

PAULO SÉRGIO CARDOSO ESTEVES

CORRELAÇÃO CLÍNICO-LABORATORIAL NA  
AMEBÍASE INTESTINAL

53098115

NMT

Belém-Pará  
2001

PAULO SÉRGIO CARDOSO ESTEVES



**CORRELAÇÃO CLÍNICO-LABORATORIAL NA AMEBÍASE INTESTINAL**

Dissertação de Mestrado apresentado ao Curso de Pós-graduação em Doenças Tropicais, área de concentração em Clínica das Doenças Tropicais, do Núcleo de Medicina Tropical da Universidade Federal do Pará, como requisito para obtenção do grau de Mestre em Doenças Tropicais.

Orientadora: Profa. Dra. Marinete Marins Póvoa

Belém Pará

2001

616.9353098115  
E79c  
D15

PAULO SÉRGIO CARDOSO ESTEVES

**CORRELAÇÃO CLÍNICO-LABORATORIAL NA AMEBÍASE INTESTINAL**

Dissertação de Mestrado apresentado ao Curso de Pós-graduação em Doenças Tropicais, área de concentração em Clínica das Doenças Tropicais, do Núcleo de Medicina Tropical da Universidade Federal do Pará, como requisito para obtenção do grau de Mestre em Doenças Tropicais.

Orientadora: Profa. Dra. Marinete Marins Póvoa

Belém Pará

2001

616-9353098115  
E79c  
DIS

PAULO SÉRGIO CARDOSO ESTEVES

**CORRELAÇÃO CLÍNICO-LABORATORIAL NA AMEBÍASE INTESTINAL**

Dissertação de Mestrado apresentado ao Curso de Pós-graduação em Doenças Tropical, área de concentração em Clínica das Doenças Tropicais, do Núcleo de Medicina Tropical da Universidade Federal do Pará, como requisito para obtenção do grau de Mestre em Doenças Tropicais.

Banca Examinadora:

Orientadora:

Profa. Dra. Marinete Marins Póvoa  
Serviço de Parasitologia, IEC/FNS

Prof. Dr. Cláudio Sérgio Carvalho de Amorim  
Núcleo de Medicina Tropical, UFPa

Profa. Dra. Ermelinda do Rosário Moutinho da Cruz  
Núcleo de Medicina Tropical, UFPa

Prof. Dr. Manoel Barbosa Rezende  
Núcleo de Medicina Tropical, UFPa

Belém Pará  
2001

“Uma pedra preciosa não pode ser polida sem fricção, nem o homem pode ser aperfeiçoado sem passar por provações”.

Confúcio

A Deus

À minha esposa Nelma, aos meus filhos Natália e Felipe, aos meus genitores Edivaldo e Maria da Penha, pelo carinho, confiança, apoio e principalmente por saberem entender a minha “ presença ausente” durante os dias mais difíceis da elaboração desta Dissertação.

## AGRADECIMENTOS

À minha orientadora, Dra. Marinete Marins Póvoa, os meus mais profundos e sinceros agradecimentos por toda a dedicação, paciência, sabedoria e acima de tudo pela demonstração de amizade e solidariedade que foram as peças fundamentais para conclusão deste trabalho.

À Dra. Maria da Conceição Nascimento Pinheiro, Coordenadora do Núcleo de Medicina Tropical.

Ao Dr. Cláudio Sérgio Carvalho de Amorim, Coordenador do Curso de Mestrado em Medicina Tropical

Ao Dr. Jorge F. S. Travassos da Rosa, Diretor do Instituto Evandro Chagas (IEC), por ter viabilizado a realização deste trabalho.

Ao Dr. Habib Fraiha Neto, pelo sopro de ânimo quando já sentia-me exausto.

Ao Dr. Manoel Ayres pelo apoio e direcionamento do tratamento estatístico dos dados obtidos neste trabalho.

Ao Diretor de Saúde da Polícia Militar do Pará Cel.PM Farmacêutico Carlos Bartolomeu de Araújo Lins, pelo apoio e incentivo que vem dispensando aos Oficiais do Quadro de Saúde desta Instituição.

Ao Ex-Diretor do Ambulatório Médico Central da Polícia Militar do Pará (AMC-PMPa), Ten.Cel.PM. Médico Marco Antônio Luz e Silva por ter permitido a seleção dos pacientes no serviço de Clínica Médica desta Instituição.

Ao Diretor do Laboratório de Análises Clínicas da Polícia Militar do Pará (LAC-PMPa) Ten.Cel PM Farmacêutico-Bioquímico José Olinto Miranda de Vasconcelos por ter permitido a execução dos métodos coproscópicos neste laboratório.

Aos alunos do Centro de Ensino Superior do Pará (CESUPA), José Eduardo Gomes Arruda, Érika Cristina Maia Russo Pedrosa, Giovana Patrícia Silva Moura, Reinaldo Williams de Almeida Gonçalves, pelo apoio na execução dos métodos coproscópicos.

Aos funcionários do Laboratório de Parasitologia do Instituto Evandro Chagas, pelo apoio.

Aos funcionários civis e militares do Laboratório da Polícia Militar do Pará, pelo apoio.

À minha família e amigos, pela confiança e incentivo nos momentos mais difíceis.

Aos pacientes, pela confiança e por doaram seu material biológico para realização deste trabalho.

A todos que direta ou indiretamente contribuíram para realização deste trabalho, externo o meu mais profundo agradecimento.

## SUMÁRIO

|   |          |
|---|----------|
| LISTA DE FIGURAS E TABELAS.....                 | ix       |
| LISTA DE ABREVIATURAS.....                      | x        |
| RESUMO.....                                     | xi       |
| ABSTRACT.....                                   | xiii     |
| <b>1 INTRODUÇÃO.....</b>                        | <b>1</b> |
| 1.1 HISTÓRICO.....                              | 1        |
| 1.2 ETIOLOGIA.....                              | 2        |
| 1.3 MORFOLOGIA.....                             | 3        |
| 1.3.1 <b>Trofozoíto</b> .....                   | 3        |
| 1.3.2 <b>Pré-cisto</b> .....                    | 4        |
| 1.3.3 <b>Metacisto</b> .....                    | 4        |
| 1.3.4 <b>Cisto</b> .....                        | 5        |
| 1.4 CICLO BIOLÓGICO .....                       | 5        |
| 1.5 PATOGENIA.....                              | 6        |
| 1.6 IMUNIDADE.....                              | 9        |
| 1.7 MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS.....                 | 13       |
| 1.7.1 <b>Amebíase intestinal invasiva</b> ..... | 14       |
| 1.8 DIAGNÓSTICO.....                            | 17       |
| 1.8.1 <b>Clínico</b> .....                      | 17       |
| 1.8.2 <b>Laboratorial</b> .....                 | 17       |
| 1.8.2.1 Exames específicos.....                 | 18       |
| 1.8.2.1.1 Exame histopatológico.....            | 20       |

|           |  |    |
|-----------|--|----|
| 1.8.2.1.2 | Métodos imunológicos.....                        | 20 |
| 1.8.2.2   | Exames inespecíficos.....                        | 22 |
| 1.9       | <b>TRATAMENTO</b> .....                          | 22 |
| 1.9.1     | <b>Amebicidas luminais ou de contato</b> .....   | 22 |
| 1.9.2     | <b>Amebicidas sistêmicos</b> .....               | 23 |
| 1.9.3     | <b>Amebicidas mistos</b> .....                   | 23 |
| 1.9.4     | <b>Antibióticos</b> .....                        | 23 |
| 1.10      | <b>ESQUEMAS TERAPÊUTICOS</b> .....               | 24 |
| 1.10.1    | <b>Infecção amebiana assintomática</b> .....     | 24 |
| 1.10.2    | <b>Disenteria amebiana</b> .....                 | 24 |
| 1.10.3    | <b>Amebíase intestinal não disentérica</b> ..... | 24 |
| 1.10.4    | <b>Colite necrotizante</b> .....                 | 25 |
| 1.11      | <b>JUSTIFICATIVA</b> .....                       | 25 |
| 1.12      | <b>OBJETIVOS</b> .....                           | 27 |
| 1.12.1    | <b>Geral</b> .....                               | 27 |
| 1.12.2    | <b>Específicos</b> .....                         | 27 |
| 2         | <b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....                  | 28 |
| 2.1       | <b>AMOSTRA</b> .....                             | 28 |
| 2.2       | <b>ASPECTOS ÉTICOS</b> .....                     | 28 |
| 2.3       | <b>COLETA DA AMOSTRA</b> .....                   | 28 |
| 2.4       | <b>ANÁLISES LABORATORIAIS</b> .....              | 28 |
| 2.4.1     | <b>Exame coprológico</b> .....                   | 29 |
| 2.4.1.1   | Método direto.....                               | 29 |

|         |   |    |
|---------|---|----|
| 2.4.1.2 | Método de Faust e cols.....   | 29 |
| 2.4.1.3 | Método da hematoxilina férrica.....                                   | 30 |
| 2.4.2   | <b>Pesquisa de coproantígeno.....</b>                                 | 31 |
| 2.5     | <b>MÉTODOS ESTATÍSTICOS.....</b>                                      | 32 |
| 3       | <b>RESULTADOS.....</b>  | 34 |
| 3.1     | AMOSTRA.....  | 34 |
| 3.2     | PREVALÊNCIA DE ENTEROPARASIToses.....                                 | 34 |
| 3.2.1   | <b>Prevalência de amebíase.....</b>                                   | 34 |
| 3.3     | ASSOCIAÇÕES ESTATÍSTICAS.....   | 37 |
| 3.3.1   | <b>ELISA e exames coproscópicos.....</b>                              | 37 |
| 3.3.2   | <b>ELISA e sintomatologia digestiva.....</b>                          | 37 |
| 3.3.3   | <b>ELISA e sintomatologia sugestiva de amebíase intestinal.....</b>   | 37 |
| 3.3.4   | <b>ELISA e pacientes sintomáticos com associação parasitária...40</b> |    |
| 3.3.5   | <b>ELISA e cólica intestinal.....</b>                                 | 40 |
| 3.3.6   | <b>ELISA e diarreia.....</b>  | 42 |
| 3.3.7   | <b>ELISA e diarreia mucosa / sanguinolenta.....</b>                   | 42 |
| 3.3.8   | <b>ELISA e tenesmo.....</b>   | 42 |
| 3.3.9   | <b>ELISA e constipação intestinal.....</b>                            | 45 |
| 4       | <b>DISCUSSÃO.....</b>   | 47 |
| 5       | <b>CONCLUSÃO.....</b>   | 54 |
|         | <b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>                                | 55 |
|         | <b>ANEXO.....</b>   | 62 |

## LISTA DE FIGURAS E TABELAS

|          | Página   |
|----------|--|
| Figura 1 | Prevalência de enteroparasitas na população estudada..... 35   |
| Figura 2 | Prevalência de amebíase intestinal em relação a metodologia empregada para diagnóstico..... 36                           |
| Figura 3 | Prevalência de pacientes com sintomatologia digestiva e teste de ELISA positivo..... 38                                  |
| Figura 4 | Prevalência de pacientes com teste de ELISA positivo e sintomatologia digestiva sugestiva de amebíase intestinal..... 39 |
| Figura 5 | Prevalência de cólica intestinal em paciente com amebíase... 41  |
| Figura 6 | Prevalência de diarréia em pacientes com amebíase intestinal..... 43   |
| Figura 7 | Prevalência de diarréia mucosanguinolenta em pacientes com amebíase intestinal..... 43                                   |
| Figura 8 | Prevalência de tenesmo em pacientes com amebíase intestinal..... 44  |
| Figura 9 | Prevalência de constipação em pacientes com amebíase intestinal..... 46  |
| Tabela 1 | Correlação de positividade entre os métodos coproscópicos e ELISA no diagnóstico da amebíase intestinal..... 38          |
| Tabela 2 | Correlação de sintomatologia entre pacientes com associação parasitária e teste de ELISA..... 41                         |

**LISTA DE ABREVIATURAS**

|        |   |                                       |
|--------|---|---------------------------------------|
| CDC    | - | Center for Disease Control            |
| ELISA  | - | Ensaio imunoenzimático                |
| GIAP   | - | proteína de aderência a galactose     |
| IgA    | - | Imunoglobulina A                      |
| IgG    | - | Imunoglobulina G                      |
| IgM    | - | Imunoglobulina M                      |
| IgE    | - | Imunoglobulina E                      |
| µm     | - | Micrômetro                            |
| mL     | - | Mililitro                             |
| OMS    | - | Organização Mundial de Saúde          |
| %      | - | Porcentagem                           |
| PCR    | - | Reação em Cadeia da Polimerase        |
| RIFI   | - | Reação de Imunofluorescência Indireta |
| r.p.m. | - | Rotação por minuto                    |
| WHO    | - | World Health Organization             |

## RESUMO

O diagnóstico clínico da amebíase intestinal continua sendo meramente presuntivo; o diagnóstico de certeza depende sempre de confirmação laboratorial. Com o objetivo de correlacionar os achados clínicos com a pesquisa do coproantígeno GIAP de *Entamoeba histolytica*, por teste imunoenzimático, foram estudados 105 pacientes de ambos os sexos, com idade entre 13 e 80 anos, provenientes de demanda passiva do Serviço Ambulatorial de Clínica Médica da Polícia Militar. A prevalência de amebíase intestinal encontrada por coproscopia foi de 13,33% (14/105) e por ELISA 24,76% (26/105). Houve diferença estatisticamente significativa na prevalência desta protozoose quando os métodos foram comparados ( $p < 0,05$  – McNemar). Entre os enteroparasitas, detectados por métodos coproscópicos de rotina destacaram-se: *Endolimax nana* com 61,90% (65/105), *Blastocystis hominis* 28,57% (30/105), *Entamoeba coli* 18,10% (19/105) e *Giardia amblia* em 5,71 (06/105). Entre os helmintos, os mais prevalentes foram o *Trichiuris trichiura* com 4,76% (5/105) e de *Ascaris lumbricoides* em 3,81% (4/105). A prevalência dessas parasitoses na população estudada foi compatível com a casuística regional. No estudo da sintomatologia dos pacientes com teste de ELISA positivo, 73,08% (19/26) relataram um ou mais sintomas sugestivos de amebíase intestinal, observando-se cólicas intestinais em 46,15% (12/26), diarreia sem elementos anormais em 42,31% (11/26), tenesmo em 3,85% (1/26) e constipação intestinal em 11,54% (3/26). A presença desses sintomas quando comparada com os casos clinicamente idênticos, porém com teste de ELISA negativo, não apresentaram significância estatística ( $p > 0,05$  – McNemar). Quanto a diarreia mucossanguinolenta, esta foi referida por 4,76%

de apresentação das síndromes clínicas e sua amplitude de diagnósticos diferenciais, aliados às possibilidades de equívocos que os métodos diagnósticos usualmente empregados podem fornecer. Recomenda-se a inclusão do teste de ELISA no diagnóstico da amebíase intestinal como um recurso indispensável na clínica, embora ele não dispense o exame coproparasitológico, por ser capaz de identificar somente um patógeno, a *E. histolytica*.

