

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

DENISE MAY

**PRINCIPAIS ASPECTOS NO DIAGNÓSTICO LABORATORIAL DA
DIFILOBOTRÍASE HUMANA**

CURITIBA

2018

DENISE MAY

**PRINCIPAIS ASPECTOS NO DIAGNÓSTICO LABORATORIAL DA
DIFILOBOTRÍASE HUMANA**

Monografia apresentada como requisito parcial à obtenção do título de especialista no Curso de Análises Clínicas, Universidade Federal do Paraná.

Orientador: Prof. Dr. Wesley Mauricio de Souza.

CURITIBA

2018

PRINCIPAIS ASPECTOS NO DIAGNÓSTICO LABORATORIAL DA
DIFILOBOTRÍASE HUMANA

DENISE MAY¹, WESLEY MAURÍCIO DE SOUZA².

¹ Acadêmica do Curso de Pós-graduação em Análises Clínicas da Universidade Federal do Paraná (Curitiba, PR).

² Farmacêutico Bioquímico, Prof. Dr. da Universidade Federal do Paraná (Curitiba, PR).

RESUMO

A difilobotríase é uma infecção causada por um cestódeo *Diphyllobothrium* popularmente conhecido como a “tênia do peixe”, sendo que sua transmissão ocorre através do consumo de peixes crus, mal cozidos ou defumados que contêm a larva infectante. Pode ser assintomática ou causar sintomas tais como: vômitos, flatulência, dores epigástricas além de poder levar quadros de anemia por deficiência de vitamina B12. O principal diagnóstico é feito por meio do exame coproparasitológico onde os ovos são visualizados através de microscopia. Em alguns casos há liberação de proglotes nas fezes sendo de grande valia para o diagnóstico.

Palavras-chave: Difilobotríase. Diagnóstico. *Diphyllobothrium* spp.

ABSTRACT

Diphyllobothriasis is an infection caused by a *Diphyllobothrium* cestode popularly known as the "fish tapeworm", and its transmission occurs through consumption of raw, poorly cooked or smoked fish that contain the infecting larvae. It may be a symptomatic or cause symptoms such as: vomiting, flatulence, epigastric pain and may lead to vitamin B12 deficiency anemia. The main diagnosis is made through coproparasitological examination where the eggs are visualized by microscopy. In some cases there is proglottid release in the faeces being of great value for the diagnosis.

Key words: Diphyllobothriasis. Diagnosis. *Diphyllobothrium* sp.

INTRODUÇÃO

Antigamente as doenças transmitidas por alimentos possuíam uma maior limitação, porém fatores como crescimento dos mercados internacionais, migração populacional e mudança nos hábitos alimentares têm feito mudanças significativas nesse quadro (CHAI; MURRELL; LYMBERY, 2005).

A difilobotríase ocorre amplamente no mundo. Uma vez que esta doença muitas vezes não é reportada, informações sobre sua distribuição global se tornam difíceis, baseadas em número de pesquisas ou relatos de casos clínicos. Dados indicavam que 20 milhões de pessoas estão infectadas em todo o mundo, mas não há nenhuma estimativa mais recente sobre a prevalência global desta parasitose (SCHOLZ et al., 2009).

A difilobotríase é a mais importante zoonose transmitida por peixes, causada por um parasita cestóide (tênia). Espécies do gênero *Diphyllobothrium* (família Diphylobothriidae) são responsáveis pela maioria das infecções relatadas por cestóides em humanos. A zoonose ocorre mais comumente em países onde é freqüente a prática de consumir peixe cru ou marinado. Pelo menos 13 de cerca de 50 espécies de *Diphyllobothrium* foram reportadas em seres humanos. (CHAI; MURRELL; LYMBERY, 2005).

Na maioria das vezes, a doença é assintomática, mas alguns casos podem apresentar dor, desconforto abdominal, diarreia e anemia megaloblástica por deficiência de vitamina B12, devido ao fato da parasitose interferir na absorção intestinal dessa vitamina (SÃO PAULO, 2008).

No período de março de 2004 a maio de 2005 foram notificados ao Sistema de Vigilância das doenças de transmissão hídrica e alimentar pelo Centro de Vigilância Epidemiológica (DDTHA/CVE-SES/SP), 45 casos diagnosticados como sendo difilobotríase (EDUARDO et al., 2005).

