

Aula 2

PROTOZOÁRIOS - FILO SARCOMASTIGOPHORA

META

Conhecer os principais protozoários parasitos capazes de ocasionar doenças no homem, sua forma de transmissão e profilaxia.

OBJETIVOS

Ao final desta aula, o aluno deverá:
Familiarizar o aluno com conceitos atuais sobre os protozoários que parasitam o homem, sob o ponto de vista teórico e prático. Orientar o aluno para conhecer o ciclo biológico, patogenia, controle e profilaxia dos protozoários pertencentes ao filo *Sarcomastigophora*, como forma de compreender os mecanismos de transmissão e epidemiologia das doenças ocasionadas por esses protozoários.

Silvio Santana Dolabella
Luciene Barbosa

INTRODUÇÃO

Os protozoários são organismos eucariontes unicelulares de grande importância biológica e parasitológica. Atualmente são encontradas 60.000 espécies de protozoários, com aproximadamente 100 espécies parasitando o homem. A classificação dos protozoários parasitos tem sofrido várias modificações nas últimas décadas, todas baseadas nos avanços das pesquisas bioquímicas, moleculares e estruturais desses organismos. Como ainda não há um consenso entre as diferentes classificações propostas, o correto seria utilizar a classificação proposta por Levine em 1980, mais aceita entre os especialistas. Desta forma, os protozoários parasitos são encontrados dentro do reino Protista, constituído por sete filos, dos quais dois têm importância na parasitologia humana: filo *Sarcomastigophora* e filo *Apicomplexa*.

A estrutura básica de todo protozoário é constituída por membrana, citoplasma e núcleo. Os protozoários parasitos podem se apresentar sob diversas formas, dependendo da fase biológica em que se encontram. As formas usualmente encontradas são: trofozoítos - forma ativa do protozoário, a qual se alimenta, se reproduz e se locomove; cisto e oocisto - formas de resistência ao meio externo; gametas - forma encontrada no início da reprodução sexuada, sendo o gameta masculino denominado de microgameta e o feminino de macrogameta.

Esses organismos apresentam organelas que exercem funções vitais e podem estar relacionadas à locomoção. Assim temos:

1. *pseudópodes*: organela temporária representada pelo prolongamento externo do citoplasma. Exemplo: *Entamoeba histolytica*;
2. flagelos: estrutura fina que se exterioriza em pontos definidos para cada espécie ou fase biológica. Exemplo: *Trypanosoma cruzi*, *Leishmania sp*;
3. cílios: estrutura muito fina cuja composição funcional e morfológica é muito semelhante a constituição do flagelo. Exemplo: *Balantidium coli*.

Os protozoários podem se reproduzir por dois processos básicos: assexuado e sexuado. Quanto à respiração, podem ser aeróbicos (quando vivem em meio rico em oxigênio) ou anaeróbicos (quando vivem em ambientes pobres em oxigênio, como os parasitos intestinais).

FILO SARCOMASTIGOPHORA

Os protozoários encontrados nesse filo são caracterizados principalmente por possuírem núcleo simples, presença de flagelos, *pseudópodos* ou ambos. Apresenta dois subfilos.

O subfilo *Mastigophora* é caracterizado pela presença de um ou mais flagelos, apresentando uma classe de interesse na parasitologia humana denominada *Zoomastigophorea*. Esses protozoários são heterotróficos, não possuem cloroplastos e se reproduzem assexuadamente, sendo divididos em três ordens: *Kinetoplastida*, *Diplomonadida* e *Trichomonadida*. A ordem *Kinetoplastida* apresenta flagelos livres que emergem de uma bolsa flagelar,

possuindo ainda uma organela rica em DNA, o cinetoplasto, e são representados por parasitos de grande importância médica dos gêneros *Trypanosoma* e *Leishmania*. A ordem Diplomonadida é representada pelo gênero *Giardia*, com simetria bilateral, presença de um a quatro flagelos e cistos. A última ordem de importância parasitológica é a *Trichomonadida*, caracterizada pela presença do corpo parabasal e de quatro a seis flagelos, sendo que um deles forma uma membrana ondulante, representada pelo parasito do gênero *Trichomonas*.

O subfilo Sarcodina é caracterizado, principalmente, pela presença de *pseudópodos*, às vezes flagelos. Apresenta uma classe de interesse na parasitologia humana, denominada Lobosea, na qual os protozoários possuem locomoção amebóide com pseudópodos lobosos ou filiformes e são morfologicamente variáveis. Estes podem ser encontrados dentro das ordens: *Amoebida*, caracterizada por apresentar apenas um núcleo, sem flagelo em nenhum estágio, sendo representada principalmente pelo gênero *Entamoeba* e por amebas de vida livre do gênero *Acanthamoeba*; e a ordem *Schizopyrenida*, que tem o corpo cilíndrico, apresentando em seu ciclo uma fase flagelada, sendo representada, principalmente, por amebas de vida livre do gênero *Naegleria*.

TRYPANOSOMA CRUZI - DOENÇA DE CHAGAS

O homem, em sua busca constante pelo conforto, vem alterando significativamente o meio ambiente, fazendo contato com ciclos parasitários já estabelecidos entre animais silvestres e agentes zoonóticos, muitas vezes capazes de infectar o homem e causar doenças; como exemplo, podemos citar a doença de Chagas, ocasionada pelo protozoário *Trypanosoma cruzi*. Este protozoário e a doença foram descobertos e descritos por Carlos Ribeiro Justiniano Chagas, na cidade de *Lassance*, Minas Gerais, sendo que o primeiro caso clínico descrito da doença foi o de uma criança chamada Berenice em 1909, após exames e posterior constatação do protozoário em amostras de sangue coletadas (figura 1).



Figura 1. Carlos Chagas, autor da maior realização da ciência brasileira - a descoberta da doença de Chagas, em 1909.

O *T. cruzi* é o agente etiológico da doença de Chagas ou tripanosomíase americana, uma das mais importantes endemias no Brasil e na América Latina. Este protozoário é flagelado, digenético, pertencente à ordem *Kinetoplastida* e família *Trypanosomatidae*, parasito de mamíferos e que tem como hospedeiros invertebrados hemípteros hematófagos da família *Reduviidae* e subfamília *Triatominae*.

O *T. cruzi* está amplamente distribuído no continente americano, ocorrendo desde o Sul dos Estados Unidos até o Sul da Argentina. Entretanto, a doença de Chagas humana ocorre em áreas urbanas da América Latina e segundo estimativas da OMS, afeta entre 16 a 18 milhões de indivíduos, expondo ao risco de contrair a doença outros 90 milhões. No Brasil, a prevalência é de 5 milhões de pessoas infectadas e a incidência é de 20.000 mil novos casos por ano, sendo que anualmente mais de 50.000 pessoas morrem de doença de Chagas.

A transmissão vetorial do *T. cruzi*, em 80% dos casos relatados, está relacionada às características próprias dos vetores domiciliados e às baixas condições sociais, juntamente com a ação desordenada do homem sobre o meio ambiente. Estudos relatam existir um perfil de propriedades e habitações da população em risco de adquirir doenças de Chagas, que são residências construídas de pau-a-pique, madeira ou barro (figura 2), resultado das baixas condições sócio-econômicas que ainda são comuns em determinadas regiões. No peridomínio são observadas a presença de galinheiros, pocilgas e estábulos cobertos com folhas de babaçu, locais onde os triatomíneos encontram ambientes de fácil adaptação.