## ABSTRACT

Intestinal amoebiasis clinical diagnosis remains presumable and the correct diagnosis always need laboratorial confirmation. A hundred-five patients, of both sexes, age between 13 – 80 years-old, from passive demand of “Serviço Ambulatorial de Clínica Médica da Polícia Militar”, were selected for this study in order to correlate the clinical findings and imunoenzimatic *E. histolytica* GIAP stool antigen search. The prevalence of intestinal amoebiasis was 13,33% (14/105) for single stool examination and 24,76% (26/105) for ELISA. When the two methods were compared, difference statistically significant it was found ( $p < 0,05$  – McNemar). Among detected parasites by single stool examination: *Endolimax. nana* with 61,90% (65/105), *Blastocystis hominis* 28,57% (30/105), *Entamoeba coli* 18,10% (19/105) and *Giardia lamblia* 5,71% (6/105) were the most prevalent. *Trichiuris trichiura* with 4,76% (5/105) and *A lumbricoides* 3,81% (4/105) had the highest prevalence among helminths. The prevalence of such parasitic infections at the studied population was according to local casuistic. In the analysis of the symptomatology of ELISA positive patients, 73,08% (19/26) had reported one or more disease suggestive symptoms, and was observed abdominal pain in 46,15% (12/26) patients, diarrhoea with no abnormal elements in 42,31 % (11/26), tenesmus in 3,85% (1/26) and intestinal constipation 11,54% (3/26). The presence of such symptoms when compared with clinical similar cases ELISA negative, were not significant ( $p > 0,05$  – McNemar). In 4,76% patients (5/105), diarrhoea with mucosus and blood was refered. This association with ELISA positive test were observed in 3,84% (1/26), and was statistically significant when compared with ELISA negative ones. The results of this work shows the difficulties in establishing the clinics and laboratory correlation in intestinal amoebiasis. It occurs because of clinical syndroms are not so specific and the need of different diagnosis, together to the error possibility in routine diagnosis methods. Its is suggested the inclusion of ELISA test in intestinal amoebiasis diagnosis as a necessary clinical resource although, it does not exclude the single stool

examination to others parasites, due to be able to identify only the pathogen, *Entamoeba histolytica*.

## 1. INTRODUÇÃO

### 1.1 HISTÓRICO

A primeira descrição da amebíase como entidade mórbida foi feita por Mateo Aleman, em 1611, ao ter um paciente acometido de diarréia e supuração hepática concomitante. (Araújo *et al.*, 1997).

Registros de vários casos de diarréia, ulcerações intestinais e envolvimento hepático sucederam-se e foram importantes para o reconhecimento da amebíase como entidade nosológica. No entanto, o marco histórico da doença consolidou-se com a descoberta da *Entamoeba histolytica* por Losch em 1885 (Araújo *et al.*, 1997; Despommier *et al.*, 1995).

Em 1883, Koch isolou a ameba de abscesso hepático em portadores de quadro disentérico, o que também foi feito e confirmado por Kartulius em 1887. (Cunha & Ferrari, 1994).

Em 1893, foram identificados os cistos da *E. histolytica* distinguindo-os dos cistos da *E. coli*. Coube, porém a Coucilman e Lafler, a descrição da patogênese da infecção causada pela *E. histolytica*. (Araújo *et al.*, 1997).

Em 1896, Fajardo relatou 10 casos de colite amebiana no Brasil, sendo que dois apresentavam abscesso hepático (Araújo *et al.*, 1997).

Shaudinn em 1903 chamou atenção para as diferenças morfológicas que existiam entre as amebas e separou-as em patogênica, a *E. histolytica*, e como não patogênica, a *E. coli*. (Araújo *et al.*, 1997).

A primeira descrição das manifestações clínicas da amebíase foi feita por Walkere & Sellards em 1913, demonstrando que a *E. histolytica* determinava doença e que a *E. coli* era apenas um saprófita intestinal. Eles defendiam a teoria unicista, segundo a qual, haveria sempre o caráter invasivo da mucosa intestinal pela *E. histolytica*, cuja expressão máxima era a colite disentérica aguda (Palomo, 1989).

Em 1925, Brumpt apresentou a teoria dualista, na qual, a *E. histolytica* seria formada por duas espécies morfológicamente indistinguíveis, uma patogênica, invasiva, possuidora de diversos graus de virulência e responsável por diferentes formas clínicas da doença, denominada *E. histolytica* propriamente dita e, a outra, a *E. dispar*, de capacidade não invasiva e, portanto, não patogênica. Esta proposição foi aceita pela maioria dos pesquisadores, e acatada pela Organização Mundial de Saúde, ficando a *E. histolytica* definida na forma de um complexo constituído por duas espécies distintas, a *E. histolytica* (Shaudinn, 1903) e a *E. díspar* (WHO, 1997).

## 1.2 ETIOLOGIA

A classificação da *E. histolytica* segundo o Comitê de Sistemática da Sociedade Internacional de Protozoologia, é a seguinte (Silva & Gomes, 2000; Andrade & Andrade, 1997):

- Reino: Protista
- Sub-Reino: Protozoa
- Sub-Filo: Sarcodina

- Superclasse: Rhizopoda
- Ordem: Aemoebida
- Família: Entamoebida
- Gênero: Entamoeba
- Espécie: *Entamoeba histolytica*

A classificação das amebas do Complexo *Entamoeba histolytica* é:

- *E. histolytica*
- *E. dispar*

### 1.3 MORFOLOGIA

A *E. histolytica* pode ser encontrada no trato intestinal humano nas formas de trofozoíto ou vegetativa, cisto ou de resistência, pré-cisto e metacisto.

#### 1.3.1 Trofozoíto

Mede de 20 até 40  $\mu\text{m}$ , podendo chegar a 60  $\mu\text{m}$  quando em lesões tissulares, fezes disentéricas, liquefeitas ou em culturas. Em geral é uninucleado, bastante nítido nas preparações e pouco visível nas formas vivas. No exame a fresco é pleomórfico, ativo, alongado, com emissão contínua e rápida de pseudópodes grossos e digitiformes. O citoplasma é nitidamente

diferenciado em ectoplasma (claro e hialino), e endoplasma (finamente granuloso com vacúolos, núcleos e restos de substâncias alimentares). Quando corados e fixados, observa-se também a distinção entre ecto e endoplasma, que geralmente possui um único núcleo esférico com cariossoma central, cuja membrana é bastante delgada e revestida internamente por pequenos grânulos de cromatina, conferindo-lhe um aspecto de anel (aliança de brilhante). Por vezes, esse cariossoma está formado por pequenos grânulos centrais, dando uma configuração, junto com a cromatina, de “roda de carroça”. (Palomo, 1989; Silva & Gomes, 2000).

### **1.3.2 Pré-cisto**

É a forma intermediária entre o trofozoíto e o cisto. É oval ou ligeiramente arredondado e menor que o trofozoíto. O seu núcleo é idêntico ao do trofozoíto e no citoplasma podem ser visualizados corpos cromatóides, sob a forma de bastonetes, com pontas arredondas. (Palomo, 1989; Silva & Gomes, 2000).

### **1.3.3 Metacisto**

É uma forma multinucleada que emerge de cisto no intestino delgado, onde sofre divisões e dá origem aos trofozoítos. (Palomo, 1989; Silva & Gomes, 2000).

### 1.3.4 Cisto

É esférico ou oval, com 8 a 20  $\mu\text{m}$  de diâmetro, em preparações sem coloração ou a fresco. Aparecem como corpúsculos hialinos, claros, às vezes de coloração palha, com as paredes refringentes. Os núcleos são pouco visíveis, mas quando corados pelo lugol ou pela hematoxilina férrica tornam-se visíveis e variam de um a quatro, tomando a cor castanho-escura. A membrana nuclear é mais escura devido ao revestimento de cromatina e o cariossoma, situado no centro do núcleo, se cora também de marrom-escuro ou negro. No citoplasma, há regiões que coram de castanho pelo lugol, são reservas de glicogênio. Nas preparações coradas pela hematoxilina férrica, os cistos apresentam coloração cinza-azulada, o citoplasma se cora de cinza, e o núcleo é bastante destacado em azul ou negro, com morfologia semelhante à descrita para os trofozoítos. (Palomo, 1989; Silva & Gomes, 2000)

## 1.4 CICLO BIOLÓGICO

O cisto, é a forma de resistência e responde pela disseminação da doença, pois é eliminado para o exterior, onde pode permanecer viável se o ambiente lhe é favorável.

O ciclo se inicia pela ingestão de cistos maduros, junto com alimentos e água contaminados ou diretamente via fecal-oral. Ao passarem pelo estômago, eles resistem à acidez gástrica e chegam ao intestino delgado, onde se processa a excistação, dando origem ao metacisto. Em seguida, o metacisto sofre sucessivas divisões, o que resulta na formação de quatro e

depois oito trofozoítos, chamados trofozoítos metacísticos. Esses trofozoítos migram para o intestino grosso onde colonizam, multiplicando-se por divisão binária. Em geral, ficam aderidos à mucosa intestinal vivendo como comensais. Sob certas circunstâncias, ainda não bem elucidadas de condições desfavoráveis, podem desprender-se da parede intestinal e na luz do intestino grosso sofrerem o processo de encistamento, transformado-se inicialmente em pré-cistos, posteriormente em cistos mononucleados e em seguida, em tetranucleados, que são eliminados juntamente com as fezes normais ou formadas. Indivíduos infectados podem eliminar até 45 milhões de cistos por dia. No entanto, em situações ainda não bem conhecidas, o equilíbrio entre o parasita e o hospedeiro pode ser rompido e os trofozoítos passam a invadir a mucosa intestinal, multiplicando-se ativamente no interior das lesões e ainda, através da circulação porta eles podem atingir outros sítios, causando a amebíase extra-intestinal. O trofozoíto presente nessas úlceras é denominado forma virulenta ou invasiva, é hematófago, muito ativo, e não origina cisto,. (Despommier *et al.*, 1995)

## 1.5 PATOGENIA

A patogênese da amebíase é dependente de múltiplos fatores que estão envolvidos na relação parasito-homem e ainda está sendo esclarecida . Admite-se que os principais meios utilizados pelos trofozoítos invasivos para explicar o seu mecanismo de agressão ao hospedeiro sejam, representados

pela virulência da cepa, da atividade de enzimas proteolíticas, proteínas citotóxicas e enterotoxinas, assim como pela ação letal exercida pela *E. histolytica* sobre neutrófilos, linfócitos e monócitos humanos. (Macambira *et al.*, 1994; Silva & Gomes, 2000)

Dentre os fatores diretamente ligados ao meio onde as amebas vivem, destaca-se a flora bacteriana local, representada principalmente pelas bactérias anaeróbicas. Estes fatores juntamente com as passagens sucessivas em diversos hospedeiros ou reinfecções sucessivas, são tidos como capazes de elevar o potencial de virulência de cepas de *E. histolytica*. (Macambira *et al.*, 1994; Silva & Gomes, 2000)

Por outro lado, são inúmeros os fatores ligados ao hospedeiro: localização geográfica, raça, sexo, idade, resposta imune individual, estado nutricional (subnutrição), uso de corticóide, dieta, alcoolismo, clima e hábitos sexuais. (Macambira *et al.*, 1994; Silva & Gomes, 2000)

