

## Infeções gastrointestinais parasitárias em doentes sintomáticos: estudo observacional, setembro-novembro 2012

Cláudia Júlio, Mónica Oleastro

claudia.julio@insa.min-saude.pt

Laboratório Nacional de Referência de Infeções Gastrointestinais. Departamento de Doenças Infecciosas, INSA.

### Introdução

*Giardia duodenalis* é considerado o flagelado parasita mais comum do trato gastrointestinal dos vertebrados, possuindo um ciclo de vida monoxênico, em que a forma quística infeta o hospedeiro por via alimentar (1). O espectro clínico varia desde um quadro assintomático até ao aparecimento de episódios diarreicos, muitas vezes associados à perda de peso por má absorção intestinal (2). A giardiose é atualmente considerada uma parasitose re-emergente, apresenta uma distribuição à escala mundial e ocorre frequentemente sob a forma de surto (3).

*Cryptosporidium* spp. é um protozoário ubíquo, intracelular obrigatório, causador de infeção entérica em humanos e animais, designada por criptosporidiose (4). Foram já identificadas 26 espécies, das quais, seis são agentes etiológicos responsáveis pela infeção em humanos, sendo as mais comuns *C. hominis*, *C. parvum* e *C. meleagridis*, muito embora e ocasionalmente possam ocorrer infeções por *C. cuniculus*, *C. felis* e *C. canis* (5). A doença caracteriza-se por diarreia aguda e autolimitada na população saudável, sendo profusa e crónica no doente imunocomprometido e nas crianças durante o primeiro ano de vida. Apesar dos sintomas mais frequentes estarem associados à infeção do intestino delgado, o parasita também pode afetar outros órgãos do aparelho digestivo e também do aparelho respiratório, em particular os pulmões (6).

*Entamoeba histolytica* é o protozoário responsável pela disenteria amibiana bem como pelo aparecimento do abscesso hepático amibiano (7). De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), ocorrem anualmente 50 milhões de novos casos sintomáticos e 100.000 mortes em todo o mundo (8). Cerca de 90% das infeções são provocadas por *E. dispar* e 10% por *E. histolytica* (9). Este pa-

rasita tem a capacidade de destruir todos os tecidos e órgãos do corpo humano. Após a colonização intestinal os trofozoítos (forma trófica) disseminam para o fígado e daí para os restantes órgãos, sendo os mais afetados o cérebro, os pulmões e os olhos (10).

Segundo o relatório de 2013 do *European Centre for Diseases Prevention and Control* (ECDC), a incidência de giardiose foi de 5,49 casos por 100.000 habitantes nos países da União Europeia, tendo o maior número de casos ocorrido em crianças do género masculino com idade inferior a 5 anos (11). Segundo o mesmo relatório, a incidência de criptosporidiose (2 casos por 100.000 habitantes) tem-se mantido constante ao longo dos últimos cinco anos nos países da União Europeia. As crianças com idade inferior a 5 anos são consideradas um grupo de risco, apresentando uma taxa de incidência de 13,8/100.000 e 10,5/100.000, para o género masculino e feminino respetivamente (11). Em Portugal, os dados sobre a incidência destas infeções parasitárias são escassos, particularmente para a infeção por *E. histolytica*.

### Objetivo

Com este estudo pretendeu-se conhecer a frequência de infeções por *G. duodenalis*, *Cryptosporidium* sp. e *E. histolytica* em doentes com sintomas de infeção gastrointestinal, que recorreram às urgências ou consultas hospitalares entre setembro e novembro de 2012.

### Material e métodos

Foi utilizado um modelo de estudo observacional, transversal.

Participaram no estudo, os Laboratórios de Microbiologia dos Serviços de Patologia Clínica de 22 hospitais, distribuídos de norte a sul de Portugal Continental. Durante o período de estudo, todos os laboratórios hospitalares recolheram e prepararam uma amostra de fezes por doente com quadro clínico compatível com infeção gastrointestinal. As amostras biológicas foram posteriormente enviadas ao Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge (INSA), acompanhadas de um questionário, desenhado para o efeito, com dados demográficos e clínicos sobre os doentes elegíveis para o estudo.

O diagnóstico laboratorial de *G. duodenalis*, *Cryptosporidium* sp., *E. histolytica/dispar* foi efetuado pelo método ELISA (Ridascreen®

artigos breves\_ n. 10

Giardia, Ridascreen® Cryptosporidium e Ridascreen® Entamoeba, R-biopharm AG, Alemanha). Nas amostras com resultado de ELISA positivo para *E. histolytica/dispar*, a diferenciação entre a espécie patogénica *E. histolytica* e a não patogénica, *E. dispar*, foi efetuada por PCR em tempo real utilizando sondas FRET, após a extração automática de DNA (EasyMag, bioMerieux, França).

