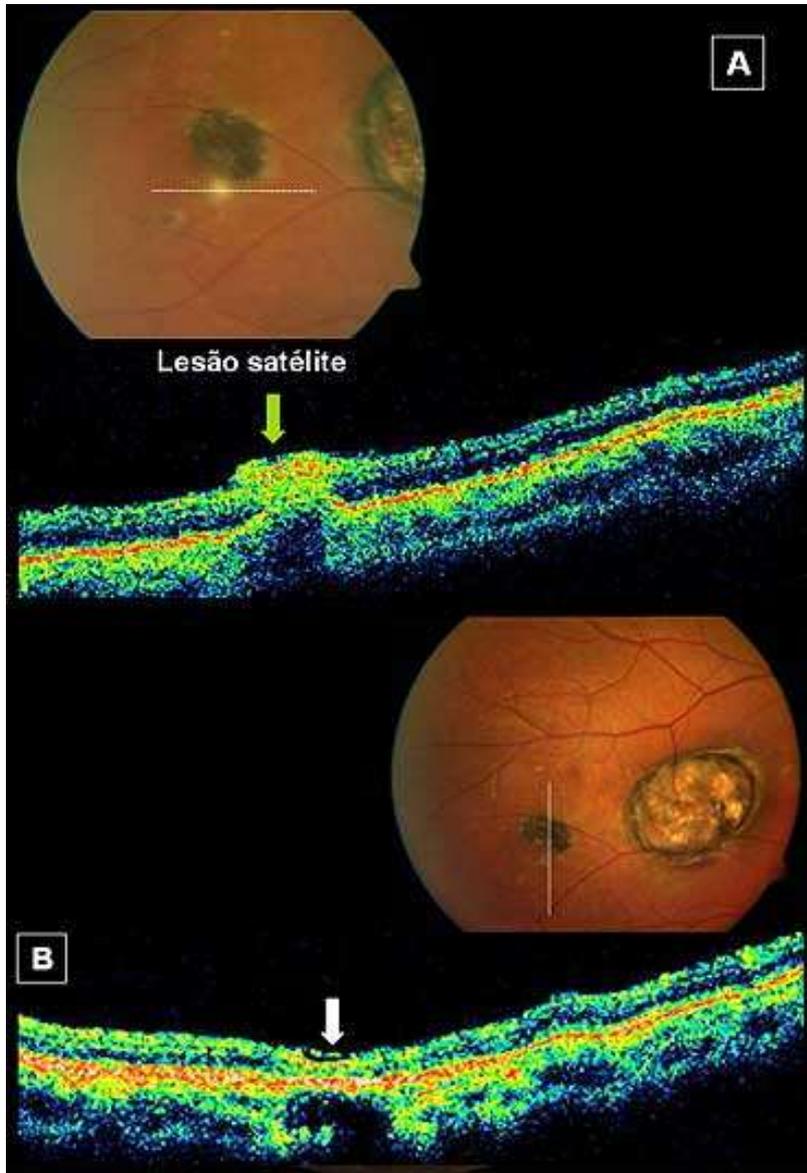


Aspectos Clínicos

■ **Imunocompetente:**

- Assintomática 90% casos;
- Caráter benigno e autolimitado:
 - Imunidade celular e humoral.
- Sintomáticos:
 - Linfadenopatia (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).

