

Coccídios

Isospora belli

Cryptosporidium spp

Cyclospora cayetanensis

Apicomplexa

- Filo: Apicomplexa
- Classe: Sporozoea
- Ordem: Coccidiida/ Eucoccidiida
- Subordem: Eimeriina
- Família: Sarcocystidae – *Sarcocystis hominis*
Eimeriidae – *Isospora belli*, *Cyclospora cayentanensis*
Cryptosporidiidae- *Cryptosporidium spp*

Ciclo Vital

- Ciclo assexuado e sexuado
 - Esporozoíta – adesão pelo complexo apical – invasão celular – crescimento- esquizogonia – esquizonte – merozoítos
 - Merozoítas: pode dar novo ciclo sexuado ou produzir ciclo sexuado.

Ciclo Vital

- Ciclo sexuado:
 - Merozoítos – diferenciação em gametócitos – microgametócitos (masculino) e macrogametócitos (feminino) – fecundação– ovo ou zigoto – oocisto
 - Oocisto – liberação de esporozoítos – início de um novo ciclo.

Coccídios

- Várias espécies de Eimeriina causam doenças em aves, gado e outros animais.
- Galinhas, patos, pombos, perus e faisões são infectados por mais de 20 espécies.
- Fácil caracterização do gênero pela presença de oocistos com 2 esporocistos de 4 esporozoítas cada.
- Ingestão de carne de animais parasitados resulta na eliminação dos oocistos pelos humanos sem que isso cause patologia pois atravessam o tubo sem desencistarem.

Coccídios

- Espécies que parasitam o homem :
- *Isospora belli*
- *Cryptosporidium spp*
- *Cyclospora cayetanensis*
- *Sarcocystis hominis*
- *Sarcocystis suihominis*

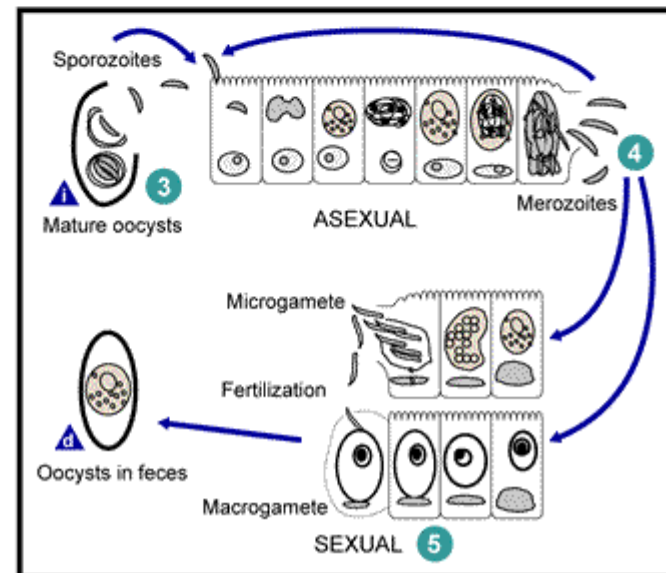
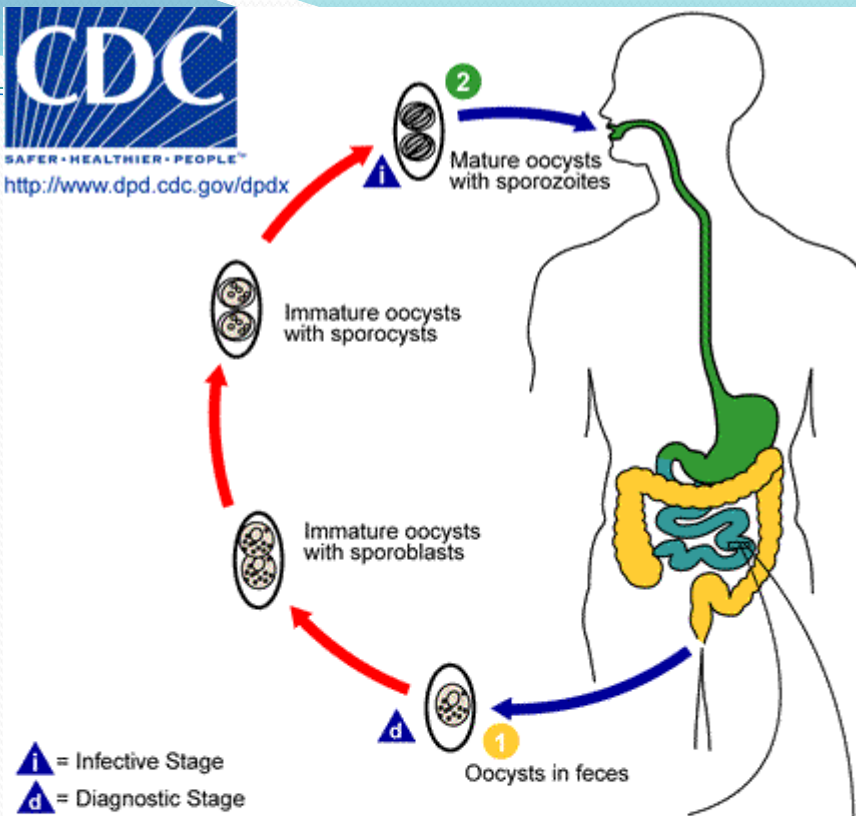
Isospora belli

- Ingestão de oocistos esporulados e liberação dos esporozoítos
- Invasão e divisão por esquizogonia
- Lesão celular e liberação dos merozoítas
- Diferenciação em gametócitos
- Oocistos
 - Elípticos com extremidades estreitas
 - Medem 30 x 12 μm
 - Encontrados nas fezes na forma imatura com presença de massa citoplasmática nucleada e cheia de granulações, com regiões polares livres

Oocisto

- A célula única divide-se em duas com produção do esporoblasto
- No solo:
 - Esporogonia. Os esporoblastos produzem membrana cística produzindo o esporocisto.
 - Maturação completa ocorre quando cada esporocisto produzir 4 espoozoítos.

