

Protozooses Cavitárias

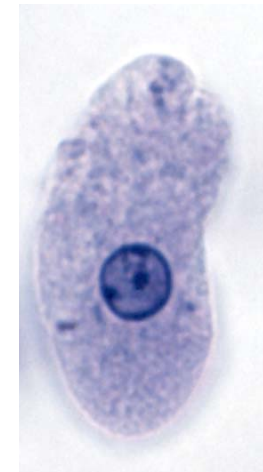
➤ **Tricomoníase**



➤ **Giardíase**



➤ **Amebíase**



✓ Enfoque desta aula:

- Agente etiológico
- Epidemiologia
- Transmissão
- Ciclo de vida
- Diferentes formas do parasita
- Patogenia
- Diagnóstico
- Tratamento
- Controle

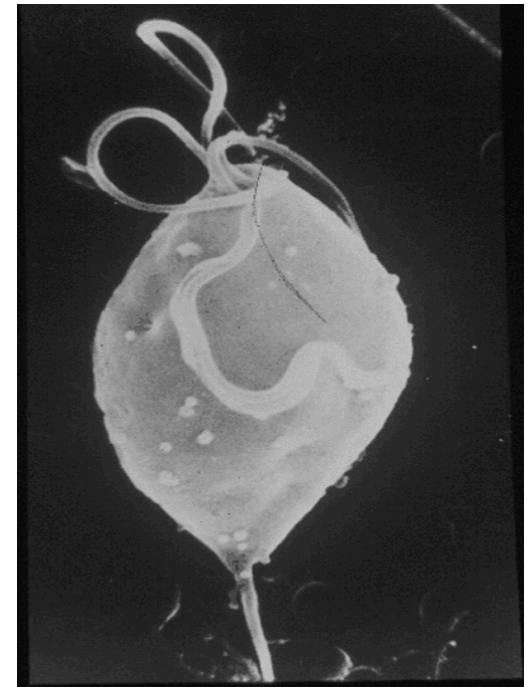
Tricomoníase

Agente etiológico

✓ Tricomoniase é uma doença causada pelo protozoário *Trichomonas vaginalis*.

✓ Taxonomia

- Reino : Protista
- Sub-reino: Protozoa
- Filo: Sarcomastigophora
- Sub-filo: Mastigophora
- Classe: Trichomonadae (Zoomastigophorea)
- Família: Trichomonadidae
- Gênero: *Trichomonas*



Epidemiologia

Estimativa de incidência global de doenças sexualmente transmissíveis em 2005 e 2008 (milhões de casos).

	2005	2008	% change
<i>Chlamydia trachomatis</i>	101.5	105.7	4.1
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	87.7	106.1	21.0
Syphilis	10.6	10.6	0
<i>Trichomonas vaginalis</i>	248.5	276.4	11.2
Total	448.3	498.9	11.3

Incidência e Prevalência (em milhões de casos) de Tricomoníase. (2008)

Região	Incidência	Prevalência
África	59,7	42,8
Américas	85,4	57,8
Sudeste Asiático	42,9	28,7
Europa	22,6	14,3
Mediterrâneo Oriental	20,2	13,2
Pacífico Ocidental	45,7	30,1

Epidemiologia

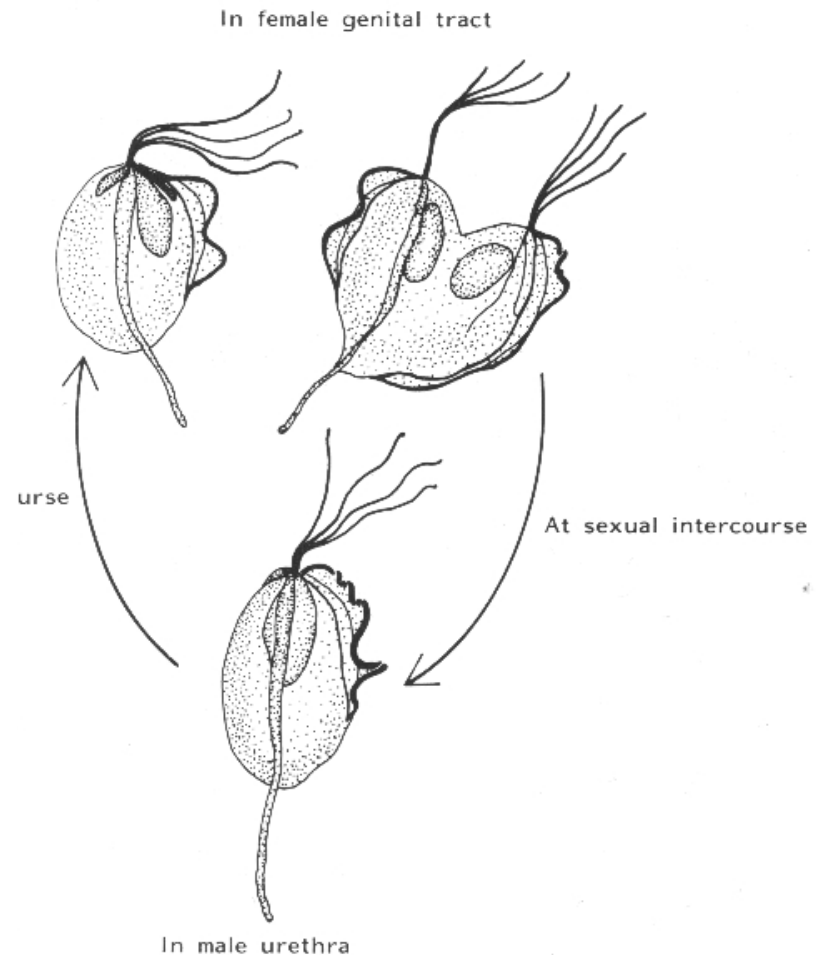
- É uma doença sexualmente transmitida e de distribuição mundial;
- Doença sexualmente transmissível não-viral mais prevalente;
- 4,3 milhões de casos por ano no Brasil (SVS, 2006);
- Infecta homens e mulheres na mesma proporção, porém as mulheres apresentam mais sintomas.

Epidemiologia

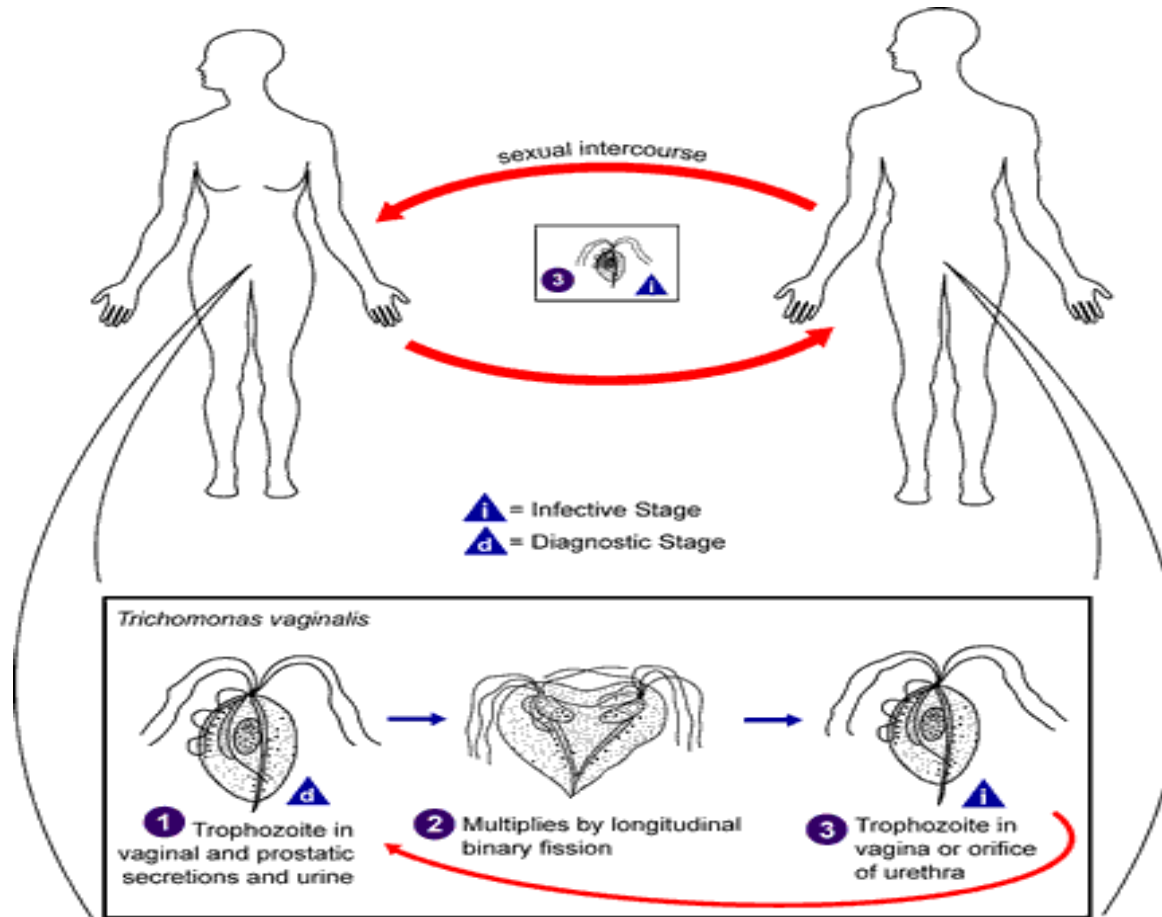
- A maioria dos homens infectados é assintomática;
- Cerca de 25 a 50% das mulheres positivas são assintomáticas;
- Nas mulheres, a infecção com *T. vaginalis* está associada a:
 - câncer cervical;
 - doença inflamatória pélvica;
 - parto prematuro devido ao rompimento das membranas placentárias;
 - baixo peso do recém nascido;
 - aquisição e transmissão do HIV (também em homens).

Mecanismos de Transmissão

1. Relação sexual (+ frequente)
2. Durante o parto
3. Outras formas de transmissão
 - ✓ roupa íntima ou de cama
 - ✓ instalações sanitárias

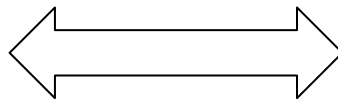
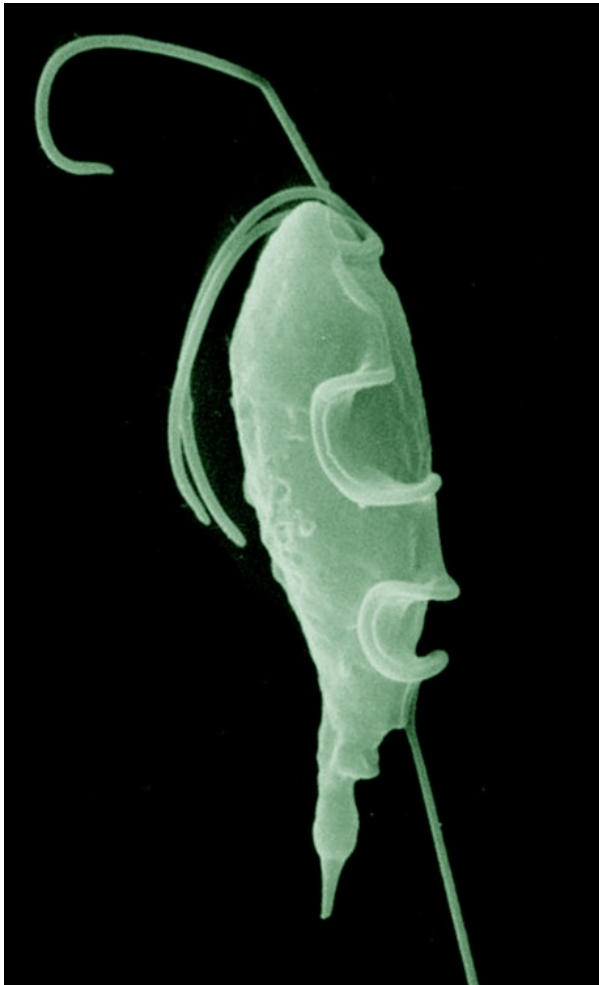


Ciclo de Vida

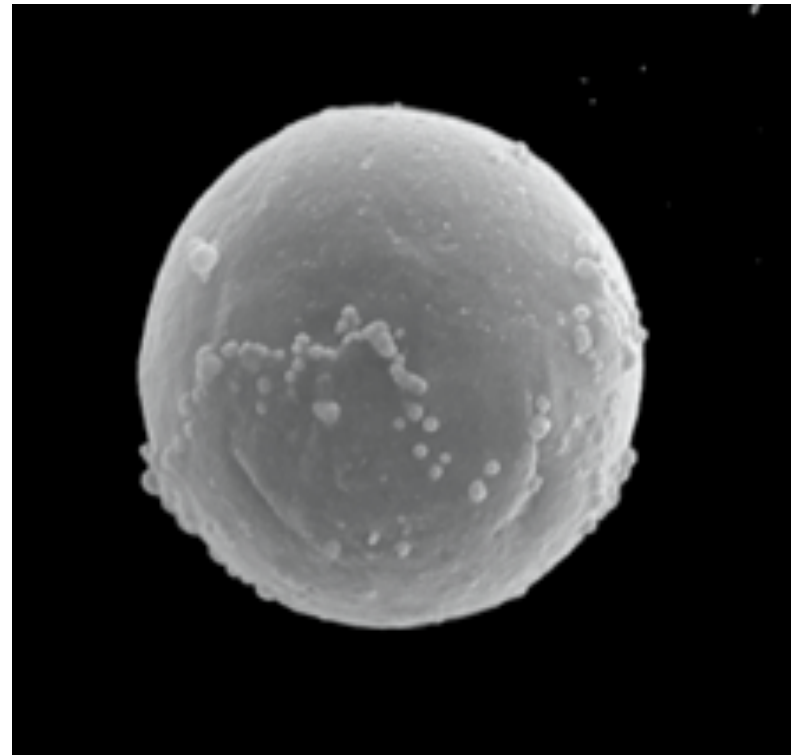


- Trofozoítos
- Reproduz-se por divisão binária longitudinal
- Não forma cistos

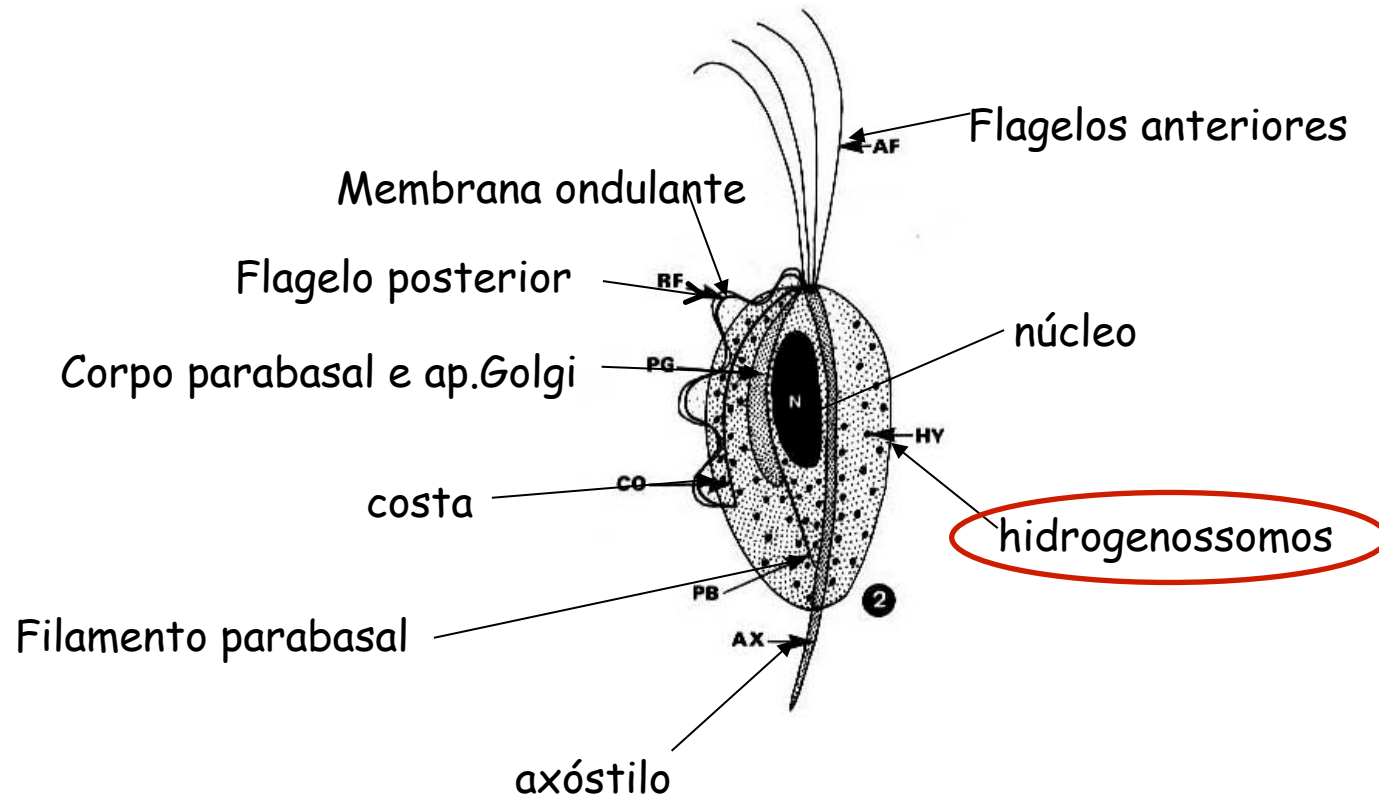
Forma normal
flagelos externalizados



Pseudocisto:
forma intraflagelar

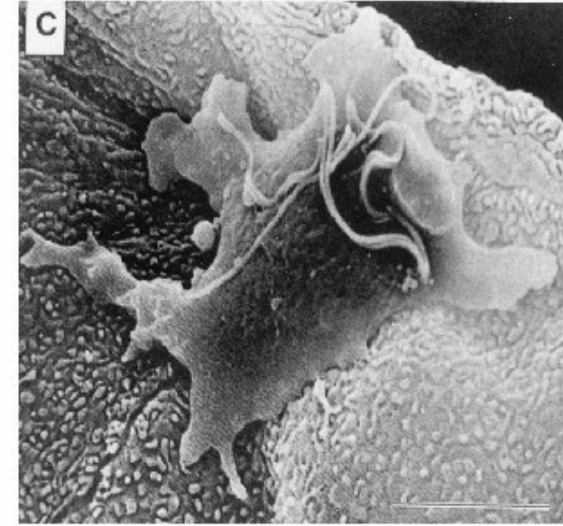
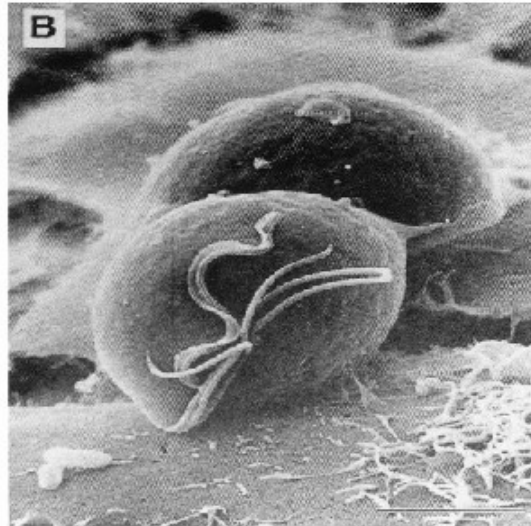
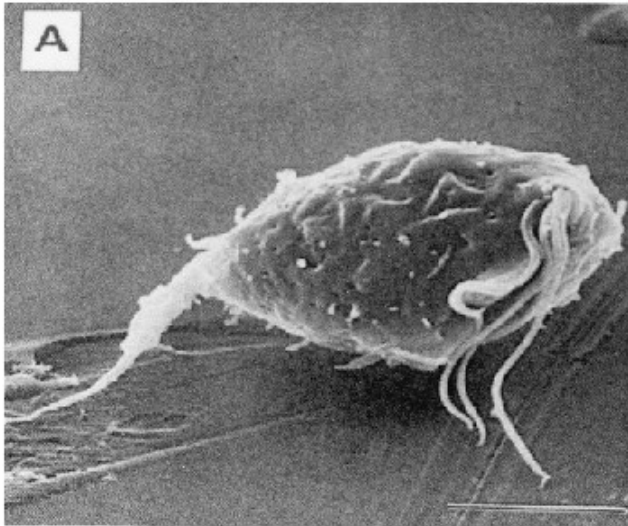


