

**VI. VERMES.**  
Corporis Musculi ab una parte basi cuidam solidæ mixti.

**Helmintos 01**

1. Introdução = Taxonomia e evolução dos “helmintos”
2. Epidemiologia
4. Relação Parasita-hospedeiro
3. Biologia dos nematoides - Modelos
5. Drogas anti-helmínticas
6. Nematoides transmitidos por ovos com larvas

**e-mail: [cwinter@icb.usp.br](mailto:cwinter@icb.usp.br)**



1

### 3º Bloco – Carlos Winter & Marta Teixeira

Terça-Feira	Sexta-feira	AULA	Prof.
	7-out	Helmintos - Introdução - Nematoides transmitidos por ovos	Carlos
11-out		Nematoides Transmitidos por Larvas	Carlos
	<b>14-out</b>	<b>Prática - NEPs</b>	<b>Carlos</b>
18-out		Nematoides intestinais com hospedeiro intermediário	Carlos
	21-out	Helmintos teciduais (filarioses)	Carlos
25-out		Platelmintos - Cestoides	Carlos
<b>1-nov</b>		<b>Seminários</b>	<b>Carlos</b>
	4-nov	<i>Schistosoma mansoni</i> & <i>Fasciola hepática</i>	Marta
8-nov		<i>Schistosoma mansoni</i>	Marta
	11-nov	<i>Schistosoma mansoni</i>	<b>Marta</b>
	<b>18-nov</b>	<b>Prova 02 - Vermes</b>	



2

## Bloco 3 – Nematoides - Carlos

	3a	6a	Aula
OUTUBRO		7	<b>Introdução &amp;</b> Nematoides transmitidos por ovos
	11		Nematoides transmitidos por larvas
		14	<b>Prática</b> Nematoides Entomopatogênicos
	18		Helmintos Teciduais - Filárias
		21	<b>Prática</b> Análise das infecções de <i>G. mellonella</i>
	25		Platelmintos - Cestoides
NOVEMBRO	1		Seminários

3

## Artigos para discussão

<b>Grupo 01</b>	Diverse Host-Seeking Behaviors of Skin-Penetrating Nematodes
<b>Grupo 02</b>	Serine protease(s) secreted by the nematode <i>Trichuris muris</i> degrade the mucus barrier
<b>Grupo 03</b>	2-Methyl-pentanoyl-carnitine (2-MPC): a urine biomarker for patent <i>Ascaris lumbricoides</i> infection
<b>Grupo 04</b>	The amphidial neuron pair ALD controls the temperature-sensitive choice of alternative developmental pathways in the parasitic nematode, <i>Strongyloides stercoralis</i>

4

## Artigos para discussão em aula

[http://www.icb.usp.br/~cewinter/Artigos\\_BMP0103\\_2022/](http://www.icb.usp.br/~cewinter/Artigos_BMP0103_2022/)

### Artigos Para Seminários - BMP0103 - 2022

Grupo 01  
Grupo 02  
Grupo 03  
Grupo 04

Avaliando os artigos

### Documentos Grupo 01

- Diverse Host Seeking Behaviors of Skin-Penetrating Nematodes (PDF - 2,5MB)
- Questões (PDF - 12KB)
- Suplementos (ZIP - 5MB)

### Pontos a serem analisados nos artigos

#### Introdução

- Os autores indicaram por que o estudo foi realizado?
- As informações básicas fornecidas foram adequadas para entender os objetivos do estudo?

#### Métodos

- Os métodos foram descritos com detalhe suficiente para outros repetirem ou estenderem o estudo?
- Se métodos usuais foram utilizados, referências adequadas foram fornecidas?
- Se os métodos foram modificados, as modificações foram descritas com cuidado?
- Os autores indicaram as razões pelas quais determinados procedimentos foram utilizados?
- Os autores indicaram claramente os problemas potenciais com os métodos utilizados?

Sim Não

### Questões para o artigo sobre comportamento de JIs

*OBS.: Alguns pontos são melhor compreendidos consultando o suplemento*

- Como foram feitos os ensaios de movimento e de nictação?
- Como foram feitos os ensaios de quimiotaxia?
- Quais os problemas causados por nematoides que infectam hospedeiros através da pele?
- Os juvenis infectantes (JIs) desses nematoides respondem a algum estímulo químico ou físico?
- Quais os diferentes substâncias/condições que atraem as diferentes espécies de nematoides parasitas?
- Como se espera que sejam os comportamentos dos JIs de parasitas?
- Quais as espécies de nematoides cujos JIs foram testados neste trabalho? Por que eles foram escolhidos?

5

## Dinâmica da discussão dos artigos

### Grupos de Estudo

	1	2	3	4
a	Debora Almeida	Beatriz Carvalho	Gustavo Soares	Maira Marrão
b	Amanda Nocera	Eduardo Machado	Giovana Santos	Tainá Oliveira
c	Dominique Silva	Camila Bomfim	Gustavo Barbosa	Nicole Oliveira
d	Augusto Arruda	Gabriela Oliveira	Isabelle Silva	Pedro Ferreira
				Tomás Matheus

### Grupos de Discussão

	a	b	c	d
1	Debora Almeida	Amanda Nocera	Dominique Silva	Augusto Arruda
2	Beatriz Carvalho	Eduardo Machado	Camila Bomfim	Gabriela Oliveira
3	Gustavo Soares	Giovana Santos	Gustavo Barbosa	Isabelle Silva
4	Maira Marrão	Tainá Oliveira	Nicole Oliveira	Pedro Ferreira
				Tomás Matheus

6

## Doenças Tropicais Negligenciadas (NTDs) de acordo com a OMS

Doença	Prevalência global estimada	PARASITAS	HELMINTOS
Ascariase	800-900 milhões	←	←
Ancilostomose	600-700 milhões	←	←
Tricuríase	500-600 milhões	←	←
Esquistossomose	200-600 milhões	←	←
Filariose linfática	100 milhões	←	←
Dengue	50-100 milhões	←	←
Infecção por trematoides em alimentos	50-60 milhões	←	←
Oncocercose	20-30 milhões	←	←
Tracoma	20 milhões	←	←
Leishmaniose	10 milhões	←	←
Doença de Chagas	10 milhões	←	←
Cisticercose	2-3 milhões (com epilepsia)	←	←
Lepra	0,5 milhão	←	←
Equinococose humana	0,3 milhão	←	←
Raiva	< 0,1 milhão	←	←
Tripanossomíase Africana	<0,1 milhão	←	←
Úlcera de Buruli	<0,1 milhão	←	←
Bouba e treponematose endêmica	não determinado	←	←
Prionúclíase	próximo da erradicação (?)	←	←

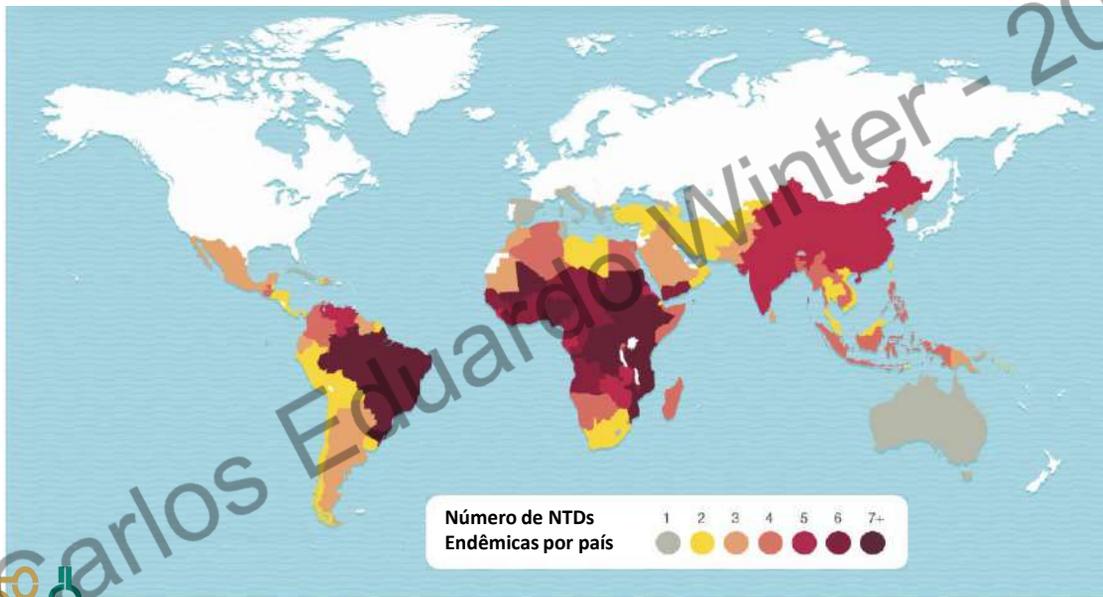
68% das NTDs são causadas por parasitas

77% das NTDs causadas por parasitas são devidas a helmintos

modif. de: Hotez (2010) *Forgotten people, forgotten diseases* - ASM Press - Washington DC - p. 5

7

## Doenças Tropicais Negligenciadas (NTDs) de acordo com a OMS

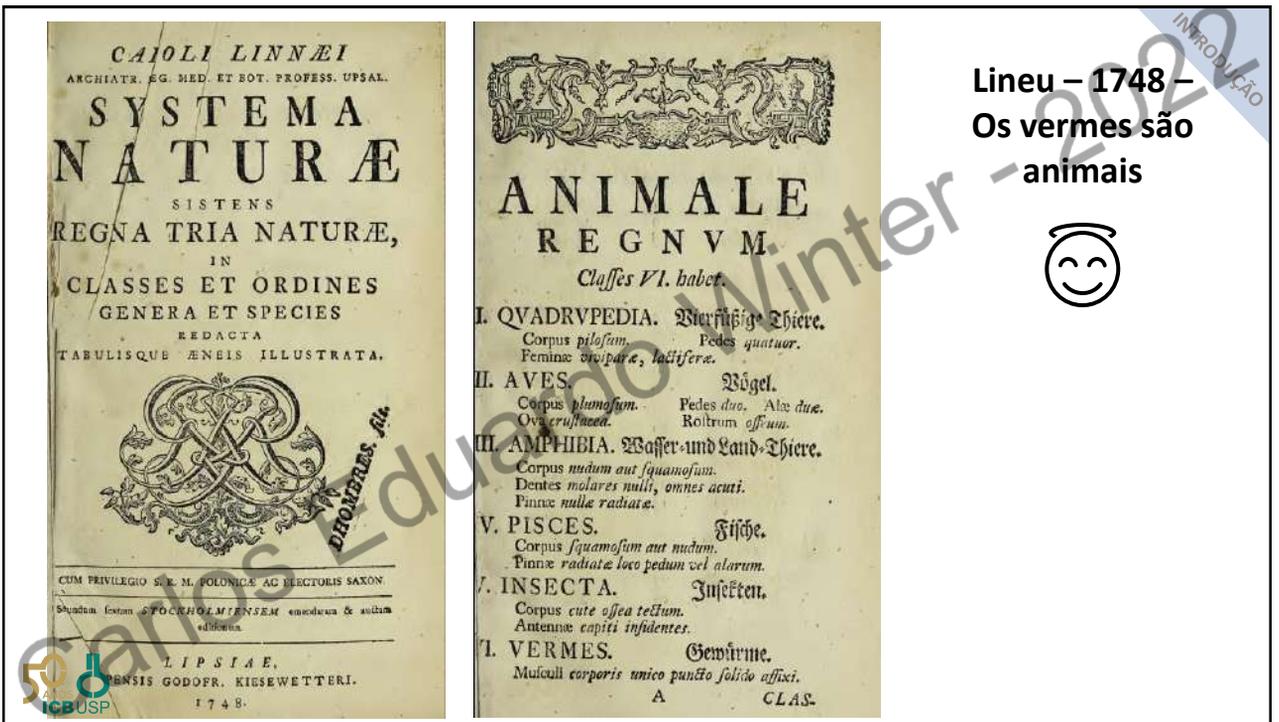


modif. de: Hotez (2010) *Forgotten people, forgotten diseases* - ASM Press - Washington DC - p. 6

8



9



10

Lineu – 1748 – Os répteis são vermes – *Ascaris* é um réptil



78

CLASSIS VI.  
VERMES.

I. REPTILIA.	Medusa	206	
Gordius	210	Aferius	207
Afcaris	211	Echinus	208
Lumbricus	212	III. TESTACEA.	
Tania	213	Patella	209
Fasciola	214	Cochlea	210
Hirudo	215	Cyprea	211
II. ZOOPHYTA.		Haliois	212
Amphitrite	216	Dentalium	213
Tethys	217	Nautium	214
Nereis	218	Concha	215
Limax	219	Lepas	216
Lemna	220	Microcosmus	217
Hydra	221	IV. LITHOPHYTA	
Sepia	222	Tulipora	218
Triton	223	Madrepora	219
Salacia	224	Millepora	220
Aphrodita	225	Seriatia	221

Ordo 1.



VERMES REPTILIA. 79

Ordo 1.  
REPTILIA. Kriechendes Gewürme.

Corpus nudum destitutum artuum.

210. GORDIUS. Corpus filiforme, teres, simpliflorum.  
Os bifidum: maxillæ horizontales, divergi.  
1. Sea squids. *Pa. 125. & Gsch. 20.* - - - - - Wolfenbut.  
2. Vasa molliscula. - - - - - Hieronymum.

211. ASCARIS. Corpus teres, utrinque acuminatum.  
1. Ascarides lincol. *Pa. 119.* - - - - - Spachium.  
2. Ascarides calvatis.

212. LUMBRICUS. Corpus teres, virgæ annularibus.  
1. Lumbricus terrestris. *Pa. 120.* - - - - - Megensium.  
2. Lumbricus terre. (Zanovill.)  
3. Lumbricus marinus. *Pa. 120. & Gsch. 20. p. 6.* - - - - - (Gadonum)

213. TENIA. Corpus lineare, planum, articulationem.  
1. Tenia paludis. *Pa. 118.* - - - - - - - - - - - - - - -  
2. Lumbricus levis. *Tab. 41. 10.* - - - - - - - - - - - - - - -

214. FASCIOLA. Corpus lineare, plano-convexum, longitudinaliter foveatum.  
Os latera emarginatum: maxillæ horizontalitatis.  
1. Hirudo limax. *Pa. 122.* - - - - - - - - - - - - - - - (Zhu.)  
2. Verus emarginatus. *Pa. 122.* - - - - - - - - - - - - - - -

215. HIRUDO. Corpus varoque extremitate dilatatum.  
1. Sanguipe. *Pa. 122. 123.* -  
2. Hirudo terra. *Pa. 122.* -

E. 4. Ordo 2.

11

Lamarck – 1801 – subdivide os vermes

Page 315.

TABLEAU DES VERS.

VERS EXTÉRIEURS.		VERS INTÉSTINS.
Avec des organes extérieurs.	Sans organes extérieurs.	
1. Néréide,	14. Dragoëau.	17. Fasciole. ←
2. Aphrodite.	15. Sangue.	18. Ligule.
3. Amphinome.	16. Planaire.	19. Linguatule.
4. Arenicole.		20. Tenia. ←
5. Térébelle.		21. Hydatide. ←
6. Amphitrite.		22. Echinorinque.
7. Serpule.		23. Tentaculaire.
8. Spirorbe.		24. Massète.
9. Dentale.		25. Géroflée.
10. Fure.		26. Strongle.
11. Nayade.		27. Cucullan.
12. Lombric.		28. Trichure. ←
13. Thalassème.		29. Ascaride. ←
		30. Fisule.
		31. Crinon.
		32. Proboscide.
		33. Filaire. ←

de: Lamarck (1801) *Système des Animaux sans Vertèbres*

12

TRAITÉ  
DES  
**ENTOZOAIRES**  
ET DE  
MALADIES VERMINEUSES  
DE L'HOMME ET DES ANIMAUX DOMESTIQUES  
PAR  
**G. DAVAINÉ**  
Accompagné de 88 figures interactives dans le texte

PARIS  
J.-B. BAILLIÈRE FILS  
LIBRAIRIE DE FACILITÉMENT L'ÉCRITURE  
RUE CASSINI, 15  
FRANCE

1899

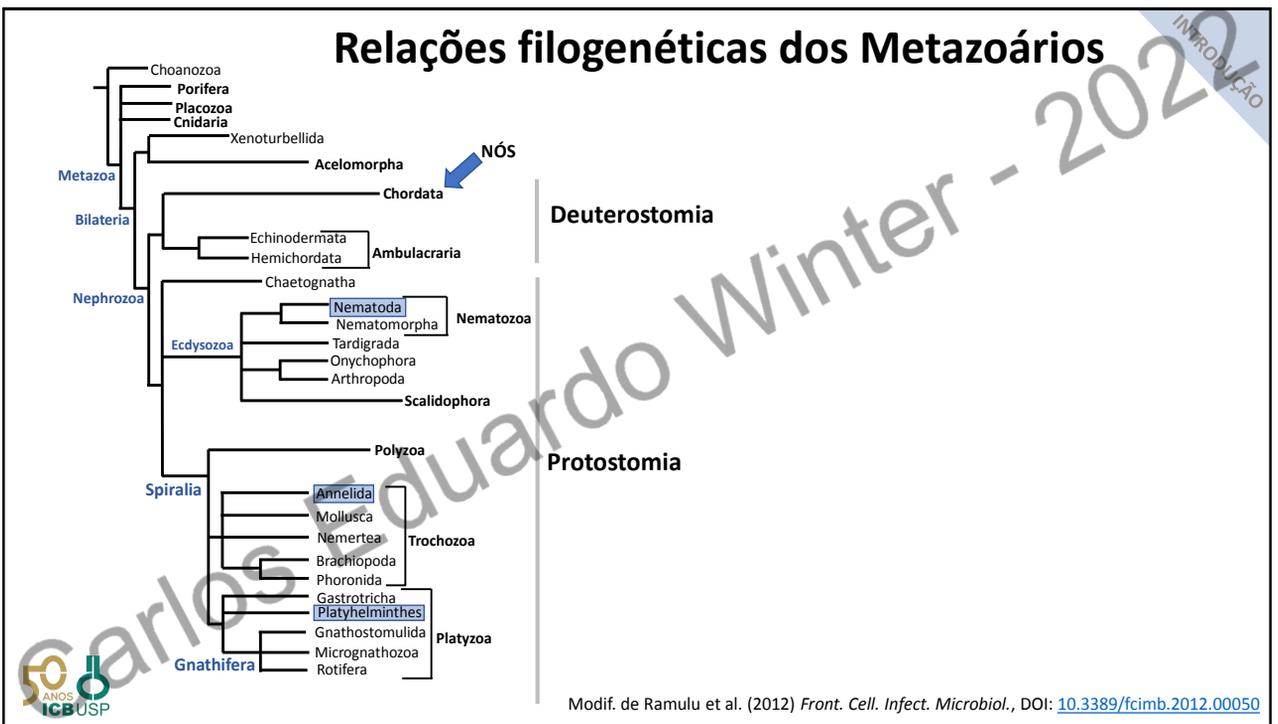
**Os vermes não existem!\***

**A helmintologia não se refere a uma categoria taxonomicamente válida!**

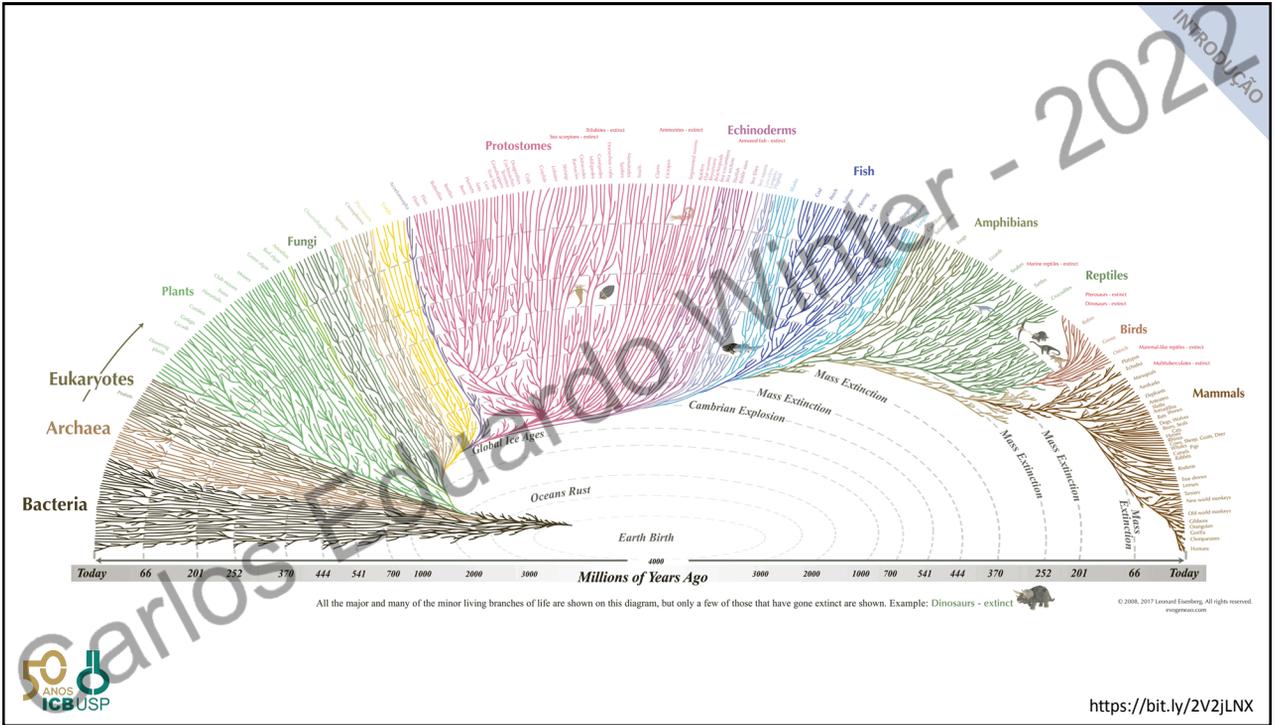
\*inspirado em Miller (2020) "Why fish don't exist"



13



14



15

### O filo Nematoda foi dividido em cinco clados

	Parasitas de seres humanos	Vida livre ou parasita - modelos	
CLADO V	<i>Ancylostoma duodenale</i>	<i>Caenorhabditis elegans</i>	Chromadoria
	<i>Necator americanus</i>	<i>Oscheius tipulae</i>	
CLADO IV	<i>Ancylostoma caninum</i> ZOONÓTICOS	<i>Pristionchus pacificus</i>	
	<i>Angiostrongylus</i> spp.	<i>Panagrolaimus</i> spp.	
CLADO III	<i>Ascaris lumbricoides</i> Filárias	<i>Ascaris suum</i>	
	<i>Enterobius vermicularis</i>		
	<i>Toxocara canis</i> ZOONÓTICOS		
CLADO II	<i>Toxocara catti</i> Anisakis simplex	?	Dorylaimia
	<i>Trichuris trichiura</i>		
CLADO I	<i>Trichinella spiralis</i> ZOONÓTICO		