Ciclo evolutivo



Oocisto de *Isospora belli*

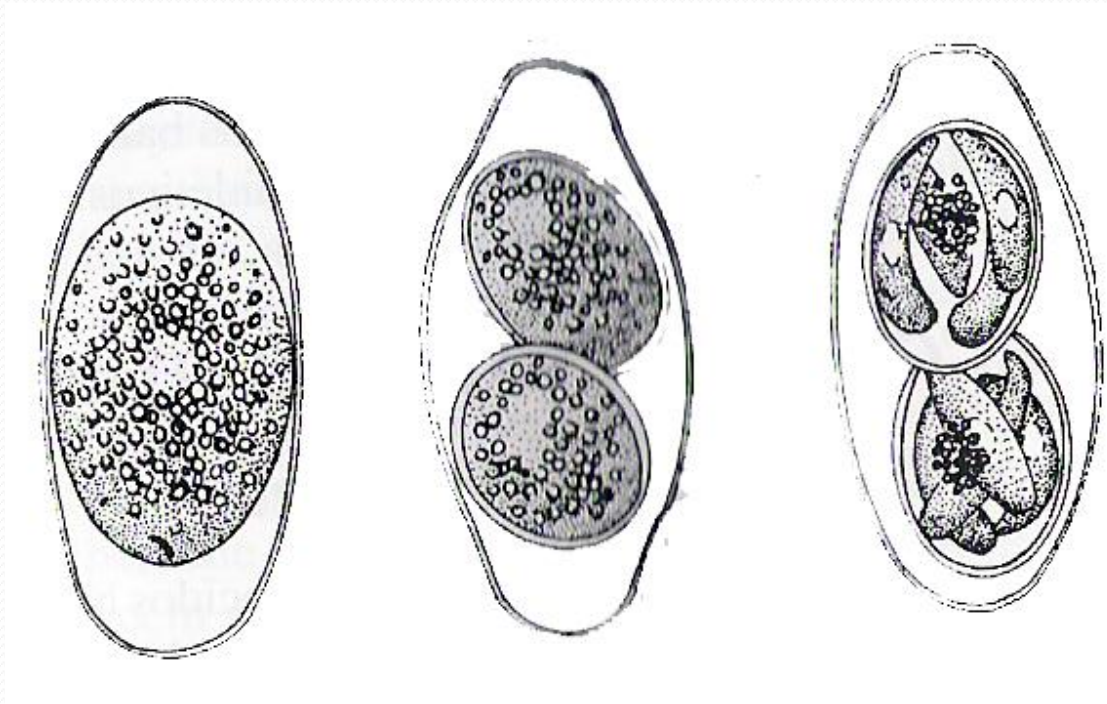


Ilustração disponível em Rey, 2010

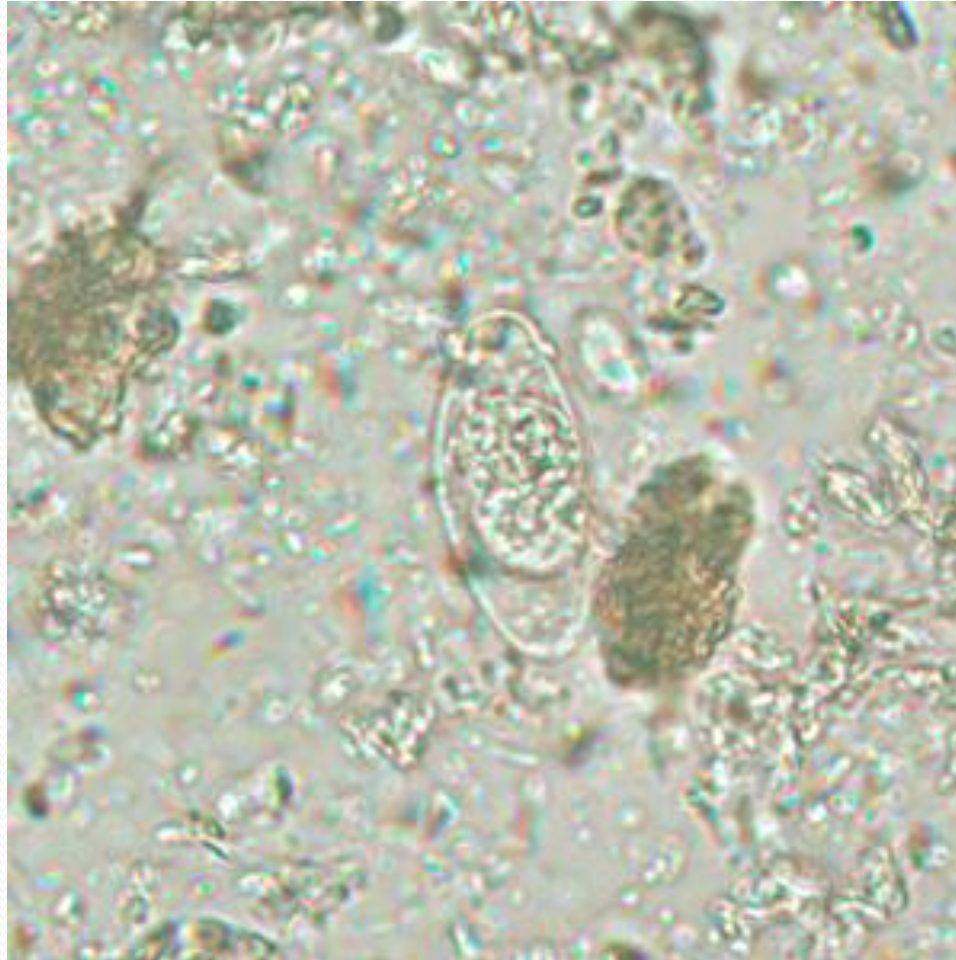
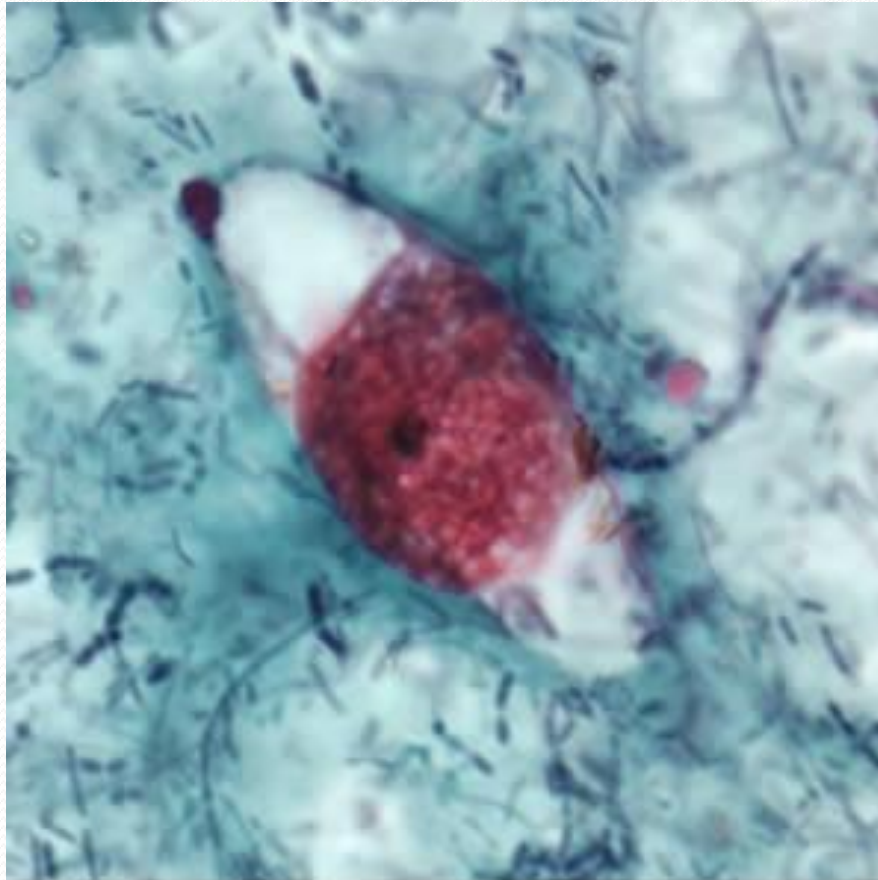
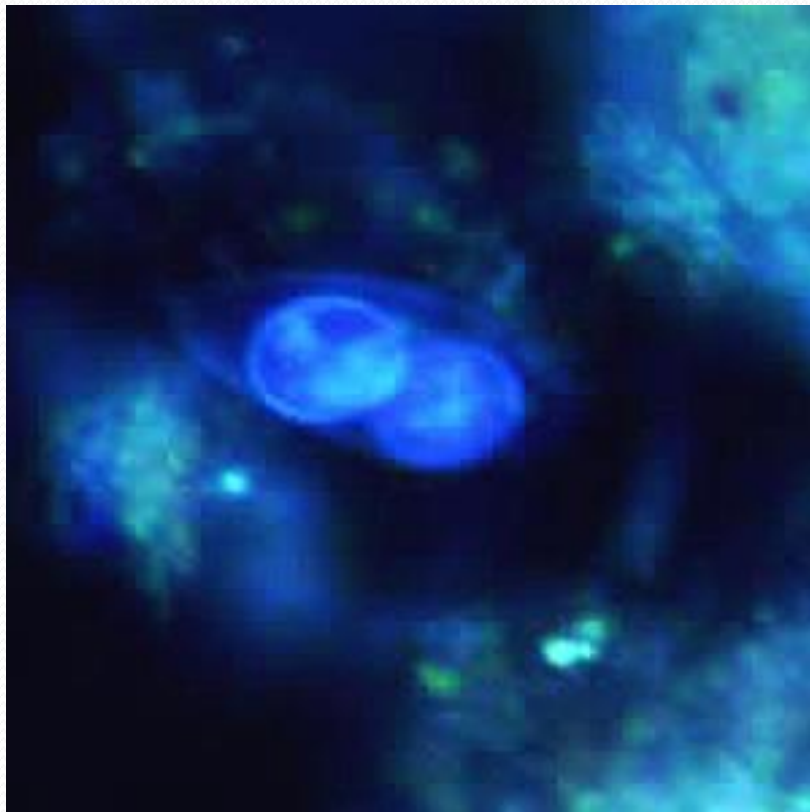