O diagnóstico é feito principalmente pela identificação dos ovos com opérculo nas fezes por meio de exame microscópico e em alguns casos através do estudo das características dos proglotes (MENGHI et al., 2006).

É de grande importância o conhecimento dessa parasitose não só pelos profissionais que realizam o diagnóstico da doença, mas também pelos profissionais envolvidos na comercialização e inspeção de pescados, os quais têm a responsabilidade de assegurar aos consumidores produtos com qualidade.

A escolha do tema justifica-se pelo desconhecimento de muitos profissionais de análises clínicas a respeito da difilobotríase. O objetivo desse trabalho foi relatar os aspectos mais relevantes relacionados ao diagnóstico da doença, devido ao aumento do consumo de peixe na forma *in natura*, o que caracteriza essa doença como potencialmente emergente.

METODOLOGIA

O presente estudo constitui-se de uma ampla revisão da literatura, mediante consulta às bases de dados MedlinePubMed (US. National Library of Medicine National Institutes of Health, USA), SciELOBrazil (Scientific Electronic Library Online) e BIREME (Biblioteca Regional de Medicina, Centro Latino-Americano e do Caribe de Informação em Ciências da Saúde). A busca nos bancos de dados foi realizada utilizando as terminologias *Diphyllobothrium*spp, difilobotríase, cestóide e também palavras similares ao tema central em Inglês.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O *Diphyllobothrium* spp é um cestóide, conhecido como um dos maiores parasitas intestinais do homem e como a "tênia" do peixe. Diversas espécies de *Diphyllobothrium* podem parasitar os seres humanos, mas na América do Sul estes casos estão restritos a duas espécies: o *D. pacificum* e *D. latum*, sendo esta última mais prevalente (EDUARDO et al., 2005).

O gênero *Diphyllobothrium* difere do gênero *Taenia* pelo fato de apresentar escólexem forma de espátula, no qual encontram-se botrídeos ou sulcos profundos longitudinais, em número de dois, que servem como elementos de fixação, papel que na família *Taenidae* é desempenhada por ganchos e ventosas ou somente por ventosas (MIRANDA, 1991).

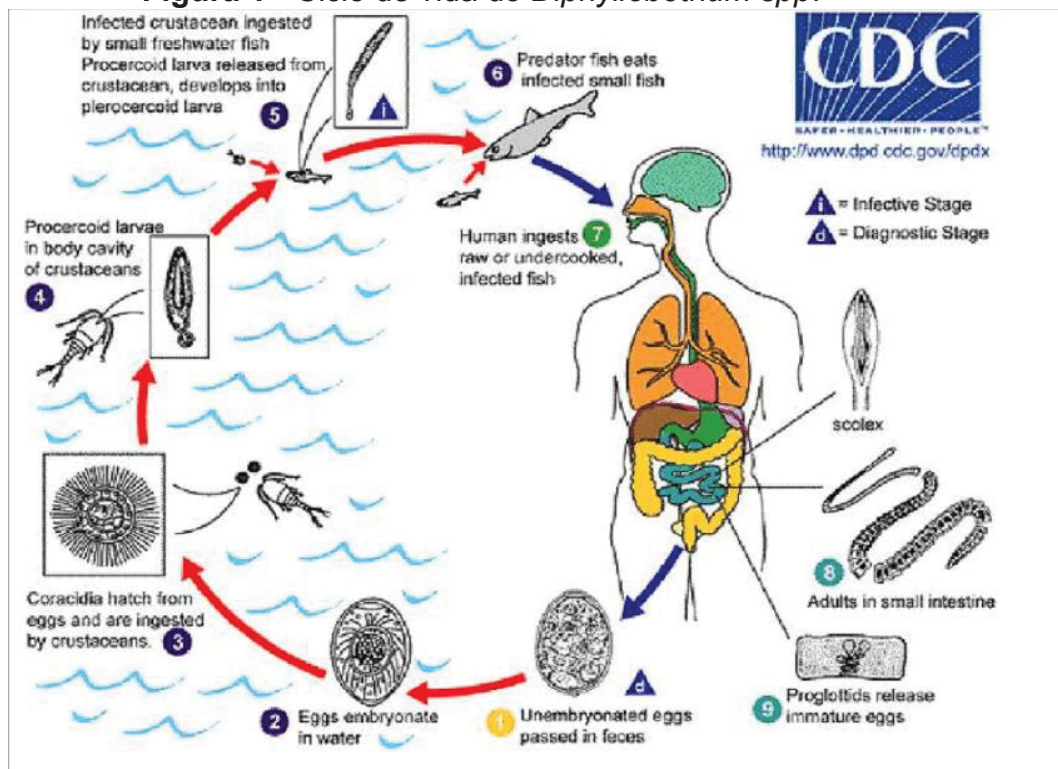
As tênia de *Diphyllobothrium* estão entre os maiores parasitas humanos e podem crescer de 2 a 15 metros de comprimento quando adultos no intestino, sendo que já foi relatado o comprimento máximo de 25 m com até 4.000 proglotes (SCHOLZ et al., 2009).

