

# Protozooses Cavitárias

➤ **Tricomoniase**



➤ **Giardíase**



➤ **Amebíase**



# ✓ Enfoque desta aula:

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

# Tricomoniase

# Agente etiológico

✓ Tricomoníase 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.

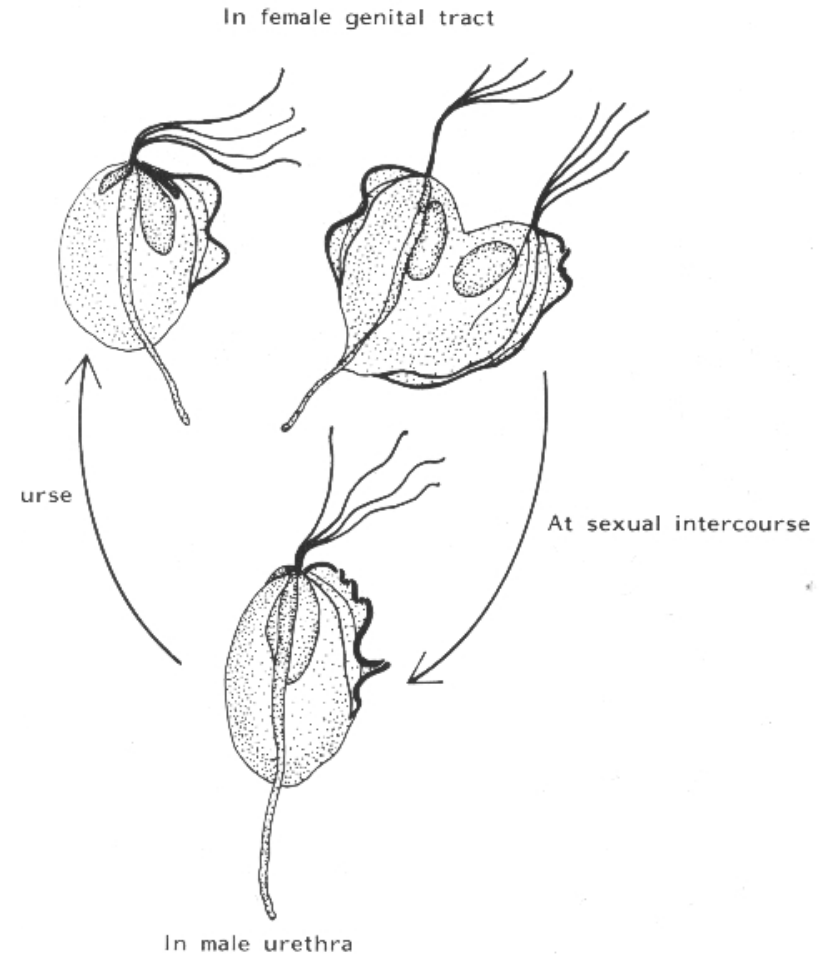
# Epidemiologia

- 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).

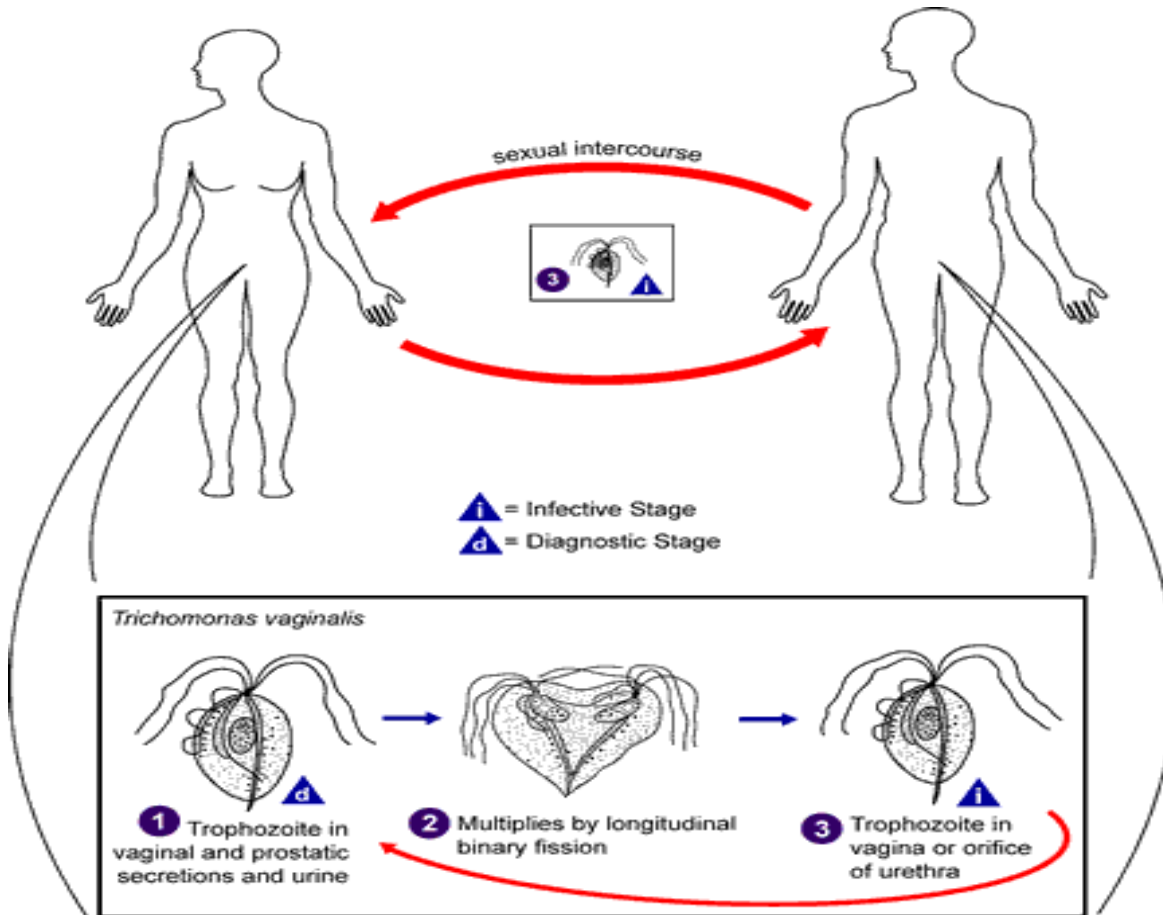


# Mecanismos de Transmissão

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

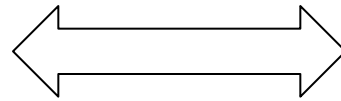
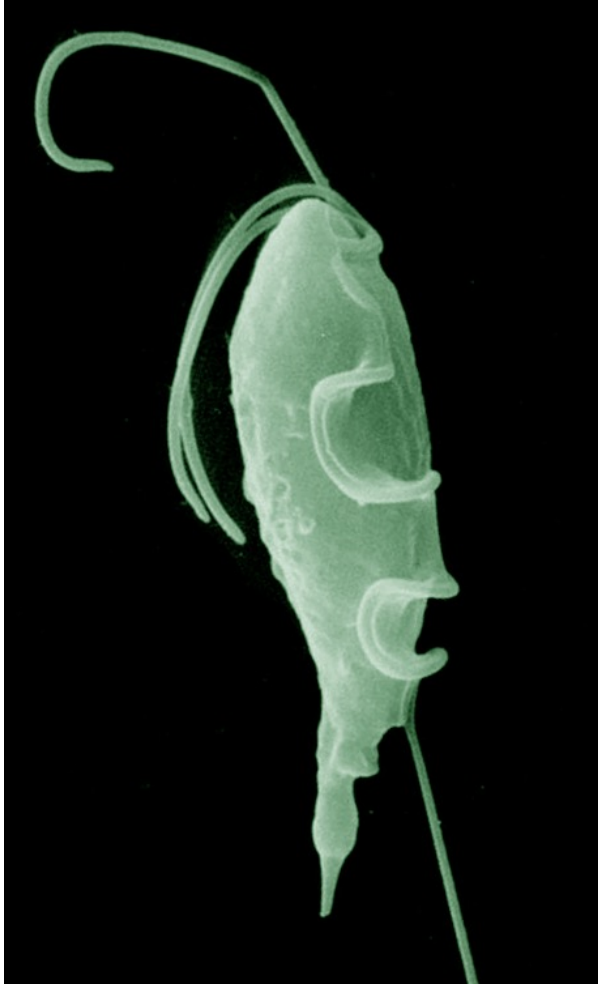


# Ciclo de Vida

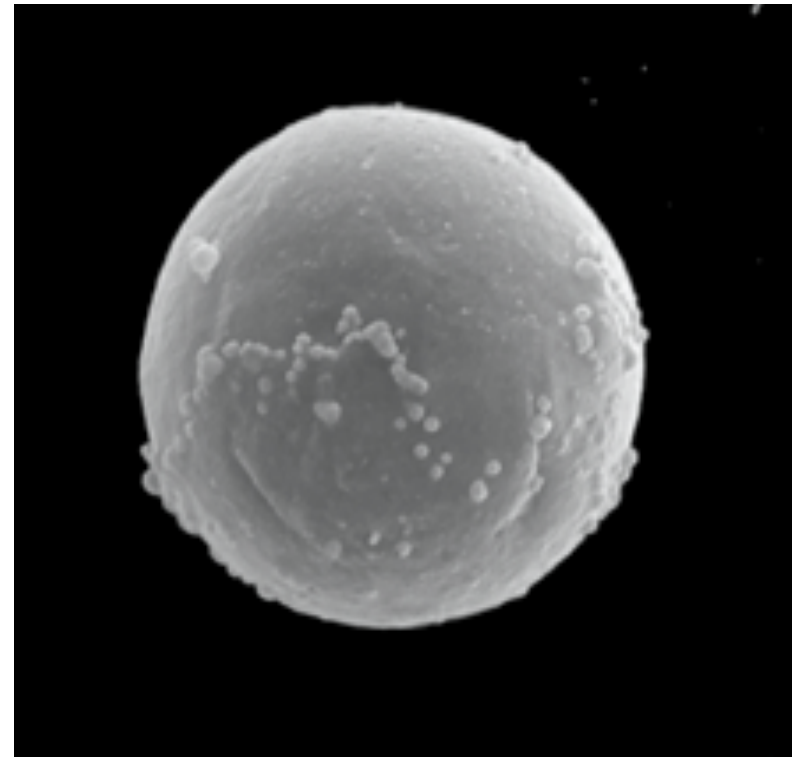


- Trofozoítos
- Reproduz-se por divisão binária longitudinal
- Não forma cistos

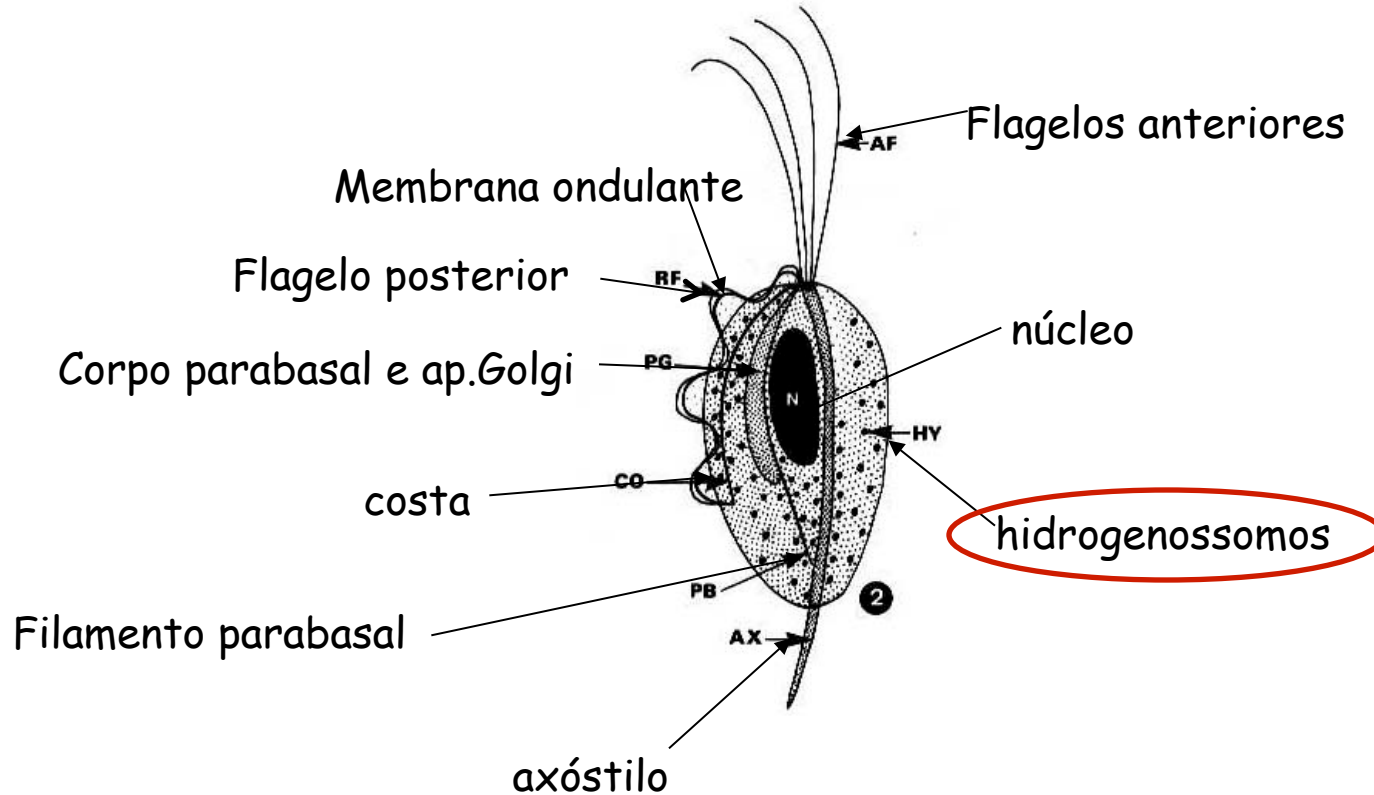
Forma normal  
flagelos externalizados



Pseudocisto:  
forma intraflagelar

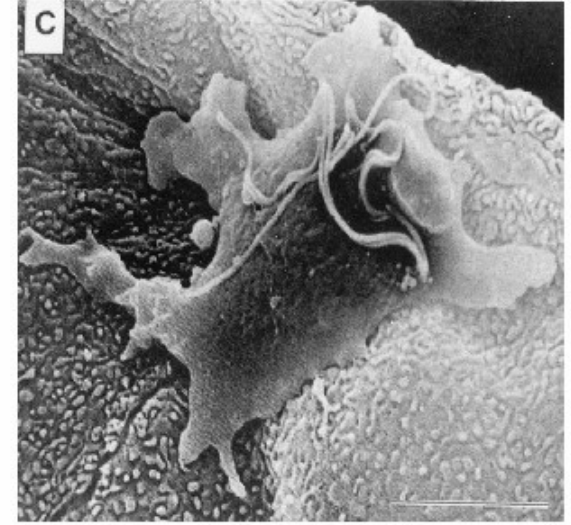
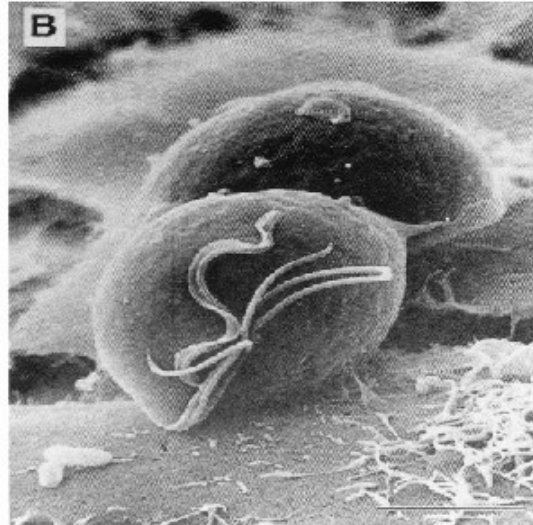
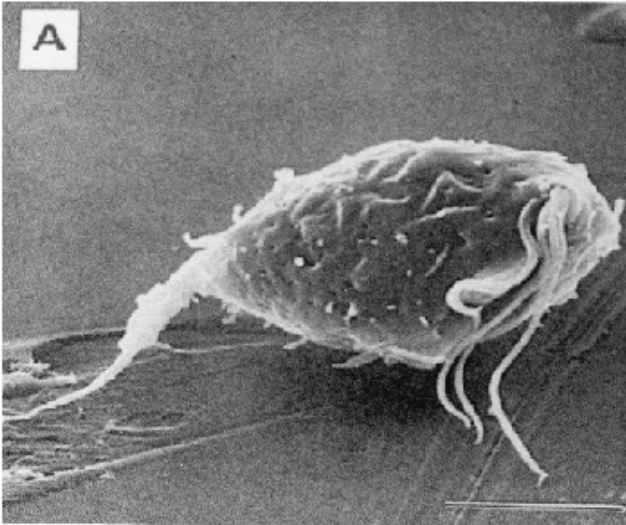