Ilustração disponível em http://www.dpd.cdc.gov/dpdx/HTML/ImageLibrary/Cystoisosporiasis_il.htm



Oocisto imaturo corado com safranina

Ilustração disponível em http://www.dpd.cdc.gov/dpdx/HTML/ImageLibrary/Cystoisosporiasis_il.htm



Oocisto imaturo analisado por microscopia de fluorescência

Patologia

- Podem ser assintomáticas
- Infecções benignas com invasão de células epiteliais e das criptas de Lieberkuhn do ID com reação inflamatória da mucosa
- Quando sintomática: perda do apetite, astenia, dor de cabeça, náusea, evacuações com cólicas e dores abdominais.
- Início pode ser súbito com febre e diarreia
- Cura espontânea e completa em aproximadamente 40 dias
- AIDS: diarreia debilitante que pode levar a morte.

Oocisto de *Isospora belli* em corte de duodeno

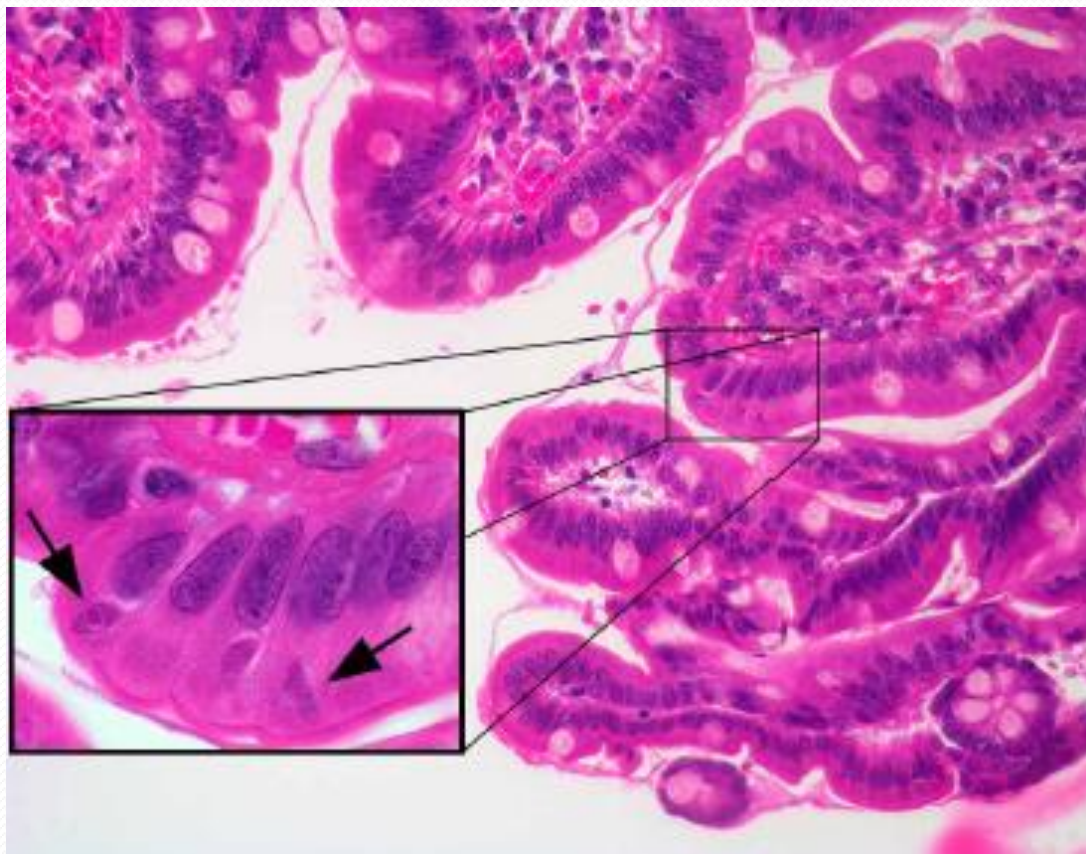


Ilustração disponível em <http://pathology5.pathology.jhmi.edu/micro/v18no9.htm>

Merozoítos e gametócitos presentes nas células intestinais

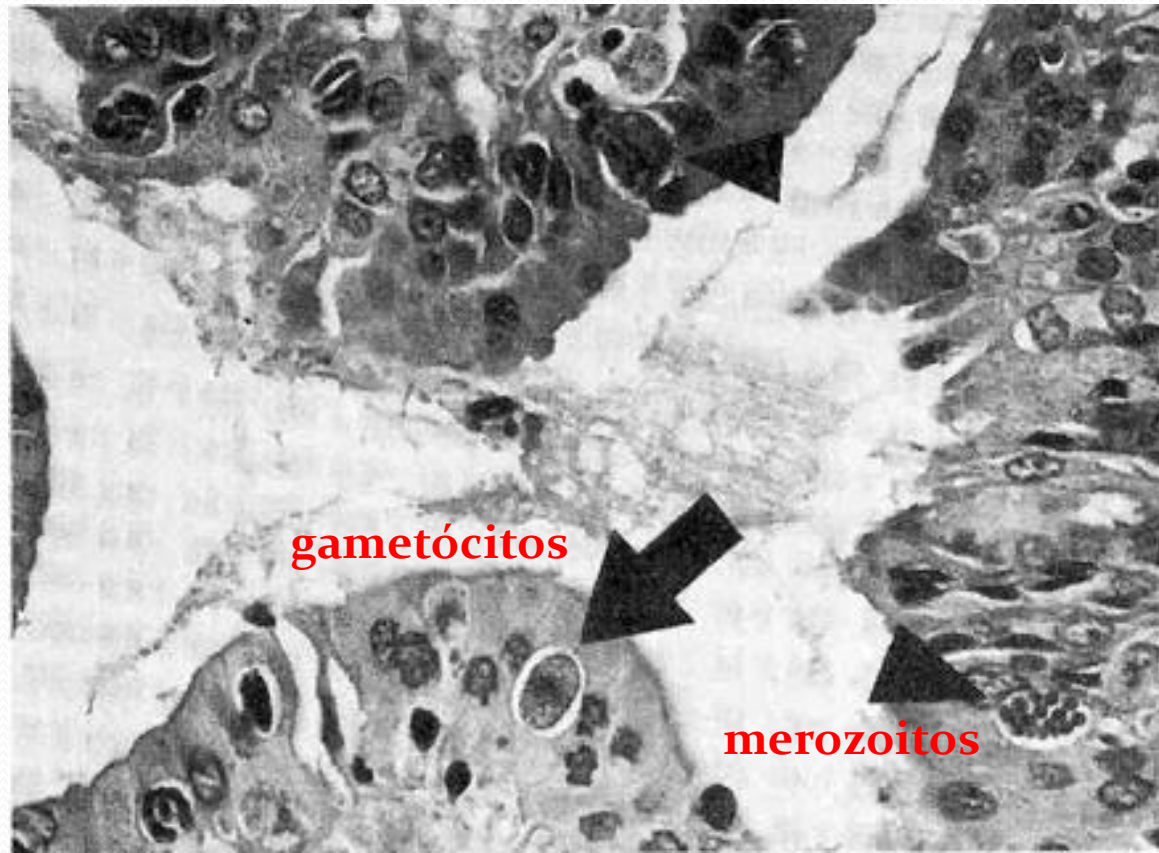


Ilustração disponível em <http://www.annals.org/content/121/9/663/F1.expansion.html>

Cryptosporidium spp

- Filo: Apicomplexa
- Classe: Sporozoa
- Subclasse: Coccidia
- Ordem: Eucocidiida