Figura 2: Residência típica encontrada nas propriedades rurais, Monte Negro, Rondônia, 2003. (Foto: Massaro et al. 2008.)

A colonização de habitats não naturais pelos triatomíneos permitiu que o *T. cruzi* utilizasse o homem e outros mamíferos domésticos como seu hospedeiro vertebrado, resultando no chamado ciclo doméstico/*peridoméstico*. Várias espécies de triatomíneos já estão adaptadas a habitats artificiais, dos quais se destacam o *Triatoma infestans*, *T. braziliensis*, *T. timidiata*, *T. sordida*, *Panstrongylus megistus* e *Rhodnius prolixus*.

No Brasil, em inquéritos realizados entre 1975-1980, observou-se uma maior prevalência da espécie *T. infestans* em áreas rurais, que vem diminuindo com a implantação de programas de eliminação do vetor. Atualmente Uruguai e Chile e 10 dos 12 estados endêmicos do Brasil são considerados livres da transmissão vetorial da doença. Este controle é demonstrado por indicadores entomológicos e pela redução da prevalência de crianças e adolescentes infectados no período de 1989 a 1997. Estes dados demonstram que a Iniciativa do Cone Sul (1991), coordenada pela Organização Pan-Americana de Saúde (PAHO), em associação com os governos dos países envolvidos, conseguiu implantar campanhas de saúde pública para o controle e a erradicação da transmissão vetorial e transfusional da doença de Chagas no continente sul americano. Essa intervenção resultou na interrupção da transmissão vetorial e transfusional da doença de Chagas no Uruguai, no Chile, na Argentina e em quase todos os estados do Brasil.

Os recentes surtos de doença de Chagas por via oral vêm demonstrando o quão complexo são os ciclos de transmissão desse parasito, evidenciando que as características epidemiológicas dessa parasitose vêm adquirindo um novo perfil. Estudos reforçam a necessidade de se manter a vigilância entomológica em áreas de ocorrência desse vetor incluindo o monitoramento sistemático e periódico de animais silvestres frente à infecção pelo *T. cruzi*, evitando novos casos de aparecimento da doença de Chagas em humanos.

O *T. cruzi* apresenta um ciclo biológico heteróxico (figura 3), sendo o hospedeiro invertebrado representado pelo inseto vetor da subfamília Triatominae, conhecido como barbeiro ou *triatomíneo*. Os hospedeiros vertebrados são representados por vários mamíferos (roedores, canídeos, edentados, marsupiais, ungulados, quirópteros) e primatas (incluindo o homem). No ciclo biológico do *Trypanosoma* são encontradas três formas evolutivas básicas: *tripomastigota*, *epimastigota* e *amastigota*. Os *tripomastigotas* são responsáveis pela infecção, sendo encontrados no sangue circulante e apresentam forma alongada com cinetoplasto posterior ao núcleo, o flagelo forma uma extensa membrana ondulante e torna-se livre na região anterior do parasito. As *epimastigotas* são muito semelhantes aos *tripomastigotas*, mas apresentam *cinetoplasto* junto ao núcleo e membrana ondulante bem pequena, são encontradas parasitando o trato digestivo do inseto. As formas *amastigotas* são arredondadas, com flagelos interiorizados, sendo encontradas no interior das células.

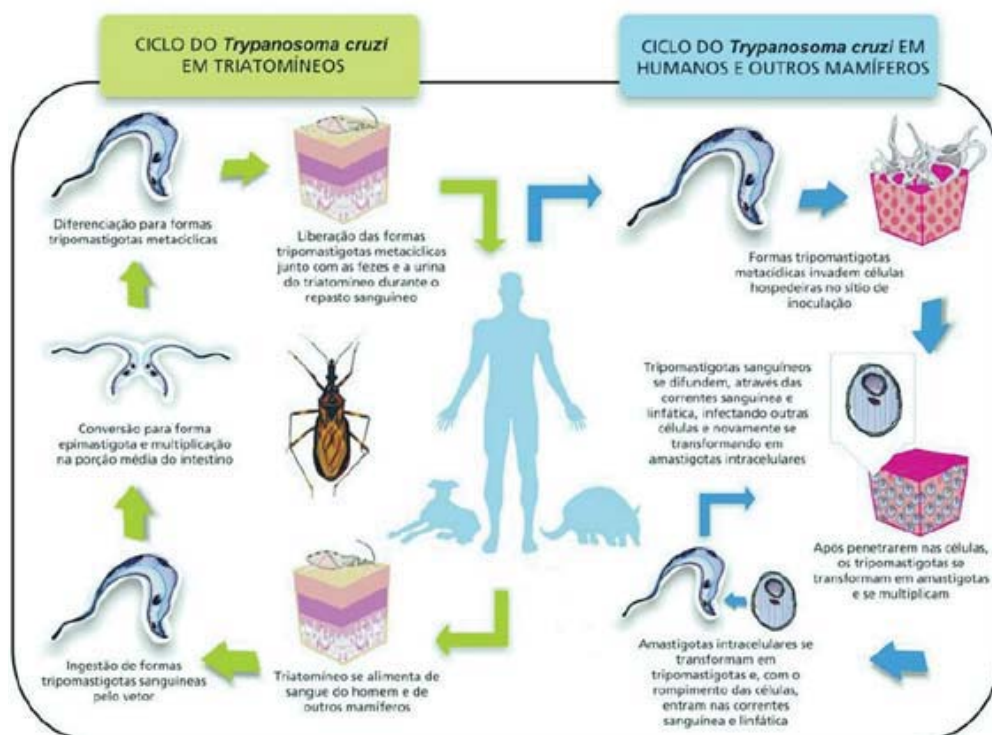


Figura 3. Ciclo de transmissão do *Trypanosoma cruzi*. Infográfico: Venício Ribeiro, ICICT/Fiocruz.

Nos triatomíneos, a infecção ocorre quando o inseto ingere, juntamente com sangue, as formas *tripomastigotas*. No estômago do inseto estas formas se diferenciam em formas arredondadas com flagelo, denominadas *esferomastigotas* e, posteriormente, em *epimastigotas*, que se multiplicam ao longo do trato digestivo, sendo responsáveis pela manutenção da infecção no vetor. Estas formas, no reto do inseto, se diferenciam nas formas infectantes *tripomastigotas metacíclicas*, que são eliminadas juntamente com as fezes e urina do vetor.

A infecção nos hospedeiros vertebrados ocorre quando os *tripomastigotas metacíclicas* penetram pelo local da picada e interagem com células do sistema mononuclear fagocitário da pele ou mucosa, se diferenciando em amastigotas; estas sofrem sucessivas divisões binárias e se transformam em formas *tripomastigotas*, rompem as células parasitadas e caem na circulação sanguínea, atingindo outras células de qualquer tecido ou órgão, podendo recomeçar um novo ciclo celular, ser ingeridas por outros triatomíneos ou destruídas por mecanismos imunológicos.

No momento da ruptura das células hospedeiras, ocorre a liberação de diversos mediadores inflamatórios, formando a primeira resposta básica no hospedeiro parasitado. Logo após a infecção, surge a fase aguda, seguida pela fase crônica da doença, que permanece por toda a vida do indivíduo.