Trofozoítos



- ✓ Habita o trato genito-urinário masculino e feminino;
- ✓ Seu formato pode variar entre ovóides, arredondados ou elipsóides;
- ✓ Possui 4 flagelos anteriores desiguais, uma membrana ondulante e emitem pseudópodes para captar alimentos;
- ✓ Medem em média $9,7 \mu\text{m}$ de comprimento por $7 \mu\text{m}$ de largura;

Morfologia



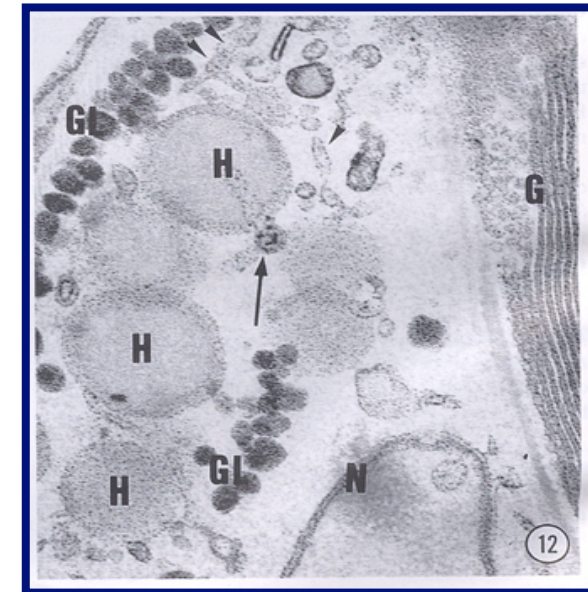
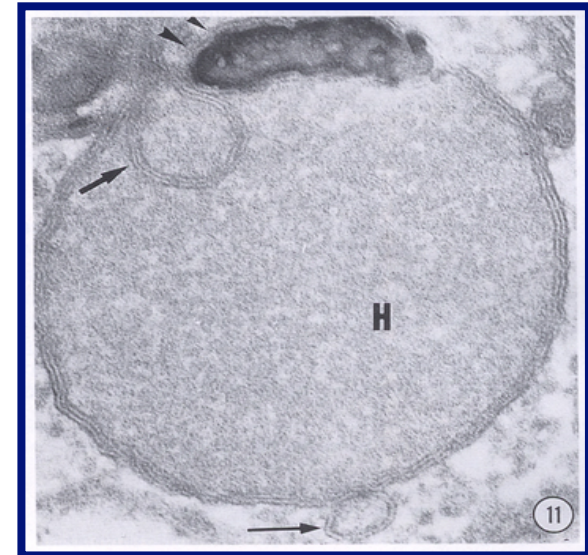
A: *T. vaginalis* vista em meio de cultura. O axóstilo, a membrana ondulante e os flagelos são bastante visíveis

B: *T. vaginalis* na superfície de uma célula epitelial vaginal

C: Morfologia amebóide da *T. vaginalis* aderida a uma célula de cultura.



- ✓ É anaeróbico utilizando glicose, maltose e galactose como fontes de energia;
- ✓ Precisa que o hospedeiro sintetize moléculas essenciais (nucleotídeos, ácidos graxos, aminoácidos);
- ✓ A presença de ferro é importante para sua sobrevivência;
- ✓ Cresce bem em pH entre 5 e 7,5;
- ✓ Não possui mitocôndrias;
- ✓ Contém **hidrogenossomos** (envolvidos no metabolismo de carboidratos). Hidrogenases transformam piruvato em acetato e liberam ATP e H_2 .

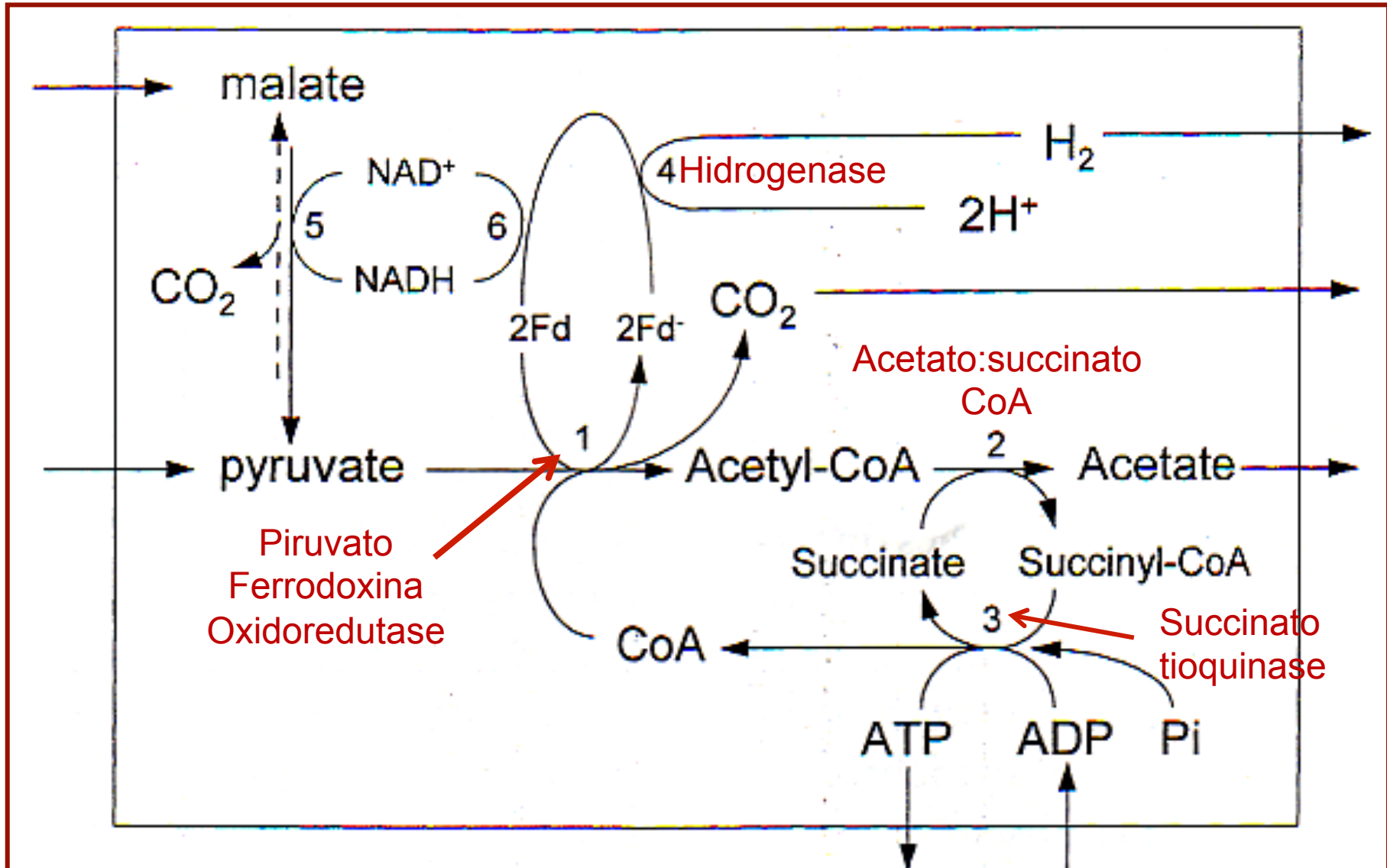


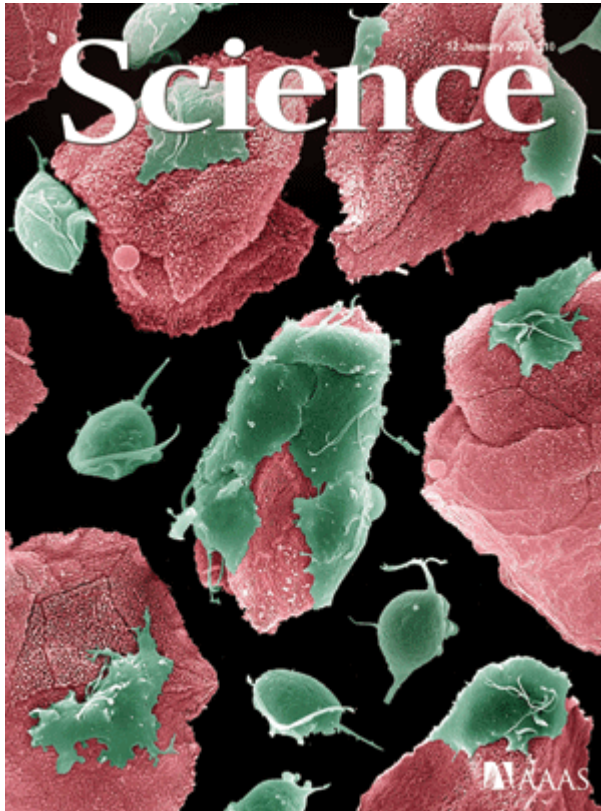
- 0.5-2 μm de tamanho com membrana dupla

- não contém material genético



Metabolismo no Hidrogenossomo

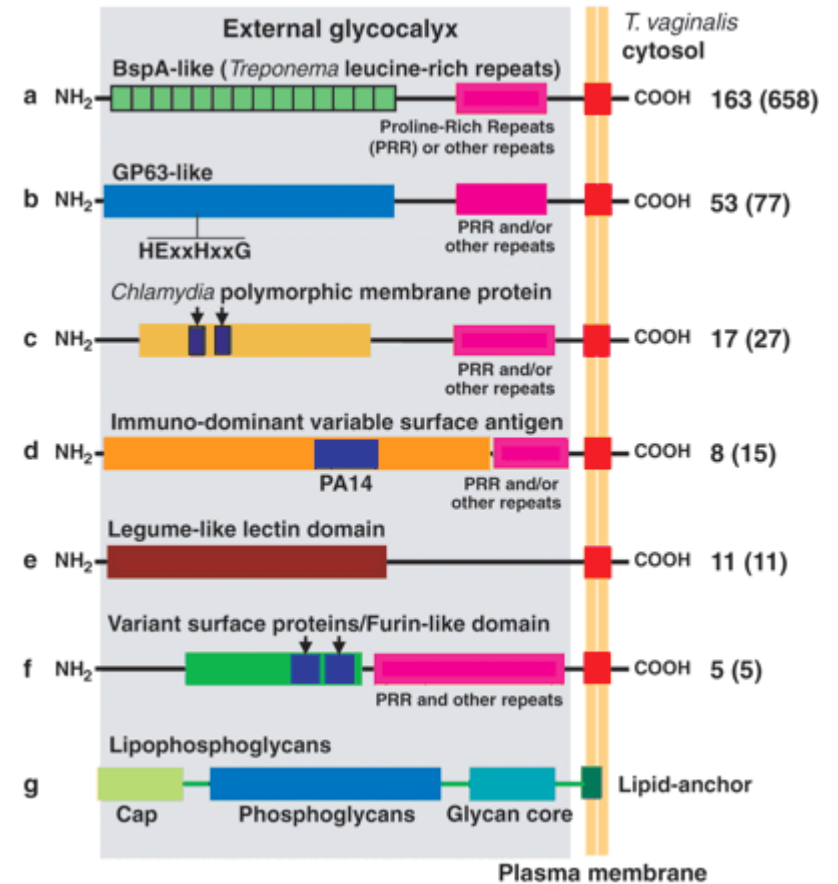




Draft genome sequence of the sexually transmitted pathogen *Trichomonas vaginalis*

Science 2007, 315:207

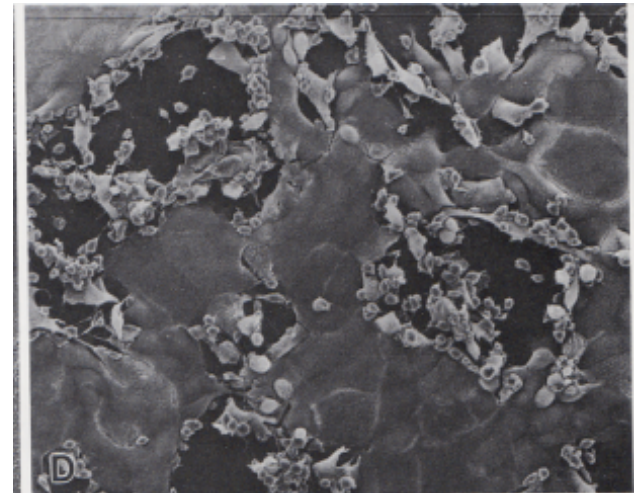
Organização estrutural de possíveis moléculas de superfície de *T. vaginalis* envolvidas na aderência e citotoxicidade às células hospedeiras.



Patogênese

Mecanismos moleculares:

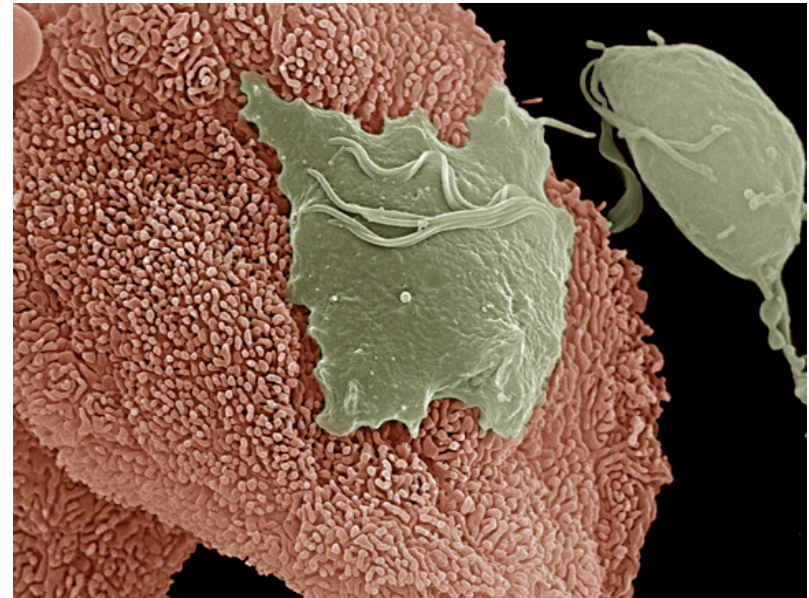
- ✓ Infecta o epitélio do trato genital;
- ✓ A capacidade de adesão tem papel muito importante na patogênese;
- ✓ A adesão é dependente de temperatura, pH e tempo;
- ✓ Adesão dá-se através de proteínas: adesinas (tratamento com tripsina abole adesão). São 5 tipos: AP23, AP33, AP51, AP65 e AP120.