50 ANOS ICB USP

https://bit.ly/2WoKgXQ

Ver Kumar et al., *Worm* 1:42-50, 2012  
<http://dx.doi.org/10.4161/worm.19046>

16



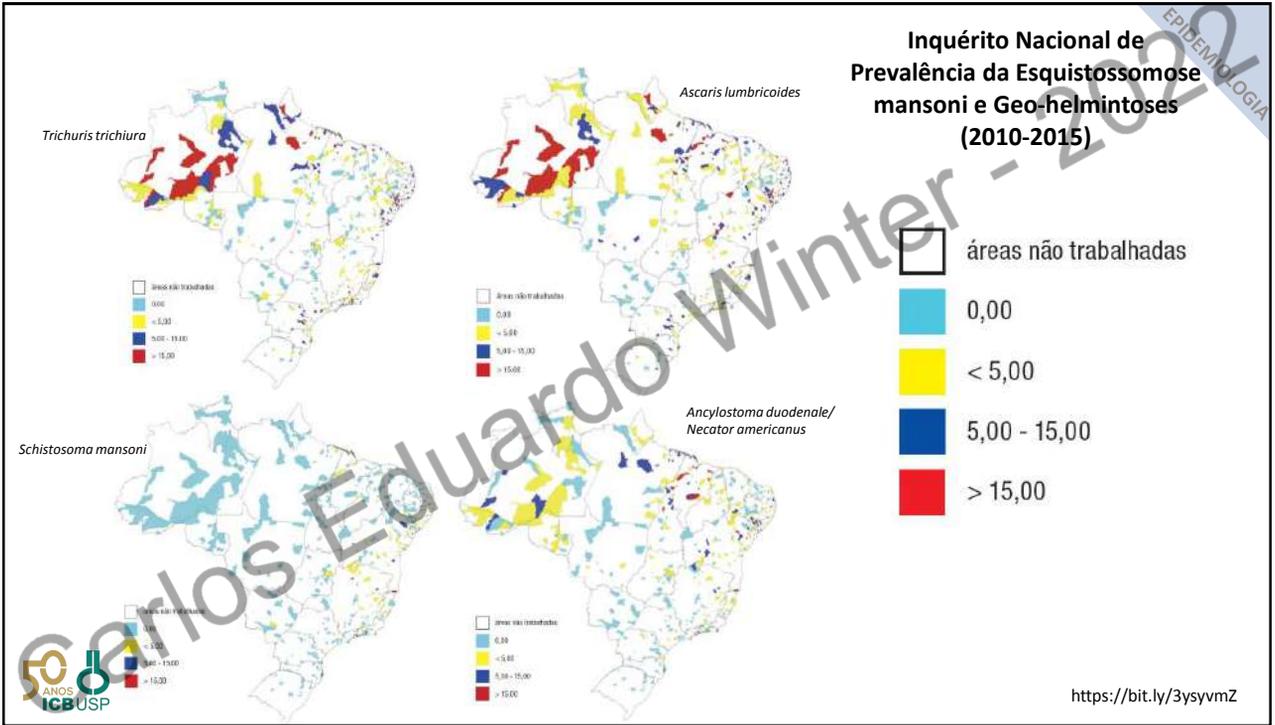
17

### Inquérito Nacional de Prevalência da Esquistossomose mansoni e Geo-helminthesn (2010-2015) em estudantes brasileiros

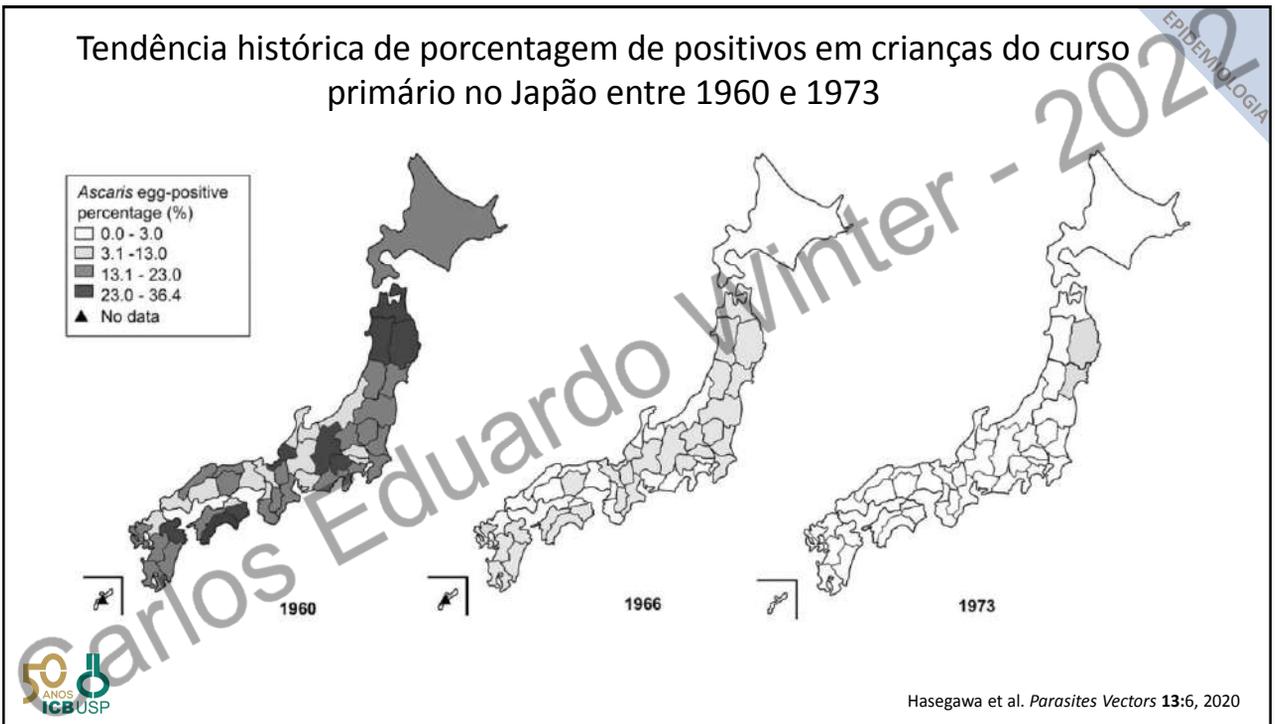
Região	No. Municípios	Municípios positivos			
		Esquistossomose	Ancilostomíase	Ascaridíase	Tricuríase
Norte	82	2,44	71,95	82,93	75,61
Nordeste	226	38,05	74,34	86,28	74,34
Sudeste	116	40,52	44,83	69,83	68,97
Sul	53	0,00	15,09	66,04	58,49
Centro-Oeste	44	4,55	18,18	31,82	25,00

BRASIL	TOTAL de AMOSTRAS	Esquistossomose	Ancilostomíase	Ascaridíase	Tricuríase
	197.564	0,99%	2,73%	6,00%	5,41%

18



19



20

Ano	TOTAL	<i>Trichuris</i>	Ancilostomídeo	<i>Ascaris</i>
2000	62 (2) <sup>ab</sup>	23 (1) <sup>a</sup>	20 (1) <sup>b</sup>	19 (2) <sup>ab</sup>
2001	76	24	25	27
2002	93	29	33	31
2003	48	17	9	22
2004	41	13	9	19
2005	37	9	9	19
2006	21	4	0	17
2007	19 (1) <sup>a</sup>	7 (1) <sup>a</sup>	0	12 (1) <sup>a</sup>
2008	26	10	5	11
2009	13	8	2	3
2010	16	7	2	7
2011	9	7	1	1
2012	22	13	2	7
2013	5	3	0	2
2014	9	6	0	3
2015	5	3	1	1
2016	4	2	1	1
2017	6	6	0	0
2018	512 (3) <sup>c</sup>	191 (2) <sup>c</sup>	119 (1) <sup>c</sup>	202 (3) <sup>c</sup>

Número de casos de geohelmintos em cidadãos japoneses

área total do Japão -> 377.976,41 Km<sup>2</sup>

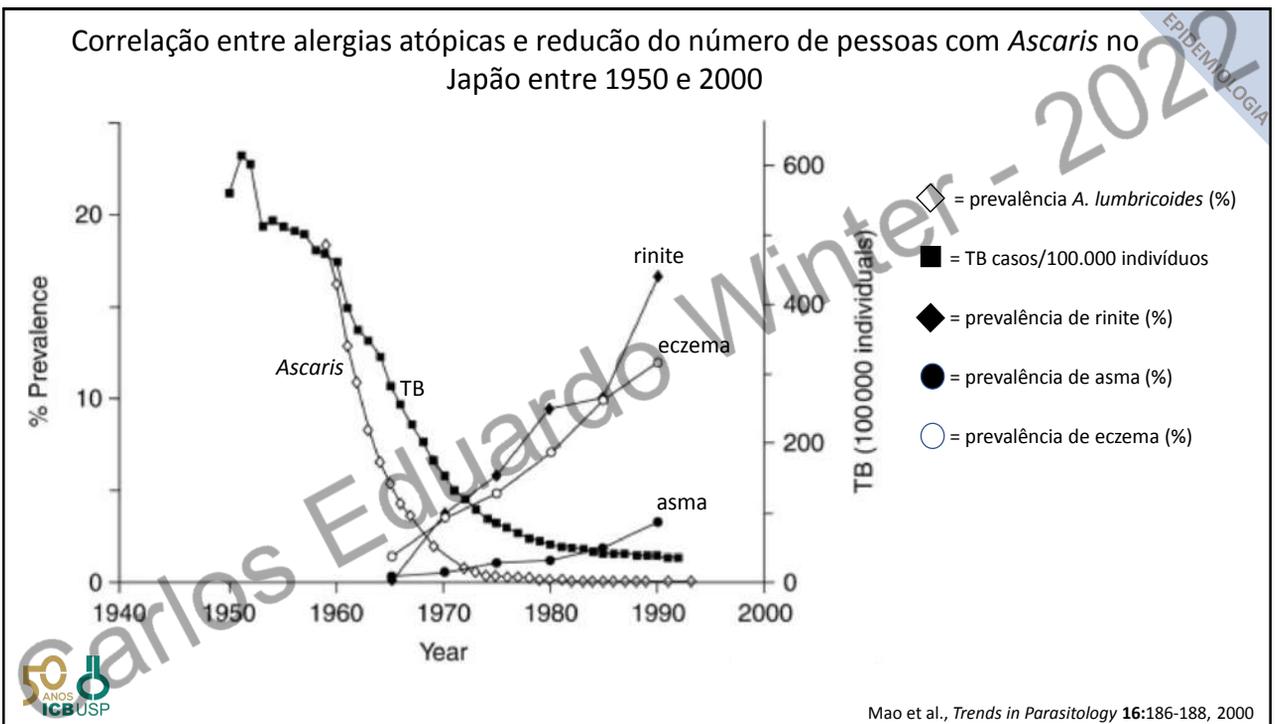
área total do Brasil -> 8.515.767,049 Km<sup>2</sup>

Área do Estado da Bahia -> 564.733,20 Km<sup>2</sup>

O Amazonas é 4x maior que o Japão!!!!

modif. de Hasegawa et al. *Parasites Vectors* 13:6, 2020

21

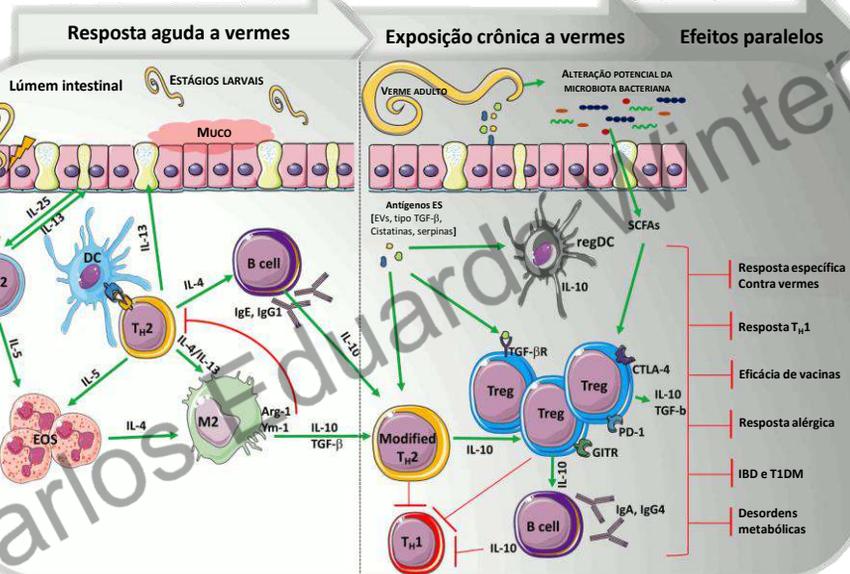


22

# RELAÇÃO PARASITA-HOSPEDEIRO

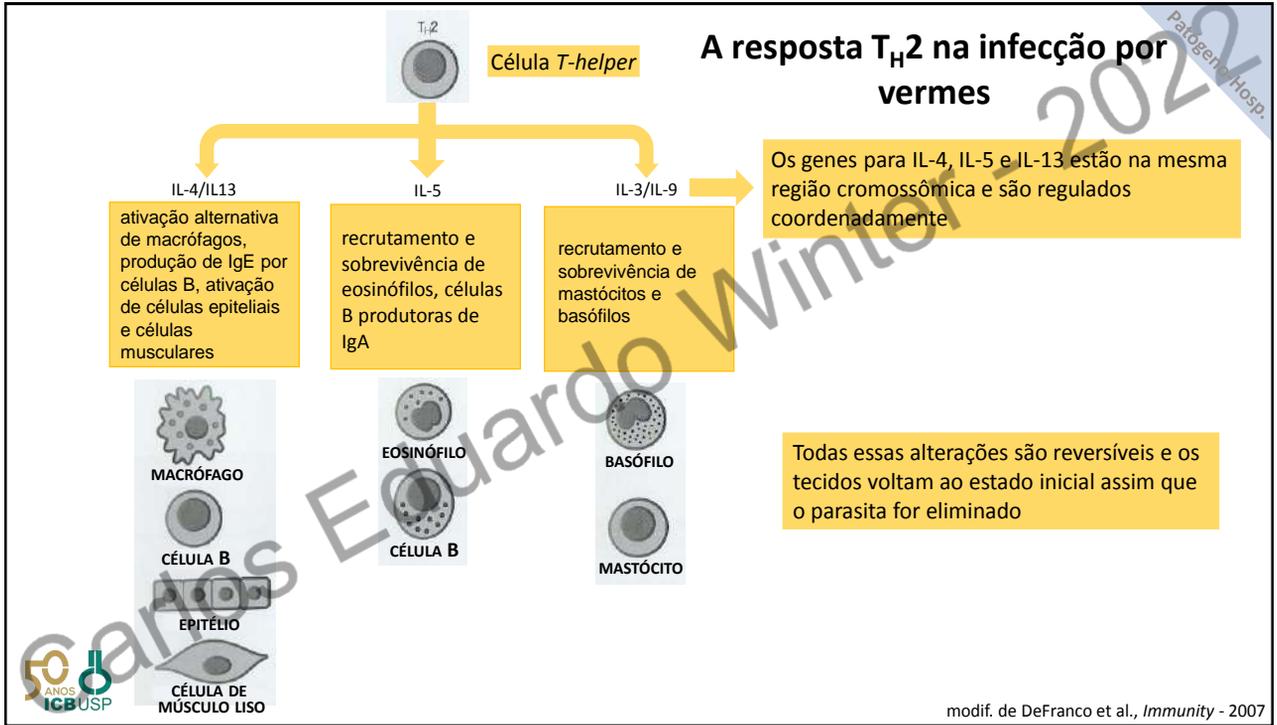
23

## Respostas aguda e crônica à presença de vermes desencadeia perfis imunológicos distintos

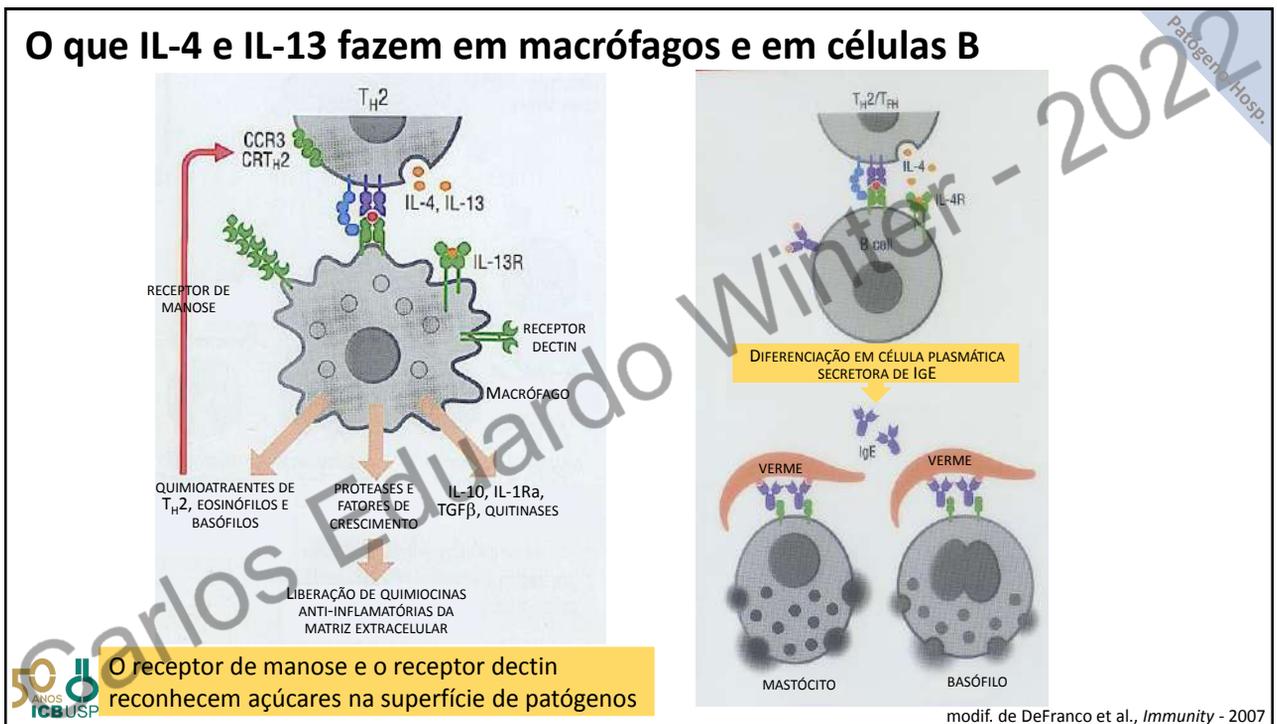


modif. de: Gazzinelli-Guimarães & Nutman, *F1000Research* 7:1685, 2018

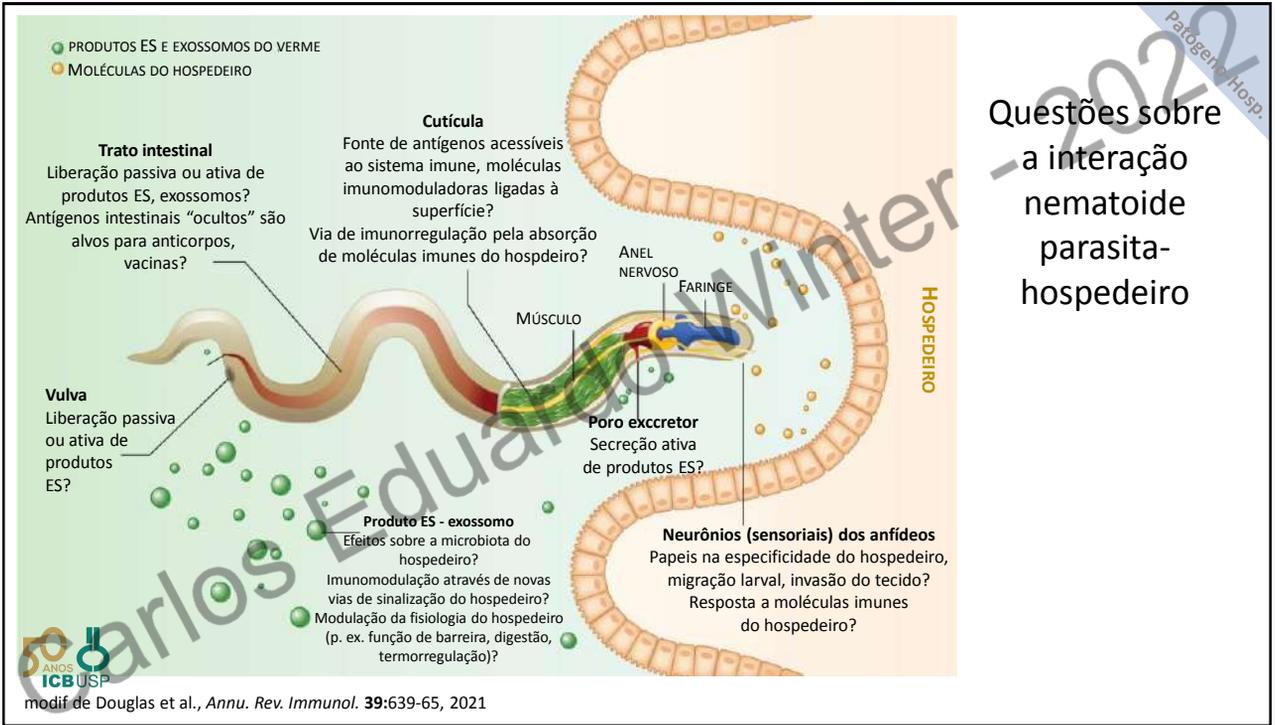
24



25

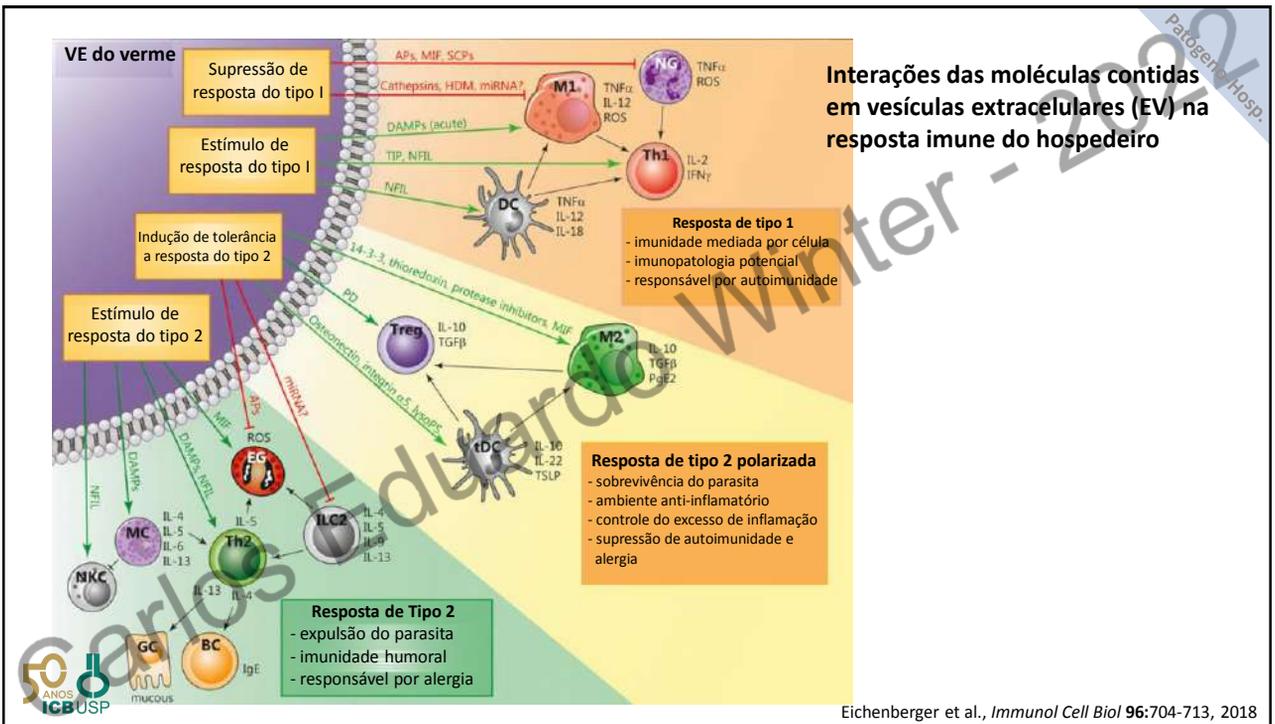


26



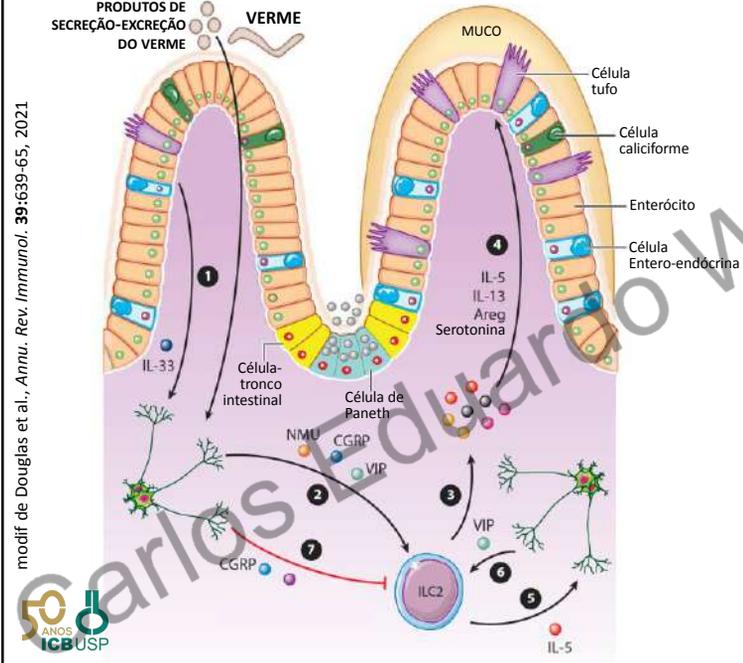
Questões sobre a interação nematoide parasita-hospedeiro

27



28

## Neuroimunologia da infecção por helmintos



Produtos de secreção-excreção dos vermes e alarminas associadas como IL-33 podem estimular neurônios (1) a liberar diversos fatores reguladores como neuromedina U (NMU), peptídeo intestinal vasoativo (VIP), e peptídeos relacionados a calcitonina (CGRP) (2).