A fase aguda pode ser caracterizada pela presença de sinais denominados de porta de entrada, como o sinal de *Romaña* (edema *bipalpebral*, unilateral e indolor - figura 4) e também lesões degenerativas e inflamatórias focais,

devido à intensa multiplicação do parasito. Exames de sangue a fresco e gota espessa podem comprovar o diagnóstico na fase aguda. Manifestações sistêmicas como febre, mal estar, astenia, edema subcutâneo, *linfadenomegalia*, *esplenomegalia* e *hepatomegalia* são observadas na fase crônica e as alterações cardíacas ou esofagianas podem levar ao óbito. Em alguns casos, a fase aguda pode ainda apresentar-se assintomática.



Figura 4. Sinal de Romaña, apresentado por uma menina procedente de área endêmica no Brasil. Fonte: REY, Parasitologia 2ª Edição.

A evolução da fase aguda para a fase crônica é acompanhada pelo gradativo desaparecimento das manifestações clínicas e diminuição da *parasitemia*. Acredita-se que alterações na fase crônica sejam conseqüências de mecanismos multifatoriais relacionados tanto ao parasito quanto ao hospedeiro vertebrado. Dentre os fatores relacionados ao parasito podemos citar a variabilidade das cepas, o tropismo, a *antigenicidade* e o tamanho do *inóculo* como aspectos relevantes. Quanto ao hospedeiro, é importante ressaltar a faixa etária, o sexo e especialmente as características imunológicas, genéticas e aspectos nutricionais. Nesta fase a utilização de técnicas bem padronizadas como ecocardiograma, radiografia, xenodiagnóstico, hemocultura, eletrocardiograma, testes ergométricos, hemocultura, ELISA e PCR podem auxiliar na comprovação de um diagnóstico com maior precisão.

Outros mecanismos de transmissão como a transfusão sanguínea, a transmissão congênita, acidentes em laboratório, transplante de órgãos e por via oral já foram descritos na literatura.

Os princípios da prevenção da doença de Chagas baseiam-se fundamentalmente em medidas de controle do barbeiro, dificultando e/ou impedindo a sua proliferação nas residências e em seus arredores. As medidas que devem ser tomadas consistem em manter a casa limpa, varrer o chão, limpar atrás dos móveis e quadros, expor ao sol os colchões e cobertores onde costumam se esconder os barbeiros, retirar ninhos de pássaros dos beirais de casa, impedir a permanência de animais e aves dentro da casa, construir galinheiros, paiol, tulha, chiqueiro ou depósito afastados das residências e mantê-los limpos, controle de doadores de sangue, divulgar para os amigos e parentes as medidas preventivas; encaminhar insetos suspeitos de serem barbeiros para o serviço de saúde mais próximo, utilização de inseticidas de ação residual prolongada, com baixa toxicidade para homem e animais domésticos também devem ser empregados visando à eliminação do barbeiro e controle entomológico, incluindo monitoramento periódico de animais silvestres.

O tratamento da doença de Chagas permanece parcialmente ineficaz, sendo as drogas utilizadas pouco eficientes e altamente tóxicas. O chagásico crônico requer tratamento sintomático, clínico e cirúrgico, os medicamentos são pouco eficientes, o uso é prolongado e as reações tóxicas são freqüentes, mas ainda assim seu uso é aconselhado, principalmente em crianças e nos indivíduos que apresentam a forma indeterminada da doença ou formas cardíacas e digestivas leves, pois paralisam sua evolução.



ATIVIDADES

Cite os principais mecanismos de transmissão do *Trypanosoma cruzi* para a população humana. Comente a importância epidemiológica de cada um deles.

LEISHMANIAS E LEISHMANIOSES

Existem cerca de 25 espécies de *Leishmania* parasitando mamíferos, apresentando várias espécies de interesse médico. Estas são responsáveis pelas leishmanioses tegumentar e visceral (calazar).

Todas as leishmanioses apresentam ciclo *heteroxeno*, sendo o hospedeiro invertebrado representado por flebotomíneos, insetos vetores do gênero *Lutzomyia* (figura 5) e os hospedeiros vertebrados representados por vários mamíferos (roedores, canídeos, edentados, marsupiais, ungulados e primatas), incluindo o homem. As leishmanioses são, portanto, zoonoses típicas.



Figura 5. Os flebotomíneos medem de 2 a 4 mm de comprimento e apresentam o corpo densamente coberto de pêlos finos (razão de serem conhecidos como mosquito-palha). São os transmissores da leishmaniose para o homem e animais.

No ciclo biológico da *Leishmania* são encontradas três formas evolutivas básicas: *amastigotas*, *paramastigotas* e *promastigotas*. As *amastigotas* vivem, principalmente, no interior das células fagocitárias; são ovais ou esféricas, com membrana *citoplasmática*, onde podemos encontrar vacúolos, um único núcleo, situado em um dos lados da célula, o cinetoplasto, situado próximo ao núcleo e um rudimento de flagelo, situado em uma bolsa flagelar. Seu tamanho varia de acordo com a espécie, medindo entre 1,0 X 3,0 μm a 3,0 X 6,0 μm .

As *promastigotas* são as formas responsáveis pela infecção e disseminação da doença, sendo encontradas no aparelho digestivo dos insetos. São formas alongadas apresentando um flagelo livre na região anterior. O núcleo é semelhante ao das formas *amastigotas*, sendo encontrado na maioria das vezes na região central do parasito. Seu tamanho varia entre 15 e 40,0 μm de comprimento por 1,0 a 3,0 μm de largura.

As formas *paramastigotas* são formas intermediárias, encontradas aderidas ao epitélio do trato digestivo dos *flebotomíneos* pelo flagelo, através de *hemidesmossomas*; são muito parecidas com as formas *promastigotas*, com a diferença de serem mais arredondadas e com cinetoplasto próximo ao núcleo. Seu tamanho varia entre 5,0 e 11,0 μm de comprimento e 4,0 e 6,0 μm de largura.

A infecção se inicia quando a fêmea do inseto vetor inocula, juntamente com a saliva, as formas *promastigotas* infectantes, que se aderem a macrófagos no local da picada e logo são fagocitadas por eles (figura 6). Após a internalização, a *promastigota* se encontra dentro de um vacúolo *parasitóforo* e rapidamente se adapta às novas condições do meio, se diferencia em *amastigota* e começa sua reprodução por divisão binária. Este processo se repete sucessivas vezes até o rompimento do macrófago, liberando assim as formas *amastigotas* que serão fagocitadas por outros macrófagos.

A infecção do hospedeiro invertebrado ocorre quando no momento do repasto sanguíneo no indivíduo infectado, o inseto ingere juntamente com o sangue formas amastigotas, que no trato intestinal do inseto darão origem à novas *promastigotas*.

