

FILÁRIAS

Nematóides Parasitas humanos

2 bilhões infecções por *Ascaris*, ancilostomídeos ou *Trichuris* (nematóides intestinais)

150 milhões - infecção por filárias

120 milhões *Wuchereria* (filariose linfática)

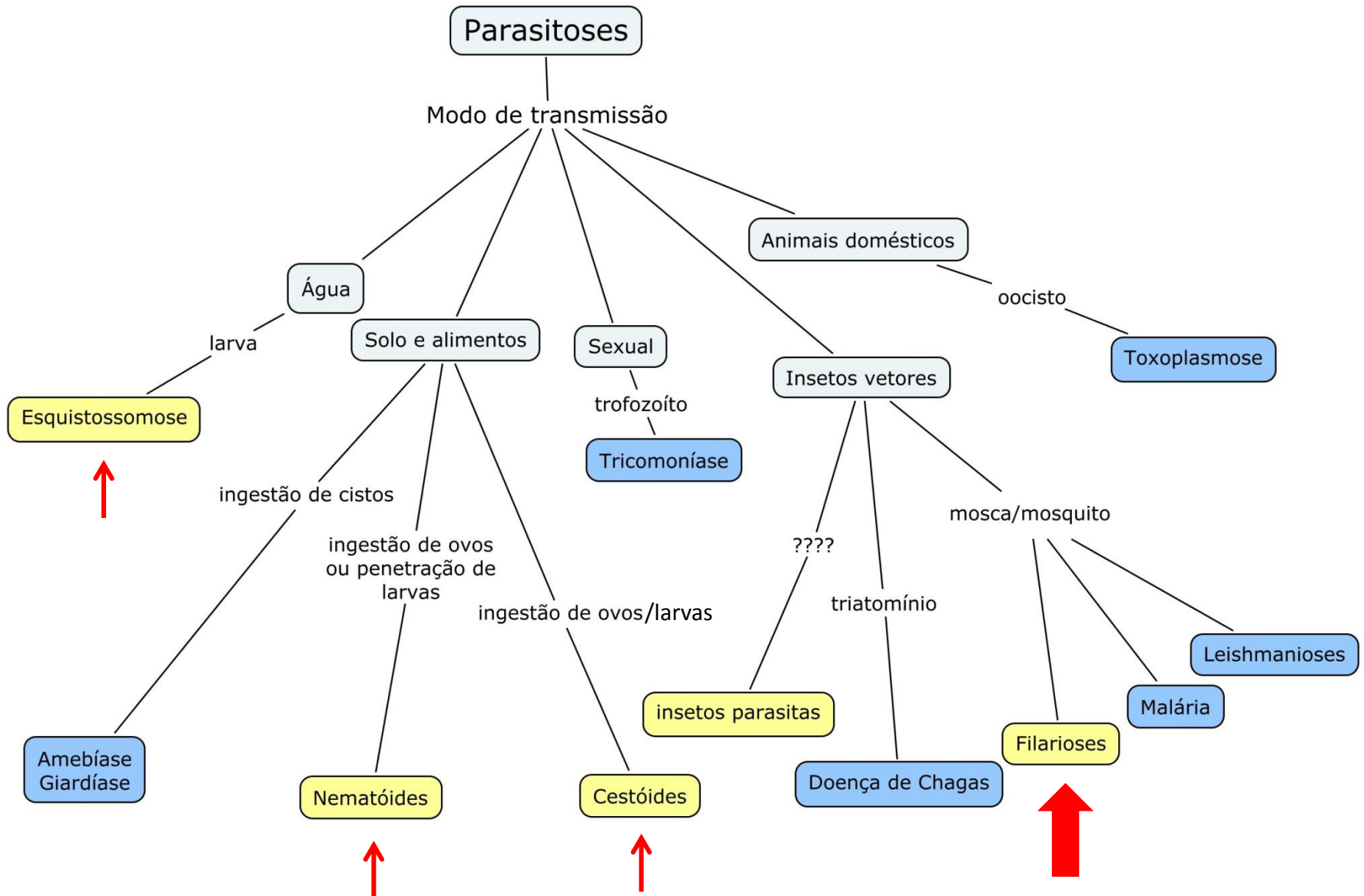
37 milhões *Oncocerca* (oncocercose)

Table 1. The Major Parasitic Diseases Affecting Man (Adapted from [7])

Disease	Population at Risk ($\times 10^6$)	Cases ($\times 10^6$)	Mortality ($\times 10^3$)
Malaria	>2100	270–400	1120
African trypanosomiasis	>60	0.3–0.5	49
Chagas disease	120	17	13
Leishmaniasis	350	12	57
Schistosomiasis	600	>200	15
Onchocerciasis	120	18	0
Lymphatic filariasis	1000	120	0
Intestinal protozoa	3500	450	65
Geohelminths	4500	~3000	17



Transmissão de parasitas



Nematóides Parasitas humanos

Formas de transmissão:

- Transmissão oro-fecal
- Ingestão de ovos do ambiente
- Penetração pela pele
- Vetor (inseto)

Localização:

- Intestinal
- Tecidos/ vasos

Características das Filárias

Tamanho variado (2-50cm)

Fusiformes, alongadas e não segmentadas

♂ e ♀ (♀ 2x ♂)

4 estágios larvais

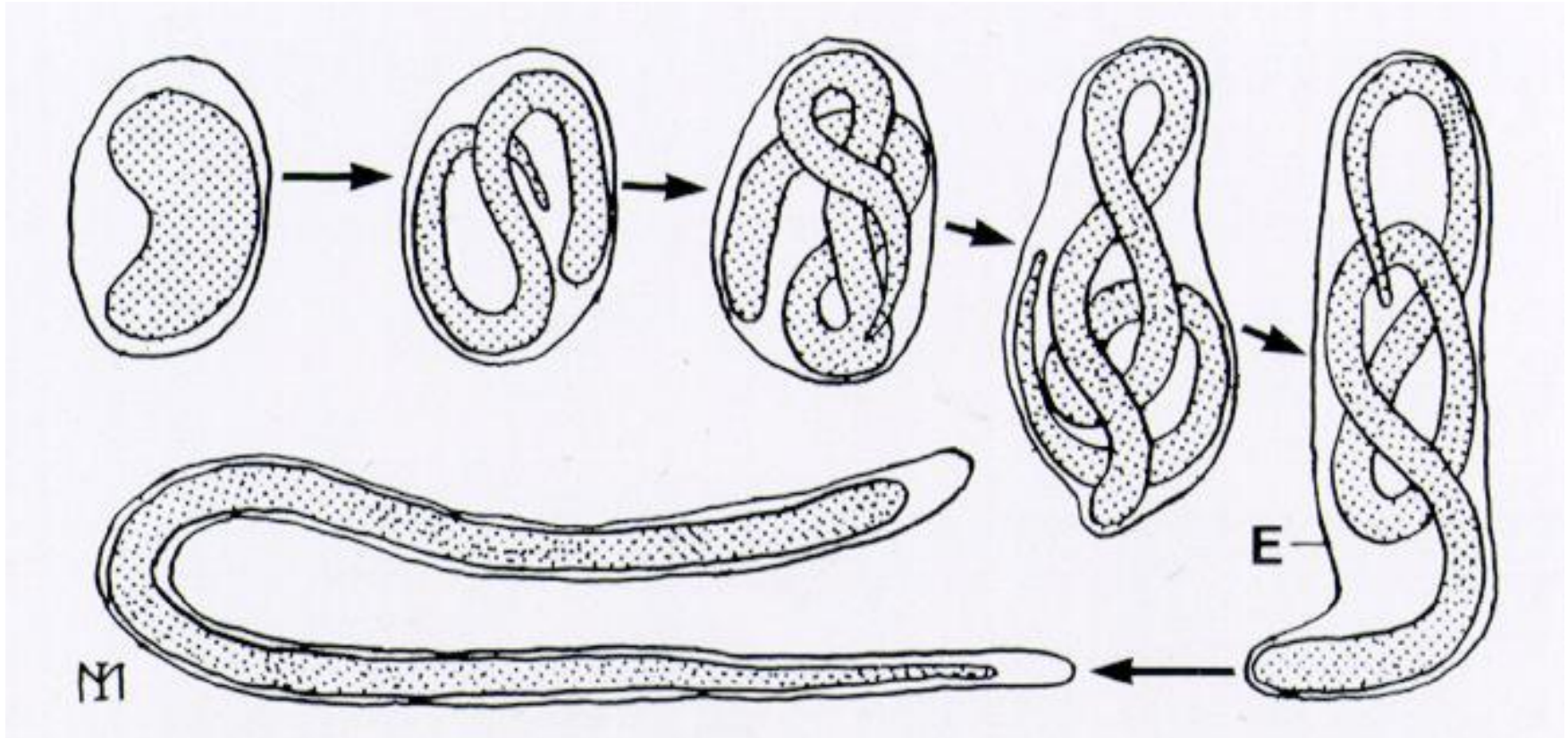
Vivíparas (geram microfilárias)

Vetor invertebrado hematófago

Multiplicação no hospedeiro vertebrado

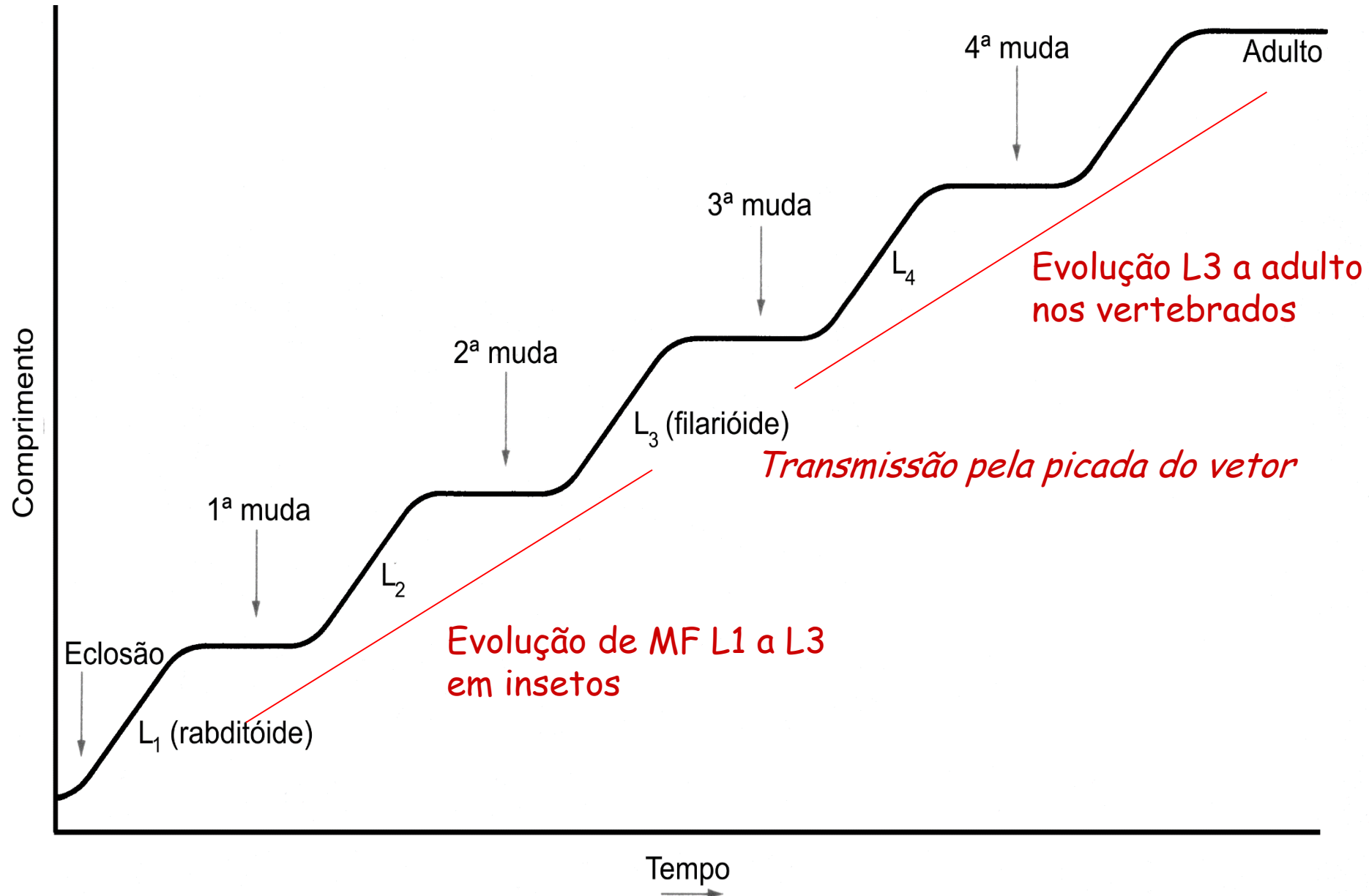
Simbiose com *Wolbachia* (fertilidade)