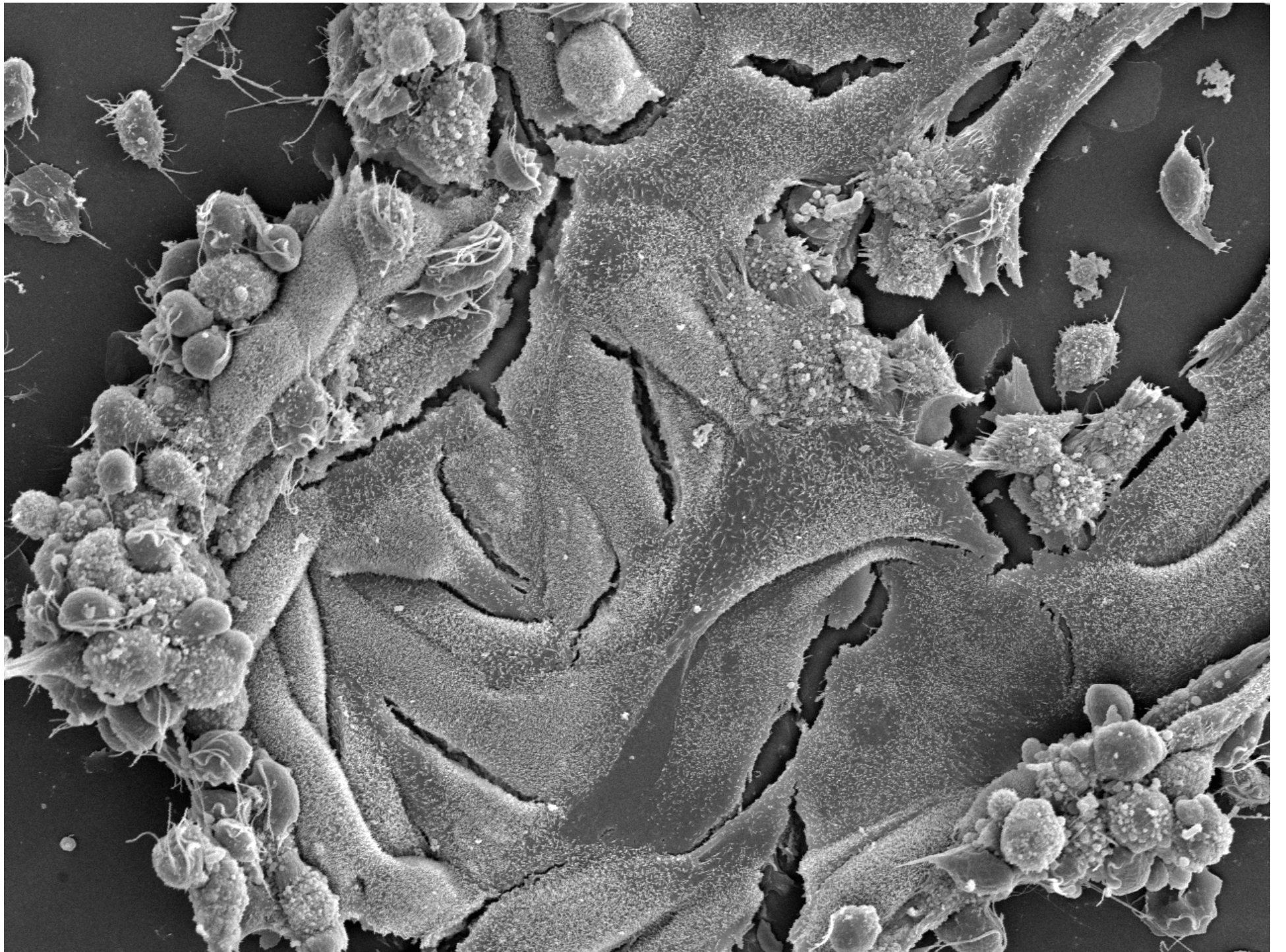


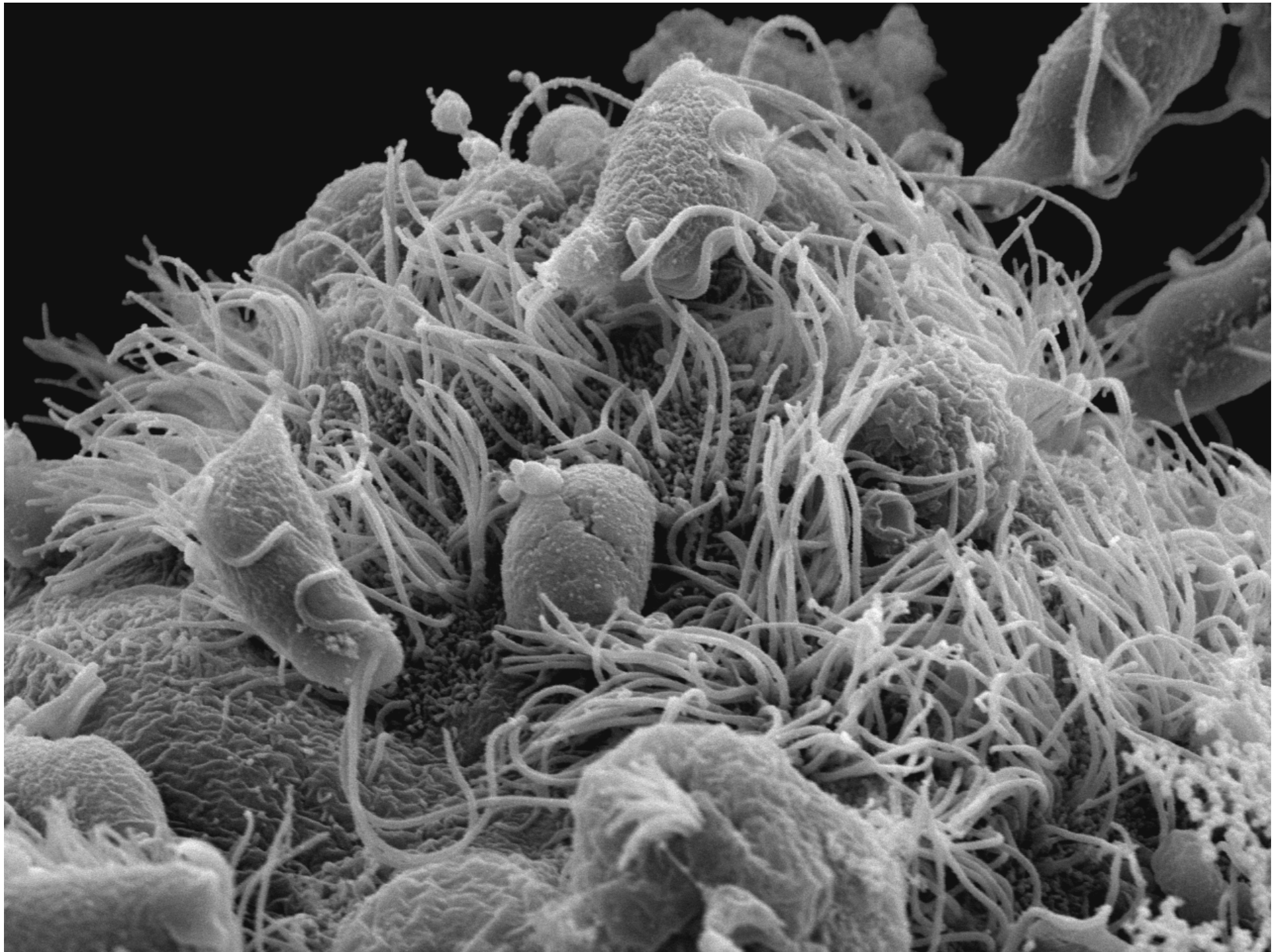
Patogênese

Mecanismos moleculares:

- ✓ Expressa lipofosfoglicanos (LPG) que tem também a função de auxiliar na ligação à matriz extracelular e as células endoteliais;
- ✓ Expressa cisteíno-proteases (CPs) extracelulares que digerem mucinas;
- ✓ São pelo menos 23 classes de CPs;
- ✓ Produz o chamado fator de descolamento de células (cell detaching factor) que é uma glicoproteína de 200kDa ativa em pH 5-8.5.







Apoptose > Necrose secundária

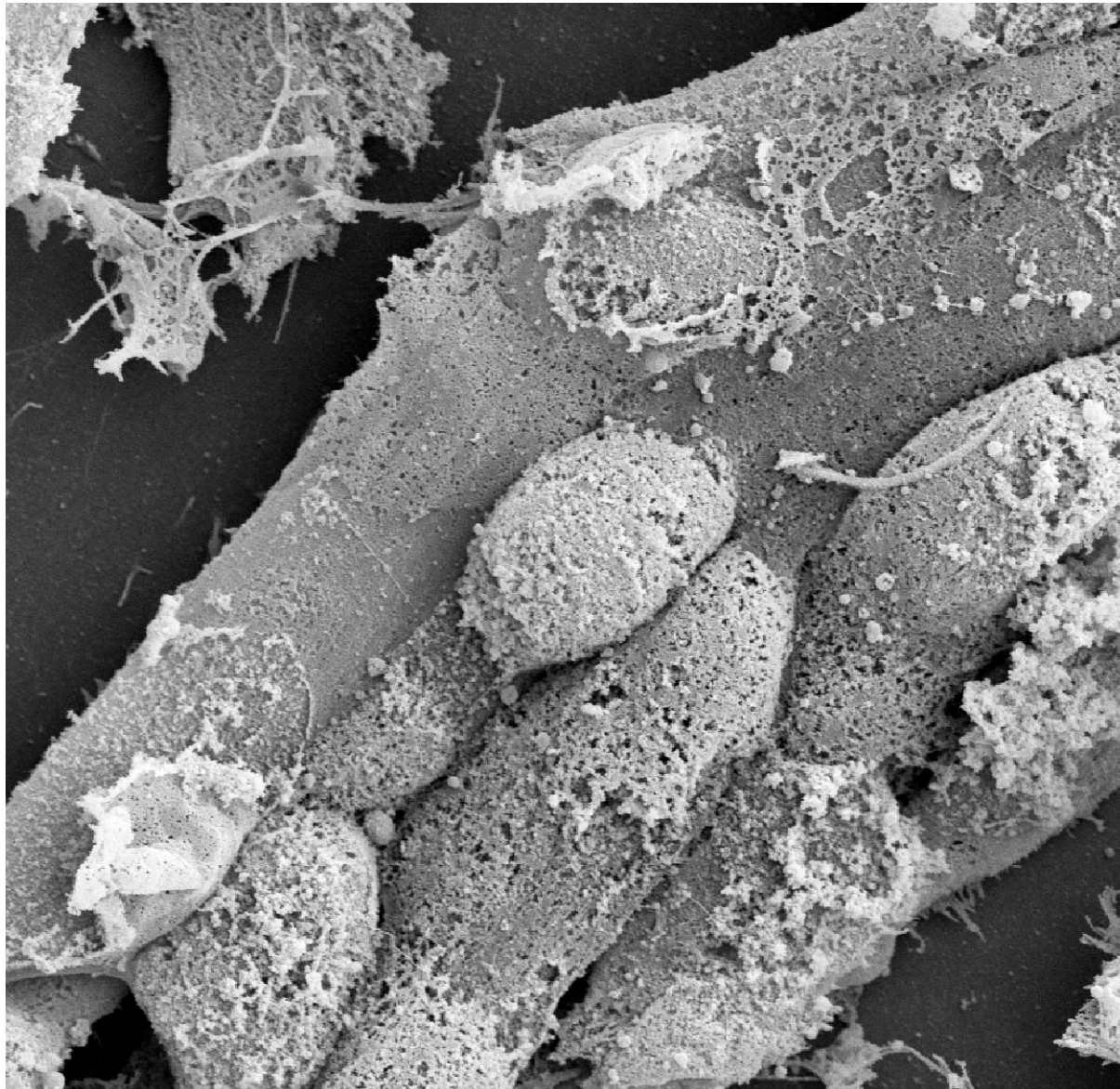


Table 1. Virulence mechanisms that involve cysteine proteinases in *Trichomonas vaginalis*.

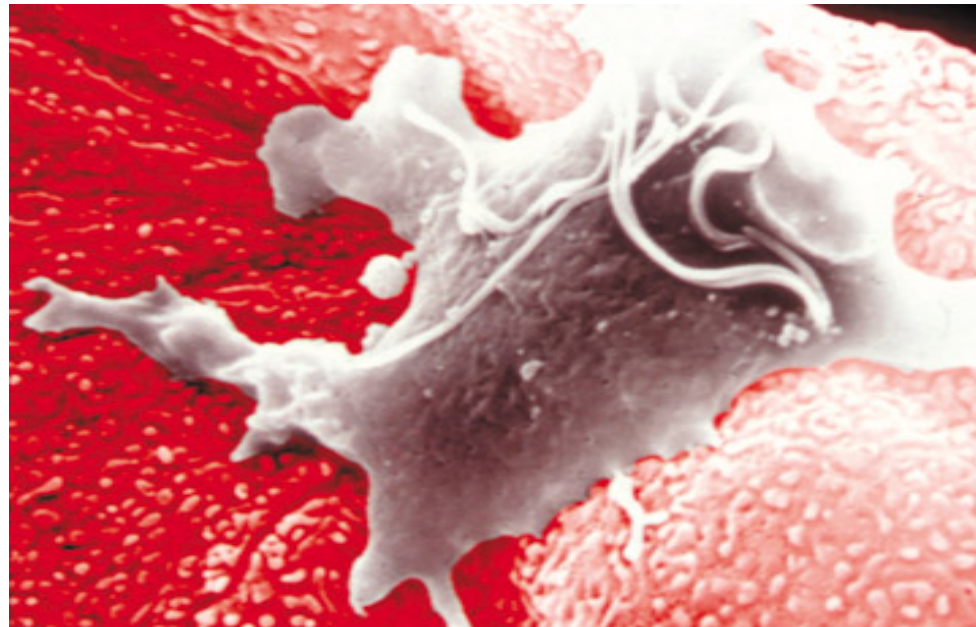
Virulence mechanisms	References
Invasion of the mucous layer	Lehker & Sweeney (1999) [65]
Cytoadherence	Arroyo & Alderete (1989, 1995); Mendoza-López et al. (2000); Hernández et al. (2004) [12, 13, 49, 70]
Cytotoxicity	Alvarez-Sánchez et al. (2000, 2007, 2008); Hernández-Gutierrez et al. (2003, 2004); Kummer et al. (2008); de Jesus et al. (2009); Ramón-Luing et al. (2011) [8–10, 28, 45, 46, 60, 81]
Cytoskeleton disruption of red blood cells and hemolysis	Dailey et al. (1990); Fiori et al. (1993, 1997) [27, 36, 37]
Degradation of immunoglobulins	Provenzano & Alderete (1995); Hernández-Gutierrez et al. (2004) [45, 78]
Apoptosis	Chang et al. (2004, 2006); Sommer et al. (2005); Kang et al. (2006); Fichorova (2009) [24, 25, 32, 55, 91]

Mecanismos de Evasão do Sistema Imune

- CPs dependentes de ferro são expressas e degradam o fator C3 da cascata do complemento;
- CPs digerem também um inibidor de proteases solúvel produzido por leucócitos (SLPI);
- TVCP39 degrada fibronectina, colágeno, imunoglobulinas locais (IgA e IgG);
- TVCP30 induz apoptose de células epiteliais e também de linfócitos T, macrófagos e células dendríticas;
- *T. vaginalis* pode fagocitar os lactobacilos responsáveis pela manutenção do pH ácido da vagina.

Indução de imunidade

- Resposta imune protetora- IgA secretora
- Reinfecções - ausência de imunidade adquirida
 - grande variabilidade de isolados



Manifestações Clínicas

➤ Na mulher

- ✓ Assintomática: 25 a 50% dos casos
- ✓ Vaginite aguda:
 - Corrimento vaginal fluido, bolhoso e abundante de cor amarelo-esverdeada e de odor fétido
 - Prurido ou irritação vulvovaginal
 - Dor durante as relações sexuais
 - Dor ao urinar (disúria)
 - Dor pélvica
- ✓ Vaginite crônica: sintomas leves
- ✓ Aumenta a transmissão do HIV



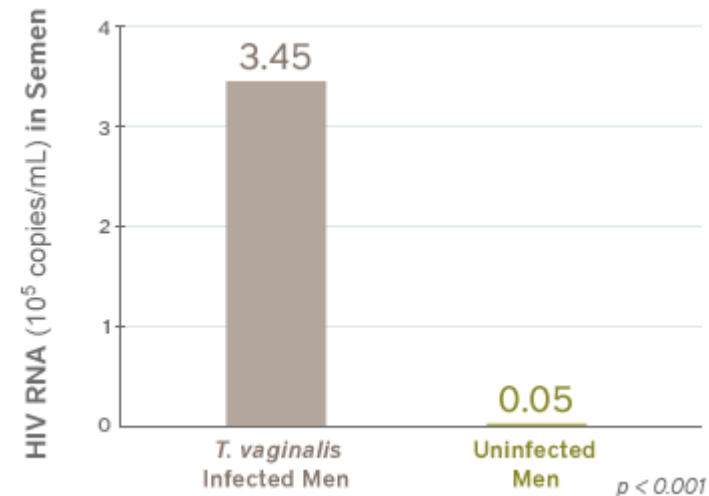
Manifestações Clínicas

➤ No homem:

- ✓ Assintomática (a maioria)
- ✓ Uretrite aguda: corrimento abundante
- ✓ Sintomatologia leve: escasso corrimento, disúria, prurido
- ✓ Complicações (raras): epididimite, infertilidade e prostatite
- ✓ Aumenta a transmissão do HIV

Aumento da transmissão do HIV associado à tricomoníase pode ser o resultado de:

1. Inflamação local produzida pela doença
2. Rompimento dos tecidos produzido pela doença
3. Susceptibilidade à doença pode ser resultado da imunossupressão associada ao HIV



Homens seropositivos para HIV com uretrite sintomática e *Trichomonas* tiveram 69X mais RNA viral no sêmen do que homens HIV positivos não infectados com *Trichomonas*.

Diagnóstico

➤ Coleta da amostra

✓ Homem

- Materiais: secreção uretral, urina primeiro jato, esperma, secreção prostática e material sub-prepucial

✓ Mulher

- Material: secreção vaginal

➤ Exame

- Exame microscópico de preparações a fresco ou coradas (baixa sensibilidade)
- Imunofluorescência direta (sensível + cara)
- Cultura do parasito (resultados em 3 a 7 dias)

Diagnóstico

- Amplificação por PCR
- ✓ Altamente sensível porém caro;
- ✓ Difícil aplicação em países subdesenvolvidos.