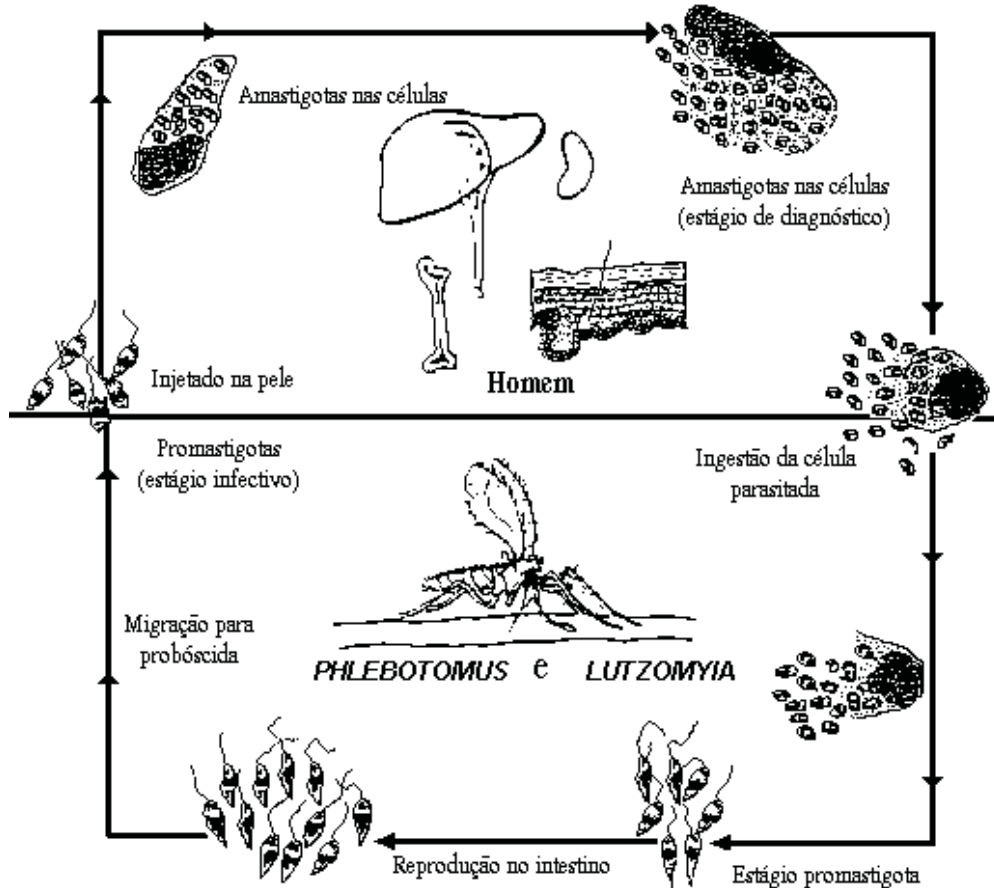


Figura 6: Ciclo biológico da *Leishmania* sp. No velho mundo, a doença é transmitida por mosquitos do gênero *Phlebotomus*.

As *leishmanioses* são zoonoses típicas que acometem primeiramente os animais e depois o homem, tendo manifestações variáveis em diferentes regiões e países, dificultando assim a classificação das espécies, o entendimento da clínica e da epidemiologia da doença. Portanto, com o passar dos anos e intensificação dos estudos, as leishmanioses que ocorrem em humanos foram agrupadas em leishmaniose visceral ou calazar e leishmaniose tegumentar, abrangendo as formas cutânea, cutaneomucosa e cutânea difusa.

LEISHMANIOSE TEGUMENTAR AMERICANA

A leishmaniose tegumentar americana atinge pele e mucosas, sendo assim causada por espécies dermatotrópicas. As principais espécies encontradas no Brasil são *Leishmania braziliensis*, *L. guyanensis*, *L. lainsoni*, *L. naiffi*, *L. shawi* e *L. amazonensis*.

A *leishmaniose* tegumentar é uma doença típica de nações pobres, sendo encontrada em 88 países. A prevalência no Brasil gira em torno de 30 mil casos novos por ano, principalmente nas regiões Norte e Nordeste. Era uma doença tipicamente rural que ultimamente vem se urbanizando, devido ao desmatamento, ao êxodo rural e aumento da pobreza. É uma enzootia de animais silvestres e a transmissão ao homem ocorre, principalmente, quando este penetra em áreas onde a doença ocorre, mas as espécies de *Lutzomyia* são bastante ecléticas, podendo picar diferentes hospedeiros em diferentes ambientes, o que torna a disseminação da doença ainda mais elevada.

Uma grande variedade de hospedeiros vertebrados, como mamíferos, roedores, edentados, marsupiais, eqüinos, carnívoros e primatas (entre eles o homem) são susceptíveis ao parasito. Os hospedeiros invertebrados são representados por várias espécies do gênero *Lutzomyia*, pequenos insetos da ordem *Diptera* e da família *Psychodidae*.

A leishmaniose tegumentar americana (figura 7) é uma enfermidade polimórfica e espectral da pele e mucosas, onde a lesão inicial é manifestada por um infiltrado inflamatório composto por linfócitos e macrófagos. A evolução da doença depende do estado imune do hospedeiro e da espécie de *Leishmania*, variando desde lesões auto-resolutivas a lesões desfigurantes. Essas lesões são agrupadas em três tipos básicos:

- Leishmaniose cutânea - caracterizada pela formação de úlceras cutâneas, únicas ou múltiplas, confinadas na derme com ulceração da epiderme. São lesões conhecidas por úlcera-de Bauru, ferida brava, ferida seca ou *pian bois*. As espécies responsáveis por essa forma são *Leishmania braziliensis*, *L. guyanensis*, *L. amazonensis* e *L. lainsoni*.

- Leishmaniose cutaneomucosa - caracterizada pela formação de úlceras semelhantes àquelas descritas na forma cutânea; porém, após meses ou anos o parasito produz lesões destrutivas secundárias envolvendo mucosas e cartilagens, principalmente nariz, faringe, boca e laringe. Trata-se de um processo lento e de curso crônico, através de extensão direta de uma lesão primária ou de disseminação hematogênica do parasito. São lesões conhecidas como espúndia, nariz de anta ou de tapir. As espécies responsáveis por essa forma de leishmaniose são *Leishmania braziliensis* e *L. guyanensis*.

- Leishmaniose cutânea difusa – observam-se lesões difusas não ulceradas por toda a pele, com grande número de amastigotas no interior das lesões; formam-se erupções papulares ou nodulares não ulceradas. Esta forma está estreitamente relacionada a uma deficiência imunológica do hospedeiro e a espécie responsável é a *Leishmania amazonensis*.



Figura 7. Casos humanos de leishmaniose tegumentar America. A e B) Leishmaniose cutânea. C) Leishmaniose cutaneomucosa. D) Leishmaniose cutâneo difusa.

O diagnóstico da leishmaniose tegumentar quando feito clinicamente pode ser confundido com outras dermatoses como úlcera tropical, tuberculose cutânea, hanseníase, infecções por fungos ou neoplasmas, sendo assim necessária a confirmação da doença por diagnósticos laboratoriais. Dentre estes, podem ser realizados exames de demonstração do parasito com material obtido da lesão cutânea e posterior exame direto em esfregaços corados, exames histopatológicos, cultura do fragmento ou inoculação em animais. Métodos imunológicos como RIFI e ELISA ou Teste de Montenegro também podem ser empregados.

O tratamento da leishmaniose tegumentar é feito por antimoniais, anfotericina B e imunoterapias como a *Leishvacin*. As medidas de controle se restringem aos vetores e à proteção individual e das residências, sendo o primeiro pouco prático devido à natureza silvestres dos mesmos. Como medidas paliativas recomendam-se a construção das residências a distância maiores que 500 metros das matas e florestas, uso de mosquiteiros e de inseticidas nas residências e regiões periféricas das mesmas, proteção individual ao penetrar em matas e florestas através do uso de repelentes e roupas compridas.



ATIVIDADES

1. Enumere as principais dificuldades para o controle da Leishmaniose Tegumentar Americana (LTA) no nordeste do Brasil.

LEISHMANIOSE VISCERAL AMERICANA

A leishmaniose visceral é uma doença causada pelo “complexo *donovani*”, que inclui três espécies: *L. donovani* - presente na África Oriental, Índia e China, *L. infantum* - presente no Mediterrâneo, África Central e Ocidental, Oriente Médio e China e a *L. chagasi* - presente na América Latina. É conhecida popularmente por calazar (febre negra) e febre Dum-Dum. A leishmaniose visceral é uma enfermidade grave e de alta letalidade quando não tratada, onde os parasitos são encontrados em células do sistema mononuclear fagocitário visceral, tendo o fígado, o baço, a medula óssea e os linfonodos como estruturas mais atingidas.