Desenvolvimento das microfilárias no útero da fêmea



E = "membrana do ovo" (sem casca)- bainha da microfilária em algumas spp (Wuchereria)

Desenvolvimento

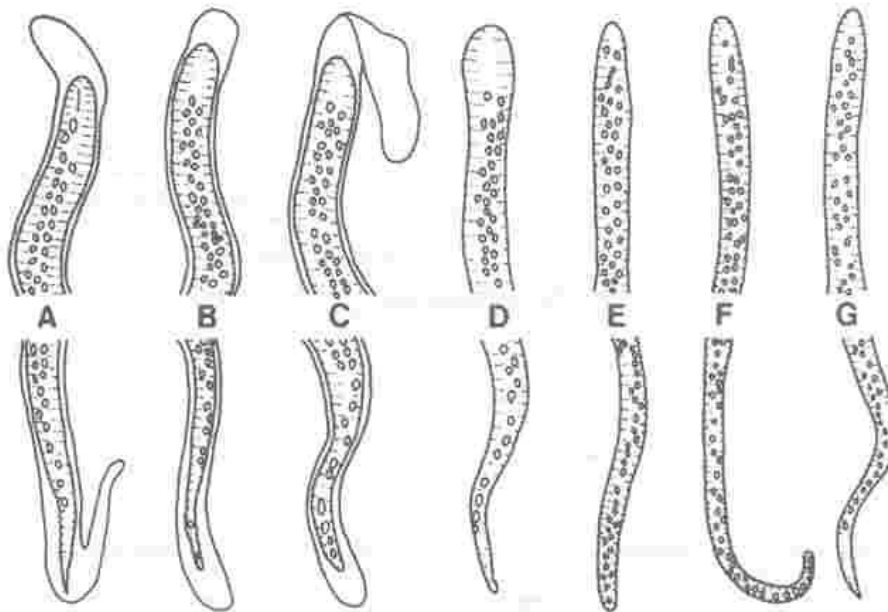


Principais filárias :

- *Wuchereria bancrofti* - filariose linfática - elefantíase
- *Onchocerca volvulus* - oncocercose - cegueira dos rios
- *Dirofilaria immitis* - parasita cães (zoonose), casos humanos
- *Mansonella ozzardi* - não patogênica, comum na Amazônia

Microfilárias- diferenciação de espécies

coloração azul metileno/Giemsa



A. *Wuchereria bancrofti*
B. *Brugia malayi* (Ásia)

D. *Oncocerca volvulus*
G. *Mansonella ozzardi*

Núcleos caudais: céls germinativas (aparelho genital e outros órgãos)
Bainha presente ou não
(fixadas e coradas com Giemsa)

Filariose (Filaríase) linfática

Principais agentes etiológicos: *Wuchereria bancrofti*
(*Brugia malayi* na Ásia)

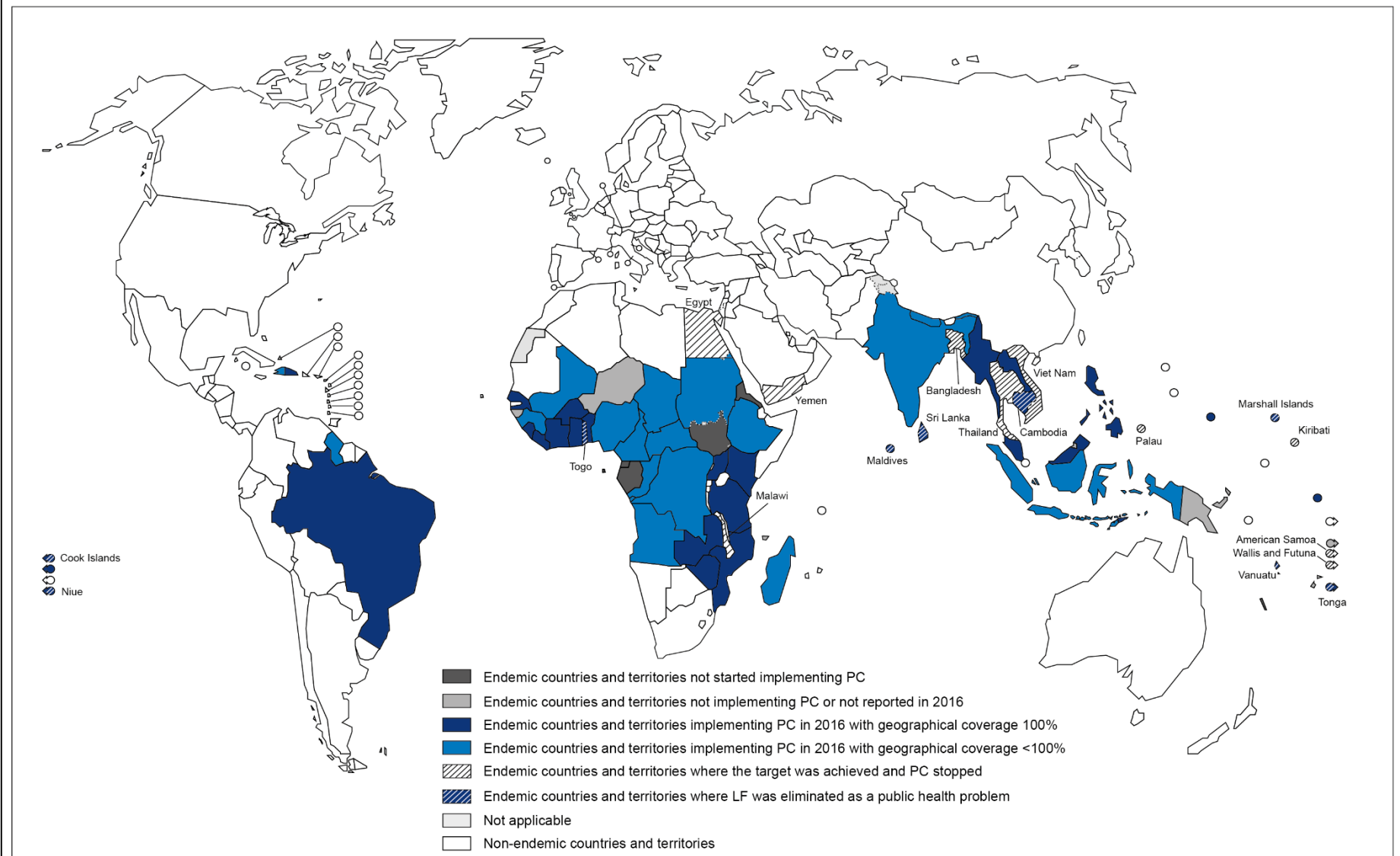
O homem é o único hospedeiro definitivo

1,4 bilhões de indivíduos em risco

120 milhões de indivíduos infectados

40 milhões de indivíduos incapacitados ou desfigurados

Distribution of lymphatic filariasis and status of preventive chemotherapy (PC) in endemic countries, 2016



55 países endêmicos em 2016

Américas: Haiti, República Dominicana, Guiana e Brasil

BR: urbano- Norte, NE- Recife, Jaboatão, Olinda, Maceió. Belém: não mais!

Filariose linfática

Origem: Ásia- África- (escravos)- América

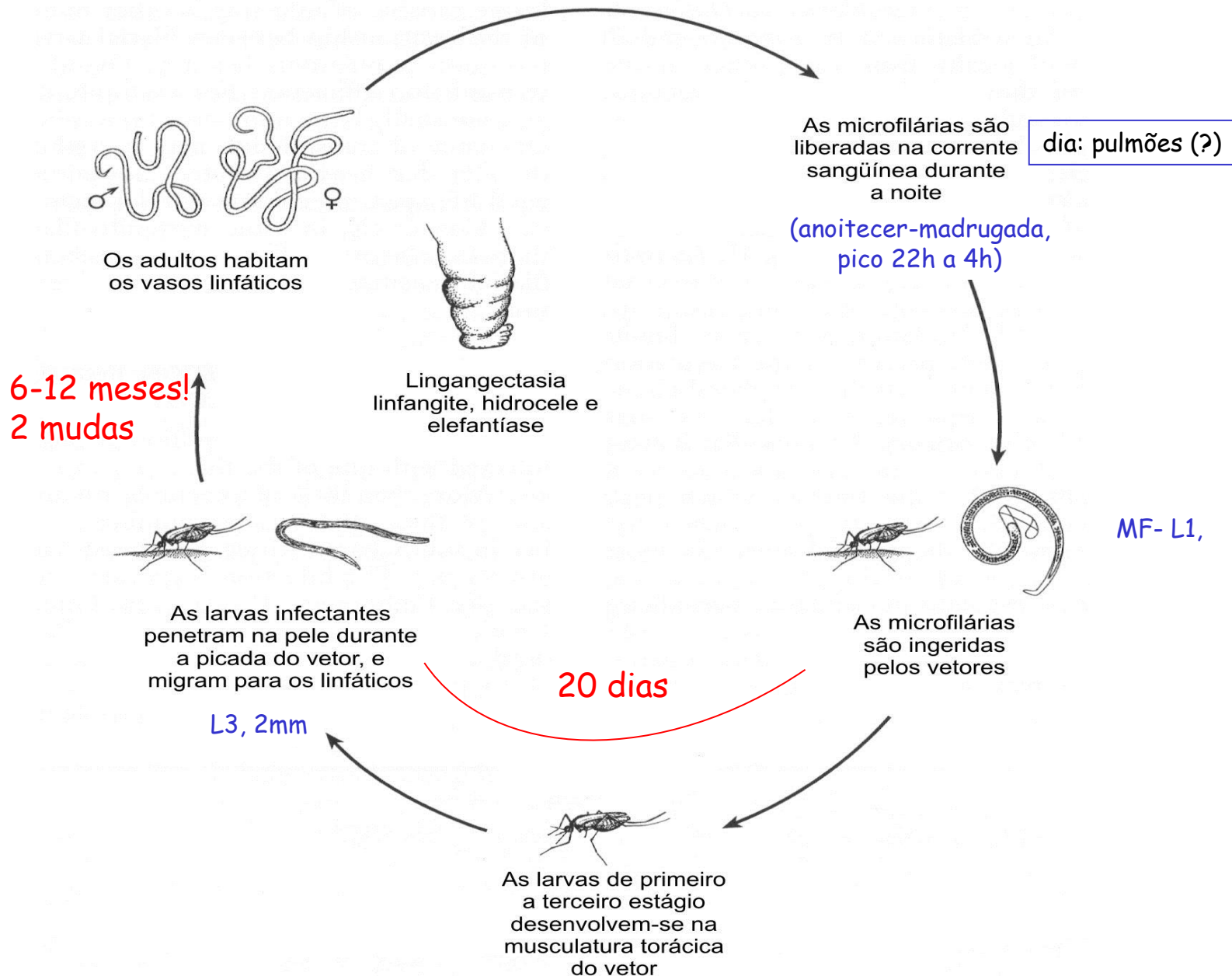
1863, Desmarquay (Paris)- microfilárias na linfa escrotal de paciente