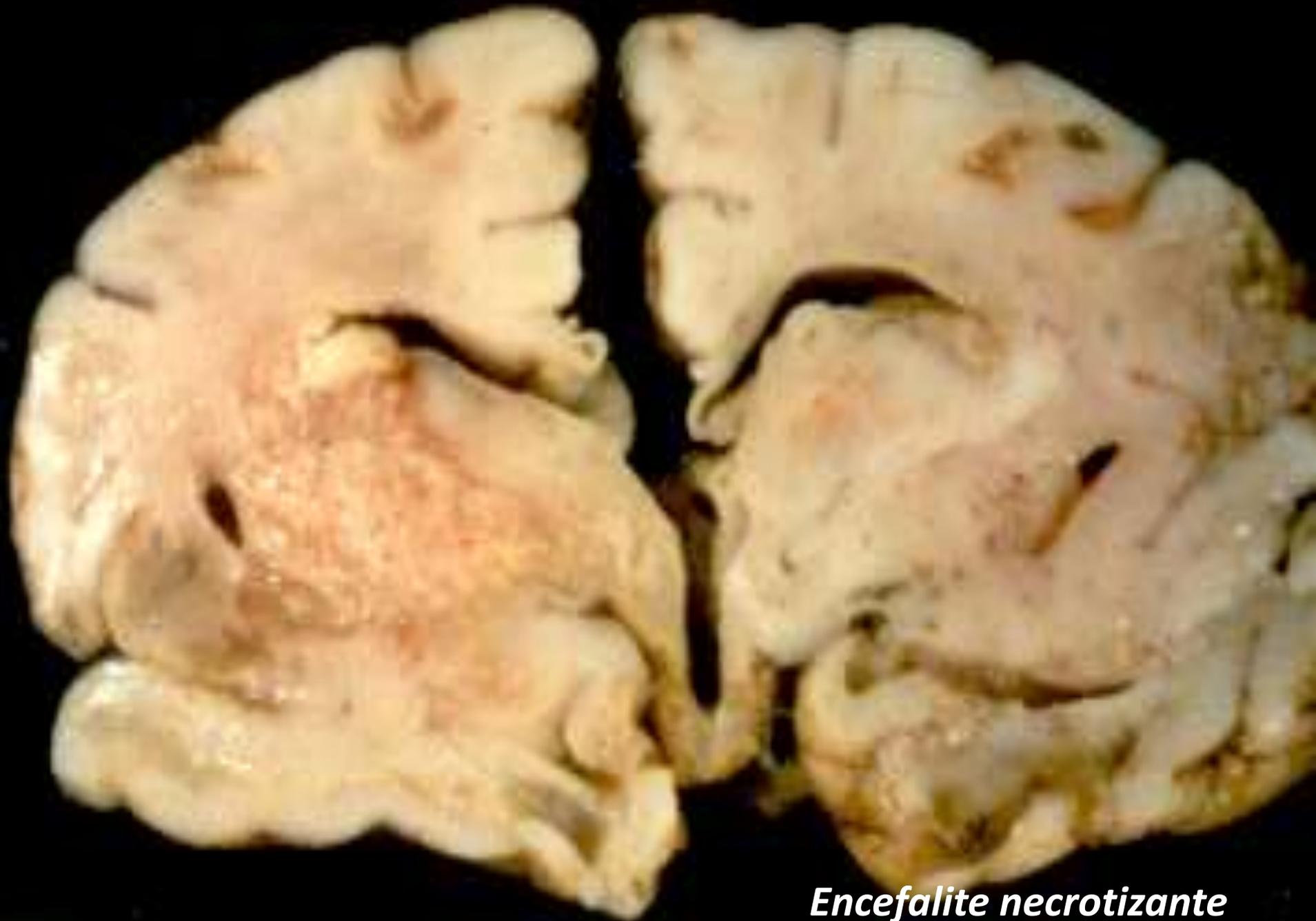
Aspectos Clínicos

■ **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

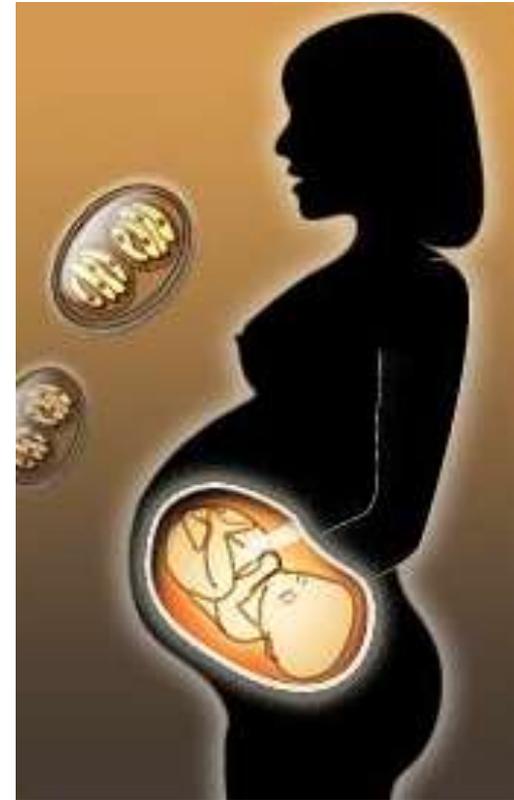




Encefalite necrotizante

Toxoplasmose Congênita

- Infecção aguda durante a gestação:
 - EUA:
 - 3000 (Roberts & Frenkel, 1990).
 - Brasil:
 - 1 criança infectada /1000 nascimentos (Dubey et al.,2012).
 - 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