- Subordem: Eimiriina
- Família: Criptosporidiidae
- Gênero: Cryptosporidium

Cryptosporidium spp

- Parasitos encontrados em grande número de animais: mamíferos, aves, répteis e peixes
- As espécies de aves e mamíferos podem contaminar o homem.
- Protozoário causador da diarreia
- São álcool-ácidos resistentes
- Transmissão ocorre pela ingestão ou inalação de oocistos esporulados

Ciclo evolutivo

- Ingestão de oocisto
- Liberação de 4 esporozoítos no intestino delgado
- Invasão do esporozoíto na membrana celular sem invasão citoplasmática.
- Formação de vacúolo parasitóforo intracelular e extracitoplasmático
- Reprodução assexuada dentro do vacúolo com produção de meronte 1º –liberação do merozoíto 1º- invasão celular - meronte 2º – liberação do merozoíto 2º.

Ciclo evolutivo

- Merozítio 2º –micro e macrogameta – zigoto – esporocisto de parede delgada e esporocisto de parede espessa
- Esporocisto de parede espessa: eliminado nas fezes
- Esporocisto de parede delgada: rompimento dentro do intestino causando auto-infecção

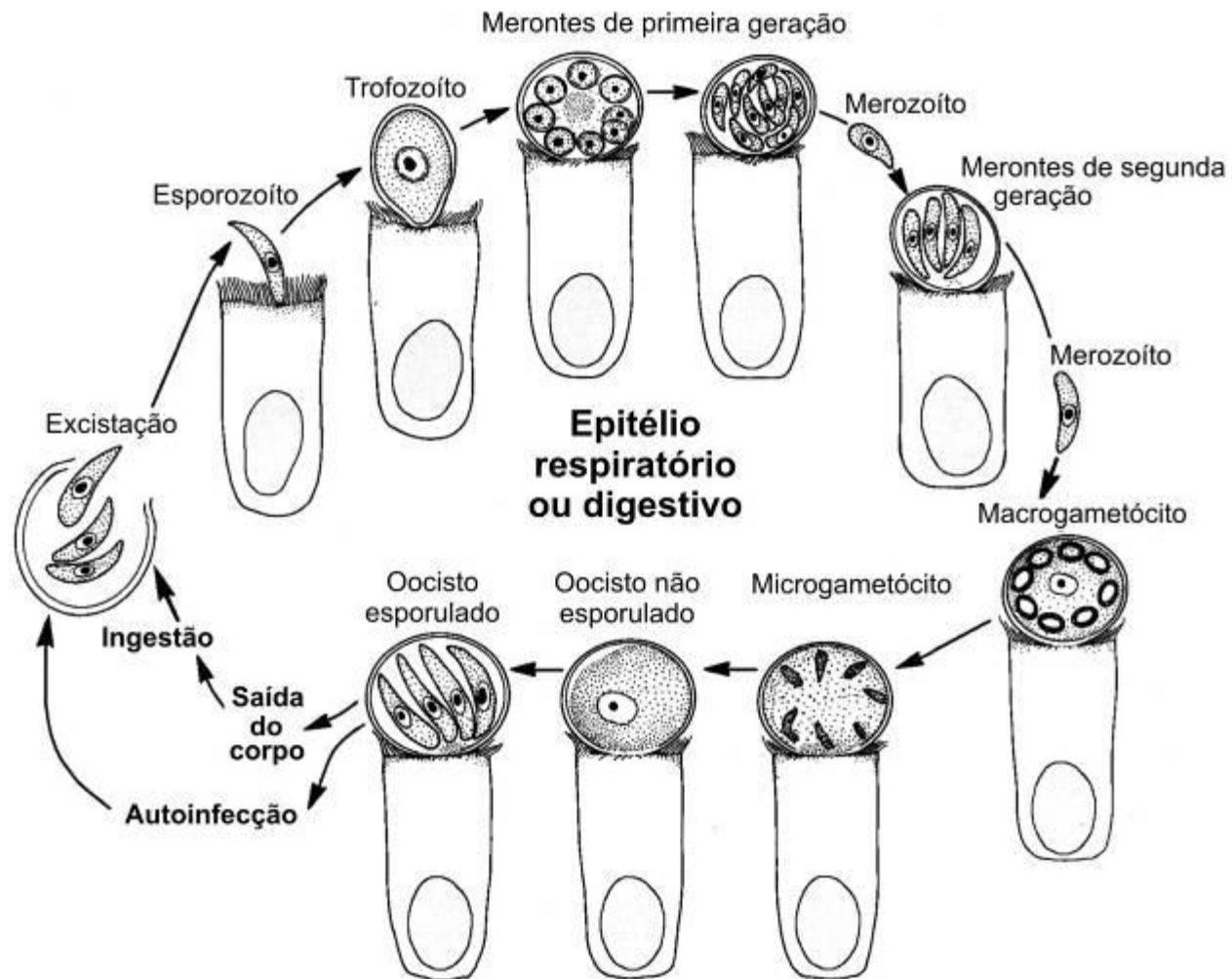


Ilustração disponível em
http://www.coccidia.icb.usp.br/disciplinas/BMP222/aulas/Sarcocystis_Cryptosporidium_2011.pdf