1866, Wucherer (Bahia)- microfilárias

1876, Bancroft (Austrália)- verme adulto

Anos depois, Manson- transmissão por mosquitos

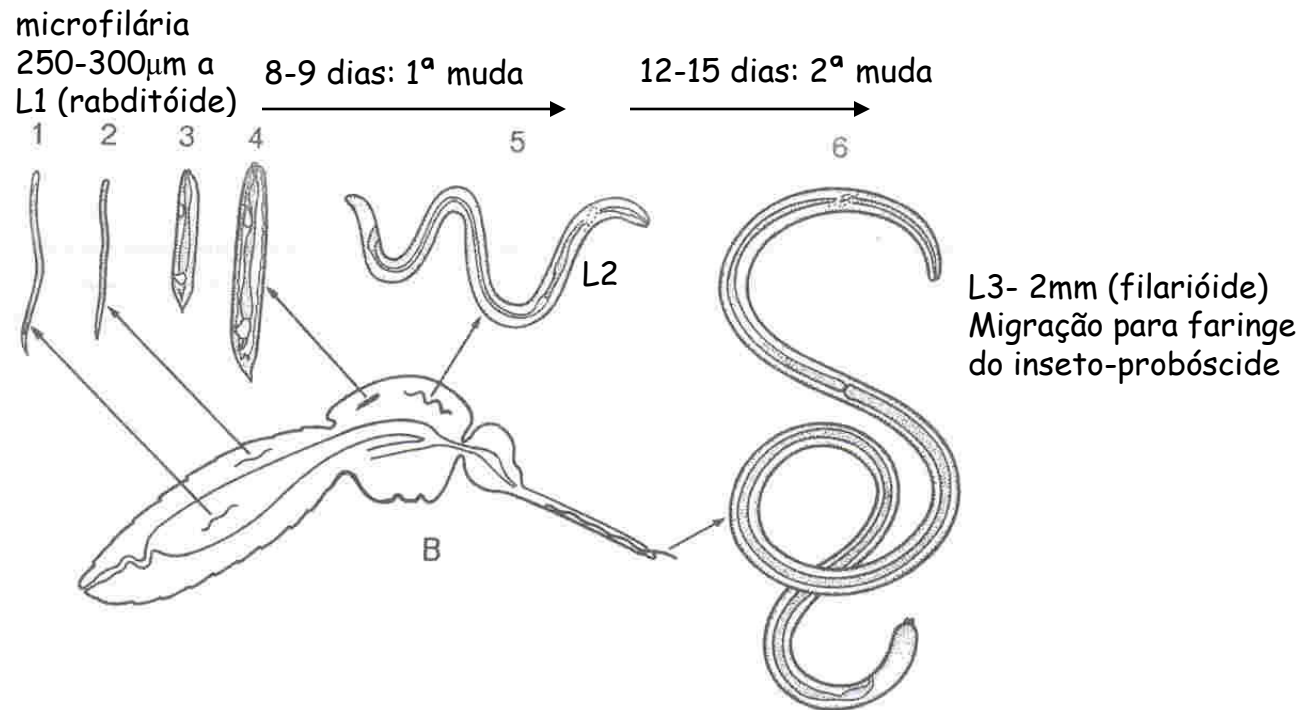
Ciclo vital de *Wuchereria bancrofti*



<https://www.youtube.com/watch?v=BBWePqINg9s>

Desenvolvimento da microfilária no inseto

Wuchereria bancrofti



MF no estômago do mosquito perde bainha (6h, L1) e as que sobrevivem perfuram a parede do estômago e chegam a hemolinfa, nadando até os músculos torácicos

Filariose linfática

Vetores:

Américas: *Culex* (eventualmente *Anopheles* e *Aedes*)

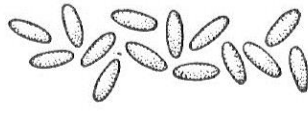
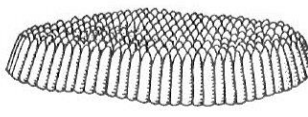
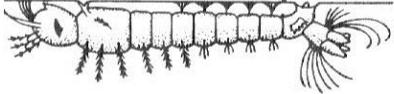
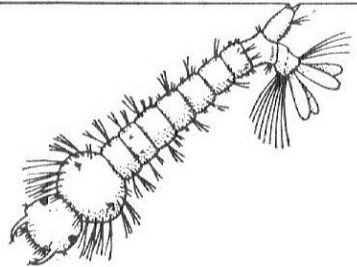
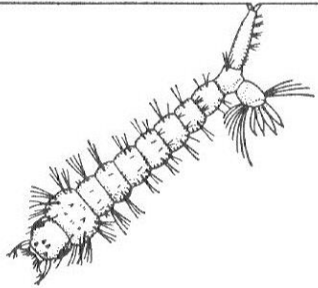
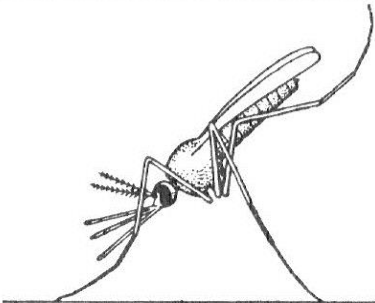
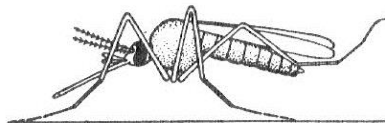
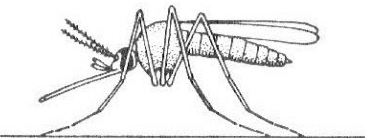
África: *Anopheles*

Ásia: *Aedes* e *Mansonia*



Vetores da filariose linfática-família Culicidae

subfamílias

		Anofelinos	Culicíneos	
		<i>Anopheles</i>	<i>Aedes</i>	<i>Culex</i>
Ovos				
Larva				
Posição de pouso				

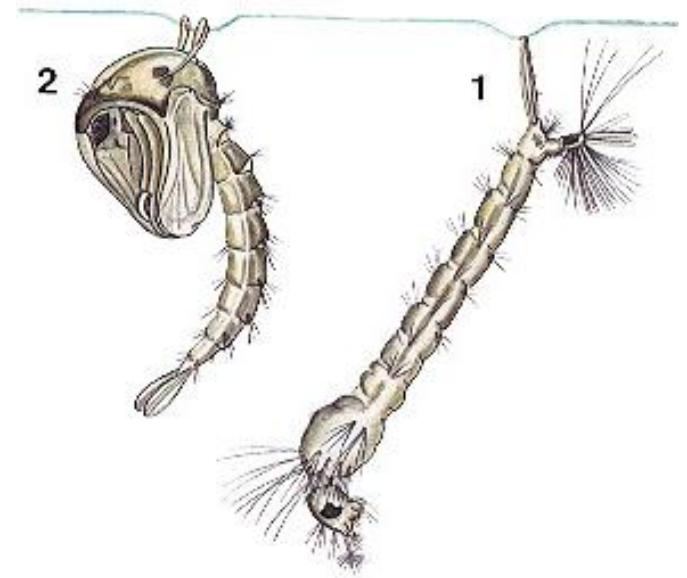
Culex quinquefasciatus

OVOS

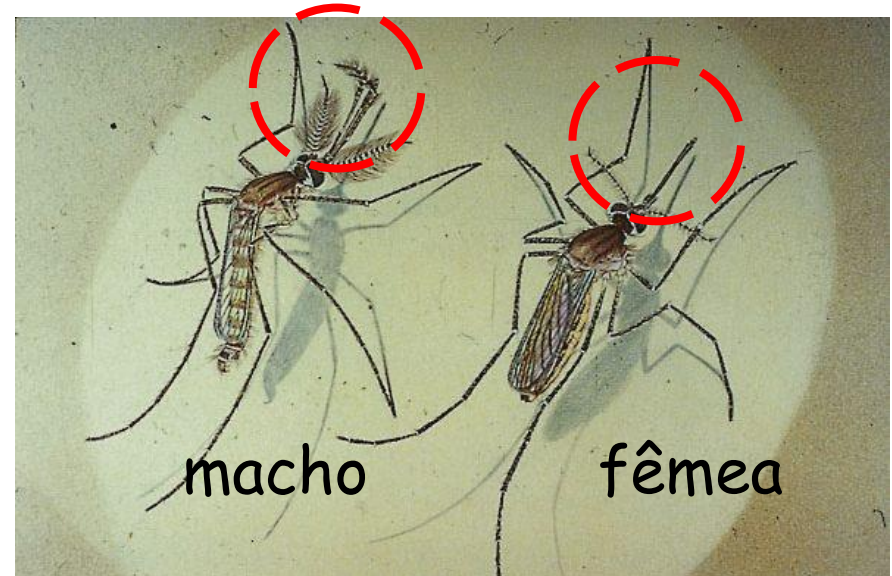
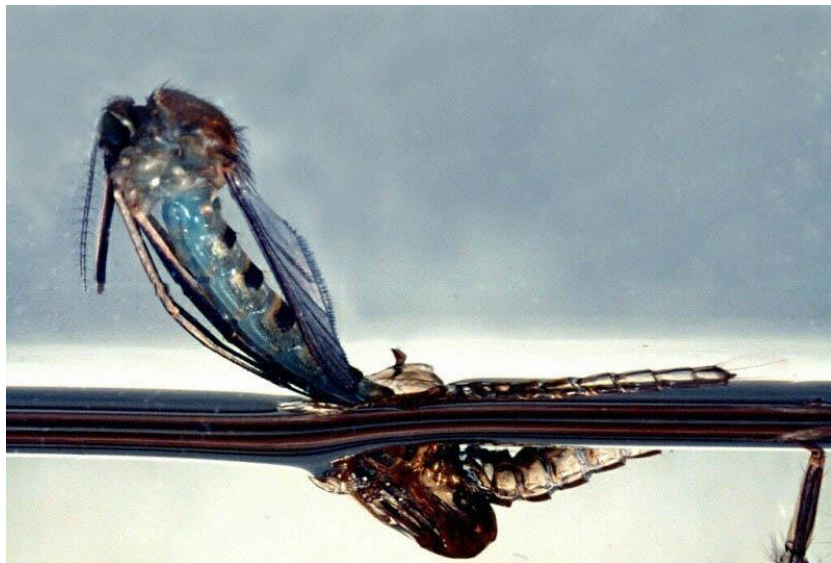


pupa

larva



adultos



Culex- ciclo de vida (aproximadamente 11 dias)



MPEG

Vetores e contaminação:

Poucas larvas/mosquito, poucos mosquitos parasitados
= Contaminação depende do número de picadas

Parasitismo sem produção de microfilárias: infecção
unissexual ou falta de acasalamentos
(isolamento espacial)

Periodicidade:

Semelhante entre parasitas e seus vetores:
noturna para *W.bancrofti* (e *Culex*)

Seleção adaptativa do parasita ao hábito do vetor

Qual o mecanismo por trás da periodicidade?