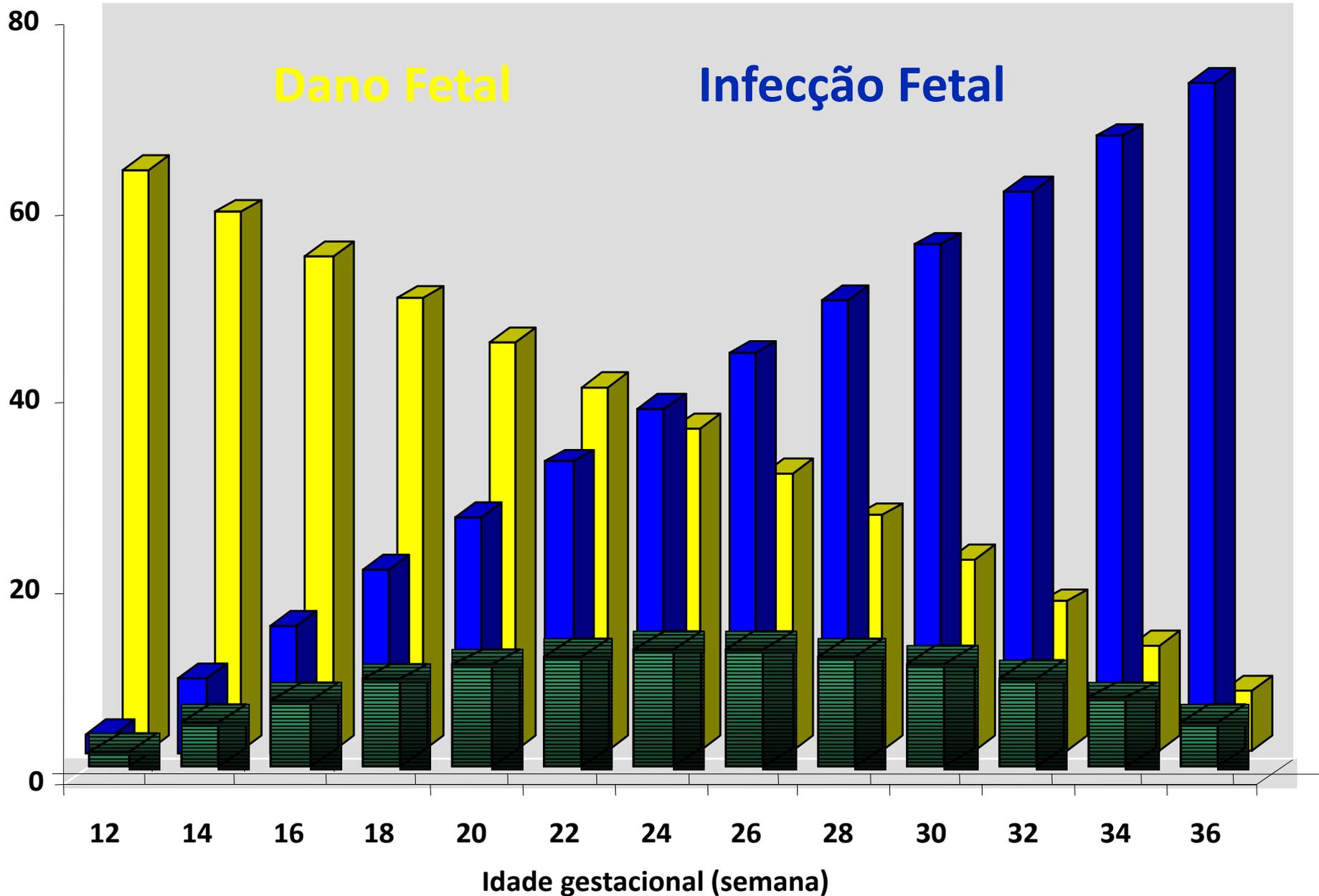
Toxoplasmose Congênita

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



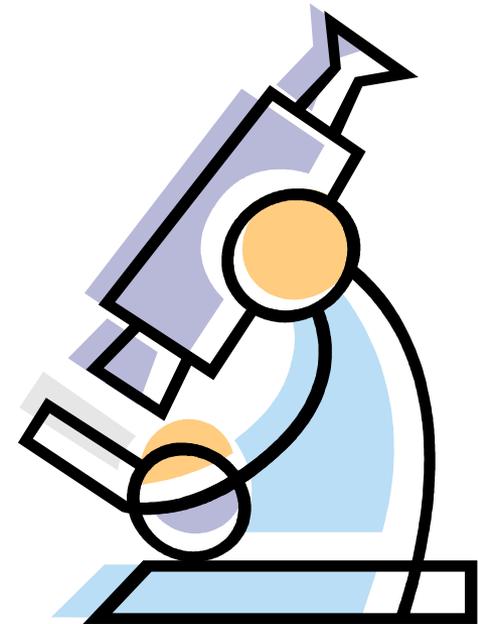
Dano Fetal

Infeção Fetal



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

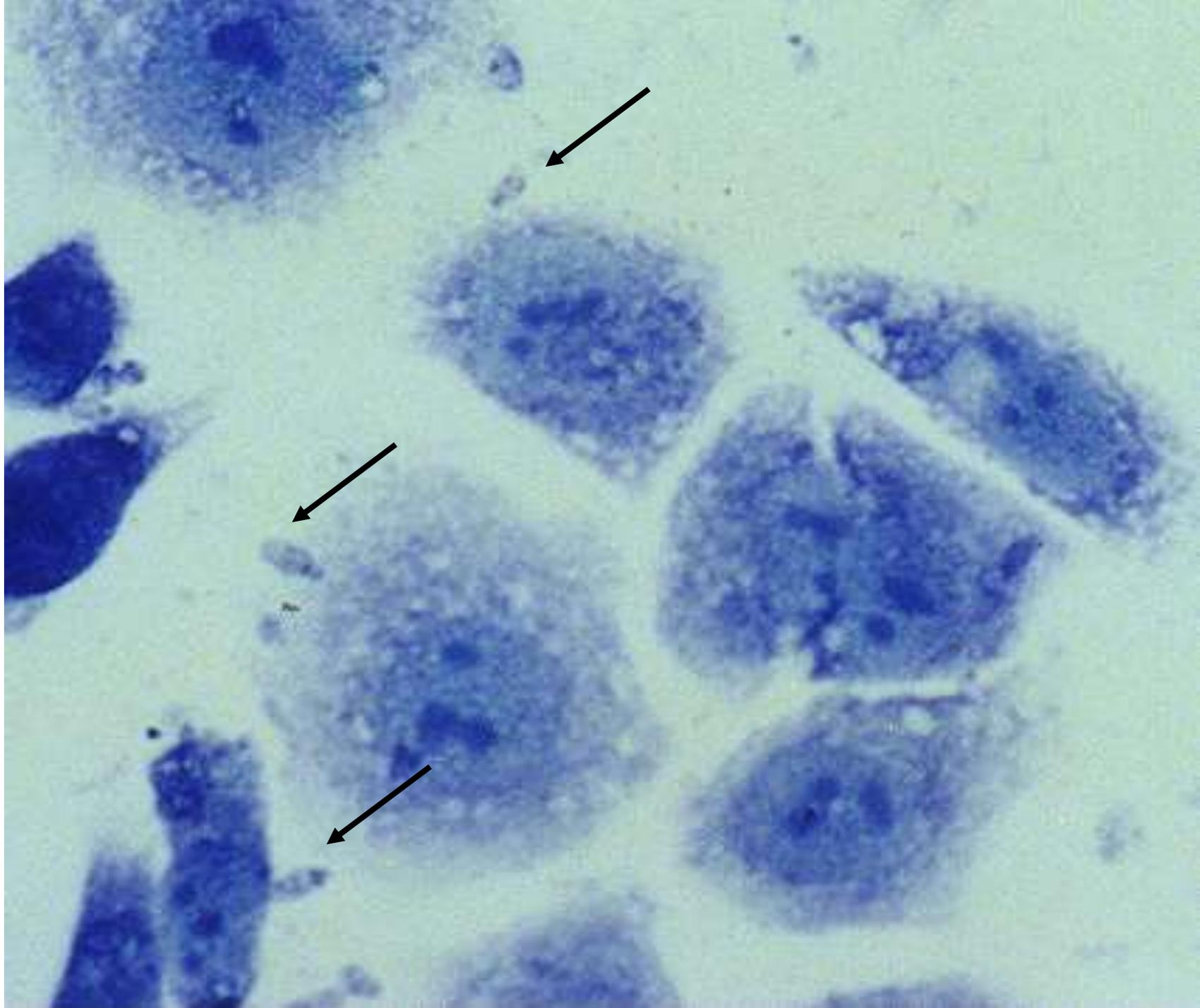


Diagnóstico Parasitológico



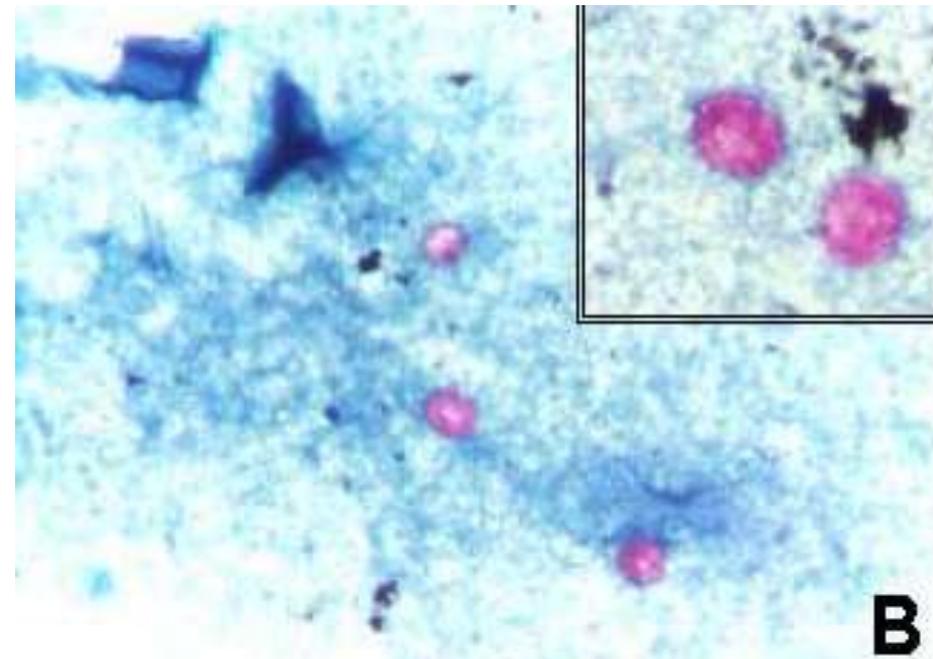
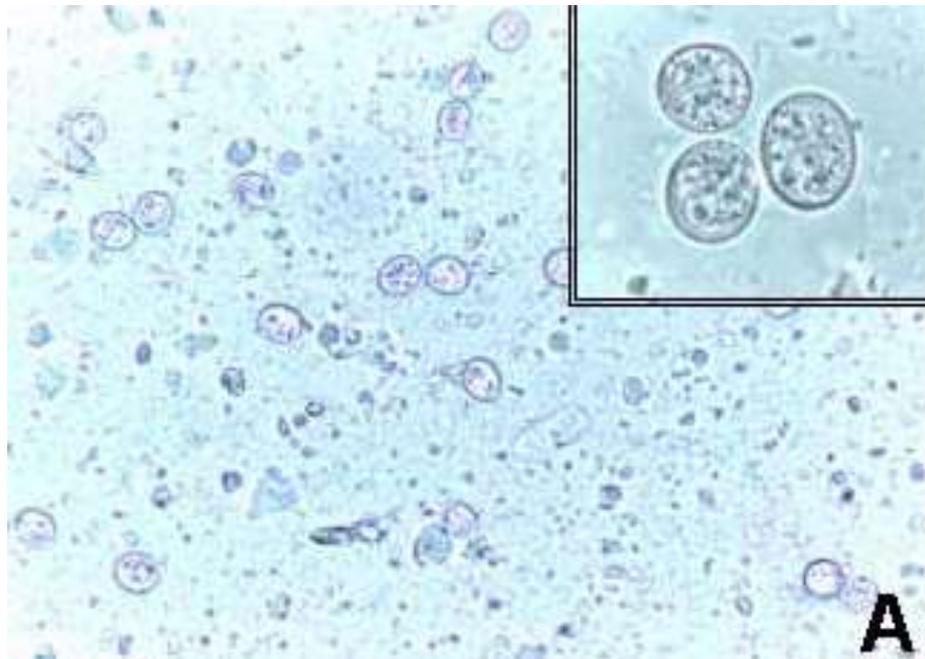
- Inoculação em camundongos:
 - Sangue (camada leucocitária);
 - Sedimento da centrifugação:
 - Líquido cefalorraquidiano;