# Trofozoítos



- ✓ 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



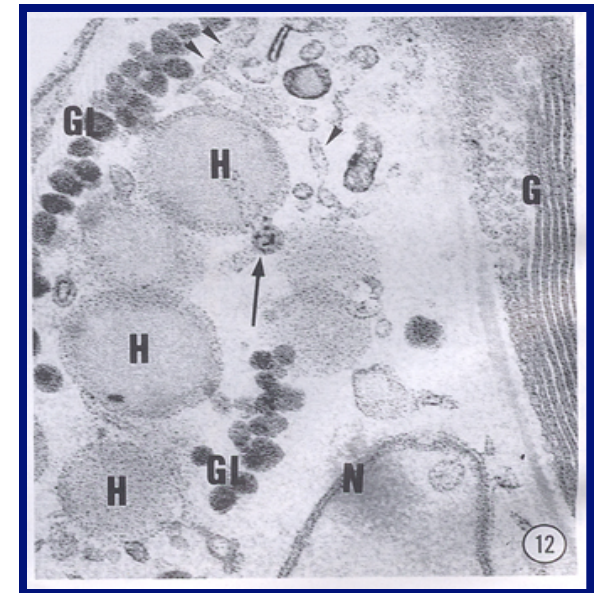
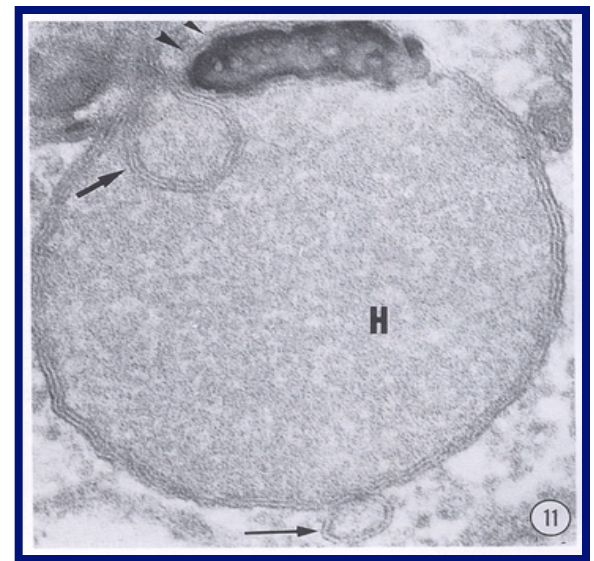
**A:** *T. vaginalis* vista em meio de cultura. O axóstilo, a membrana ondulante e os flagelos são bastante visíveis

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

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



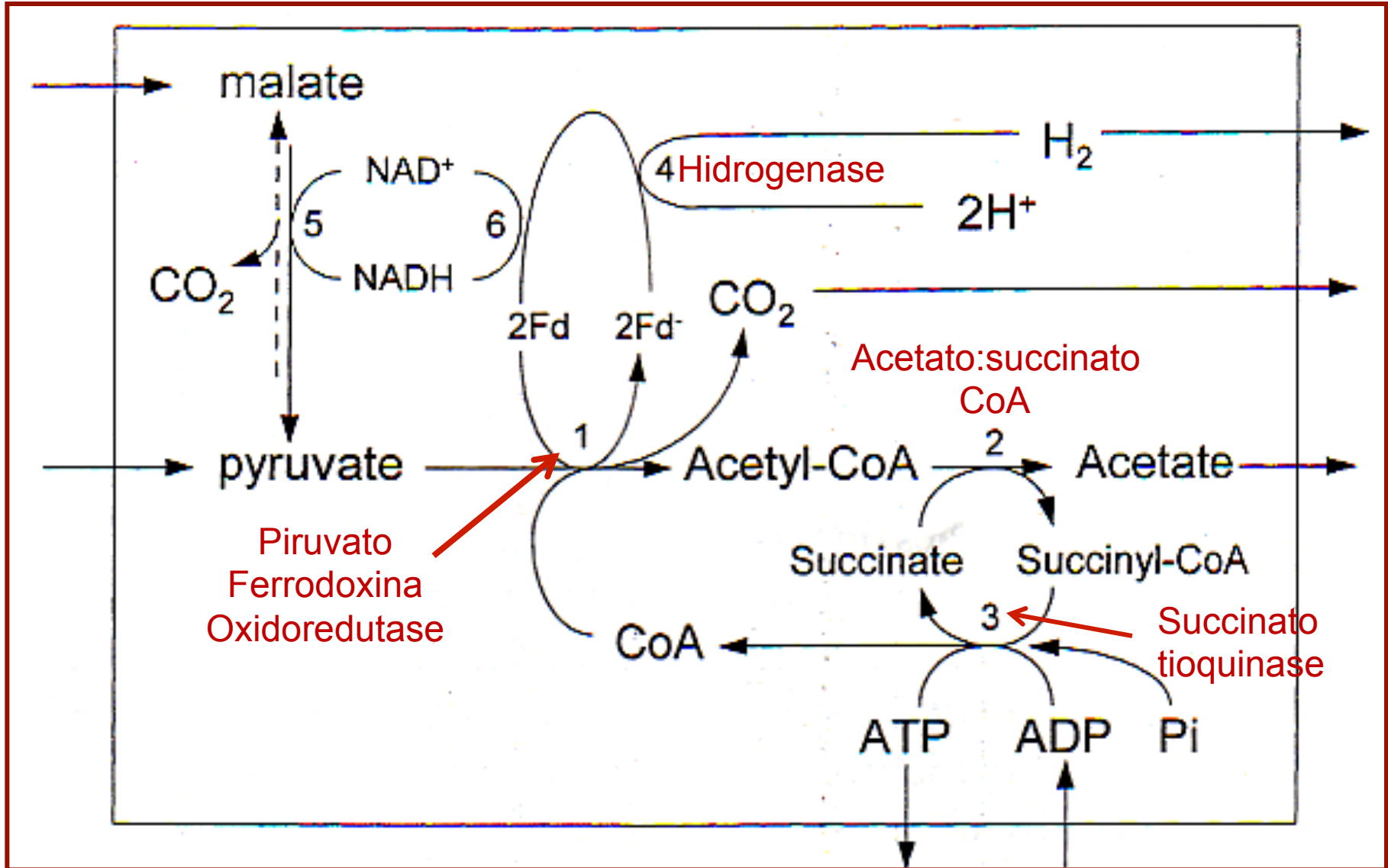
- ✓ É anaeróbio utilizando glicose, maltose e galactose como fontes de energia;
- ✓ Precisa que o hospedeiro sintetize moléculas essenciais (nucleotídeos, ácidos graxos, aminoácidos);
- ✓ A presença de ferro é importante para sua sobrevivência;
- ✓ Cresce bem em pH entre 5 e 7,5;
- ✓ Não possui mitocôndrias;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



- 0.5-2  $\mu m$  de tamanho com membrana dupla

- não contém material genético

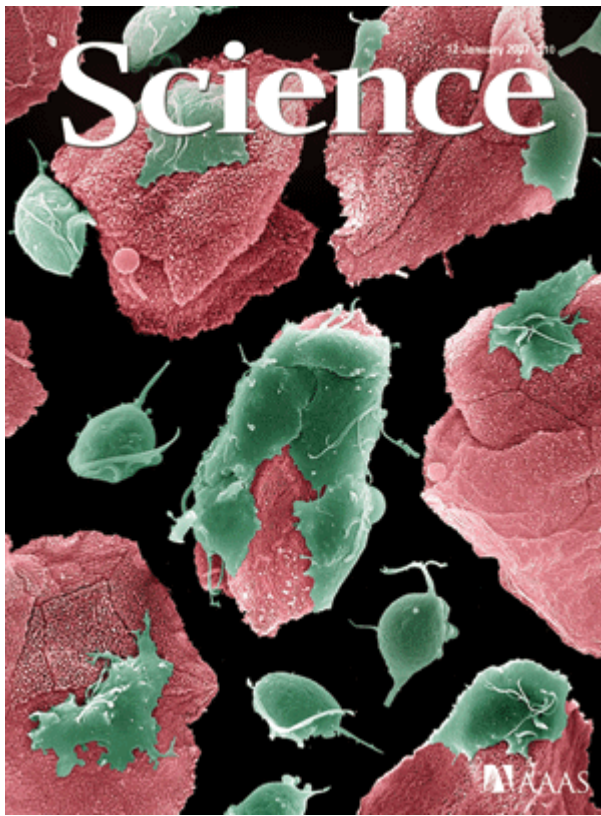
# Metabolismo no Hidrogenossomo



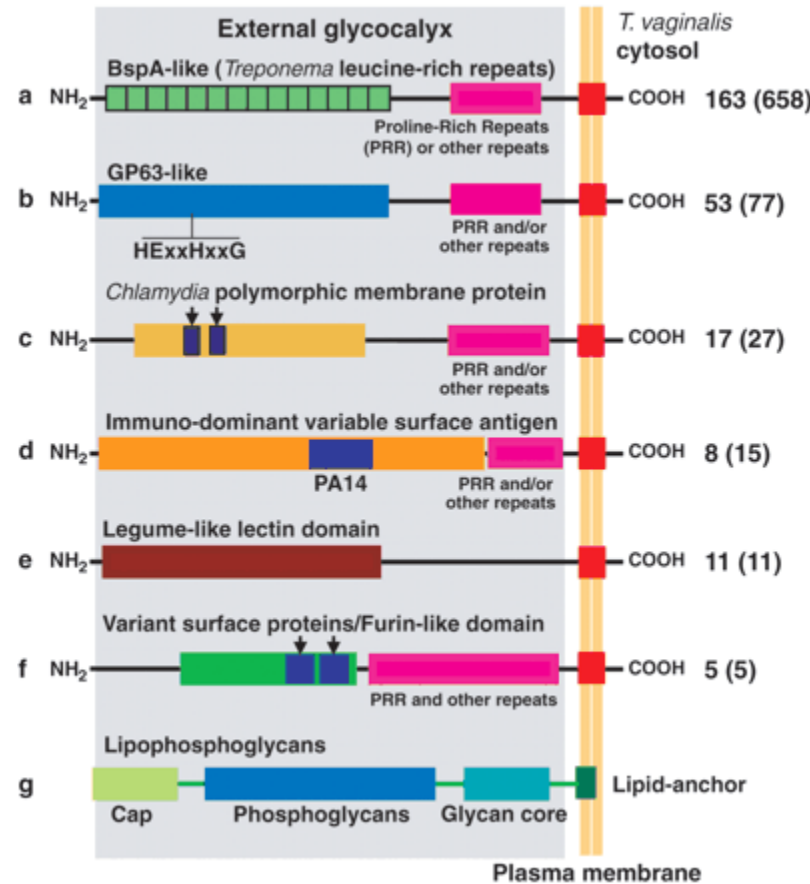


# Draft genome sequence of the sexually transmitted pathogen *Trichomonas vaginalis*

Science 2007, 315:207



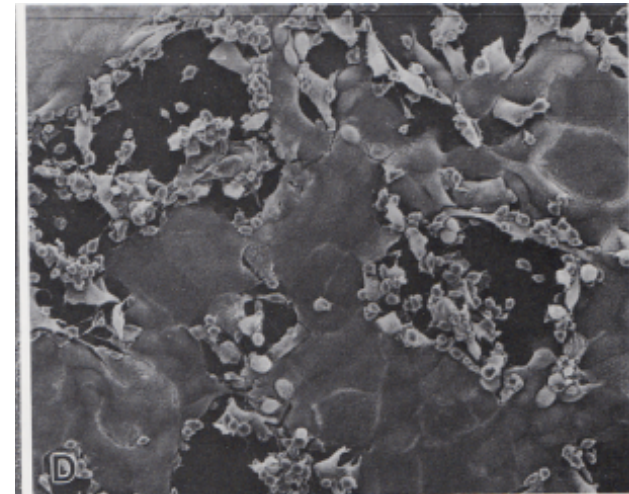
Organização estrutural de possíveis moléculas de superfície de *T. vaginalis* envolvidas na aderência e citotoxicidade às células hospedeiras.



# Patogênese

## Mecanismos moleculares:

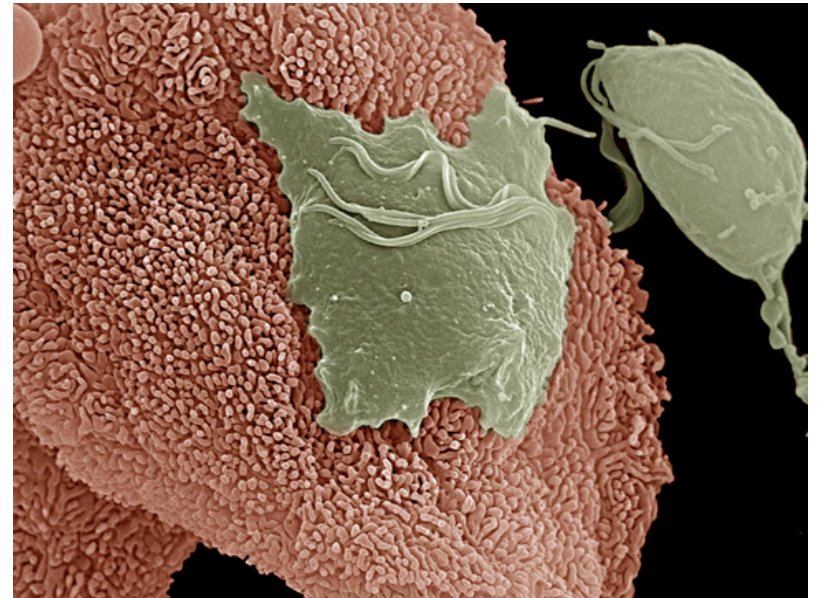
- ✓ Infecta o epitélio do trato genital;
- ✓ A capacidade de adesão tem papel muito importante na patogênese;
- ✓ A adesão é dependente de temperatura, pH e tempo;
- ✓ Adesão dá-se através de proteínas: adesinas (tratamento com tripsina abole adesão). São 5 tipos: AP23, AP33, AP51, AP65 e AP120.