Tratamento

➤ Instituído sob supervisão médica e deve incluir todos os parceiros sexuais

➤ Derivados nitroimidazólicos:

✓ Metronidazol

- contra-indicado para grávidas (1º trimestre)
- linhagens de parasitas resistentes na Europa

✓ Tinidazol

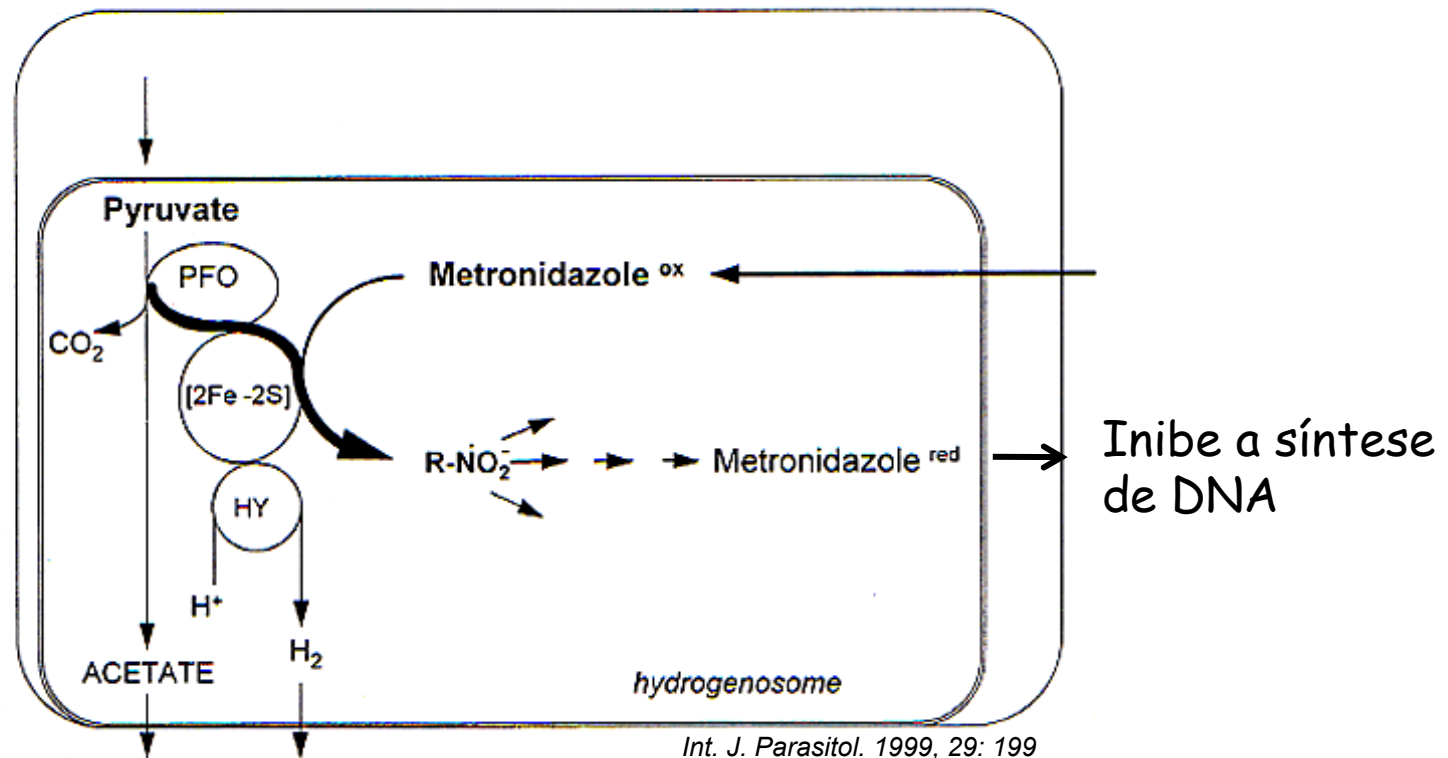
✓ Ornidazol

✓ Nimorazol

Tratamento

Agente	1ª opção	2ª opção	Outras opções (gestantes após o 1º trimestre e durante a amamentação)
Tricomoniase	Metronidazol 2g VO dose única ou Metronidazol 400- 500mg 12/12hs VO 7 dias	Secnidazol 2g, VO, dose única ou Tinidazol 2g VO dose única	Metronidazol 2 g VO dose única ou Metronidazol 400mg 12/12hs VO 7 dias ou 250 mg VO 3 vezes ao dia por 7 dias

Mecanismo de Ação do Metronidazol



Na presença do metronidazol, elétrons gerados pela PFO (piruvato ferredoxina oxidoreductase) são transportados pela ferredoxina $[2\text{Fe}-2\text{S}]$ para a droga e não para o seuceptor natural que é a hidrogenase (HY). Metronidazol é reduzido e ocorre a formação de um nitro ânion que é um radical livre. Os radicais livres citotóxicos (R-NO_2^-) são formados como produtos intermediários da redução da droga.

Desenvolvimento de Vacinas

- Não há nenhuma vacina disponível;
- Em modelo murino: teste usando parasitas misturados a adjuvante completo de Freund. Proteção possivelmente mediada por IgA e IgG;
- Uso de uma forma altamente glicosilada de LPG (TF1.17) levou a proteção em gado contra *T. foetus*.

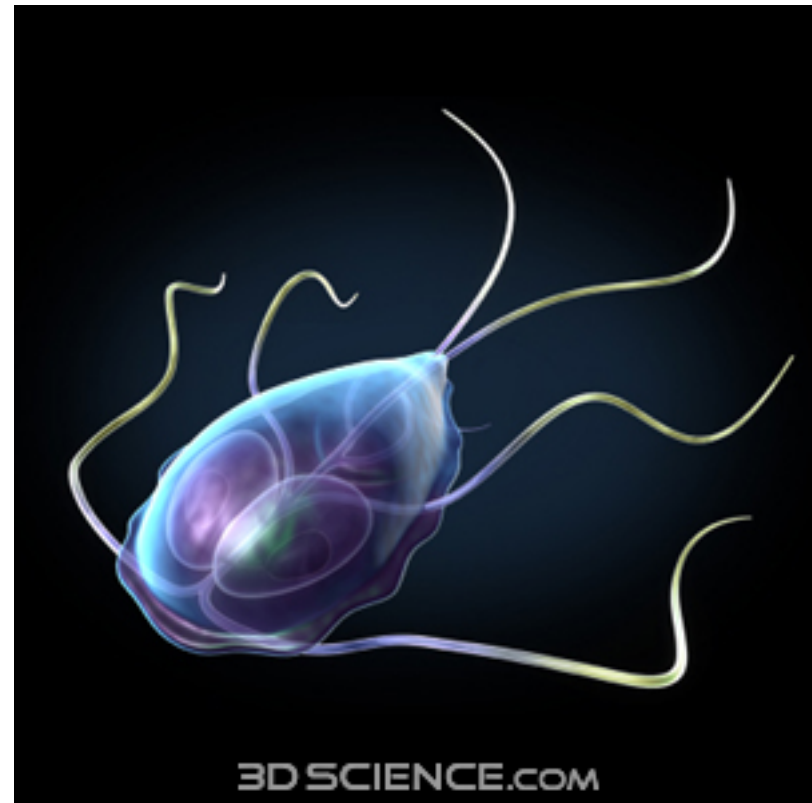
Giardíase

Agente etiológico

✓ Giardíase é uma doença causada pelo protozoário *Giardia lamblia* ou *G. duodenalis* ou *G. intestinalis*.

✓ Taxonomia

- Reino : Protista
- Sub-reino: Protozoa
- Filo: Sarcomastigophora
- Sub-filo: Mastigophora
- Classe: Zoomastigophorea
- Família: Hexamitidae
- Gênero: *Giardia*



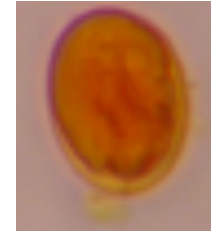
Diferentes espécies de *Giardia*

Espécie	Hospedeiro	Características	Comprimento (uM)	Largura (uM)
<i>G. lamblia</i>	Vários mamíferos-Homem	Trofozoítos em forma de pêra	12-15	6-8
<i>G. muris</i>	Roedores	Trofozoítos arredondados	3-12	5-7
<i>G. microti</i>	Ratos Silvestres	Cistos contém 2 trofozoítos diferenciados		
<i>G. psittaci</i>	Aves	Trofozoítos em forma de pêra	~14	~6
<i>G. ardeae</i>	Aves	Trofozoítos arredondados	~10	~6,5
<i>G. agilis</i>	Anfíbios	Trofozoítos longos e estreitos	20-29	4-5

Epidemiologia

- Distribuição mundial (cosmopolita)
- OMS: 500 mil novos casos/ano
- Atinge principalmente crianças de 8 meses à 10-12 anos (creches)
- Surtos epidêmicos veiculados por água
- Prevalência
 - ✓ 5 a 43% em países em desenvolvimento
 - ✓ 3 a 7% em países desenvolvidos

Mecanismos de Transmissão



➤ Cistos são responsáveis pela transmissão (sobrevivem na água)

➤ Água e alimentos contaminados

➤ Transmissão direta pelas mãos (fecal-oral)



➤ Período de incubação

✓ 1-4 semanas com média de 7-10 dias



Ciclo de Vida



Ciclo de Vida

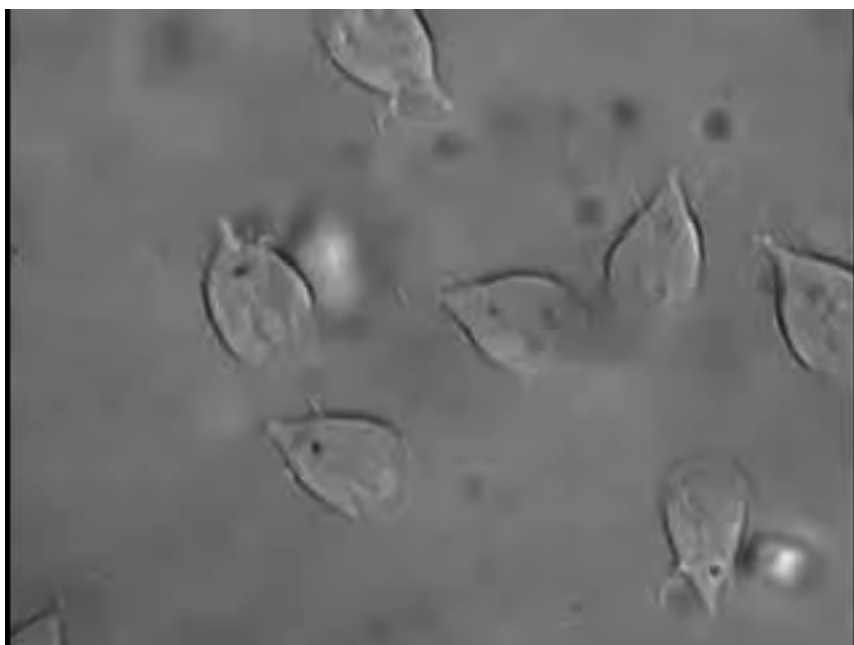


IDEXX
LABORATORIOS

Características Especiais

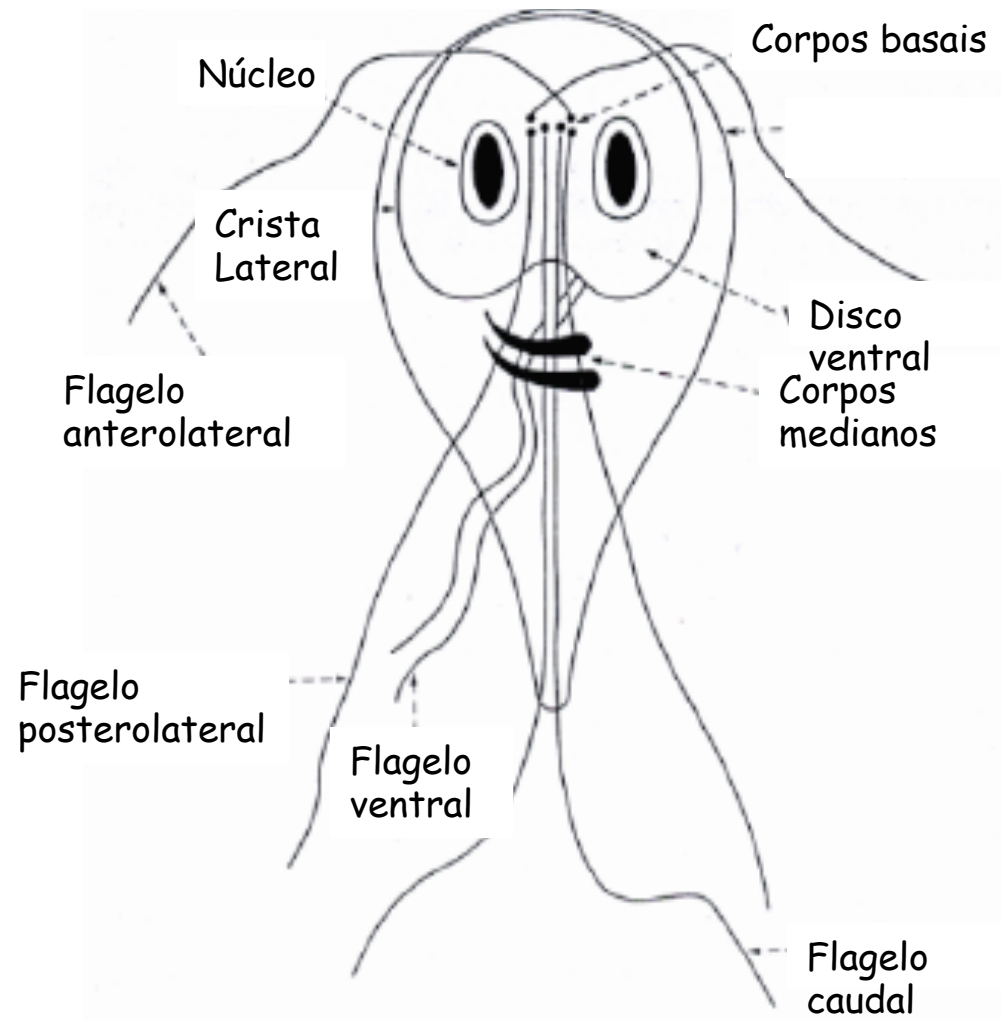
- Eucarioto dos mais primitivos (Fóssil vivo)
- Características de:
 - ✓ Eucarioto - membrana nuclear, citoesqueleto
 - ✓ Procarioto - ausência de nucléolo e de mitocôndria. Possui uma organela parecida com uma mitocôndria chamada mitossoma.
- Metabolismo - anaeróbico
- Utiliza glicose e armazena glicogênio





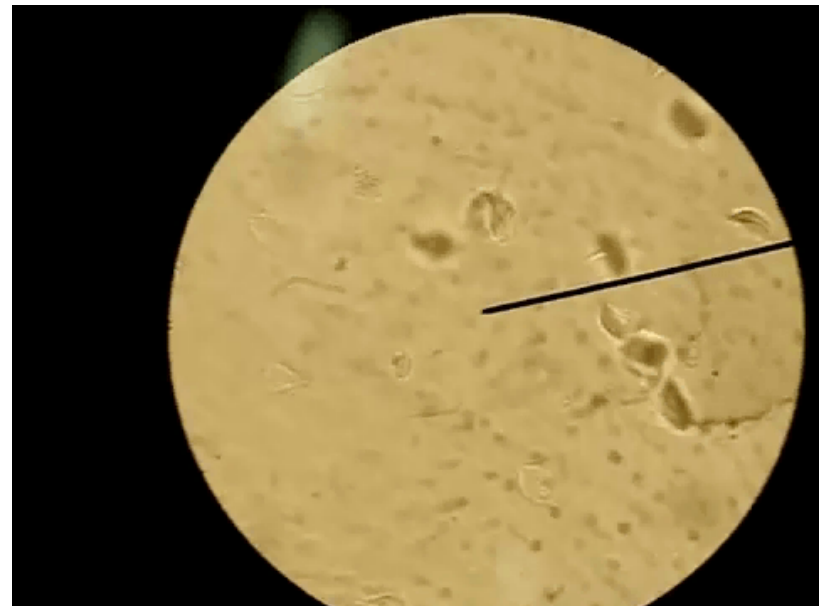
Formas de vida - Trofozoíto

- Piriforme (12-15 μm de comprimento)
- simetria bilateral
- achatamento dorsoventral
- superfície ventral - disco adesivo
- 2 núcleos
- ✓ = quantidade de DNA
- ✓ ambos ativos transcripcionalmente
- ✓ ambos dividem ao mesmo tempo
- 4 pares de flagelos
- Reproduz-se por fissão binária

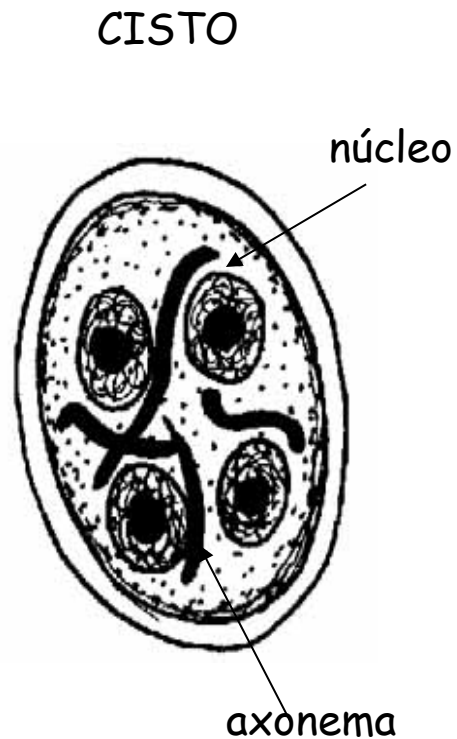


Formas de vida - Trofozoíto

- habitat: duodeno e parte do jejuno
 - ✓ mergulhados nas criptas
 - ✓ aderidos mucosa - disco suctorial
- metabolismo: anaeróbico (não tem mitocôndria)
- aerotolerante
- nutrição: membrana e pinocitose
- Deslocamento rápido por batimento dos flagelos
- Reprodução: divisão binária longitudinal
 - ✓ cultivável



Formas de vida - Cisto



- ovóides com parede cística (quitina)
- 4 núcleos (duplas estruturas internas)
- eliminados com as fezes formadas
- formas de resistência
água: 2 meses

Sintomatologia

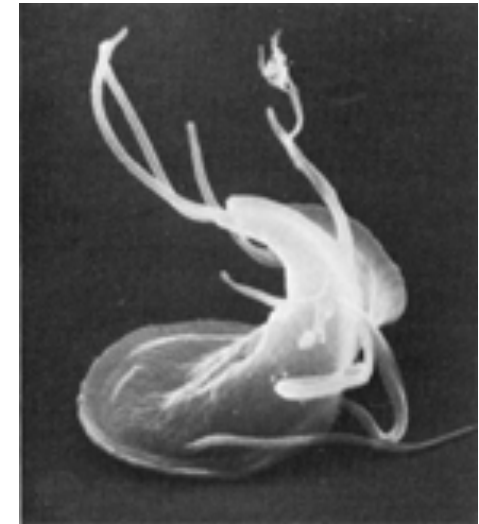
➤ Variável

✓ Assintomática

✓ Sintomática

- Dores abdominais (cólicas)
- Diarreia (líquida) - muco + gordura - ausência de hemácias
- Náusea e vômitos
- Má absorção intestinal