Inicialmente, ocorre uma forte adesão do protozoário à célula epitelial intestinal, que é mediada por lecitinas da membrana de superfície amebiana com a presença de galactose, conhecida como proteína de aderência inibida pela galactose (GIAP), ou seja, uma proteína de superfície que media a união do parasito às mucinas do cólon, às células epiteliais e às células inflamatórias do hospedeiro, necessária para a atividade histolítica da ameba e, portanto, exerce um papel fundamental na patogênese da enfermidade. (Ravdin, 1994) Além disso, há o auxílio por parte das formações filopódicas. Após fixado, o trofozoíto irá lesar e penetrar na célula através de 2 mecanismos: produção de

fosfolipase A, que tem efeito lítico e ação de proteína (“proteína amebófora”) que altera os canais iônicos da membrana celular, produzindo alterações hidroeletrolíticas no citoplasma da célula epitelial que sofre lise seguida pelo processo de fagocitose. Uma vez ultrapassado o epitélio, os movimentos amebóides e a ação de enzimas proteolíticas (hialuronidase, protease e mucopolissacaridase) favorecem a progressão e destruição tecidual. Após a invasão da mucosa, os trofozoítos se multiplicam e seguem rumo a *muscularis mucosae*, determinando inicialmente uma discreta reação inflamatória. (Macambira *et al.*, 1994; Andrade & Andrade, 1997)

Ao atingirem a submucosa, as amebas podem migrar em todas as direções, ocasionando a típica ulceração conhecida como “botão de camisa” ou “colo de garrafa”, localizadas principalmente no ceco, cólon ascendente e na região retosigmoidiana e mais raramente no íleo terminal. As ulcerações variam muito quanto ao tamanho, a forma e a profundidade, podendo comprometer, em alguns casos, extensas áreas do intestino grosso, resultando em complicações, normalmente graves e às vezes fatais, tais como hemorragias, megacólon tóxico, perfuração intestinal e peritonite. Quando atingem a parede abdominal, causam lesões ulcerativas na pele, que também podem ocorrer, em certas circunstâncias, na região anal ou vulvo-vaginal, caracterizando a amebíase cutânea. Além disso, ao invadirem a parede intestinal, as amebas podem penetrar nos vasos sanguíneos submucosos e através da circulação portal, chegam primeiramente no fígado e, eventualmente em outros órgãos e tecidos (pulmão, cérebro, baço, etc.), formando abscessos ou, mais

propriamente necrose coliquativa, configurando o acometimento extra-intestinal da amebíase. Ocasionalmente poderá ocorrer uma reação inflamatória do tipo granulomatosa, proliferativa, formando uma massa pseudotumoral na parede do cólon, chamada "ameboma". Além disso, estenoses cicatriciais colônicas podem ocorrer muito raramente e representam as consequências das agressões de repetição sofridas pelo intestino grosso. (Palomo, 1989; Macambira *et al.*, 1994)

## 1.6 IMUNIDADE

O Sistema imunológico é ativado quando há invasão da mucosa intestinal pelo trofozoíto. A nível celular, macrófagos e neutrófilos identificam antígenos da *E. histolytica* e iniciam a fagocitose. A interação dessas células polimorfonucleares e as cepas virulentas resulta, com frequência, na morte do leucócito. Ao contrário, quando o trofozoíto pertence à cepa não virulenta, o neutrófilo resiste e pode eliminar a ameba.

A ineficácia dos fagócitos de defesa seria seguida da ação coordenadora dos linfócitos auxiliares, estimulando a produção de anticorpos pelos linfócitos B, induzindo a migração dos linfócitos Killer à área de confronto e determinando, com a produção do fator inibidor da migração (MIF), a permanência dos macrófagos nessa área.

Os antígenos de superfície da *E. histolytica* são, com maior probabilidade, os que se expressam no ambiente da ameba e funcionam, ocasionalmente, como os desencadeadores da estimulação antigênica.

Os antígenos citoplasmáticos, mais numerosos e mais imunogênicos, são encontrados no sistema vacuolar do trofozoíto.

A imunoglobulina A (IgA) funciona como barreira mucosa que dificulta a penetração dos trofozoítos patogênicos, inibe a absorção intestinal de antígenos e, ligando-se a um antígeno específico da superfície amebiana, bloqueia a aderência desse germe à superfície do epitélio. (Macambira *et al.*, 1994)

A produção de IgE contra a *E. histolytica*, na mucosa intestinal, pode participar de eventos patológicos da amebíase. Admite-se que da interação IgE-antígeno microbiano resultaria a degranulação de basófilos e mastócitos na mucosa intestinal, com a liberação de substâncias ativas (serotonina, neurotensina) que poderiam ser responsabilizadas pela sintomatologia da amebíase intestinal aguda. (Macambira *et al.*, 1994)

Resposta humoral e sistêmica é sempre detectada na amebíase invasiva, tanto pelo encontro de níveis elevados de IgG, quanto pelos baixos níveis de IgM, IgA e IgE. (Macambira *et al.*, 1994)

Nos últimos anos, vários estudos têm contribuído para esclarecer a resposta imune celular do hospedeiro produzida pela *E. histolytica*. Trabalhos recentes, ressaltam a importância da participação das células T no controle da doença, tanto através da produção de citocinas que estimulam macrófago, quanto na citotoxicidade direta para os trofozoítos. Em recente revisão feita por Champbell & Chadee (1997) sobre as estratégias de sobrevivência da *E. histolytica* através da modulação da resposta imune

celular, é apresentada uma discussão bem ampla sobre os efeitos moduladores do parasito sobre os macrófagos e células T e como a manipulação da defesa imune, permite o parasita sobreviver no hospedeiro.

A invasão tecidual pelos trofozoítos induz a uma resposta imune humoral que pode ser demonstrada facilmente através da detecção dos níveis de anticorpos anti-amebianos por técnicas imunológicas, contribuindo tanto para o diagnóstico como para os estudos epidemiológicos (Salata & Ravdin, 1996). Entretanto, não existe correlação entre anticorpos com proteção nem com severidade do quadro clínico ou extensão dos danos causados pelo parasita (Bhattacharya *et al.*, 1990). Estudos até agora realizados, mostram que a *E. histolytica* induz uma resposta humoral e, anticorpos das classes IgA e IgG têm sido encontrados respectivamente, na luz intestinal e no soro dos indivíduos infectados (Reed *et al.*, 1989). Com os meios diagnósticos atualmente disponíveis, é possível a detecção de anticorpos no sangue circulante e de coproantígenos fecais pela técnica de ELISA, através da utilização de anticorpos monoclonais anti-GIAP, o que permite diferenciar as cepas patogênicas das não-patogênicas da *E. histolytica* (Ravdin, 1994)

Hoje já é admitido não haver correlação entre os níveis de anticorpos antiameba e a severidade da amebíase clínica. A resposta imune humoral e sistêmica não cura a infecção e nem previne a reinfecção. Em verdade, a reinfecção pode ocorrer mesmo na presença de altos níveis séricos de anticorpos. (Macambira *et al.*, 1994)

Os mediadores agudos da inflamação, o complemento e as linfocinas são os mecanismos do hospedeiro que completam a reação imune.

Eosinófilos e células gigantes são encontradas em grande número nas lesões de pacientes que sofrem de disenteria amebiana. Cristais incolores, pontiagudos, com forma de duas pirâmides são formados a partir de eosinófilos, e são encontrados em quantidade importante em exsudatos e úlceras de pacientes portadores de amebíase intestinal invasiva. Essas estruturas, formadas habitualmente depois que o material (exsudato com eosinófilos) é exposto e permanece algum tempo à temperatura ambiente, são os cristais de Charcot-Leyden. Os antígenos da *E. histolytica* induzem à liberação de substâncias vasoativas. A histamina, dotada de potente ação sobre os capilares e arteríolas, pode contribuir para a reação inflamatória que se segue à invasão tecidual pelo trofozoíto. A resposta imune humoral do hospedeiro envolve um sistema de suporte, o complemento, que é crucial na resistência a muitas infecções. A ativação do complemento da *E. histolytica* resultará na formação de C3b, que se fixa ao trofozoíto e permite aos fagócitos, que têm receptores para esse fragmento, o reconhecimento do seu alvo: a ameba. (Macambira *et al.*, 1994)

O sistema do complemento parece ser obstáculo importante à disseminação da ameba para áreas extra-intestinais, mas algumas cepas desenvolvem mecanismos de evasão (Que & Reed, 1997)

As linfocinas, componentes solúveis da resposta imune, são produzidas pelos linfócitos e pelos macrófagos e tem maior importância nas

respostas de mediação celular. O estudo do comportamento das linfocinas na amebíase humana é extremamente pobre. O fator de inibição (MIF) está ausente nos estágios iniciais da doença, mas é sempre encontrado na fase de recuperação. (Macambira *et al.*, 1994)

É fato conhecido que a imunidade celular contra a *E. histolytica* deve ser precedida e associada com alguma imunodepressão, o que permitiria a invasão da parede intestinal e do fígado. (Macambira *et al.*, 1994)

A *E. dispar*, espécie não patogênica, apesar de ser encontrada no intestino grosso dos indivíduos infectados, não ocasiona invasão tecidual local e, conseqüentemente, não tem antígenos detectáveis e não induzem à formação de anticorpos. (Diamond & Clarck, 1993).

## 1.7 MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS

A maioria dos indivíduos infectados pela *E. histolytica* é assintomática, 10% ou menos têm algumas evacuações diarréicas e uma pequena percentagem desenvolve disenteria ou abscesso extra-intestinal (Macambira *et al.*, 1994)

As síndromes clínicas da amebíase humana podem ser distribuídas em 3 grupos:

1. **Infecção assintomática:** é a amebíase luminal detectada pela presença de cistos nas fezes ou por avaliação sorológica.
2. **Infecção intestinal sintomática:** é a amebíase invasiva do tubo digestivo.

3. **Amebíase extra-intestinal:** quase sempre hepática, podendo aparecer dias, meses ou anos após a disenteria amebiana, porém em mais de 50% dos casos não há história clínica atual ou pregressa de doença amebiana.

As manifestações clínicas da amebíase invasiva variam em função do órgão acometido (intestino alto ou baixo, fígado, pulmão, cérebro) e do tipo de lesão causada pelo protozoário. A amebíase invasiva intestinal, geralmente aguda, pode se exteriorizar sob quatro formas clínicas bem definidas:

1. Colite amebiana disentérica e/ou diarréica.
2. Colite amebiana fulminante.
3. Apendicite amebiana.
4. Ameboma.

### 1.7.1 Amebíase intestinal invasiva:

O tubo digestivo é a área mais frequentemente comprometida, e a sintomatologia pode variar de diarréia leve à disenteria grave, algumas vezes fulminante. Os sinais e sintomas das síndromes disentéricas e diarréica expressam a localização das lesões: no reto e alça sigmóide (disenteria), ou nos segmentos colônicos mais altos (diarréia), e constituem 90% dos casos de amebíase intestinal invasiva. Na disenteria, a dor abdominal, leve ou moderada, precede a eliminação de fezes mucosanguinolentas e é acompanhada de sensação de tensão e constrição do ânus e da vontade

imperiosa de evacuar (tenesmo retal). O número de evacuações é baixo, não ultrapassando, na maioria das vezes, seis episódios por dia. (Macambira *et al.*, 1994)

Na síndrome diarrêica, a eliminação das fezes líquidas e misturadas com sangue, também com baixa frequência, é precedida por dor abdominal discreta, em cólica, desacompanhada de tenesmo. (Macambira *et al.*, 1994)

Disenteria e diarréia são, na amebíase, manifestações locais não acompanhadas de febre ou de qualquer outra manifestação sistêmica. A evolução das síndromes intestinais da amebíase invasiva é relativamente curta, cedendo rapidamente à terapêutica adequada ou remitindo, algumas vezes, espontaneamente. (Macambira *et al.*, 1994)

A colite amebiana fulminante é forma rara e extremamente grave que frequentemente evolui para o óbito. Clinicamente se caracteriza por fezes sanguinolentas ou mesmo sangue sem material fecal, com inúmeras evacuações diárias (20 episódios ou mais por dia) e as deposições são precedidas e acompanhadas por dor abdominal em cólica de grande intensidade e por tenesmo retal intenso e permanente. Nesta situação, existe sintomatologia sistêmica importante caracterizada por desconforto abdominal, anorexia, náuseas, vômitos ocasionais, febre elevada, evoluindo com desidratação, instabilidade hemodinâmica, choque hipovolêmico, podendo ocorrer o óbito. (Macambira *et al.*, 1994)

A hemorragia e a perfuração intestinal com peritonite são complicações observadas raramente na evolução da disenteria amebiana e com alguma frequência na colite amebiana fulminante (Macambira *et al.*, 1994)

Outra complicação rara, porém grave da colite amebiana fulminante é o megacólon tóxico, clinicamente evidenciado por marcante distensão do cólon (Lopes, 1989).

No comprometimento do apêndice-íleocecal, a presença de diarréia mucossanguinolenta, precedendo ou acompanhando as manifestações apendiculares reforça a etiologia amebiana da apendicite, que somente poderá ser confirmada com o exame da peça cirúrgica. (Macambira *et al.*, 1994)

O ameboma exterioriza-se clinicamente por quadro disentérico ou diarréico, dor abdominal associado a massa abdominal palpável. (Macambira *et al.*, 1994)

As estenoses colônicas podem ocorrer em 0,8% dos casos, localizando-se no reto, no sigmóide ou no cólon descendente, traduzindo-se por dor e distensão abdominal, constipação intestinal com eliminação de fezes ressecadas ou em cíbalos. (Lopes, 1989; Macambira *et al.*, 1994).