Estima-se que existam em torno de 200 milhões de indivíduos vivendo em áreas de risco e cerca de 500 mil novos casos por ano nos 62 países considerados endêmicos. A prevalência da doença no Brasil é considerada alta e, de acordo com dados do Ministério da Saúde, foram notificados aproximadamente 60.000 casos de leishmaniose visceral entre os anos de 1980 e 2005, a maioria na região nordeste, sendo o Brasil responsável por 90% dos casos encontrados na América Latina. As correntes migratórias e as mudanças na economia global, juntamente com a pobreza e miséria das populações contribuíram para a urbanização da doença em vários países, incluindo o Brasil. Assim, devido às grandes alterações nas características epidemiológicas, a leishmaniose visceral tem, atualmente, caráter urbano e silvestre, apresentando dois ciclos epidemiológicos distintos e independentes, o que dificulta o controle da doença e o esforço dos órgãos de saúde de muitos países.

No Brasil, o agente etiológico da leishmaniose visceral é a *L. chagasi* que atinge, principalmente, crianças e adultos jovens; os reservatórios da doença são os cães, responsáveis pela transmissão na área urbana, e as raposas, responsáveis pela doença no meio silvestre. O hospedeiro invertebrado é representado por uma única espécie denominada de *Lutzomyia longipalpis*.

Após a inoculação das promastigotas e sua diferenciação em amastigotas, as mesmas se dirigem, através de monócitos circulantes, para as células do sistema mononuclear fagocitário visceral, atingindo o fígado, o baço, a medula óssea e os linfonodos. Nestes órgãos ocorre a hiperplasia e hipertrofia das células do sistema mononuclear fagocitário, gerando uma série de sintomas importantes no curso da doença, como febre, mal-estar,

apatia, anorexia, *hepatoesplenomegalia*, astenia e anemia (figura 8). Com o tempo surgem complicações pulmonares e renais, o paciente pode permanecer nesse quadro durante algum tempo ou falecer em estado de caquexia e por envolvimento de outras doenças, pois seu estado imunológico está totalmente alterado. Em pacientes não tratados a mortalidade é acima de 90%.



Figura 8. Leishmaniose visceral (calazar). A) criança apresentando hepatoesplenomegalia e distensão abdominal típicas. B) Paciente com a doença, apresentando perda de peso e esplenomegalia.

O diagnóstico precoce é fundamental para iniciar o tratamento e evitar o agravamento da doença. Este geralmente é feito pela demonstração do parasito através de punção da medula óssea, do fígado ou do baço. Com o material obtido podem ser realizados o esfregaço ou fixação em lâminas, semeadura em meios de cultura ou inoculação em *hamster*. Além disso, podem ser realizados também RIFI, ELISA e TraLd (teste rápido anticorpo *anti-leishmania donovani*). O método de Intradermorreação de Montenegro não é utilizado como diagnóstico da leishmaniose visceral, pois se apresenta negativo em casos de doença ativa, podendo ser utilizado apenas como controle de cura, avaliação de prognóstico ou inquéritos epidemiológicos.

O tratamento da leishmaniose visceral deve ser realizado o mais rápido possível para que não ocorra mortalidade devido ao diagnóstico incorreto. Os medicamentos utilizados são antimoniais, principalmente o *Glucantime*®, *anfotericina B*, *estibogliconato sódico*, *pentamidina* e *alopurinol*. O esquema terapêutico é prolongado e com intervalos de 10 dias entre uma série e outra. O tratamento canino ainda não é eficiente, por isso é contra-indicado.

As medidas de controle da leishmaniose visceral se baseiam em uma tríade que engloba o diagnóstico e tratamento dos doentes, eliminação de cães sorologicamente positivos e combate ao inseto vetor. A eliminação dos cães sorologicamente positivos é a medida profilática mais difícil de ser tomada, devido a resistência dos proprietários em sacrificar os cães que grande parte das vezes não apresentam nenhum sintoma clínico. Atualmente já existem alguns medicamentos em que o cão apresenta a cura clínica da leishmaniose, mas não apresenta a cura parasitológica definitiva, tornando ineficaz o uso de medicamentos já que não elimina a “fonte de infecção” e não impede o ciclo da doença. Portanto, o sacrifício do cão positivo é uma medida drástica, difícil e triste, mas necessária e obrigatória.



ATIVIDADES

1. Caros alunos, vamos discutir na plataforma por que o sacrifício de cães para o controle da leishmaniose visceral recebe tantas críticas. Você concorda com tal atitude?

GIARDIA DUODENALIS - GIARDÍASE

A *Giardia* foi possivelmente o primeiro protozoário intestinal a ser conhecido, sendo observado por Anton van *Leeuwenhoek* em 1681, mas só descrito detalhadamente em 1859, por Lambl. A *Giardia duodenalis* é o agente da giardíase e, apesar de muito estudada, várias questões fundamentais ainda continuam sem resposta, dentre estas a taxonomia ainda é controversa, pois esse protozoário ora era descrito de exemplares oriundos de roedores, ora de cães, ora de anfíbios, gerando muita confusão. Após estudos morfológicos de microscopia eletrônica e análise de RNA, foram propostas cinco espécies: *Giardia muris* (roedores, aves e répteis), *G. agilis* (anfíbios), *G. ardeae* (garças), *G. psittaci* (periquitos) e *G. duodenalis* (aves, répteis e mamíferos, incluindo o homem). As denominações *G. lamblia*, *G. duodenalis* e *G. intestinalis* são empregadas como sinonímia para isolados de origem humana.

A giardíase é encontrada no mundo todo, sendo um dos principais parasitos encontrados em humanos. Nos países desenvolvidos é uma das causas mais comuns de diarreia em crianças, que por decorrência da infecção podem apresentar problemas de má nutrição e retardo no crescimento.

A *Giardia* apresenta em seu ciclo evolutivo as formas de cistos e trofozoítos (figura 9). Os cistos são responsáveis pela disseminação da doença, sendo encontrados na luz intestinal e liberados para o meio externo junto com as fezes; apresentam formato oval ou elipsóide, medindo 12 µm de

comprimento por 8 μm de largura, sua membrana é rígida e no seu interior são encontrados de um a quatro núcleos, *axóstilo* e os corpos escuros (ou corpos parabasais) com forma de meia lua. Os trofozoítos têm simetria bilateral, formato piriforme, bastante flexível, medindo aproximadamente 20 μm de comprimento por 10 μm de largura, superfície dorsal lisa e convexa e superfície ventral côncava, onde se encontra o disco ventral ou suctorial, responsável pela fixação do parasito na parede do intestino. São visualizados ainda, dois núcleos com cariossoma central, oito *blefaroblastos* onde emergem os axóstilos, corpos medianos (Complexo de Golgi) e oito flagelos dispostos aos pares, na região anterior, ventral, posterior e caudal.