 - Líquido amniótico;
 - Lavado brônquico-alveolar;
 - **Amostras de carne previamente digeridas.**
- Inoculação intraperitoneal em camundongos soronegativos:
 - Soroconversão do 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

- Reação em cadeia pela polimerase (PCR):
 - Detecção de segmentos específicos de ácidos nucleicos 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.**



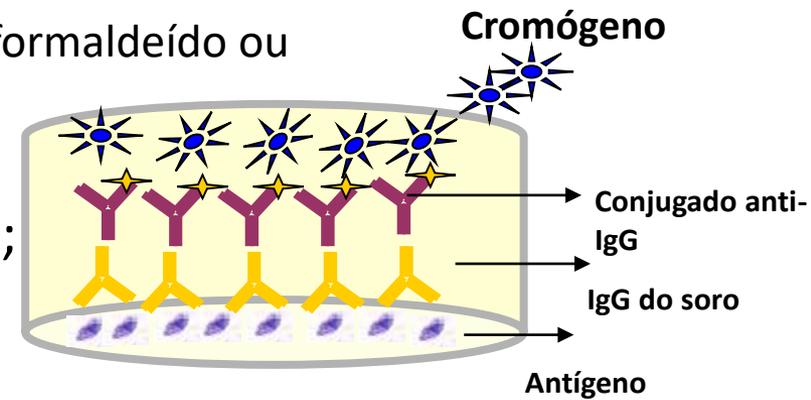
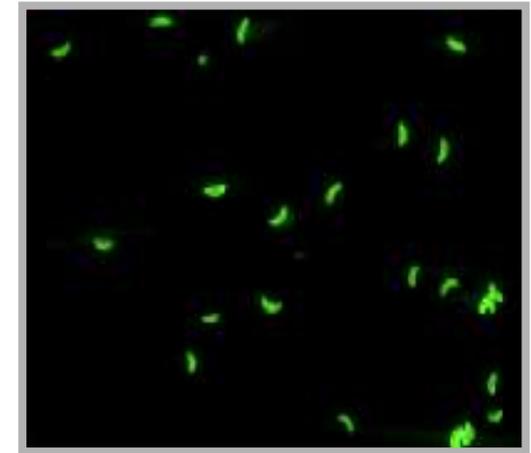
A = Padrão 50 bp
B = Controle positivo