NMU, VIP e CGRP podem ativar células linfoides inatas de grupo 2 (ILC2) para produzirem fatores como IL-5, IL-13, amfíregulina (Areg) e serotonina (3), que são críticas para eliminação do verme e reparo do tecido (4).

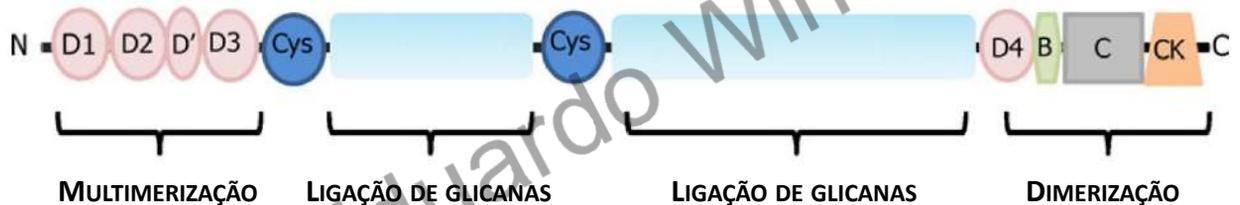
Além disso essas citocinas efetoras (5) podem agir em neurônios e promover a liberação de mais fatores pró-inflamatórios como VIP (6) que ajudam a amplificar a resposta imune de tipo 2.

Por outro lado, outros fatores neuronais como a epinefrina agonista do receptor beta2-adrenérgico, CGRP, e agonistas do receptor nicotínico de acetilcolina que também podem suprimir ILC2s, assim modulando as resposta simune inflamatórias de tipo 2 (7).

Portanto, a interação entre ILC2s e os neurônios durante a infecção por vermes é principalmente bidirecional e pode tanto ser pró-inflamatória como anti-inflamatória.

29

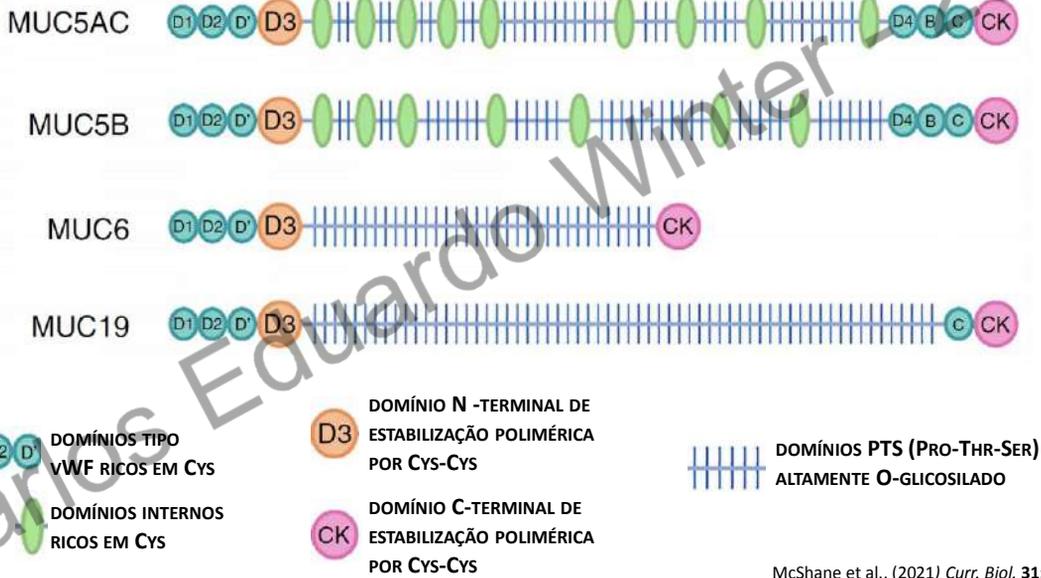
## Ilustração esquemática da estrutura de MUC2



modif. de Hasnain et al. (2013), *Internat. J. Biochem. Cell Biol.* 45:364-374

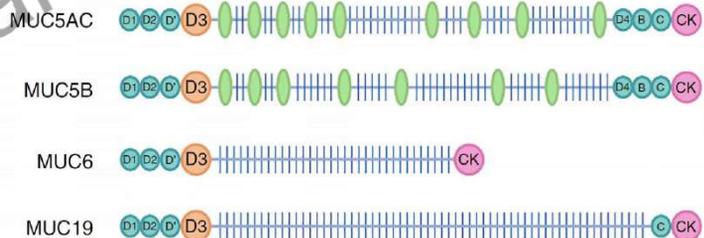
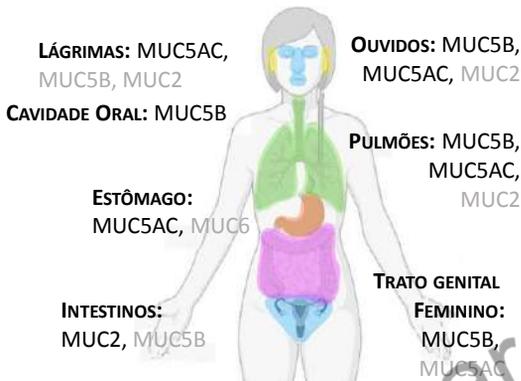
30

## Diversidade Estrutural das Mucinas

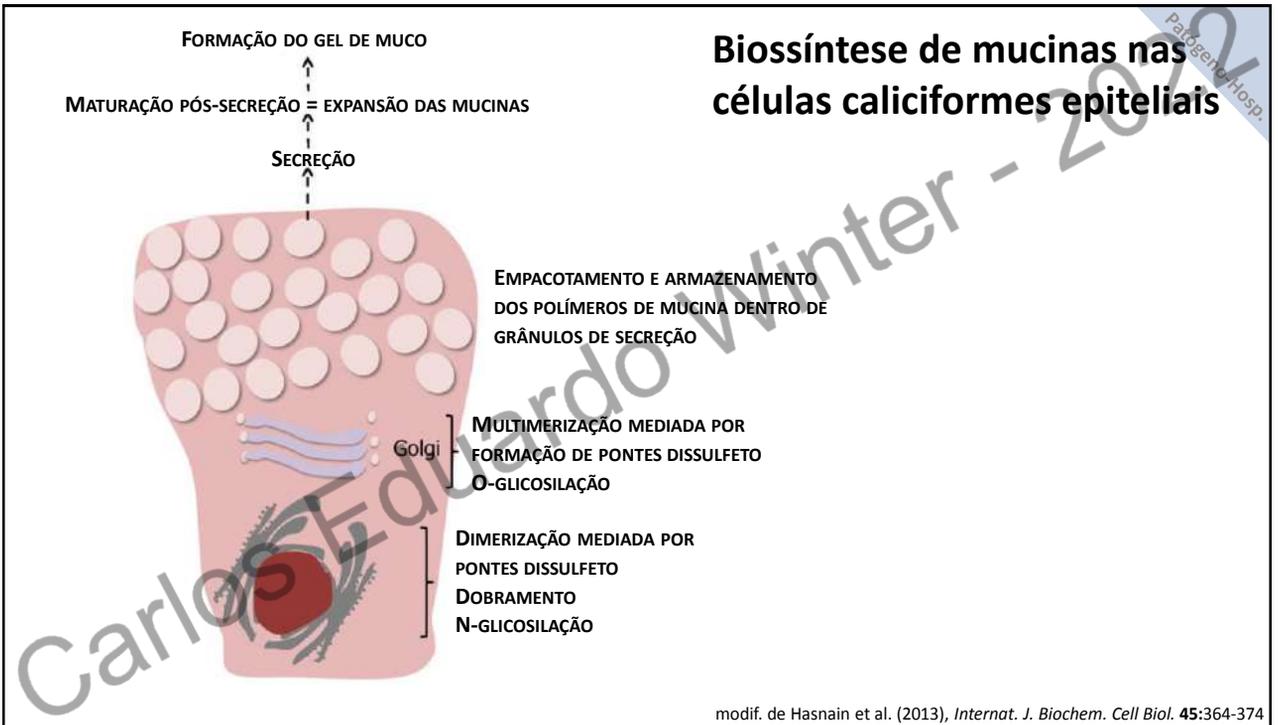


31

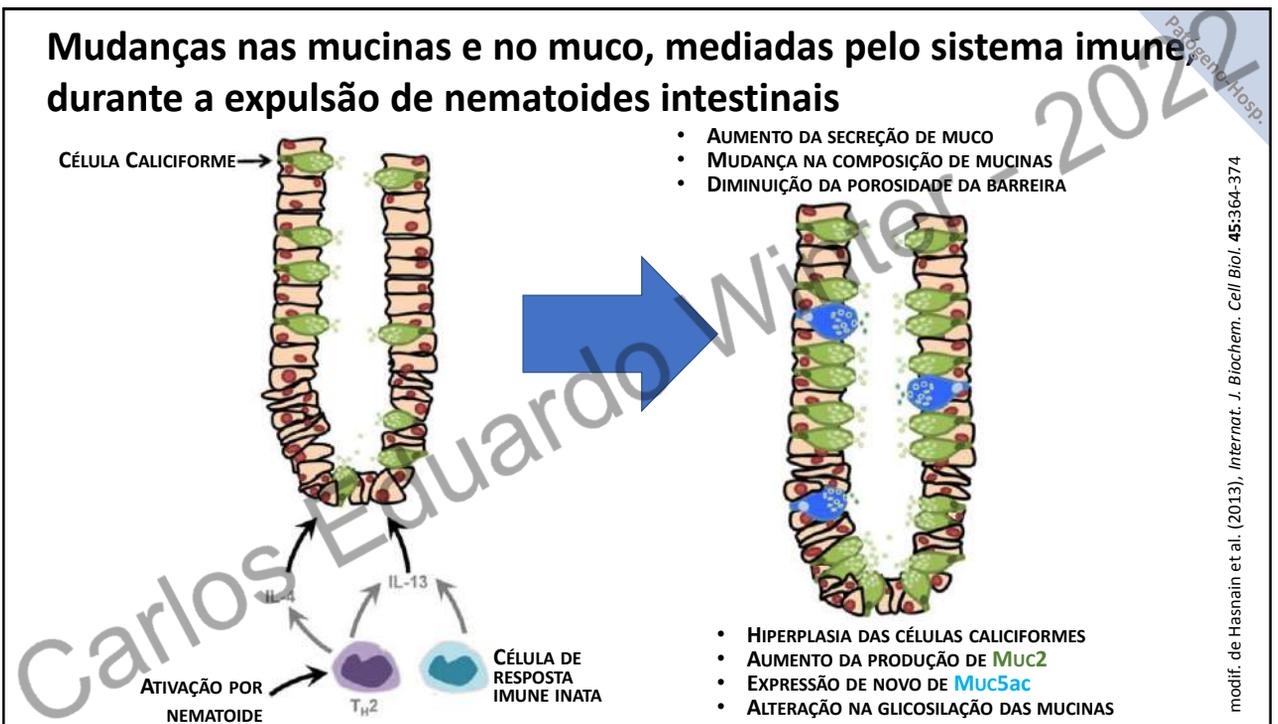
## Locais das mucinas secretadas no corpo humano

McShane et al., (2021) *Curr. Biol.* 31:R931-R947

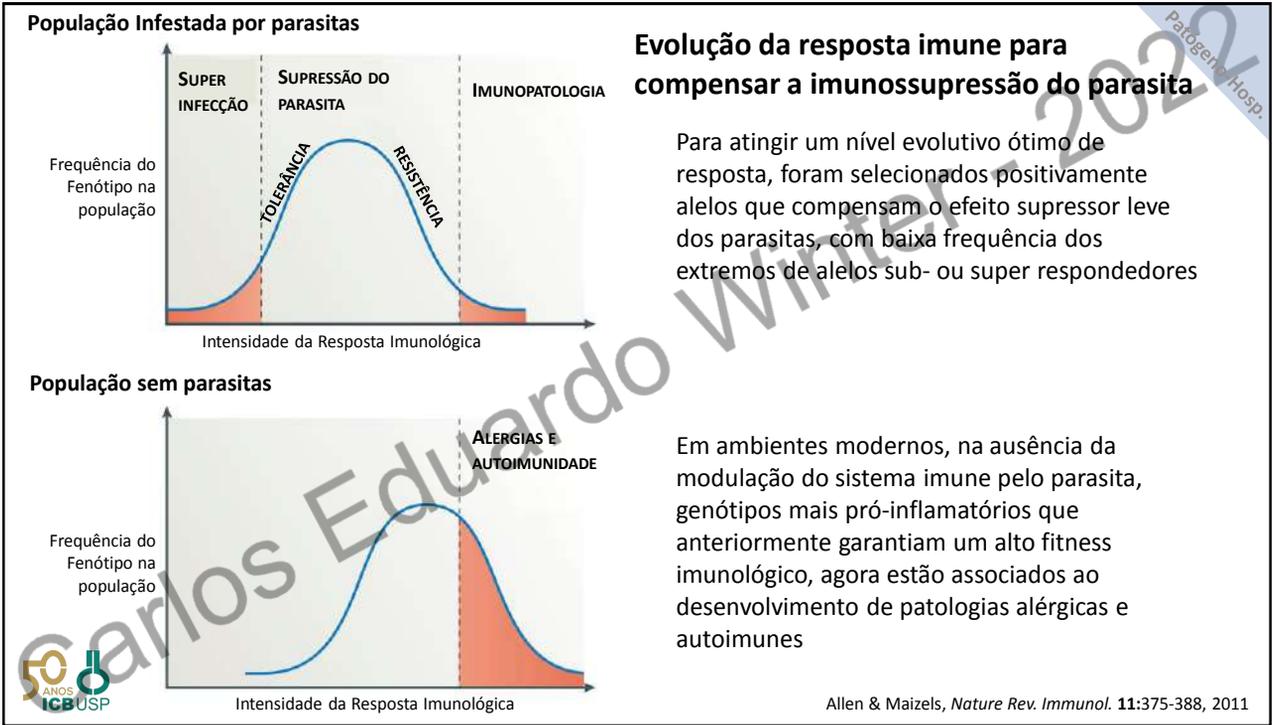
32



33



34



35



36



37

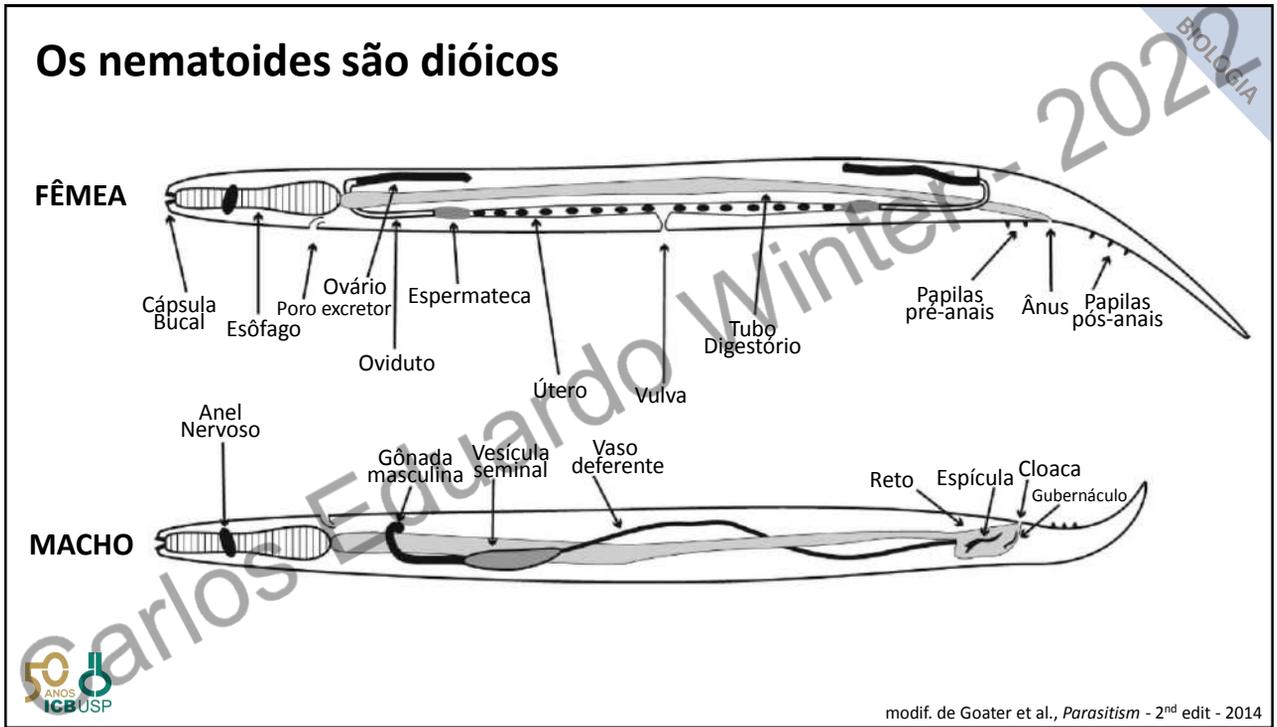
### Bancos de dados sobre genoma, anatomia, etc. de nematoides

BANCO DE DADOS	URL
 <small>Version: WS281   Founding member of ALLIANCE of GENOME RESOURCES</small>	<b>WormBase</b> - <a href="https://wormbase.org/">https://wormbase.org/</a>
 <small>Version: WBPS16 (WS279)</small>	<b>ParaSite</b> - <a href="https://parasite.wormbase.org/index.html">https://parasite.wormbase.org/index.html</a>
 <small>THE ONLINE REVIEW OF C. elegans BIOLOGY</small>	<b>WormBook</b> - <a href="http://www.wormbook.org">http://www.wormbook.org</a>
	<b>WormBook-Genetics</b> - <a href="https://bit.ly/3zoFHkk">https://bit.ly/3zoFHkk</a>
	<b>WormAtlas</b> - <a href="https://www.wormatlas.org">https://www.wormatlas.org</a>