Incubação: 1-2 semanas

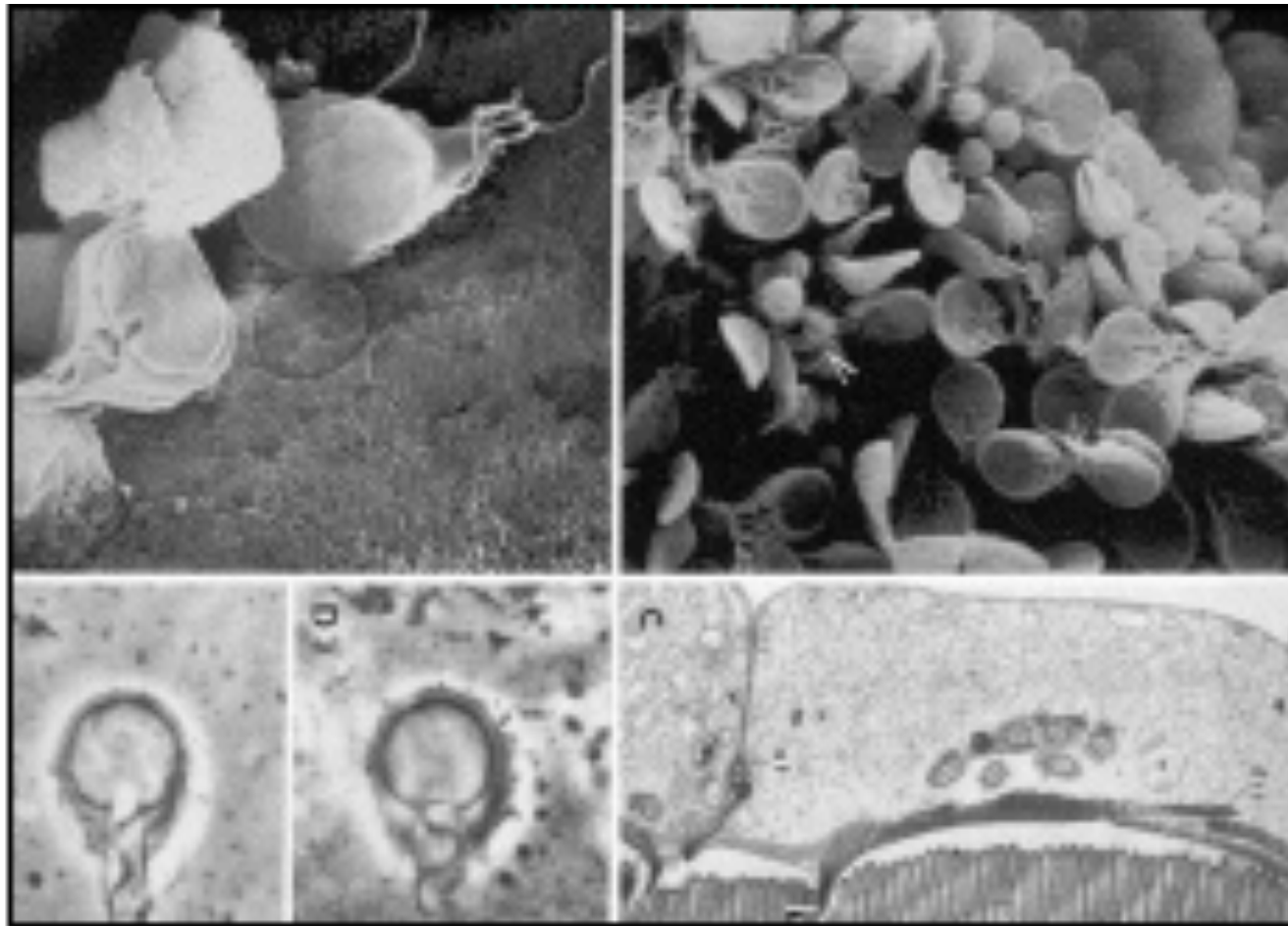


Mecanismo de patogenicidade

- processo "principalmente" mecânico
- parasitas em grande quantidade aderem e recobrem a parede do duodeno - "tapete"
- "impression prints" - marcas deixadas quando o parasita descola, arrancando as microvilosidades

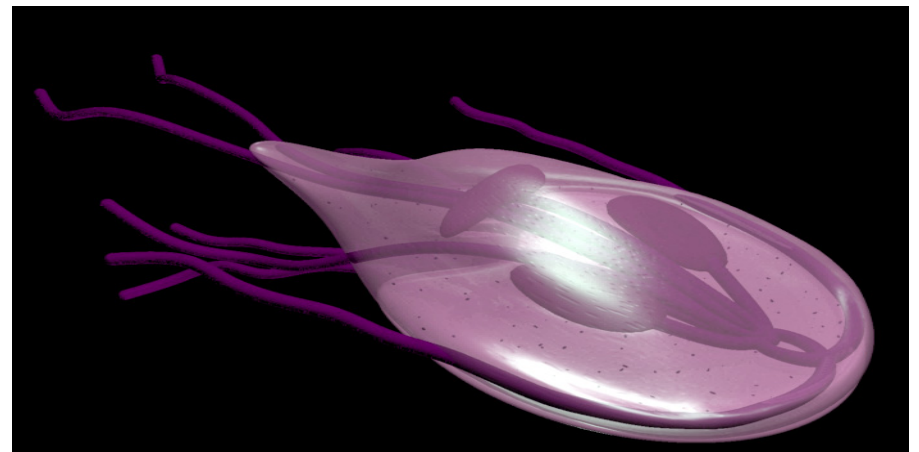


Adesão dos trofozoítos às células epiteliais do intestino delgado



Mecanismos de Adesão Via Disco Ventral

- Ação hidrodinâmica: propulsão dos flagelos e a força de sucção do disco ventral - processo físico de adesão;
- Receptores: lectinas ligantes de manose (superfície do parasito);
- Contração das proteínas do disco ventral.



Mecanismos de patogenicidade

- Evidências da presença de uma toxina (CRP136)
- Não ocorre invasão da mucosa
- O revestimento da parede do duodeno dificulta a absorção intestinal (?) - diarreia
- Grande número de trofozoítos é eliminado.



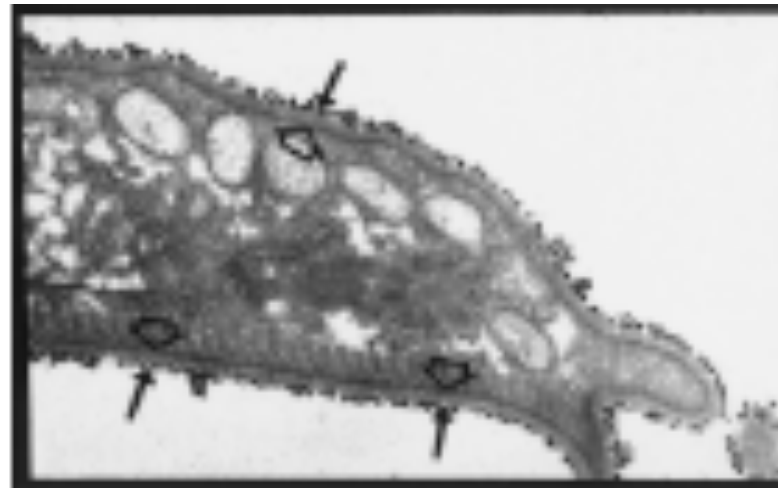
Relação Parasita-Hospedeiro

➤ Resposta do hospedeiro

- ✓ Aguda - neutrófilos e eosinófilos
- ✓ Crônica: inflamação - atrofia das microvilosidades
- ✓ Participação de IgM, IgA e IgG específicos
- ✓ HIV: não induz aumento ou gravidade de casos

Mecanismos de Escape

- Variação antigênica
 - ✓ 200 VSPs - proteínas variáveis de superfície (cada trofozoita expressa apenas 1 VSP)
- Evasão do sistema imune
- Sobrevivência em diferentes condições intestinais



Diagnóstico

➤ Parasitológico

- ✓ **Nas fezes formadas** - pesquisa de cistos com salina ou lugol pelo método de Faust;
- ✓ **Nas fezes diarréicas** - pesquisa de trofozoítos ou cistos- (imediatamente após a coleta ou colocar em soluções conservantes pois os trofozoítos tem viabilidade curta);
- ✓ **No fluido duodenal** - pesquisa de trofozoítos em biópsia jejunal ou "Entero-test" (para casos de diarréia crônica).

Diagnóstico

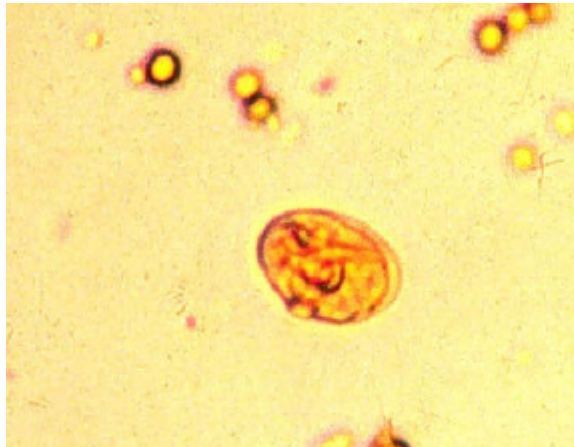
➤ Imunológico

- ✓ **No soro** - pesquisa de anticorpos por ELISA ou IFI - pouco sensível e específico;
- ✓ **Nas fezes** - pesquisa de antígenos por ELISA - sensibilidade em torno de 85% a 95% e especificidade de 90 a 100%.

➤ Molecular

- ✓ **Amostras de água** - pesquisa de DNA parasitário por PCR.

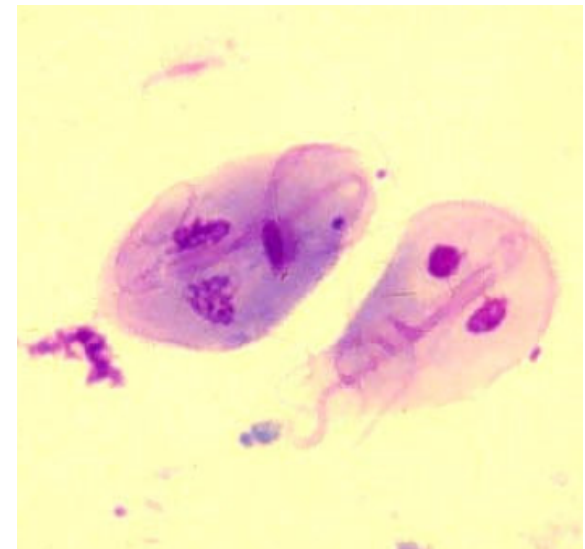
Diagnóstico



Cisto corado com lugol



Cisto à fresco



Trofozoítos corados
com Giemsa

Profilaxia

- Saneamento básico (água)
- Higiene - creches, asilos
- Cuidados com alimentos
- Tratamento dos doentes
- Tratamento dos portadores assintomáticos - muito importante
- Animais domésticos (cães e gatos) são reservatórios

Tratamento

5-Nitroimidazóis

Medicamento	Adulto	Criança	Meia vida
Secnidazol	2g, VO, dose única	30mg/kg ou 1ml/kg, dose única tomada após uma refeição	~17-29 hs
Tinidazol	2g, VO, dose única	-	~12-13 hs
Metronidazol	250mg, VO, 2 vezes ao dia, por 5 dias	15mg/kg/dia (máximo de 250mg), VO, dividida em 2 tomadas, por 5 dias	~ 7 hs

Fonte: SVS, 2006

➤ Resistência

Vacinas

➤ GiardiaVax para cães e gatos: composta de lisados celulares de isolados de Giardia de carneiros, cachorros e humanos.

➤ Em modelo murino: vacina viva que utiliza *Salmonella enterica* seovar Typhimurium expressando $\alpha 1$ -giardina (proteína conservada): proteção mediada por anticorpos IgG e IgA



Amebíase

Agente etiológico

✓ Amebíase é uma doença causada pelo protozoário

Entamoeba histolytica

✓ Taxonomia

- Reino : Protista
- Sub-reino: Protozoa
- Filo: Sarcomastigophora
- Sub-filos: Mastigophora
- Classe: Lobosea
- Família: Endamoebidae
- Gênero: Entamoeba



Amebas

Protozoários com inúmeros habitats:

- Vida livre → Vários gêneros e espécies
- Parasitas → *Entamoeba histolytica*
- Comensais → *Entamoeba coli*, *E. dispar*,
E. hartmanni, *E. gingivalis*,
Endolimax nana,
Iodamoeba bütschlii
- Vida livre,
eventualmente
parasitas → *Acanthamoeba*, *Naegleria*

Complexo: *E. histolytica* / *E. dispar*

- Aproximadamente durante um século *E. histolytica* foi considerada como única espécie. Descobriu-se no entanto outra espécie (*E. dispar*) que é morfologicamente idêntica porém não patogênica.
- Diferenças entre *E. histolytica* e *E. dispar*:
 - ✓ Evidências bioquímicas: diferenças no perfil isoenzimático (zimodemas);
 - ✓ Padrão de crescimento em culturas axênicas (*E. histolytica* cresce melhor);
 - ✓ Capacidade de adesão a células alvo (mediada por lectinas): há diferenças antigênicas (detectadas por anticorpos monoclonais) e funcionais entre as lectinas de adesão;
 - ✓ Diferenças na composição de glicoconjugados de membrana: lipofosfoglicano (LPG) abundante em *E. histolytica*;
 - ✓ Diferenças genéticas demonstráveis por métodos moleculares.

Epidemiologia

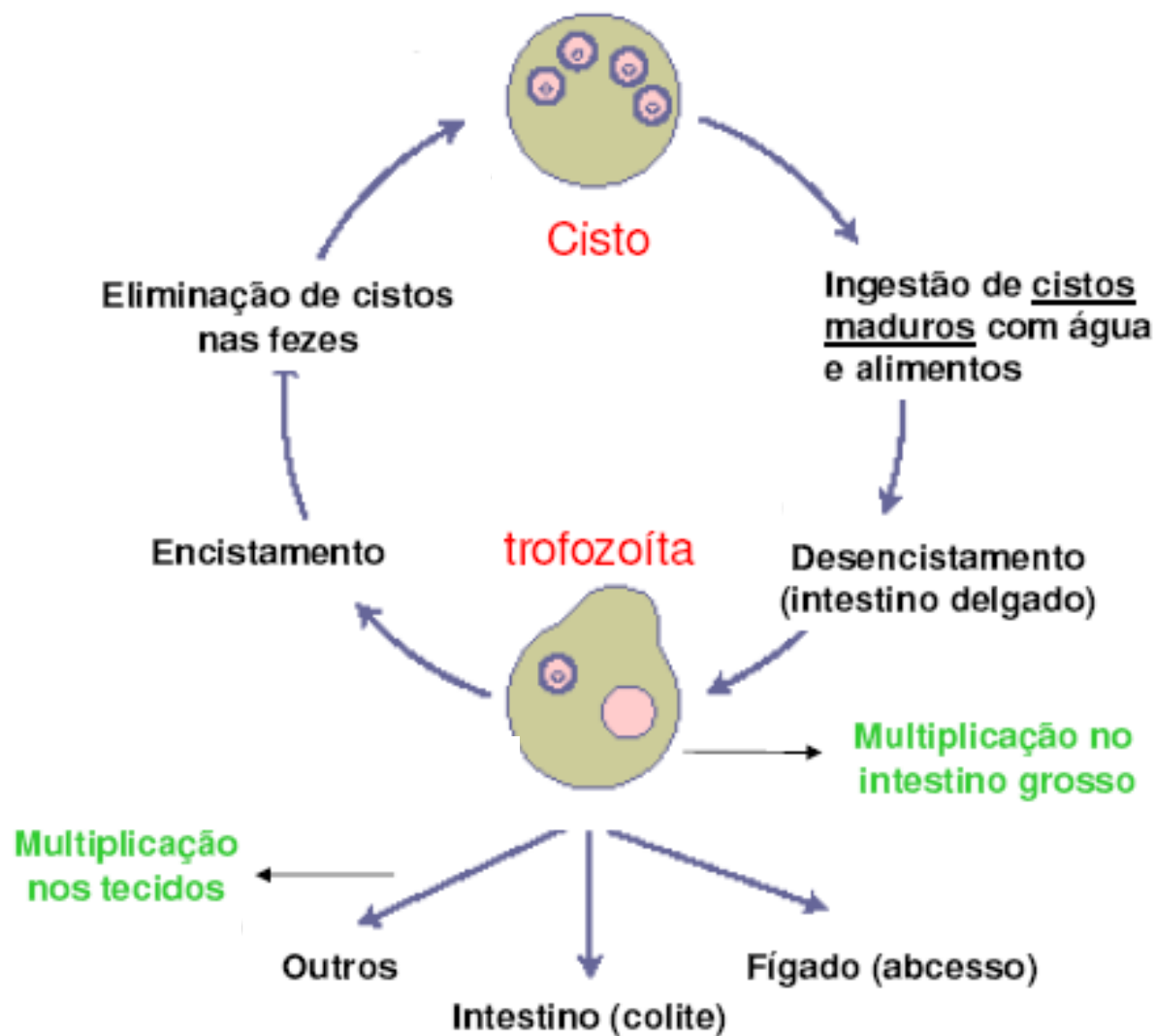
- Cosmopolita- varia de acordo com a região de 5 a 50% pessoas infectadas

Região	Infecção/ ano	Doença/ ano	Mortes/ ano
África	85 milhões	10 milhões	10-30 mil
Ásia	300 milhões	20-30 milhões	25-50 mil
Europa	20 milhões	100 mil	Mínima
Américas	95 milhões	10 milhões	10-30 mil
Totais	650 milhões	40-50 milhões	40-110 mil

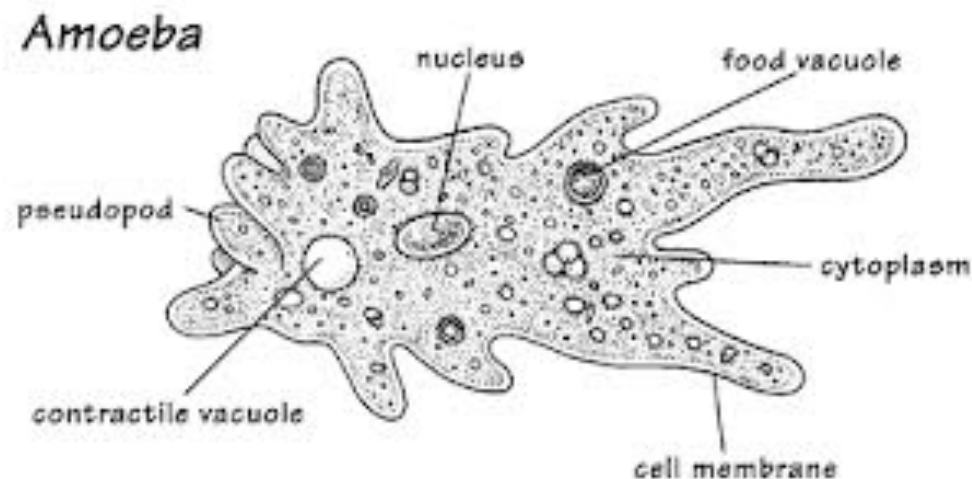
Mecanismos de transmissão

- Ingestão de cistos
 - ✓ fecal-oral
 - ✓ água ou alimentos contaminados
- Cistos são viáveis por até ~ 30 dias no meio externo
 - passam pelo estômago (quitina)
 - resistem ao pH ácido e as enzimas digestivas
 - pH alcalino do intestino delgado: desencistamento
- Ciclo: luz intestino grosso: trofozoítos dividem-se por divisão binária
- ◆ Trofozoítas - destruídos no estômago