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.**



Laboratório de Protozoologia



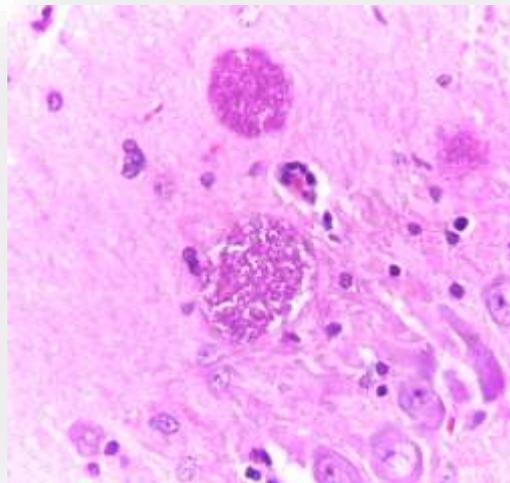
Toxoplasmose: transmissão

FECAL - ORAL



OOCISTOS
Alimentos
Água

CARNIVORISMO



CISTOS
Carne crua
Embutidos frescos

CONGÊNITA



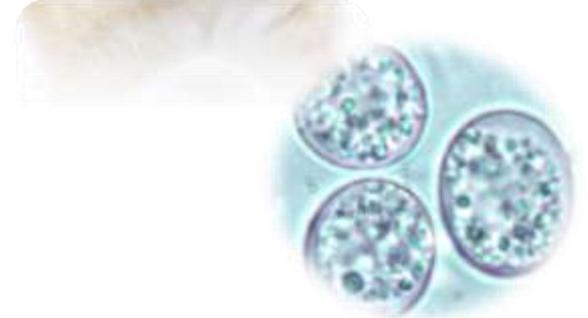
TAQUIZOÍTOS
Infeção
Transplacentária



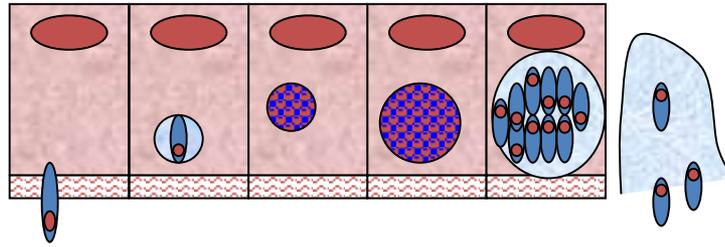
TRANSMISSÃO POR OOCISTOS



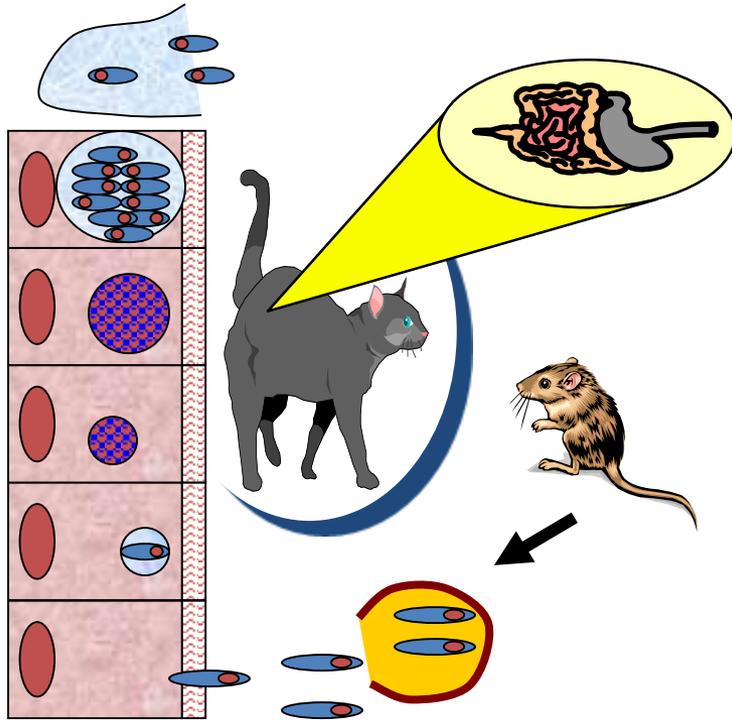
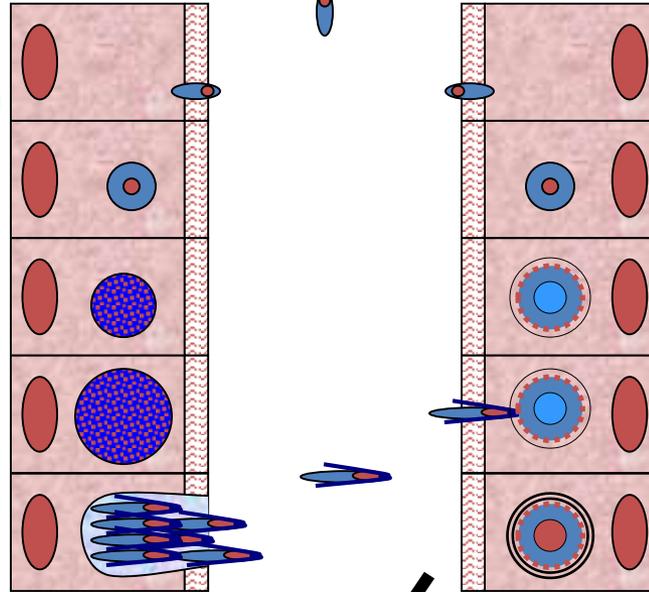
- Água;
- Frutas, legumes e verduras;
- Contato direto fezes:
 - Crianças
 - Jardinagem