Sob a denominação de amebíase intestinal crônica (colite não-disentérica) são estudados sinais e sintomas de pequena intensidade que se supõe secundários a úlceras intestinais, cuja sintomatologia, habitualmente é ignorada pelo paciente e costuma evoluir de modo imprevisível, às vezes com períodos de remissão e de recrudescência. Clinicamente observa-se dor abdominal crônica ou recorrente de intensidade leve e indefinida, meteorismo,

alterações de hábitos intestinais (diarréia com muco intercalada com prisão de ventre ou evacuações normais) e freqüentemente ocorre a eliminação de fezes moldadas, no início da evacuação, e de fezes pastosas ou líquidas no final da mesma. Manifestações de ordem geral são também registradas tais como cefaléia, perda de peso, astenia e sonolência. (Macambira *et al.*, 1994)

## 1.8 DIAGNÓSTICO

### 1.8.1 Clínico

As dificuldades para o diagnóstico clínico da amebíase intestinal geralmente são consideradas comuns, devido ao amplo espectro clínico e inespecificidade de apresentação das manifestações da doença, impondo com isso um grande número de diagnósticos diferenciais com outras condições parasitárias ou não. Deve-se ressaltar que o achado positivo de *E. histolytica* não exclui, em determinadas situações clínicas, a possibilidade da concomitância de outra condição mórbida, às vezes de maior gravidade e de pior prognóstico do que a própria amebíase.

### 1.8.2 Laboratorial

O diagnóstico de certeza da amebíase está na dependência do achado da *E. histolytica* a partir de amostras fecais recém-emitidas (cistos e/ou trofozoítos), em material de biópsia, através de culturas axênicas ou ainda pela

detecção de antígenos fecais e mensuração de anticorpos específicos no soro. (Macambira *et al.*, 1994; Salles *et al.*, 1998; Silva & Gomes, 2000).

### 1.8.2.1 Exames específicos

#### a) Exame parasitológico de fezes

Pode ser realizado pelo método direto a fresco com salina a 37°C, cuja finalidade é detectar formas móveis nas fezes pastosas ou mucosanguinolentas, antes de decorridos 30 minutos. A técnica é simples, porém necessita de examinador experiente para evitar confusão com outros tipos de parasitas ou artefatos. (Leventhal & Cheadle, 1997).

A pesquisa de cistos em amostras de fezes formadas pelo método de Faust, é a técnica mais comum de diagnóstico da amebíase (Salles *et al.*, 1998).

Não existe, atualmente, método coproscópico fácil e rápido para distinguir cepas patogênicas de cepas não patogênicas. Trofozoítos móveis e ativos, contendo hemácias, estão presentes somente na amebíase invasiva. (Rey, 1991; Macambira *et al.*, 1994)

Embora ambos os métodos referidos sejam eficazes, o diagnóstico de amebíase somente é confirmado em 70 a 85% dos casos, quando se efetua apenas um teste, pois uma única amostra fecal poderá não conter cistos, em virtude da variabilidade na eliminação. (Rey, 1991; Macambira *et al.*, 1994; Silva *et al.*, 1999)

Os trofozoítos sofrem autólise, pouco tempo depois de eliminados nas fezes liquefeitas, e por isso as amostras investigadas devem ser recém-emitidas e tratadas com solução salina tamponada a 4°C logo após a eliminação, e mantidas a temperatura ambiente no momento do exame, procedimento que mantém vivos os trofozoítos. (Macambira *et al.*, 1994; Salles *et al.*, 1998)

Além do exame direto das fezes em solução salina, o Center for Disease Control (CDC) e a American Society of Clinical Parasitology recomendam examinar:

- Um esfregaço de fezes diluídas com solução salina e iodo.
- Um esfregaço de fezes coradas com hematoxilina férrica ou corante tricrômio.
- Um concentrado de amostra tratada com sulfato de zinco ou com formalina.

O método de concentração e coloração utilizando mertiolate, iodo e formol (MIF) é o mais sensível: detecta de 84% a 92% das fezes com cistos ou trofozoítos. No MIF, cistos e trofozoítos permanecem estruturalmente conservados durante meses e até anos, o que torna possível sua identificação. Ao exame parasitológico das fezes, três amostras são positivas em 60% a 80% dos infectados e mais de cinco amostras de diversos dias são necessárias para que a sensibilidade supere 90%. (Macambira *et al.*, 1994)

#### 1.8.2.1.1 Exame histopatológico

A demonstração da *E. histolytica* pode ser realizada pela retirada de fragmento da mucosa intestinal durante a endoscopia digestiva baixa ou por análise de amostras de lesões de sítios extra-intestinais (Lopes, 1989).

#### 1.8.2.1.2 Métodos imunológicos

Os métodos sorológicos permitem mensurar diferentes tipos e níveis de anticorpos antiameba. A sensibilidade e a especificidade desses métodos são variáveis. Os anticorpos aumentam, como resultado da amebíase invasiva, e persistem mesmo depois de tratamento adequado e bem conduzido, de maneira que a prevalência de títulos diagnósticos é indicativa de frequência da disenteria amebiana ou do abscesso hepático em determinada comunidade. (Macambira *et al.*, 1994)

Dentre os métodos utilizados para o imunodiagnóstico da amebíase, atualmente empregados, destacam-se:

- Reação de Imunofluorescência indireta – RIFI.

A detecção de anticorpos IgG produzidos em decorrência da invasão tecidual pela *E. histolytica* apresenta sensibilidade acima de 95%, o que pode ser útil no auxílio do diagnóstico de formas invasivas, intestinal e/ou extra-intestinal. (Coudert *et al.*, 1968; Thomas *et al.*, 1981; Feitosa, 1986). A RIFI também tem se mostrado importante no acompanhamento de cura

durante o tratamento dos pacientes (Coudert *et al.*, 1968; Ambroise-Thomas, 1976).

- Hemaglutinação indireta

É o método recomendado pelo CDC e pela OMS. Registra a presença de anticorpos específicos mesmo muitos anos após um surto de amebíase invasiva. Há evidência de que essa reação permanece positiva (1:28 ou maiores) durante aproximadamente cinco anos em cerca de 50% dos pacientes que sofreram amebíase invasiva. (Macambira *et al.*, 1994)

- Ensaio Imunoenzimático (ELISA - Enzyme linked Immunosorbent Assay)

O teste de ELISA desenvolvido para detectar nas fezes antígeno GIAP (proteína de aderência a galactose), bem como os anticorpos dirigidos contra a GIAP, do tipo IgG e IgM no sangue, além de representar uma técnica fácil e rápida, tem boa sensibilidade e especificidade na identificação de portadores de *E. histolytica* patogênica, quer estejam clinicamente assintomáticos ou com sintomatologia decorrente de amebíase invasiva intestinal e/ou extra-intestinal. (Ravidin, 1994; Benzeguir & Kettis, 1997)

- Reação em cadeia da polimerase (PCR)

Trata-se de um método de diagnóstico molecular de alta sensibilidade e especificidade, e que demonstra grande aplicabilidade no diagnóstico diferencial e nos estudos epidemiológicos de *E. histolytica* e *E. dispar*, além de poder ser realizado tanto com amostras fecais como com material de abscessos hepáticos (Haque *et al.*, 1998).

### 1.8.2.2 Exames inespecífico

#### a) Retosigmoidoscopia e colonoscopia

Permitem diagnosticar e analisar as lesões intestinais, além de proporcionar a retirada de material para a realização do exame histopatológico.

#### b) Clister opaco e trânsito intestinal

Podem demonstrar a presença indireta de ulcerações intestinais, estenoses colônicas e o ameboma.

#### c) Hemograma

As alterações são inespecíficas e quando presentes há leucocitose com neutrofilia. Em alguns casos ocorre anemia normocrômica e normocítica. (Lopes, 1989 ; Andrade & Andrade, 1997; Salles *et al.*, 1998)

## 1.9 TRATAMENTO

O tratamento da amebíase envolve os fármacos classificados como: amebicidas luminais, sistêmicos, mistos e antibióticos.

### 1.9.1 Amebicidas luminais ou de contato

São ativos apenas contra as formas intestinais da amebíase. São pouco absorvidos e por isso não agem sobre as forma invasivas do parasita. Atualmente os mais utilizados são os derivados da dicloacetamida (etofamida e

teclosan). Esse grupo compreende os medicamentos com baixa toxicidade e boa tolerância. Estas drogas apresentam um tempo de permanência longo na luz intestinal, prolongando com isso a sua ação amebicida. São empregados em esquemas terapêuticos de curta duração e, em princípio, não é preciso repetir o tratamento. (Goodman & Gilman, 1996; Silva, 1998).

### **1.9.2 Amebicidas sistêmicos**

São eficazes apenas contra as formas invasivas de amebíase. Atualmente, esse grupo de fármacos somente é usado quando há falhas de outros agentes terapêuticos, como por exemplo resistência aos nitroimidazólicos, ou se estes apresentarem efeitos colaterais intoleráveis. São exemplos a emetina, a desidroemetina e a cloroquina (Goodman & Gilman, 1996; Korolkovas, 1997).

### **1.9.3 Amebicidas mistos**

Atuam sobre os protozoários da luz e da parede intestinal e ainda sobre as formas dos sítios extra-intestinais. Como exemplo, tem-se os derivados nitroimidazólicos: metronidazol, secnidazol, tinidazol e ornidazol. (Goodman & Gilman, 1996; Korolkovas, 1997).

### **1.9.3 Antibióticos**

Podem ser usados em associação aos quimioterápicos em algumas situações tais como nas formas disentéricas febris e diante de

complicações intestinais e extra-intestinais da amebíase. Os antibióticos de maior utilidade são: eritromicina, tetraciclina e paramomicina. (Goodman & Gilman, 1996; Korolkovas, 1997).

## 1.10 ESQUEMAS TERAPÊUTICOS

### 1.10.1 Infecção amebiana assintomática

Podem ser usados os amebicidas de contato (etofamida ou teclosan) ou um derivado nitroimidazólico que tenha maior permanência na luz intestinal (secnidazol ou tinidazol), visando romper o ciclo de transmissão e diminuir o risco de amebíase invasiva (Salles *et al.*, 1998)

### 1.10.2 Disenteria amebiana

Essa forma requer o uso dos derivados nitroimidazólicos, sendo o metronidazol o de primeira escolha, administrado por via oral ou endovenosa nos casos graves e quando há impossibilidade de ingestão de comprimidos. Após, é utilizado o esquema de amebicida de contato, com a finalidade de eliminar os portadores e transmissores de cistos e de prevenir quanto as recidivas. (Salles *et al.*, 1998).

### 1.10.3 Amebíase intestinal não disentérica

Está indicado a utilização de nitroimidazólicos de curso curto,

preferencialmente o secnidazol ou tinidazol, complementados com as drogas de contato nos moldes classicamente propostos. (Salles *et al.*, 1998).

#### 1.10.4 Colite necrotizante

São quadros graves, com risco de vida, necessitando de internação hospitalar e de medidas de suporte e estabilização hemodinâmica do paciente. O metronidazol em infusão endovenosa é a droga de escolha, associado a antimicrobianos que tenham espectro de ação contra bactérias Gram negativas e anaeróbias da flora intestinal colônica. (Salles *et al.*, 1998).

#### 1.11 JUSTIFICATIVA

Calcula-se que 5 a 50% da população mundial albergam a *E.histolytica* na luz intestinal, onde 10% exibem sintomas clínicos e destes 2 a 20% tendem a evoluir para invasão extra-intestinal. (Aquino,1996)

A prevalência de *E.histolytica* no Brasil varia de 2 a 50%, sendo alta em algumas cidades como: Belém, Manaus, João Pessoa e Porto Alegre. (Aquino,1996) Portanto, no Brasil, a amebíase apresenta grande diversidade não só quanto a prevalência, quanto a sintomatologia da doença variando de região para região. Os surtos da infecção no Brasil não apresentam a gravidade e intensidade dos verificados no México, de alguns países da África e da Ásia. Mas na Amazônia a amebíase difere das outras regiões, pois além de mais prevalente, manifesta-se com mais gravidade. (Silva & Gomes, 2000).

Segundo alguns autores, a identificação desses organismos não é tarefa das mais fáceis, sendo comum erros no diagnóstico por conta de inexperiência técnica, que com frequência leva a resultados falso-positivos quando leucócitos, outras amebas ou artefatos são identificados como *E.histolytica*. (Aquino, 1996; Leventhal & Cheadle, 1997). A classificação das amebas baseia-se principalmente no número de núcleos dos cistos maduros. A dificuldade diagnóstica também reside no fato de que outras espécies de amebas que apresentam cistos maduros com quatro núcleos podem ser encontradas nas fezes, tais como: *Entamoeba hartmanni* e *Entamoeba dispar*. (Aquino, 1996)

Alguns estudos tem demonstrado que até 90% das infecções por *E.histolytica* não causam doença invasiva sintomática, e que pessoas com infecção por *E.dispar* não apresentam doença intestinal e/ou invasiva e não produzem anticorpos séricos para amebas, levando a crer que os testes sorológicos podem ser um recurso valioso no auxílio do diagnóstico de amebíase invasiva. (Aquino, 1996)

A necessidade de buscar métodos alternativos de diagnóstico laboratorial correto da *E.histolytica* é fundamental, por a única espécie patogênica entre as espécies de amebas entéricas, assegurando-se terapia apropriada e como conseqüência redução do risco de amebíase extra-intestinal e do índice de mortalidade observado nessa parasitose.