Ilustração disponível em www.coccidia.icb.usp.br

Oocistos presentes nas células epiteliais - intestinais. ID de ovelha

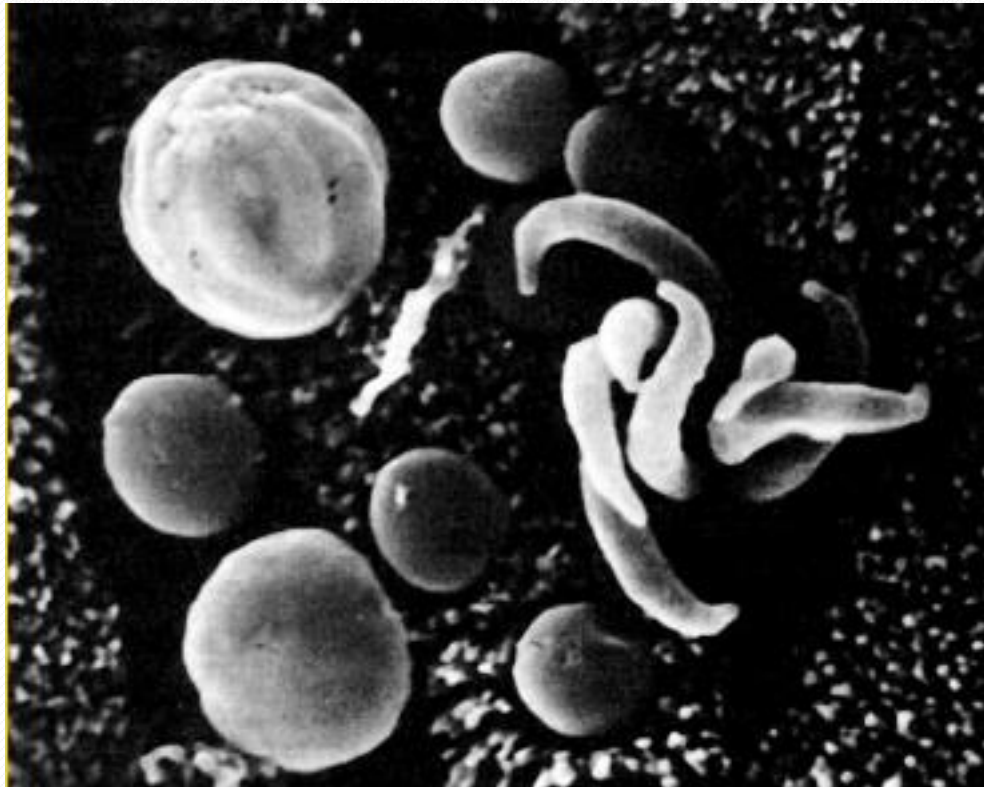


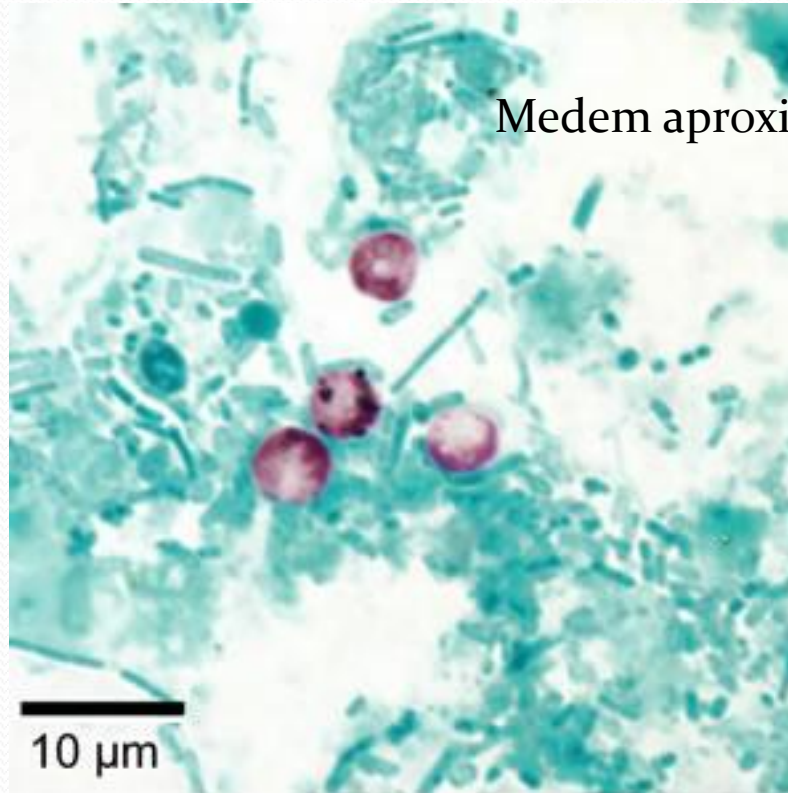
Ilustração disponível em www.coccidia.icb.usp.br

Meronte de *Cryptosporidium* com membrana externa destruída, expondo merozoítos.

Intestino delgado de ovelha – micrografia eletrônica de varredura



Ilustração disponível em www.coccidia.icb.usp.br



Medem aproximadamente 3 a 6 μm

Ilustração disponível em http://www.dpd.cdc.gov/dpdx/HTML/ImageLibrary/Cryptosporidiosis_il.htm