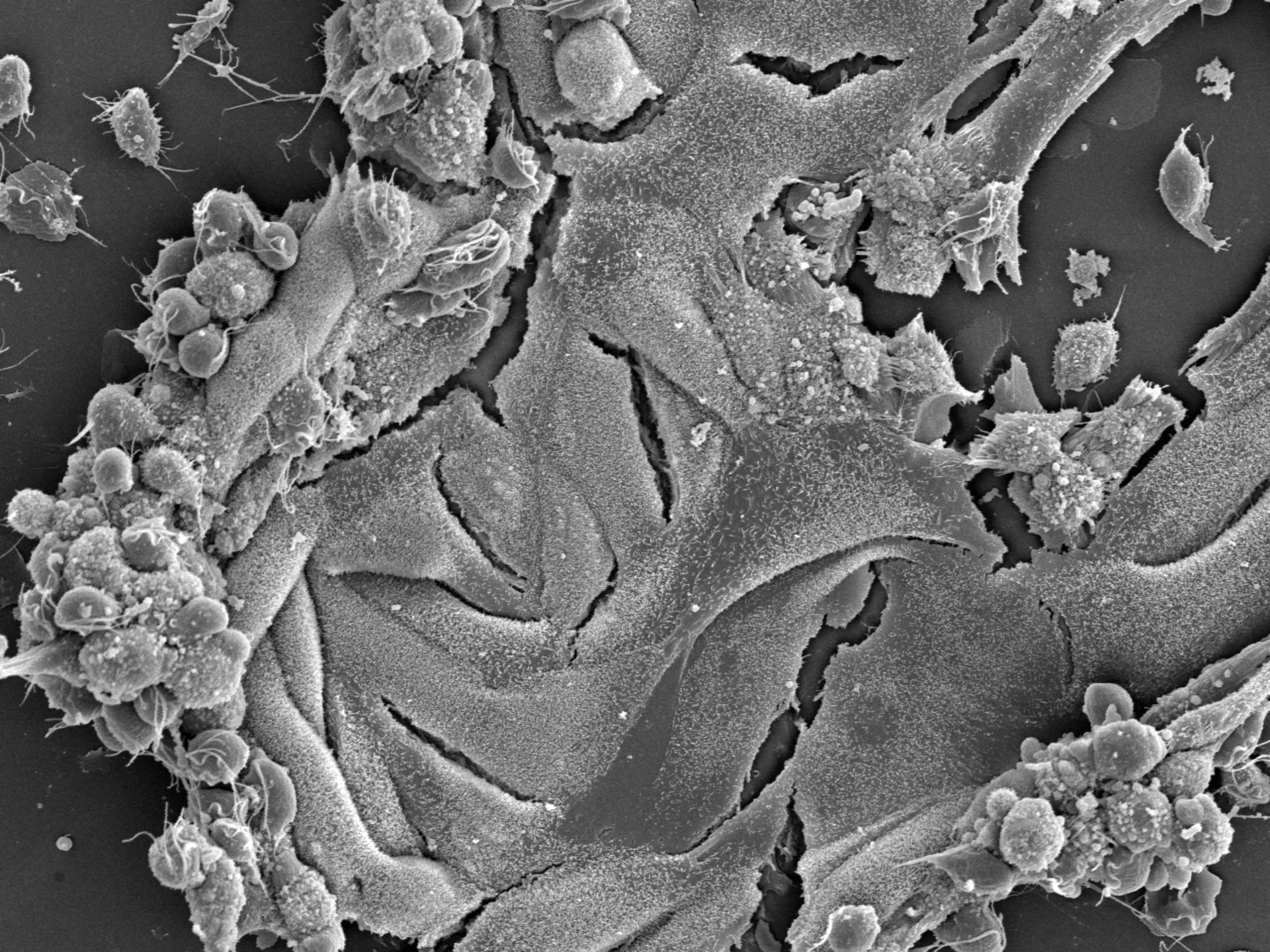


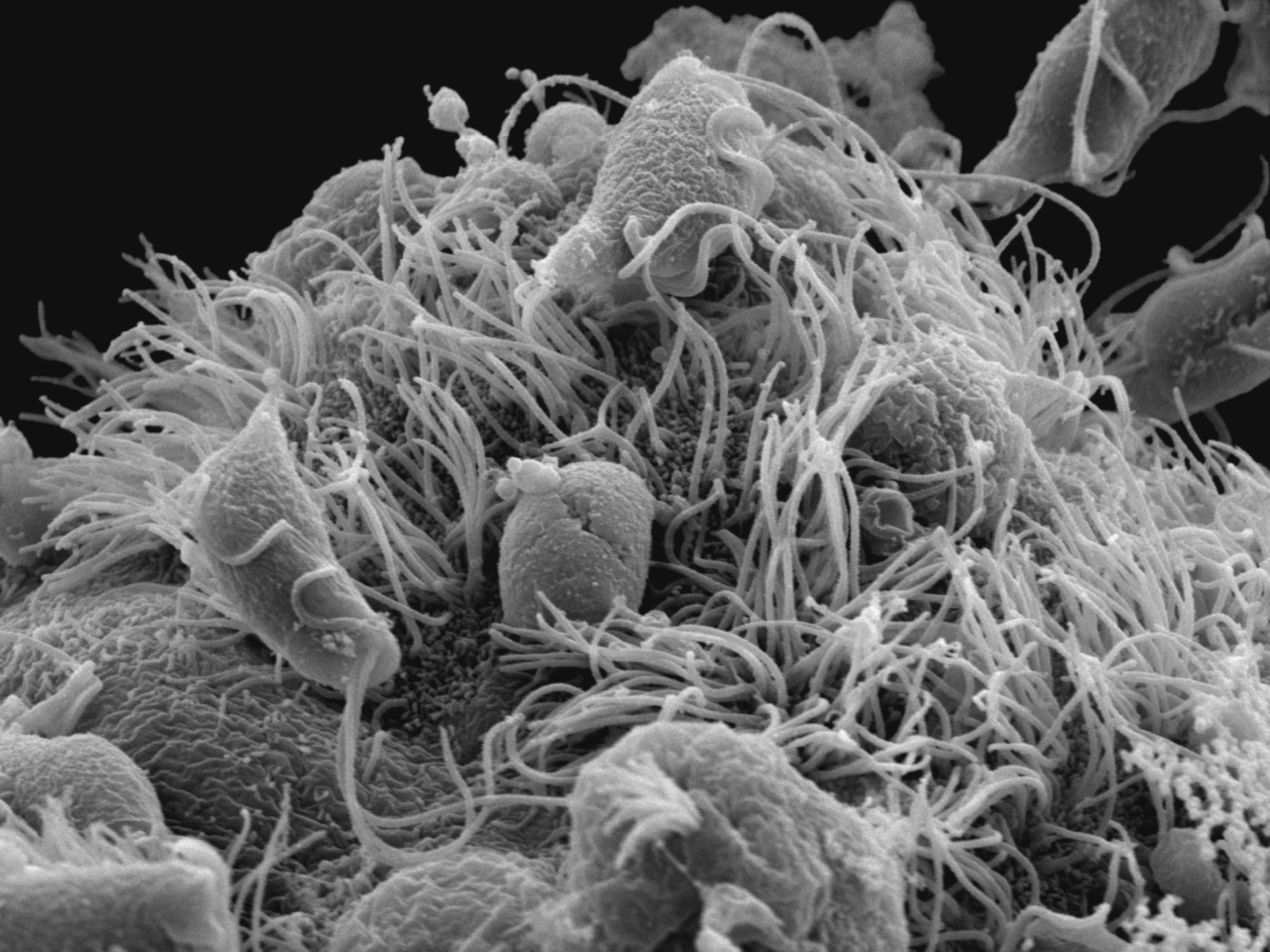
# Patogênese

## Mecanismos moleculares:

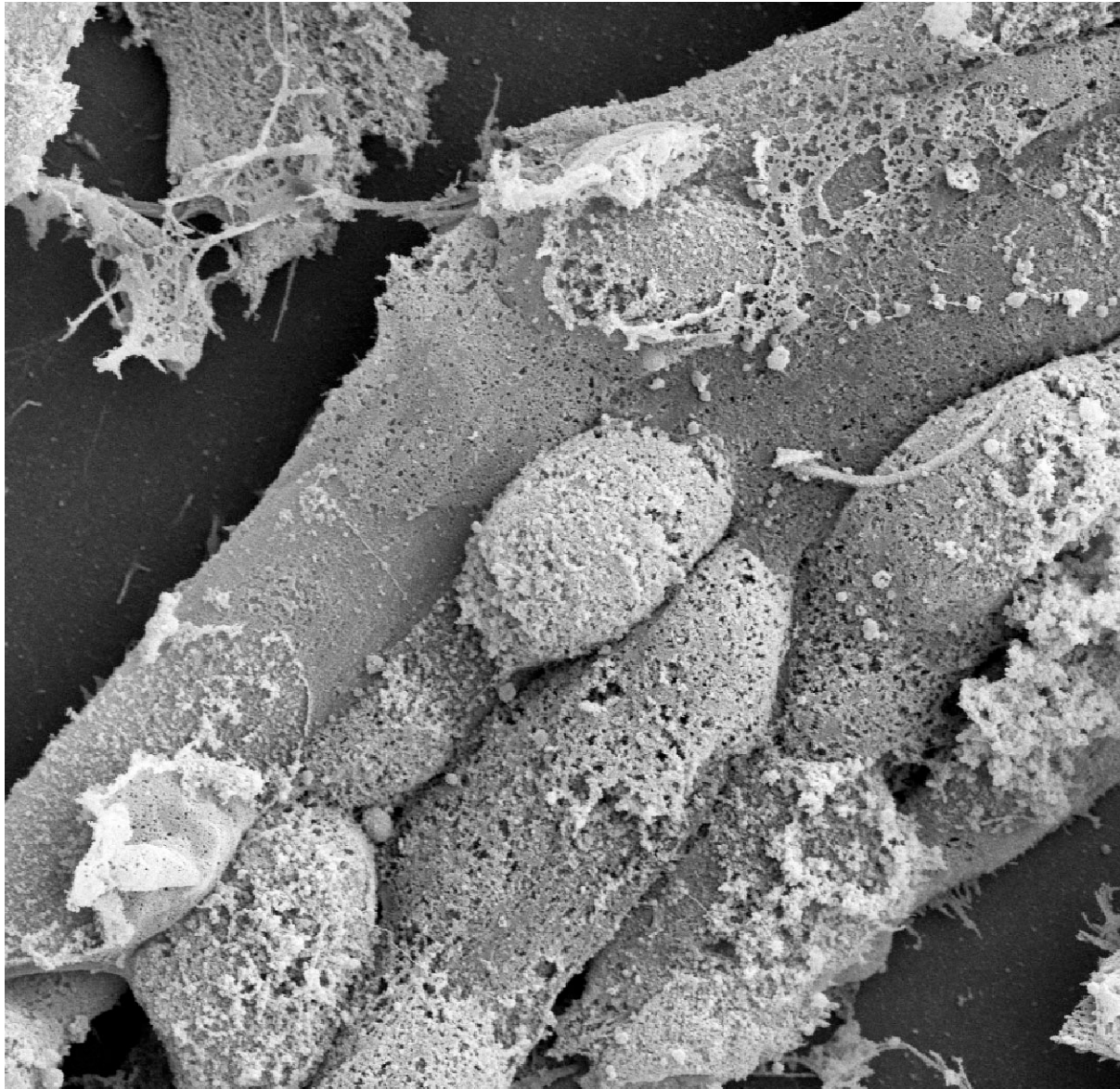
- ✓ Expressa lipofosfoglicanos (LPG) que tem também a função de auxiliar na ligação à matriz extracelular e as células endoteliais;
- ✓ Expressa cisteíno-proteases (CPs) extracelulares que digerem mucinas;
- ✓ São pelo menos 23 classes de CPs;
- ✓ Produz o chamado fator de descolamento de células (cell 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-Gutiérrez 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-Gutiérrez 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]   |