## 1.12 OBJETIVOS

### 1.12.1 Geral

Correlacionar os achados clínicos com o método de ELISA para detecção de coproantígeno de *E.histolytica* na amebíase intestinal invasiva e não invasiva.

### 1.12.2 Específicos

- a) Determinar a prevalência de amebíase intestinal na população estudada;
- b) Determinar a prevalência de enteroparasitas na população investigada;
- c) Traçar o perfil clínico da amebíase intestinal na população em estudo.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 AMOSTRA

Será formada por pacientes que fazem parte da demanda passiva do Serviço de Clínica Médica do Ambulatório Médico Central da Polícia Militar do Pará.

### 2.2 ASPECTOS ÉTICOS

Os pacientes com idade a partir de 13 anos eram informados sobre o estudo a ser realizado e após assinarem um termo de consentimento (Anexo 1), passavam por um exame clínico, durante o qual era preenchida uma ficha Clínico-epidemiológica (Anexo 2).

### 2.3 COLETA DA AMOSTRA

Os pacientes inclusos no estudo forneceram duas amostras fecais: uma com e outra sem conservante, para a realização dos exames parasitológicos e imunoenzimático.

### 2.4 ANÁLISES LABORATORIAIS

Para o diagnóstico de amebíase intestinal, as fezes dos pacientes foram analisadas por diferentes métodos coprológicos e pela pesquisa de coproantígenos.

## 2.4.1 Exame Coprológico

No exame coprológico os métodos empregados foram Direto à fresco e com coloração temporária pelo lugol, Centrífugo-flutuação em sulfato de zinco à 33% (Método de Faust) e Hematoxilina Férrica.

### 2.4.1.1 Método Direto

Em uma das extremidades de uma lâmina, previamente limpa e identificada, foi colocada uma gota de solução salina e na outra extremidade uma gota de lugol, utilizando um palito de madeira, retirou-se uma pequena amostra de fezes e emulsionou-se a mesma na gota de solução salina. Repetiu-se o procedimento anterior na gota de solução de lugol, e então cobriu-se as preparações com lamínulas 22 x 22 mm. O exame foi realizado em microscópio utilizando-se aumento de 10 X e 40 X, iniciando com o material da gota de solução salina.

### 2.4.1.2 Método de Faust e cols.

Em um frasco de Borrel ou similar, diluiu-se aproximadamente 10 g de fezes em 20 ml de água potável, que foi bem homogeneizada e depois filtrada através de gaze, dobrada em quatro, para um tubo de Wassermann e em seguida centrifugada por um minuto a 2.500 rpm. O sobrenadante foi desprezado e ressuspendeu-se o sedimento em água, sendo novamente centrifugado a 2.500 rpm durante um minuto. Esse procedimento foi repetido por mais 2 ou 3 vezes, até que o líquido sobrenadante ficou bem claro. Após a

última lavagem, o sobrenadante foi desprezado, e o sedimento foi ressuspenso 2 ml de uma solução de sulfato de zinco a 33 % e posteriormente o volume do tubo foi completado com a solução de sulfato de zinco até mais ou menos 1 cm da borda. Nova centrifugação por um minuto a 2500 rpm foi realizada. Com o auxílio de uma alça de platina foi retirada a película flutuante que se formou na superfície do líquido, sendo depositada em uma lâmina, adicionou-se uma gota de lugol e então a lâmina foi coberta com lamínula. O exame do material foi realizado em microscópio com aumento de 10X e 40X

#### 2.4.1.3 Método da hematoxilina férrica

As fezes conservadas em fixador de Schaudinn (em partes iguais), foram misturadas, sendo retirado dessa mistura um volume de aproximadamente 15 ml que foi centrifugado a 1500 rpm. O sobrenadante foi desprezado. Em uma lamínula de 22 x 22 mm, presa na chanfradura de uma rolha, foram colocadas duas gotas de soro sangüíneo. Com alça de platina ou palito de madeira, o material da parte superior do sedimento foi colhido e misturado com as gotas de soro na lamínula, procedendo-se a coloração em placa de Petri. A preparação foi mergulhada em álcool iodado a 70%, por 1 a 2 minutos, mergulhando-se em seguida no alúmen de ferro a 2 %, por 5 minutos, após esse tempo a preparação foi lavada em água corrente, sendo em seguida mergulhada na solução de Hematoxilina a 0,5 % por 15 minutos. Mais uma lavagem foi realizada e em seguida mergulhou-se a preparação em álcool a

80 %, álcool a 90 % e álcool a 100 % (absoluto), permanecendo a preparação por 1 minuto em cada solução. A preparação foi montada em lâmina utilizando-se bálsamo do Canadá, sendo examinada após 24 horas com objetiva de imersão.

#### 2.4.2 Pesquisa de Coproantígeno

A pesquisa do coproantígeno GIAP (proteína de aderência inibidora da galactose) para *E.histolytica*, foi realizada através de teste imunoenzimático ELISA (ELISA-TECHLAB Blaksburg, VA).

Dois controles foram usados, um positivo e outro negativo. Na cavidade da placa foi adicionada uma gota do controle positivo e em outra cavidade adicionou-se uma gota do controle negativo, e em uma terceira cavidade foi adicionado 0,2 ml da amostra diluída do paciente (fezes diluídas com diluente fornecido no KIT). As marcas de identificação foram feitas diretamente nas cavidades.

Em cada cavidade adicionou-se uma gota de conjugado enzimático. A placa foi coberta com adesivo plástico e incubada por duas horas à temperatura ambiente. Após o tempo de incubação o conteúdo das cavidades foram desprezadas em um recipiente e as cavidades foram lavadas com a "solução de lavagem". Bateu-se a placa invertida em papel toalha seco e o processo de lavagem foi repetido por mais 4 vezes, usando-se sempre papel toalha seco em cada passo. Após a lavagem, foi removido qualquer resíduo

líquido da cavidade, usando-se papel toalha seco. Uma gota do “substrato A” foi adicionada em cada cavidade, seguido de uma gota do “substrato B” . Misturou-se e a placa foi incubada à temperatura ambiente por 10 minutos, findo esse tempo, adicionou-se uma gota da “ solução de parada” em cada cavidade. A adição da “solução de parada” promove a mudança da cor azul para a cor amarela.

Interpretação dos Resultados:

A reação é considerada positiva caso haja o desenvolvimento de cor de amarelo pálido até amarelo forte, e considera-se a reação negativa quando a solução da cavidade se mantém transparente.

- Interpretação Espectrofotométrica

A densidade ótica do controle negativo deverá ser igual ou inferior a 0.150. Em caso contrário o teste deverá ser repetido, tendo atenção nas etapas de lavagens. A densidade ótica do controle positivo deverá ser igual ou superior a 0.500 após a subtração da densidade ótica do controle negativo. O resultado de uma amostra é considerado positivo se a densidade ótica for igual ou superior a 0.500 após ser subtraído o valor da densidade ótica do controle negativo. O resultado de uma amostra é considerado negativo se a densidade ótica for inferior a 0.050.

## 2.5 MÉTODOS ESTATÍSTICOS

Buscando-se uma correlação clínico-laboratorial, os resultados dos exames parasitológicos e imunoenzimático, bem como os dados clínicos

constantes na ficha Clínico-epidemiológica dos pacientes foram analisados, e tratados por testes estatísticos, indicados à saber: Médias, Porcentagens e McNemar. Estabeleceu-se o limite de significância dos resultados em 5 % ( $P < 0,05$ ), utilizando-se o programa estatístico BIO ESTAT 2.0, AYRES, M., 2000.



### 3. RESULTADOS

#### 3.1 AMOSTRA

A amostra foi constituída por 105 pacientes com idade entre 13 e 80 anos, 50,48% (53/105) do sexo masculino e 49,52% (52/105) do feminino.

#### 3.2 PREVALÊNCIA DE ENTEROPARASITOSE

Dos enteroparasitas detectados na população em estudo, os protozoários apresentaram maior prevalência, destacando-se a *E.nana* com 61,90% (65/105), *B.hominis* com 28,57% (30/105), *E.coli* com 18,10 % (19/105) e *G.lambliia* com 5,71% (06/105). Entre os helmintos mais prevalentes encontram-se o *T.trichiura* com 4,76% (5/105) seguido de *A. lumbricoides* com 3,81% (4/105). (Figura 1)

##### 3.2.1 Prevalência de amebíase

De acordo com os resultados obtidos por métodos coproscópicos, a prevalência de amebíase intestinal foi de 13,33 % (14/105), enquanto que com o emprego do método ELISA a prevalência foi maior, 24,76 % (26/105). Essa diferença foi estatisticamente significativa ( $p < 0,05$  – McNemar) (Figura 2)

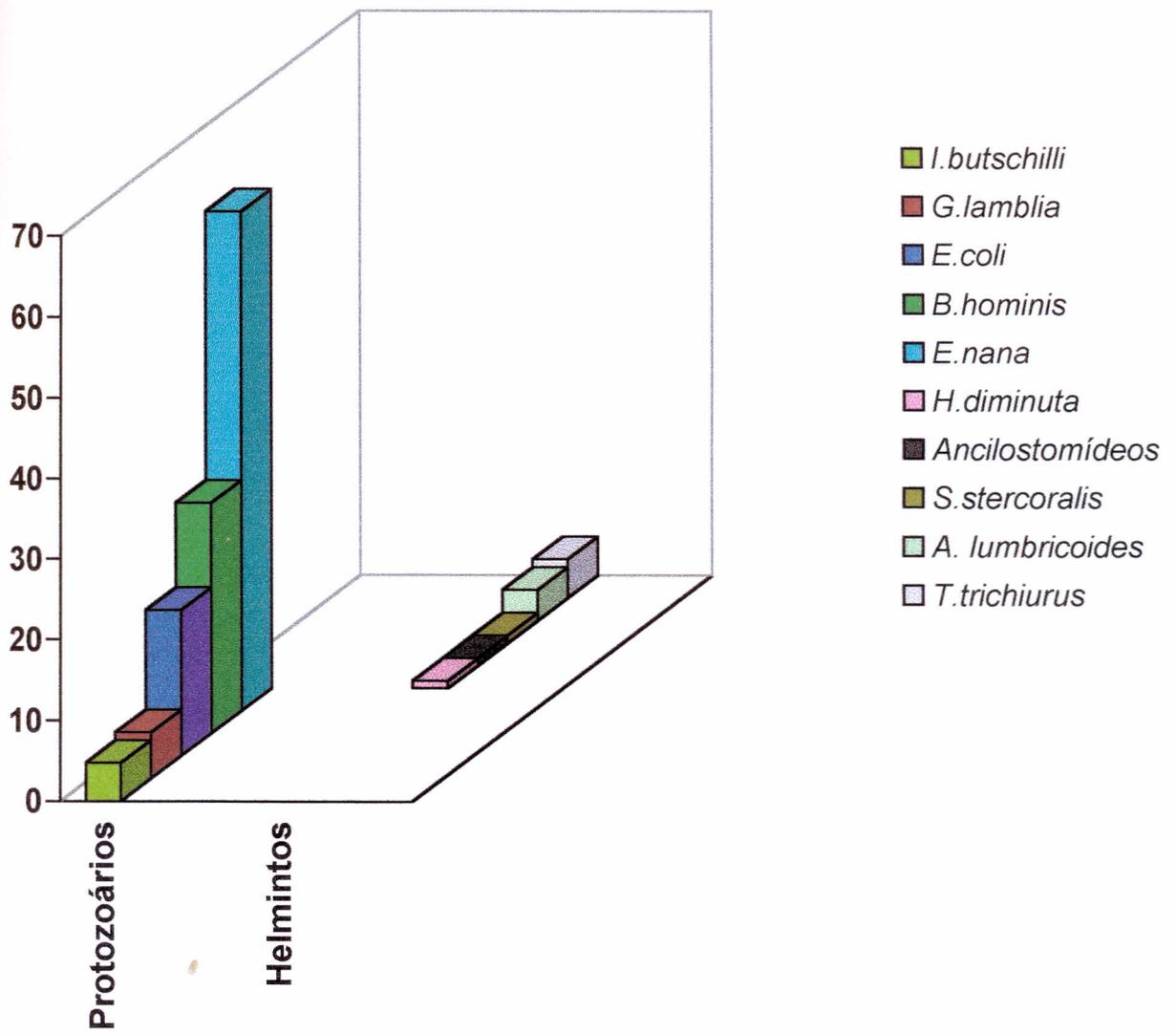
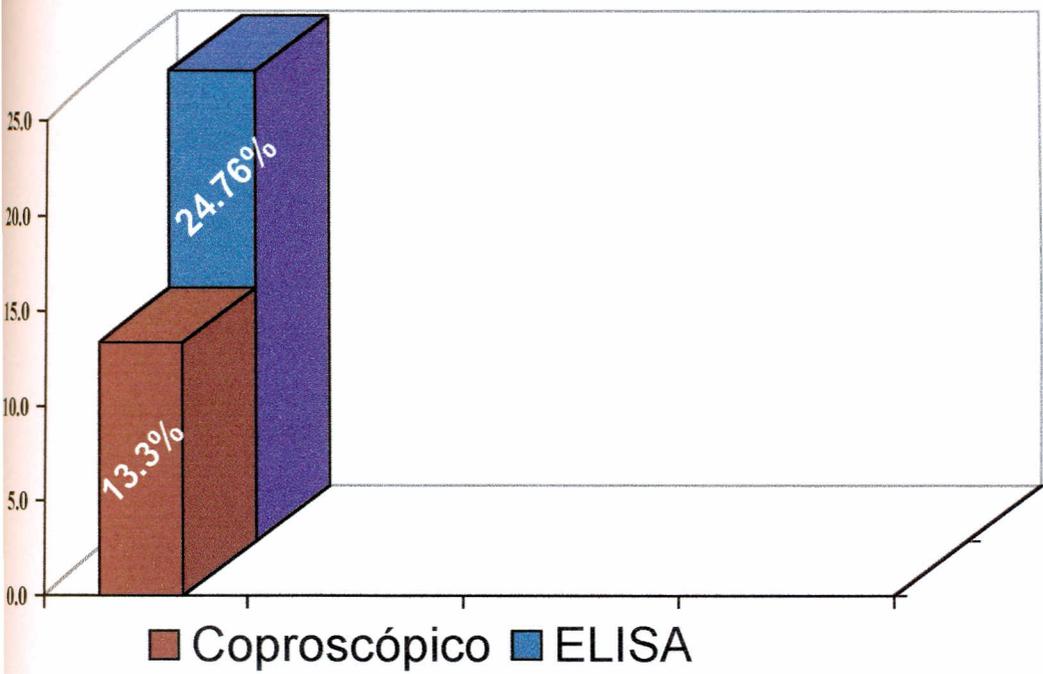