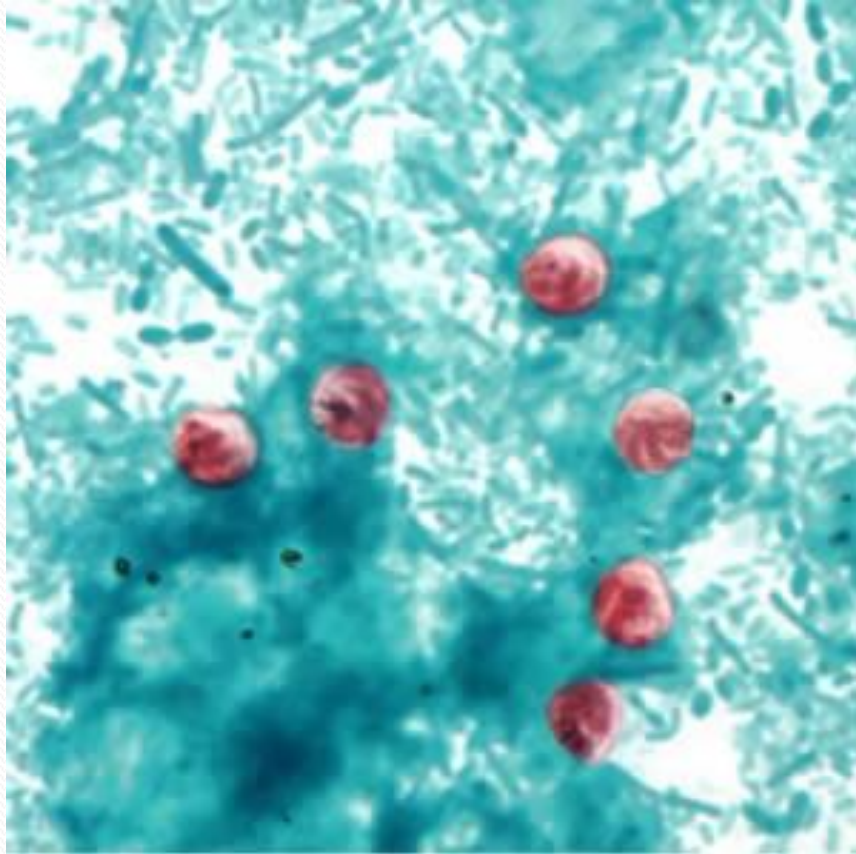


Ilustração disponível em http://www.dpd.cdc.gov/dpdx/HTML/ImageLibrary/Cryptosporidiosis_il.htm

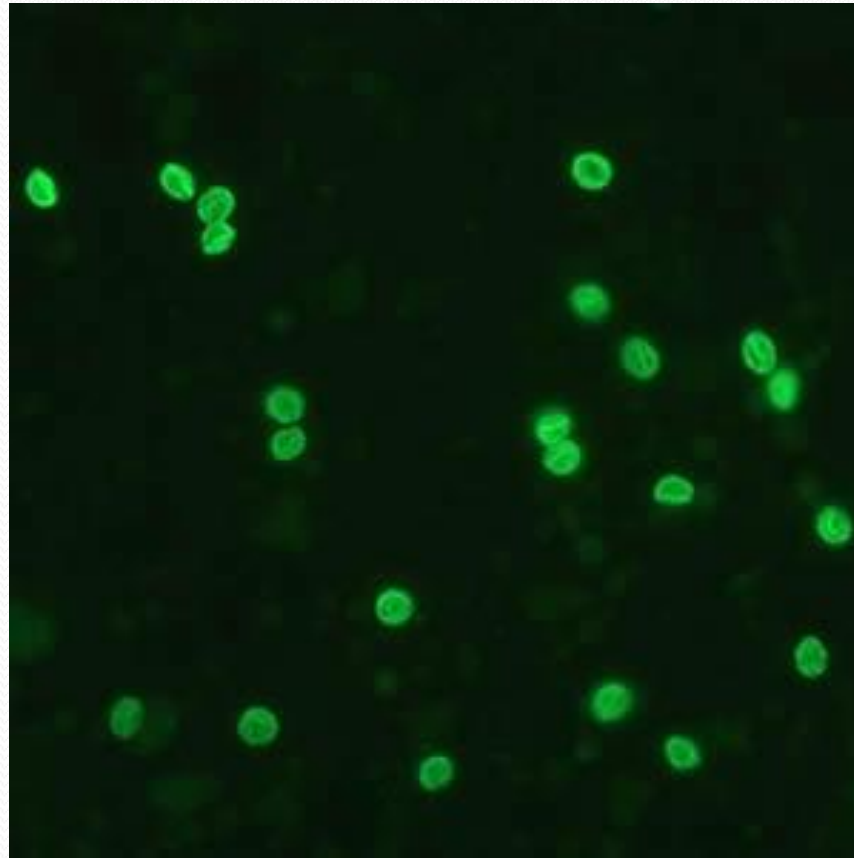


Ilustração disponpivel em http://www.dpd.cdc.gov/dpdx/HTML/ImageLibrary/Cryptosporidiosis_il.htm

Patologia

- Criptosporidiose
 - Oocistos aderidos a microvilosidades: síndrome de má absorção
 - Imunocompetentes: quadro benigno e autolimitante com duração de 10 dias.
 - Sintomas mais severos em crianças
 - Diarreia aquosa com 3 a 10 evacuações diárias que pode durar de 1 a 30 dias
 - Dor abdominal, anorexia, febre, dor de cabeça, náusea e vômito

Patogenia

- Imunodeficientes:
 - Diarreia crônica que pode durar meses
 - Desequilíbrio eletrolítico
 - Mortalidade elevada
 - Resistência a antimicrobianos

Cyclospora cayetanensis

- Filo: Apicomplexa
- Classe: Sporozoea
- Ordem: Eucoccidiida
- Família: Eimeriidae
- Gênero: *Cyclospora*

Cyclospora cayetanensis

- Formas evolutivas:
 - Esporozoítos
 - Trofozoítos
 - Merozoítos
 - Gametócitos
 - Oocistos com dois esporozítos

Cyclospora cayetanensis

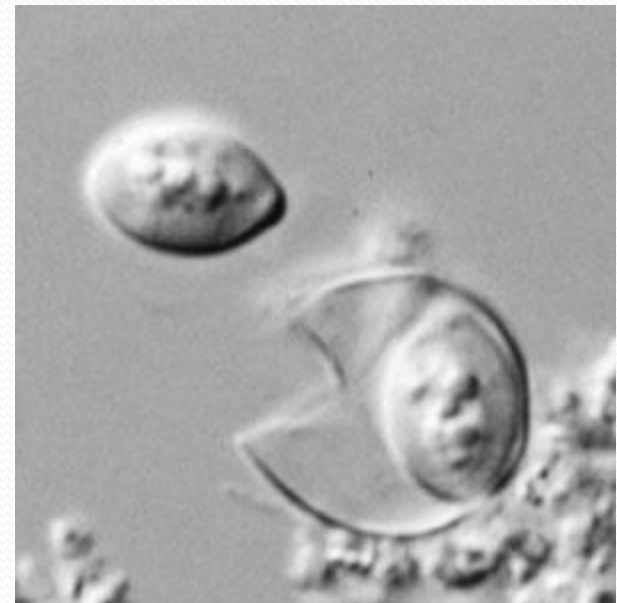
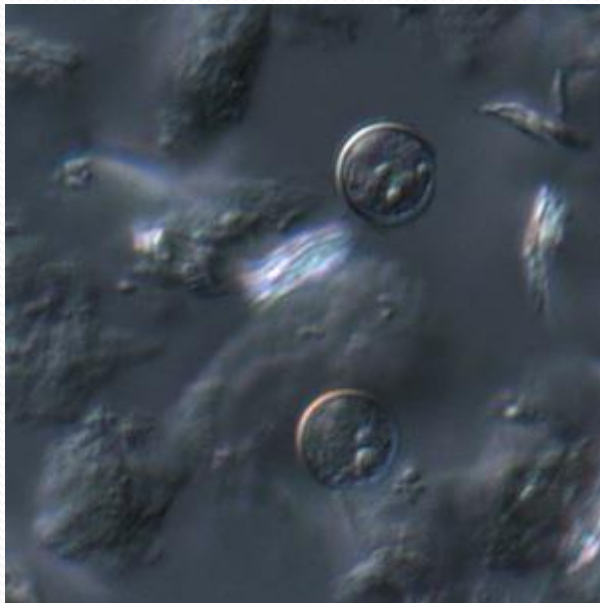
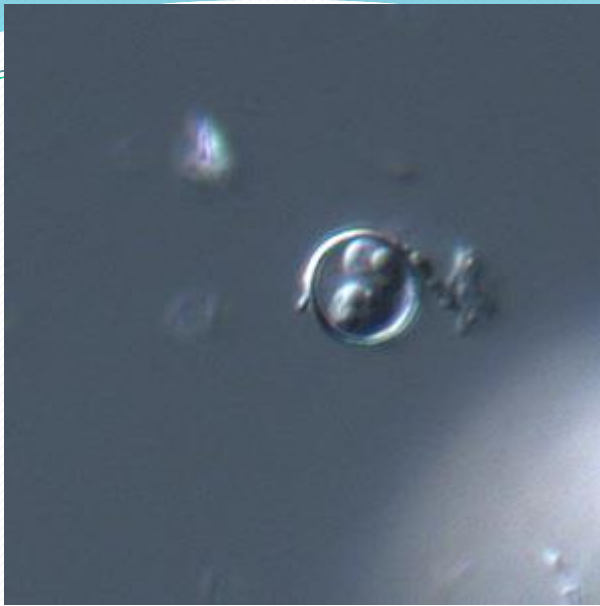
- Tipo de reprodução:
 - Assexuada: esquizogonia
 - Sexuada: gametogonia e esporogonia
- Reservatório:
 - Homem