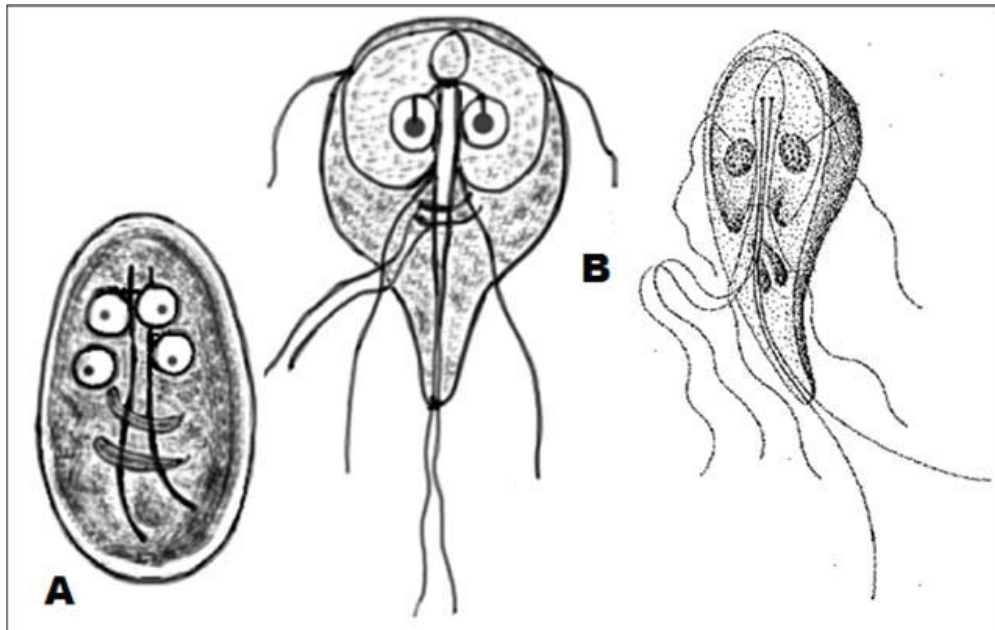


Figura 9. Giardia lamblia. A) Cisto tetranucleado. B) Trofozoítos.

Seu ciclo é *monoxênico*, com reprodução assexuada por divisão binária longitudinal. Após a infecção humana através da ingestão de cistos, estes passam pelo intestino, sofrem ação do suco gástrico, iniciando o processo de desencistamento, que se completa no intestino liberando os trofozoítos, que por sua vez irão se multiplicar colonizando o intestino; em poucos dias já são encontrados milhares de trofozoítos “atopetando” a mucosa do intestino delgado. Com o decorrer da infecção, um grande número de trofozoítos desprende-se da mucosa, iniciando o processo de encistamento, no qual o mesmo se arredonda, os núcleos se dividem, desidrata-se, perde os flagelos e libera uma membrana cística formada de quitina, dando origem ao cisto que é então eliminado para o meio externo juntamente com as fezes. Os cistos são bastante resistentes, podendo permanecer viáveis por até dois meses em condições adequadas de umidade e temperatura.

A via normal de infecção do homem ocorre pela ingestão de cistos, através de águas sem tratamento ou deficientemente tratadas, através de alimentos contaminados ou cistos veiculados por moscas ou baratas, pelo contato pessoa a pessoa, através de mãos contaminadas, através do contato entre homossexuais (transmissão oral-fecal) e finalmente pelo contato com animais parasitados com *Giardia* morfológicamente semelhante à humana.

A infecção se instala geralmente com a ingestão de 10 a 100 cistos que, juntamente com a cepa do parasito, a imunidade e a idade do hospedeiro vão estabelecer a sintomatologia do indivíduo parasitado. Assim, se as condições estiverem favoráveis para o parasito, ele se multiplicará colonizando todo o intestino delgado, levando a uma série de sintomas como irritação da mucosa intestinal, edema, dor, irritabilidade, insônia e sintomas de má absorção, gerando emagrecimento e avitaminoses. Com a aceleração do trânsito intestinal o indivíduo parasitado pode apresentar esteatorréia, fezes pastosas ou diluídas, amarelo-esverdeadas. Nas crianças a giardíase causa irritação, anorexia, emagrecimento e esteatorréia, podendo a criança apresentar um retardo no seu desenvolvimento. É uma doença auto-limitada, que evolui para a cura ou para a cronicidade assintomática.

O diagnóstico clínico da giardíase é feito através de exames laboratoriais, quer através da demonstração do parasito ou por testes imunológicos. O diagnóstico parasitológico é realizado pela identificação de cistos em fezes formadas ou de trofozoítos em fezes diarréicas, sendo o primeiro mais freqüente. O exame deve ser realizado através da coleta de três amostras em dias alternados, pois o padrão de eliminação dos cistos varia de indivíduo para indivíduo, sendo a eliminação intermitente, apresentando períodos negativos.

Como dito anteriormente, a transmissão da *Giardia* ocorre devido à contaminação de alimentos e do ambiente pelos cistos do parasito, liberados junto às fezes do parasitado. Assim, os pontos principais para o controle dessa parasitose se baseiam na higiene individual, no tratamento dos doentes e dos portadores assintomáticos e na melhoria dos serviços de água e esgoto domiciliar. Além disso, é importante o diagnóstico e tratamento dos portadores assintomáticos como babás, manipuladores de alimentos e crianças de creches, orfanatos e outros aglomerados humanos, onde as medidas de higiene são difíceis de serem implementadas.

Como os animais domésticos (cães e gatos) podem ser infectados com *Giardia* morfológicamente semelhante a do homem e como existem evidências de que possa ocorrer transmissão direta entre estes hospedeiros, recomenda-se também o diagnóstico e tratamento dos mesmos.



ATIVIDADES

1. Qual o impacto da giardíase no desenvolvimento das crianças?

ENTAMOEBA HISTOLYTICA/ENTAMOEBA DISPAR - AMEBÍASE

As amebas fazem parte de um interessante grupo de protozoários, com espécies altamente patogênicas para o homem, espécies não-patogênicas ou comensais e também espécies facultativas, ou seja, de vida livre, mas que eventualmente tornam-se patogênicas.

As espécies do gênero *Entamoeba* vivem no intestino grosso de humanos ou de animais e apresentam em seu ciclo de vida duas formas evolutivas, cistos e trofozoítos.

A *Entamoeba histolytica* é o agente etiológico da amebíase humana, uma doença de distribuição mundial; porém a manifestação da doença é muito variável e a identificação da espécie causadora muito questionada. Anteriormente falava-se em “*complexo histolytica*”, ou seja, não seria apenas uma única espécie, mas várias espécies provocando diferentes manifestações clínicas. Atualmente, após o reconhecimento da *Entamoeba dispar* como espécie não-patogênica, a polêmica sobre a patogenicidade da *E. histolytica* está menor. Isto porque apesar da *E. histolytica* e da *E. dispar* serem morfologicamente idênticas, filogeneticamente relacionadas e apresentarem hospedeiros e estágios de desenvolvimento semelhantes, estas duas espécies são muito diferentes considerando sua patogenicidade in vivo. Ambas colonizam o intestino humano, mas somente a *E. histolytica* é capaz de causar doença, sendo a *E. dispar* não-patogênica. Portanto, a maioria dos casos assintomáticos de infecção por amebas tetranucleadas, antes atribuída à *E. histolytica*, são agora imputados à *E. dispar*. A confirmação da existência da *E. dispar* é talvez uma das constatações mais importantes atualmente na pesquisa em amebíase.

Anualmente cerca de 50 milhões de pessoas apresentam amebíase na forma invasiva, resultando em 100.000 óbitos por ano, sendo considerada a segunda causa de morte por doença parasitária em humanos.