Figura 1 Prevalência de enteroparasitas na população estudada



**Figura 2** Prevalência de amebíase intestinal em relação a metodologia empregada para diagnóstico.

### 3.3 ASSOCIAÇÕES ESTATÍSTICAS

#### 3.3.1 ELISA e exames coprocópicos

Em relação as metodologias empregados para diagnóstico, observou-se que em 5,71 % (6/105) a *E.histolytica* foi diagnosticada tanto pelo método ELISA como por método coprocópico, em 7,62 % (8/105) por método coprocópico e em 19,05 % (20/105) somente por ELISA. (Tabela 1)

#### 3.3.2 ELISA e sintomatologia digestiva

Entre os pacientes com amebíase detectada pelo método ELISA, 92,31 %(24/26) apresentavam sintomatologia digestiva. (Figura 3)

#### 3.3.3 ELISA e sintomatologia sugestiva de amebíase intestinal

Entre as queixas digestivas referidas pelos pacientes, foram considerados como sugestivos de amebíase intestinal os seguintes sintomas: cólica intestinal, diarreia com ou sem sangue e/ou muco e tenesmo.

Dos pacientes com teste de ELISA positivo, 73,08% (19/26) referiram um ou mais desses sintomas, porém quando comparados com os pacientes que possuíam teste de ELISA negativo e que também apresentavam um ou mais dos sintomas considerados como sugestivos de amebíase intestinal, não observou-se significância estatística ( $p > 0,05$  – McNemar) (Figura 4)

Tabela 1 – Correlação de positividade entre os métodos coproscópico e ELISA no diagnóstico da amebíase intestinal.

| MÉTODOS             | COPROSCÓPICO<br>(Positivo)    | COPROSCÓPICO<br>(Negativo)    | TOTAL                        |
|---------------------|-------------------------------|-------------------------------|------------------------------|
| ELISA<br>(Positivo) | 06<br>(5,71 %)                | 20<br>(19,05 %)               | 26<br>(24,76 %)              |
| ELISA<br>(Negativo) | 08<br>(7,62 %)                | 71<br>(67,62 %)               | 79<br>(75,24 %)              |
| <b>TOTAL</b>        | <b>14</b><br><b>(13,33 %)</b> | <b>91</b><br><b>(86,67 %)</b> | <b>105</b><br><b>(100 %)</b> |

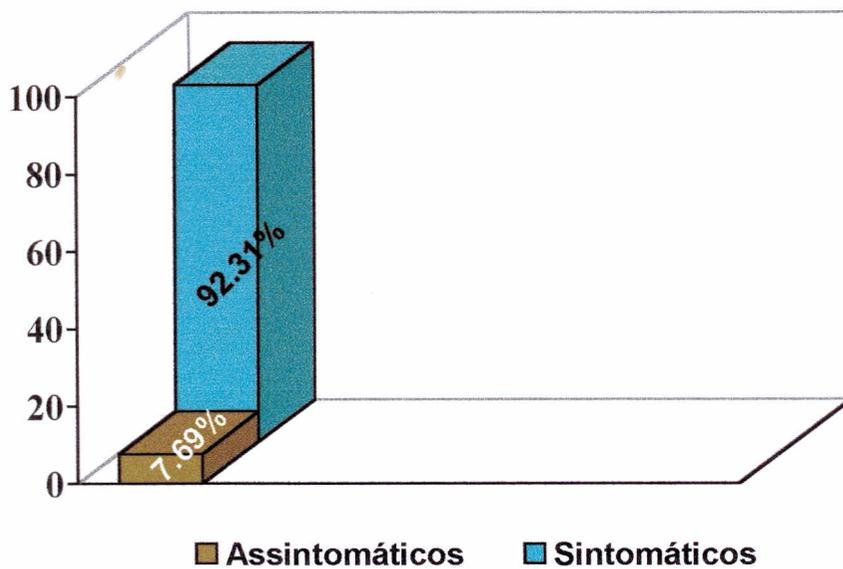
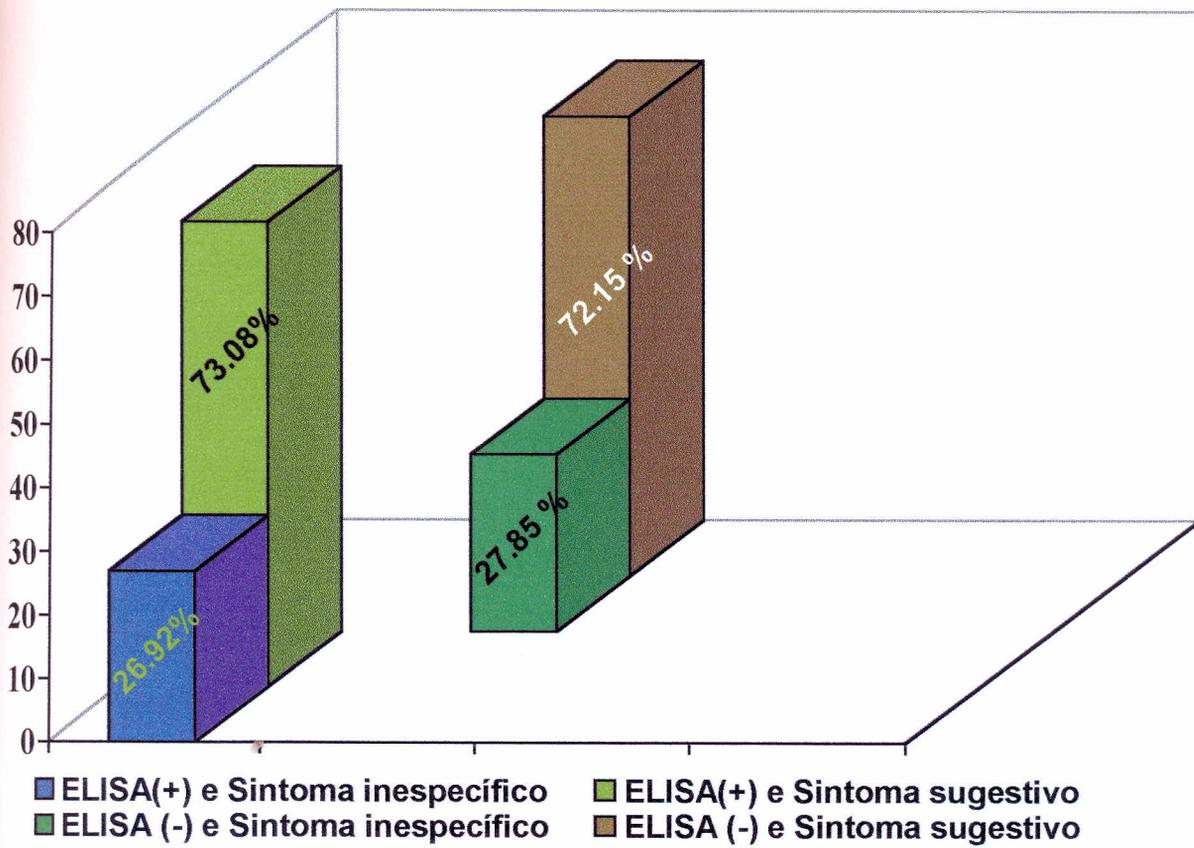


Figura 3 Prevalência de pacientes com sintomatologia digestiva e teste de ELISA positivo.



**Figura 4** Prevalência de pacientes com teste de ELISA positivo e sintomatologia digestiva sugestiva de amebíase intestinal

### 3.3.4 ELISA e pacientes sintomáticos com associação parasitária

Entre os pacientes com teste de ELISA positivo, 73,08 % (19/26) apresentaram *E. histolytica* associada a um ou mais enteroparasitas, dos quais 10,53 % (2/19) apresentavam-se assintomático, 26,31% (5/19) com sintomas inespecíficos e 63,16 % (12/19) com sintomatologia sugestiva de amebíase intestinal.

No grupo de pacientes com teste de ELISA negativo, 79,75 % (63/79) encontravam-se parasitados por um ou mais enteroparasitas e em 20,25% (16/79) não foi detectado parasitas nas fezes. Entre os pacientes parasitados, 9,52 % (6/63) eram assintomáticos, 20,63 % (13/63) apresentaram sintomas inespecíficos e 69,84 % (44/63) apresentaram queixas sugestivas de amebíase intestinal. Ressalta-se que entre esses pacientes com teste de ELISA negativo, 7,62 % (8/79) apresentaram diagnóstico de *E. histolytica* pelos métodos coprocópicos, além de outros protozoários associados, e todos apresentaram queixas clínicas sugestivas de amebíase intestinal. (Tabela 2)

### 3.3.5 ELISA e cólica intestinal

A queixa de cólica intestinal foi referida por 46,15% (12/26) dos pacientes que apresentaram teste de ELISA positivo, entretanto, essa referência não mostrou-se estatisticamente significativa quando comparada com os pacientes com teste de ELISA negativo e que apresentavam cólica intestinal. (Figura 5) (  $p > 0,05$  - McNemar)



Tabela 2 - Correlação de sintomatologia entre pacientes com associação parasitária e teste de ELISA

| SINTOMAS      | ELISA POSITIVO<br>COM ASSOCIAÇÃO DE UM<br>OU MAIS ENTEROPARASITA | ELISA NEGATIVO<br>COM ASSOCIAÇÃO DE UM<br>OU MAIS ENTEROPARASITA |
|---------------|--|--|
| SUGESTIVO     | 63,16 %<br>(12/19)   | 69,84 %<br>(44/63)   |
| INESPECÍFICO  | 26,31%<br>(5/19)   | 20,63 %<br>(13/63)   |
| ASSINTOMÁTICO | 10,53%<br>(2/19)   | 9,52 %<br>(6/63)   |
| TOTAL         | 100 %  | 100 %  |