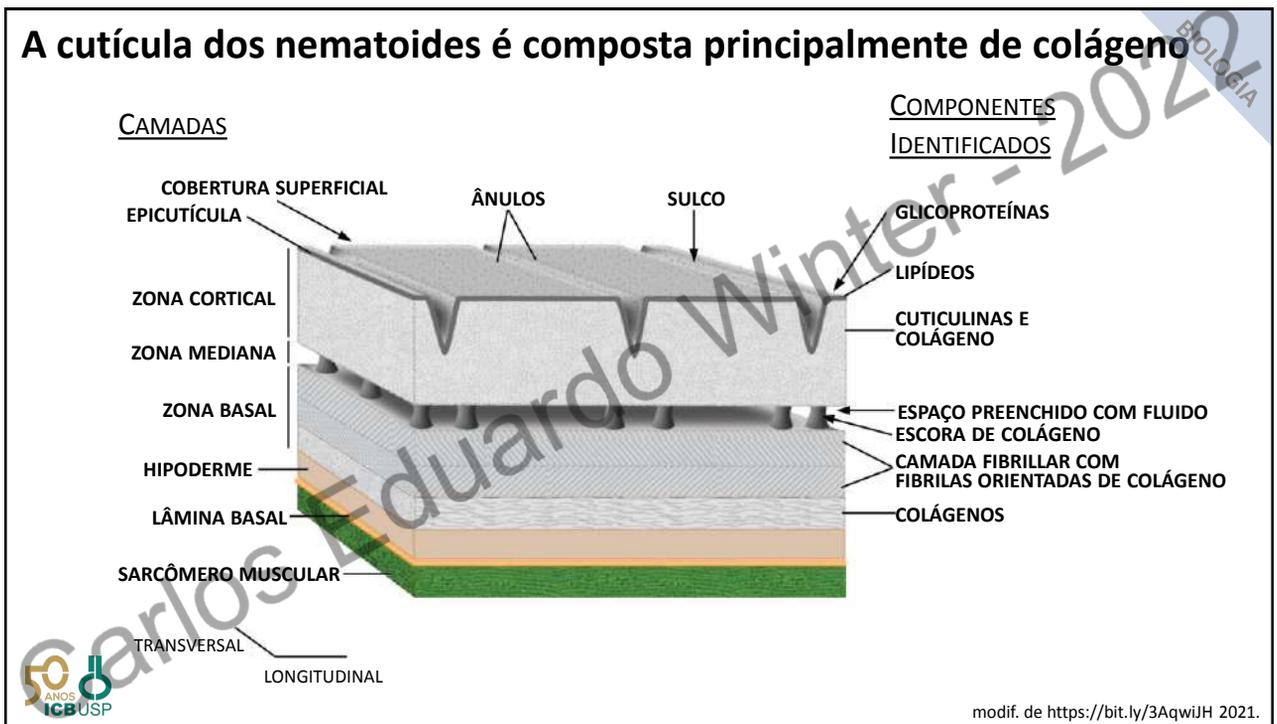
38

## Os nematoides são dióicos

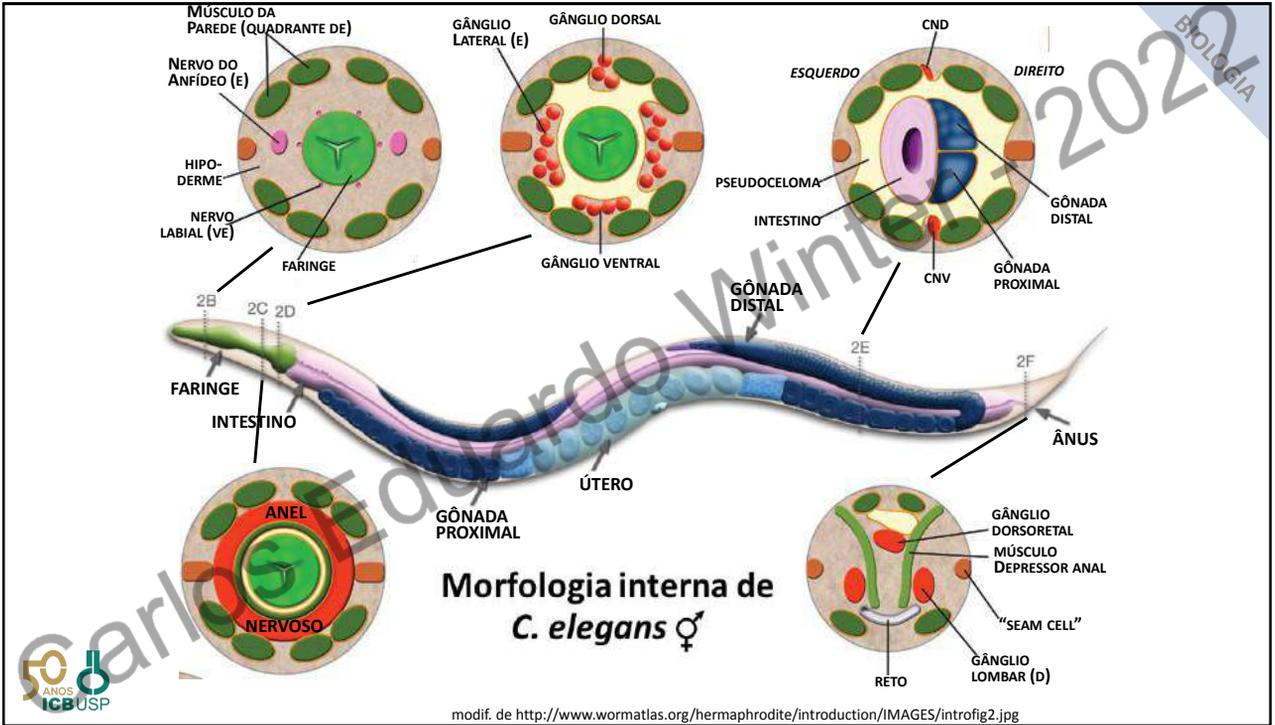


39

## A cutícula dos nematoides é composta principalmente de colágeno



40



41



42

## Microscopia DIC (*differential interference contrast*)

Adulto – parte anterior



Morfologia interna de  
*C. elegans* ♀

modif. de <https://bit.ly/3yOc0Jy>

43

## Microscopia DIC (*differential interference contrast*)

Adulto – parte mediana



Morfologia interna de  
*C. elegans* ♀

modif. de <http://www.wormatlas.org/hermaphrodite/introduction/IMAGES/introfig1.jpg>

44

## Microscopia DIC (*differential interference contrast*)

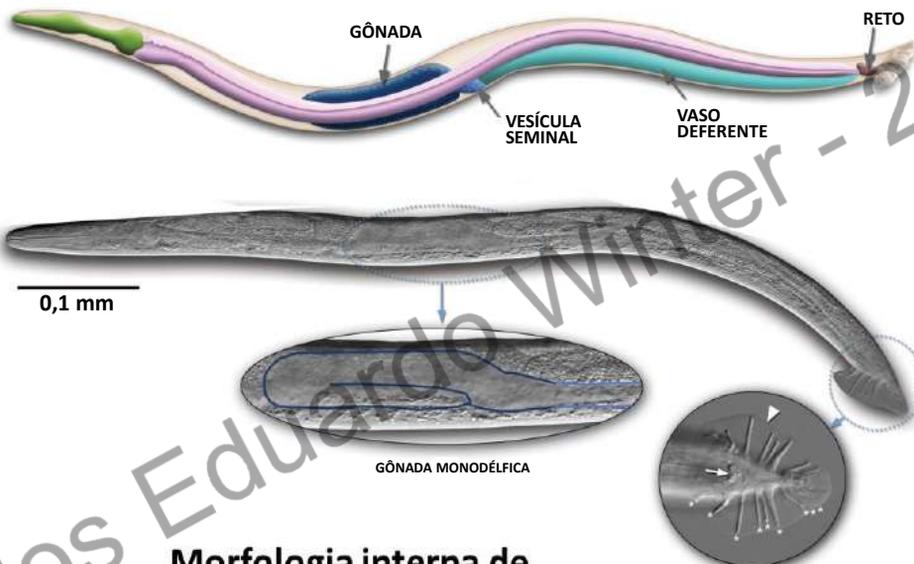
Adulto - cauda



### Morfologia interna de *C. elegans* ♀

modif. de <http://www.wormatlas.org/hermaphrodite/introduction/IMAGES/introfig1.jpg>

45

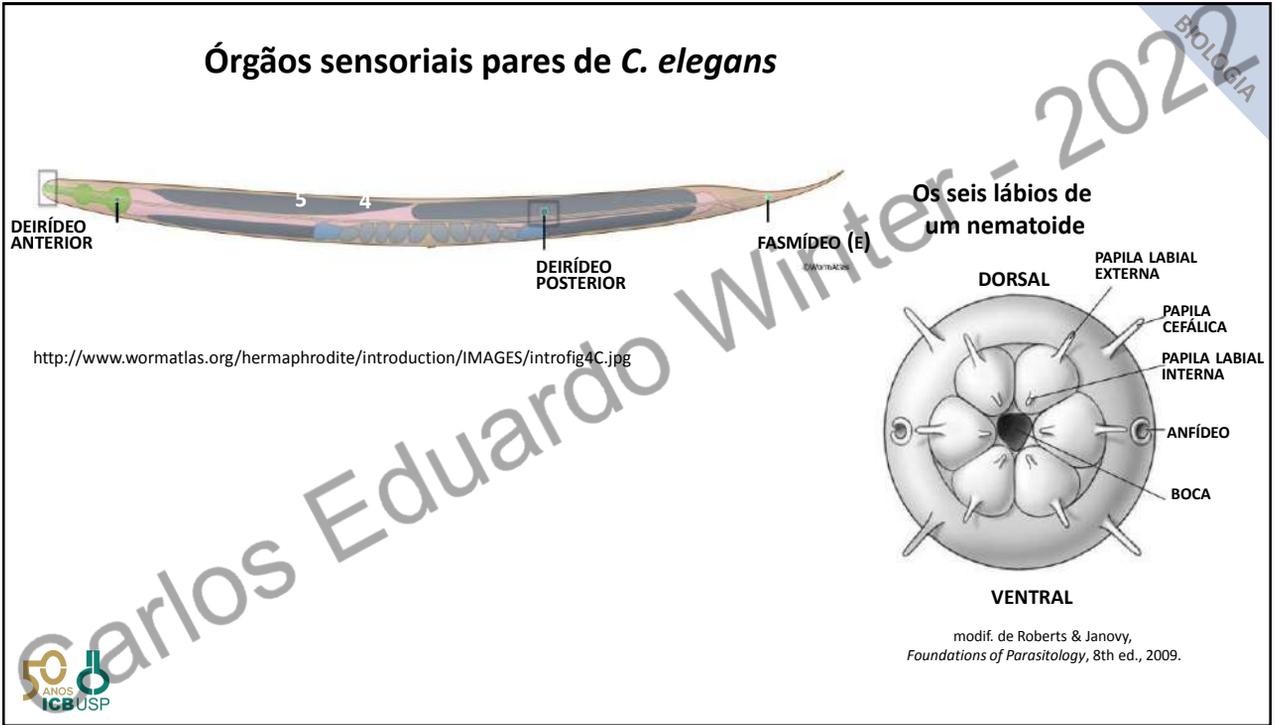


### Morfologia interna de *C. elegans* ♂

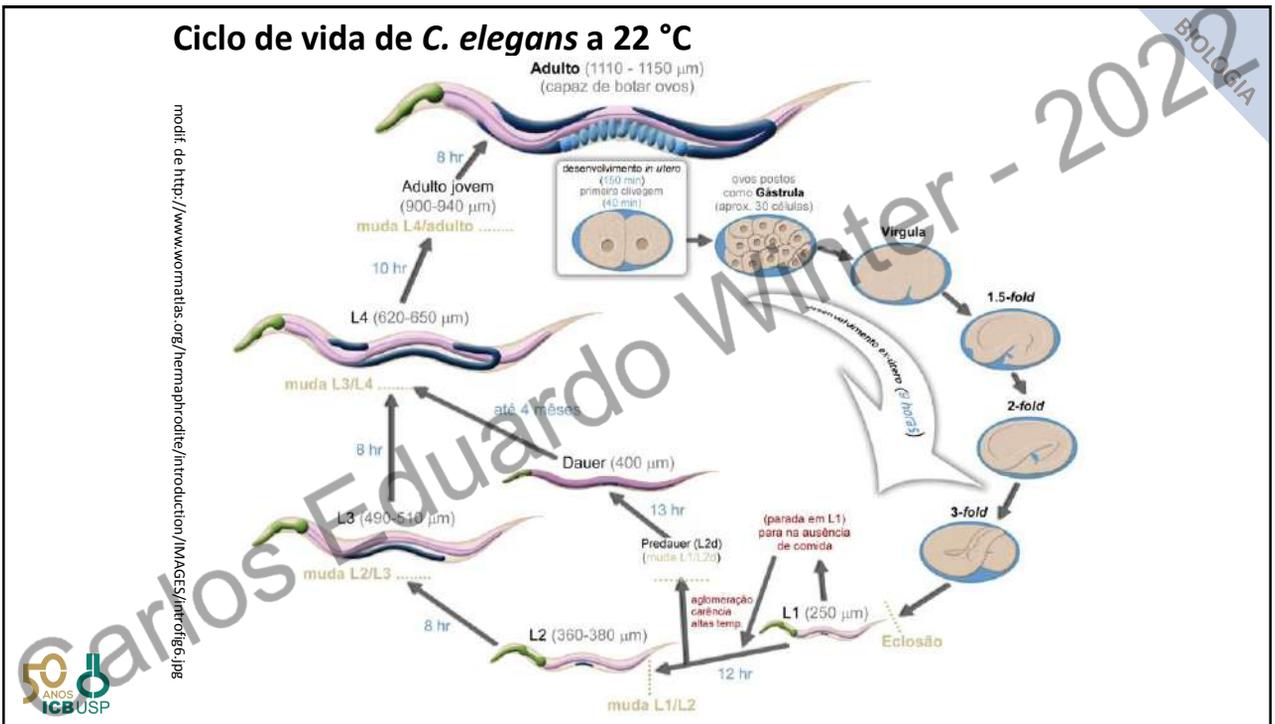
VISTA VENTRAL DA  
CAUDA DO MACHO ADULTO  
FLECHA = CLOACA  
CABEÇA DE FLECHA = LEQUE

modif. de <http://www.wormatlas.org/hermaphrodite/introduction/IMAGES/introfig5.jpg>

46



47



48

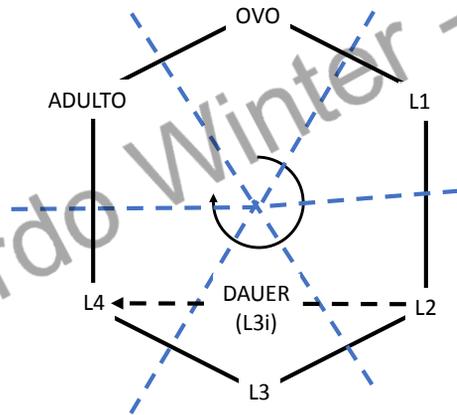
## O ciclo de vida dos nematoides parasitas

O ciclo tem 3 ESTÁGIOS

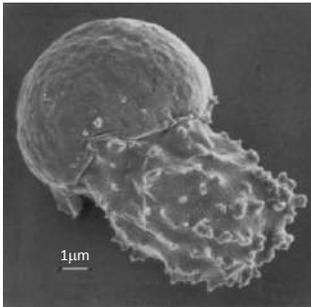
1. OVO
2. LARVA
3. ADULTO

O Estágio Larval  
É dividido em 4 ESTÁDIOS

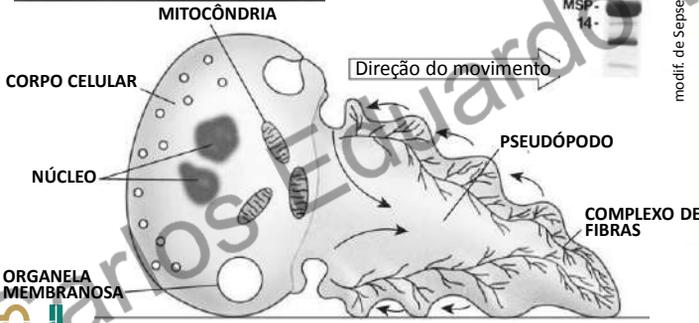
1. LARVA 1 (L1)
2. LARVA 2 (L2)
3. LARVA 3 (L3) ou L3i
4. LARVA 4 (L4)



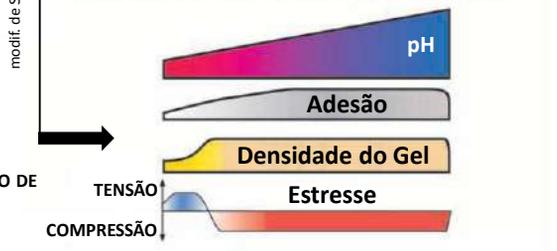
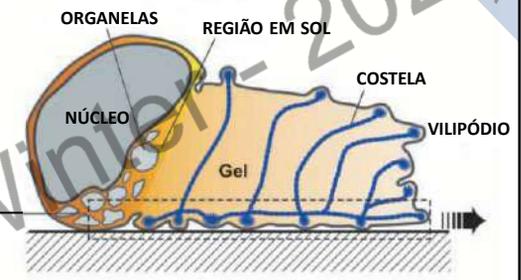
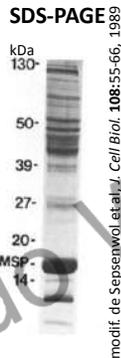
## Movimento dos espermatozoides de nematoides do clado V



Este é o espermatozoide de *Ascaris suum*

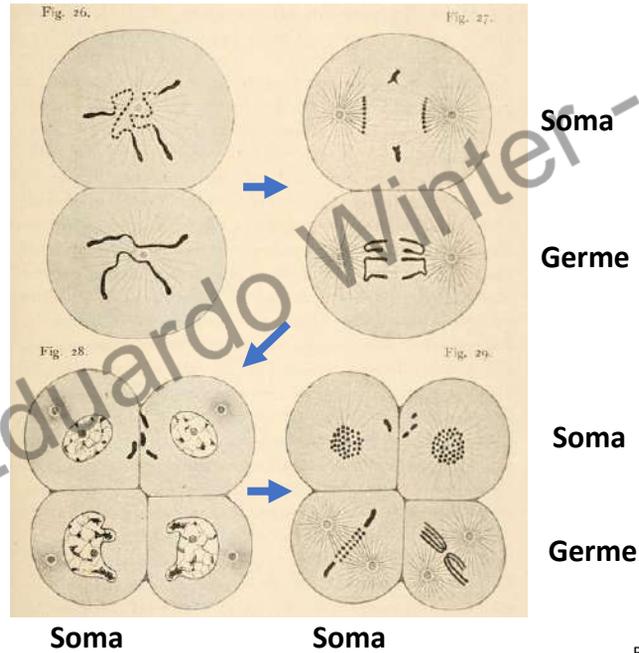


modif. de Roberts & Janovy, *Foundations of Parasitology*, 8th ed., 2009.



modif. de Bottino et al., *J. Cell Sci.* 115:367-384, 2002

## Eliminação de cromatina em *Ascaris*

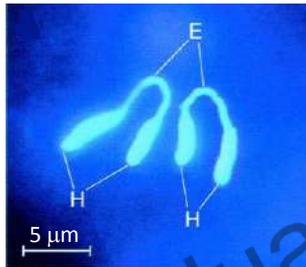


Boveri, 1904

51

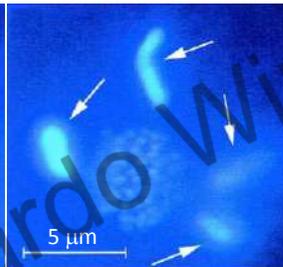
## Eliminação de cromatina em *Parascaris univalens* e *A. suum* – coloração com DAPI

### *Parascaris univalens*

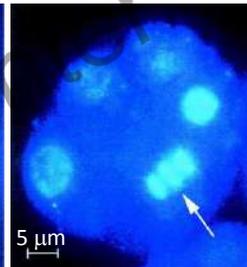


Embrião de duas células  
Célula germinativa com dois cromossomos  
H = heterocromatina  
E = eucromatina

### *Ascaris suum*



Célula somática do embrião que sofreu eliminação da heterocromatina (flechas). A eucromatina foi fragmentada em ~60 cromossomos ligados ao fuso mitótico

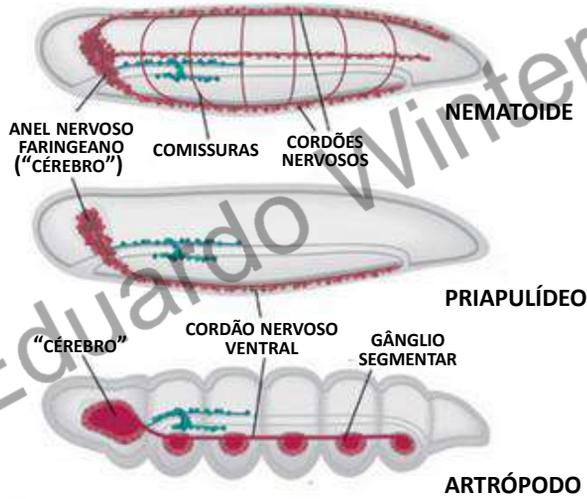


Heterocromatina eliminada nas células somáticas

modif. de Müller &amp; Tobler, Intern. J. Parasitol. 30:391-399, 2000

52

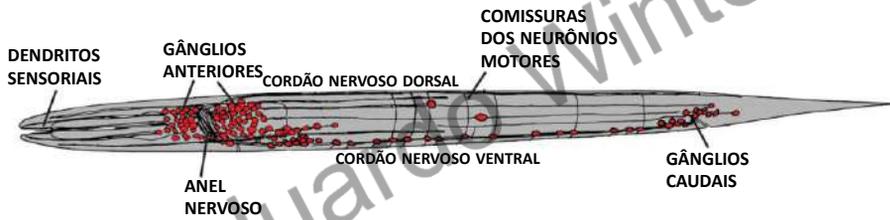
## Sistema Nervoso dos Ecdysozoa



modif. de Hartenstein, in: *The Wiley Handbook of Evolutionary Neuroscience*, capit. 8, p. 194, 2017

53

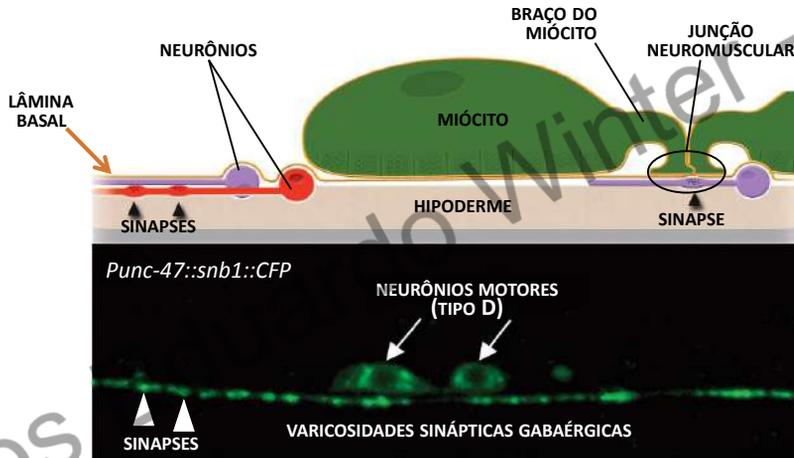
## Organização geral do sistema nervoso de *C. elegans*



[http://www.wormbook.org/chapters/www\\_specnervsys.2/neurogenesis\\_fig1.jpg](http://www.wormbook.org/chapters/www_specnervsys.2/neurogenesis_fig1.jpg)

54

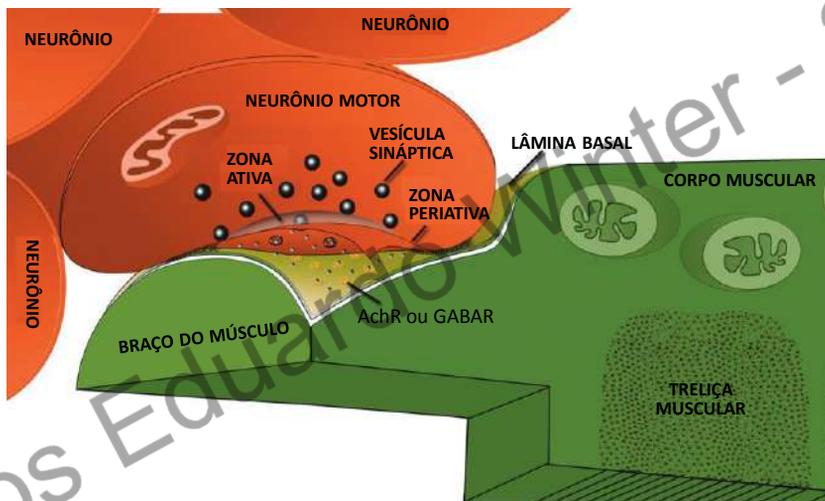
## Neurônios somáticos e junção neuromuscular