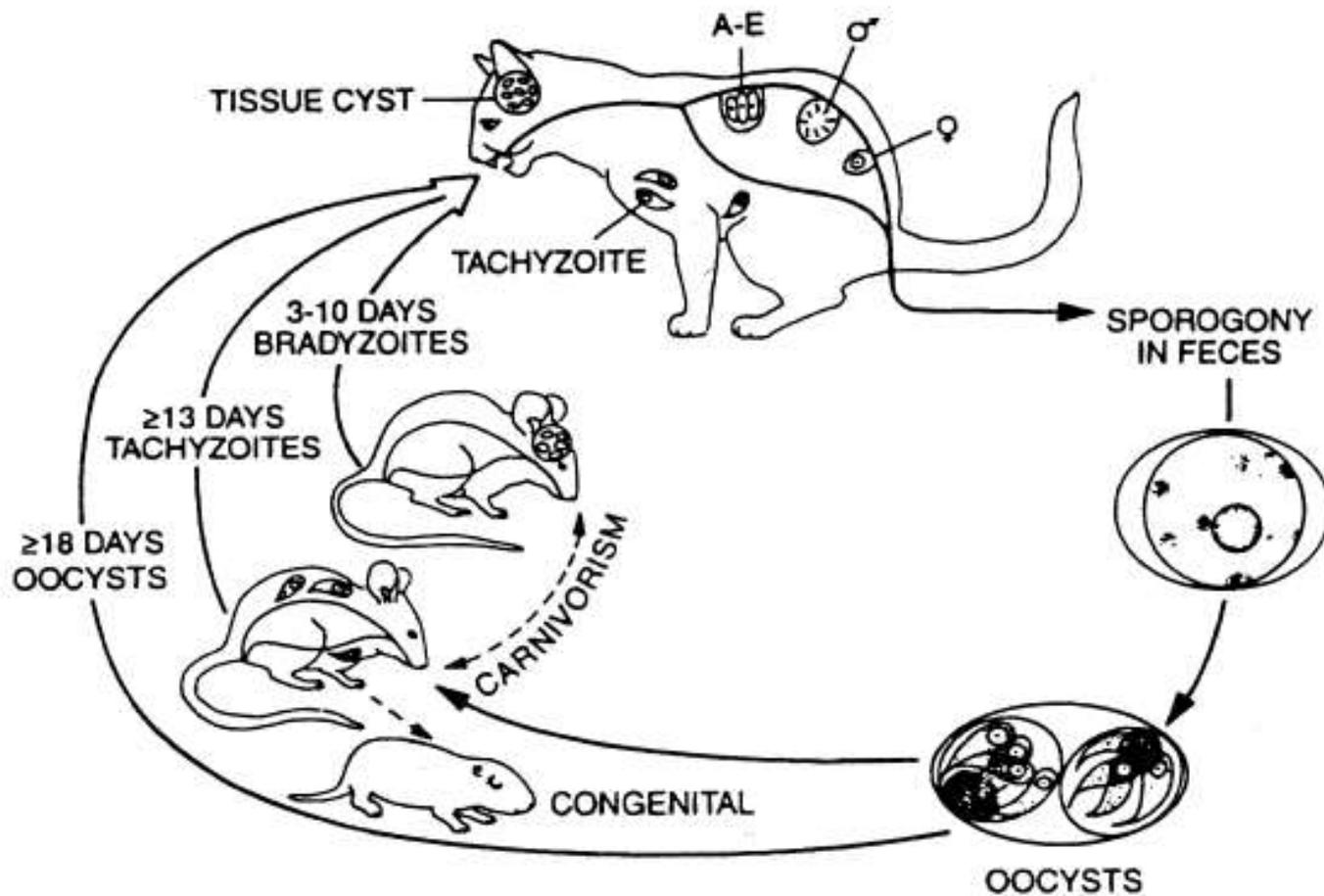
**FASE
ASSEXUADA**
Esquizogonia



**FASE
SEXUADA**
Gametogonia



MEIO EXTERNO
Esporangia

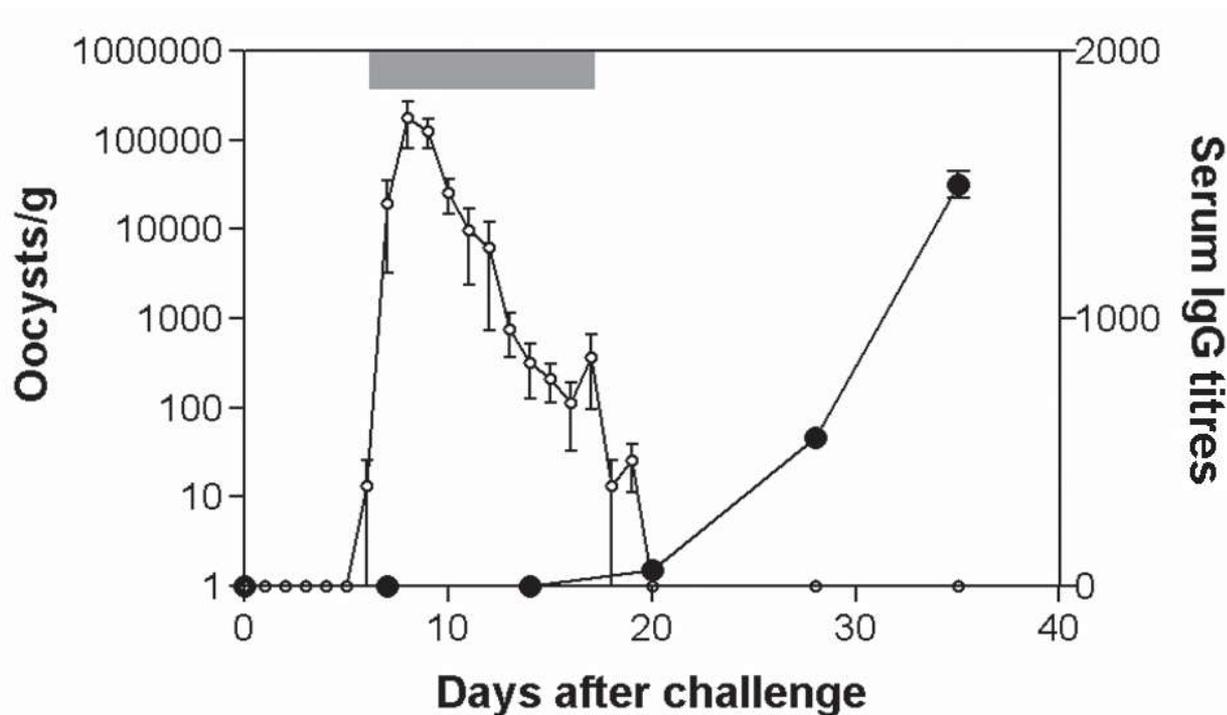


Fonte: *Advances in the life cycle of Toxoplasma gondii* (Dubey, 1998)

- ~ 100% eliminam oocistos após ingestão de cistos teciduais;
- < 30% eliminam oocistos após ingestão de oocistos ou taquizoítos.

Sorologia x Excreção de Oocistos

- Meireles et al.,2008:
 - A excreção de oocistos antecede a resposta imune humoral.



Toxoplasmose em Mamíferos Aquáticos

- Infecção por *Toxoplasma gondii*:
 - >33 espécies de mamíferos marinhos.
 - Importante patógeno em mamíferos da costa marinha dos EUA (Califórnia).
- Maioria dos estudos → lontras (protegidas):
 - *Toxoplasma* maior causa de mortalidade.
- Encefalite, miocardite, linfadenite, aborto e morte.



- Cepa TipoX → 72% infecções em lontras;
- Miller *et al.*(2008) → 2005 a 2008:
 - 45 espécies de carnívoros terrestres;
 - 1396 invertebrados (bivalves marinhos);
 - Cepa tipo X → mamíferos (felinos e canídeos) da Costa da Baía de Monterey, CA → bivalves marinhos.
 - Episódio de chuva no outono 2002 → bivalves marinhos (*T.gondii*) → hospedeiros de transporte → lontras.



Formas de Disseminação no Ambiente Marinho

- Massie *et al.* (2010)
- Transmissão de oocistos de *Toxoplasma* por **peixes migratórios (vetores)**:
 - Anchova (*Engraulis mordax*)
 - Sardinhas do Pacífico (*Sardinops sagax*)
- Exposição experimental:
 - PCR
 - Bioensaio (infectividade)
 - Anchova: oocistos persistem por pelo menos 8hs após exposição;



Pesquisa de *Toxoplasma* em Bivalves Marinhos de Santos, SP



- Esmerini et al. (2010):
 - Ostras (*Crassostrea rhizophorae*) e mexilhões (*Mytella guyanensis*);
 - Ostras (n=300) e mexilhões (n=300) comercializadas no mercado de peixe de Santos;
 - Bioensaio em camundongos e métodos de detecção molecular;
 - *Toxoplasma* → ostras (3,3%)
 - Ostras podem filtrar e reter os oocistos da água do mar;
 - Ingestão de ostra crua → fonte potencial de transmissão de *T.gondii*.