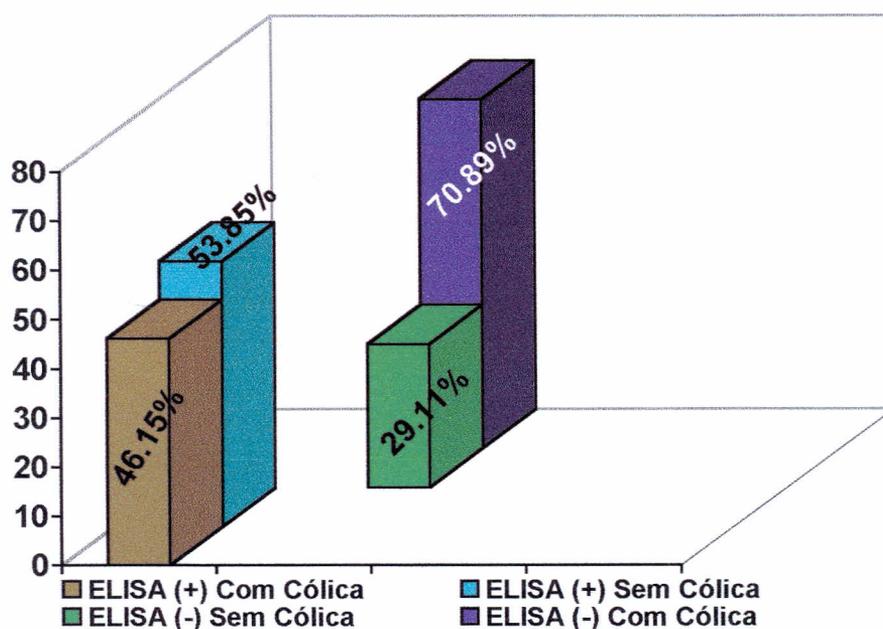


Figura 5 Prevalência de cólica intestinal em pacientes com amebíase

### 3.3.6 ELISA e diarreia

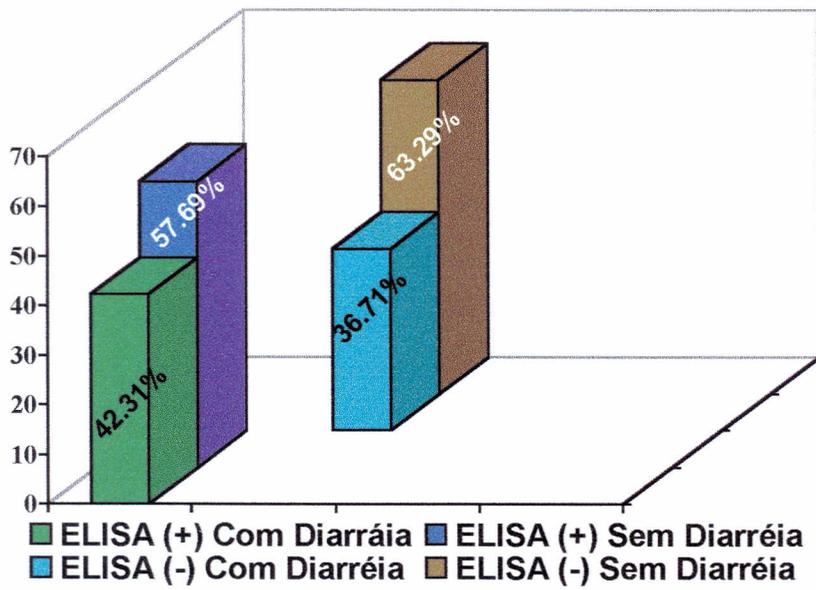
A diarreia foi relatada por 42,31% (11/26) dos pacientes com teste de ELISA positivo, não observando-se significância estatística quando comparados com os pacientes que referiram esse sintoma e teste de ELISA negativo ( $p > 0,05$  – McNemar). (Figura 6)

### 3.3.7 ELISA e diarreia mucosa / sanguinolenta

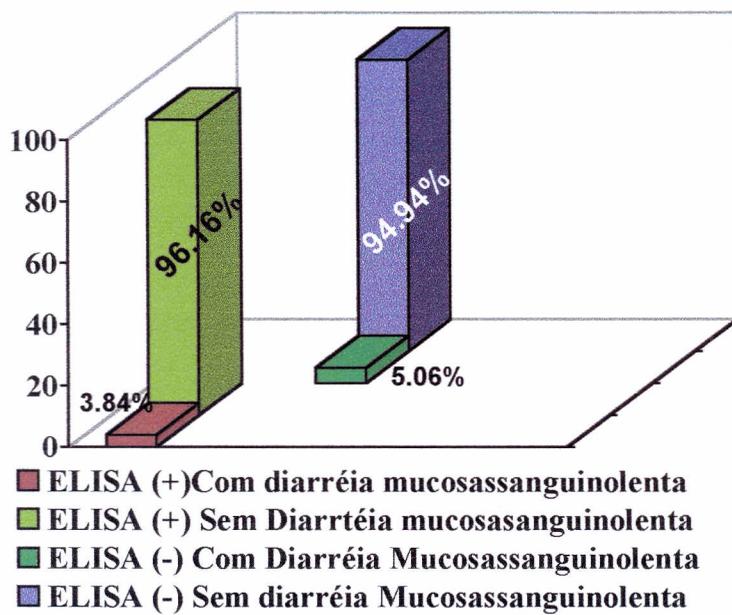
A presença de diarreia mucosa/sanguinolenta foi referida por 4,76% (5/105) dos pacientes que fizeram parte deste estudo. Entre os pacientes que apresentaram esse sintoma apenas 3,84% (1/26) apresentaram teste de ELISA positivo. Esse resultado quando comparado com os pacientes que apresentaram diarreia mucossanguinolenta e teste de ELISA negativo mostrou-se estatisticamente significativo ( $p < 0,05$  - McNemar) (Figura 7)

### 3.3.8 ELISA e tenesmo

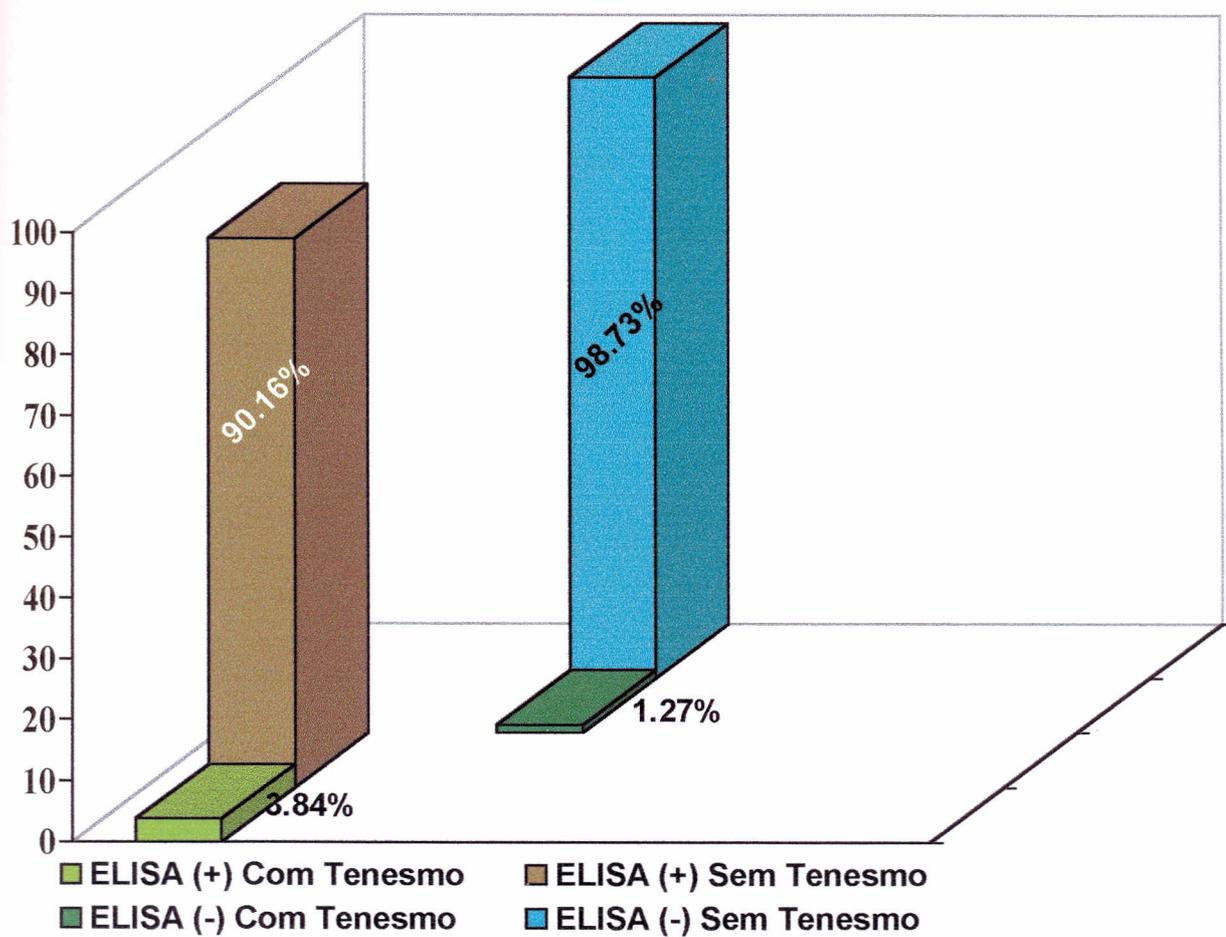
O tenesmo encontra-se entre os sintomas referidos por 3,85% (1/26) dos pacientes com amebíase intestinal, não sendo esse resultado significativo estatisticamente ( $p > 0,05$  – McNemar) quando comparado com os pacientes que apresentavam tenesmo e que não eram portadores de *E.histolytica*.(Figura 8)



**Figura 6** Prevalência de diarréia em pacientes com amebíase intestinal.



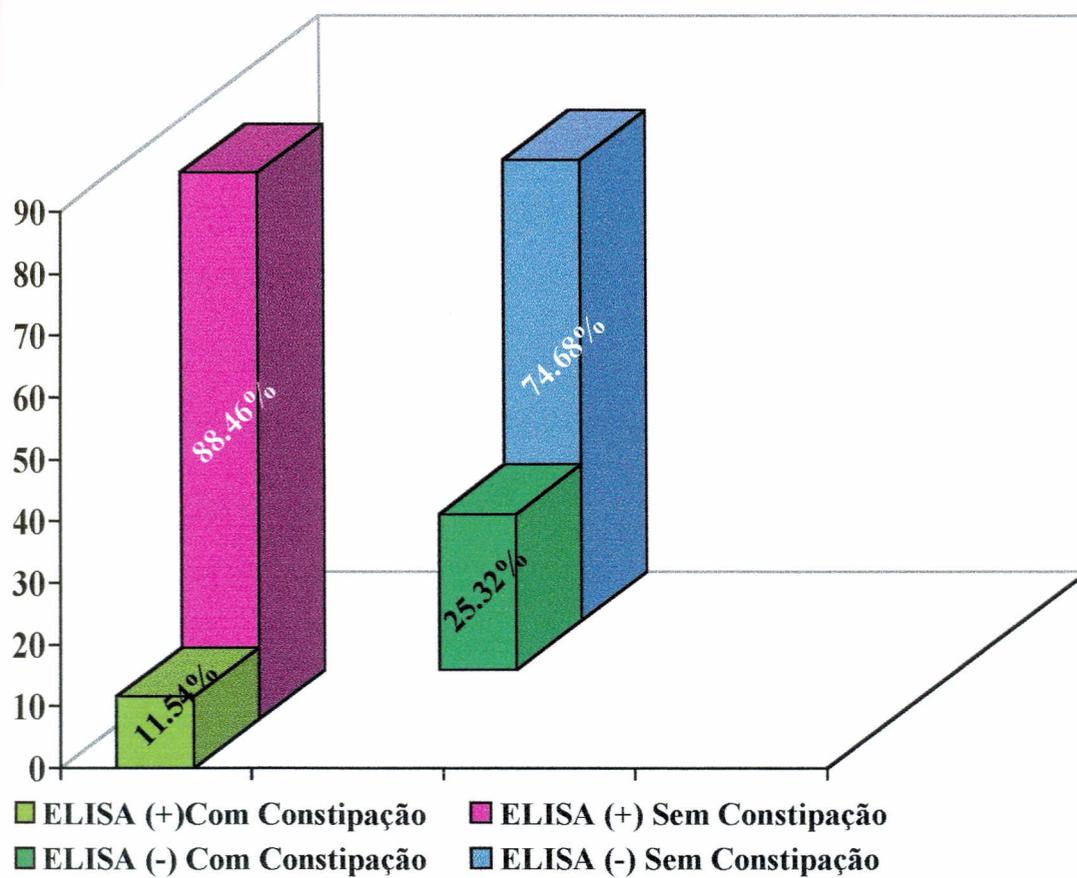
**Figura 7** Prevalência de diarréia mucosanguinolenta em pacientes com amebíase intestinal



**Figura 8** Prevalência de Tenesmo em pacientes com amebíase intestinal.

### 3.7.9 ELISA e constipação intestinal

Entre os pacientes com amebíase intestinal 11,54% (3/26) queixaram-se de constipação intestinal, todavia esse sintoma não foi estatisticamente significativo ( $p > 0,005$  – McNemar) quando comparado com os pacientes que relataram a mesma queixa e que não eram portadores de *E. histolytica* (Teste de ELISA negativo). (Figura 9)



**Figura 9** Prevalência de Constipação em pacientes com amebíase intestinal

## 4 DISCUSSÃO

A amebíase tem sido registrada em todo o mundo, sendo observada com maior prevalência nas regiões tropicais e subtropicais, principalmente, nas de baixo nível socio-econômico e higiênico-sanitário. No Brasil, estudos realizados nas diversas regiões revelaram prevalência que vai de 10% a 40% (Rey, 1991). Segundo Cunha, (1991) as capitais brasileiras Manaus e Belém na Região Norte, João Pessoa no Nordeste e Porto Alegre na Região Sul foram as que registraram maiores prevalências de amebíase intestinal.

No presente estudo, entre os enteroparasitas detectados por métodos coproscópicos destacaram-se *E.nana*, *B.hominis*, *E.coli*, e o protozoário reconhecidamente patogênico *G.lambliia*. Entre os helmintos a maior prevalência foi de *T.trichiura* e *A.lumbricoides*. Observamos que o poliparasitismo foi prevalente na população estudada, estes achados estão de acordo com os encontrados em outros estudos realizados na grande Belém (Almeida *et al.*, 2000; Azevedo *et al.*, 2000).

A prevalência da amebíase intestinal variou conforme a metodologia diagnóstica utilizada, mas não diferente da já registrada no Brasil.