Para a análise descritiva recorreu-se ao cálculo de frequências absolutas e relativas. A análise univariada dos dados foi efetuada recorrendo ao software IBM SPSS (versão 22). A intensidade de associação entre variáveis foi estudada aplicando o teste do  $\chi^2$  ou o teste exato de Fisher, nos casos em que as frequências esperadas foram inferiores ou iguais a 5. Para todos os testes estatísticos utilizados foi considerado um nível de significância de 5%.

### Resultados e Discussão

No total foram analisadas 812 amostras de fezes de doentes com um quadro clínico de infeção gastrointestinal, sendo que 91,9% (747/812) dos doentes apresentavam amostras com uma consistência diarreica e 8,0% (65/812) tinham uma consistência pastosa. A idade média dos doentes foi de 34,3 anos (idade mínima=2 semanas; idade máxima=99 anos); 424 (52,2%) doentes pertenciam ao género masculino e 397 (48,9%) eram crianças com idade  $\leq 18$  anos.

O diagnóstico laboratorial mostrou que 8,7% (71/812) das amostras foram positivas, pelo menos, para um dos parasitas analisados. Verificou-se que nos 71 indivíduos infetados, 63 (88,7%) apresentavam infeção por um único parasita, dos quais 20,6% (13/63) foram infeções por *G. duodenalis*, 27,0% (17/63) por *Cryptosporidium* sp., 23,8% (15/63) por *E. histolytica* e 28,6% (18/63) por *E. dispar* (Tabela 1). Estes resultados contrariam os obtidos em trabalhos realizados noutros países, em que a prevalência de infeções por *G. duodenalis* é mais elevada do que a prevalência por *Cryptosporidium* sp e *E. histolytica* (12, 13). Igualmente noutros países, a razão das infeções por *E. dispar*/infeções por *E. histolytica* é de 3:1, sendo a espécie não patogénica *E. dispar* responsável pela maioria das colonizações (14). No presente estudo observou-se uma razão de 1:1. Nos oito (11,3%) doentes, em que foram detetados dois parasitas em simultâneo, um doente apresentou uma infeção por *G. duodenalis* e *Cryptosporidium* sp., um outro doente estava infetado com *Cryptosporidium* sp. e *E. dispar*, um outro com *G. duodenalis* e *E. dispar* e nos restantes cinco doentes a infeção simultânea foi por *G. duodenalis* e *E. histolytica*. A coinfeção parasitária tem sido descrita por vários autores (9, 10, 14), devendo-se fundamentalmente à grande disseminação das formas de resistência e à facilidade com que estas são transmitidas e veiculadas pela mesma fonte como a água e os alimentos contaminados.

Tabela 1: Distribuição percentual das infeções parasitárias por agente etiológico, idade, género e sintomatologia, após exclusão dos casos de coinfeção.

| Idade   | Resultados positivos |                            |                       |                  |
|---|----------------------|----------------------------|-----------------------|------------------|
|   | <i>G. duodenalis</i> | <i>Cryptosporidium</i> sp. | <i>E. histolytica</i> | <i>E. dispar</i> |
| Crianças ( $\leq 18$ anos)                        | 15,9% (10/63)        | 22,2% (14/63)              | 12,7% (8/63)          | 12,7% (8/63)     |
| Adultos (>18 anos)                                | 4,8% (3/63)          | 4,8% (3/63)                | 11,1% (7/63)          | 15,8% (10/63)    |
| Género  |                      |                            |                       |                  |
| Feminino  | 7,9% (5/63)          | 11,1% (7/63)               | 9,5% (6/63)           | 15,9% (10/63)    |
| Masculino   | 12,7% (8/63)         | 15,9% (10/63)              | 14,3% (9/63)          | 12,7% (8/63)     |
| Sintomatologia*                                   |                      |                            |                       |                  |
| Diarreia  | 10,7% (6/56)         | 10,7% (6/56)               | 21,4% (12/56)         | 8,9% (5/56)      |
| Diarreia aquosa ou com sangue e outros sintomas** | 7,1% (4/56)          | 16,1% (9/56)               | 3,6% (2/56)           | 12,5% (7/56)     |
| Sem Diarreia e outros sintomas**                  | 3,6% (2/56)          | 1,8% (1/56)                | 0,0%                  | 3,6% (2/56)      |

\* 7 doentes sem informação clínica e com resultado positivo para qualquer um dos agentes etiológicos.