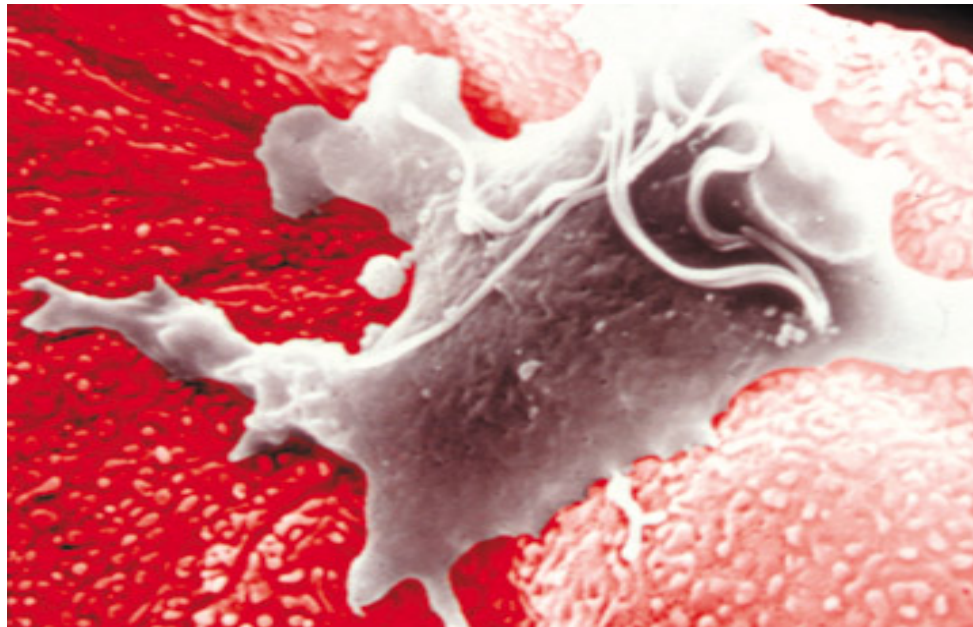
# Mecanismos de Evasão do Sistema Imune

- 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



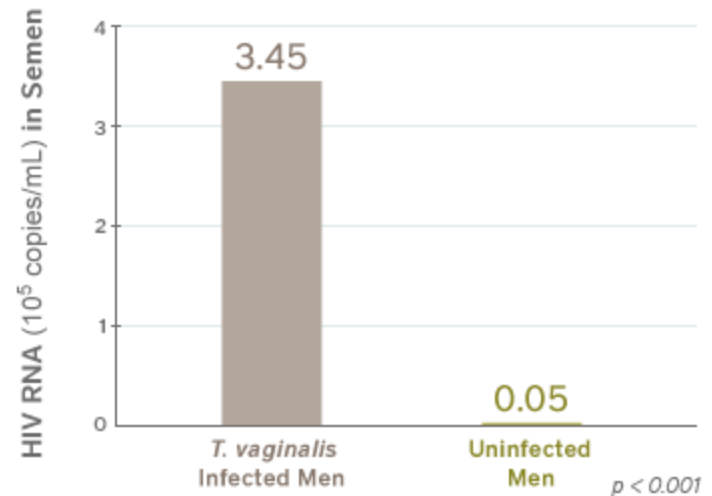
# Manifestações Clínicas

➤ 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

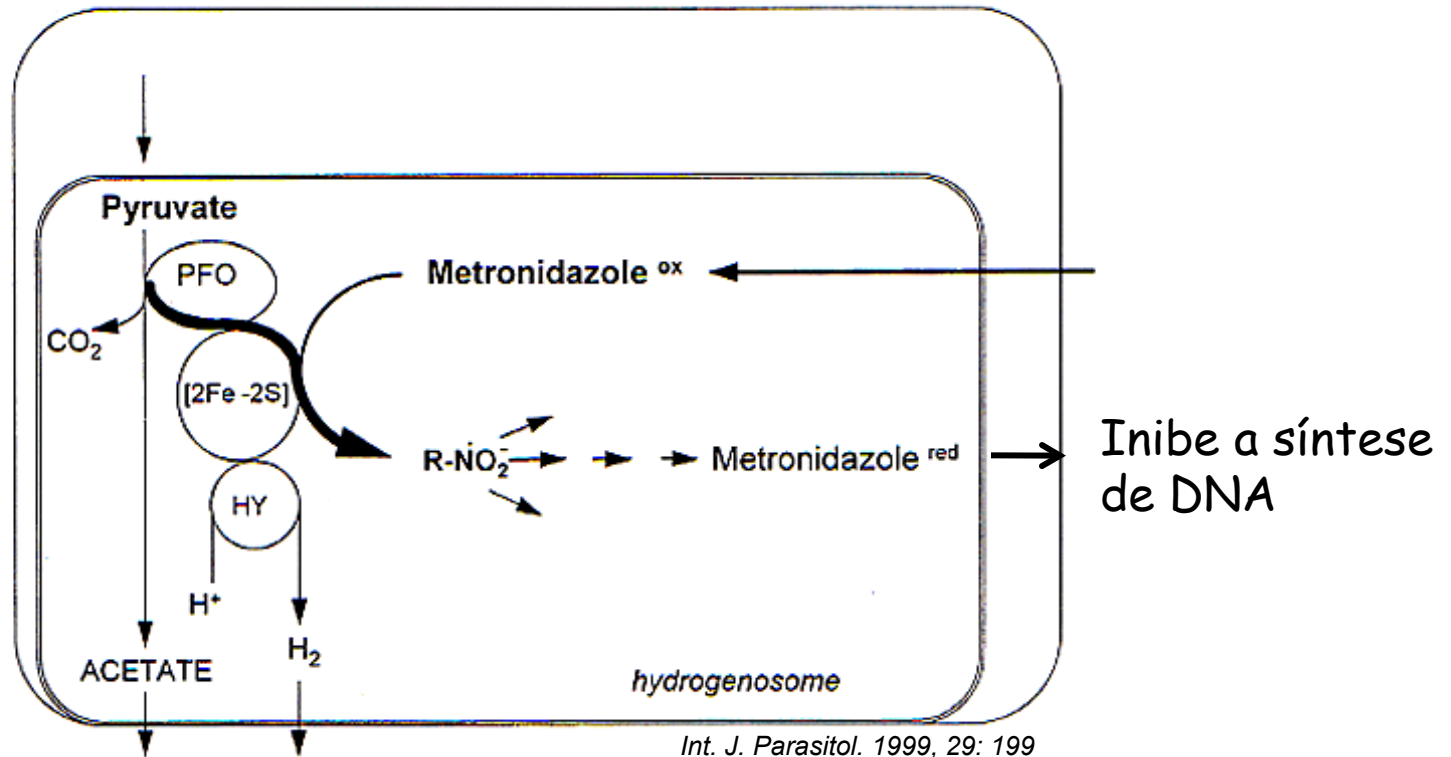
- Instituído sob supervisão médica e deve incluir todos os parceiros sexuais
- Derivados nitroimidazólicos:
  - ✓ Metronidazol
    - contra-indicado para grávidas (1º trimestre)
    - linhagens de parasitas resistentes na Europa
  - ✓ Tinidazol
  - ✓ Ornidazol
  - ✓ Nimorazol

# Tratamento

| Agente       | 1ª opção  | 2ª opção  | Outras opções<br>(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 [2Fe-2S] para a droga e não para o seu aceptor 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 ( $\text{R-NO}_2^-$ ) 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*.

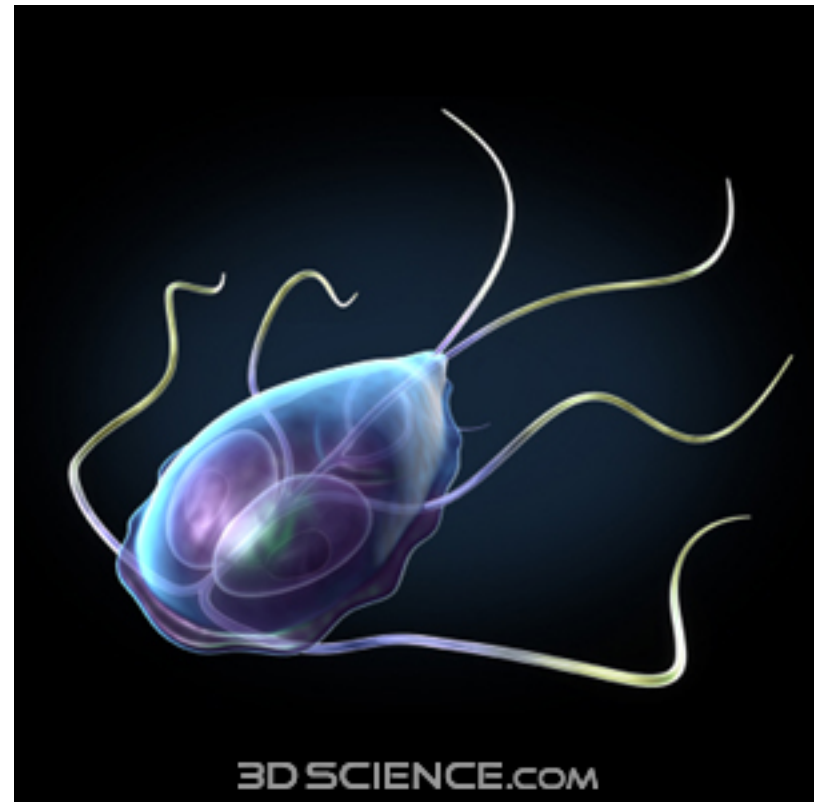
# Giardíase

# 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

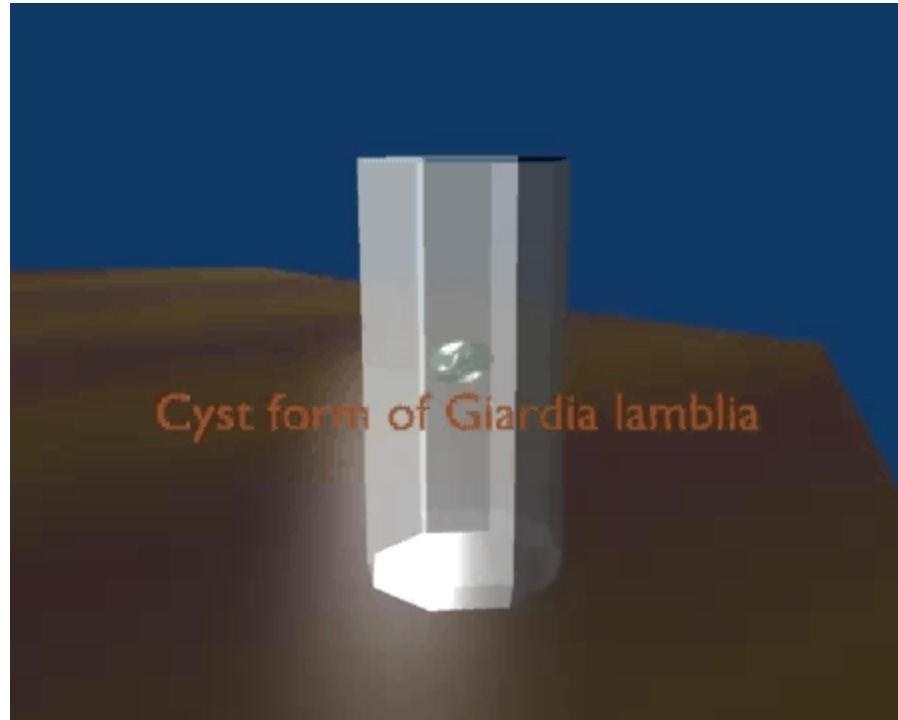
- Distribuição mundial (cosmopolita)
- OMS: 500 mil novos casos/ano
- Atinge principalmente crianças de 8 meses à 10-12 anos (creches)
- Surtos epidêmicos veiculados por água
- Prevalência
  - ✓ 5 a 43% em países em desenvolvimento
  - ✓ 3 a 7% em países desenvolvidos

# 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





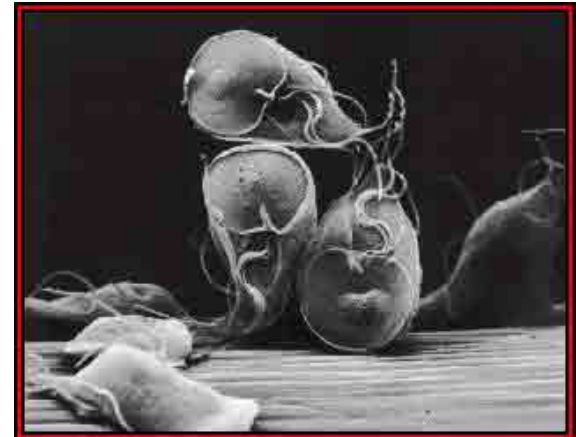
# Ciclo de Vida



**IDEXX**  
LABORATORIOS

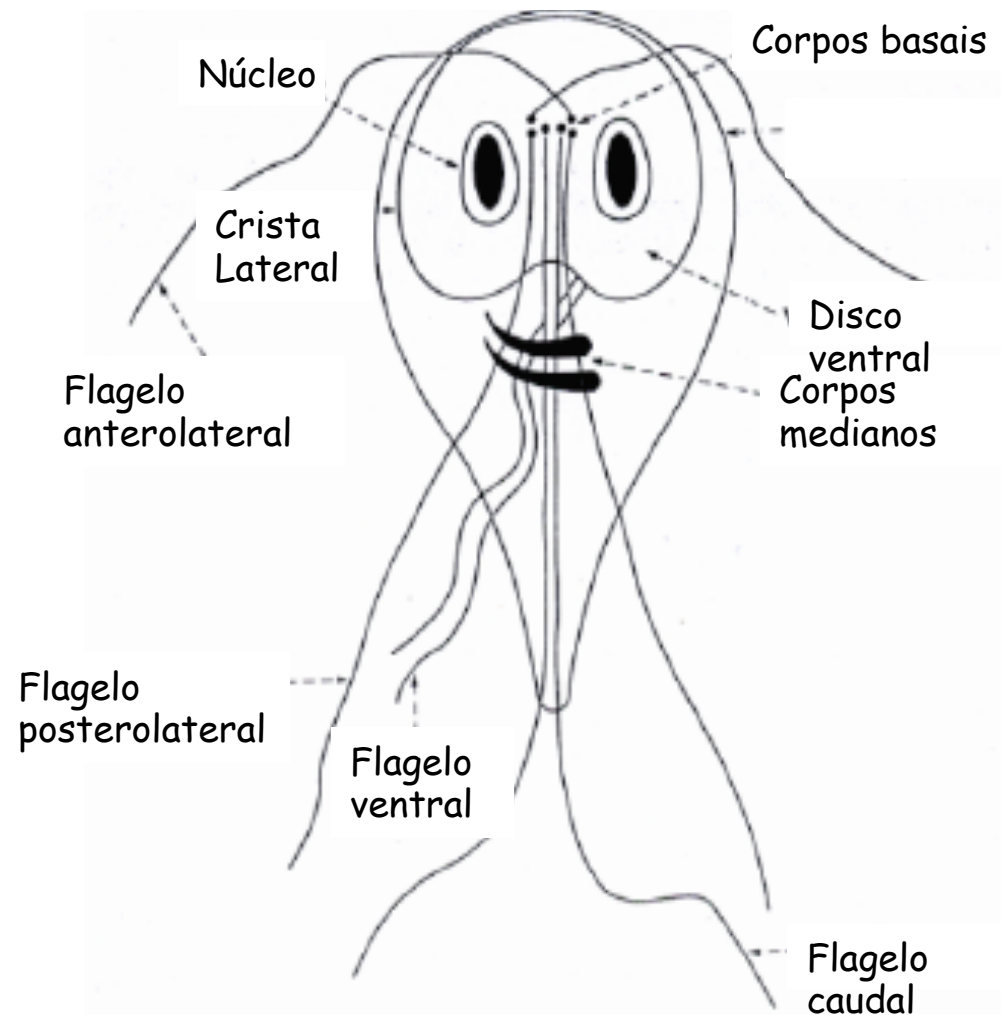
# Características Especiais

- 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



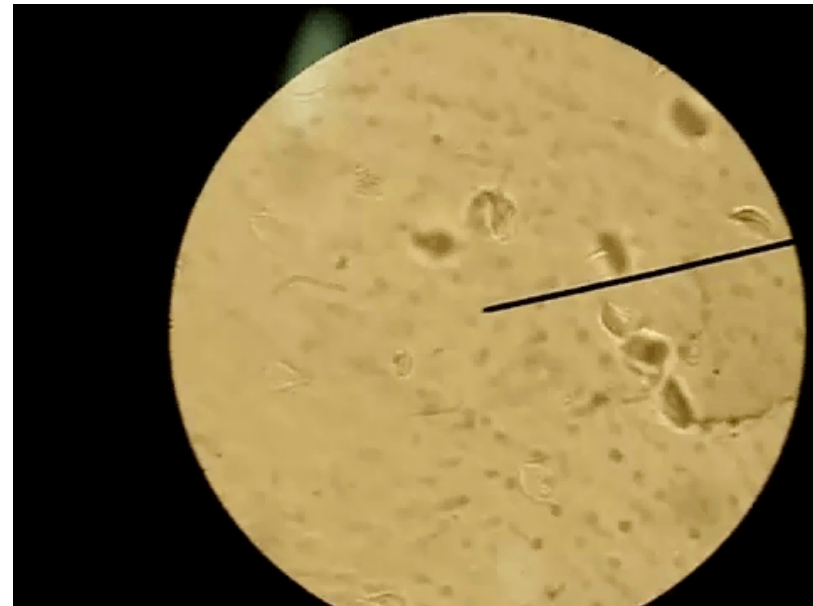
# Formas de vida - Trofozoíto

- Piriforme (12-15  $\mu\text{m}$  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

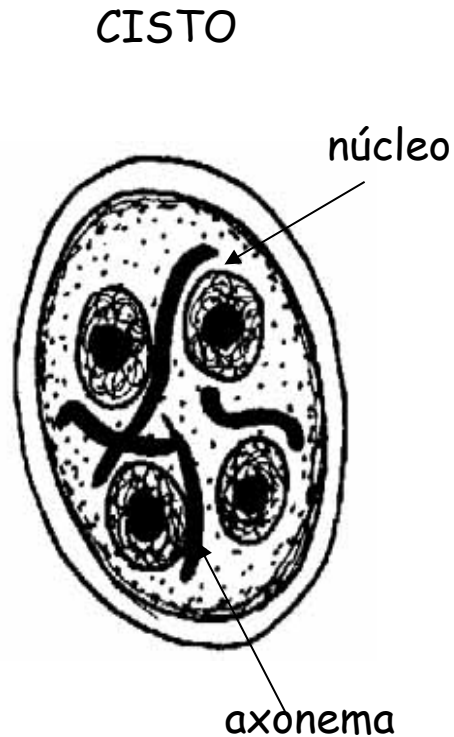


# Formas de vida - Trofozoíto

- habitat: duodeno e parte do jejuno
  - ✓ mergulhados nas criptas
  - ✓ aderidos mucosa - disco suctorial
- metabolismo: anaeróbio (não tem mitocôndria)
- aerotolerante
- nutrição: 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