[http://www.wormatlas.org/hermaphrodite/nervous/Images/NeuroFIG2D\\_E.jpg](http://www.wormatlas.org/hermaphrodite/nervous/Images/NeuroFIG2D_E.jpg)

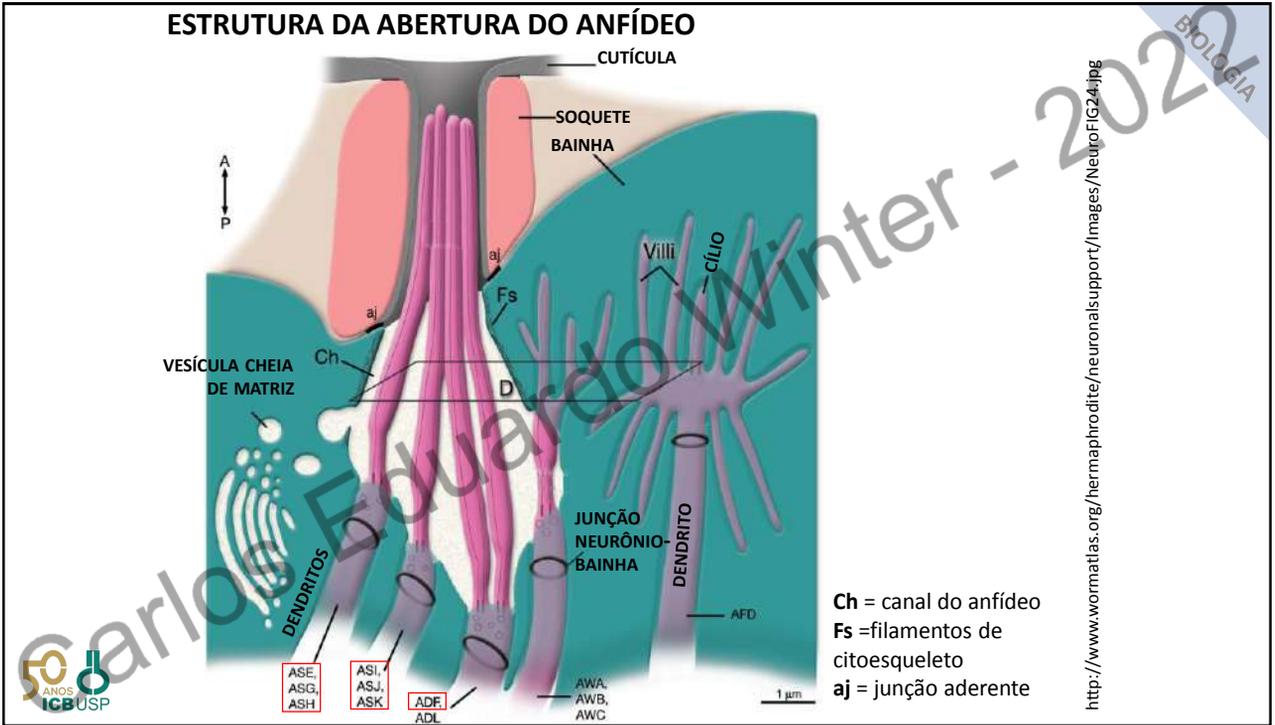
55

## Desenho esquemático de uma junção neuromuscular

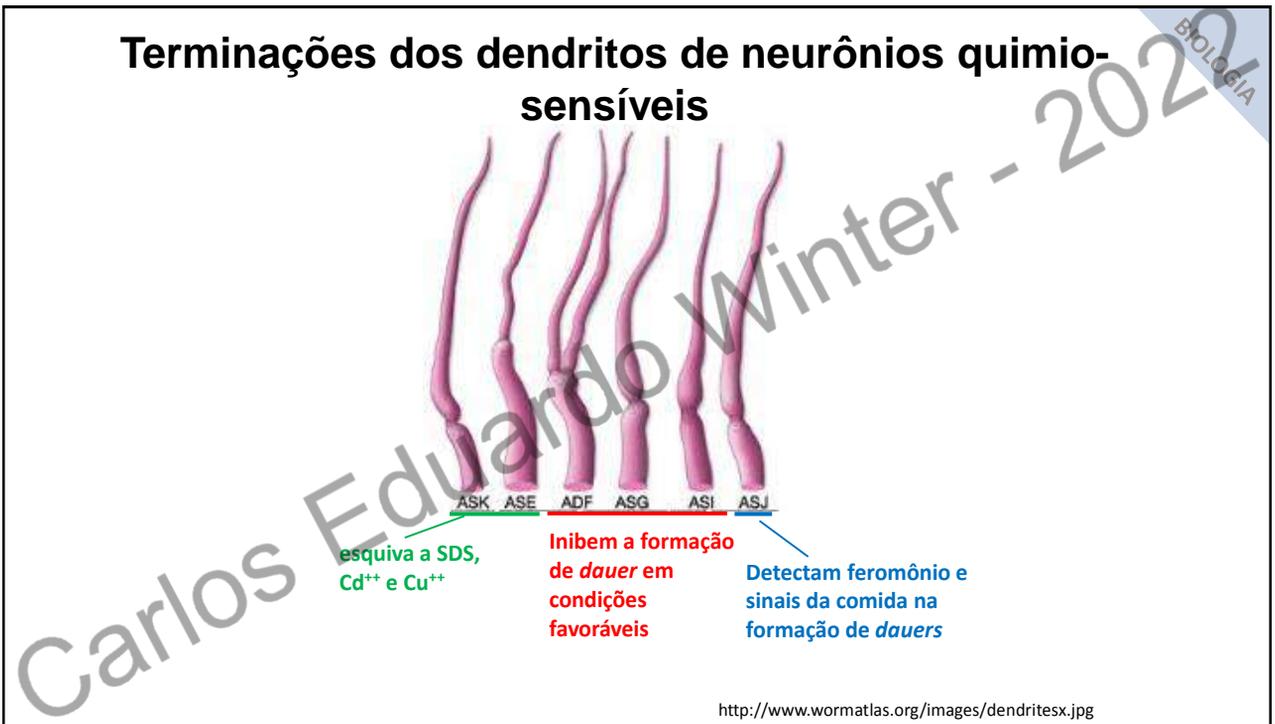


<http://www.wormatlas.org/hermaphrodite/nervous/Images/NeuroFIG21.jpg>

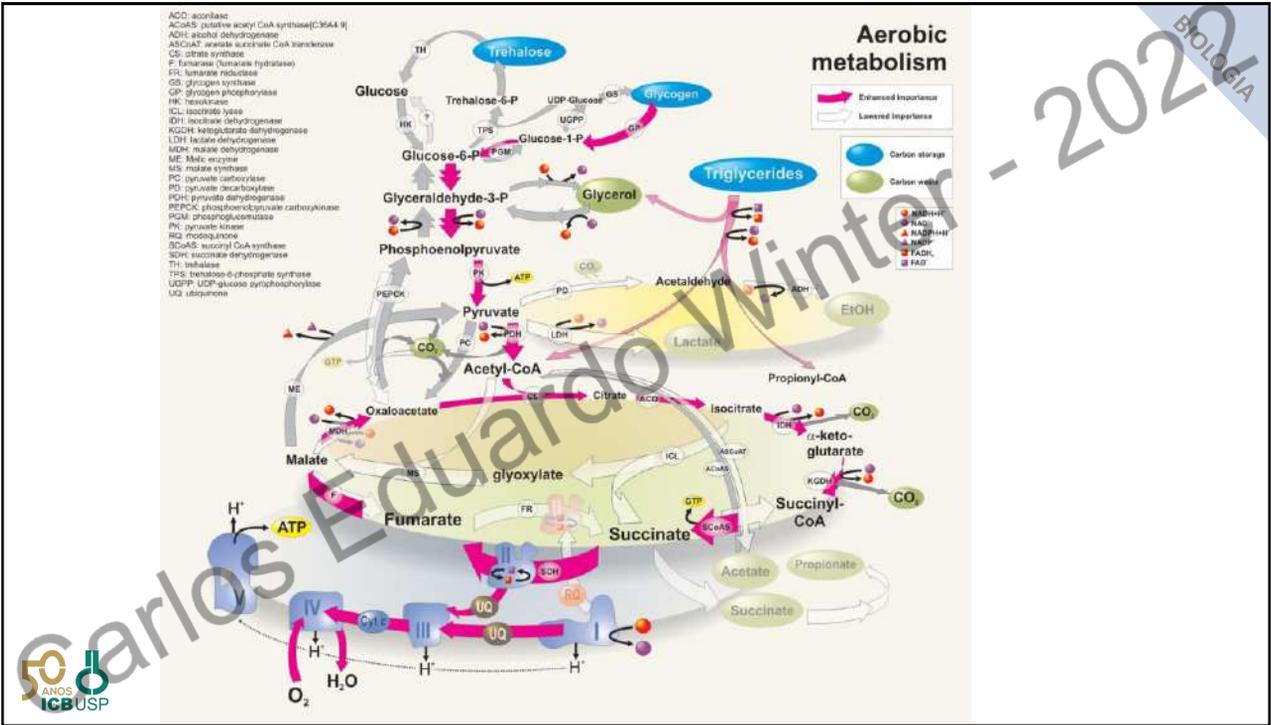
56



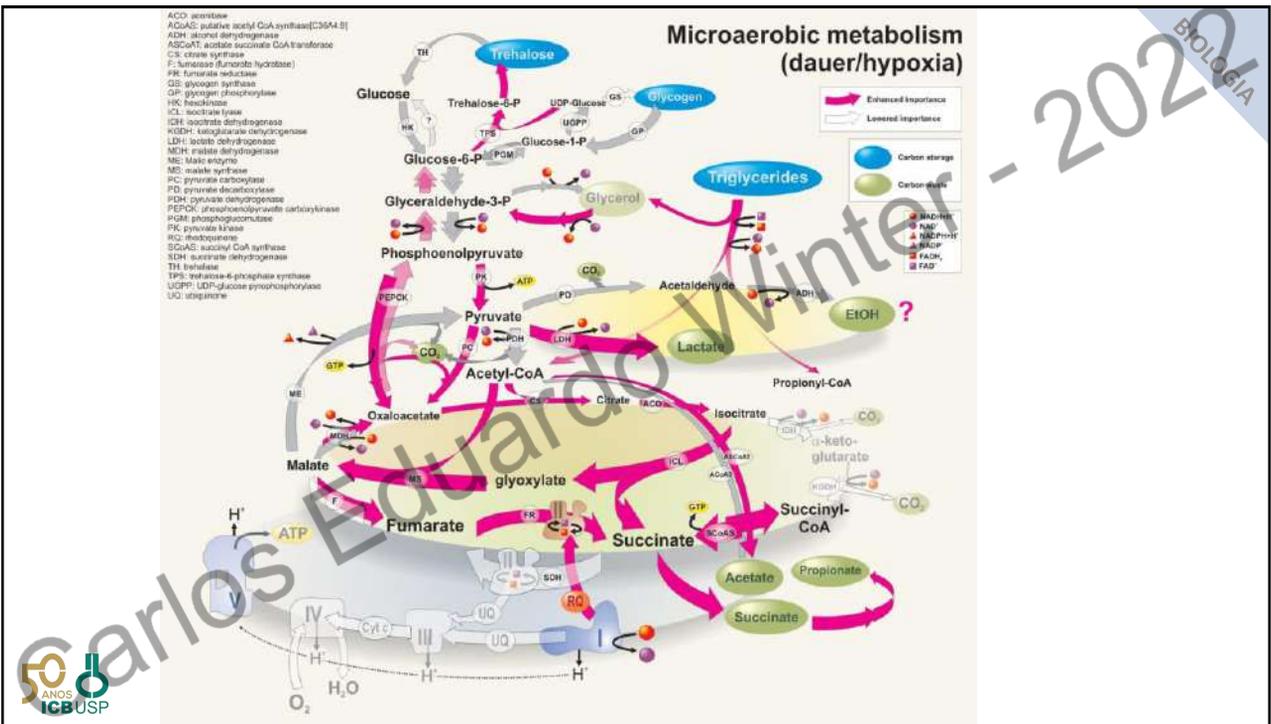
57



58

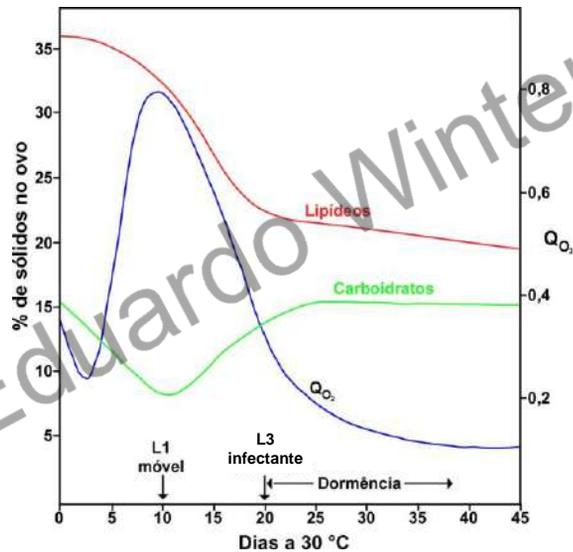


59



60

## Consumo de oxigênio e utilização de carboidratos e lipídeos durante a embriogênese e pós-embriogênese em ovos de *Ascaris lumbricoides*



modif. de Passey e Fairbairn, *Can. J. Biochem. Physiol.* **33**:1033-1046, 1955 e  
Passey e Fairbairn, *Can. J. Biochem. Physiol.* **35**:511-525, 1957

61

## Três características moleculares quase exclusivas dos nematoides

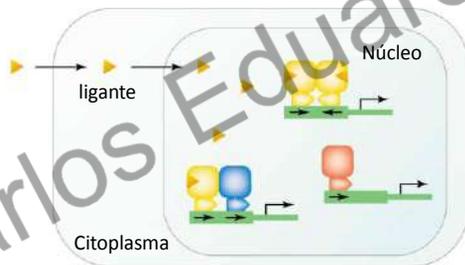
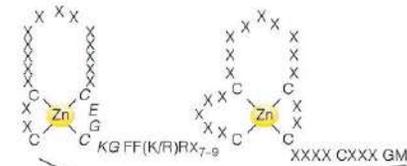
1. Hormônios derivados do colesterol
2. Feromônios que controlam o ciclo de vida
3. Trans-splicing de RNAs e genes organizados em operons

62

## 1. Os ácidos dafacrônicos

63

### Receptor nuclear de hormônios (NHR): estrutura e função



Vinte anos atrás o sequenciamento do genoma do nematoide *Caenorhabditis elegans* descobriu uma abundância de receptores nucleares de hormônios órfãos (**com dedo de zinco C-4**), codificados em 267 genes *nhr* diferentes. Só 20 deles são conservados no reino animal. Os outros têm funções desconhecidas

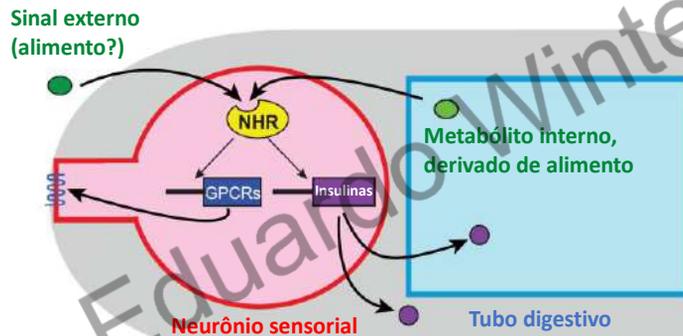
Em nematoides parasitas há muito menos NHRs desse tipo, que também são órfãos.

[Sural & Hobert, *Curr. Biol.*, 31:1-6, 2021]

Sluder & Maina, *TIG* 17:206-213, 2001

64

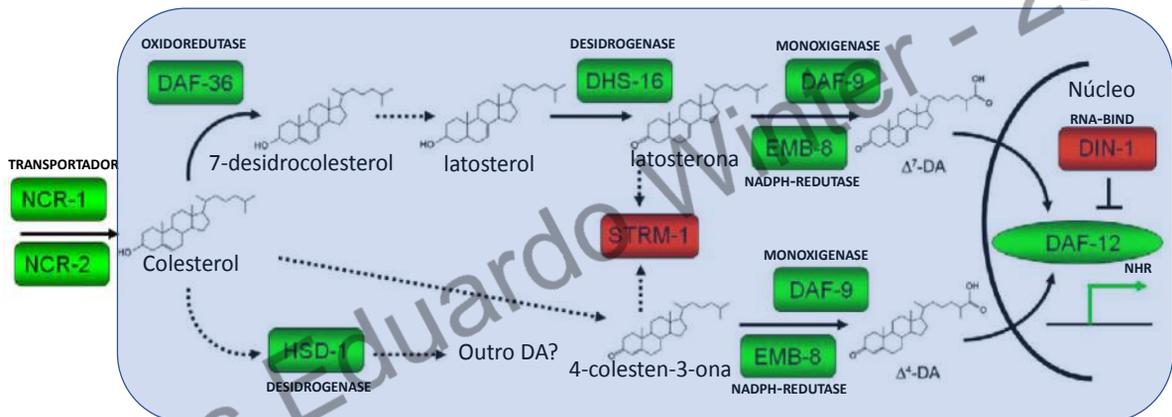
## Papel dos receptores nucleares de hormônios (NHR) no processamento de informação dos nematoides



modif. de Sural & Hobert, Curr. Biol. 31: 1-6, doi: 10.1016/j.cub.2021.07.019

65

## Metabolismo de colesterol em nematoides



Os nematoides são incapazes de sintetizar colesterol de novo, mas dependem dele para sintetizar o ácido dafacrônico (DA), um hormônio que controla aspectos importantes de seu ciclo de vida



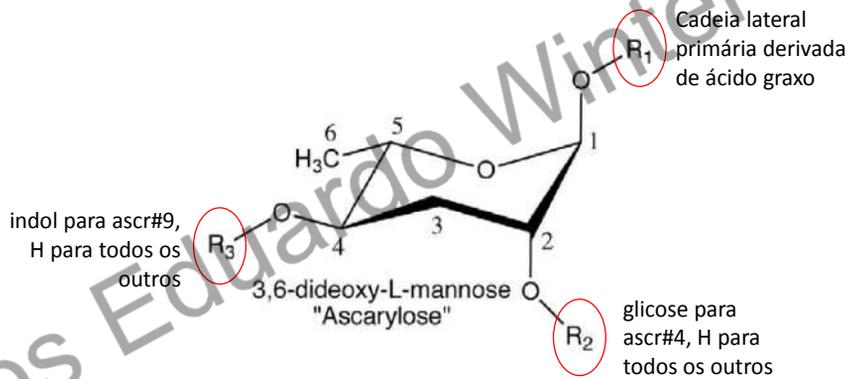
modif. de Stoltzfus et al. (2012) *PLoS Negl Trop Dis* 6(10): e1854. doi:10.1371/journal.pntd.0001854