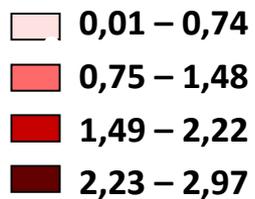


Surtos de Transmissão Hídrica no Brasil

- **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.



Surto de Toxoplasmose em Santa Maria - RS

Investigação de surto de toxoplasmose em Santa Maria/RS, 2018

IV Simpósio Brasileiro de Toxoplasmose - RBPT - Brasília-DF, outubro de 2018

- Início: abril/2018
- Até o final de agosto:
 - 1343 casos suspeitos:
 - 748 confirmados para toxoplasmose aguda
 - 32 casos apresentaram lesão oftalmológica
 - 85 gestantes toxoplasmose aguda (3 óbitos fetais, 4 abortos) e 21 toxoplasmose congênita.
 - Amostras de 09 placentas foram positivas na PCR e bioensaio para *T. gondii*
 - Detecção do marcador CCp5A, encontrado em infecção por oocisto, em 78% das amostras testadas (28/36).
 - Causa provável do surto: ingestão de oocistos em água.



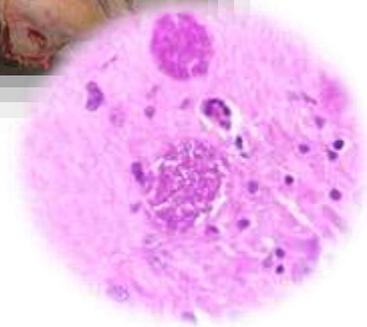
Surto de Toxoplasmose em São Paulo

COVISA – Coordenadoria de Vigilância em Saúde – Secretaria Municipal de Saúde

- Início março/19: notificação de 3 surtos de toxoplasmose na cidade de São Paulo relacionados a restaurantes.
- Os surtos foram registrados em bairros diferentes da cidade de São Paulo.
 - Março/abril: 45 casos confirmados
 - Maio/19: **79 casos confirmados** (infecção março – abril)
 - Causa provável do surto não foi identificada.
 - Não foram identificados oocistos ou cistos de *T.gondii* nas amostras de alimentos analisadas.



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

MUMIFICADO

Tempo de GESTAÇÃO
145 dias

09/08/89

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 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%): lingüiças positivas (bioensaio);
 - 36/47 (76,6%): amostras de soro de trabalhadores do Serviço de Inspeção Municipal de Londrina.



Leite Ovino e Caprino



- **Consumo de leite cru e produtos lácteos** foram descritos como fonte de transmissão de surtos epidêmicos no homem (Riemann et al., 1975; Sacks et al., 1982; Skinner et al., 1990; Meerburg et al., 2006).
- **Itália: 3,4% de ovelhas eliminam *T.gondii* no leite** (Fusco et al., 2007).



Inativação de cistos de *T.gondii*

- Cistos de *T.gondii* podem ser inativados por diferentes processos:
 - **Calor** (67°C)
 - **Congelamento** (-12°C)
 - Irradiação
 - Alta pressão
 - Acidificação
 - NaCl
- O tratamento pelo calor é o método mais seguro (Kijlstra & Jongert, 2008).



PREVENÇÃO



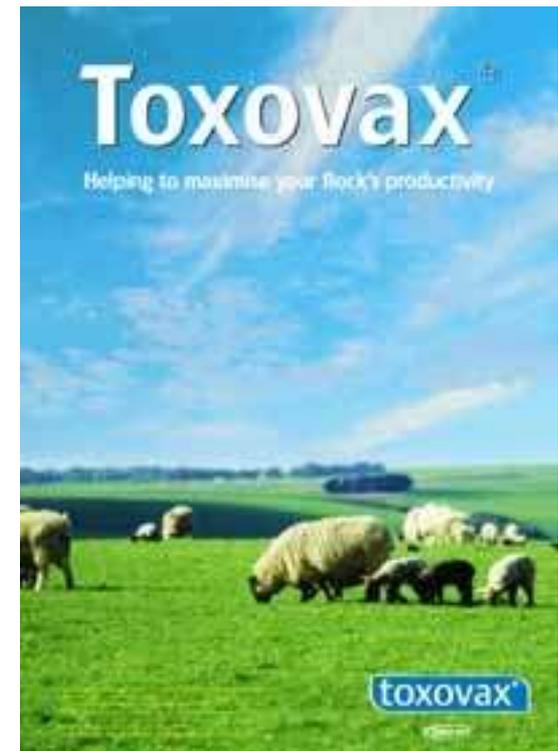
- Evitar o consumo de carne crua ou mal cozida;
- Cuidado ao manipular as fezes de gatos (usar luvas);
- Proteger os tanques de areia,
- Lavar as mãos antes de manipular os alimentos;
- Filtrar a água;
- Lavar muito bem frutas e verduras.



Vacinas para toxoplasmose

- Vacina ideal:
 - Prevenção de toxoplasmose congênita;
 - Prevenção de cistos teciduais;
 - Prevenção da eliminação de oocistos.

NÃO HÁ VACINA PARA USO HUMANO



- Toxovax[®] (O'Connell et al., 1988):
 - Cepa S48;
 - Isolada de material de aborto de um cordeiro na Nova Zelândia;
 - Mantida em laboratório por sucessivas passagens em camundongos;
 - Taquizoítos não se diferenciam em bradizoítos (cepa incompleta);
 - Induz uma pequena infecção em ovelhas (14 dias) antes de ser eliminado pelo sistema imune:
 - Não induz a formação de cistos teciduais;
 - Não induz a produção de oocistos.
 - Confere proteção da transmissão congênita em ovelhas;
 - Reduz a formação de cistos teciduais;
 - Desvantagens: tempo de validade reduzido, dificuldade de armazenamento, risco de infecção do manipulador e dificuldade de produção em larga escala.