A difilobotríase geralmente é uma condição assintomática, porém muitos casos sintomáticos passam despercebidos devido a presença de alguns sintomas

inespecíficos, como náuseas, desconforto intestinal e diarreia. Entretanto, em alguns casos, a anemia megaloblástica se desenvolve como resultado da deficiência de vitamina B12 (VUYLSTEKE et al., 2004).

O *Diphyllobotrium spp* instala-se no intestino delgado onde ataca a mucosa. Ovos são liberados pelas proglotes e eliminados nas fezes do hospedeiro. Sob condições apropriadas, os embriões contidos nos ovos (aproximadamente de 8 dias a várias semanas) desenvolvem-se em coracídios, saindo dos ovos. Os coracídios, após ingeridos por crustáceos (*Cyclops* e *Diaptomus*), transformam-se em larvas procercóides. Os peixes ingerem este crustáceo que contém a larva, onde esta migra para o músculo do peixe, desenvolvendo-se larvas em plerocercóides. A transmissão pode ocorrer, quando um peixe de maior tamanho se alimenta de um peixe de menor tamanho contaminado. A infecção em humanos ocorre quando são ingeridos peixes crus ou mal cozidos que contêm a larva infectante e no intestino do homem atinge o estágio adulto. Os ovos aparecem nas fezes de 5 a 6 semanas após a ingestão da larva (Figura 1) (CVE-SES/SP, 2005).

Figura 1 - Ciclo de vida do *Diphyllobotrium spp*.



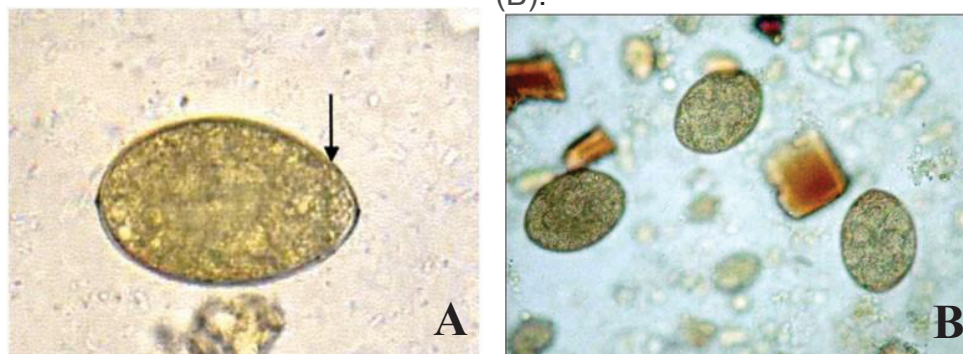
Fonte: CDC (2017).

O diagnóstico da parasitose é laboratorial, feito a partir de exames microscópicos de amostras de fezes ou das proglotes eliminadas nas fezes. O

número de ovos por grama de fezes geralmente é elevado, e podem ser demonstrados sem técnicas específicas de concentração. Exame das proglotes é de grande valia para o diagnóstico (EDUARDO et al., 2005).

O diagnóstico da difilobotríase baseia-se principalmente em achados dos ovos nas fezes (LELTINOVÁ et al., 2016). Os ovos são ovais, camada externa espessa contendo um opérculo em uma extremidade e um botão no sítio oposto, não sendo embrionados. Geralmente são produzidos uma grande quantidade de ovos podendo chegar até 1 milhão a cada dia. Os ovos medem geralmente 55-75 μm por 40-60 μm (Figura 2) (SANTOS; FARO, 2005).