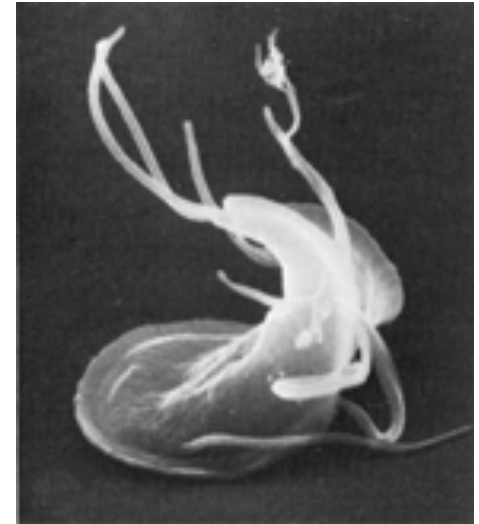
- Dores abdominais (cólicas)

- Diarreia (líquida) - muco + gordura - ausência de hemácias

- Náusea e vômitos

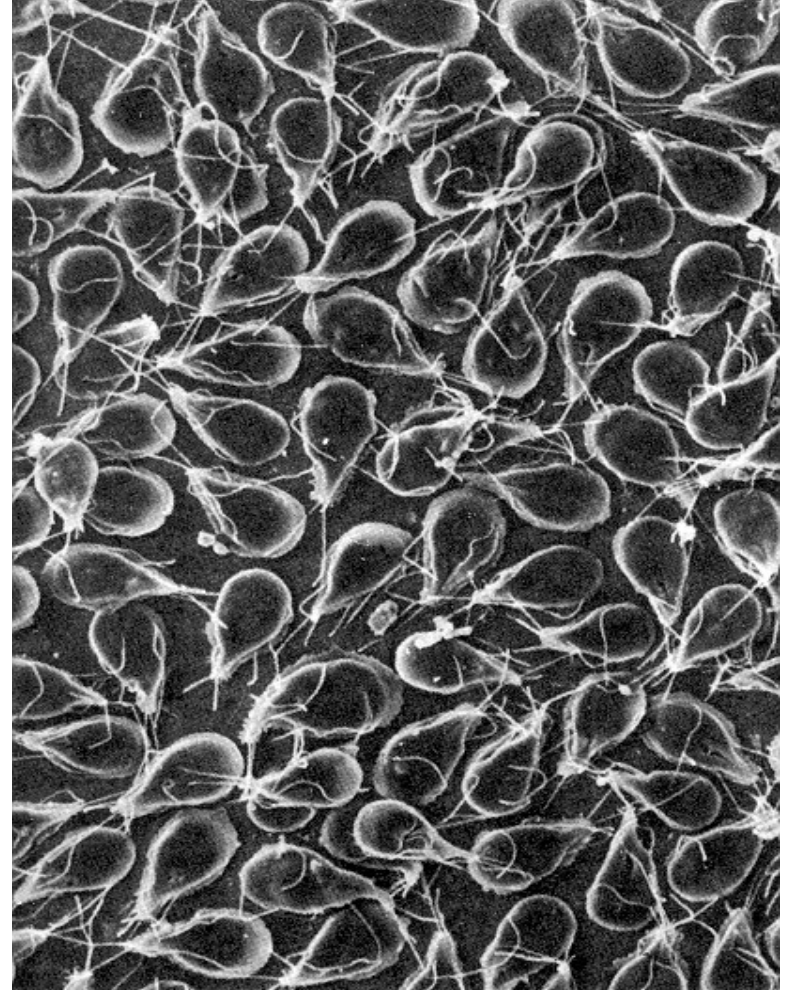
- Má absorção intestinal

Incubação: 1-2 semanas

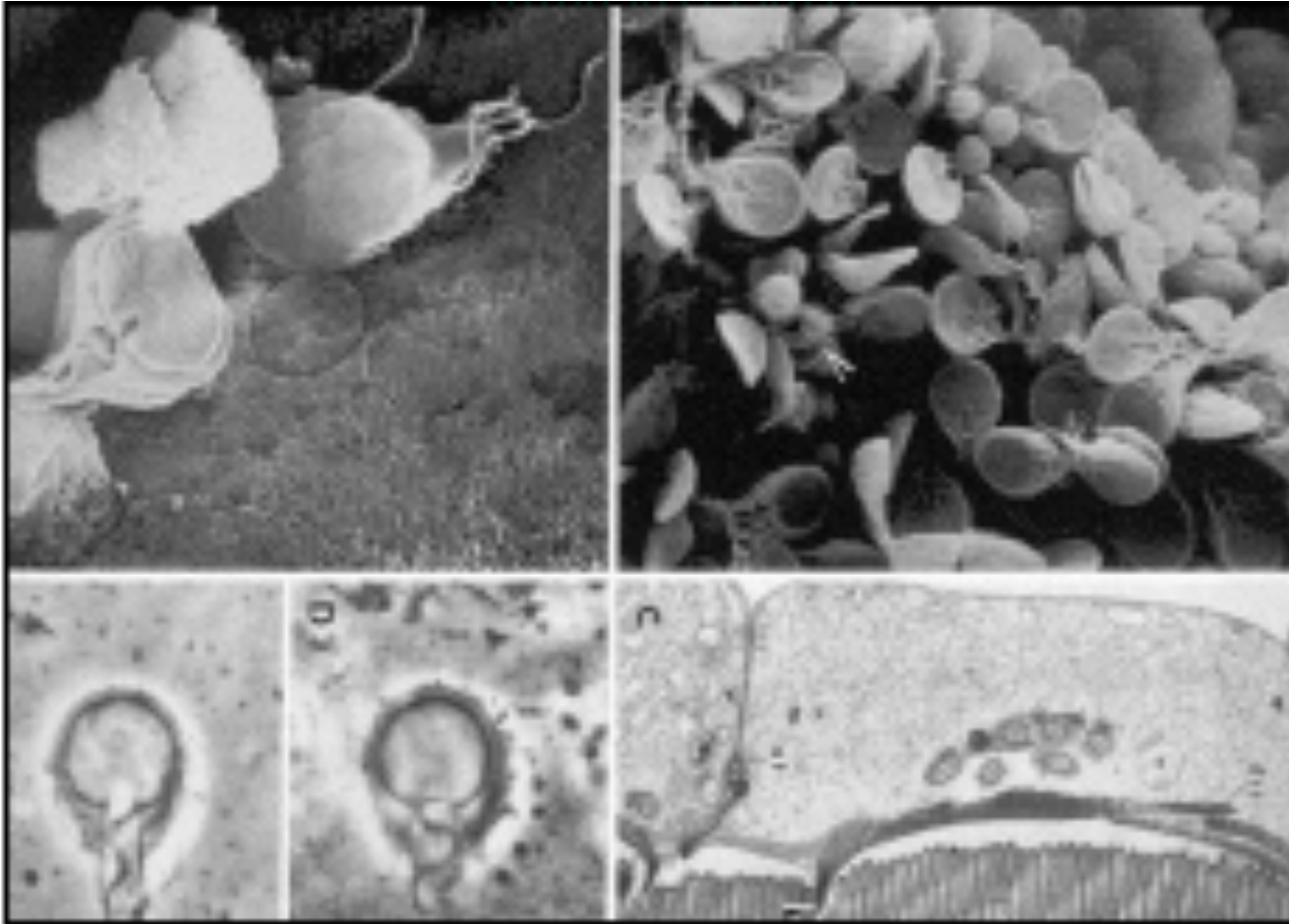


# Mecanismo de patogenicidade

- 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



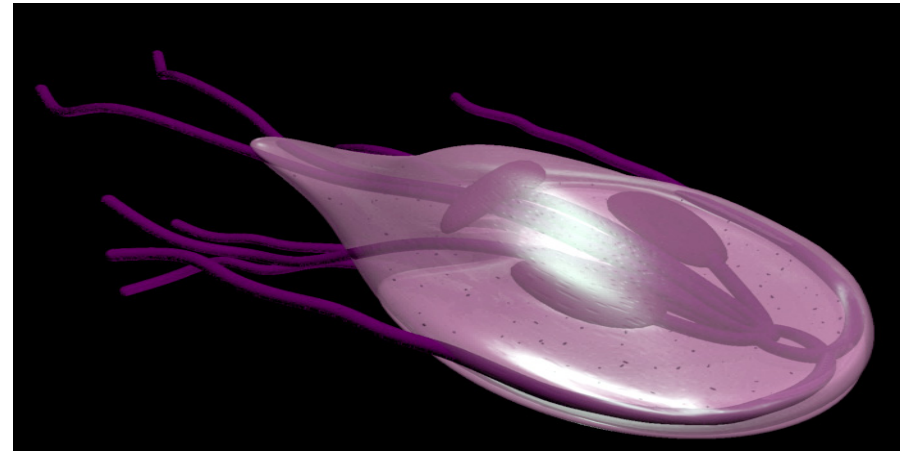
# Adesão dos trofozoítos às células epiteliais do intestino delgado





# 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.



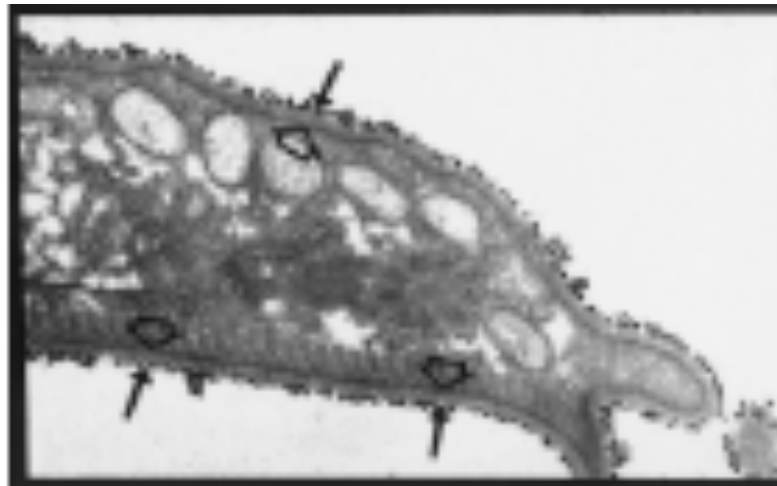
# Relação Parasita-Hospedeiro

## ➤ 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

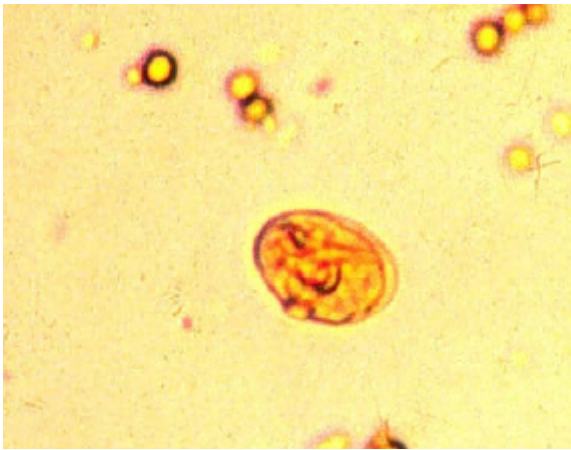
## ➤ Imunológico

- ✓ **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.

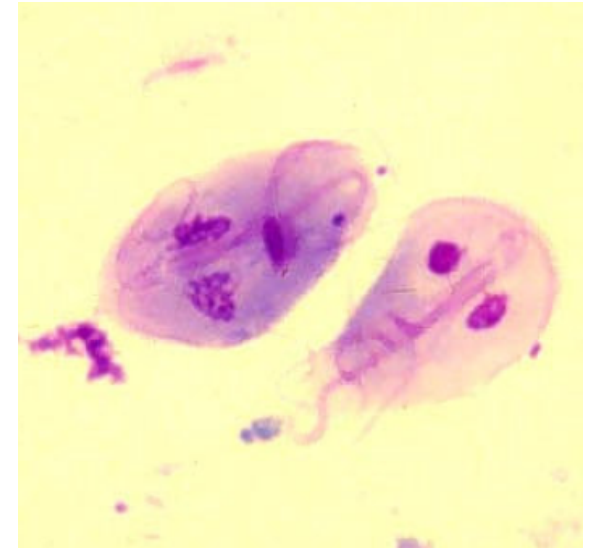
# Diagnóstico



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* serovar 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. gengivalis*,  
*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

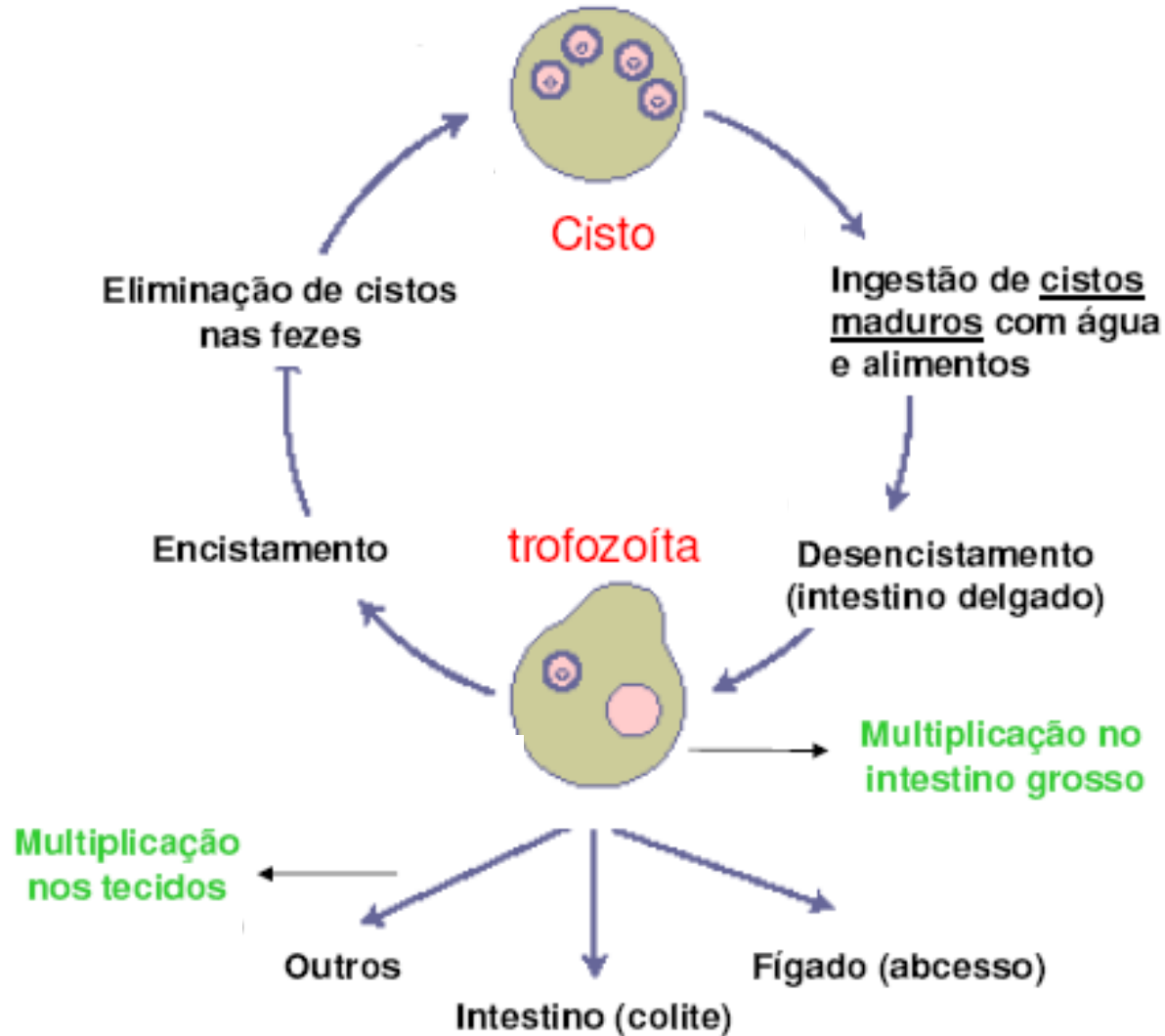
| Região        | Infecção/<br>ano       | Doença/<br>ano           | Mortes/<br>ano    |
|---------------|------------------------|--------------------------|-------------------|
| África        | 85 milhões             | 10 milhões               | 10-30 mil         |
| Ásia          | 300<br>milhões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