66

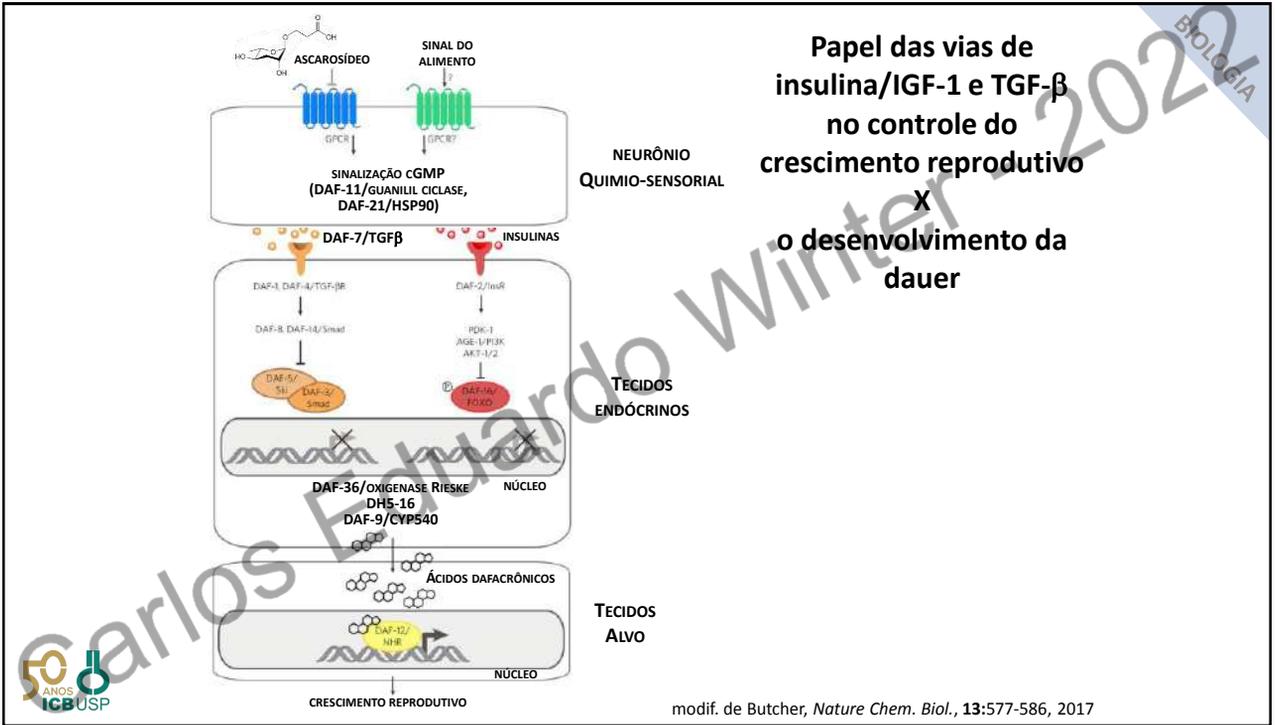
## 2. Os ascarosídeos

67

### Estrutura geral de um ascarosídeo



68

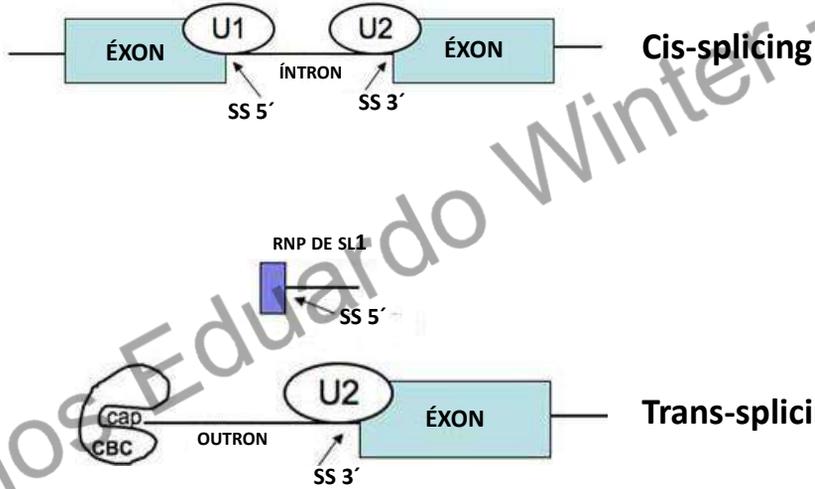


69

## 2. Trans-splicing e operons

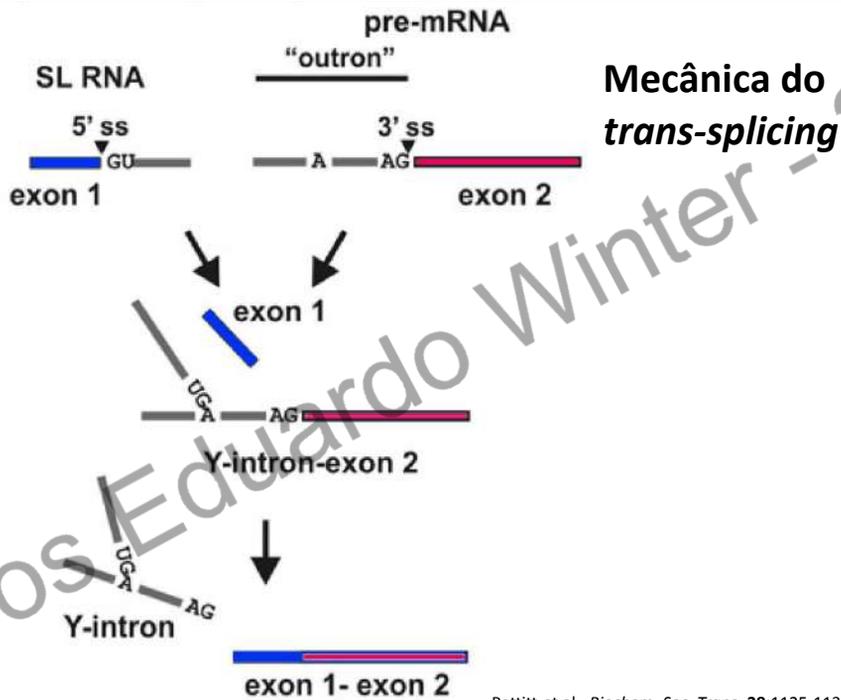
70

## Processamento dos pré-mRNAs em *C. elegans*



Blumenthal, Wormbook, doi/10.1895/wormbook.1.5.2, 2012

71

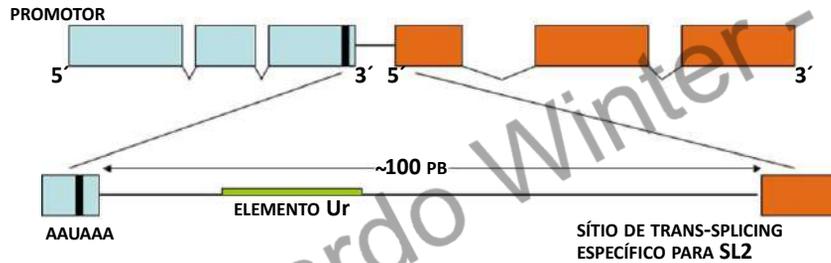


Pettitt et al., *Biochem. Soc. Trans.* **38**:1125-1130, 2010

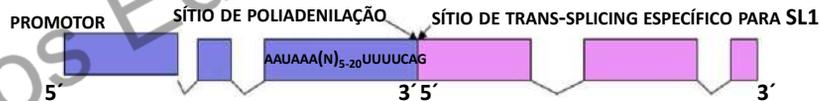
72

## Dois tipos de operons em *C. elegans*

### operon tipo SL2



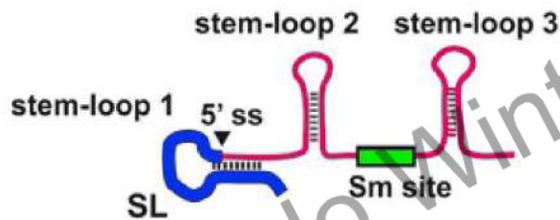
### operon tipo SL1



Blumenthal, Wormbook, doi/10.1895/wormbook.1.5.2, 2012

73

## Estrutura dos SL-RNAs de nematoides



SL1 GGUUUAAUUACCCAAGUUUGAG 22

SL2 GGUUUUAACCCAGUACUCAAG 22

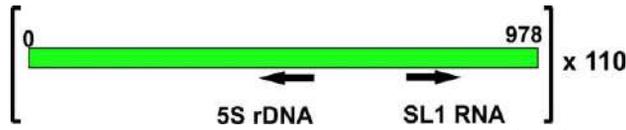
SL1 -> envolvido no processamento de 70% do pré-mRNAs de *C. elegans* e de alguns transcritos policistrônicos!

SL2 -> envolvido no processamento de pré-mRNAs policistrônicos em *C. elegans*

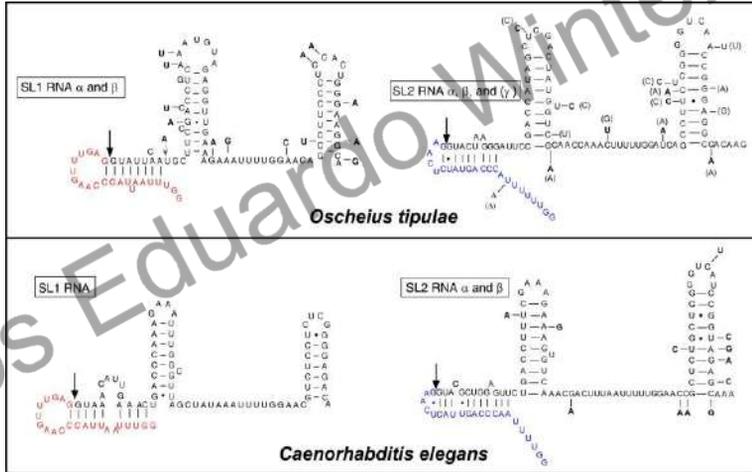
Pettitt et al., *Biochem. Soc. Trans.* **38**:1125-1130, 2010

74

### SL-RNAs de nematoides



modif. de Krause e Hirsh, *Cell* 49:753-761, 1987  
Nelson & Honda, *Gene* 38:245-251, 1985



modif. de Evans et al., *PNAS* 94:9751-9756, 1997

75

### Distribuição filogenética de exemplos conhecidos de trans-splicing em eucariotos



Hastings, *TiG* 21:240-247, 2005

76

## Método básico de isolamento e análise de ovos de vermes

### 1. Coleta da amostra

Água de esgoto, solo, fezes

### 2. Homogeneização

### 3. Separação

Para separar ovos de partículas, tratamento com:

Detergentes

Bicarbonato de amônio

Salina, PBS, água

### 4. Filtração

Filtrar com rede de 32-36  $\mu\text{m}$

### 5. Concentração

#### Sedimentação

Sedimentação passiva em recipiente aberto de lados paralelos por uma hora

#### Flutuação

Usando solução com densidade maior que 1,25 g/mL ( $\text{ZnSO}_4$ ,  $\text{MgSO}_4$ , nitrato de sódio, sacarose, dicromato de sódio)

### 6. Determinação de Viabilidade

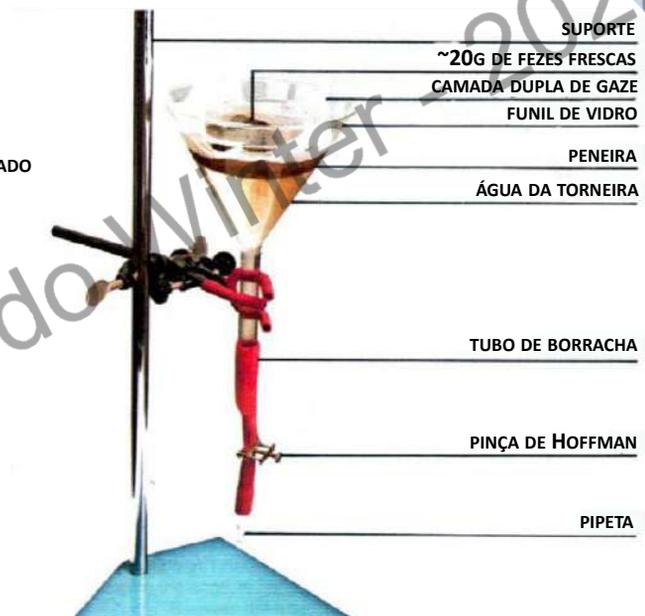
- Incubação em ácido sulfúrico 1N/formol 10% a 22-26 °C por 21 a 30 dias para desenvolvimento das larvas
- Coloração com lugol, safranina O, eosina Y

### 7. Testes Moleculares

Khurana et al. *Res. Rep. Trop. Med.* 2021;12 181-196

77

## Método de Baermann para concentração de adultos e larvas



modif. de <https://bit.ly/3z6zp9e>

78



79

### Principais drogas utilizadas no tratamento de verminoses por nematoides

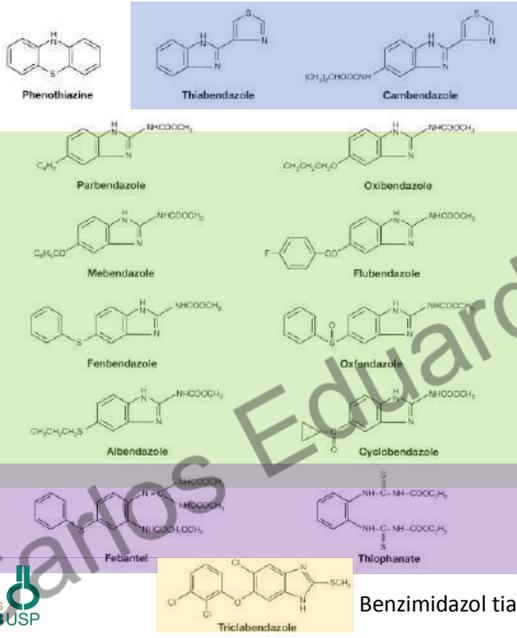
Ano no Mercado	Droga	Atividade nematocida	Outros alvos	modo de ação
1947	<b>DIETIL-CARBAMAZINA</b>	microfilárias	<i>Angiostrongylus</i>	Desconhecido; inativo <i>in vitro</i> mas muito eficiente <i>in vivo</i>
1949	<b>PIPERAZINA</b>	<i>Ascaris</i> , <i>Enterobius</i>		Inibidor de neurotransmissão
1961	<b>TIABENDAZOL</b>	<i>Strongyloides</i>	<i>Angiostrongylus cantonensis</i>	afeta função dos microtúbulos
1965	<b>LEVAMISOL</b>	<i>Ascaris</i> , <i>Ancilostomídeos</i>	microfilárias	afeta neurotransmissão por acetilcolina
1966	<b>PIRANTEL</b>	<i>Ascaris</i> , <i>Enterobius</i> , <i>Necator</i> , <i>Ancylostoma</i> , <i>Trichinella</i>		neurotransmissão por acetilcolina
1971	<b>MEBENDAZOL</b>	<i>Ascaris</i> , <i>Enterobius</i> , <i>Necator</i> , <i>Ancylostoma</i> , <i>Trichuris</i> , <i>Trichinella</i> , <i>Strongyloides</i>	<i>Draunculus</i> , <i>Giardia</i>	afeta função dos microtúbulos
1979	<b>ALBENDAZOL</b>	<i>Ascaris</i> , <i>Enterobius</i> , <i>Necator</i> , <i>Ancylostoma</i> , <i>Trichuris</i> , <i>Trichinella</i> , <i>Strongyloides</i>	Larva migrans cutânea, <i>Giardia</i> , cestoides, trematoides	afeta função dos microtúbulos
1980	<b>IVERMECTINA</b>	<i>Strongyloides</i>	microfilárias, ectoparasitas	inibidor de neurotransmissão



modif. de Melhorn, *Encyclopedia of Parasitology* - 3a. Edição - 2008

80

# Benzimidazóis com ação sobre microtúbulos



Benzimidazóis tiazólicos

A fenotiazina é utilizada desde os anos 1930, principalmente contra nematoides de ruminantes

Benzimidazóis metilcarbamatos

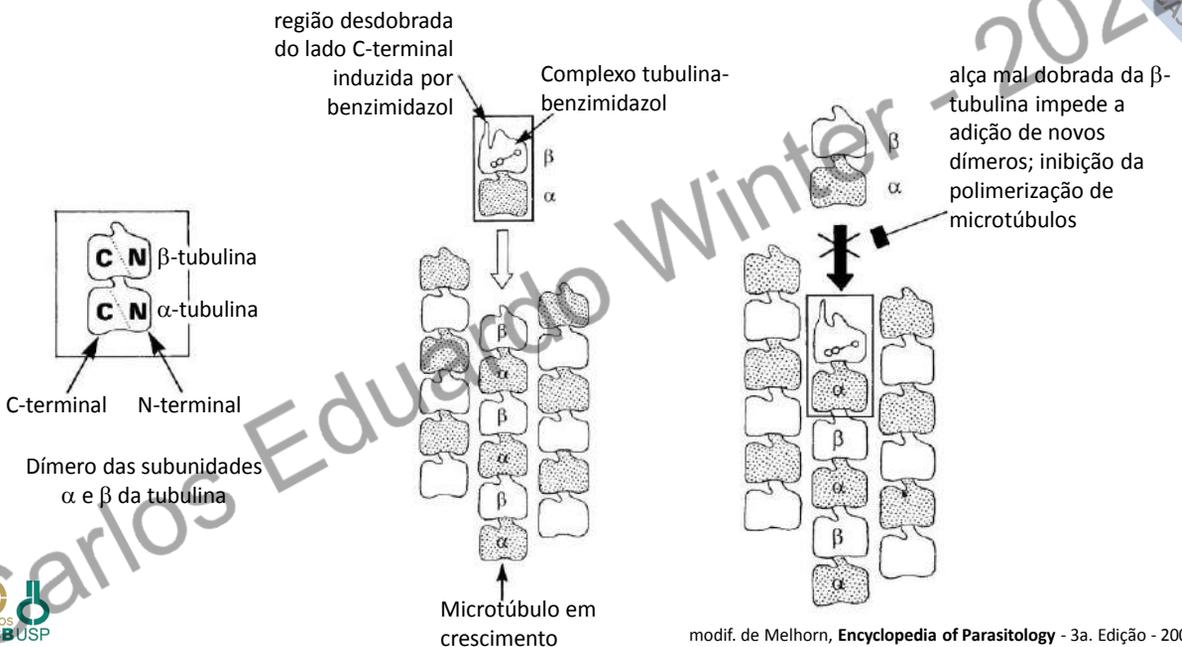
Pré-benzimidazóis

Benzimidazol tiazólico halogenado

modif. de Melhorn, *Encyclopedia of Parasitology* - 3a. Edição - 2008

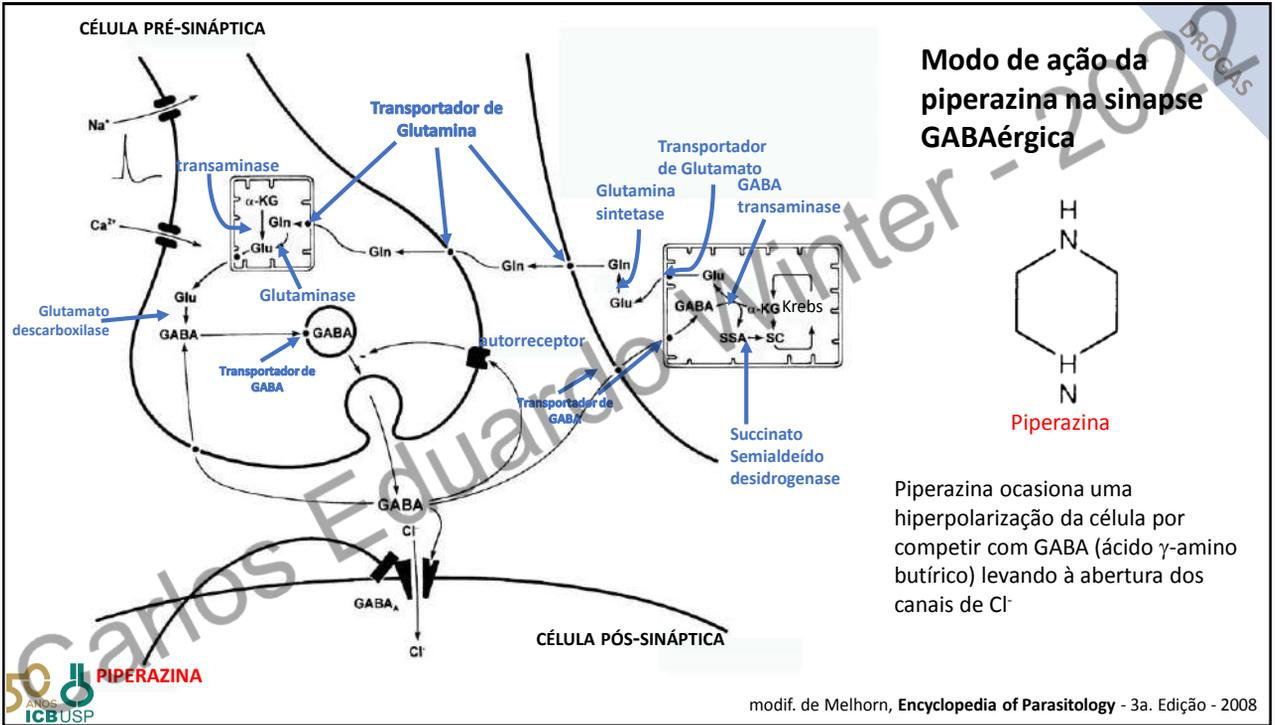
81

# Ação dos benzimidazóis sobre a polimerização de tubulina

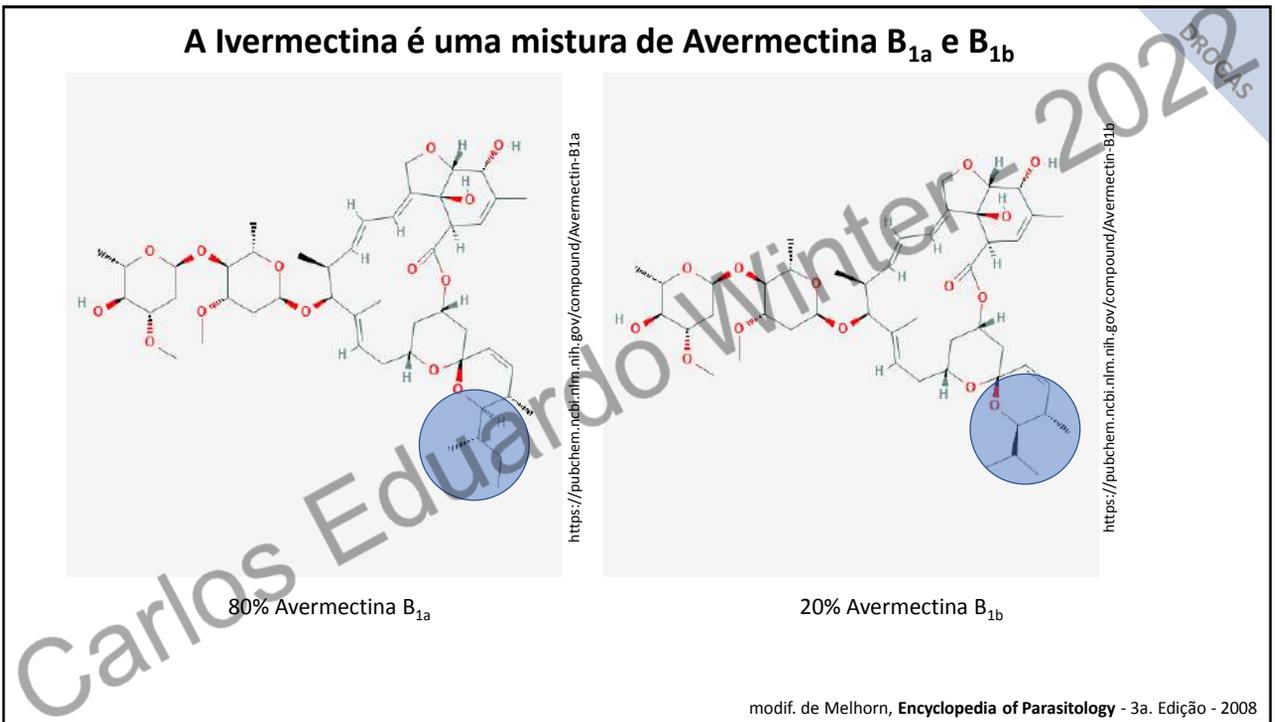


modif. de Melhorn, *Encyclopedia of Parasitology* - 3a. Edição - 2008

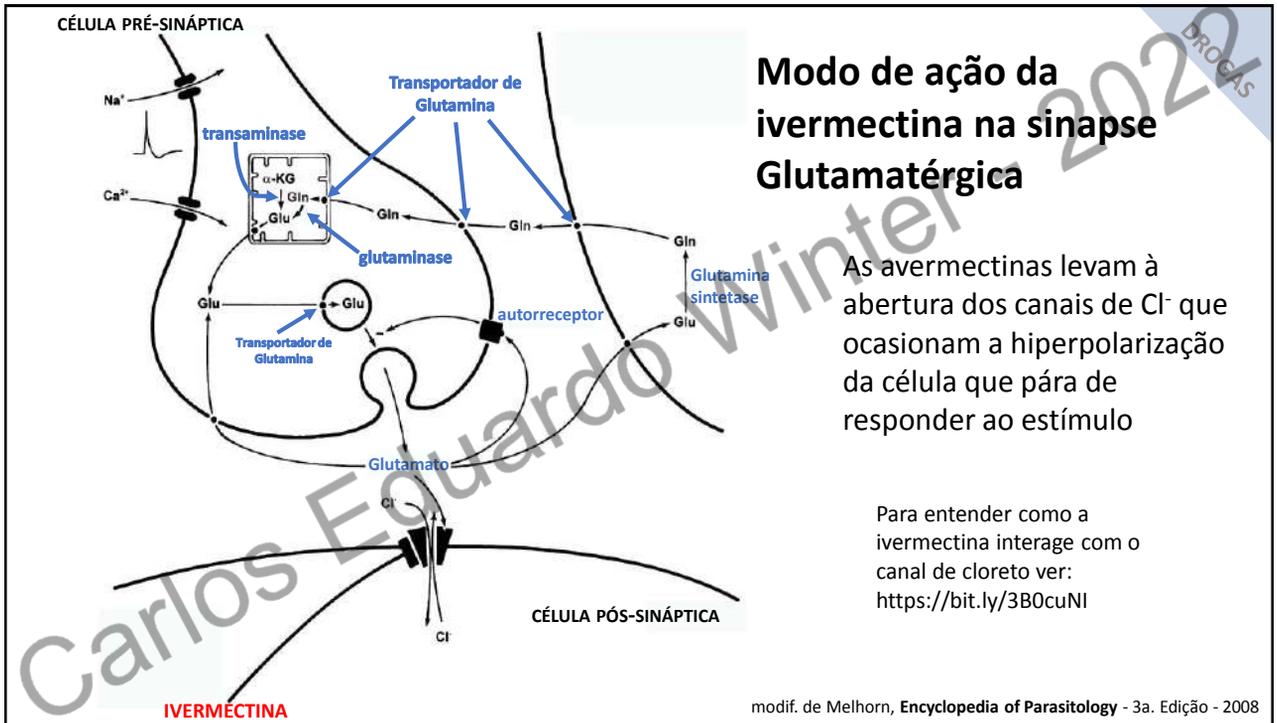
82



83



84



85

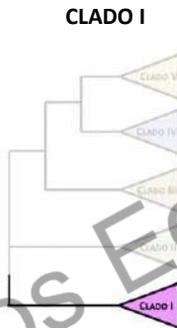
## Nematoides com transmissão por ovos com larvas

1. *Trichuris trichiura*
2. *Enterobius vermicularis*
3. *Ascaris lumbricoides*

ICBUSP

86

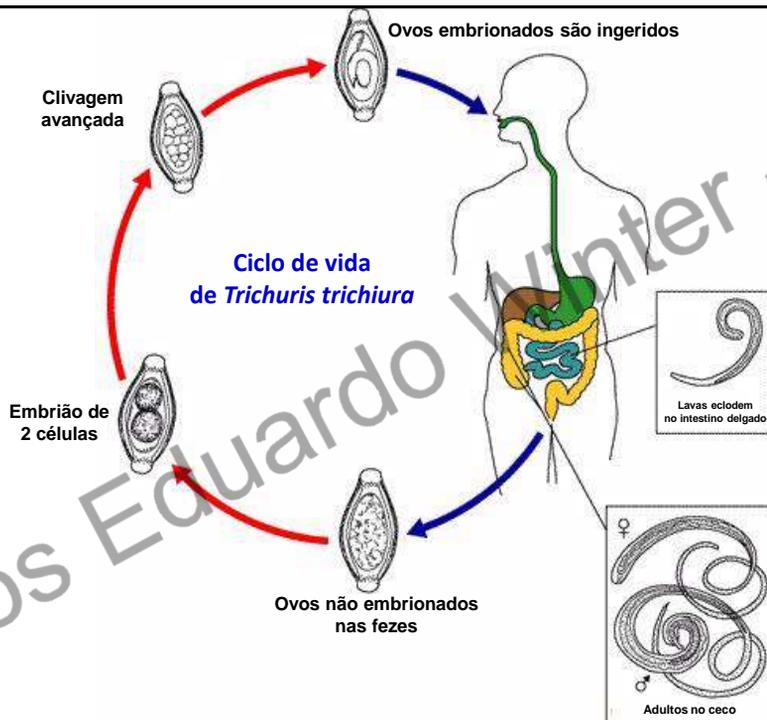
## *Trichuris trichiura*



Adultos vivem no ceco e no cólon ascendente. A vida média dos vermes adultos é de um ano, e cada fêmea produz 5-20.000 ovos/dia. Após excreção, o desenvolvimento embrionário ocorre em 2-4 semanas.