Ciclo de vida



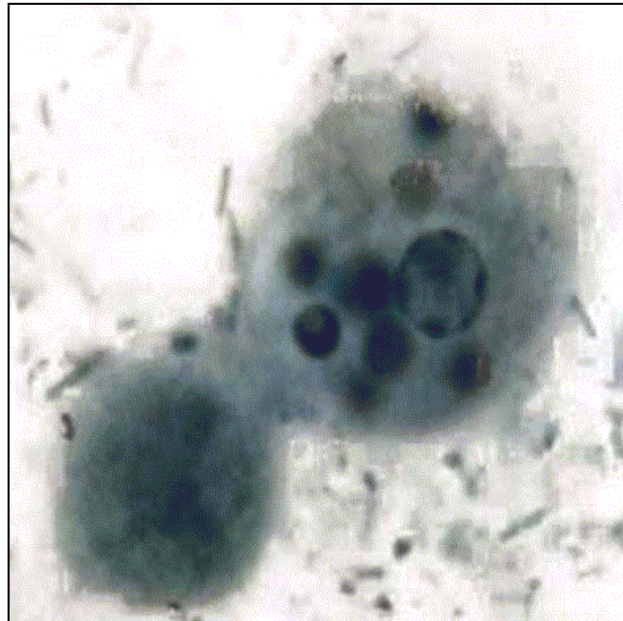
- Até recentemente era considerada um eucarioto primitivo por não possuir Mitocôndria, REG ou Aparelho de Golgi;
- Porém, houve a identificação de:
 - Proteína dissulfeto isomerase (abundante no REG);
 - Galactose-UDP e glucose-UDP (componentes do Aparelho de Golgi).
- Possui uma organela chamada mitossoma (exerce função de mitocôndria)



Formas de Vida

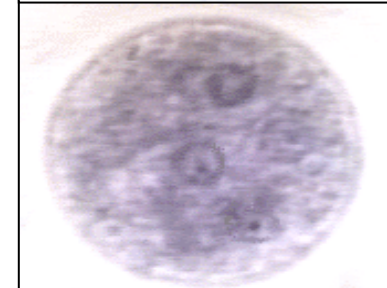
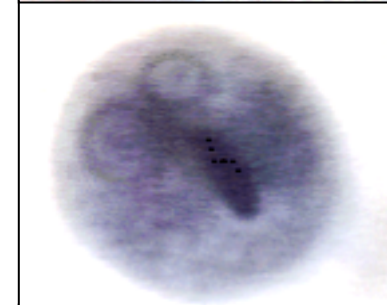
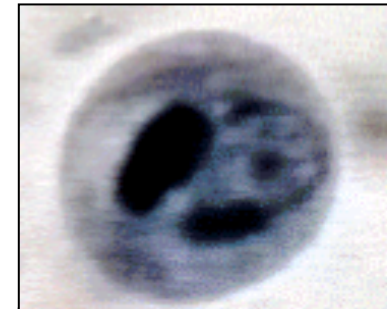
Trofozoíto

- 1 núcleo
- citoplasma: ecto e endoplasma
- ingestão pinocitose/fagocitose: bactérias/hemáceas (forma invasiva)
- multiplicação: divisão binária simples



Cisto

- 1-4 núcleos
- esféricos/ovais
- forma de resistência
- eliminado nas fezes



➤ Trofozoíto: forma ativa, que se alimenta (via pinocitose, fagocitose) e se reproduz rapidamente

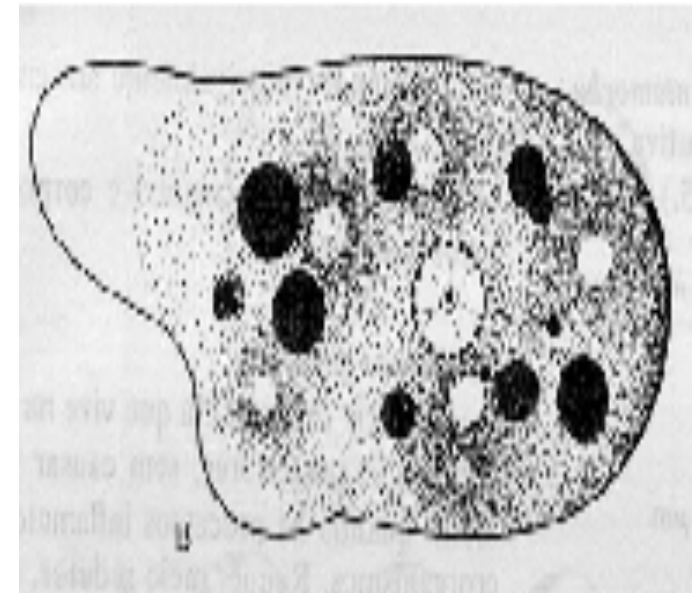
➤ Metabolismo

✓ principalmente anaeróbico

✓ microaerófila

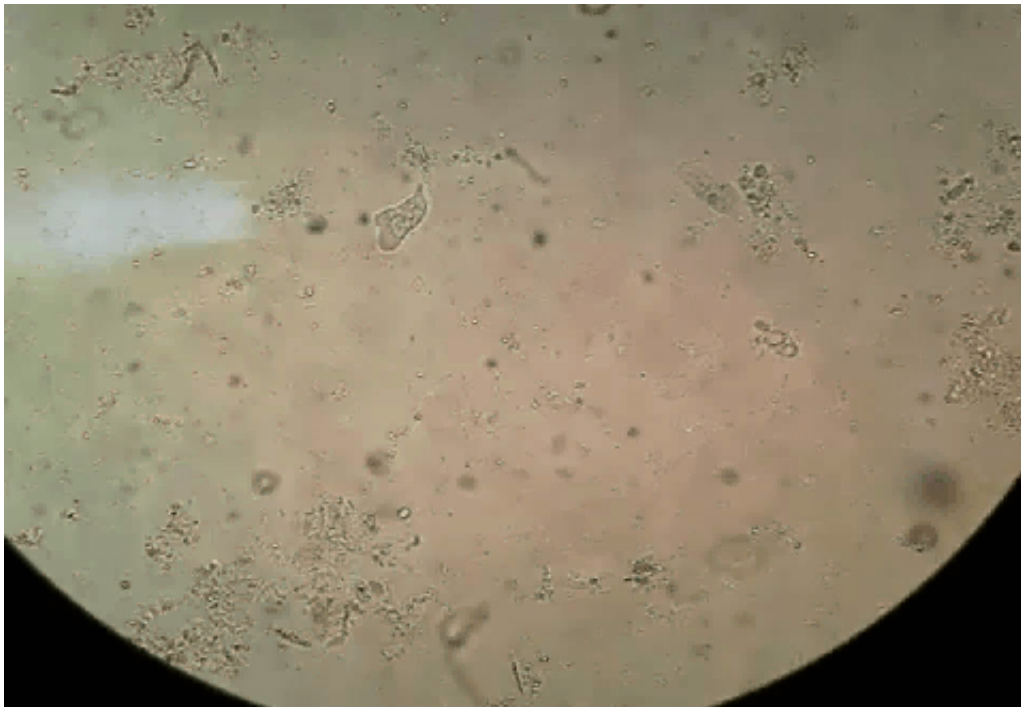
✓ principal fonte energética -
glicose (estoque - vacúolos de
glicogênio), metabolizada
principalmente em etanol, acetato e
 CO_2

✓ não sintetiza bases nitrogenadas
e precisa obtê-las do hospedeiro



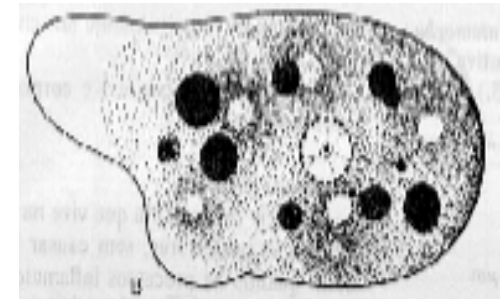
Trofozoíto

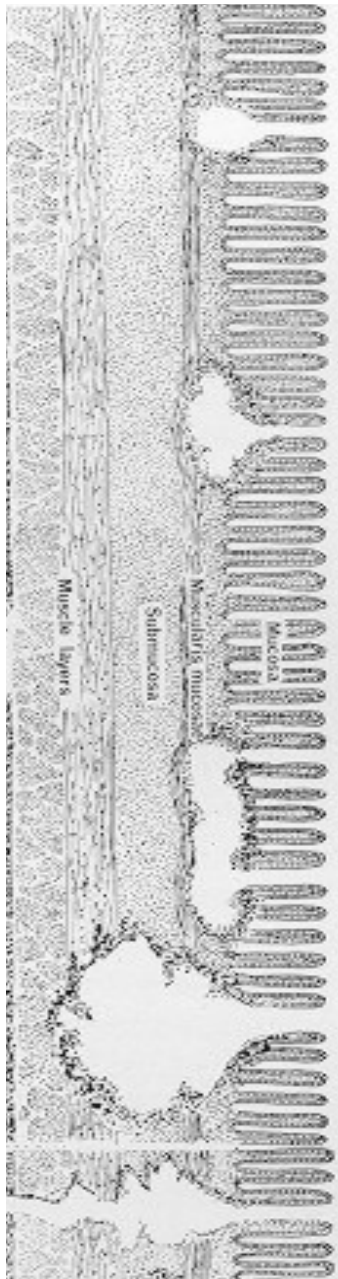
- pleomórfico, com grande variabilidade tamanho
- motilidade - pseudópodes



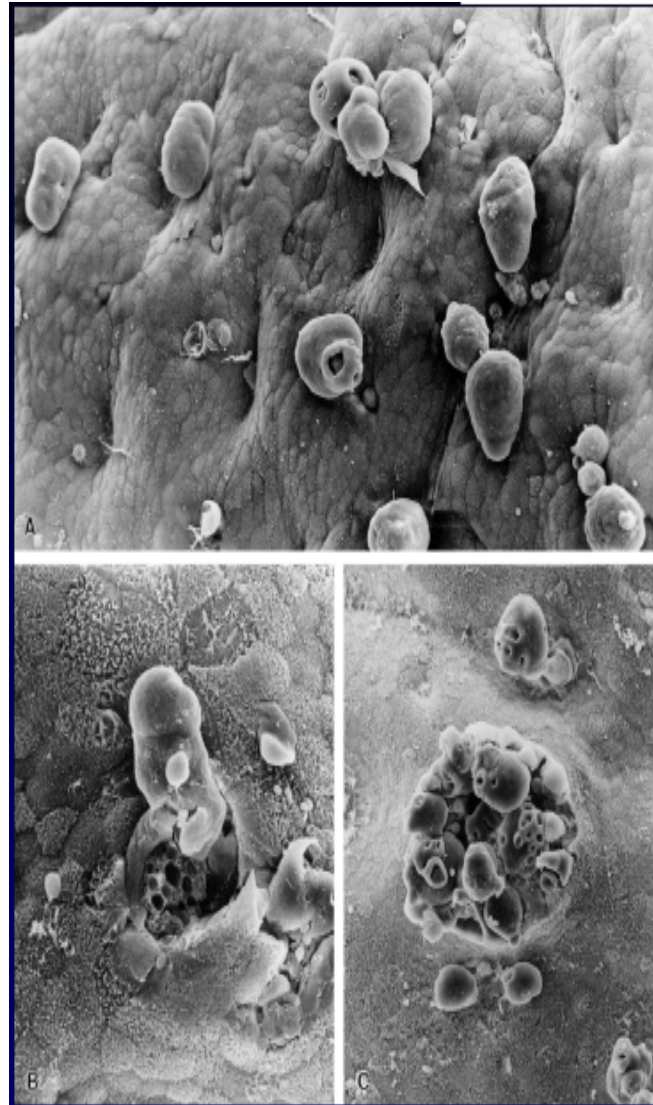
Formas clínicas e Sintomatologia

- Forma assintomática
- Forma intestinal (não invasiva)
 - ✓ dores abdominais (cólicas)
 - ✓ diarreias - ~6 episódios/dia (pode ficar crônica)
- Forma intestinal invasiva
 - ✓ colite amebiana aguda, disenteria grave (fezes líquidas)
 - ✓ úlceras intestinais, abscessos
- Forma extra-intestinal
 - ✓ fígado (+ comum): dor, febre, hepatomegalia - mais comum em homens
 - ✓ pulmão (+ raro)
 - ✓ cérebro (+ raro)
 - ✓ pele (região perianal e órgãos genitais)





**Ulceração
perfuração**



**Abscesso
fígado**



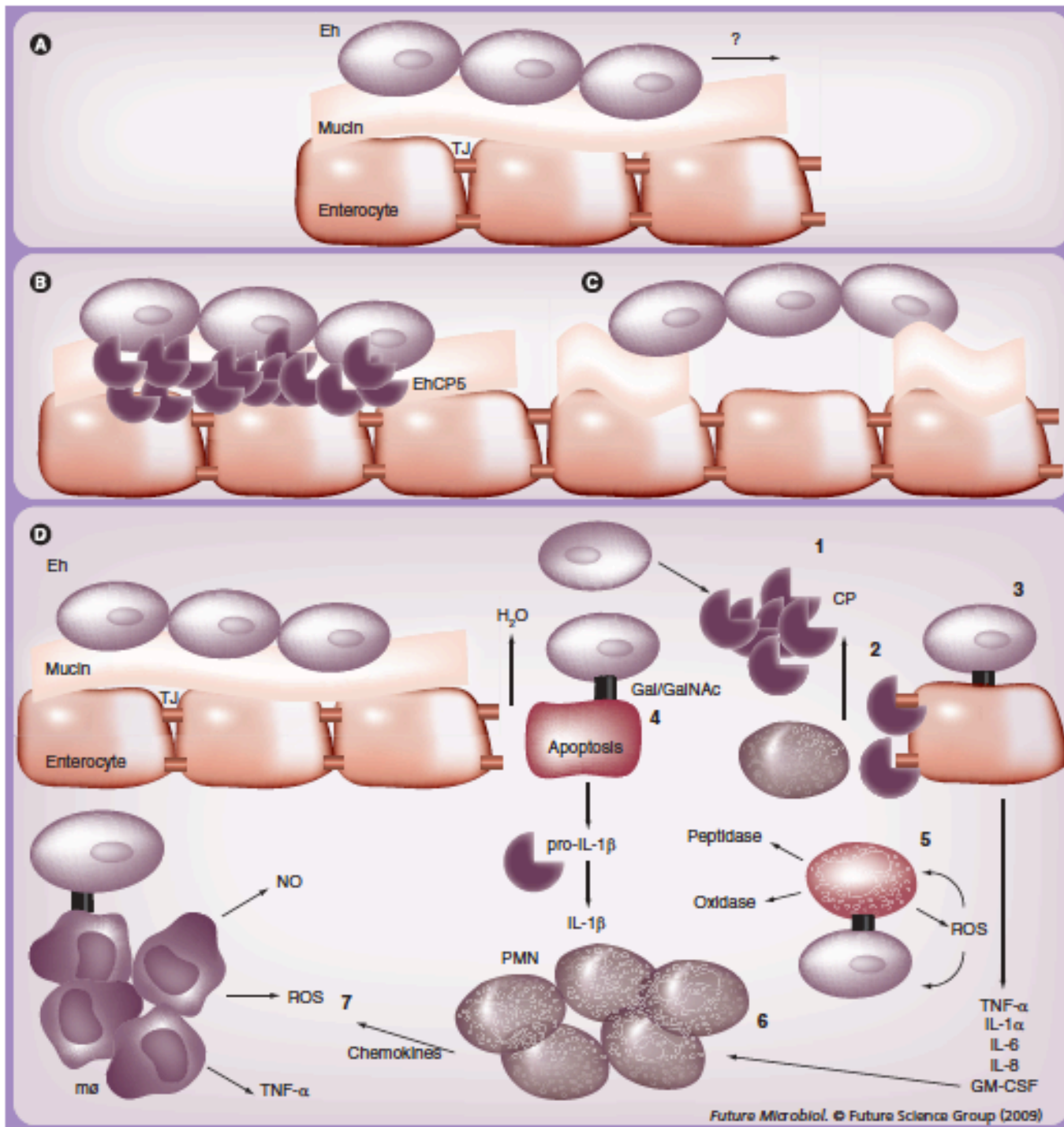
Patogenicidade

A. Relação normal:
sem dano ao tecido

B. Eh se torna
virulenta com
liberação da CP5;

C: destruição da
camada de muco;

D: adesão e lesão
tecidual

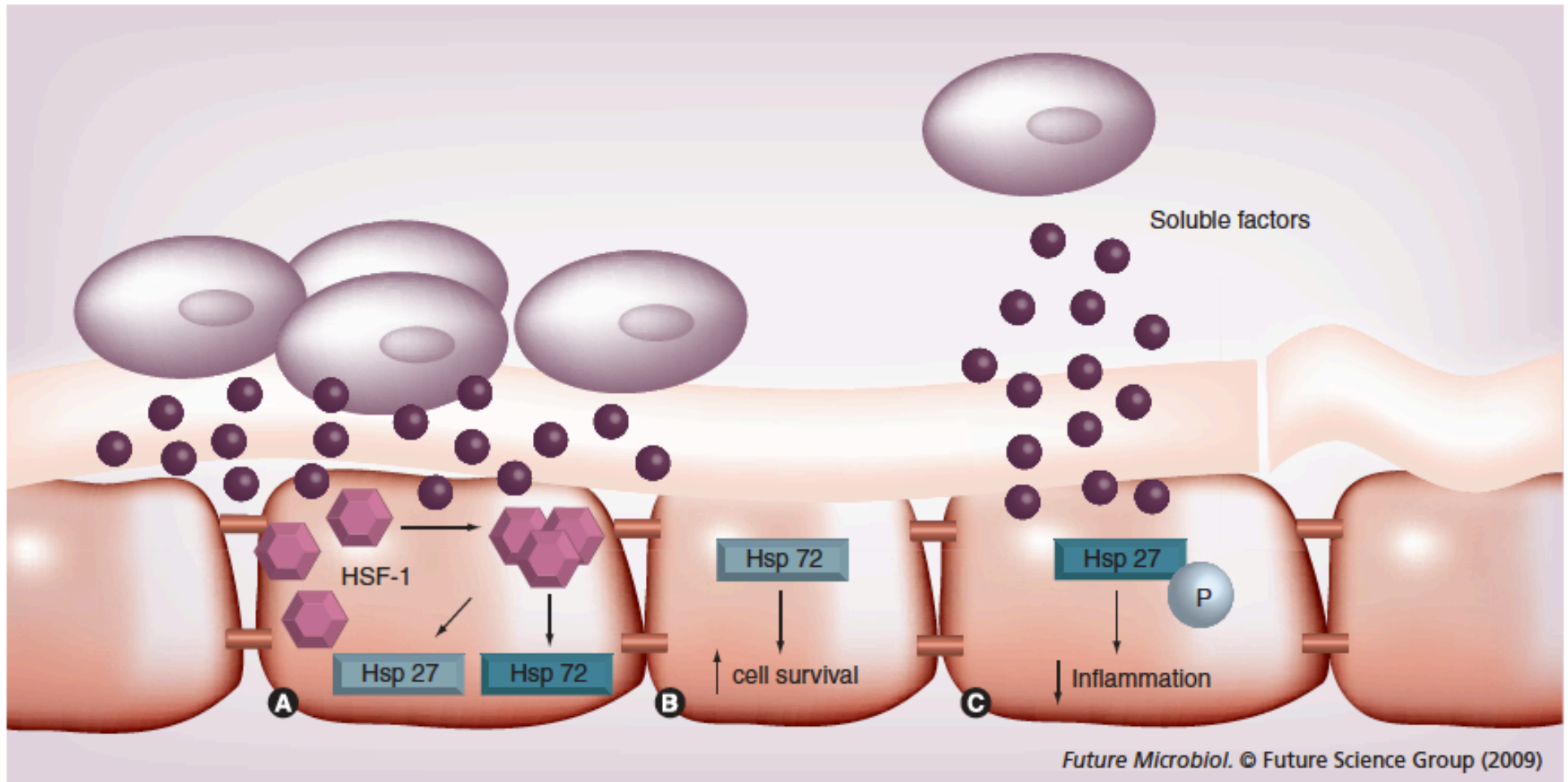


CP: Cysteine protease; Eh: *Entamoeba histolytica*; GM-CSF: Granulocyte monocyte colony stimulating factor; mØ: Macrophage; NO: Nitric oxide; PMN: Polymorphonuclear leukocyte; ROS: Reactive oxygen species.