# Mecanismos de transmissão

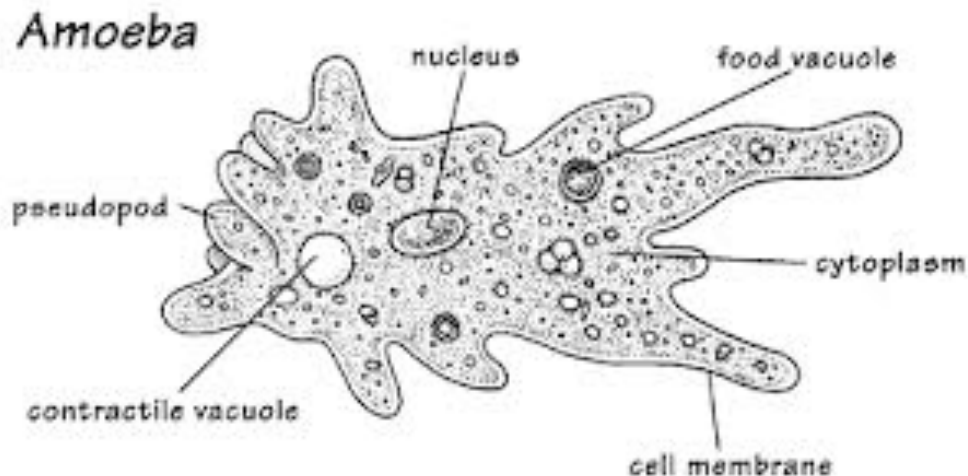
- Ingestão de cistos
  - ✓ fecal-oral
  - ✓ água ou alimentos contaminados
- Cistos são viáveis por até ~ 30 dias no meio externo
  - passam pelo estômago (quitina)
  - resistem ao pH ácido e as enzimas digestivas
  - pH alcalino do intestino delgado: desencistamento
- Ciclo: luz intestino grosso: trofozoítos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



# Ciclo de vida



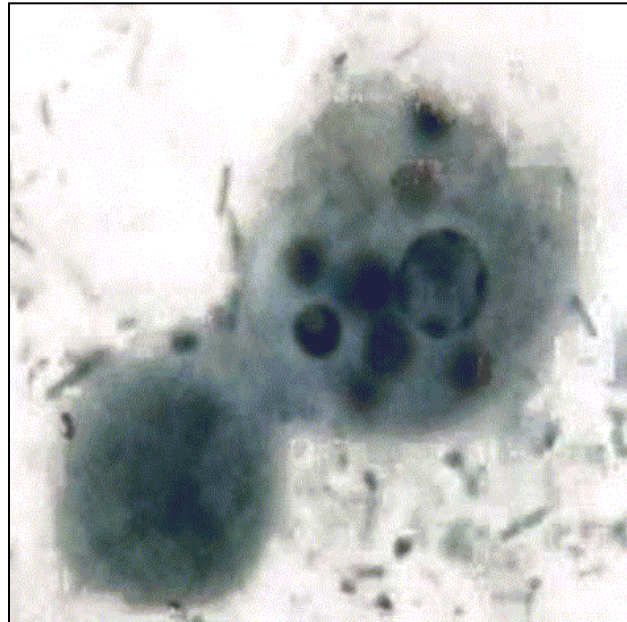
- Até recentemente era considerada um eucarioto primitivo por não possuir Mitocôndria, REG ou Aparelho de Golgi;
- Porém, houve a identificação de:
  - Proteína dissulfeto isomerase (abundante no REG);
  - Galactose-UDP e glucose-UDP (componentes do Aparelho de Golgi).
- Possui uma organela chamada mitossoma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



# Formas de Vida

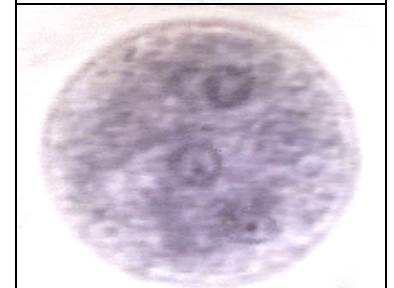
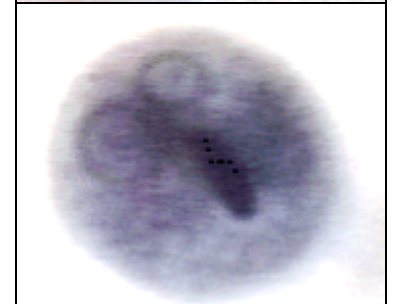
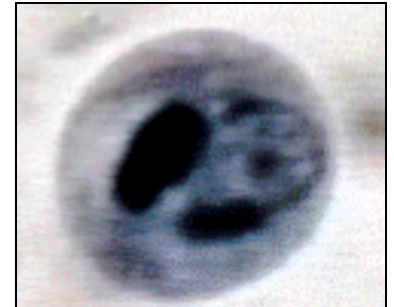
## Trofozoíto

- 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

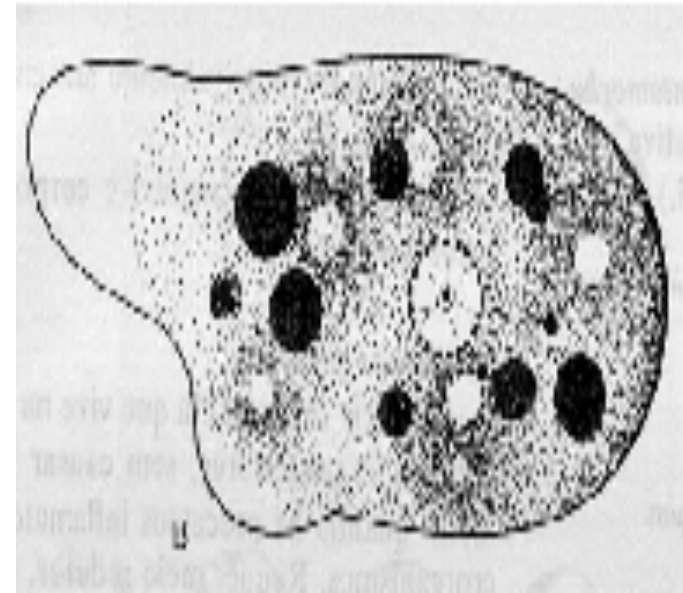
✓ principalmente anaeróbico

✓ microaerófila

✓ principal fonte energética -  
glicose (estoque - vacúolos de  
glicogênio), metabolizada

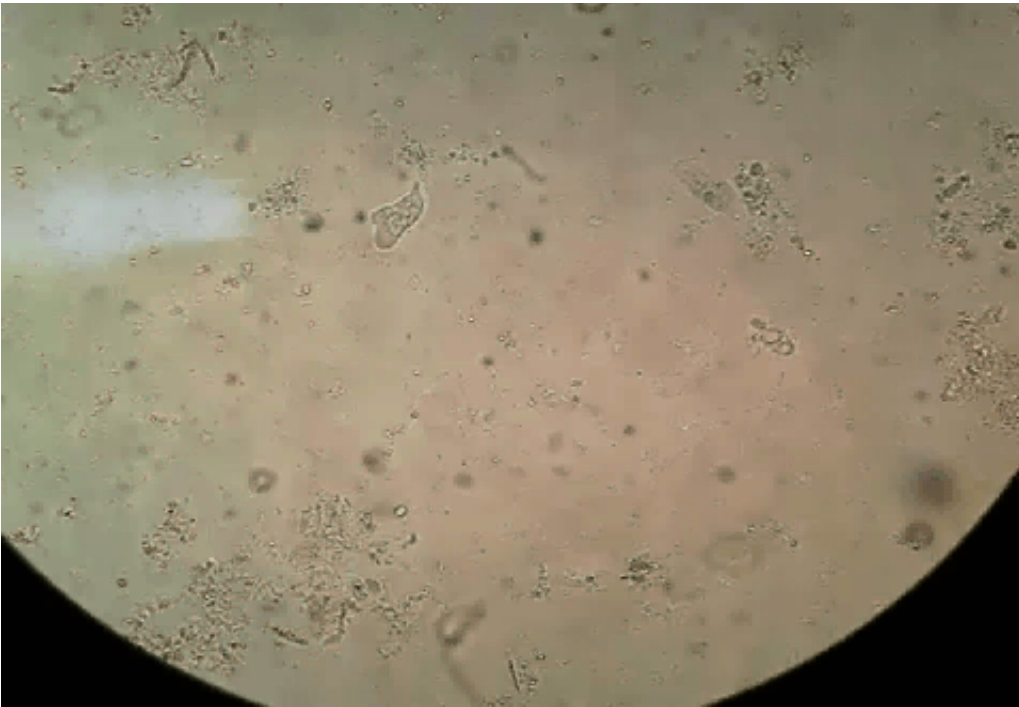
principalmente em etanol, acetato e  
 $CO_2$

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



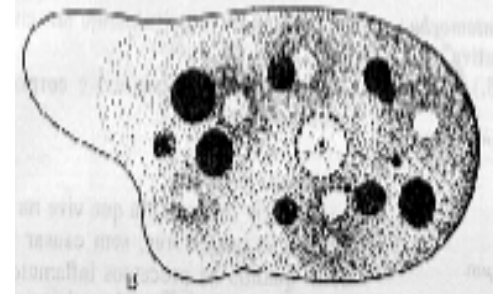
# Trofozoíto

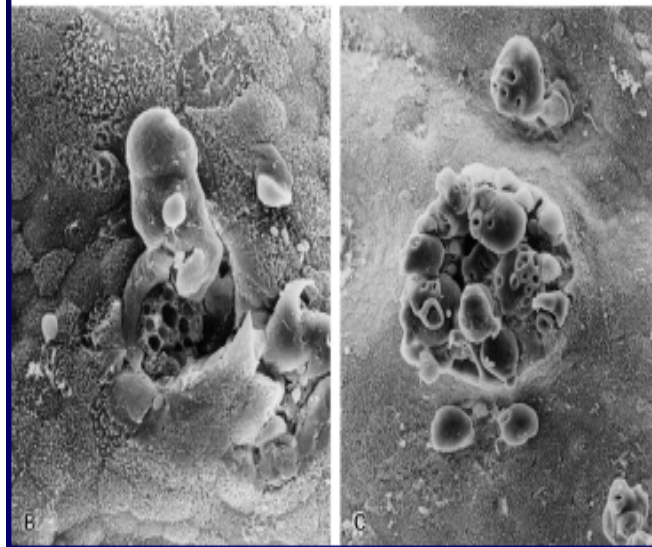
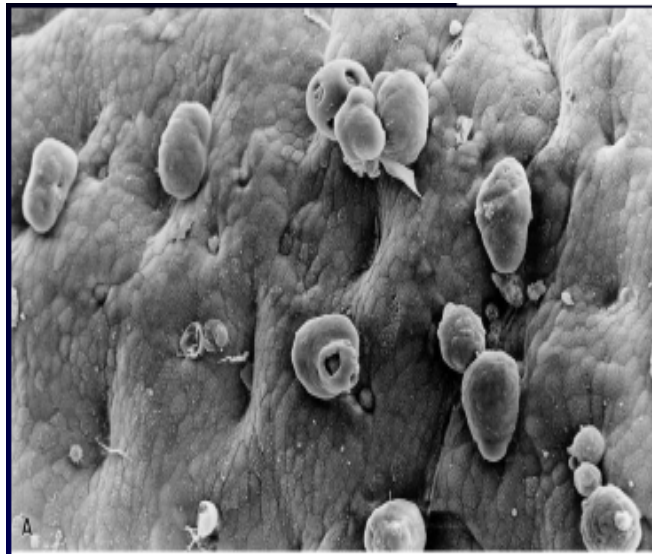
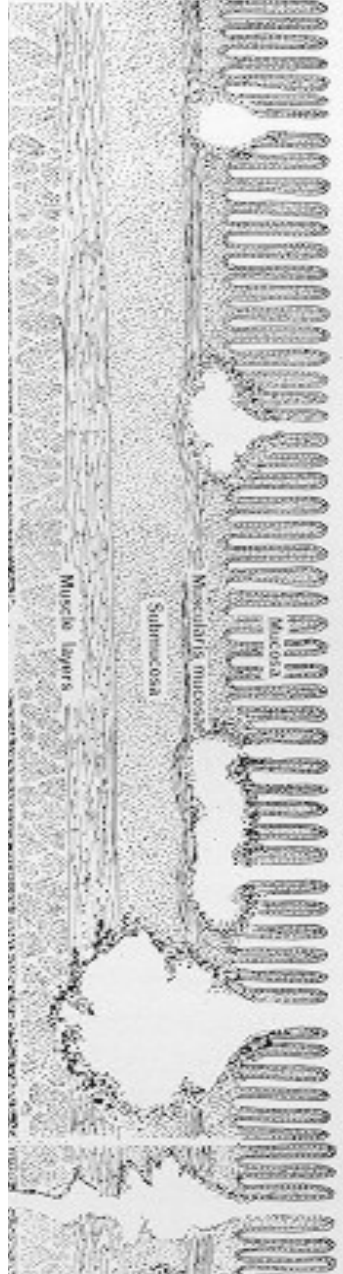
- pleomórfico, com grande variabilidade tamanho
- motilidade - pseudópodes



# 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)





**Abscesso  
fígado**

**Ulçeração  
perfuração**



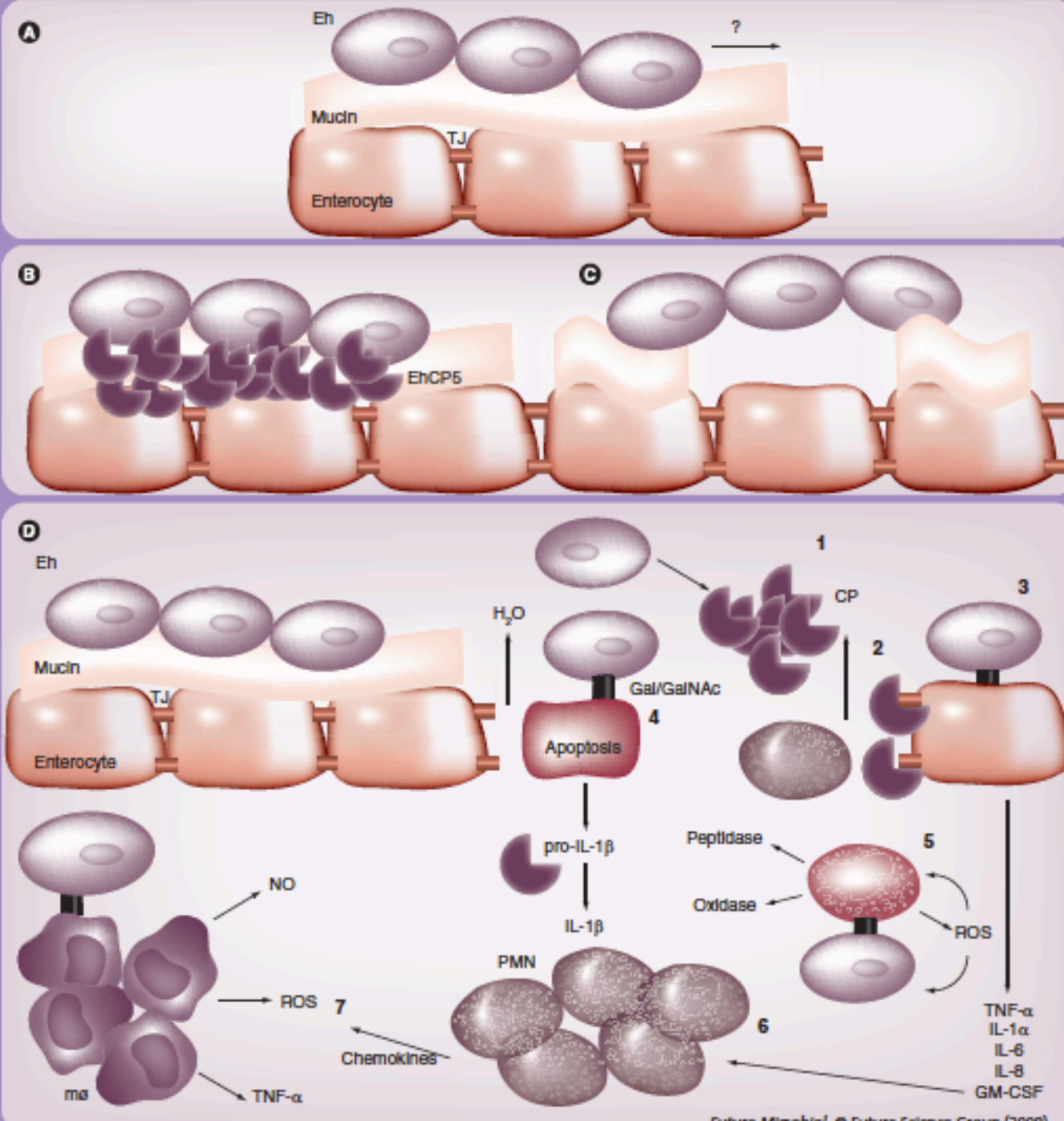
# Patogenicidade

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





# 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<br>Lyse villin and microvilli<br>Cleaves immunoglobulins, complements, as well as cytokines such as IL-18<br>Signaling role in the development of ALA | [15,16,20,24,33] |
| Gal-lectin                     | Surface adhesion molecule in parasite colonization<br>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]             |
| β1 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.*