1. Geração intermitente de microfilárias?

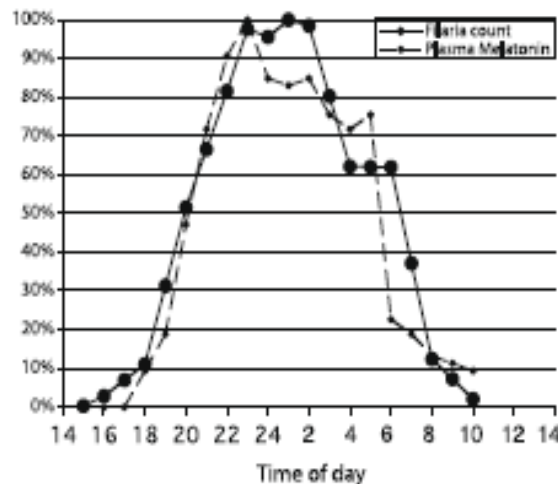
Não, periodicidade mesmo sem vermes adultos

2. Geração contínua mas chegada à corrente em condições específicas de O_2/CO_2 ou temperatura no sono?

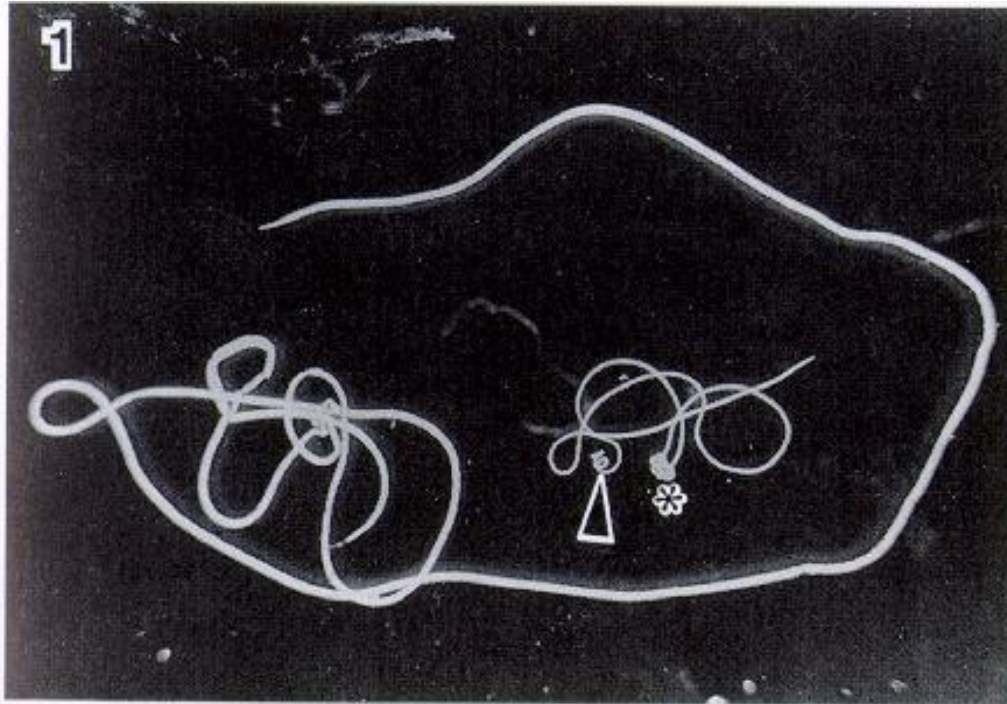
Não, microfilaremia começa antes de dormir e termina antes de acordar

3. Hormônios?

Host melatonin secretion is a timing signal for the release of *W. bancrofti* microfilaria into the circulation



Adultos de *W. bancrofti* em humanos: vasos e gânglios linfáticos



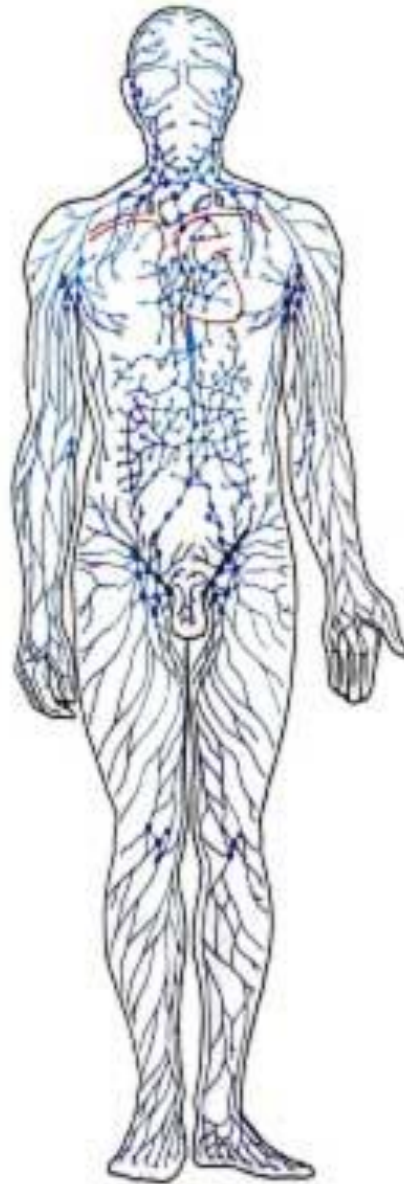
Macho e fêmea adultos removidos
de um vaso/gânglio linfático

♀ 4-10cm, ♂ 2-4cm
Vivem 5-10 anos
Fertilidade? (*D. immitis*: 10mil-3mi/fêmea)

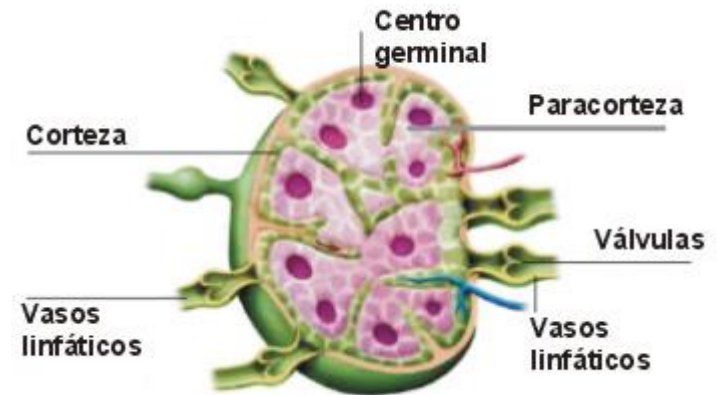


Secção de adultos parasitas num
vaso linfático

Vermes por "novelo" ~20
(fêmeas: machos 5:1)
Reação inflamatória, obstrução



gânglio
linfático/linfonodo



Patologia

Larvas de 3º estadio (L3) são silenciosas

Larvas de 4º estadio (L4) e adultos jovens geram inflamações locais

Manifestações patológicas: vermes adultos nos linfonodos/ vasos linfáticos

Patologia

Número baixo de parasitos no vetor

Infecção/ patologia depende do número de picadas

No máximo 1/3 dos infectados com sintomas

Sintomatologia

2/3 assintomáticos

Linfangiectasia (aumento nos vasos linfáticos)
subclínica, por obstrução + toxinas dos vermes

Período agudo- fenômenos inflamatórios

Linfadenites- inflamação de linfonodos

Linfangites- inflamação de vasos linfáticos

Febre, dor de cabeça

Período crônico- 10 a 15 % dos casos

Obstruções e edemas

Patologia

Morte de vermes adultos= inflamação

-Lesões genitais:

- testículos (hidrocele)
- túnica vaginal (quilocele)

-Obstruções: edemas, ascites- quilúria (linfa na urina)

-Inflamação, fibrose, edema e infecção bacteriana

2^{ária} (*Streptococcus*) : elefantíase

Principais órgãos: pernas, escroto, mamas

Três pacientes com elefantíase (gordura e linfa em matriz fibrosa- 10 anos)



Mulher de 33 anos
(Kyushu, Japão)



Mulher de 43 anos
(Kyushu, Japão) perna
esquerda começou a
inchar com 20 anos



Mulher Africana
(Monrovia, Liberia)

Casos de elefantíase de Kagoshima (Kyushu, Japão)



Homem de 40 anos com hidrocele



Homem de 44 anos com elefantíase penescrotal. A lesão pesava 18,5 kg. Dos 14 aos 30 anos tinha febre uma ou duas vezes por semana. A partir dos 17 anos o foco começou a inchar



Resposta Imune

Linfócitos reagem pouco a antígenos do parasita

Céls de Langerhans e outras DCs ativam pouco LTs

Altos níveis de anticorpos (IgE) OU

Baixos níveis de anticorpos (em indivíduo com microfilaremia)

Pneumopatia eosinófila tropical- 1% dos casos (Ásia):

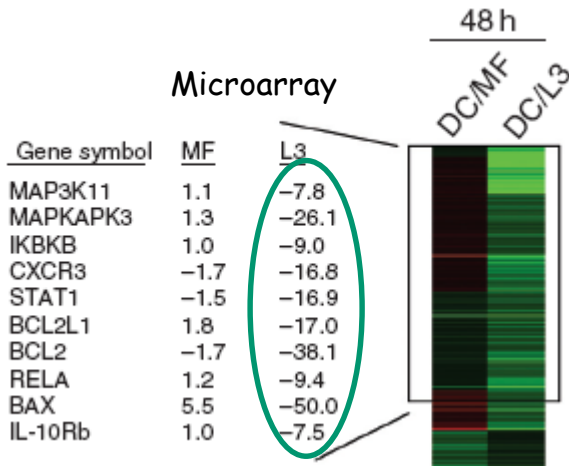
hiperreatividade a antígenos parasitários, muitos anticorpos,
eosinófilos e linfócitos- infiltrado pulmonar, asma e
deficiências respiratórias

Evasão do sistema imune

Infecções longas, 5-10 anos

- Moléculas regulatórias/moduladoras
- Indução de supressão em células do hospedeiro

O contato de DCs com larvas L3 ou MF por 48h altera expressão gênica



L3 causa redução da expressão de genes envolvidos em sinalização (MAP3K11, MAPKAPK3, IKBKB e STAT1) e apoptose (BCL2L1, BCL2, RELA e BAX)

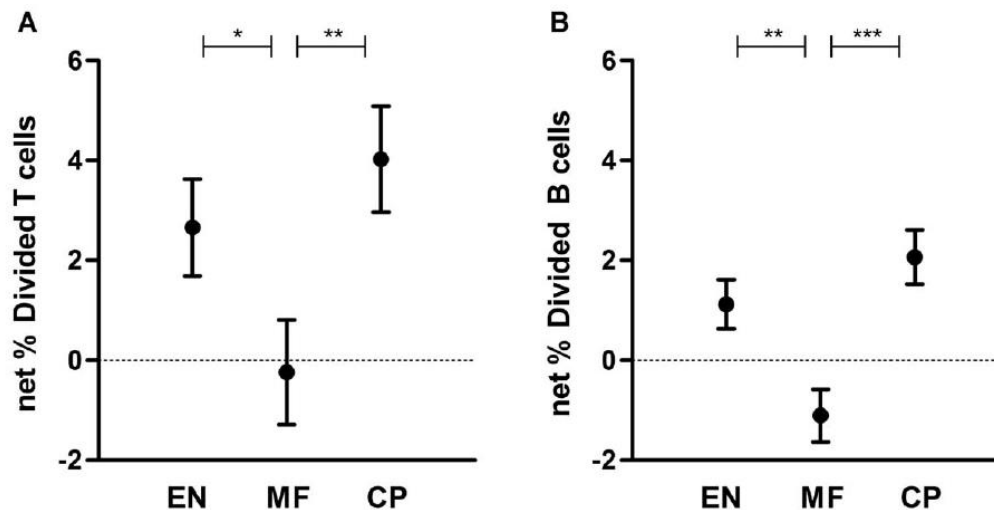
MF vivas induzem morte de DCs por apoptose.

