

AMEBÍASE INTESTINAL: DIAGNÓSTICO CLÍNICO E LABORATORIAL

Ana Carolina Bernardes Dulgheroff¹, Rosângela de Sousa Almeida², Maria Divina Mota dos Santos Souza², Lorena Melo Damasceno², Zildete dos Santos Paz²

A amebíase intestinal é causada pela *Entamoeba histolytica* e apresenta altas taxas de morbidade e mortalidade, principalmente em países em desenvolvimento. No Brasil, a prevalência da infecção varia muito (0 a 61%) dependendo da cidade e da técnica utilizada para diagnóstico. Diante disso, o presente trabalho teve por objetivo fazer uma revisão bibliográfica das características clínicas e do diagnóstico laboratorial da amebíase intestinal. A maioria das infecções por *E. histolytica* são assintomáticas, os indivíduos sintomáticos, em geral, apresentam dores abdominais e diarreia com presença de muco e sangue nas fezes. O diagnóstico rotineiro da amebíase é feito através da identificação morfológica dos cistos e trofozoítos da *E. histolytica*, no entanto este método é incapaz de diferenciar as espécies pertencentes ao complexo *E. histolytica/E. dispar/E. moshkovskii*, devido à semelhança morfológica entre estas espécies. Assim, a pesquisa de antígenos da *E. histolytica* nas fezes ou a utilização de técnicas de biologia molecular são essenciais para diferenciação dessas *Entamoebas* e consequentemente para o entendimento da epidemiologia de cada uma delas, direcionando a conduta terapêutica na tentativa de prevenir a forma invasiva da doença.

Palavras-Chave: Amebíase Intestinal. Diagnóstico. Conduta Terapêutica.

Intestinal amebiasis is caused by *Entamoeba histolytica* and has high rates of morbidity and mortality, especially in developing countries. In Brazil, the prevalence of infection varies widely (0-61%) depending on the city and the technique used for diagnosis. So this study aimed to conduct a literature review of the clinical features and laboratory diagnosis of intestinal amebiasis. Most *E. histolytica* infections are asymptomatic, symptomatic individuals generally have abdominal pain and diarrhea with mucus and blood in the stool. The routine diagnosis of amebiasis is made by morphological identification of cysts and trophozoites of *E. histolytica*, but this method is unable to differentiate the species of the complex *E. histolytica / E. dispar / E. moshkovskii* due to morphological similarity between these species. Thus the search of the antigens of *E. histolytica* in stool or the use of molecular biology techniques are essential for differentiation of these *Entamoebas* and consequently for understanding the epidemiology of each one, directing the therapeutic approach in an attempt to prevent invasive disease.

Keywords: Intestinal Amebiasis. Diagnosis. Therapeutic Approach.

¹ Coordenação de Pesquisa, Pós-Graduação e Inovação e Professora do Ensino Básico Técnico e Tecnológico; Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Tocantins (IFTO), *Campus* Araguaína. Av. Amazonas, Quadra 56, Lote 01, Setor Cimba. CEP: 77826-170, Araguaína, Tocantins, Brasil. Tel: (63) 3411-0300. Doutoranda em Ciências da Saúde; Universidade Federal do Triângulo Mineiro. Av. Frei Paulino, 30. Bairro Abadia. CEP: 38025-180, Uberaba-MG, Brasil. E-mail: anadulgheroff@gmail.com.

² Alunas do Curso Técnico em Análises Clínicas; Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Tocantins (IFTO), *Campus* Araguaína. Av. Amazonas, Quadra 56, Lote 01, Setor Cimba. CEP: 77826-170, Araguaína, Tocantins, Brasil. E-mail: rd.souzaalmeida@uol.com.br; mariadivina_mota33@gmail.com; loreninha_melo94@hotmail.com.

1. INTRODUÇÃO

A amebíase humana é uma infecção causada pelo parasito protozoário conhecido como *Entamoeba histolytica*, independente da ocorrência de sintomatologia clínica (WHO, 1997). A doença foi descoberta por Loesch (1875), através da visualização de trofozoítas nas fezes de pacientes com disenteria. Usualmente os trofozoítos residem no cólon como comensais, no entanto, por motivos ainda não estabelecidos, podem adquirir fenótipo patogênico e causar disenteria, colite ou abscesso hepático (MORTIMER; CHADEE, 2010).