# 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. histolytica*

# 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)

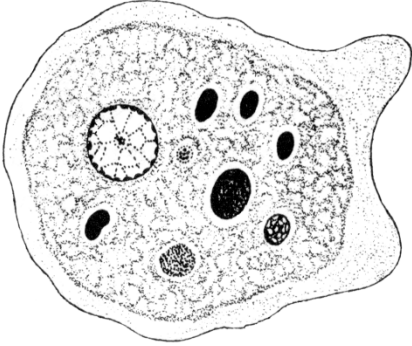
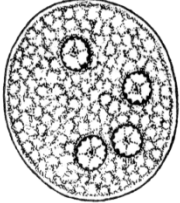
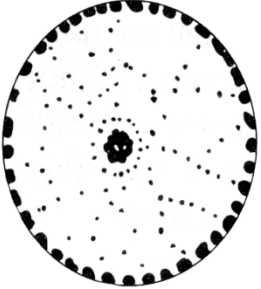
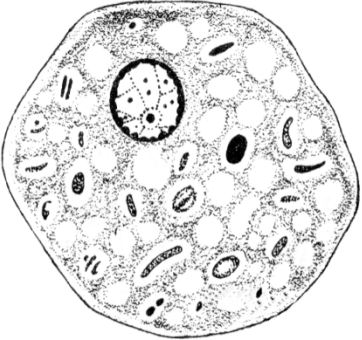
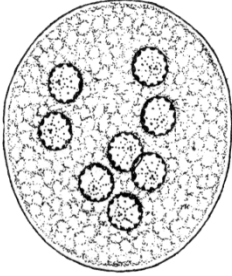
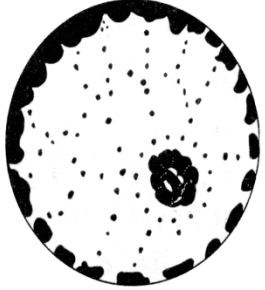
# Diagnóstico

## ➤ Problemas

✓ Diagnóstico diferencial amebas não patogênicas

• *E. histolytica* x *E. coli*

• *E. histolytica* x *E. dispar*

|                              | TROFOZOÍTO   | CISTO  | NÚCLEO  |
|------------------------------|--|--|---|
| <u>Entamoeba histolytica</u> |  A detailed black and white micrograph of an Entamoeba histolytica trophozoite. The cell is roughly circular with an irregular, wavy outer boundary. It contains a large, centrally located nucleus with a distinct, dense nucleolus. Several smaller, dark, oval-shaped organelles are scattered throughout the cytoplasm. |  A black and white micrograph of an Entamoeba histolytica cyst. It is a spherical cell with a thick, multi-layered wall. Inside, several smaller, rounded trophozoites are visible, each with a nucleus and a nucleolus. |  A black and white micrograph of a single nucleus from Entamoeba histolytica. It is circular with a thick, dark outer membrane. The interior is filled with numerous small, dark granules, and a large, dense, centrally located nucleolus is prominent. |
| <u>Entamoeba coli</u>        |  A black and white micrograph of an Entamoeba coli trophozoite. The cell is larger and more rounded than the E. histolytica trophozoite, with a more regular, rounded outer boundary. It contains a large nucleus with a prominent nucleolus and numerous small, dark, rod-shaped or oval organelles.                      |  A black and white micrograph of an Entamoeba coli cyst. It is a spherical cell with a thick, multi-layered wall. Inside, several smaller, rounded trophozoites are visible, each with a nucleus and a nucleolus.       |  A black and white micrograph of a single nucleus from Entamoeba coli. It is circular with a thick, dark outer membrane. The interior is filled with numerous small, dark granules, and a large, dense, centrally located nucleolus is prominent.       |

# 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<br>2 dias          |                         |
| TECLOZAM<br>(somente formas leves ou assintomáticas) | 1,5g, VO, dose única      | 15mg/kg/dia, VO, 5 dias |

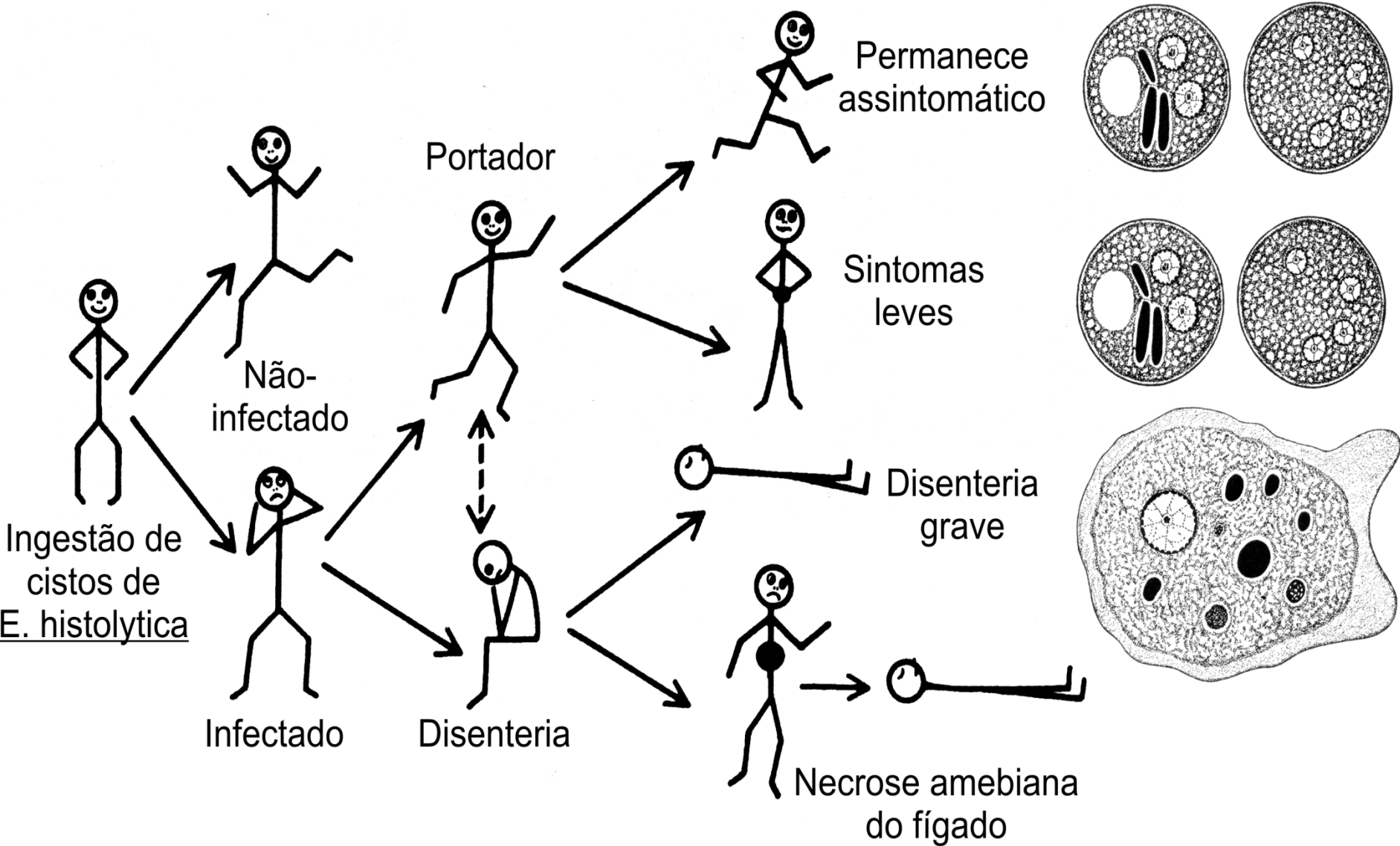
# Tratamento

## Formas graves

| Medicamento  | Adulto                         | Criança                     |
|--------------|--------------------------------|-----------------------------|
| METRONIDAZOL | 750mg, VO, 3x/<br>dia, 10 dias | 50mg/kg/dia,<br>VO, 10 dias |
| TINIDAZOL    | 50mg/kg/dia,<br>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

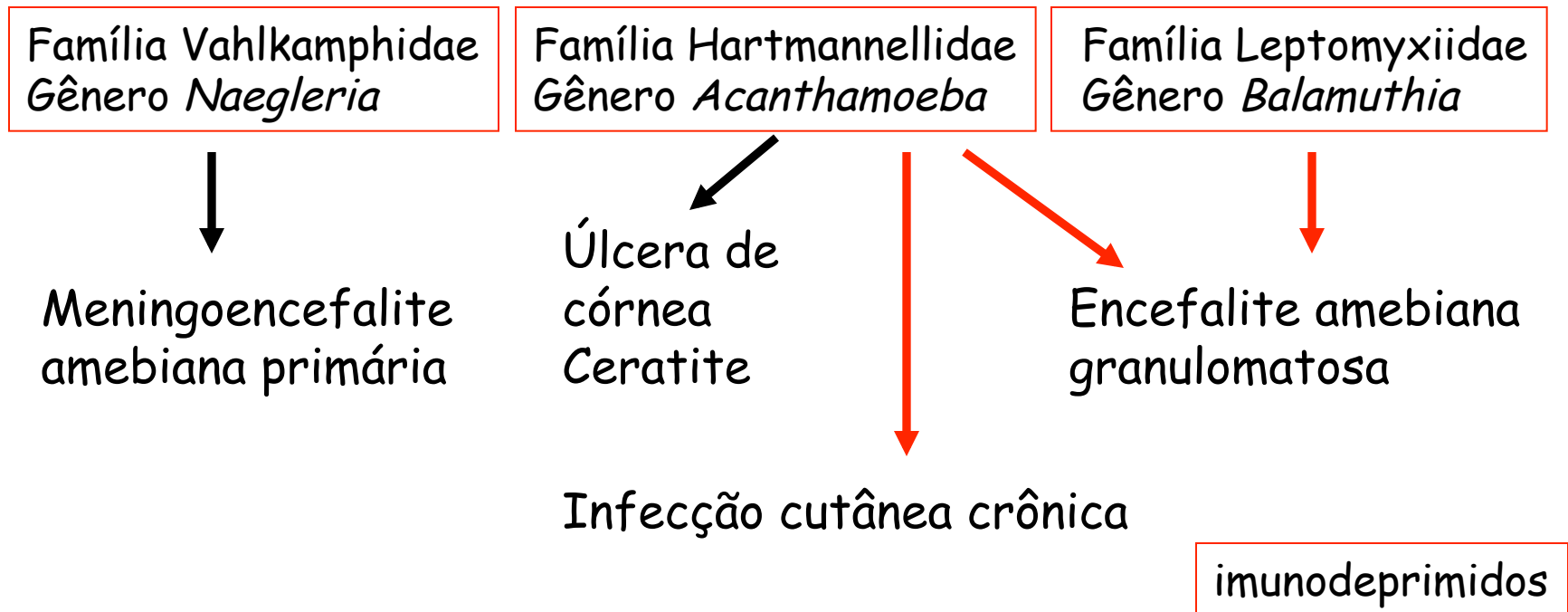
Predicted metabolism of *E. histolytica* based on analysis of the genome sequence data.



# Amebíase como doença oportunista

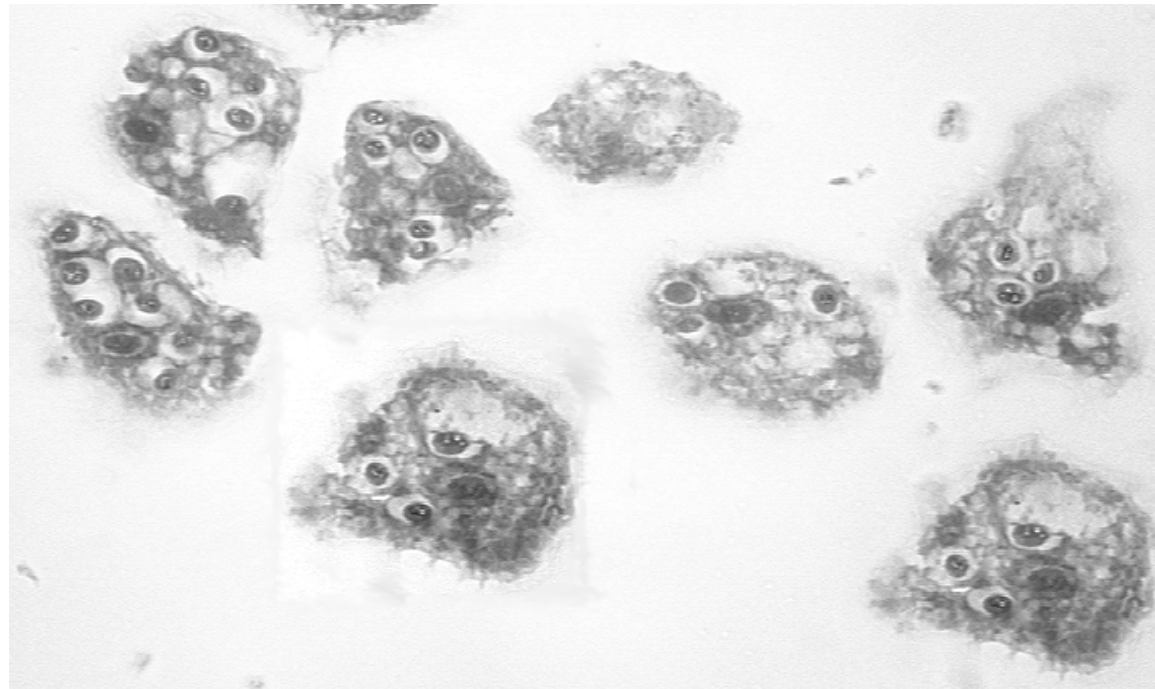
Amebas encontradas no solo e na água, bacteriófagas.

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.