Cyclospora cayetanensis

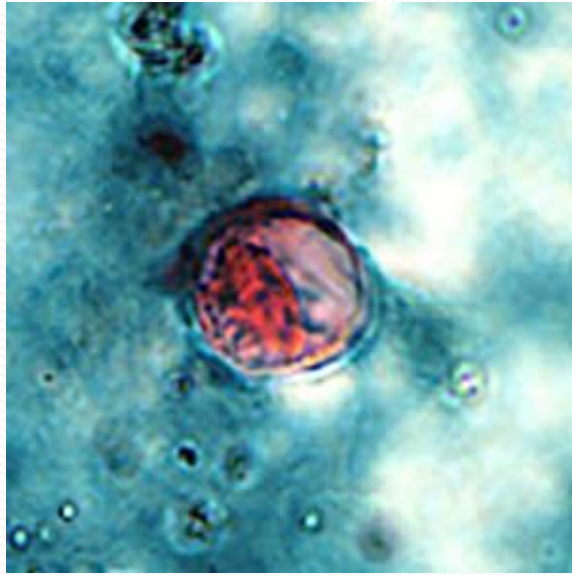
- Ciclo evolutivo
 - Ingestão de cistos esporulados contendo 2 esporcistos com 2 esporozoítos
 - Liberação dos esporozoítos e invasão celular (ID)
 - Diferenciação em trofozoítos e multiplicação por esquizogonia
 - Formação do esquizonte e liberação dos merozoítos
 - Novo ciclo ou produção de gametócitos
 - Formação de oocisto não esporulado eliminado nas fezes
 - Esporulação ocorre em dias à semanas em temperatura de 22 a 32°C

Cyclospora cayetanensis

- Oocisto semelhante ao de *Cryptosporidium*
- Esférico, membrana dupla , apresentando 8-10 μm de diâmetro (2x maiores do que os oocistos de *Cryptosporidium*)
- Utilização de morfometria com micrômetro ocular para identificação das espécies



Ilustrações disponíveis em http://www.dpd.cdc.gov/dpdx/html/ImageLibrary/Cyclosporiasis_il.htm



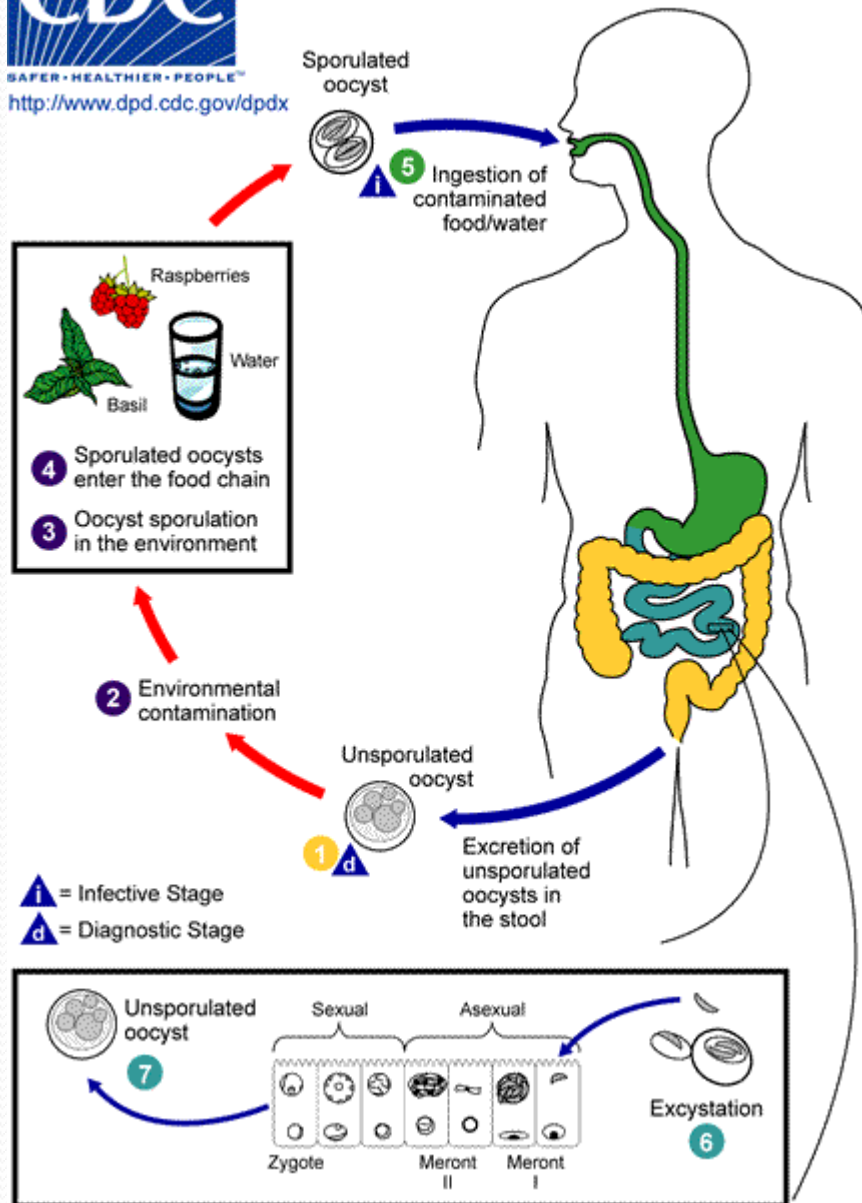
Oocisto de *C. cayetanensis* corado com safranina



Oocisto de *C. cayetanensis* visível à microscopia de UV



SAFER • HEALTHIER • PEOPLE™
<http://www.dpd.cdc.gov/dpdx>

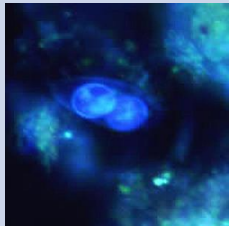
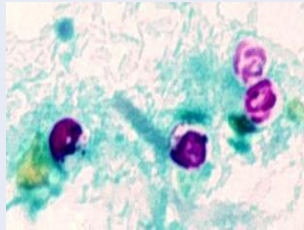