A doença é transmitida através de ingestão de água e alimentos contaminados com o cisto da *E. histolytica*, assim, apesar de a infecção ser cosmopolita, observa-se uma prevalência maior em países em desenvolvimento devido às más condições de saneamento básico e distribuição de água potável (DE CARLI; TASCA, 2007).

Walsh (1986) estimou que provavelmente cerca de 500 milhões de pessoas estivessem infectadas por *E. histolytica* e que aproximadamente 100 mil morrem anualmente em consequência da forma invasiva da doença. No entanto, hoje sabemos que estes números estão superestimados, já que a diferenciação entre *E. histolytica*, *Entamoeba dispar* e *Entamoeba moshkovskii*, que são amebas microscopicamente indistinguíveis, não foi realizada. Assim, a presente situação epidemiológica da amebíase em diversos países ainda não está clara, porque a maioria das pesquisas é baseada apenas no exame microscópico de amostras de fezes. A *E. histolytica* é a única espécie reconhecida como patógeno humano, as outras são consideradas não-patogênicas, apesar de já terem sido isoladas em pacientes com sintomas gastrointestinais (FOTEDAR et al., 2007a).

No Brasil a amebíase constitui um sério problema de saúde pública e a prevalência da infecção por *Entamoeba histolytica* varia muito (0 a 61%) dependendo da cidade e da técnica utilizada para diagnóstico (Tabela 1). Altas prevalências (3,4 a 61%) são observadas quando se utiliza para diagnóstico a análise microscópica das fezes, pois esta técnica não diferencia *E. histolytica*, *E. dispar* e *E. moshkovskii*. No entanto, quando se utiliza uma técnica que detecta antígenos (enzimaimuno-

ensaio) ou DNA específico (reação em cadeia da polimerase) da *E. histolytica* a prevalência diminuiu muito, mostrando que a maioria dessas pessoas encontram-se infectadas por outra ameba que não a *E. histolytica*.

Tabela 1. Prevalência da *Entamoeba histolytica* no Brasil de acordo com a cidade e técnica de diagnóstico.

| Cidade | Estado | Prevalência (%) da <i>E. histolytica</i> | | | Referência |
|----------------|--------|--|--------------------|------|-----------------------|
| | | Análise Microscópica ¹ | ELISA ² | PCR | |
| Ilhéus | BA | 25,0 | 2,1 | 0,0 | SANTOS et al., 2014 |
| Salvador | BA | 3,4 | NR | 0,0* | SANTOS et al., 2011 |
| Campina Grande | PB | 46,3 | 0,0 | NR | SILVA et al., 2014 |
| Recife | PE | 4,7 | 0,0 | NR | DOURADO et al., 2006 |
| Ariquemes | RO | 61,0 | 36,6 | NR | SANTOS et al., 2013 |
| Monte Negro | RO | 44,0 | 19,4 | NR | SANTOS et al., 2013 |
| Manaus | AM | 21,5 | 6,8 | NR | BENETTON et al., 2005 |
| Divinópolis | MG | 5,7 | 3,1 | NR | PEREIRA et al., 2014 |

¹Não diferencia *E. histolytica*, *E. dispar* e *E. moshkovskii*

²Específico para detecção de antígeno *E. histolytica*

*Feita só de 15% das amostras

ELISA: Enzimaimunoensaio; PCR: Reação em Cadeia da Polimerase; NR: Não Realizado

Fonte: Benetton, 2005; Dourado, 2006; Santos, 2011; Santos, 2013; Santos, 2014; Silva, 2014. Adaptado.

Como cada uma das espécies de *Entamoebas* contribuem para a prevalência geral das infecções precisa ser melhor elucidado. A utilização de métodos para pesquisa de antígenos da *E. histolytica* nas fezes e de técnicas de biologia molecular são essenciais para diferenciação destas *Entamoebas* e conseqüentemente para o entendimento da epidemiologia de cada uma delas, direcionando para uma correta conduta terapêutica na tentativa de prevenir a forma invasiva da doença e a resistência dos parasitos a medicação. Assim, o objetivo desse trabalho foi fazer uma revisão bibliográfica das características

clínicas e do diagnóstico laboratorial da amebíase intestinal.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Características Clínicas

A maioria das infecções por *E. histolytica* é assintomática e normalmente o próprio organismo consegue combater a doença. No entanto, cerca de 4 a 10% desses indivíduos desenvolvem disenteria amebiana ou as formas extra intestinais da doença (SANTOS; SOARES, 2008).