Principais Fatores de Virulência envolvidos na patogênese da *E. histolytica*

<i>E. histolytica</i> molecule	Role in pathogenesis	Ref.
EhCP	Cleaves MUC2 polymer specifically at the cysteine-rich C-terminal domains and depolymerizes mucins Lyse villin and microvilli Cleaves immunoglobulins, complements, as well as cytokines such as IL-18 Signaling role in the development of ALA	[15,16,20,24,33]
Gal-lectin	Surface adhesion molecule in parasite colonization Mediates apoptotic death of epithelial cells that the trophozoites contact	[17]
LPPG	Parasite surface molecule utilized for epithelial adhesion and cytotoxicity	[18,22]
EhSTIRP	Parasite surface molecule utilized for epithelial adhesion and cytotoxicity	[19]
Perioxiredoxin	Neutralize ROS and NO, which are released from activated macrophages	[25,26]
Ehserp	Forms a complex with cathepsinG that are released from neutrophils and neutralizes them	[27]
Eh arginase	Converts L-arginine, the precursor of NO, into L-ornithine and thus hinders NO production in the macrophage	[29]
β 1 integrin-like receptors	Interact with fibronectin and laminin of endothelial cells as well as extracellular matrix protein, and activate trophozoites that enter systemic circulation	[31]
Amoebapore	Pore-forming peptide that plays a major role in ALA	[32]
KERP1	Specifically upregulated on parasite surface during ALA, but the role in pathogenesis is not clearly known	[34]
ALA: Amoebic liver abscess; Eh: Entamoeba histolytica; EhCP: E. histolytica cysteine proteinase; Ehserp: E. histolytica serine proteinase; EhSTIRP: Serine threonine isoleucine-rich protein; KERP1: Lysine and glutamic acid-rich protein-1; MUC2: Secretory mucin; LPPG: Lipophosphopeptidoglycan; NO: Nitric oxide; ROS: Reactive oxygen species.		

Proteção do epitélio intestinal por fatores solúveis produzidos pela *E. histolytica*



Future Microbiol. (2009) 4(1)

HSF: Heat shock protein transcription factor; Hsp: Heat shock protein.

Relação Parasita-Hospedeiro

Mecanismos de defesa do hospedeiro

1. Camada Mucosa - mucinas: gel aderente, previne adesão às células epiteliais e facilita a eliminação do parasita
2. Glicosidases produzidas pelas bactérias da flora intestinal e proteases do lúmen degradam a lectina da *E. hystolyica*

Relação Parasita-Hospedeiro

3. Resposta Imune

- proteção está ligada a presença dos alelos de MHC II DQB1*0601 em homozigose ou DQB1*0601/DQB1*1501;
- Produção de IgA anti-lectina ligadora de Gal/NAcGal está associada a imunidade contra o abscesso no fígado;
- Associação entre níveis de IgA específica para o domínio de reconhecimento de carboidratos da lectina ligadora de Gal/NAcGal e imunidade contra re-infecção.

Diagnóstico

- **Clínico** - diarreia/síndrome do cólon irritável
- **Parasitológico de fezes**
 - ✓ Pesquisa de cistos em fezes sólidas (diferenciar amebas não patogênicas)
 - ✓ Trofozoítos em fezes líquidas
 - ✓ **Cultura de fezes**
- **Diagnóstico imunológico**
 - ✓ ELISA para detecção de antígeno nas fezes
 - ✓ ELISA para detecção Acs IgG soro - amebíase invasiva
- **Diagnóstico Molecular**
 - ✓ PCR (distingue espécies)

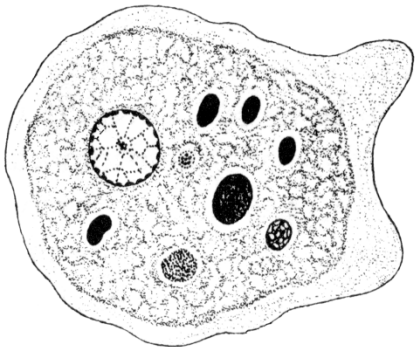
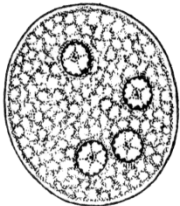
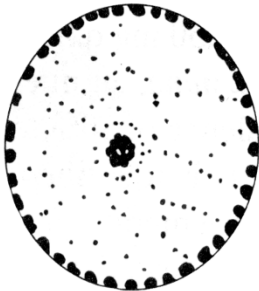
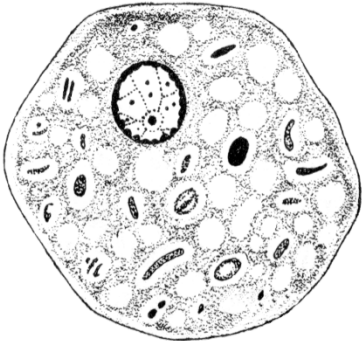
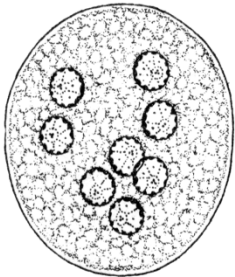
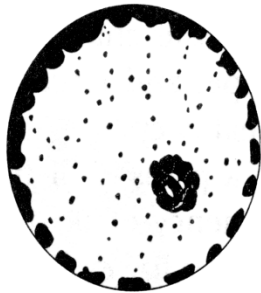
Diagnóstico

➤ Problemas

✓ Diagnóstico diferencial amebas não patogênicas

• *E. histolytica* x *E. coli*

• *E. histolytica* x *E. dispar*

	TROFOZOÍTO	CISTO	NÚCLEO
<u>Entamoeba histolytica</u>			
<u>Entamoeba coli</u>			

Tratamento

Formas intestinais

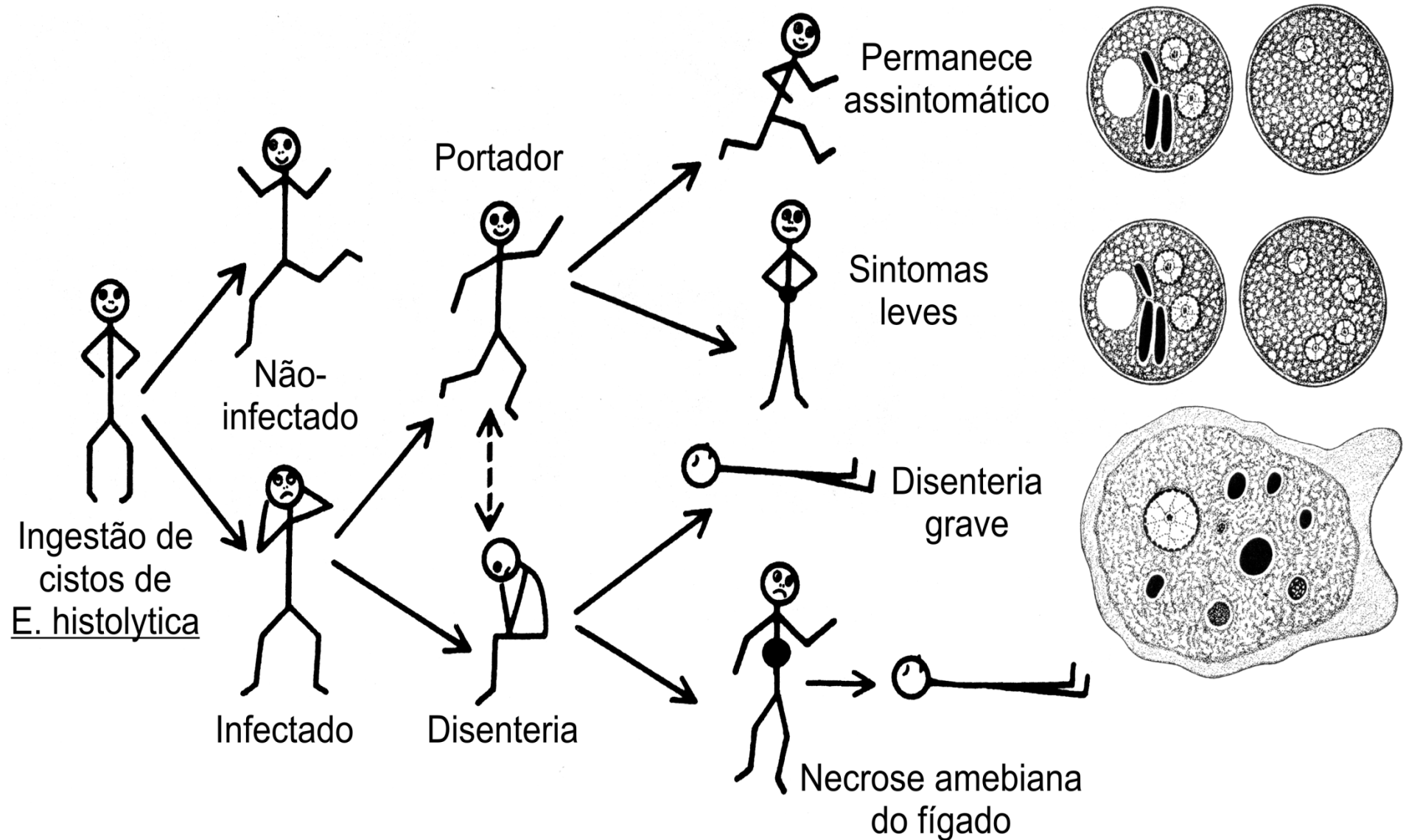
Medicamento	Adulto	Criança
SECNIDAZOL	2g, VO, dose única	30mg/kg/dia, VO
METRONIDAZOL	500mg, VO, 3x/dia, 5 dias	35mg/kg/dia, VO, 5 dias
TINIDAZOL	2g, VO 2 dias	
TECLOZAM (somente formas leves ou assintomáticas)	1,5g, VO, dose única	15mg/kg/dia, VO, 5 dias

Tratamento

Formas graves

Medicamento	Adulto	Criança
METRONIDAZOL	750mg, VO, 3x/ dia, 10 dias	50mg/kg/dia, VO, 10 dias
TINIDAZOL	50mg/kg/dia, VO, 2-3 dias	50mg/kg/dia,

História natural da amebíase



Profilaxia e Controle

1. Saneamento básico
2. Educação sanitária
3. Tratamento de água
4. Controle de alimentos (lavar frutas e verduras)
5. Tratamento das fontes de infecção
6. Cuidados com higiene pessoal (lavar as mãos)

Portadores assintomáticos!

Table 2. Assessment of vaccine efficacy of *Entamoeba histolytica* candidate proteins.

<i>E. histolytica</i> vaccine candidate	Animal model	Route of delivery	Adjuvant	Vaccine responses	Type of immunity	Ref.
Amoebapore deficient <i>E. histolytica</i>	SCID mice	Intraperitoneal injection	None	No liver abscess (induce amoebic colitis in human intestinal xenografts in SCID mice)	Humoral (Ab)	[32,106]
EhADH243	Syrian hamster	Intraperitoneal/subcutaneous injection	Freunds	Reduction in liver abscess and antibodies against EhCPADH complex	Only Ab assessed	[107]
MLIF-multiple antigen peptide system	Gerbils	Intramuscular injection	None	Protection against ALA, and splenic mononuclear cell proliferation	Not known	[108]
<i>E. histolytica</i> lectins on <i>Yersinia enterocolitica</i> carrier	Gerbils/mice	Oral	None	Protection against ALA	Cell-mediated Th-1 cytokine response	[109]
25-mer peptide derived from heavy Gal-lectin subunit coupled with keyhole limpet hemocyanin	Gerbils/mice	Intraperitoneal or oral	None	33 and 67% protection against ALA in gerbils and SCID mice, respectively	Humoral and fecal IgA	[110]
Native Gal-lectin (or recombinant 578–1154 amino acid fragment of heavy subunit)	Mice	Intranasal and intraperitoneal	Cholera toxin	No measurable fecal IgA produced unless intraperitoneal FCA booster was used	Fecal antilectin IgA	[88]
Gal-lectin subunit (residues 596–998 of the cysteine rich region)	Not applicable	<i>In vitro</i> assessment using THP-1 human macrophage cell line	None	Immunogenicity in addition to IL-12 induction, which acts as a natural adjuvant	Not applicable	[98]
Native Gal-lectin	Gerbils/mice	Intranasal or intramuscular	CpG-ODN	Increased IgG production, T-cell proliferation and secretion of Th-1 cytokines, and DC maturation and upregulation of IL-12	Humoral and fecal IgA Th-1 cytokine response	[89,99,100]

Ab: Antibody; ALA: Amoebic liver abscess; CPG-ODN: Cytosine guanine oligodeoxynucleotide; DC: Dendritic cell; FCA: Freund's complete adjuvant; MLIF: Monocyte locomotion inhibitory factor; SCID: Severe-combined immunodeficiency syndrome; THP-1: Human acute monocytic leukemia cell line.

The genome of the protist parasite *Entamoeba histolytica*. Nature 2005, 433:865

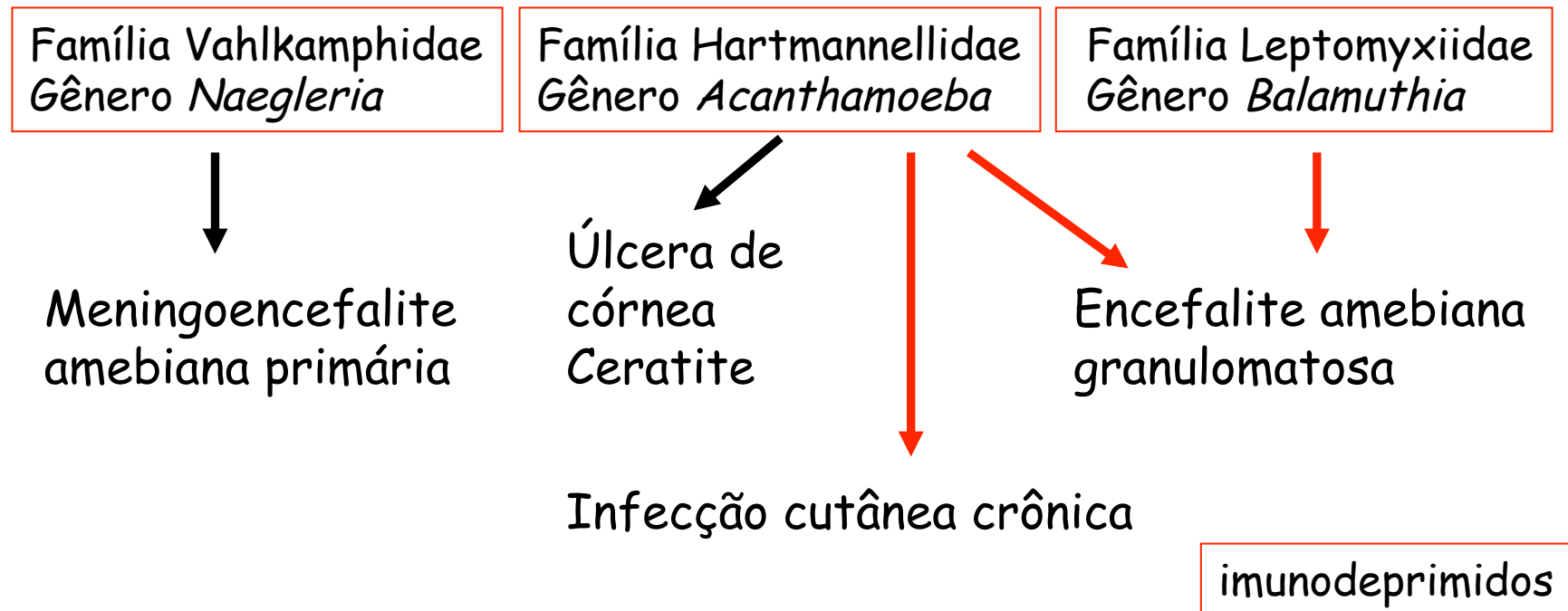
Predicted metabolism of *E. histolytica* based on analysis of the genome sequence data.