Patologia

- Assintomáticos
- Sintomáticos:
 - Diarreia: autolimitada que dura 3 a 4 dias com aproximadamente 4 a 10 evacuações diárias e explosivas;
 - podem ocorrer recaídas frequentes durante um período de 2 a 3 semanas
 - Aspecto não sanguinolento, mas com presença de fleuma

Patologia

- Outros sintomas:
 - dor abdominal, náuseas e vômitos, perda de peso, fadiga, febre baixa
-
- Em indivíduos imunocomprometidos o quadro diarreico é crônico e intermitente

Espécie	Forma encontrada nas fezes	Tamanho (µm)	Estrutura do oocisto	
<i>Isospora belli</i>	Oocisto não esporulado	30 x 12	2 esporocistos com 4 esporozoítos	
<i>Cryptosporidium parvum</i>	Oocisto esporulado	4 – 6	4 esporozoítos	
<i>Cyclospora cayetanensis</i>	Oocisto não esporulado	8 -10	2 esporocistos com 2 esporozoítos cada	

Diagnóstico

- Pesquisa de anticorpos circulantes: Elisa e IFI
- Microscopia por contraste de fase ou luz UV: autofluorescência
 - Filtro: 330-365 nm (oocistos de coloração azul)
 - 450-490 nm (oocistos de coloração verde)
- Pesquisa de oocisto em material de biópsia intestinal

Diagnóstico

- Pesquisa de oocisto nas fezes
 - Método de Sheather
 - Método de Willis
 - Coloração especial de Kinyoun (modificado)
 - Método de Henriksen e Pohlenz
 - Ziehl-Neelsen
 - Método da safranina

Diagnóstico

- **Método de Sheather**

- Preparar uma diluição de material fecal 1:2 com solução fisiológica
- Filtrar o material e transferi-lo para tubo cônico até atingir metade do tubo
- Completar o tubo com solução saturada de açúcar
- Cobrir o tubo com papel lamínula de plástico ou papel celofane transparente e homogeneizá-lo por agitação
- Retirar a lamínula e colocá-la sobre uma lâmina para análise em microscopia em objetiva de 40

Diagnóstico

- **Método de Willis**

- Colocar 10g de fezes num frasco de Borrel ou no próprio recipiente onde estão as fezes
- Homogeneíza-las com um pouco de solução saturada de sal (NaCl) ou de açúcar
- Completar o volume até a borda do frasco.
- Colocar na boca do frasco uma lâmina, que deverá estar em contato com o líquido.
- Deixar em repouso por 5 minutos.
- Findo esse tempo, retirar rapidamente a lâmina, deixando a parte molhada voltada para cima.
- Cobrir com lamínula, corar com Lugol e examinar com objetiva 10x.

Diagnóstico

- **Coloração especial de Kinyoun modificado (a frio)**
 - Análise de *Cryptosporidium spp* e *I. belli*
 - Oocistos coram-se do rosa ao vermelho, ao púrpura sobre fundo verde
 - Preparar esfregaço (não espesso) com uma ou duas gotas de fezes (frescas ou concentradas por método de MIFC)
 - Deixar secar a temperatura de 60°C
 - Fixar com álcool metílico por 30 seg (secar temperatura ambiente)
 - Corar com corante de Kinyoun por um minuto

Diagnóstico

- Lavar com água destilada Solução álcool ácido (ácido sulfúrico) por dois minutos
- Lavar com água destilada
- Corar o fundo com solução de verde de malaquita a 3% por dois minutos
- Lavar com água destilada
- Deixar o esfregaço secar e montar com resina sintética
- Examinar em objetiva de imersão

Diagnóstico

- **Método de Henriksen e Pohlenz**
 - Esfregaço permanente corado indicado para pesquisa de coccidioses intestinais
 - Utilizado para verificação da morfologia
 - Pesquisa de organismos omitidos na visualização de exame a fresco
 - Arquivo

Diagnóstico

- **Método de Henriksen e Pohlenz**

- Preparar um esfregaço delgado com parte do sedimento obtido após centrifugação.
- Deixar secar a temperatura ambiente.
- Fixar com álcool metílico por 5 minutos.
- Deixar secar a temperatura ambiente.
- Corar com o corante de Kinyoun (a frio), durante uma hora.
- Lavar em água corrente.

Diagnóstico

- Diferenciar com solução aquosa de ácido sulfúrico a 2% (30 segundos a um minuto) até que não saia mais corante da lâmina.
- Lavar em água corrente.
- Corar o fundo com solução de verde malaquita a 5%, por 8 minutos.
- Lavar em água corrente e secar.
- Examinar com objetiva de imersão.

Diagnóstico

- **Ziehl-Neelsen (à quente)**
 - Aquecimento da fucsina fenicada usada na coloração
 - Preparar a amostra com fezes frescas ou preservadas
 - Deixar secar a temperatura ambiente ou pelo aquecimento
 - Corar com fucsina-fenicada aquecendo a lâmina até a emissão de vapores por cinco minutos
 - Escorrer o corante e lavar com água corrente
 - Diferenciar com sol. aquosa de ácido sulfúrico a 5% por 30 segundos

Diagnóstico

- Lavar com água corrente.
- Corar o fundo com solução de azul de metileno a 0,3% por um minuto
- Lavar com água corrente e secar
- Montar resina sintética.

Diagnóstico

- **Método da safranina**
 - Oocistos corados de vermelho alaranjado com fundo azul ou verde.
 - Coloração uniforme para *Cyclospora cayetanensis*

Diagnóstico

- Preparar um esfregaço delgado com o material obtido por concentração (MIFC)
- Secar a temperatura ambiente
- Mergular as laminas em solução aquosa de safranina a 1% a aquecer no forno de microondas em potencia alta por 30''
- Lavar com água corrente por 30''
- Mergulhar a lâmina em sol aquosa de verde de malaquita ou azul de metileno 1% por 1'.
- Lavar em água corrente por 30''.
- Montar em resina sintética

Referência bibliográfica

- DE CARLI, Geraldo Attílio. **Parasitologia Clínica**. 2. Ed. São Paulo: Ed. Atheneu, 2007. 906p
- NEVES, David Pereira. **Parasitologia humana**. 11. Ed. São Paulo: Editora Atheneu, 2005. 494p.
- REY, Luis. **Bases da Parasitologia Médica**. 3. Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 2010. 391p.
- PEREIRA, J. T.; SOCCOL, V. T.; COSTA, A. O.; CASTRO, E. A.; OSAKI, S. C.; PAULINO, R. C.. **Cryptosporidium spp.: para controlar é necessário conhecer**. Departamento de Patologia Básica – Universidade Federal do Paraná. Revista Saúde e Ambiente / Health and Environment Journal, v. 10, n. 2, dez. 09
- www.dpd.cdc.gov
- www.coccidia.icb.usp.br
- <http://pathology5.pathology.jhmi.edu/micro/v18no9.htm>