Em muitas infecções por *E. histolytica* o parasito vive como comensal na luz intestinal, sendo o indivíduo infectado considerado portador assintomático. Em infecções sintomáticas podem ocorrer colites disentericas e não disentericas. A manifestação extra-intestinal mais comum da doença ocorre no fígado, onde a *E. histolytica* provoca necrose de expansão lenta, denominada de abscesso hepático amebiano.



ATIVIDADES

1. Com relação à epidemiologia da amebíase, discuta sobre a importância dos portadores assintomáticos.

As amebas apresentam em seu ciclo evolutivo duas formas principais, cistos e trofozoítos (figura 10). Os cistos são as formas de resistência do parasito, liberados para o meio ambiente junto às fezes do hospedeiro. Os trofozoítos de *E. histolytica*, ao contrário dos cistos, são móveis, apresentando tamanhos que variam entre 10 a 40 μm , podendo chegar a 60 μm nas formas invasivas.

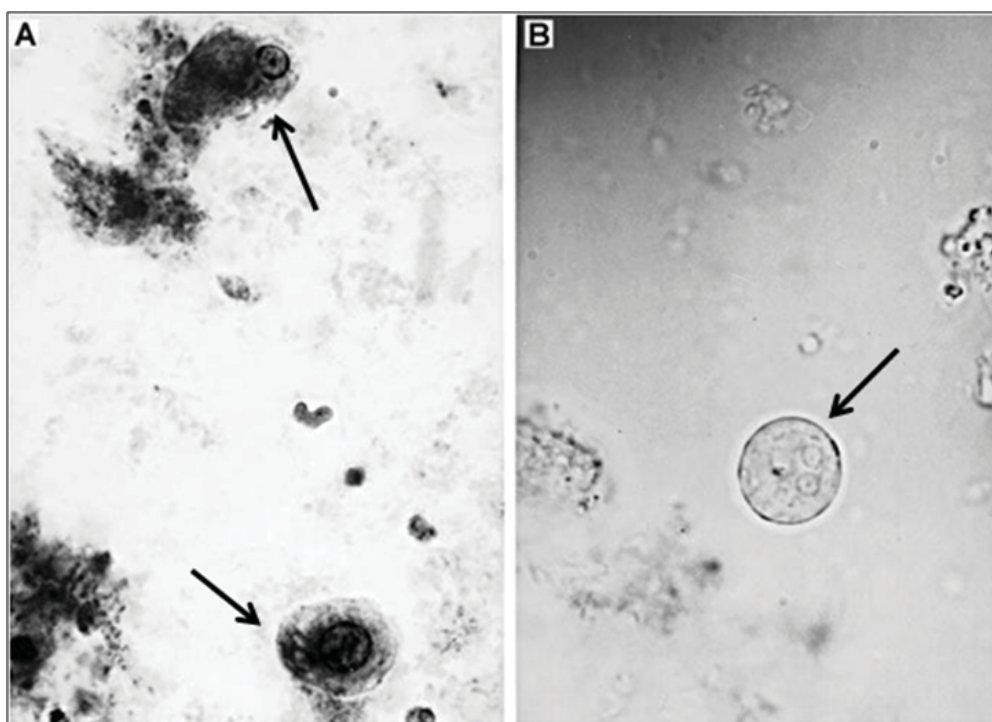


Figura 10. Entamoeba histolytica. A) Trofozoítos (setas). B) Cisto (seta). (fotos do Centro de Controle de Doenças – CDC, Atlanta, EUA)

A exemplo de alguns protozoários parasitos, a *E. histolytica* tem ciclo de vida simples e apresenta, como hospedeiro natural, somente o homem e outros primatas. A infecção ocorre pela ingestão de cistos oriundos das fezes de algum portador, junto com água e/ou alimentos contaminados, através do contato pessoa a pessoa ou cistos disseminados por moscas e baratas. Estes, depois de ingeridos, sobrevivem à ação do suco gástrico e chegam ao intestino delgado, onde se rompem e liberam o metacisto que se divide em quatro e depois oito trofozoítos, chamados trofozoítos metacísticos. Estes normalmente residem no intestino grosso, aderidos ao

muco colônico e às células epiteliais. A *E. histolytica* geralmente persiste por meses ou anos no intestino como comensal, no entanto, ocasionalmente, o parasito penetra na mucosa do intestino, induzindo à colite ou se disseminando para outros órgãos.

Para completar o ciclo não-patogênico, os trofozoítos se desprendem da mucosa e caem na luz intestinal, se diferenciando em pré-cistos. O encistamento ocorre no cólon e o ciclo de vida se completa quando o cisto infeccioso é eliminado juntamente com as fezes para o meio ambiente. Estes, dependendo das condições ambientais, permanecem infectantes de semanas a meses.

Muitos pesquisadores questionam a alta prevalência de indivíduos assintomáticos, dizendo que nesses casos o portador se apresenta parasitado pela *E. dispar* e não pela *E. histolytica*.

As formas sintomáticas apresentam as seguintes manifestações clínicas:

- Colite não disentérica - O paciente apresenta evacuações diarréicas, às vezes contendo muco ou sangue. Pode haver alternância entre as evacuações e períodos de funcionamento normal do intestino.
- Colite disentérica - caracterizada por cólicas intestinais e diarreia muco-sanguinolenta, acompanhadas de tenesmo e tremores de frio. As formas agudas ou fulminantes de colite disentérica podem ser resultado da confluência de úlceras com necrose de grandes porções, muitas vezes com contaminação por bactérias do trato intestinal culminando em perfurações múltiplas.
- Amebíase extra-intestinal – Forma rara da amebíase, sendo que a forma mais comum é a necrose amebiana do fígado, caracterizada, na fase aguda, por febre, dores brandas, hepatomegalia e dores abdominais. Pode-se observar ainda anorexia, anemia leve e leucocitose sem eosinofilia, entre outros sintomas. Os indivíduos infectados podem apresentar a doença hepática meses ou anos após a infecção, sendo que geralmente não apresentam cistos nas fezes e nem infecção intestinal. Outras localizações extra-intestinais mais raras de ocorrer são pulmão, cérebro e pele.

O diagnóstico da amebíase é feito, usualmente, pela pesquisa de cistos do parasito nas fezes do paciente, através do método direto ou utilizando conservantes como Schaudinn, SAF, formol 10% ou MIF. Entre os métodos imunológicos os mais utilizados são RIF e ELISA.

Estima-se em 480 milhões o número de pessoas infectadas por *E. dispar* ou *E. histolytica*. Entretanto, a maioria desses indivíduos não desenvolve a doença na forma invasiva. Aproximadamente 90% são assintomáticos, 10% apresentam colites amebianas e 1% desenvolvem o abscesso amebiano do fígado.

A amebíase possui distribuição cosmopolita, com maior prevalência nas regiões tropicais e subtropicais, onde ocorre com maior gravidade. Essa incidência parece não estar relacionada com fatores climáticos, mas sim com as precárias condições de higiene e educação sanitária, fruto do subdesenvolvimento dessas regiões. Em regiões subdesenvolvidas, onde as barreiras entre fezes humanas, água e comida são inadequadas, a amebíase constitui um alto risco à saúde. A amebíase constitui, ainda, problema de

saúde pública no México, Índia, Bangladesh, leste e sul da África, Vietnã e alguns países da América do Sul.