As DCs que permanecem vivas estão funcionalmente prejudicadas: sua exposição a MFs suprime a produção de IL-12 e IL-10.

Regulatory T Cells in Human Lymphatic Filariasis: Stronger Functional Activity in Microfilareemics

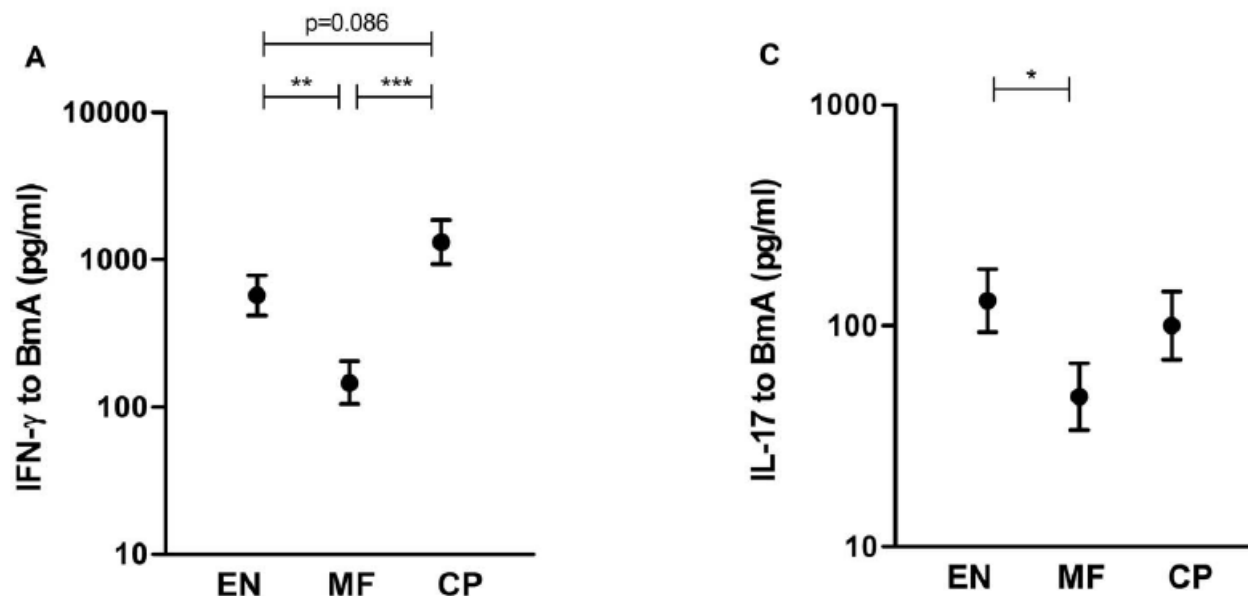
2012

Linda J. Wammes^{1,2*}, Firdaus Hamid^{1,3}, Aprilianto E. Wiria^{1,2}, Heri Wibowo², Erliyani Sartono¹, Rick M. Maizels⁴, Hermelijn H. Smits¹, Taniawati Supali², Maria Yazdanbakhsh^{1*}



Menor proliferação de céls T e B em indivíduos com microfilaremia (MF) de *B. malayi* comparados com crônicos (CP) e não infectados (EN)

Menor produção de citocinas em indivíduos com microfilaremia (MF) comparados com crônicos (CP) e não infectados (EN)



Cytokine production by PBMCs from uninfected endemic normals (EN), microfilaremic (MF) and chronic pathology (CP) subjects stimulated with BmA for 4 days



Filarial Lymphedema Patients Are Characterized by Exhausted CD4⁺ T Cells

Sacha Horn^{1†}, Manuel Ritter^{2*†}, Kathrin Arndts², Dennis Borrero-Wolff², Anna Wiszniewsky², Linda Batsa Debrah^{3,4,5}, Alexander Y. Debrah^{3,5,6}, Jubin Osei-Mensah^{3,5}, Mkunde Chachage^{1,7,8}, Achim Hoerauf^{2,9,10}, Inge Kroidl^{1,11‡} and Laura E. Layland^{2,10‡}

OPEN ACCESS

LE patients harbor distinct subsets of exhausted T cells. T cell exhaustion in LE patients need attention especially due to susceptibility of concomitant infections.

Filarial Genome Project- WHO 2002

100 milhões de pares de bases, 15.000-20.000 genes

Table 1 Gene and protein sequences from filarial nematodes in public databases (as of 8 January 2001)

	Nucleotide sequences	Protein sequences	Protein structures	ESTs
Human pathogens				
<i>Brugia malayi</i>	517	153	3	22392
<i>Onchocerca volvulus</i>	581	256	0	13806
<i>Wuchereria bancrofti</i>	35	30	0	131
Animal models				
<i>Acanthocheilonema viteae</i> (jird)	18	23	0	0
<i>Brugia pahangi</i> (jird/cat)	57	79	0	28
<i>Dirofilaria immitis</i> (dog)	61	64	0	0
<i>Litomosoides sigmodontis</i> (mouse)	14	15	0	198
<i>Onchocerca ochengi</i> (cow)	6	5	0	60
Other human parasites				
<i>Brugia timori</i>	1	0	0	0
<i>Loa loa</i>	8	5	0	0
<i>Mansonella perstans</i>	1	0	0	0
Total	1329	641	3	36615
(including additional minor datasets)				

Genoma do parasita tem genes para:
 Macrophage migration inhibitory factor (MIF)
 TGF- β homologues

Diagnóstico de filariose linfática

- * Microfilárias no sangue:

Gota espessa (20-60µl) da polpa digital, filtração de 1-5ml de sangue em membrana (Giemsa), centrifugação (técnica de Knott)

- Das 22h as 4h ou

- Provocar parasitemia diurna com DEC, coleta após 20-60min

- * Detecção de anticorpos (ELISA) ou imunocromatografia com acs

- * Quadro clínico (dor inguinal ou na perna, febre) e epidemiologia

- * Biópsia de linfonodo (vermes)

- * Ultra-som de linfonodo/ vasos linfáticos- "dança das filárias"

- * PCR- sangue, líquido escrotal, linfonodo

Tratamento Filariose Linfática

DEC (dietilcarbamazina)- 40 anos, mais usada. Oral, 12 dias
Ação depende do sistema imune (não funciona *in vitro*). Altera metabolismo do ácido aracdônico na microfilária e no endotélio, levando a vasoconstrição e adesão, imobilizando o parasito circulante, destruição por plaquetas e granulócitos.
Microfilaricida (90%), efeito menor (40-50%) sobre vermes adultos, alguns efeitos colaterais.

DEC+ Ivermectina, DEC+ albendazol - microfilaricida. 1 dose
Ivermectina (agonista de GABA e ação em canal)- microfilaricida

Antibióticos (tetraciclina) x bactéria simbiote *Wolbachia*
Antibióticos x infecção secundária (*Streptococcus*)

Casos complicados: Drenagem e cirurgia

Controle da Filariose Linfática

Potencialmente erradicável (sem reservatórios animais)

Tratamento dos doentes

Controle de vetores

- inseticidas para mosquitos e larvas
- controle biológico de larvas (peixes larvófagos, *Bacillus*)
- telagem das coleções de água
- drenagem de águas pluviais e esgotos
- telas domésticas e mosquiteiros (com piretróides)

Medida de maior impacto: tratamento de doentes

2000: World Health Organization (WHO) - Programa Global para Eliminação da Filariose até 2020

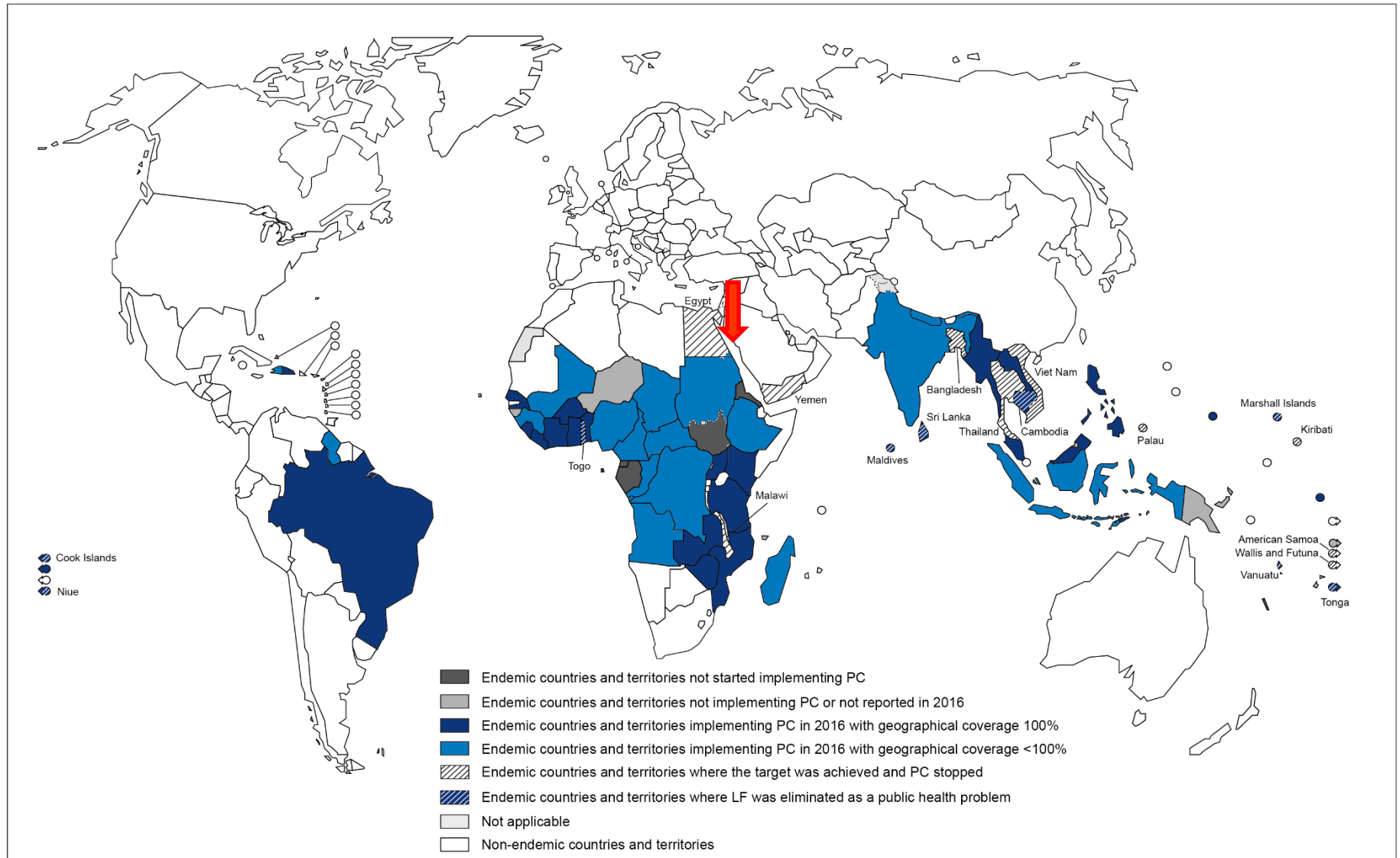
Metas: (i) Reduzir prevalência até impedir transmissão
(ii) Manejo da morbidade prevenindo incapacitação

1,1 bilhões de pessoas em países que requerem tratamento preventivo.
África (37%) e sudeste da Ásia (57%) concentram 94% dos indivíduos infectados

Américas, Mediterrâneo e oeste do Pacífico somam 6% dos infectados

GlaxoSmithKline e Merck & Co. Inc. doarão as drogas necessárias

Distribution of lymphatic filariasis and status of preventive chemotherapy (PC) in endemic countries, 2016



More than 5.6 billion treatments delivered worldwide since 2000.
 In 2014, 62 of 73 endemic countries had implemented Mass Drug Administration (MDA).
 18 of them have interrupted transmission and have stopped MDA.