Amebíase como doença oportunista

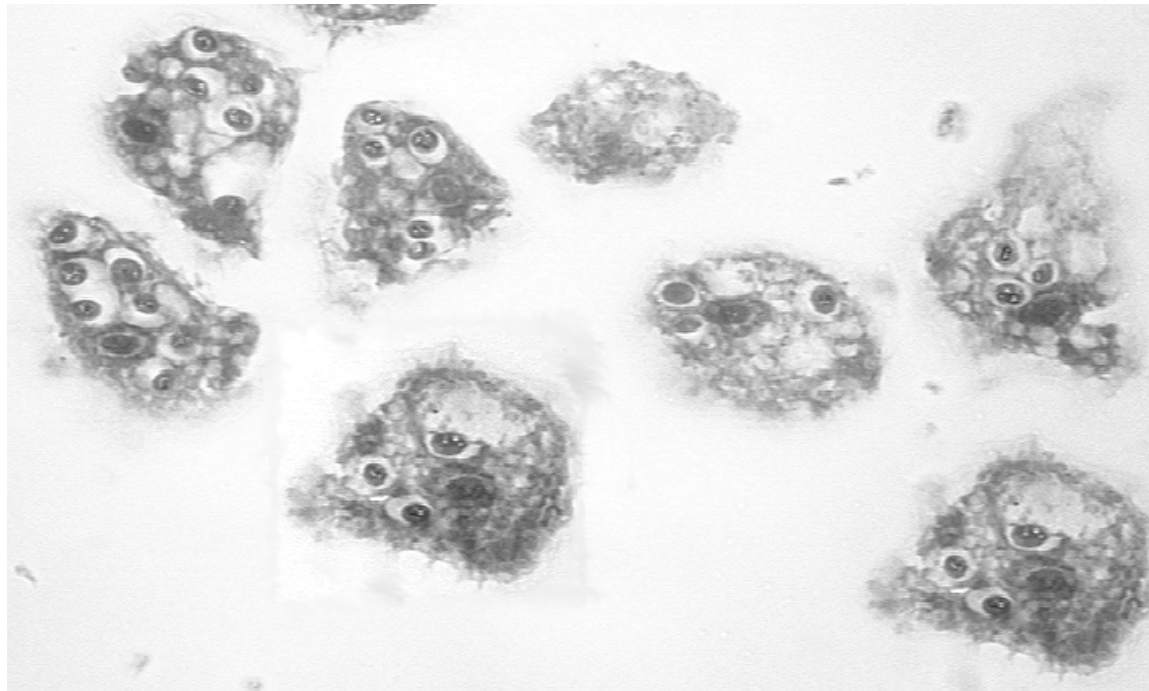
Amebas encontradas no solo e na água, bacteriófagas.

Parasitas facultativos em vertebrados.



Amebas de vida livre

Trofozoítos fagocitam e digerem microorganismos



Mecanismos de transmissão

Naegleria fowleri

Acanthamoeba

Encontradas em todo o mundo no solo, água (rios, lagos, piscinas, água encanada).

Cistos estáveis por 8 meses a temperatura ambiente.

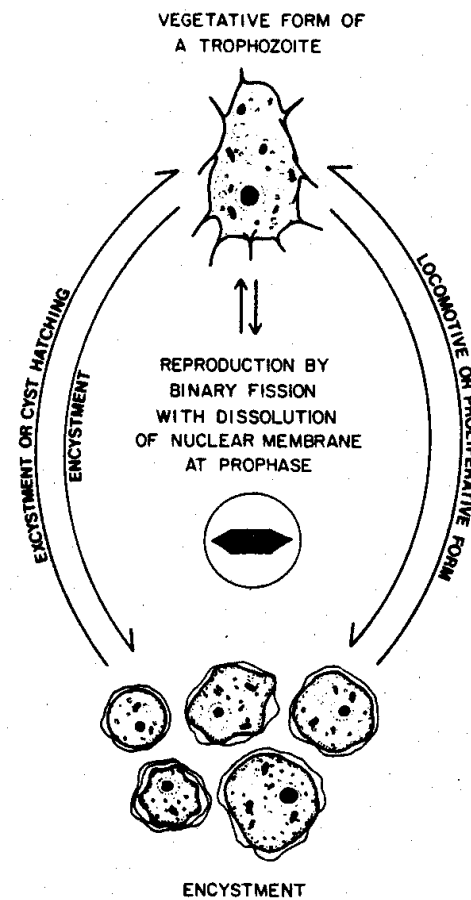
Naegleria fowleri - contato com água, contaminação via epitélio neurolfatório - indivíduos saudáveis

Acanthamoeba - contato com água, uso de lentes de contato. Contaminação local, via epitélio olfatório, via hematogênica.

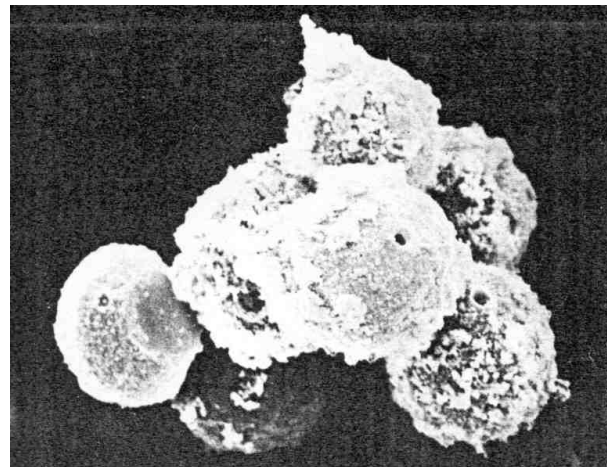
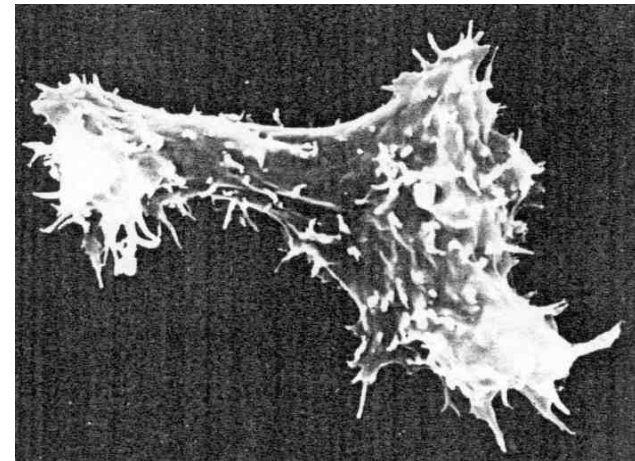
Fatores determinantes para infecção:

Temperatura, dose infectante, capacidade de persistir nas mucosas, imunidade de mucosa, imunodeficiência

Acanthamoeba

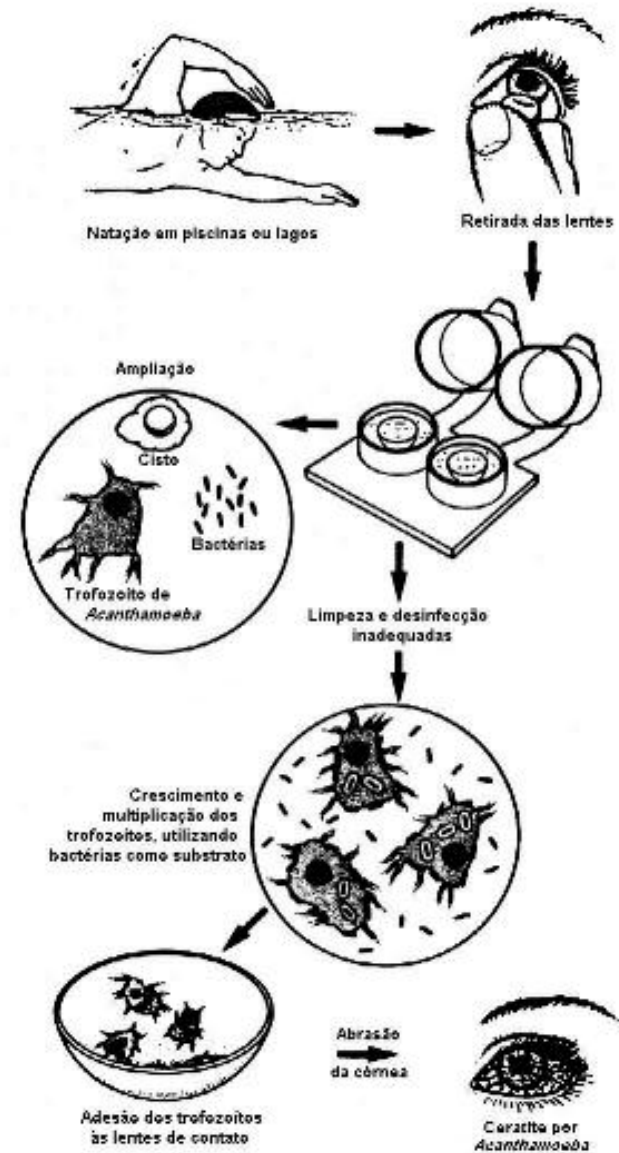
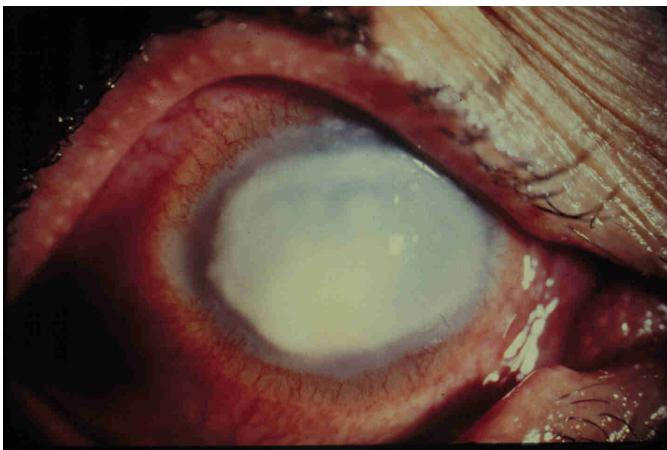


A. culbertsoni
A. polyphaga
A. hatchetti
A. castellanii



Acanthamoeba spp

- Infecção ocular (ceratites)



Acanthamoeba - Patogenia



Infecção ocular

Micro-lesão ou trauma pré-existente
(lentes de contato, por exemplo)

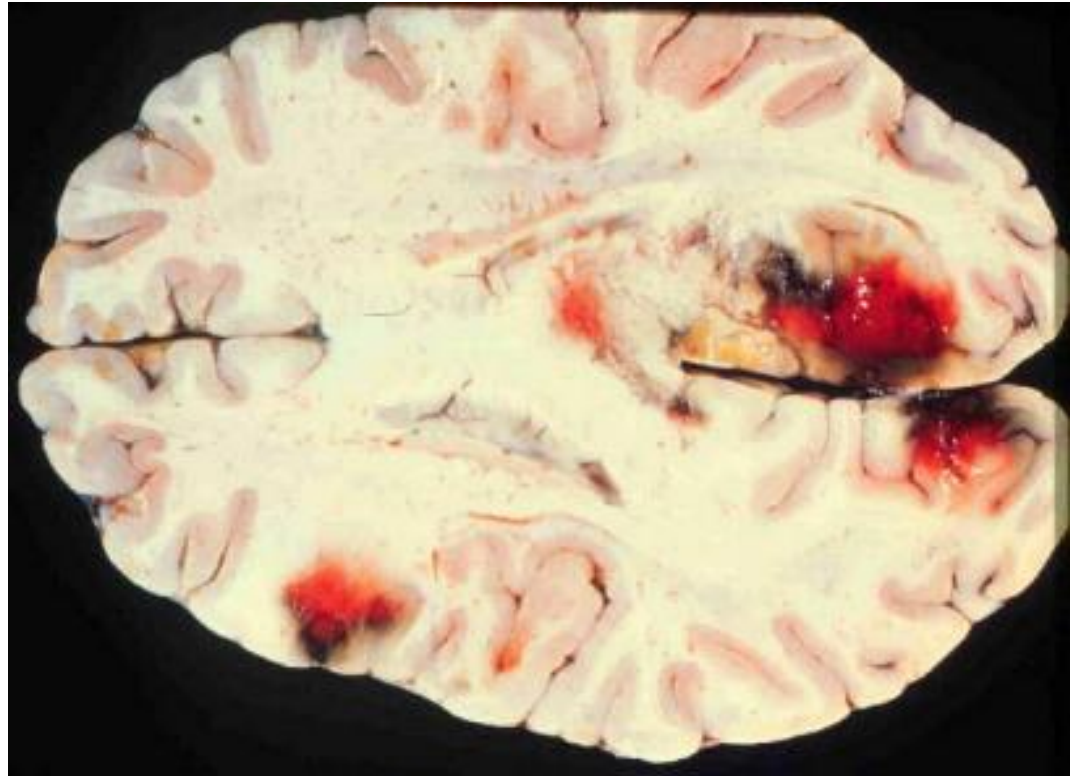
Contato → adesão

Serino e cisteíno-proteases → efeito citopático

Fagocitose/ apoptose → lesão/morte celular

AMEBAS DE VIDA LIVRE

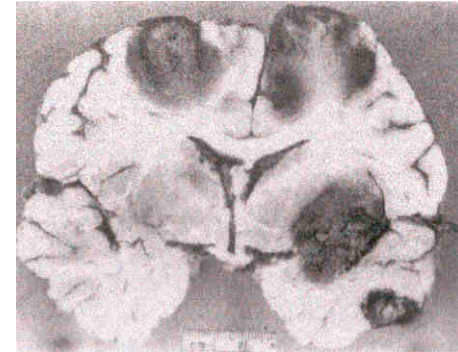
Acanthamoeba spp.



- Encefalite amebiana granulomatosa

Acanthamoeba

Pacientes com imunodepressão



↓
Infecção cutânea crônica



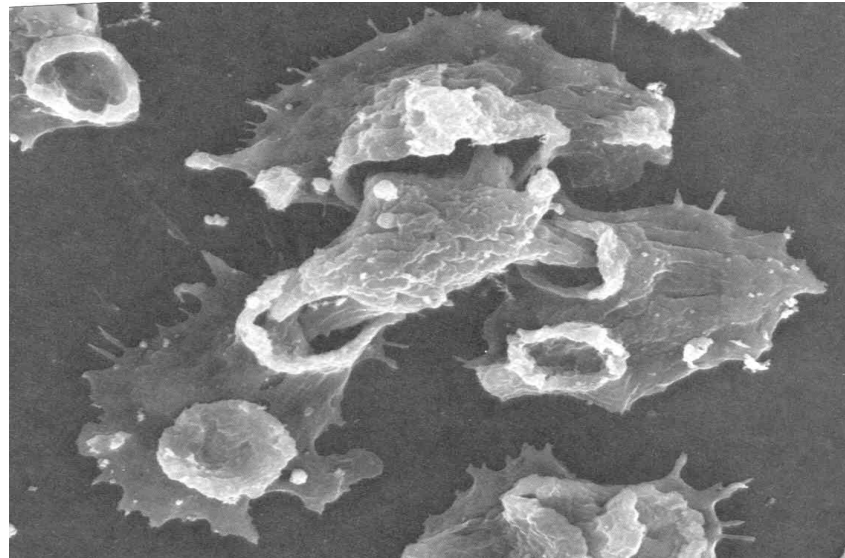
Encefalite amebiana
granulomatosa

Endossimbiontes - *Legionella* e outras bactérias

Amebíase como doença oportunista

Família Vahlkampfiidae
Gênero *Naegleria*

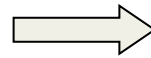
→ *Naegleria fowleri*



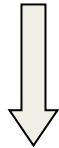
Termofílica

Naegleria fowleri

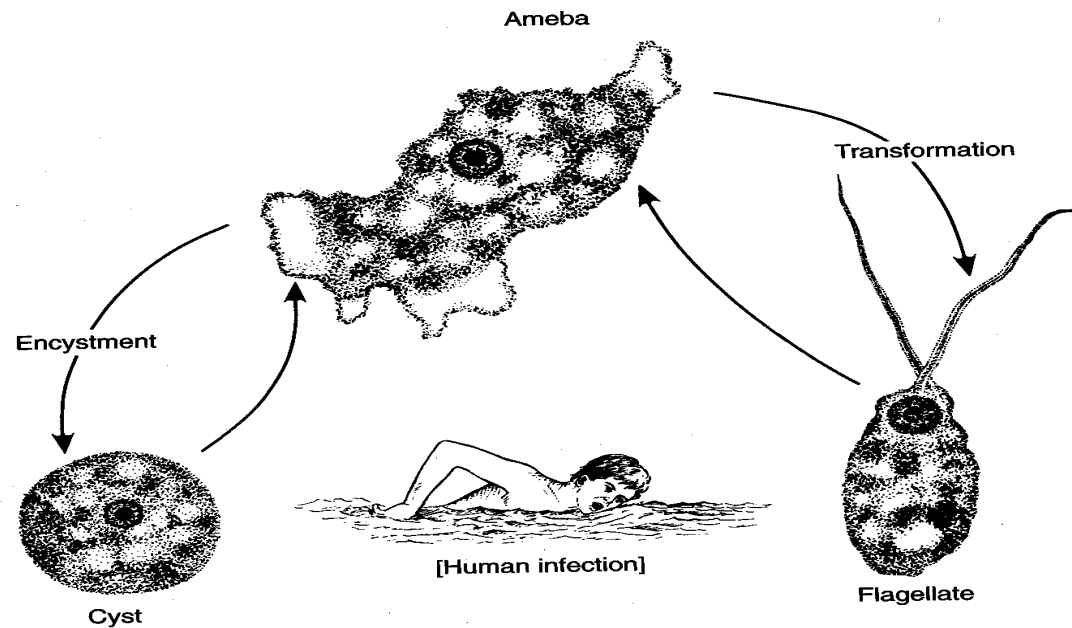
Família Vahlkampfiidae
Gênero *Naegleria*



Meningoencefalite
amebiana primária



N. gruberi
N. lovaniensis
N. australiensis



Patogenia

Naegleria

- Meningoencefalite amebiana primária, ocorre principalmente em indivíduos jovens.
- Doença rara, mas fulminante.
- Mecanismos de invasão: adesão, proteína formadora de poros, fosfolipase, outras proteases.

Diagnóstico

- Exame do LCR: hemorrágico, neutrófilos, glicose normal ou baixa, proteína elevada
- Pesquisa de trofozoítos
- Ceratite - raspado de córnea e cultura
- Exame direto
- Cultura