Figura 2 - Ovos apresentando opérculo em uma extremidade (seta) e botão no sítio oposto (A). Ovos de *Diphyllobothrium latum* medindo aproximadamente 64X45 μm (B).



Fonte: A - Santos e Faro (2005). B - Emmel et al. (2006).

Os diagnósticos baseados na morfologia são baratos e relativamente fáceis, mas na maioria dos casos não permitem a identificação em nível de espécie. Contudo, a identificação específica das amostras clínicas não é essencial para o tratamento eficaz da maioria das infecções humanas por *Diphyllobothrium* (SCHOLZ et al., 2009).

Scholz et al. (2009) demonstraram em seus estudos que o tamanho dos ovos se trata de uma característica distintiva inadequada entre espécies de *Diphyllobothrium* corroborando a necessidade de análises moleculares para diagnósticos específicos. Os ovos analisados não foram morfologicamente diferentes entre as espécies, apresentando-se ovóides a elipsoides, com casca relativamente espessa e imatura, sem um verme larval no interior.

A morfometria de ovos tem sido comumente usada para identificação de espécies de *Diphyllobothrium* em amostras de fezes de hospedeiros infectados. No

entanto, a maioria dos autores utilizaram apenas intervalos (mínimos e máximos) de descrições de ovos, que se sobrepõem à maioria das espécies. A análise morfométrica de todos os ovos mostrou grande variabilidade de tamanho na maioria das espécies estudadas. (LELTINOVÁ et al., 2016). Andersen e Halvorsen (1978) demonstraram que o uso do tamanho do ovo na delimitação e identificação de espécies de *Diphyllobothrium* é inadequado e muitos fatores devem ser considerados antes que o tamanho do ovo possa ser usado como critério taxonômico. Contudo, embora as dimensões dos ovos não possam ser utilizadas como critério taxonômico exclusivo, os ovos de *D. pacificum* são menores que os do *D. latum*. (EDUARDO et al., 2005).

Os proglótides foram caracterizados pela presença do útero com uma porção posterior firmemente enrolada e um anterior com 4 a 7, mais frequentemente 5 voltas em ambos os lados da linha média, presença de constrição entre proglóteses (Figura 3) (SEMENAS; KREITER; URBANSKI, 2001).

Figura 3 - Útero típico em forma de roseta *Diphyllobothrium latum*.



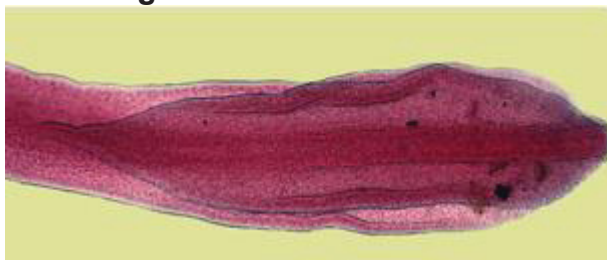
Fonte: Llaguno et al. (2008).

A identificação específica de *Diphyllobothrium* deve basear-se em vários caracteres, como a forma de escólex, comprimento do pescoço, morfologia interna e externa de proglótides, incluindo largura máxima do estróbilo, limites do tipo de segmentos, forma do ovário, número de espirais uterinas em proglótides grávidas com ovos, posição do átrio genital, morfologia de cirro, bolsa de cirro, vesícula seminal, vagina e poro uterino, presença ou ausência de convergência de fraturas vitelinas e testículos na região anterior à bolsa cirro (KNOFF et al., 2011).

Os caracteres do escólex, do útero e de outros elementos morfológicos são utilizados na taxonomia das espécies. O escólex, em função de suas dimensões reduzidas, raramente é coletado pelo paciente. O escólex do *D. latum* tem a forma

de espátula e apresenta dois sulcos profundos longitudinais, denominados botrídios, que servem como elemento de fixação (Figura 4).