12 March 2018 | Cairo | Geneva

Egypt becomes the first country in the Eastern Mediterranean Region of the World Health Organization (WHO) to eliminate lymphatic filariasis (LF) as a public health problem.

		Country	Year	Population requiring PC for LF	Mapping status	Type of MDA	Number of IUs covered	Geographical coverage	Total population of IUs	Reported number of people treated	Programme (drug) coverage	National coverage
AMR		Brazil	2016	13,902	Completed	DEC alone	1	100.0%	13,902	9,492	68.3%	68.3%

Intervalo?

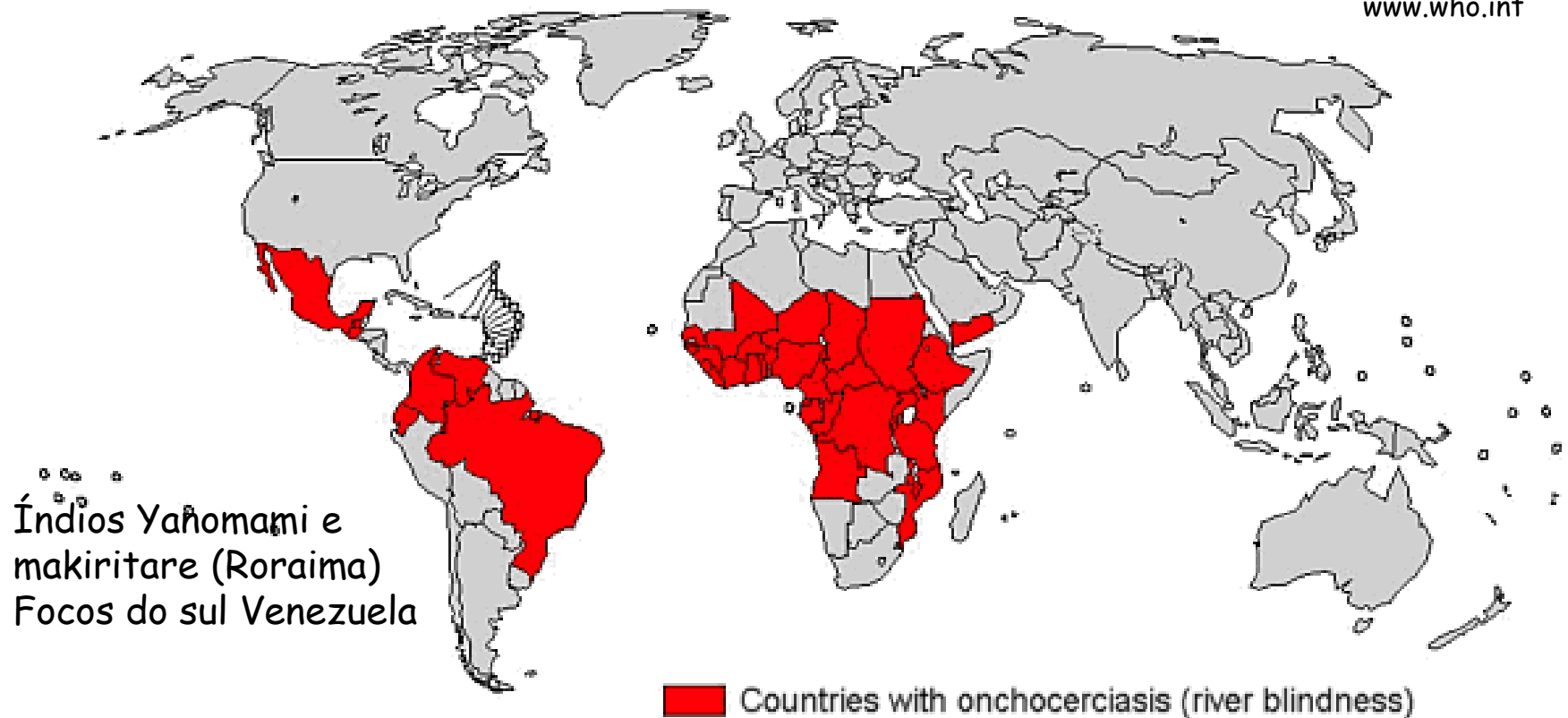
Oncocercose/Oncocercíase

Cegueira dos rios ("river blindness")

- Agente etiológico: *Onchocerca volvulus*
- Endêmica em 37 países da África Ocidental e Central, México, América Central e do Sul, Iêmen
- 15-37 milhões de indivíduos infectados
- 217.000 indivíduos com cegueira

Distribuição da oncocercose

www.who.int

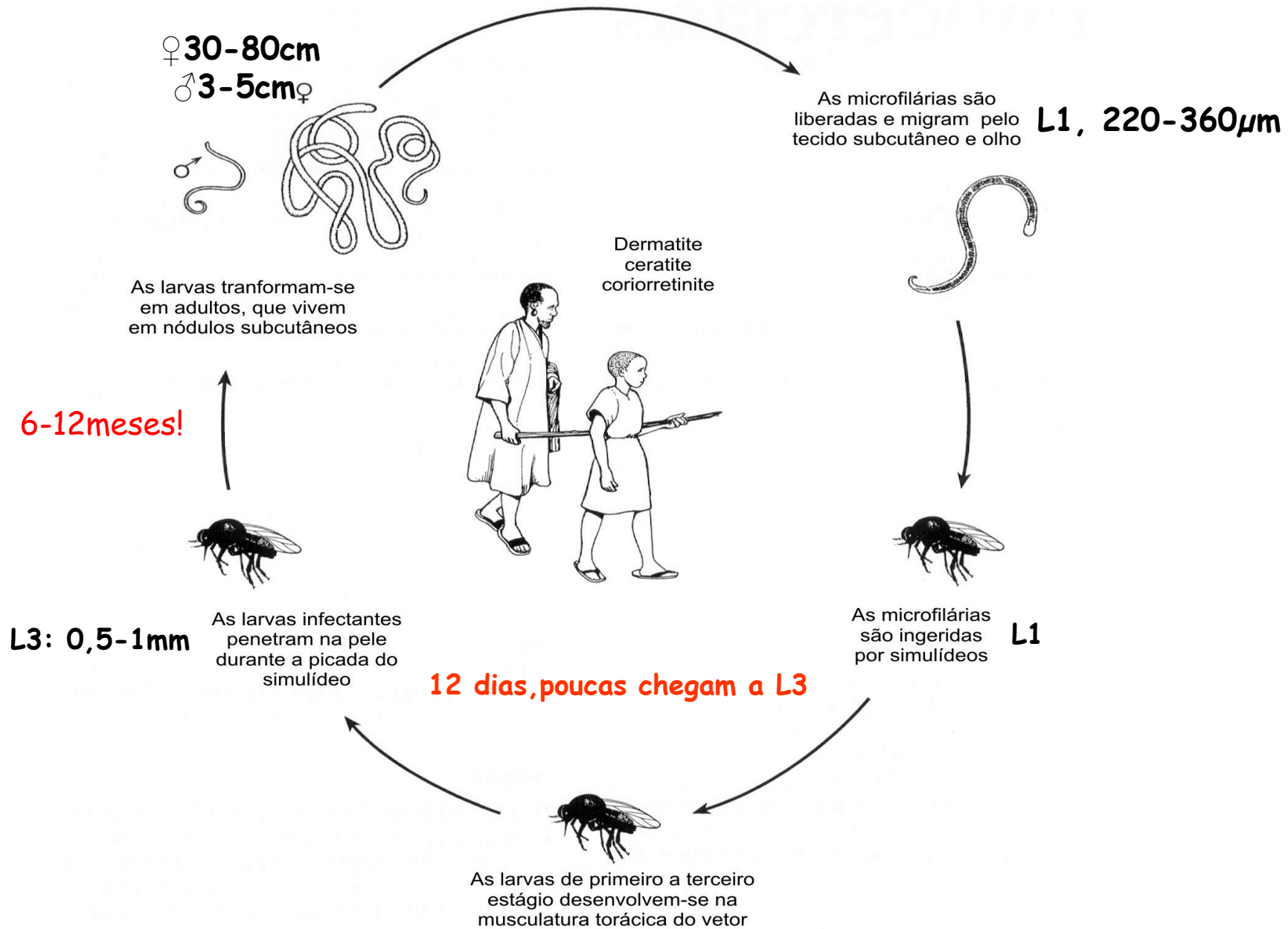


100.000 casos nas Américas, 5000 no Brasil

Onchocerca volvulus

- homem é único hospedeiro definitivo
- vermes adultos habitam nódulos subcutâneos encapsulados (**oncocercomas**) por 9-14 anos
Nódulo: 2 a 50 fêmeas, 1-10 machos
- fêmeas adultas: 1600 microfíliarias/dia
- microfíliarias vivem de 3-5 anos nos nódulos subcutâneos, eventualmente vasos (dia e noite),
migração: pele e olho

Ciclo vital de *Onchocerca volvulus*





Família Simuliidae
Simulídeos ou **borrachudos**

Fêmeas 2-4mm
escuras
coceira

Vetores no norte do Brasil

- *Simulium guianense*
- *Simulium incrustatum*
- *Simulium oyapockense*
- *Simulium roraimense*



Ovos em águas rápidas, aderidos a pedras

Principais manifestações clínicas da oncocercose

oculares



"Cegueira dos rios"

cutâneas



"Pele de leopardo"

Reação inflamatória às microfilárias (geralmente as mortas)

Alterações cutâneas

Hiperqueratose e despigmentação= pele de leopardo

Dermatite oncocercosa= prurido

Forma grave *Sowda*= *liquenificação* (espessamento)