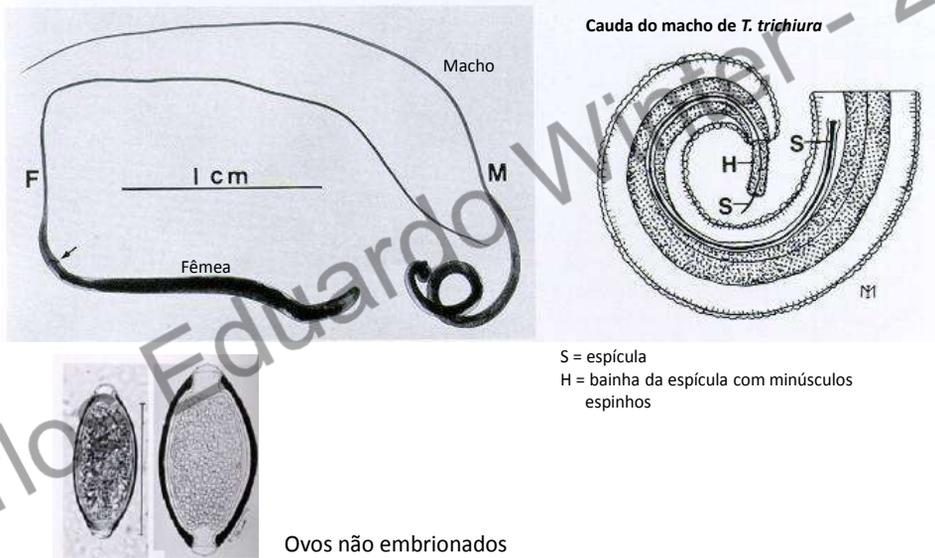


87



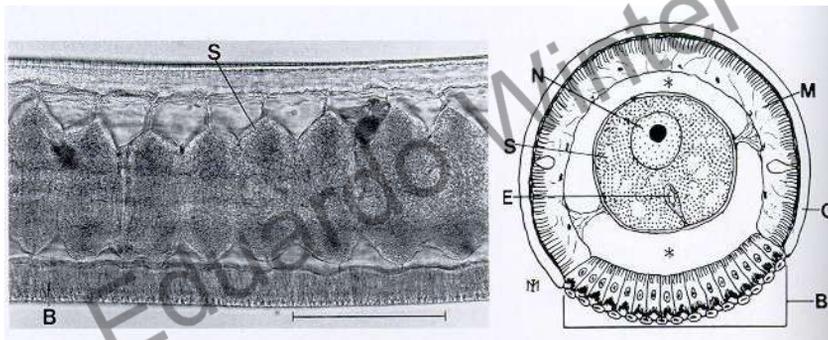
88

## Adultos de *Trichuris trichiura*



89

## Estrutura interna da parte anterior do corpo de *T. trichiura*



S = estricócito; B = faixa bacilar da parte ventral

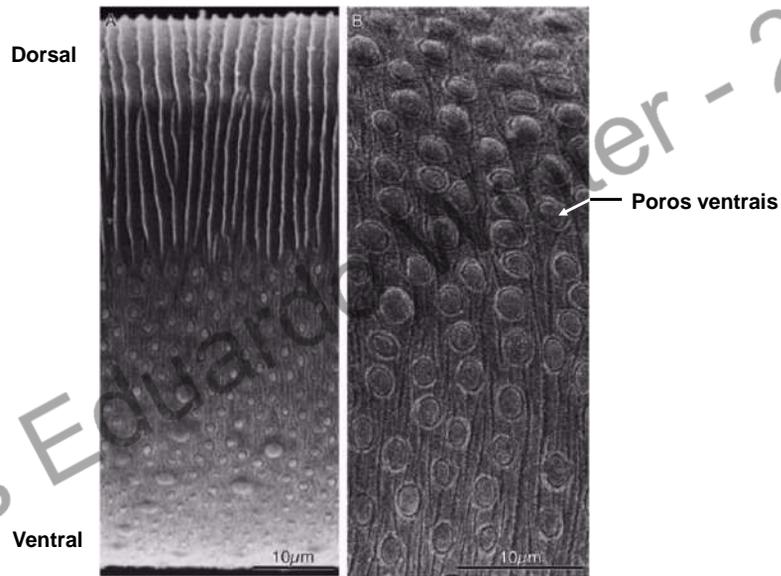
Corte transversal da parte anterior de *T. trichiura*

B = faixa bacilar; C = cutícula; E = cavidade esofágica; M = camada muscular; N = núcleo; S = estricócito; \* = pseudoceloma

modif. de Miyazaki – *An Illustrated Book of Helminthic Zoonoses* – IMFJ - 1991

90

## Microscopia eletrônica de varredura de *T. muris*



Tilney e cols., J. Exp. Zool. **303A**:927-945, 2005

91

## *Trichuris trichiura*

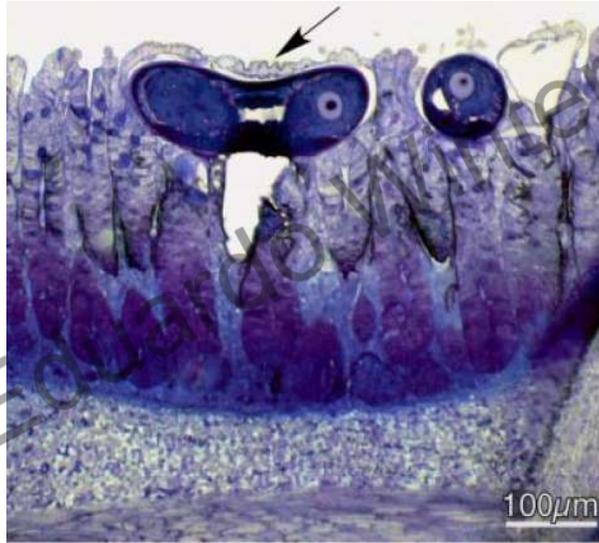


Adultos na mucosa cecal; parte posterior do corpo livre

Macho e fêmea com a parte anterior inserida na mucosa

92

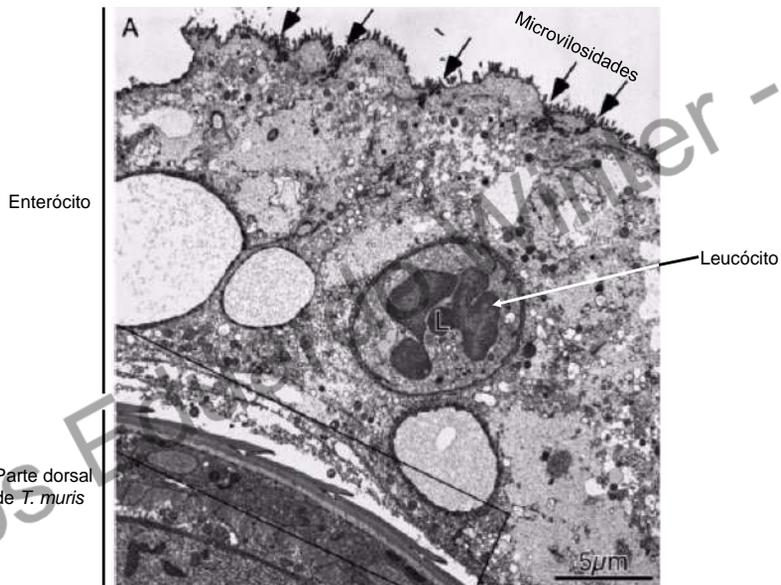
### Ceco de camundongo infectado com *T. muris*



Tilney e cols., J. Exp. Zool. **303A**:927-945, 2005

93

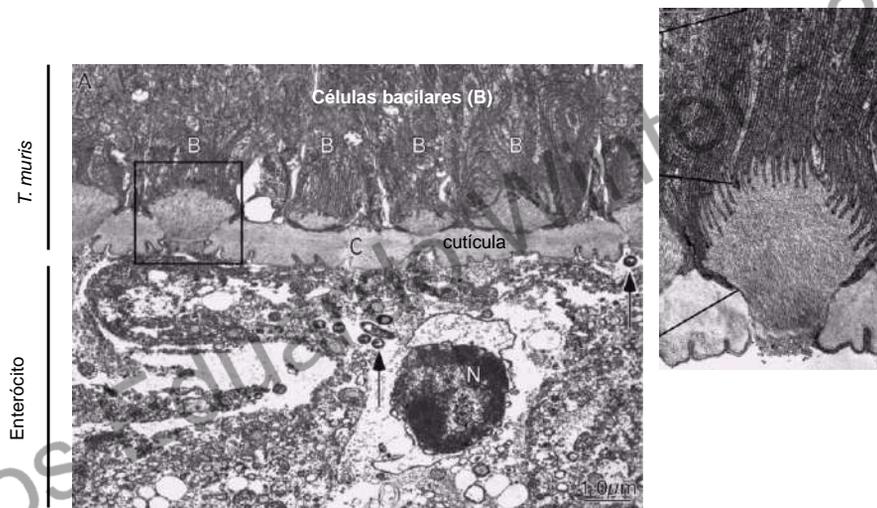
### *T. muris* intracelular!



Tilney e cols., J. Exp. Zool. **303A**:927-945, 2005

94

## Relação entre as células bacilares e o enterócito



Tilney e cols., J. Exp. Zool. **303A**:927-945, 2005

95

## Sintomas da infecção por *Trichuris trichiura*

A infecção é principalmente assintomática, mas infecções pesadas podem apresentar uma série de sintomas:

1. anemia por deficiência de ferro
2. sintomas gastrointestinais agudos - diarreia (geralmente contendo muco e/ou sangue), disenteria
3. colite crônica com retardo de crescimento
4. prolapso do reto

96

## Prevalência de *Trichuris trichiura* e *Ascaris lumbricoides* no mundo

Table 1. Estimates of prevalence of *Trichuris trichiura* and *Ascaris lumbricoides* in parts of Africa, America and Asia. (For original sources, see Ref. 5.)

Locality	Sample size	Prevalence (%)	
		<i>Trichuris</i>	<i>Ascaris</i>
<b>AMERICA</b>			
Brazil	a	32	55
Caribbean	15 962	57	14
Mexico	a	21	26
USA	a	1	2
<b>AFRICA</b>			
Cameroon	1095	70	69
Nigeria	5595	76	74
Ethiopia	4469	4	6
Kenya	166 415	2	17
Zimbabwe	1543	1	2
<b>ASIA</b>			
India (N)	52 113	1	4
India (S)	59 489	12	15
Indonesia	13 566	73	72
Japan	1 663 145	0.9	0.6
Korea	40 581	74	58
Malaysia	25 246	33	19
Thailand	6724	32	17
Philippines	18 262	74	48

a - National estimate based on a large series of surveys.

Cooper & Bundy, Parasitol. Today 4:301-306, 1988

97

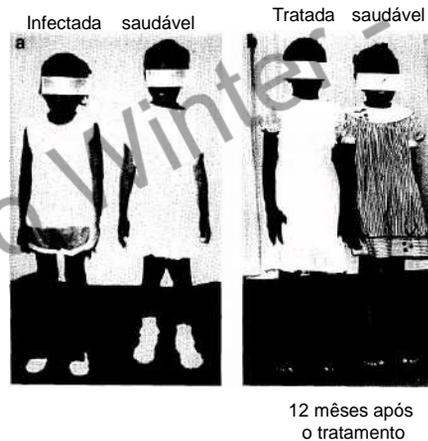
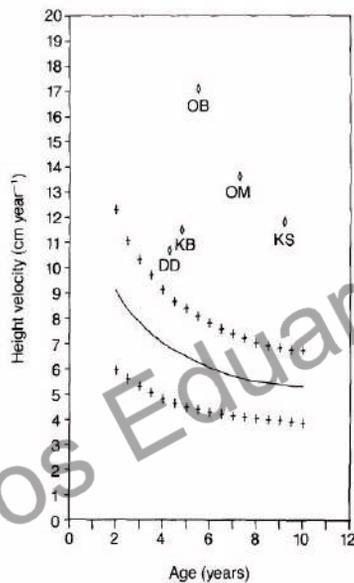
## Áreas e países com casos de tricuriase



Cooper & Bundy, Parasitol. Today 4:301-306, 1988

98

## Efeito da tricuriase sobre o crescimento

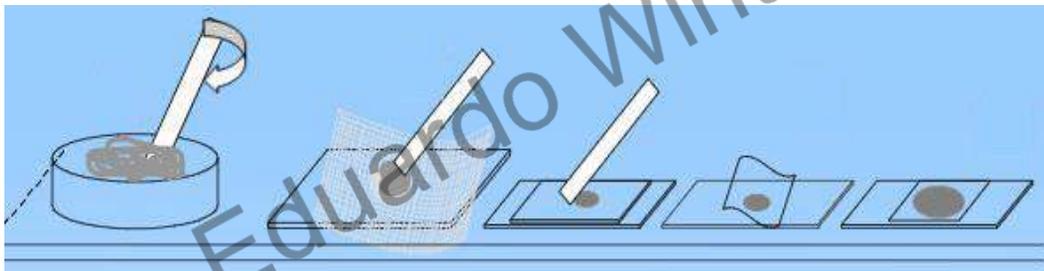


Cooper & Bundy, Parasitol. Today 4:301-306, 1988

99

## Diagnóstico da infecção por *Trichuris trichiura*

1. Microscopia das fezes revelam ovos característicos ( $52 \times 22 \mu\text{m}$ ). A técnica de Kato-Katz (<https://youtu.be/apuE0YQxVnk>) pode ser utilizada para quantificar o número de ovos/g de fezes, que está relacionado à carga parasitária:



<https://bit.ly/3tUGicx>

2. Colonoscopia ou proctoscopia podem demonstrar os vermes adultos (com forma de chicote) enterrados na mucosa intestinal.

100

## Tratamento da infecção por *Trichuris trichiura*

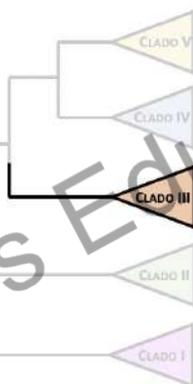
1. Albendazol (400 mg/dia por 3 dias) ou mebendazol (100 mg duas vezes por dia por 3 dias) são os tratamentos usuais.
2. Ivermectina possui alguma atividade mas não é tão eficiente quanto albendazol e mebendazol.
3. Para terapia de massa em comunidades de países em desenvolvimento, utiliza-se uma combinação de ivermectina + albendazol ou mebendazol



101

## *Enterobius vermicularis*

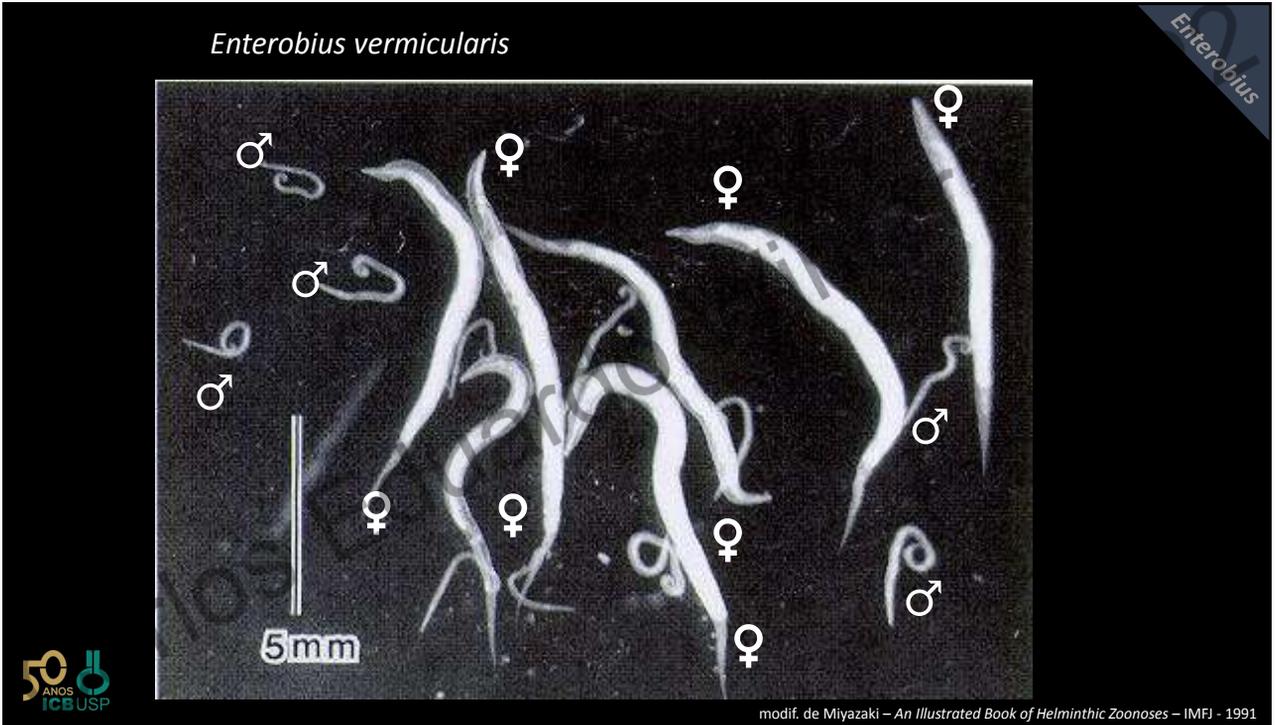
CLADO III



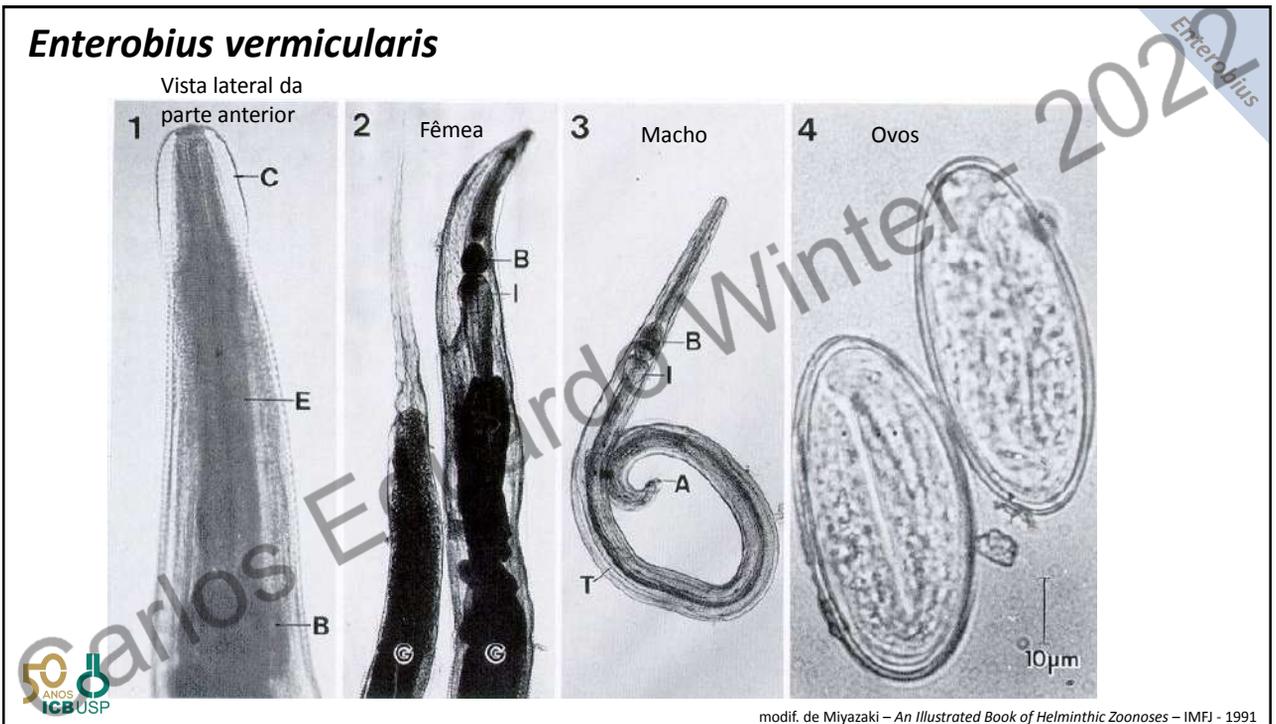
É um verme pequeno, branco, em forma de fio que habita o ceco e o colon ascendente de humanos. As fêmeas contem cerca de 11.000 ovos e vivem por 11-35 dias. As fêmeas grávidas migram à noite para a região perianal onde elas depositam seus ovos. Os ovos embrionam em horas e são transferidos da região perianal para as roupas, lençóis, poeira e ar.