O indivíduo com disenteria amebiana aguda em geral apresenta dores abdominais e diarreia com presença de muco e sangue nas fezes, em alguns casos podem aparecer também náuseas, vômitos, mal-estar, cefaleia e febre. São achados comuns na disenteria amebiana, a visualização de cristais de Charcot-Leyden, sangue e polimorfonucleares (FOTEDAR et al., 2007b).

Entre as formas extra intestinais, o abscesso hepático amebiano é a forma mais comum e está associado a taxas importantes de morbidade e mortalidade. Os principais sintomas são dor e sensação de peso no hipocôndrio direito. O aparecimento de sintomas intestinais não é comum e normalmente não é possível detectar cistos ou trofozoítos de *E. histolytica* nas fezes desses pacientes. O diagnóstico é realizado através da observação de testes sorológicos positivos para a ameba ou detecção do DNA por reação em cadeia da polimerase (FOTEDAR et al., 2007b).

As manifestações clínicas relacionadas à amebíase intestinal, às vezes, podem ser confundidas com outras doenças intestinais, como a salmonelose, disenteria bacilar, síndrome do cólon irritado e esquistossomose. O diagnóstico diferencial pode ser feito através da história clínica do paciente e da detecção do parasito através do exame parasitológico de fezes, de testes imunológicos, de biópsias das úlceras intestinais e/ou da reação em cadeia da polimerase (PRITT; CLARK, 2008).

2.2 Diagnóstico Laboratorial

O diagnóstico rotineiro da amebíase é feita através da realização do exame parasitológico de

fezes (EPF) com a identificação morfológica dos cistos e trofozoítos da *E. histolytica*. Para realização do EPF é recomendada a coleta e análise de três amostras de fezes em dias alternados devido à eliminação intermitente dos parasitos. As fezes pastosas ou formadas devem ser submetidas aos métodos de concentração como Hoffman, Pons e Janer (HPJ), Faust e/ou Ritchie para pesquisa de cistos de *E. histolytica*. Para fezes diarreicas deve ser realizado o exame direto a fresco da amostra em no máximo 1 hora, com o intuito de pesquisar trofozoítos móveis, se estes forem encontrados fagocitando hemácias é um forte indicativo de que se trata de um trofozoíto de *E. histolytica*. A realização do EPF tem a vantagem de não exigir equipamentos sofisticados, ser de fácil execução e ser barato. No entanto, é incapaz de diferenciar as espécies pertencentes ao complexo *E. histolytica/E. dispar/E. moshkovskii*, devido a semelhança morfológica entre estas espécies, tornando o diagnóstico presuntivo e invalidando a sua utilização em estudos epidemiológicos específicos. Assim, as espécies de *E. histolytica/E. dispar/E. moshkovskii* só podem ser diferenciadas por meio de técnicas imunológicas ou moleculares específicas (GONZÁLEZ-RUIZ et al., 1994a; FOTEDAR et al., 2007b).

Para ajudar na diferenciação dos cistos e trofozoítos das *Entamoebas* é recomendada a utilização de colorações das amostras de fezes por tricrômio ou hematoxilina férrica e a análise morfométrica (estudo da forma e sua relação com o tamanho). As características dos cistos e trofozoítos das espécies de *Entamoebas* intestinais mais comumente encontrados em humanos foram descritas na Tabela 2. A sensibilidade da análise microscópica varia de 25 a 60% e a especificidade de 10 a 50% (FOTEDAR et al., 2007b).