Fáceis oncocercótica/ oncocercóide

Diferenças regionais= diferentes cepas do parasita

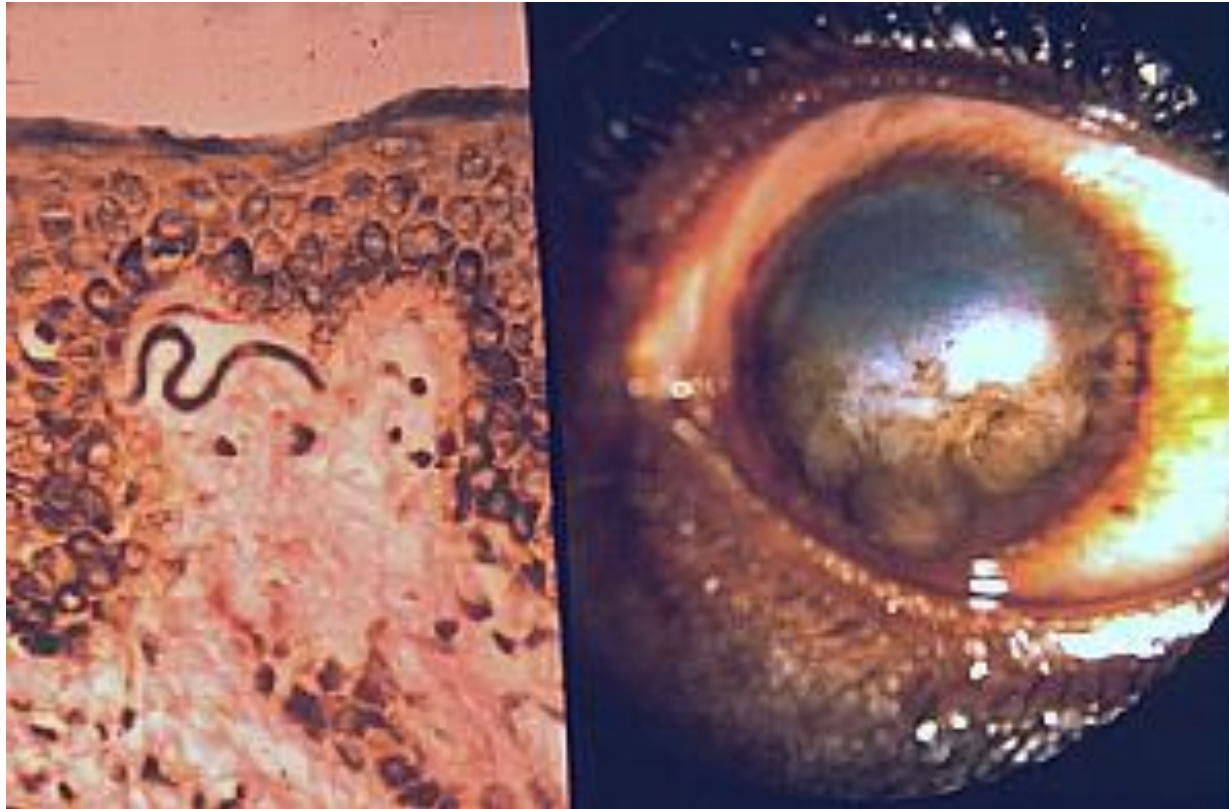
Fáceis oncocercóide



Sowda



Problemas visuais

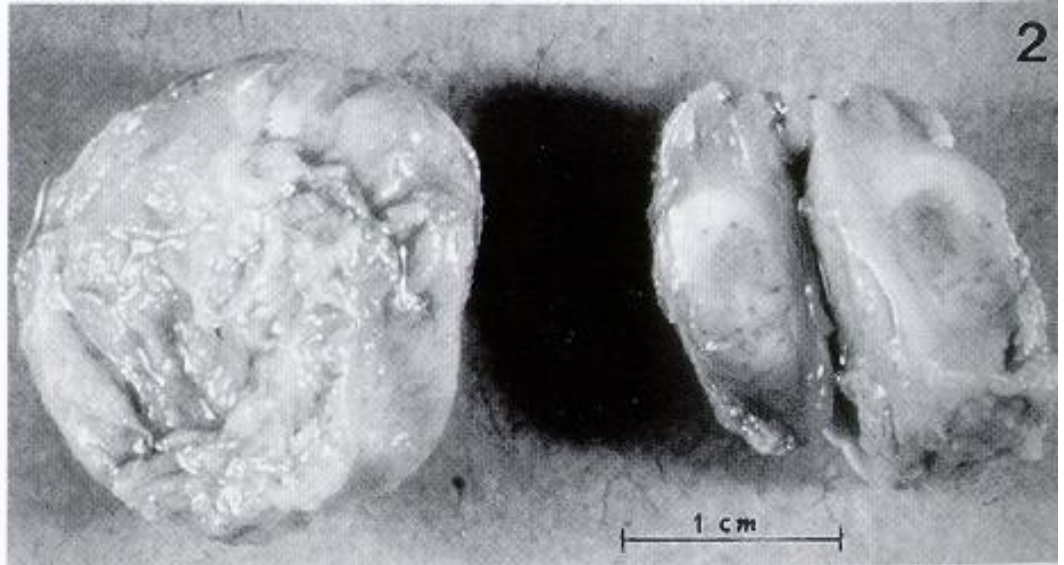


Lesões oculares: 30% dos parasitados nas Américas,
85% nas savanas da África (cepas diferentes-bioquímica)

Oncocercomas-Adultos de *O. volvulus*



Na cabeça de um menino guatemalteco



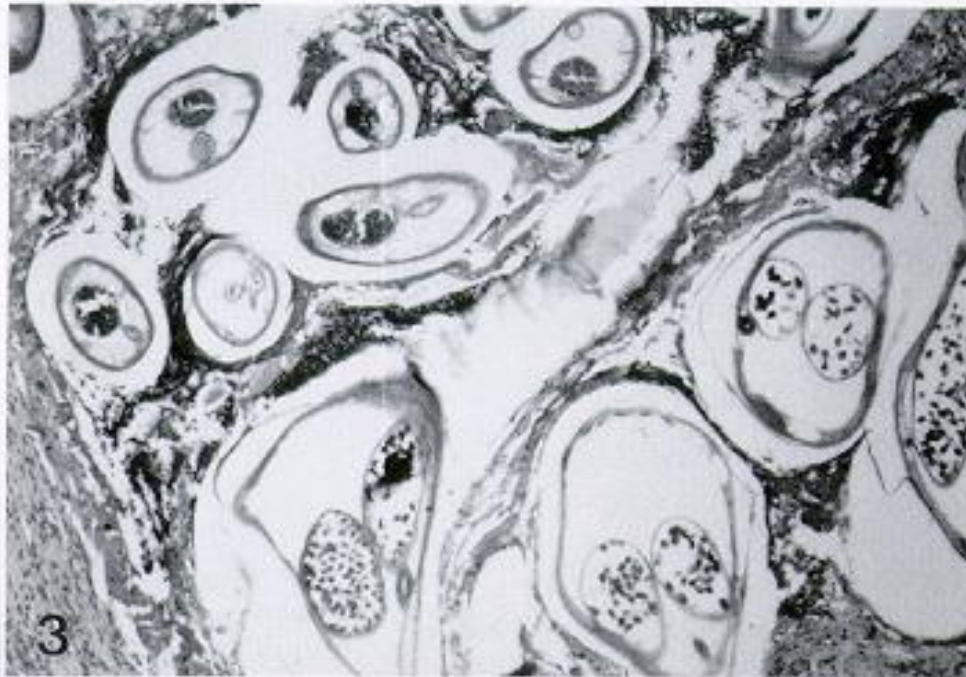
Nódulos removidos

Nódulos subcutâneos: 5-30cm de diâmetro
África: tronco, coxas, braços (2/3 abaixo cintura)
Américas: cabeça e ombros
Diferenças nos locais de picada dos vetores



Região Amazônica do Brasil - índios Yanomamis

Adultos de *O. volvulus*

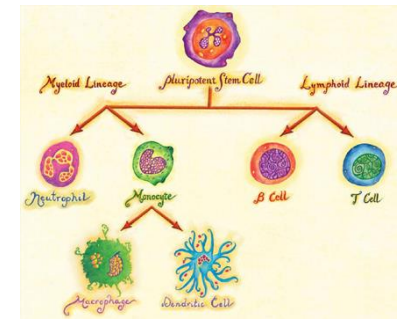


Corte de um oncocercoma mostrando secções de vermes adultos



Adultos removidos de um oncocercoma

Resposta Imune



Linfócitos não reagem a antígenos do parasita em pacientes com microfilarodermia (RID fraca)

Alta resposta de anticorpos

Indivíduos sem microfilarodermia: forte resposta celular, baixa de anticorpos

Fase aguda?

Fase crônica: altos IgG, IgM, IgE- proliferação policlonal

IgE: reação inflamatória aguda

Soro favorece aderência de granulócitos a microfilárias e sua morte (reações inflamatórias locais)

Diagnóstico da Oncocercose

Clínico: nódulos, dermatite, prurido, distúrbios visuais

Parasitológico:

- Microfilárias em biópsia de pele, meio a 37°C por pelo menos 24h- **o melhor**
- Exame oftalmológico (lâmpada de fenda)
- Histopatologia de nódulos
- Ultrassom do oncocercoma ($\neq$ tumor)

Moleculares: PCR de biópsia

Imunoensaios

Teste de Mazzotti: DEC e manifestações cutâneas (24h)
pela morte de microfilárias- **perigoso, descontinuado**

Creme com DEC: reação local

Tratamento da Oncocercose



Ivermectina (GABA e canal)- dose única, repetir a cada 6-12 meses

Microfilaricida, não tóxica

Suramina- Inibe a glicerol-3-fosfato desidrogenase

Tóxica (hospitalização), 6-7 semanas

Destrói MF e vermes adultos

Nodulectomia

Controle da Oncocercose

Potencialmente erradicável- sem reservatórios

Controle de vetores- inseticida e *Bacillus*

OCP (OMS) na África:

desde 1974: 7 inseticidas + *Bacillus*

1995: 9mi doses de ivermectina

Filariasis: new drugs and new opportunities for lymphatic filariasis and onchocerciasis

Current Opinion in Infectious Diseases 2008,

Achim Hoerauf

Filárias (exceto *Loa loa*): simbiose com *Wolbachia*

Wolbachia afeta fertilidade fêmea filária, muda da larva, sobrevida vermes sensível a Tetraciclina (doxiciclina)

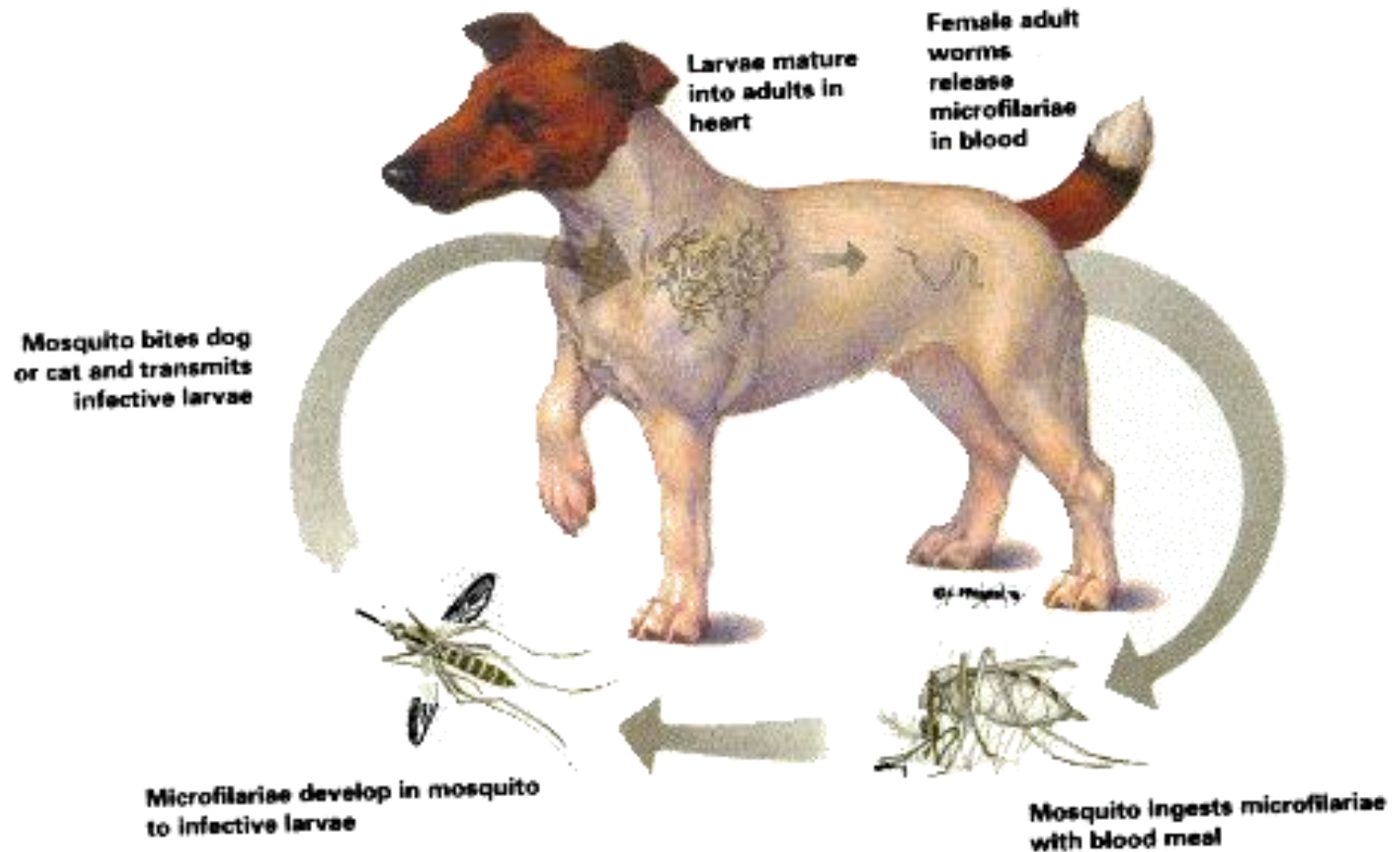


Table 1 Overview of studies using doxycycline to treat human onchocerciasis and lymphatic filariasis