\*\* Outros sintomas incluem dor abdominal, desidratação, febre e vômitos.

artigos breves\_ n. 10

A distribuição das infeções parasitárias ao longo do tempo mostrou que todas foram mais frequentes no mês de setembro, sendo a infeção por *E. histolytica/dispar* a que apresentou maior número de casos (34,9%, 22/63). Em relação à distribuição por regiões de saúde (zona norte, centro, Lisboa e vale do Tejo e sul) observou-se maior frequência para a infeção por *E. histolytica/dispar* na região norte (28,6%, 18/63) e para as infeções por *G. duodenalis* e *Cryptosporidium* sp. na região da grande Lisboa (11,1%, 7/63 e 20,6%, 13/63; respetivamente) quando comparado com as restantes regiões.

A frequência de *Cryptosporidium* sp. foi significativamente mais elevada nas crianças do que nos adultos (22,2% versus 4,8%,  $p=0,013$ ), particularmente para o grupo etário dos 0-4 anos. Em relação ao género, as frequências de infeção por *G. duodenalis*, *Cryptosporidium* sp. e *E. histolytica* foram superiores nos homens, em oposição à infeção por *E. dispar* que foi mais frequente no género feminino (Gráfico 1). Os dados anuais do ECDC suportam os obtidos neste estudo para as infeções por *G. duodenalis* e *Cryptosporidium* sp. (11).

Dos 56 casos positivos para *G. duodenalis* e *Cryptosporidium* sp, 23 (41,1%) doentes apresentaram diarreia com ou sem outros sintomas. Em relação à infeção por *E. histolytica* todos os doentes apre-

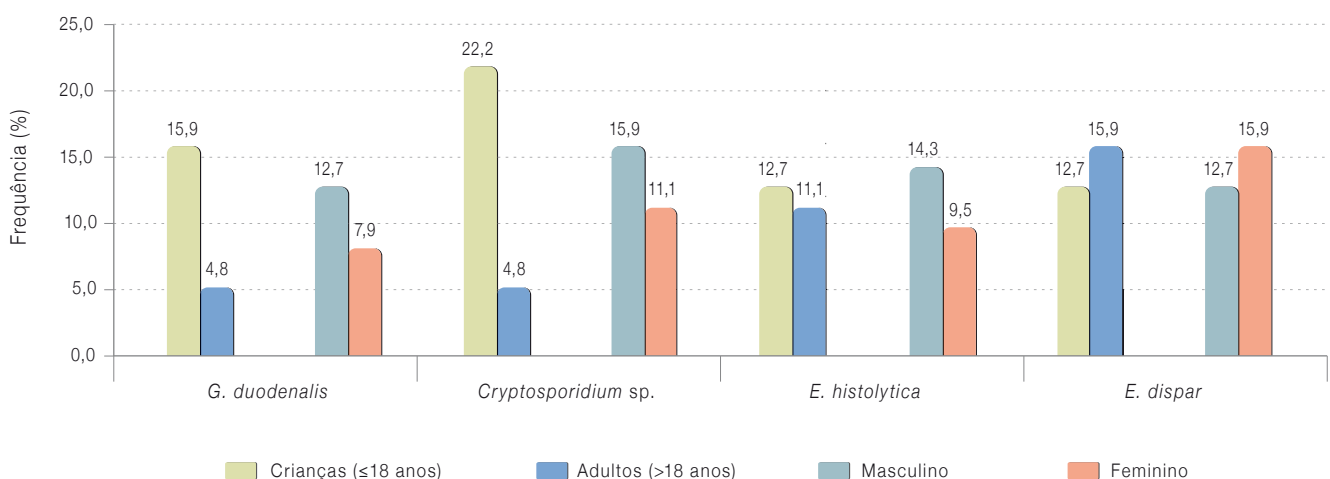
sentaram um quadro diarreico. Não podendo excluir a infeção por outros agentes etiológicos, observou-se que todos os doentes com infeção por *E. dispar*, espécie não patogénica, apresentaram sintomatologia (25%; 14/56) (Tabela 1).

### \_Conclusão

Em conclusão, os resultados obtidos foram semelhantes aos descritos noutros países europeus (13, 14, 15), no entanto salienta-se que o número de casos de infeção por *E. histolytica* foi comparável ao número de casos das restantes infeções parasitárias. Este facto, contradiz os resultados de outros estudos, em que a infeção por *E. histolytica* é esporádica e três vezes menos frequente do que a infeção por *E. dispar*.

Apesar das limitações do estudo, nomeadamente no que respeita à dimensão da população alvo e/ou duração do estudo, os resultados obtidos indiciam que estas infeções parasitárias são uma realidade em Portugal e que, por isso, requerem uma abordagem nacional para a sua prevenção e controle. Neste sentido, a recente inclusão da giardiose e da criptosporidiose na lista de Doenças de Declaração Obrigatória, por decisão do Ministério da Saúde e da Direção-Geral da Saúde, irá ser mais um passo crucial para a vigilância epidemiológica destas infeções.