Atualmente, a verdadeira prevalência e incidência da *E. histolytica* é especulativa, devido à existência da *E. dispar* e das dificuldades ainda presentes na diferenciação das duas espécies. O subdesenvolvimento e o clima podem favorecer, mas não determinar a ocorrência de casos mais graves nestas regiões, pois países como o Brasil, subdesenvolvidos e de clima tropical, apresentam prevalência maior de amebíase assintomática.

De acordo com estimativas da Organização Mundial de Saúde, a amebíase ocupa o 2º lugar dentre as causas de morte por protozoários e o 14º dentre as doenças mais importantes do mundo. Portanto, medidas de controle para essa parasitose são de extrema importância, não sendo uma tarefa fácil e nem de resultados imediatos, pois são necessárias ações governamentais e comunitárias. Entre as medidas de controle, a engenharia e educação sanitária são de extrema importância, além do tratamento dos indivíduos parasitados, combate às moscas e baratas e lavagem de alimentos antes do consumo, com intuito de se evitar a ingestão dos cistos.

CONCLUSÃO

Este capítulo apresentou importantes parasitos que acometem o homem, presentes dentro do filo *Sarcomastigophora*. O melhor conhecimento de suas formas de transmissão e de métodos profiláticos que visem à prevenção destas parasitoses é de extrema valia para a redução do número de casos, principalmente em países como o Brasil, onde a deficiência sanitária e ineficiência dos governantes auxiliam na manutenção de muitas parasitoses.



RESUMO

Denominam-se protozoários os animais unicelulares, para distingui-los dos metazoários, que são pluricelulares. São encontrados dentro do reino Protista, constituído por sete filas, dos quais dois apresentam interesse na parasitologia humana: filo *Sarcomastigophora* e filo *Apicomplexa*. O filo *Sarcomastigophora* abrange os protozoários que possuem como organelas de locomoção os flagelos, os pseudópodes, ou ambos. A doença de Chagas e as leishmanioses são doenças que acometem milhares de brasileiros, ocasionadas por parasitos deste filo (*Trypanosoma cruzi* e *Leishmania sp.*, respectivamente) e transmitidas por artrópodes vetores. A amebíase e a giardíase, apesar de não causar uma mortalidade elevada, são doenças comuns em comunidades que não dispõem de um correto tratamento de água e destino adequado dos dejetos e esgoto, sendo transmitidas por água e alimentos contaminados.



PRÓXIMA AULA

Daremos continuidade, na próxima aula, ao estudo dos protozoários que acometem o homem, destacando aqueles protozoários pertencentes ao filo *Apicomplexa*.



AUTOAVALIAÇÃO

1. O que são protozoários e qual a importância de seu estudo na parasitologia?
2. Descreva o ciclo biológico, a patogenia, controle e profilaxia dos parasitos protozoários pertencentes ao filo *Sarcomastigophora*.

REFERÊNCIAS

- Baneth, G.; Koutinas, A. F.; Solano-Gallego, L.; Bourdeau, U. & Ferrer, L. 2008. Canine leishmaniosis - new concepts and insights on an expanding zoonosis: part one. **Trends Parasitol.**, 24: 324-30.
- Baxt, L. A. & Singh, U. 2008. New insights into *Entamoeba histolytica* pathogenesis. **Curr. Opin. Infect. Dis.**, 21: 489-94.
- Benchimol-Barbosa, P. R. 2006. The oral transmission of Chagas' disease: an acute form of infection responsible for regional outbreaks. **Int. J. Cardiol.** 112: 132-133.
- Buret, A. G. 2008. Pathophysiology of enteric infections with *Giardia duodenalis*. **Parasite**, 15: 261-5.
- Coura, J. R. 2005. Dinâmica das Doenças Infecciosas e Parasitárias. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan.
- Cruz, A. K.; de Toledo, J. S.; Falade, M.; Terrão, M. C.; Kamchonwongpaisan, S.; Kyle, D. E. & Uthaipibul, C. 2009. Current treatment and drug discovery against *Leishmania* spp. and *Plasmodium* spp.: a review. **Curr. Drug Targets**, 10: 178-92.
- Dias, J. C. P. 2006. Notas sobre o *Trypanosoma cruzi* e suas características bio-ecológicas, como agentes de enfermidades transmitidas por alimentos. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.** 39: 370-375.
- Dutra, W. O.; Rocha, M. O. & Teixeira, M. M. 2005. The clinical immunology of human chagas disease. **Trends Parasitol.** 21: 581-587.
- Herealdt, B. L. 1999. Leishmaniasis. **Lancet**, 354: 1191-9.
- Igreja, R. P. 2009. Chagas disease 100 years after its discovery. **Lancet**. 373: 1340.

- Lejeune, M.; Rybicka, J. M. & Chadee, K. 2009. Recent discoveries in the pathogenesis and immune response toward *Entamoeba histolytica*. **Future Microbiol.**, 4: 105-18.
- Lujan, H. D. 2006. Giardia and giardiasis. **Medicina (B. Aires)**, 66: 70-4.
- Macedo, A. M.; Machado, C. R.; Oliveira, R. P. & Pena, S. D. J. 2004. Trypanosoma cruzi: Genetic structure of populations and relevance of genetic variability to the pathogenesis of Chagas Disease. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz.** 99: 1-12.
- Moncayo, A. 1999. Progress towards interruption of transmission of Chagas' disease. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz.** 94: 401-404.
- Neves, D. P.; Gomes, C. F. L.; Iglésias, J. D.; Barçante, J. M. P.; Santos, R. L. C. 2009. Parasitologia Dinâmica. 3ª ed. São Paulo: Editora Atheneu.
- Neves, D. P.; Melo, A. L.; Linardi, P. M.; Vitor, R. W. A. 2005. Parasitologia Humana. 11ª. ed. São Paulo: Editora Atheneu.
- Neuber, H. 2008. Leishmaniasis. **J. Dtsch. Dermatol. Ges.**, 6: 754-65.
- Palumbo, E. 2009. Current treatment for cutaneous leishmaniasis: a review. **Am. J. Ther.**, 16: 178-82.
- Portela-Lindoso, A. A. B. & Shikanai-Yasuda, M. 2003. Doença de Chagas crônica: do xenodiagnóstico e hemocultura à reação em cadeia de polimerase. **Rev. Saúde Pública**, 37: 107-15.
- Santos, C. B.; Leite, G. R.; Ferreira, G. E. M. & Ferreira, A. L. 2006. Infecção natural de *Triatoma vitticeps* (Stal, 1859) por flagelados morfologicamente semelhantes a *Trypanosoma cruzi* (Chagas, 1909) no Estado do Espírito Santo. **Rev. Soc. Bras. de Med. Trop.** 39: 89-91.
- Tanowitz, H. B.; Machado, F. S.; Jelicks, L. A.; Shirani, J.; de Carvalho, A. C.; Spray, D. C.; Factor, S. M.; Kirchhoff, L. V. & Weiss, L. M. 2009. Perspectives on *Trypanosoma cruzi*-induced heart disease (Chagas disease). **Prog. Cardiovasc. Dis.** 51: 524-39.
- Vago, A. R.; Andrade, L. O.; Leite, A. A.; D'Avila, R. D.; Macedo, A. M.; Adad, S. J.; Tostes, S. J. R.; Moreira, M. C.; Filho, G. B. & Pena, S. D. 2000. Genetic characterization of *Trypanosoma cruzi* directly from tissues of patients with chronic Chagas disease: differential distribution of genetic types into diverse organs. **Am. J. Pathol.** 156: 1805-9.
- WHO. 2002. Control of Chagas Disease. Technical Report Series: 905. Geneva, **World Health Organization.**