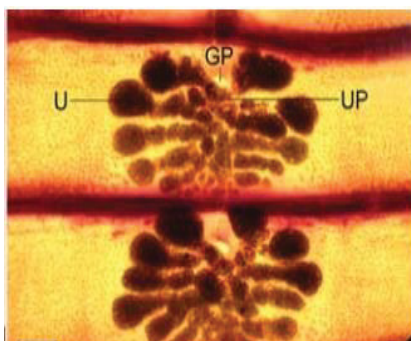
Figura 4 - Escólex *D. latum*.



Fonte: CDC (2017).

Cada proglote contém todo o aparato reprodutor masculino e feminino. O útero central nasce do oótipo, com circunvoluções em forma de roseta até alcançar o poro uterino situado na superfície ventral, atrás e ao lado do poro vaginal (Figura 5).

Figura 5 - Proglótides grávidas, útero (U) em forma de roseta, ocupando a extensão total do segmento, poro uterino (UP) abaixo do poro genital comum (GP), mediano-ventral.



Fonte: Knoff et al., 2011.

As espécies de *Diphylobothrium* podem ser distinguidas pelo formato e tamanho do escólex, pescoço e órgãos genitais, isto é, características morfológicas que não são possíveis de serem avaliadas na maioria dos casos clínicos (o escólex e o pescoço são encontrados e os proglótides são deformados ou decompostos como resultado de tratamento com anti-helmínticos ou com processamento de amostra inadequado) (KUCHTA et al., 2013).

A identificação das espécies do gênero *Diphylobothrium* é muito difícil de ser realizada pela observação morfológica. A análise molecular por PCR representa a única maneira confiável para identificar esses parasitas em nível de espécie. No entanto, os métodos moleculares ainda são raramente empregados em laboratórios de rotina devido a razões econômicas e técnicas. Além disso, todas as espécies de

Diphyllobothrium que infectam humanos causam sintomas semelhantes, e as infecções são tratadas com sucesso com praziquantel, o que pode levar a pensar que uma identificação adicional e específica do agente causador é inútil para a prática (WICHT et al., 2010).

A identificação dos parasitas em nível de espécie contribuiria para uma melhor compreensão da presente epidemiologia do parasita. Através de casos recentes, infecções humanas com espécies importadas de *Diphyllobothrium* podem estar presentes em diversos países, muitas vezes sendo subestimado. Parasitas importados também podem melhorar a probabilidade do surgimento de surtos (SCHOLZ et al., 2009).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A difilobotríase humana não é uma doença fatal e os sintomas geralmente são leves, apesar do grande tamanho que as tênia podem atingir. O número de casos humanos não declina, atingindo cerca de 20 milhões de casos em todo o mundo (LELTINOVÁ et al., 2016).

A introdução de pratos como “Sushi”, “Sashimi” ou “Ceviche” em países como o Brasil, onde não eram tradicionalmente consumidos, aumentou consideravelmente nos últimos anos. Evitar pratos contendo peixe cru é praticamente impossível, portanto a luta contra essa infecção deve incluir diversas outras medidas como: melhor fiscalização sobre o alimento fornecido e principalmente alertar a população sobre os riscos de ingerir tais alimentos. A grande maioria das pessoas no Brasil não está ciente desse risco à saúde pública.

Alguns aspectos sobre a importância da identificação de espécies merecem ser discutidos. O diagnóstico das espécies de *Diphyllobothrium*, bem como a detecção de suas fontes de infecção humana são de grande importância em relação à epidemiologia. Devido à recente disseminação da difilobotríase em vários países, o diagnóstico correto é de extrema importância para uma melhor compreensão da distribuição e do ciclo de vida das espécies infectantes humanas.