Tabela 2. Características dos cistos e trofozoítos das espécies de *Entamoebas* intestinais mais comumente encontradas em humanos.

| Características | <i>E. histolytica</i> / <i>E. dispar</i> / <i>E. moshkovskii</i> | <i>E. hartmanni</i> | <i>E. coli</i> | <i>E. polecki</i> |
|----------------------|--|---|---|---|
| Trofozoítos a fresco | Pleomórficos, assimétricos, alongados, medem de 15-20 µm, motilidade progressiva e rápida; 1 núcleo frequentemente invisível em preparações não coradas | 8-10 µm, motilidade usualmente não progressiva; 1 núcleo frequentemente invisível em preparações não coradas | 20-25 µm, motilidade usualmente não progressiva e lenta; 1 núcleo frequentemente visível em preparações não coradas | 15-20 µm, motilidade lenta; 1 núcleo ocasionalmente visível em preparações não coradas |
| Trofozoítos corados | Citoplasma finamente granuloso e presença de hemácias fagocitadas; cariossomo pequeno, compacto e normalmente com localização central, cromatina fina e delicada normalmente aderida a membrana | Citoplasma finamente granuloso e ausência de hemácias fagocitadas; cariossomo pequeno, compacto com localização central ou excêntrica | Citoplasma granular e usualmente são observados detritos e bactérias e ausência de hemácias; cariossoma grande, não compacto, com localização excêntrica, cromatina grosseira e irregular | Citoplasma finamente granuloso e ausência de hemácias fagocitadas; cariossomo pequeno e normalmente com localização central, cromatina fina |
| Cistos | Esféricos, medem de 10-15 µm, apresentam até 4 núcleos; no citoplasma normalmente observa-se vacúolo de glicogênio e pode-se observar corpo cromatóide em forma de bastão; o diâmetro do núcleo varia entre 40% a 50% de todo o cisto. | Esféricos, medem de 6-8 µm, normalmente binucleados, mas podem apresentar até 4 núcleos | Esféricos, medem de 15-25 µm e normalmente apresentam até 8 núcleos; apresentam corpo cromatóide em forma de agulha | Esféricos, medem de 10-15 µm, normalmente uninucleados e usualmente observam-se abundantes corpos cromatóides de morfologia variável; O diâmetro do núcleo varia entre 25% a 30% de todo o cisto. |

Fonte: DE CARLI; TASCA, 2007; FOTEDAR et al., 2007b. Adaptado

Os testes sorológicos detectam antígenos amebianos ou anticorpos específicos contra o parasita. A detecção de anticorpos apresenta a limitação de não definir se a infecção é recente ou antiga, já que os anticorpos circulantes persistem (SANTOS; SOARES, 2008). A detecção de antígenos fecais é realizada pela pesquisa de antígenos específicos da *E. histolytica* pelos ensaios imunoenzimáticos (ELISA), através da utilização de anticorpos monoclonais específicos contra lectinas presentes na superfície dos trofozoítos *E. histolytica* (GONZALEZ-RUIZ, 1994b). Este teste apresenta sensibilidade e a especificidade maiores que 95%, só não é tão sensível para baixas cargas de parasitas, sendo indicada a realização da reação em cadeia da polimerase (FOTEDAR et al., 2007b).

A reação em cadeia da polimerase possui alta reprodutibilidade, sensibilidade e especificidade e é capaz de detectar baixa carga parasitária. Pode ser empregada para o diagnóstico diferencial entre *E. dispar*, *E. histolytica* e *E. moshkovskii* pois é capaz de determinar sequências de DNA específicas de cada espécie. Este teste apresenta sensibilidade e a especificidade maiores que 90% (FOTEDAR et al., 2007b). Não é utilizado em larga escala em laboratórios de diagnóstico de rotina devido elevado custo.

3. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A amebíase intestinal constitui um sério problema de saúde pública mundial e o agente causador é a *Entamoeba histolytica*. No entanto, devido a sua semelhança morfológica com outras espécies como *E. dispar* e *E. moshkovskii* observa-se uma prevalência superestimada da *E. histolytica* quando se utiliza somente a análise microscópica devido à baixa especificidade deste exame. Assim, a utilização do ELISA para pesquisa de antígenos da *E. histolytica* nas fezes ou de técnicas de biologia molecular são essenciais para diferenciação dessas *Entamoebas* e consequentemente para o entendimento da epidemiologia de cada uma delas, direcionando a conduta terapêutica na tentativa de prevenir a forma invasiva da doença.

4. AGRADECIMENTOS

Agradecemos ao professor Msc. Márcio Palácios de Carvalho pela revisão do português.