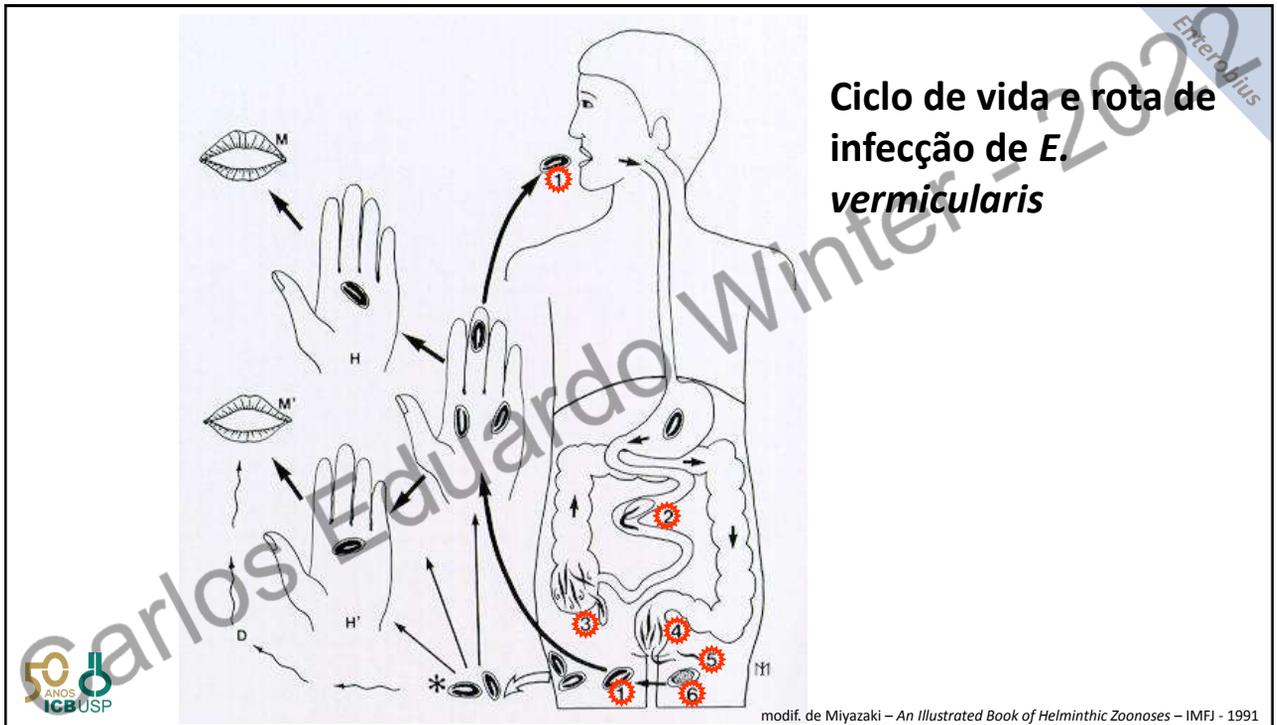
102



103



104



105

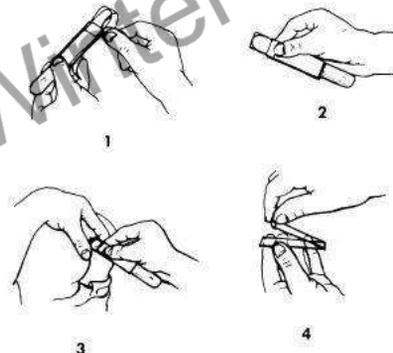
### Sintomas da infecção por *Enterobius vermicularis* (oxiuríase)

1. Maioria dos paciente é assintomática.
2. Prurido perianal e alterações do sono são os sintomas mais comuns.
3. Ocasionalmente, a migração dos vermes pode causar doença ectópica, por ex. apendicite, inflamação das tubas uterinas (salpingite), ooforite (inflamação dos ovários), vulvovaginite, lesões ulcerativas do intestino, inflamação peritoneal.

106

## Diagnóstico da infecção por *Enterobius vermicularis*

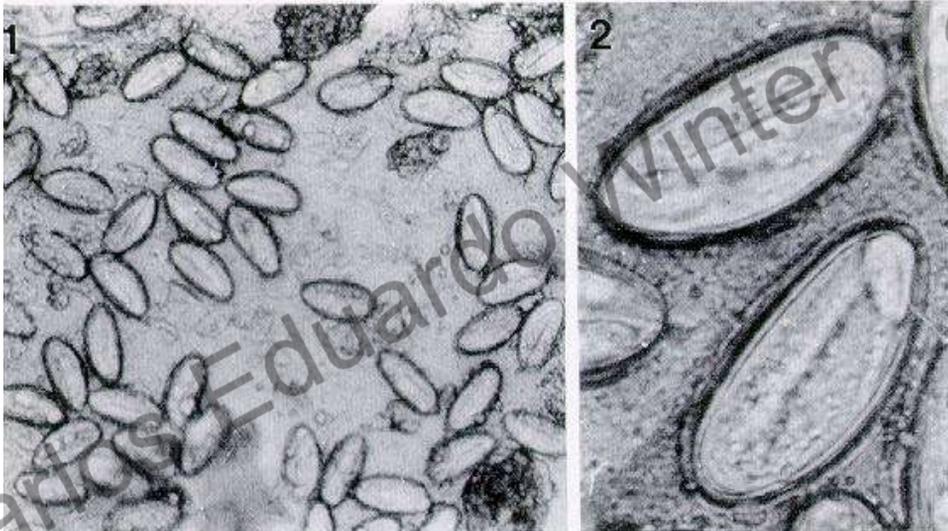
1. Método da fita adesiva é usado para coletar os vermes da região perianal
2. Ovos achatados de um dos lados, medem 56 x 27  $\mu\text{m}$
3. O número de exames está relacionado à taxa de detecção, e.g. 50% para um único exame, 90% para três exames.
4. Todos os membros da família de um indivíduo afetado devem ser testados para a infecção



Garcia L.S. 2001. Diagnostic Medical Parasitology

107

## Ovos coletados pelo “método da fita adesiva”



modif. de Miyazaki – An Illustrated Book of Helminthic Zoonoses – IMFJ - 1991

108

## Tratamento da infecção por *Enterobius vermicularis* (oxiuríase)

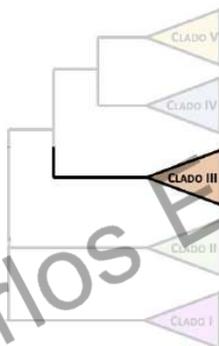
1. Albendazol (400 mg em dose única, repetida depois de duas semanas) ou mebendazol (100 mg em dose única repetida depois de 2 semanas) são os tratamentos usuais
2. Pamoato de pirantel (11 mg/kg, dose máxima de 1g) é uma alternativa, mas podem ocorrer efeitos colaterais gastrointestinais e neurológicos
3. Também tem sido utilizada ivermectina (200 µg/kg, duas doses espaçadas por 10 dias)



109

## *Ascaris lumbricoides*

CLADO III



Os vermes adultos (brancos ou amarelo avermelhados, 15-35 cm de comprimento) vivem no intestino delgado e têm uma vida de 10-24 meses. Cada fêmea produz até 200.000 ovos/dia, que são eliminados pelas fezes.



110

**Ascaris suum – o Ascaris de porco como modelo**



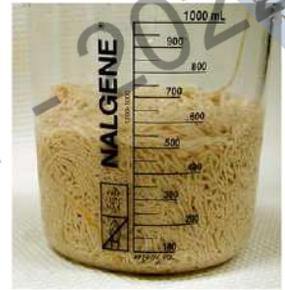
Ascaris coletados de porcos



Fêmea adulta



Útero de uma fêmea dissecado. O círculo azul mostra os 3-6 cm terminais do útero, contendo ovos maduros (fertilizados)



Úteros isolados

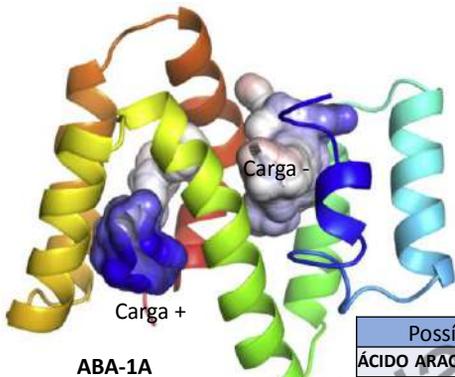


Ovos limpos

Wang & Davis, *Curr. Biol.* 30:R417-R429, 2020

111

**O principal alérgeno de *Ascaris suum*, ABA-1, é uma lipocalina de 14,4 kDa**



ABA-1A

A proteína possui dois bolsos hidrofóbicos de ligação ao ligante

Faz parte das NPAs (nematode polyprotein antigen/allergen)



Organização das subunidades na poliproteína; o \* mostra a posição de clivagem da convertase

Possíveis ligantes às NPAs	Função	
ÁCIDO ARAQUIDÔNICO	precursor das prostaglandinas	inflamação
FATOR ATIVADOR DE PLAQUETAS (PAF)	fosfolípido; agregação de plaquetas	
LEUCOTRIENOS B4, C4, D4, E E4	contração de musculatura lisa; aumento da permeabilidade vascular	
BILIRRUBINA	produto de degradação do heme	
ÁCIDO OLEICO	ácido graxo	
RETINOL	importante no metabolismo ocular	

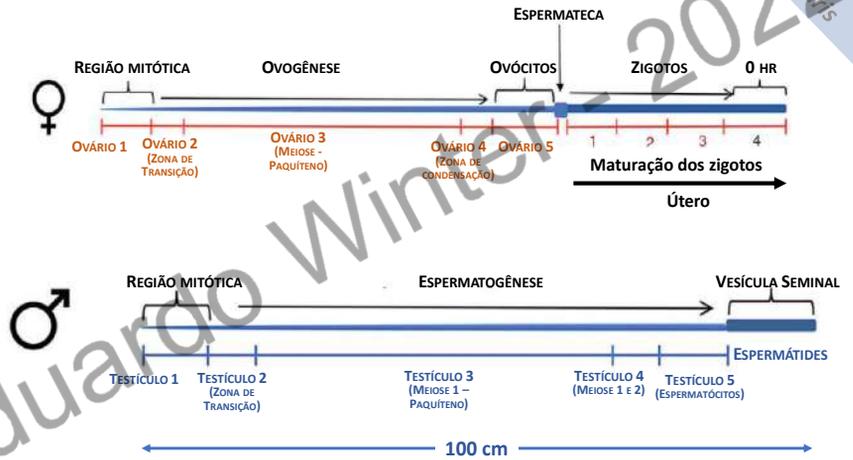
modif. de Kennedy, *Parasitol. Today*, 16:373-380, 2000

112

### O sistema reprodutor de *Ascaris suum*



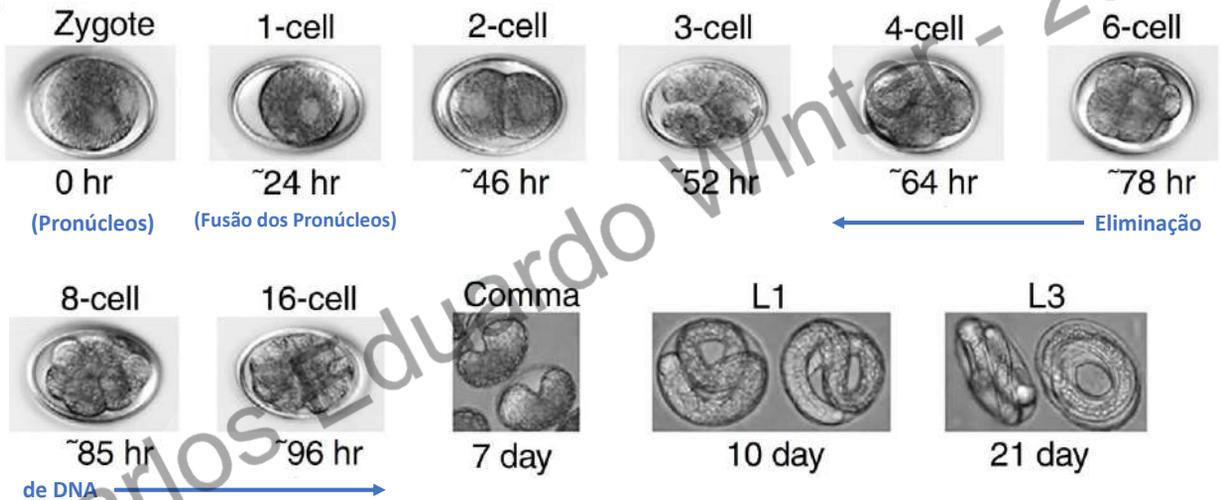
**Sistema Reprodutor feminino**  
O útero foi quase completamente removido



Wang & Davis, *Curr. Biol.* 30:R417-R429, 2020

113

### Embriogênese de *Ascaris suum* a 30° C

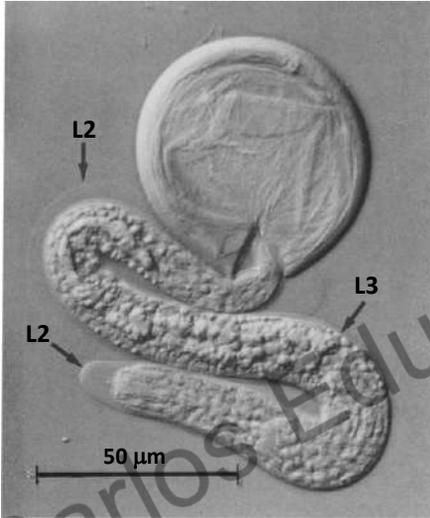


Wang & Davis, *Curr. Biol.* 30:R417-R429, 2020

114

### As duas mudas de cutícula dentro do ovo de *Ascaris suum*

Microscopia de Contraste de Interferência (DIC)

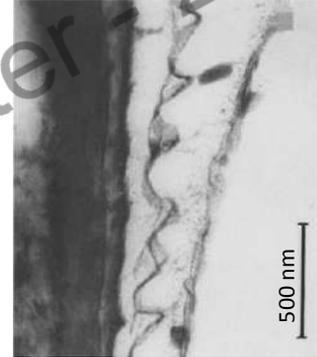


28 dias a 22° C



31 dias a 22° C

Microscopia Eletrônica de Transmissão



31 dias a 22° C

Geenen et al., *J. Parasitol.* 85:616-622, 1999

115

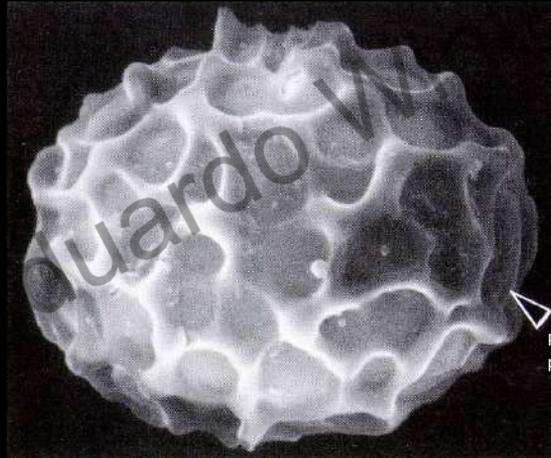
### Menina paraguaia com *Ascaris lumbricoides* e os vermes expelidos após tratamento



Hotez (2010) *Forgotten people, forgotten diseases* - ASM Press - Washington DC - p. 24

116

Microscopia de varredura de um ovo de *Ascaris suum* fertilizado



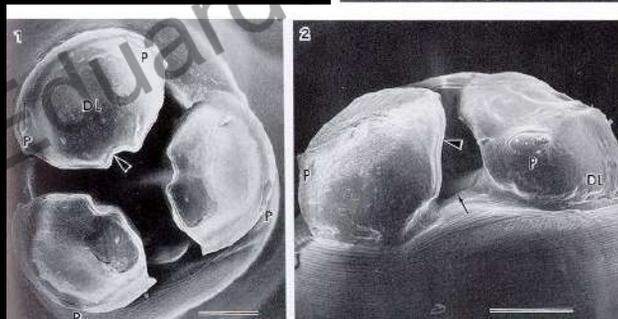
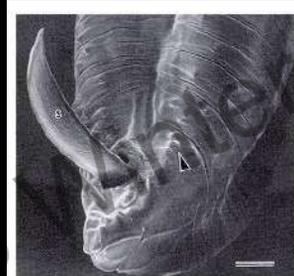
Ponto por onde a larva parece eclodir



Ishii & Habe, Igaku no Ayumi, 88 (9), 1974

117

Microscopia de varredura da parte anterior e posterior do macho de *Ascaris lumbricoides*



118

modif. de Miyazaki – An Illustrated Book of Helminthic Zoonoses – IMFI - 1991

**Ciclo de vida de *Ascaris lumbricoides***

- O indivíduo ingere ovos com L3 no interior
- As L3 (com cutícula de L2) eclodem do ovo no intestino delgado
- As L3 atravessam a parede do intestino e são transportadas pela veia porta para o fígado
- Uma parte das L3 pode sair do intestino e entrar diretamente no fígado: a segunda muda se completa e agora a L3 mostra a sua cutícula
- Através da veia hepática as L3 chegam ao coração direito e vão para os pulmões
- Uma parte das L3 atravessa o diafragma e entra diretamente nos pulmões
- As L3 acabam entrando nos alvéolos pulmonares. Permanecem nos pulmões por ~10 dias e crescem até 1,5 mm.
- As L3 sobem pelos brônquios e traquéia e chegam até a laringe, descendo pelo esôfago entram no intestino delgado
- Após a 3ª muda na mucosa intestinal as L4 fazem a muda final e vivem como adultos no lúmen do intestino

50 ANOS ICB USP

119

**Sintomas da infecção por *Ascaris lumbricoides***

A maioria dos pacientes é assintomática. Características clínicas dependem do local e intensidade da infecção

1. Manifestações pulmonares ocorrem durante a migração das larvas através dos pulmões. Pacientes podem apresentar a síndrome de Loeffler (sintomas respiratórios, infiltração pulmonar e eosinofilia periférica).
2. Manifestações gastrointestinais incluem má nutrição, absorção prejudicada, esteatorreia e obstrução intestinal.
3. Obstrução biliar pode causar dor abdominal, colangite, pancreatite e icterícia.
4. Infecções ectópicas ocorrerem raramente, por ex. fístulas ou hérnias umbilicais, tubas uterinas, bexiga urinária, pulmões e coração.

50 ANOS ICB USP

120

### Dados experimentais e epidemiológicos que apoiam o fato de infecção por *Ascaris* aumentar a resposta alérgica com presença de IgE

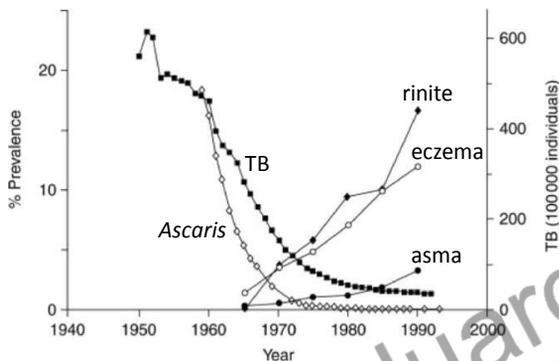
1. Infecção natural está associada a resposta TH<sub>2</sub> polarizada e altos níveis de de IgE total e anti-*Ascaris*
2. Em alguns indivíduos, a infecção natural induz sintomas alérgicos respiratórios e cutâneos mediados por IgE
3. Em modelos animais e humanos, desafios brônquico com extrato de *Ascaris* induz sintomas de asma.
4. Infecção experimental com *Ascaris* em animais aumenta a resposta de IgE a antígenos próprios (bystander antigens)
5. Diversos levantamentos epidemiológicos mostraram que a infecção por *Ascaris* é um fator de risco para asma e outras alergia atópicas.



modif. de Kennedy (2013), in: *Ascaris: the neglected parasite*, p. 51-79, DOI:10.1016/B978-0-12-396978-1.00003-3.

121

Correlação entre alergias atópicas e redução do número de pessoas com *Ascaris* no Japão entre 1950 e 2000



Mao et al., *Trends in Parasitology* 16:186-188, 2000

**Como entender esses dados dada a presença de alérgenos em *Ascaris*?**

**Sugestão de leitura:**

Fitzsimmons e Dunne - Survival of the fittest: allergology or parasitology? - *Trends in Parasitol.*, 25:447-451, 2009.



122

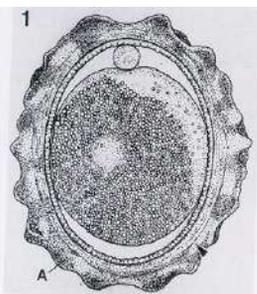
## Diagnóstico da infecção por *Ascaris lumbricoides*

- 1. Exame microscópico das fezes** - podem ser negativas até 40 dias após a infecção. Os ovos são ovais (!) com uma casca grossa e rugosa e medem 45-70  $\mu\text{m}$  (comprimento) por 35-50  $\mu\text{m}$  (largura). Em alguns casos há eliminação de adultos nas fezes.
- 2. Eosinofilia** - pode ser observada no início da infecção, quando as larvas migram através dos pulmões. O IgE e IgG sérico pode estar elevado.
- 3. Sorologia** - geralmente utilizada em estudos epidemiológicos, raramente para diagnóstico.



123

## Ovos de *Ascaris* – diagnóstico microscópico

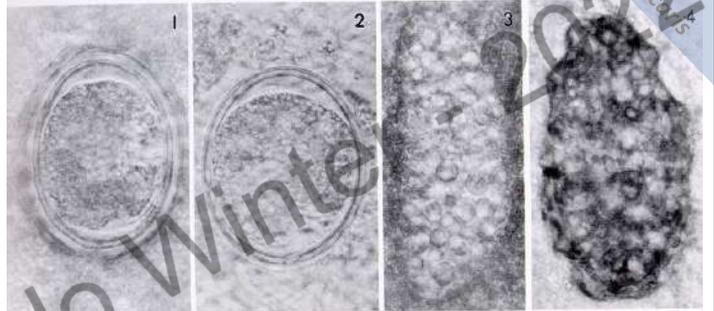


FERTILIZADO



NÃO FERTILIZADO

A= Cobertura protéica  
Ponta de flecha=casca



Fertilizado, normal, cor castanho amarelado

Fertilizado, sem cobertura de proteína e incolor

Não fertilizado amarelo claro

Não fertilizado, de cor escura



124

## Tratamento da infecção por *Ascaris lumbricoides*

**Albendazol** - 400 mg em dose única ou

**Mebendazol** - 100 mg duas vezes ao dia por 3 dias ou

**Mebendazol** - 500 mg em dose única

Drogas alternativas incluem **Ivermectina**,  
**Nitazoxanida**, **Citrato de Piperazina** e **Levamisol**.

Intervenção endoscópica ou cirúrgica pode ser necessária para tratar obstrução biliar ou intestinal

Intestino de leitão obstruído por  
*A. suum*



modif. de Roberts & Janovy, *Foundations of Parasitology*, 8th ed., 2009.

125



126