REFERÊNCIAS

- ANDERSEN, Karin; HALVORSEN, Odd. Egg size and form as taxonomic criteria in *Diphyllobothrium* (Cestoda, Pseudophyllidea). **Parasitology**, v. 76, n. 02, p.229-240, abr. 1978
- CARGNELUTTI, E. D.; SALOMÓN C. M. Difilobotriosis humana. Um caso en área no endémica de la argentina. **Medicina (Buenos Aires)**, v. 72, n.1, p. 40-42, 2012.
- CDC. Centers for Disease Control and Prevention. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/parasites/diphyllobothrium/>>. Acesso em: 01 ago. 2017.
- CHAI, Jong-yil; MURRELL, K. Darwin; LYMBERY, Alan J..Fish-borne parasitic zoonoses: Status and issues. **International Journal for Parasitology**, v. 35, n. 11-12, p.1233-1254, out. 2005.
- CVE. Manual das doenças transmitidas por água e alimentos. *Diphyllobothrium*spp / Difilobotríase. 2005. Disponível em: <<http://cve.saude.sp.gov.br/resources/cve-centro-de-vigilancia-epidemiologica/areas-de-vigilancia/doencas-transmitidas-por-agua-e-alimentos/doc/2005/diphy.pdf>>. Acesso em: 03 jun. 2018.
- EDUARDO, M. B. P. et al.. *Diphyllobothrium* spp.: um parasita emergente em São Paulo, associado ao consumo de peixe cru: sushis e sashimis. **Boletim Epidemiológico Paulista**, 2 (15): 1–5, 2005.
- EDUARDO, M. B. P. et al.. Investigação epidemiológica do surto de difilobotríase, São Paulo, maio de 2005. **Boletim Epidemiológico Paulista**. 2(17):1-12, 2005.
- EMMEL, Vanessa Erichsen et al.. *Diphyllobothrium latum*: relato de caso no Brasil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 39, n. 1, p. 82-84, fev. 2006.
- KNOFF, Marcelo et al...*Diphyllobothrium latum* and *Diphyllobothrium* sp. As the agents of Diphylobotrioses in Brazil: morphological analysis and two new case reports. **Rev. Bras. Med. Vet.**, v.33, n.3, p.159-164, jul/set 2011.
- KUCHTA, Roman et al.. Tapeworm *Diphyllobothrium dendriticum* (Cestoda) - Neglected or Emerging Human Parasite? **PlosNeglected Tropical Diseases**, [s.l.], v. 7, n. 12, p.e2535, 26 dez. 2013.
- LELTINOVÁ, Kateřina et al.. Eggs as a Suitable Tool for Species Diagnosis of Causative Agents of Human Diphyllobothriosis (Cestoda). **PlosNeglected Tropical Diseases**, v. 10, n. 5, e0004721, 25 maio 2016.
- MENGHI, Claudia Irene et al.. Difilobotriosis humana: primer caso por consumo de sushi en Buenos Aires, Argentina. **Parasitología Latino americana**, v. 61, n. 3-4, p. 165-167, dez. 2006.

MIRANDA, Hernan. Difilobotríase. In: VERONESI, Ricardo. **Doenças Infecciosas e Parasitárias**. 8. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1991. Cap. 106. p. 892-894.

LLAGUNO, Mauricio M. et al. Diphylobothrium latum infection in a non-endemic country: case report. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 41, n. 3, p.301-303, jun. 2008.

SANTOS, Fln; FARO, Lb de. The first confirmed case of Diphylobothrium latum in Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 100, n. 6, p.585-586, out. 2005.

SÃO PAULO (Estado). Secretaria de Estado da Saúde. Coordenadoria de Controle de Doenças. Divisão de Doenças de Transmissão Hídrica e Alimentar. Informações básicas sobre a difilobotríase: perguntas e respostas. São Paulo, Jan. 2008.

Disponível em: <http://www.saude.sp.gov.br/resources/cve-centro-de-vigilancia-epidemiologica/areas-de-vigilancia/doencas-transmitidas-por-agua-e-alimentos/doc/2009/2009informacao_basica_diphy.pdf>. Acesso em: 30 maio 2018.

SCHOLZ, T. et al.. Update on the Human Broad Tapeworm (Genus Diphylobothrium), Including Clinical Relevance. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 22, n. 1, p.146-160, 1 jan. 2009.

SEMENAS, Liliana; KREITER, Ana; URBANSKI, Javier. New cases of human diphylobothriosis in Patagonia, Argentine. **Revista de Saúde Pública**, v. 35, n. 2, p. 214-216, abr. 2001.

VUYLSTEKE, Peter et al.. Case of megaloblastic anemia caused by intestinal taeniasis. **Annals Of Hematology**, v. 83, n. 7, p.487-488, 1 jul. 2004.

WICHT, B. et al. Multiplex PCR for Differential Identification of Broad Tapeworms (Cestoda: Diphylobothrium) Infecting Humans. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 48, n. 9, p.3111-3116, 30 jun. 2010.