5. REFERÊNCIAS

- BENETTON, M.L. et al. Risk factors for infection by the *Entamoeba histolytica*/*E. dispar* complex: an epidemiological study conducted in outpatient clinics in the city of Manaus, Amazon Region, Brazil. *Trans R Soc Trop Med Hyg.*, v. 99, n. 7, p. 532-540, 2005.
- DE CARLI, G. A.; TASCA, T. Diagnóstico e Identificação de Parasitos. In: *Parasitologia clínica: seleção de métodos e técnicas de laboratório para diagnóstico das parasitoses humanas*. 2.ed. São Paulo: Atheneu, 2007. Cap. 42, p. 753-762.
- DOURADO, A.; MACIEL, A.; ACA, I. da S. Ocorrência de *Entamoeba histolytica*/*Entamoeba dispar* em pacientes ambulatoriais de Recife, PE. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.*, v. 39, n. 4, 2006.
- FOTEDAR, R. et al. PCR Detection of *Entamoeba histolytica*, *Entamoeba dispar*, and *Entamoeba moshkovskii* in Stool Samples from Sydney, Australia. *J Clin Microbiol.*, v. 45, n. 3, p.1035-1037, 2007a.
- FOTEDAR, R. et al. Laboratory diagnostic techniques for *Entamoeba* species. *Clin Microbiol Rev.*, v. 20, n. 3, p. 511-532, 2007b.
- GONZÁLEZ-RUIZ, A. et al. Value of Microscopy in the Diagnosis of Dysentery Associated with Invasive *Entamoeba histolytica*. *J Clin Pathol*, v. 47, n. 3, p. 236-239, 1994a.
- GONZALEZ-RUIZ, A. et al. Diagnosis of amebic dysentery by detection of *Entamoeba histolytica* fecal antigen by an invasive strain-specific, monoclonal antibody-based enzyme-linked immunosorbent assay. *J Clin Microbiol.*, v. 32, n.4, p. 964-970, 1994b.
- LOESCH, F. Massenhafte entwicklung von amoeben im dickdarm. *Virchows Archiv. Klinische Medicin.*, v. 65, p. 196-211, 1875.
- MORTIMER, L.; CHADEE, K. The immunopathogenesis of *Entamoeba histolytica*. *Exp Parasitol.*, v. 126, n.3, p. 366-380, 2010.
- PEREIRA, V. V. et al. Laboratory diagnosis of amebiasis in a sample of students from southeastern Brazil and a comparison of microscopy with enzyme-linked immunosorbent assay for screening of infections with *Entamoeba* sp. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.*, v. 47, n. 1, 2014.
- PRITT, B.S.; CLARK, C.G. Amebiasis. *Mayo Clin Proc.*, v. 83, n.10, p.1154-1159, 2008.
- SANTOS, F. L. N.; SOARES, N. M. Mecanismos fisiopatogênicos e diagnóstico laboratorial da infecção causada pela *Entamoeba histolytica*. *J. Bras. Patol. Med. Lab.*, v. 44, n. 4, 2008.
- SANTOS, F. L. N.; GONCALVES, M. de S.; SOARES, N. M. Validation and utilization of PCR for differential diagnosis and prevalence determination of *Entamoeba histolytica*/*Entamoeba dispar* in Salvador City, Brazil. *Braz J Infect Dis*, v. 15, n. 2, 2011.
- SANTOS, R. V. dos et al. High occurrence of *Entamoeba histolytica* in the municipalities of Ariquemes and Monte Negro, State of Rondônia, Western Amazonia, Brazil. *Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo, São Paulo*, v. 55, n. 3, 2013.
- SANTOS, H. L. C. et al. Frequency of amoebiasis and other intestinal parasitoses in a settlement in Ilhéus City, State of Bahia, Brazil. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.*, v. 47, n. 1, 2014.
- SILVA, M. T. N. et al. Prevalence of *Entamoeba histolytica*/*Entamoeba dispar* in the city of Campina Grande, in northeastern Brazil. *Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo*, v. 56, n. 5, 2014.
- WALSH, J.A. Problems in recognition and diagnosis of amebiasis: estimation of the global magnitude of the morbidity and mortality. *Rev. Infect. Dis.*, v. 8, p. 228-238, 1986.
- WHO - WORLD HEALTH ORGANIZATION. Amoebiasis. *Wkly. Epidemiol. Rec.*, v. 72, p. 97-100, 1997.