Gráfico 1: Distribuição das infeções parasitárias por agente etiológico, idade e género, após exclusão dos casos de coinfeção (n=63).



## \_Agradecimentos

Às unidades de saúde que participaram neste estudo nomeadamente, o Centro Hospitalar de Vila Nova de Gaia/Espinho, a CUF Porto, o Centro Hospitalar Póvoa Varzim/Vila Conde, o Hospital de Braga, o Centro Hospitalar do Alto Ave, o Hospital de Santa Luzia, o Centro Hospitalar Cova da Beira, o Centro Hospitalar de Coimbra, o Centro Hospitalar Tondela/Viseu, o Centro Hospitalar Baixo Vouga, o Centro Hospitalar do Médio Tejo, o Hospital Distrital de Santarém, o Laboratório de Análises Clínicas Labeto, o Centro Hospitalar de Lisboa Central, o Hospital Cascais Dr. José de Almeida, o Hospital Fernando Fonseca, o Hospital Beatriz Ângelo, a Unidade Local de Saúde do Baixo Alentejo e o Centro Hospitalar do Algarve pela preparação do material biológico. Ao Dr. Alfredo Rodrigues da Isoder/RBiopharm pelo transporte para o INSA de todo o material biológico. À Doutora Cristina Furtado pela revisão científica do artigo.

## Referências bibliográficas:

- (1) Cacciò SM, Sprong H. Epidemiology of Giardiasis in Humans. In: *Giardia: a model organism* (eds HD Luján, S Svård). New York: Springer Wien, 2011, p. 17-28.
- (2) Robertson LJ, Hanevik K, Escobedo AA, et al. Giardiasis – why do the symptoms sometimes never stop? *Trends Parasitol.* 2010;26(2):75-82.
- (3) Thompson RCA, Monis PT. Variation in *Giardia*: implications for taxonomy and epidemiology. *Adv. Parasitol.* 2004; 58, 69-137.
- (4) Chalmers RM, Katzer F. Looking for *Cryptosporidium*: the application of advances in detection and diagnosis. *Cell Press.* 2013; 29(5):237-251.
- (5) Ryan UM, Xiao L. Molecular epidemiology and typing of non-human isolates of *Cryptosporidium*. In: *Giardia and Cryptosporidium: from molecules to disease.* (eds Ortega-Pierres G, Cacciò S, Fayer R, et al). Wallingford, UK ; Cambridge, MA : CABI, 2009, p. 65-80.
- (6) Xiao L, Fayer R, Ryan U, et al. *Cryptosporidium* taxonomy: recent advances and implications for public health. *Clin. Microbiol. Rev.* 2004; 17(1):72-97. [LINK](#)
- (7) Marn H, Ignatius R, Tannich E, et al. Amoebic liver abscess with negative serologic markers for *Entamoeba histolytica*: mind the gap! *Infection* 2012; 40(1):87-91.
- (8) World Health Organization. *Weekly Epidemiological Record.* 1997 4 apr; 72(14): 97-100. [LINK](#)
- (9) Jackson TF. *Entamoeba histolytica* and *Entamoeba dispar* are distinct species; clinical, epidemiological and serological evidence. *Int. J. Parasitol.* 1998; 28(1):181-6.
- (10) Fletcher SM, Stark D, Harkness J, et al. Enteric protozoa in the developed world: a public health perspective. *Clin. Microbiol. Rev.* 2012;25(3): 420-49. [LINK](#)
- (11) European Centre for Disease Prevention and Control. *Annual epidemiological report 2013: reporting on 2011 surveillance data and 2012 epidemic intelligence data.* Stockholm: ECDC, 2013. [LINK](#)
- (12) Amin OM. Seasonal prevalence of intestinal parasites in the United States during 2000. *Am J Trop Med Hyg.* 2002 Jun;66(6):799-803. [LINK](#)
- (13) Celiksöz A, Güler N, Oztop AY, et al. Prevalence of intestinal parasites in three socioeconomically-diferent regions of Sivas, Turkey. *J. Health Popul. Nutr.* 2005;23(2):184-91.
- (14) Herbinger KH, Fleischmann E, Weber C, et al. Epidemiological, clinical, and diagnostic data on intestinal infections with *Entamoeba histolytica* and *Entamoeba dispar* among returning travelers. *Infection.* 2011; 39(6):527-35.
- (15) González-Moreno O, Domingo L, Teixidor J, et al. Prevalence and associated factors of intestinal parasitisation: a cross-sectional study among outpatients with gastrointestinal symptoms in Catalonia, Spain. *Parasitol. Res.* 2011; 108(1): 87-93.