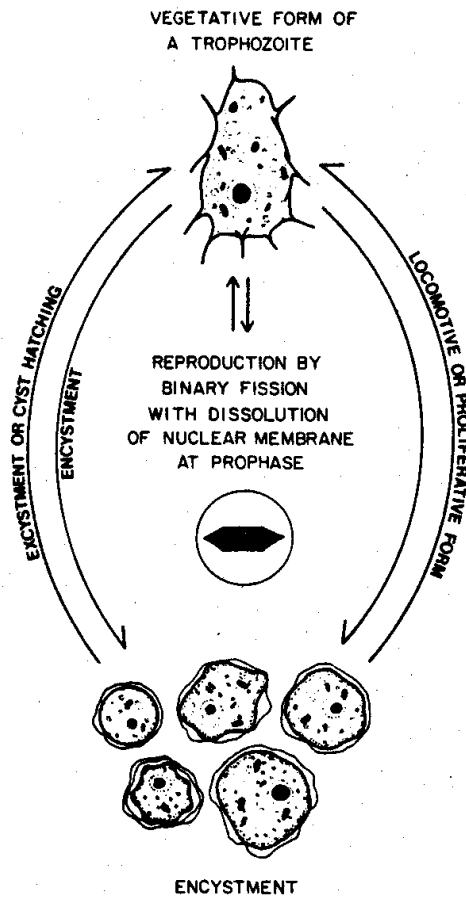
*Naegleria fowleri* - contato com água, contaminação via epitélio neuroolfatório - indivíduos saudáveis

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

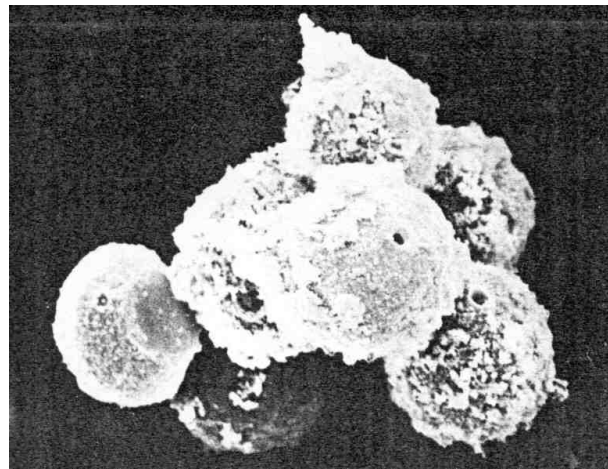
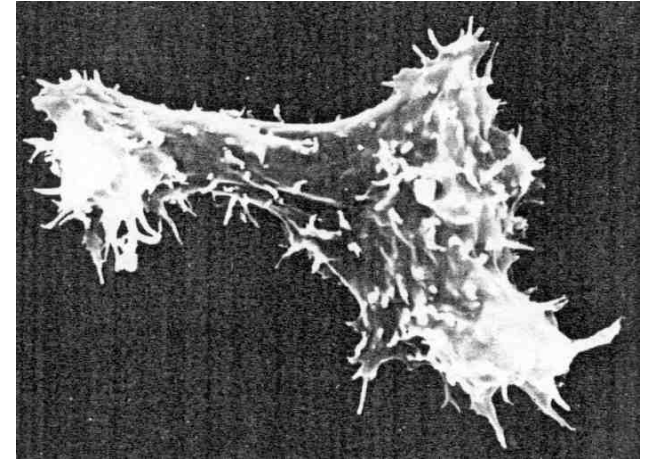
Fatores determinantes para infecção:

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

# Acanthamoeba



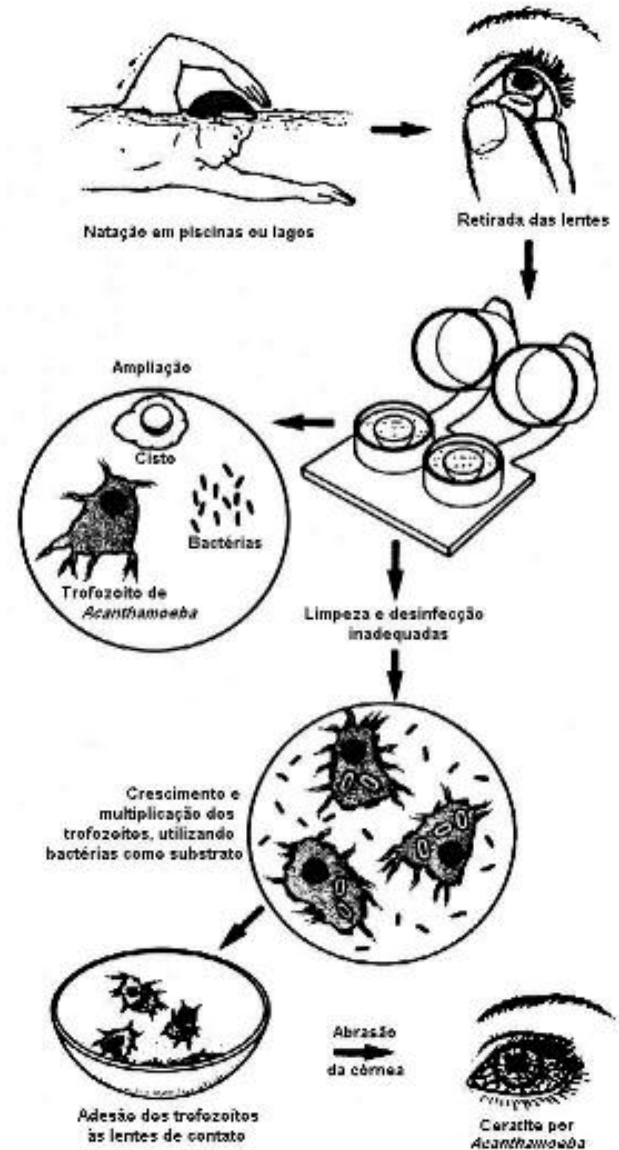
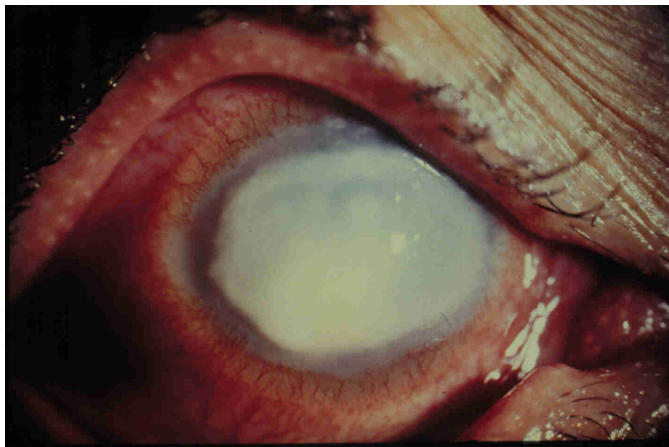
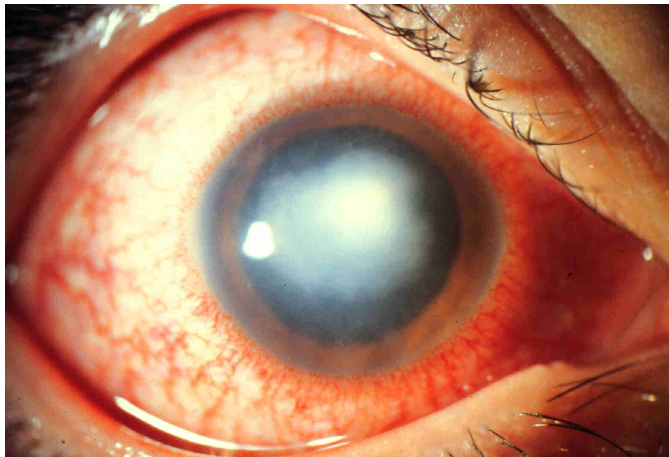
*A. culbertsoni*  
*A. polyphaga*  
*A. hatchetti*  
*A. castellanii*





# Acanthamoeba spp

- Infecção ocular (ceratites)



# Acanthamoeba - Patogenia



Infecção ocular

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

Contato → adesão

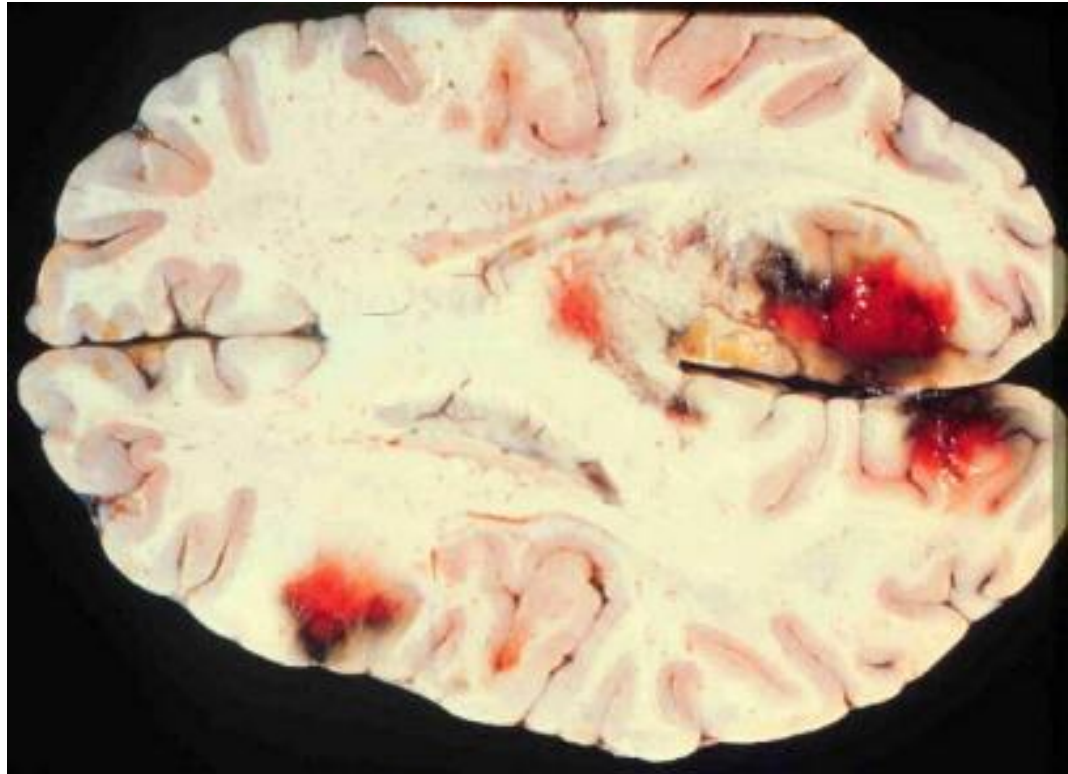
Serino e cisteíno-proteases → efeito citopático

Fagocitose/ apoptose → lesão/morte celular



# AMEBAS DE VIDA LIVRE

*Acanthamoeba* spp.



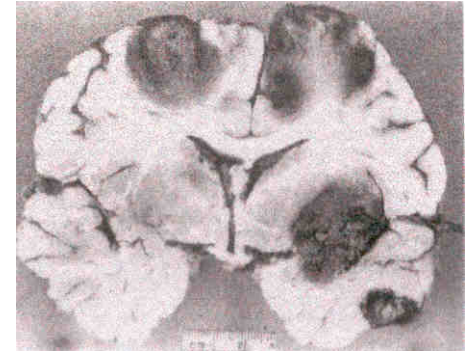
- Encefalite amebiana granulomatosa

# *Acanthamoeba*

Pacientes com imunodepressão



Infecção cutânea crônica



Encefalite amebiana granulomatosa

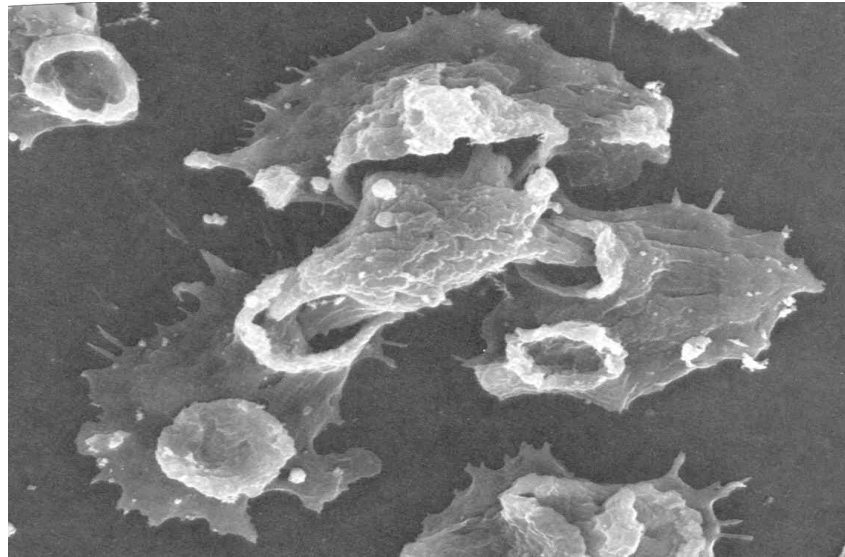
Endossimbiontes - *Legionella* e outras bactérias

# Amebíase como doença oportunista

Família Vahlkampfiidae  
Gênero *Naegleria*



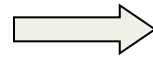
*Naegleria fowleri*



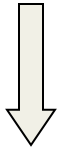
Termofílica

# *Naegleria fowleri*

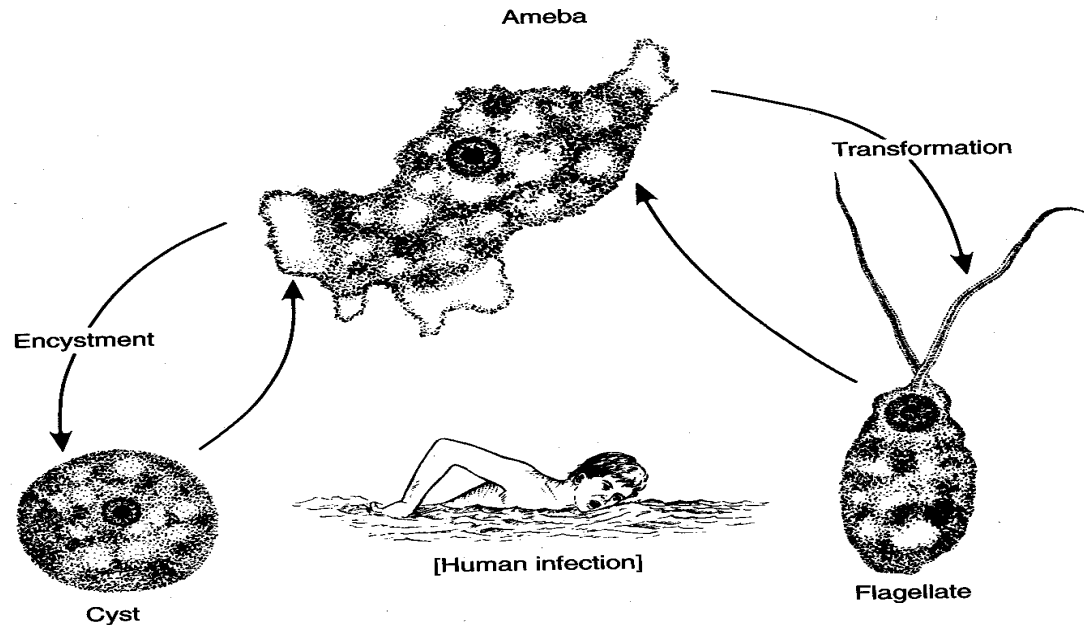
Família Vahlkamphidae  
Gênero *Naegleria*



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