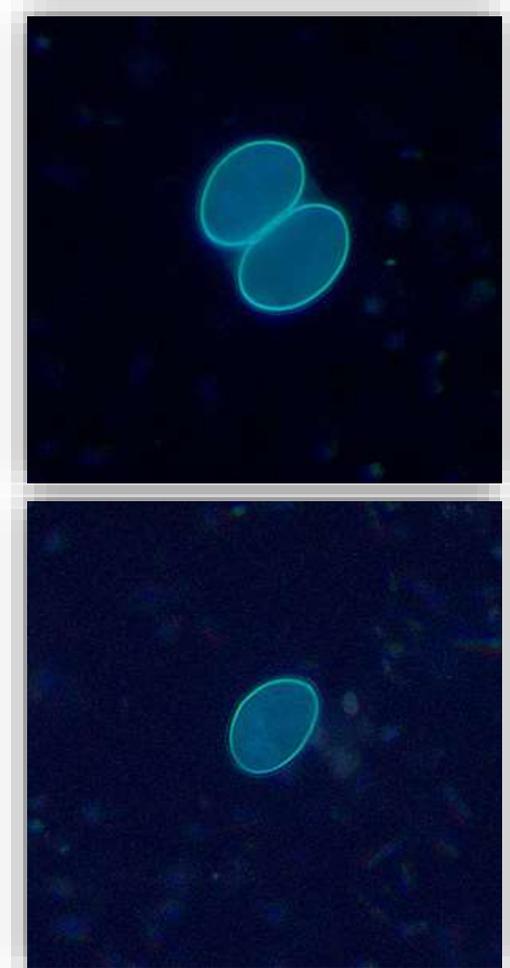




SARCOCISTOSE

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*.
 - Oocistos são eliminados esporulados nas fezes: esporulação ocorre no epitélio intestinal do HD.
 - 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
<i>S. hominis</i>	Boi, homem	Primatas, incluindo homem
<i>S. sui hominis</i>	Porco	Primatas, incluindo homem
<i>S. ovifelis</i>	Gato	Ovelha
<i>S. cruzi</i>	Boi, búfalo, bisão	Cão
<i>S. neurona</i>	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) → 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).



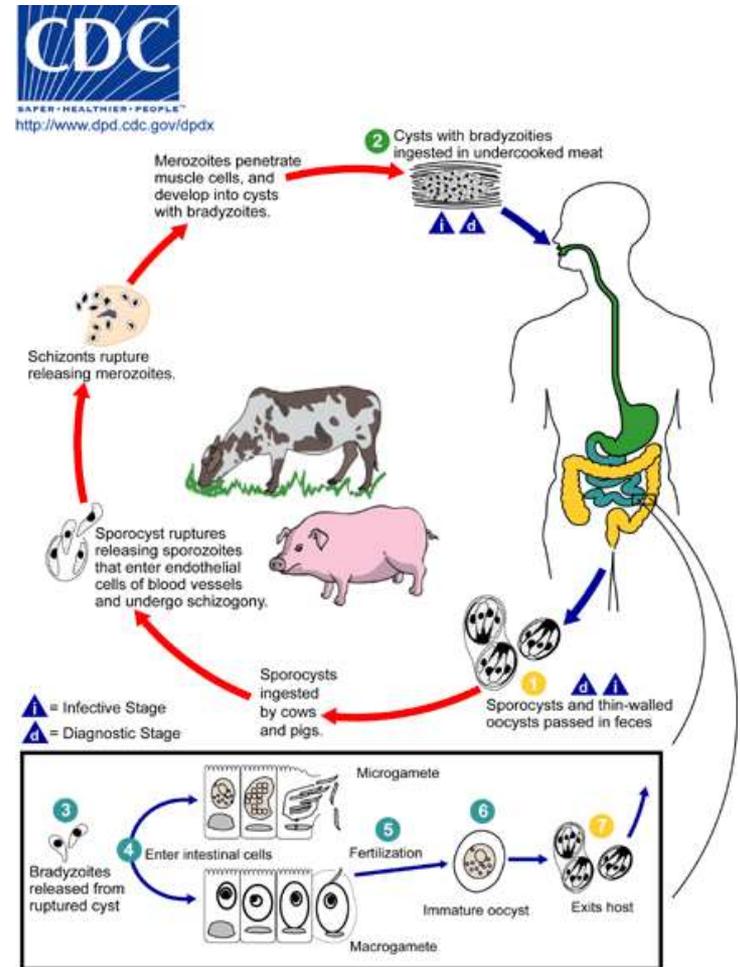
Epidemiologia

- 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 HI → 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 → diarreia (gastroenterite aguda).
- Náuseas, vômitos, mal-estar, dor abdominal, diarreia 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 esporocistos.
 - 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 não pode identificar as espécies de *Sarcocystis*.



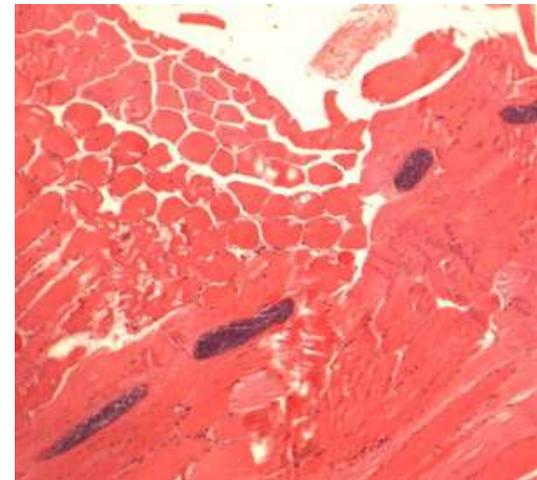
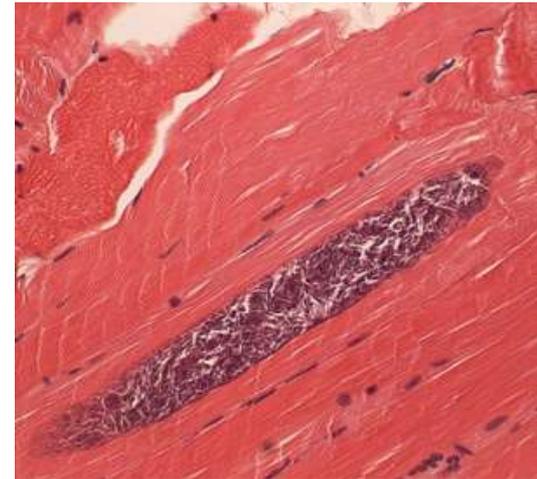
<http://www.dpd.cdc.gov/dpdx/HTML/Sarcocystosis.htm>

Laboratório de Protozoologia



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.





Luciana R. Meireles J. Ekman
E-mail: lrmeirel@usp.br