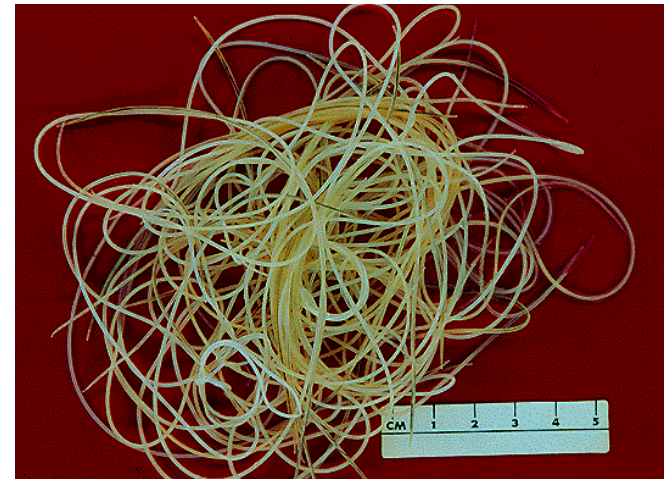
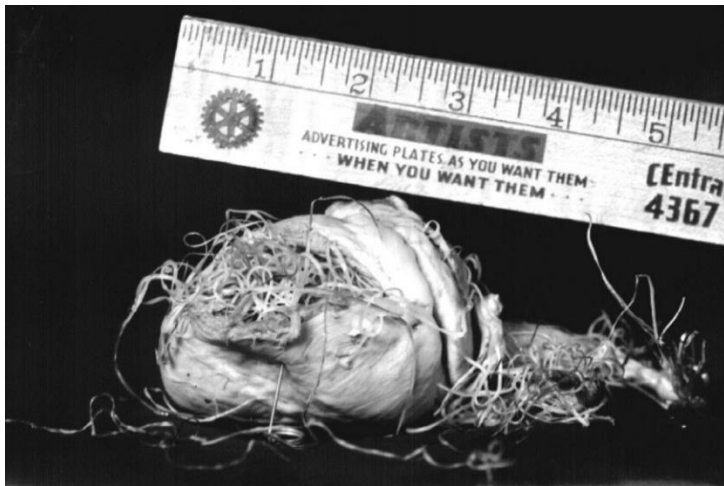
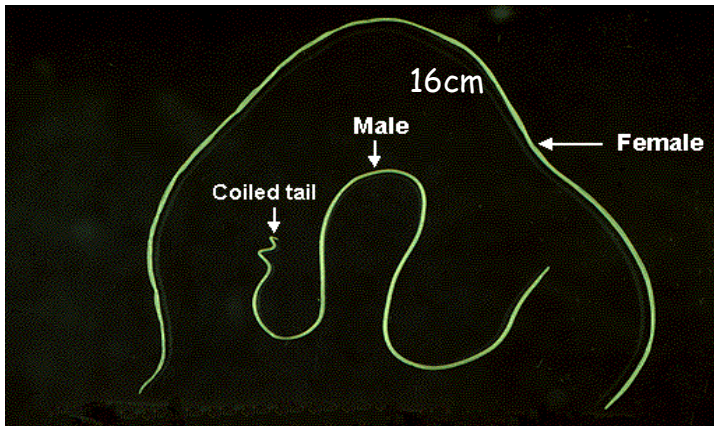
Infection	Regimen ^a	Macrofilaricidal effect (%)	Female worm sterility	Amelioration of disease
Onchocerciasis	100 mg doxycycline, 6 weeks	NT	+	+ ^b
	200 mg doxycycline, 4 weeks	51 ^c	+	+
	200 mg doxycycline, 6 weeks	62 ^c	+	+
	100 mg doxycycline, 5 weeks ^d	49 ^c	+	+
Lymphatic filariasis (bancroftian filariasis)	200 mg doxycycline, 8 weeks ^d	78 ^e	+	NT
	200 mg doxycycline, 6 weeks	92 ^f	+	+
	200 mg doxycycline, 4 weeks	83 ^g	+	NT
	200 mg doxycycline, 3 weeks	15 ^h	+	NT
Lymphatic filariasis (brugian filariasis)	100 mg doxycycline, 6 weeks	NT	+	NT

Dirofilaria immitis

Parasita cosmopolita de cães, gatos e canídeos/felídeos silvestres

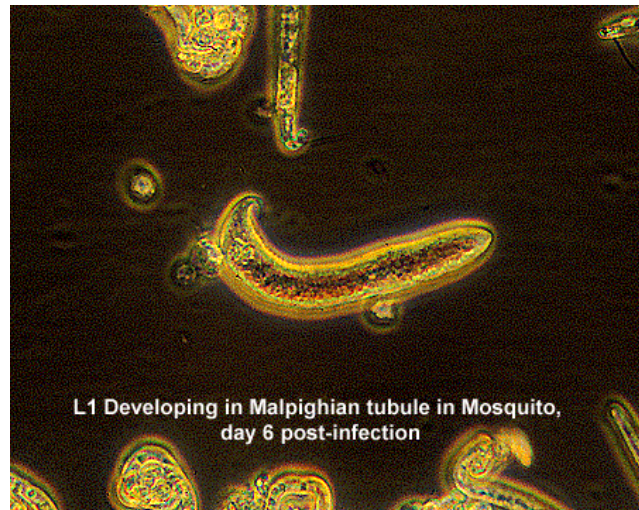


Vermes: ventrículo direito e artéria pulmonar



Microfilárias no sangue dia e noite (> noite)

Mais de 60 espécies de mosquitos são vetores:
Aedes, *Culex*, *Mansonia*, *Anopheles*



Doença

Parasita ocasional em humanos.

Doenças benignas, formação de granulomas

Dirofilaríase pulmonar

$\frac{1}{2}$ assintomática

$\frac{1}{2}$ dor torácica, febre, mal-estar

Geralmente 1 verme, nódulo inflamatório

Dirofilaríase cutânea

localização variável dos nódulos, inclusive ocular



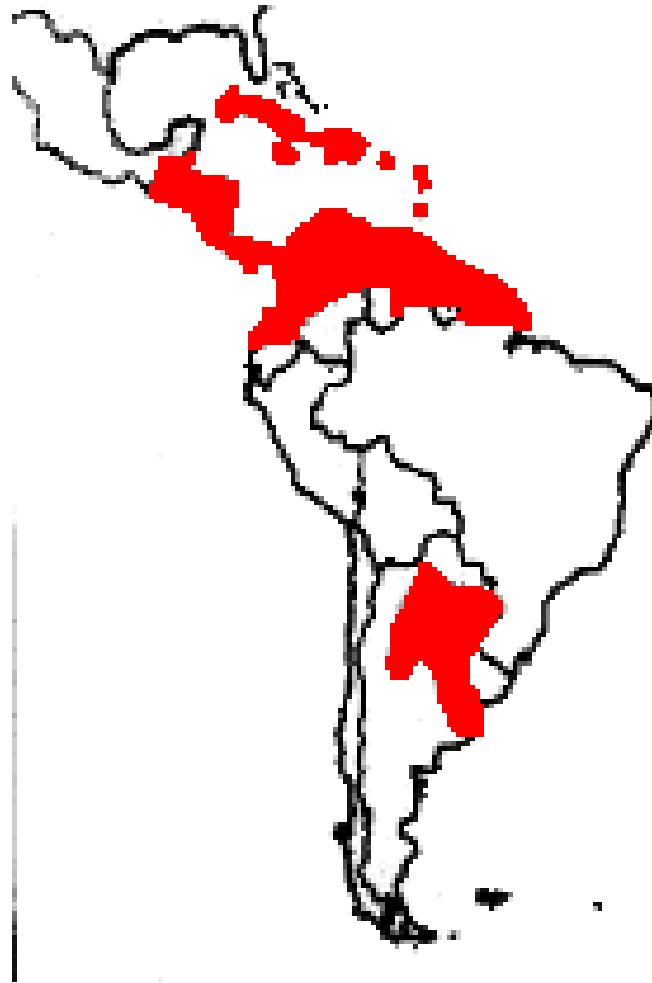
Radiografia de tórax: Lesão pulmonar em forma de moeda em homem adulto.

Diagnóstico: microfilárias no sangue (nem sempre), imagem

Tratamento: nenhum ou Ivermectina

Controle: vetor, cães

Mansonella ozzardi



Novo Mundo- América do Sul e Central e Antilhas

Mansonella ozzardi

Confusão de diagnóstico com *W.bancrofti*

Fêmea: 6-8cm, Macho ?

No mesentério e tecido conjuntivo peritoneal, tecido adiposo das vísceras

Microfilárias no sangue, sem periodicidade

Vetores de *Mansonella*: *Culicoides*, *Simulium*

Não patogênico? Patogênico?

Dor articular, frieza nas pernas, adenite inguinal, placas, cefaléia

Diagnóstico e tratamento ~filaríase linfática

Controle de mosquitos

Inseticidas

Organoclorados: DDT, o hexaclorociclohexano (HCH ou BHC), o dieldrin.

Organofosforados: malation, fenitrothion, diclorvos e outros.

Carbamatos: carbaril, propoxur.

Piretróides: deltametrina, permetrina, cipermetrina, ciflutrina e lambda-cialotrina.

Uso racional de inseticidas para evitar o desenvolvimento de resistência

Utilização rotativa: mudança de droga

Áreas vizinhas tratadas com inseticidas diferentes

Associação com outros procedimentos de controle

Emprego de meios físicos como a telagem das casas e o uso de mosquiteiros e cortinas (impregnados com inseticidas)



Roupas: evitar exposição da pele ao mosquito

Repelentes



Associação com outros procedimentos de controle

Hormônios juvenis (methoprene) e inibidores da formação de quitina (TH.6040)

Feromônios a fim de atrair os machos para as armadilhas ou para perturbar a reprodução: produtos vegetais com vários tipos de ação

Liberação de machos estéreis em áreas endêmicas

Controle biológico: *Bacillus thuringiensis* e *B. sphaericus*, produtores de uma endotoxina que mata as larvas que os ingerirem



Êxito no controle das larvas dos simulídeos, de *Aedes*, de *Anopheles* e de *Culex*

Peixes predadores de larvas como *Gambusia affinis* e outros