A prevalência da amebíase determinada pelo método de ELISA demonstra o maior alcance do método imunológico sobre o coproscópico, em decorrência do seu maior espectro de sensibilidade e especificidade, aliado a mínima possibilidade de interferências. Estes resultados corroboram com os

encontrados por Jelinek *et al.*, (1996), Benzeguir & Kettis, (1997), Haque *et al.*, ( 1998) e com os encontrados nos estudos realizados em nossa região por Póvoa *et al.* (2000).

A superioridade do método ELISA sobre os métodos coprocópicos, nos leva à reflexão sobre a realidade epidemiológica nacional, e principalmente, regional da amebíase, pois a grande maioria dos estudos realizados no Brasil e na região Amazônica até aqui, levaram em conta somente o emprego de metodologias incapazes de diferenciar a forma patogênica (*E.histolytica*) da não patogênica (*E.dispar*), de modo que na atualidade, esses índices de prevalência precisam ser reavaliados.

Em relação às manifestações clínicas observadas neste estudo, constatou-se que entre os pacientes com amostra positiva para *E. histolytica* pelo teste de ELISA, a grande maioria apresentou algum tipo de sintomatologia digestiva, e uma pequena parcela mostrou-se assintomática. Entre os pacientes sintomáticos, quase 3/4 apresentaram sintomas sugestivos de amebíase intestinal.

Vale ressaltar, que entre os pacientes com teste de ELISA positivo, a maioria apresentou *E.histolytica* associada a um ou mais enteroparasitas. Desses, um número considerável referiu sitomatologia sugestiva de amebíase , uma pequena parcela apresentou sintomas inespecíficos e uma minoria não apresentou sintomas.

Em relação aos pacientes com teste de ELISA negativo, um percentual significativo encontrava-se acometido por um ou mais

enteroparasitas, sendo que alguns apresentaram-se assintomáticos, outros com sintomas inespecíficos, enquanto queixas sugestivas de amebíase intestinal foram referidas pela maioria.

Ressalta-se que entre os pacientes com teste de ELISA negativo, porém com *E.histolytica* e outros enteroparasitas diagnosticados por métodos coproscópicos, todos apresentaram queixas clínicas sugestivas de amebíase intestinal.

Os fatos relatados acima, expõem a dificuldade de correlação clínico-laboratorial na amebíase intestinal por vários fatores, entre os quais a inespecificidade do quadro clínico, a associação com outros parasitas e a escolha do método de diagnóstico laboratorial. O método coprológico poderá, não raramente, resultar em falso-positivos ou falso-negativos, devido à interferência de artefatos e células, aliado à inexperiência do microscopista, além do que não permite a diferenciação morfológica entre *E.histolytica* (patogênica) e *E.dispar* (apatogênica). Por outro lado, a alta eficácia do teste de ELISA proporciona a confirmação etiológica desta protozoose. (Aquino, 1996; Silva *et al.*, 1999)

Nos casos sintomáticos, fica inicialmente estabelecido apenas o diagnóstico sindrômico da situação clínica, por isso diante da indefinição etiológica, os rumos da investigação para outras condições mórbidas que também afetam o trato gastrointestinal devem ser consideradas; o que tem alto custo e expõe o paciente a maiores riscos em comparação aos benefícios que essa exploração eventualmente poderia trazer. Por outro lado, muitas

entidades nosológicas devem fazer parte do raciocínio clínico, visando diferenciar a amebíase intestinal invasiva da disenteria bacilar, da retocolite ulcerativa inespecífica, da doença de Crohn, da apendicite aguda bacteriana, das neoplasias do intestino grosso, da colite isquêmica, da doença diverticular dos cólons complicada e da tuberculose intestinal (Aquino, 1996; Andrade & Andrade, 1997; Silva & Gomes, 2000)

A importância dos pacientes assintomáticos com teste de ELISA positivo na cadeia epidemiológica de transmissão da amebíase, é evidente, mesmo considerando que o método não indica o padrão de virulência das cepas. Estes pacientes obrigatoriamente devem ser tratados com amebicidas de contato e feito controle de cura no 7<sup>o</sup>, 14<sup>o</sup> e 21<sup>o</sup> dias, pelo métodos coprocópicos tradicionais. (Owen, 1991; Andrade & Andrade, 1997). A inclusão do teste de ELISA no controle de cura dos pacientes tratados, bem como no acompanhamento dos casos refratários poderá ser considerada, guardadas as devidas proporções favoráveis da relação custo-benefício.

No estudo da sintomatologia da amebíase intestinal, ênfase sempre tem sido dada para os casos de colite não disentérica, nos quais existem cólicas e episódios diarreicos, intercalados com períodos de evacuações normais ou prisão de ventre (Andrade & Andrade, 1997 ; Salles *et al.*, 1998). Neste trabalho, foi possível observar que entre os pacientes com teste de ELISA positivo, as queixas mais freqüentes foram cólicas, diarréia e constipação intestinal e, com menor freqüência, tenesmo e diarréia mucossanguinolenta. Em estudo realizado por Salles, (1989), no qual a

sintomatologia de amebíase intestinal aguda foi avaliada em 300 pacientes, todos tiveram dor abdominal e tenesmo, seguido de diarréia mucossanguinolenta e em menor escala constipação intestinal. Os pacientes que fizeram parte deste estudo eram casos bem caracterizados clínica e laboratorialmente, diferentemente dos pacientes que fizeram parte de nosso estudo, que originaram-se de uma demanda espontânea do serviço de Clínica Médica da Polícia Militar do Pará, sem sintomatologia direcionada para afecções do trato gastrointestinal.

Segundo Cunha & Ferrari, (1994), de 134 pacientes infectados por *E. histolytica*, em Belo Horizonte, 35% apresentaram-se assintomáticos e 65% sintomáticos, onde a maioria apresentou cólica intestinal e apenas dois manifestaram disenteria aguda. As queixas clínicas observadas por Cunha, corroboram com as referidas por nossos pacientes, sendo esses dados coincidentes com os relatos de que as formas clínicas de amebíase no Brasil não se apresentam com a gravidade e intensidade verificadas em outros países como no México e em nações africanas e asiáticas. Porém, é sabido que a realidade da amebíase na Amazônia é bem diferente da encontrada nas demais regiões do Brasil, onde tem-se demonstrado ser muito mais freqüentes e graves os casos de disenteria amebiana aguda e de abscessos hepáticos do que em outras regiões do país (Cunha & Ferrari, 1994; Silva & Gomes, 2000).

Em 1983, Fraiha declarou que o problema de amebíase na Região Amazônica como um todo, era desconhecida em virtude da ausência de inquéritos abrangentes, que pudessem traçar um perfil regional dessa

questão. Ainda hoje, a afirmativa de Fraha permanece atual, uma vez que poucos são os trabalhos na Região Amazônica que façam correlações epidemiológica e clínico-laboratorial das formas invasivas e não-invasivas da amebíase intestinal.

Assim a utilização de métodos como a pesquisa de coproantígenos para o diagnóstico da amebíase intestinal, irão contribuir de modo significativo para confirmar ou excluir a forma invasiva do parasita. Aliam-se a esse propósito, a facilidade de execução técnica (Haque et al., 1994; Benzeguir & Kettis, 1997), maior rapidez e economia de tempo quando comparado à hematoxilina férrica e à reação de imunofluorescência indireta, a alta sensibilidade e expressiva especificidade, quando comparado com cultura (Palomo 1998).

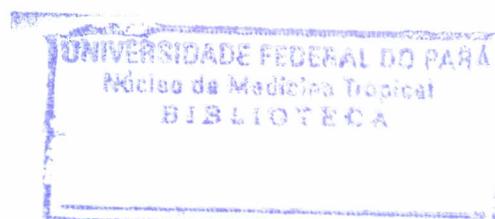
É, portanto, necessário o reconhecimento de indivíduos infectados pela forma invasiva, sintomáticos ou não, que uma vez diagnosticados, serão necessariamente, alvo da terapia amebicida de erradicação e cura, prevenindo-os contra o surgimento de formas clínicas extra-intestinais, tirando-os da condição de eliminadores assintomáticos de cistos fecais e, conseqüentemente, minimizando o impacto da morbi-mortalidade dessa infecção parasitária. Por outro lado, pesquisa de antígeno negativa, mesmo na vigência de resultados positivos nos exames coprológicos, independente do quadro clínico, torna-se desnecessária a abordagem terapêutica específica para a amebíase intestinal, pois nesta situação, pode-se assegurar de que se trata da forma não invasiva conhecida como *E. dispar*.

A utilização do teste de ELISA empregado neste estudo, destaca-se pela sua simplicidade e facilidade de aplicação prática, porém a sua comercialização para utilização em larga escala ainda permanece limitada devido ao alto custo, muito embora seja o método de escolha diagnóstica nos casos de forte suspeita clínica de amebíase.

## 5 CONCLUSÃO

Com base nos resultados encontrados neste trabalho podemos concluir:

- O método ELISA se introduzido na prática cotidiana poderá modificar o panorama epidemiológico dos índices de prevalência da doença evitando tanto superestimações como subestimações por erro de identificação do agente etiológico e de metodologia.
- A utilização do método ELISA nos estudos de correlação clínico-epidemiológicos permitirão o reconhecimento de formas clínicas frustas, consideradas atualmente como assintomáticas.
- O método não substitui a coproscopia, por ser capaz de detectar somente um protozoário, a *E. histolytica* (patogênica).
- Por sua alta especificidade, o método ELISA poderá ser utilizado em estudos voltados para a avaliação da eficácia de drogas amebicidas, como nos estudos duplo cego.
- Resguardando-se a relação custo-benefício, o método de ELISA poderá constituir-se em importante ferramenta no controle de cura da amebíase intestinal, necessitando apenas que estudos sobre a sua sensibilidade sejam realizados, objetivando-se definir critérios para criação de um cronograma próprio para sua utilização nesse controle.



**REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

ALMEIDA, R., SILVA, M., OLIVEIRA, L., MONTEIRO, N., PÓVOA, M.M. Estudo da prevalência de enteroparasitoses em pacientes atendidos no laboratório de parasitologia do Instituto Evandro Chagas, Belém-Pará. **Revista Pará-Médico**, **7 (1)**:18, 2000.

AMBROISE-THOMAS, P. Immunofluorescence in the diagnosis, therapeutic follow up and seroepidemiological studies of some parasitic diseases. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, **70**: 107-112, 1976.

ANDRADE, D.R., ANDRADE, D.R.Jr. Amebíase. In: **Tratado de Infectologia**. VERONESI, R., FOCACCIA, R. (ed) São Paulo, Atheneu, 1997; p.1149-1159.

AQUINO, J.L. Amebíase. In: **Diagnóstico Laboratorial das Principais Doenças Infecciosas e Auto-Imunes**. FERREIRA, A.W., ÀVILA, S.L.M. (ed) Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 1996, p.135-143.

ARAÚJO, R. *et al.* Amebíase. In: **Doenças Infecciosas e Parasitárias: Enfoque Amazônico**. Leão, R.N.Q. (ed.) Belém, Cejup, 1997, p. 581-596.

AZEVEDO, C.H.M., BEZERRA, J.M., MACHADO, R.L.D., ESTEVES, N.M.R.S.

Enteroparasitoses em pacientes atendidos no Laboratório de Análises Clínicas da Faculdade de Farmácia do Centro de Ensino Superior do Pará, no período de fevereiro a junho de 2000. **Revista Pará-Médico, 7 (1):** 39, 2000.

AYRES, M., AYRES, M. Jr., AYRES, D.L., SANTOS, A.S. **Bioestat**

**2.0: aplicações estatísticas nas áreas das ciências biológicas e médicas.** (ed) Belém, Sociedade Civil Mamirauá; Brasília: CNPQ, 2000.

BENZEGUIR, A.K., KETTIS, A.A. Evaluation of an Enzyme-Immunoassay test

kit for diagnosis infections with *Entamoeba histolytica*. **Archives of Medical Research, 28 (suppl.):** 276-278, 1997.

BHATTACHARYA, A., BHATTACHARYA, S., CHARMA, M.P., DIAMOND, L.S.

Metabolic labeling of *Entamoeba histolytica* antigens: characterization of a 28-Kda major intracellular antigen. **Experimental Parasitology, 70:** 255-263, 1990.

CHAMPBELL, D., CHAADEE, K. Survival strategies of *Entamoeba histolytica*:

Modulation of cell mediated immune responses. **Parasitology Today 13:** 184-189, 1997.

COUDERT, J., GARIN, J.P., AMBROISE-THOMA, P., KIEN-TRUONG, T.,  
GEORGE, J.P. **Diagnostic serologic de L'amibiasis par  
immunofluorescence.** La Presse Medicale, 76: 1721- 1722, p. 1968.

CUNHA, A.S. Amebíase. In: **Tópicos de Gastroenterologia.** CASTRO,L. *et al.*(ed) Rio de Janeiro, Medsi, 1991, v2. p. 287-316.

CUNHA, A.S., FERRARI, M.L.A. Amebíase e infecções por amebídeos de vida  
livre. In: **Protozooses Humanas** CASTRO, L.P., CUNHA,A.S., REZENDE,  
J.M., *et al* (ed) São Paulo, Fundação BYK, 1994, p. 100-137

DESPOMMIER, D.D., GWADZ,R.W., HOTEZ,P.J. Entamoeba histolytica In:  
**.Parasitic diseases.** DESPOMMIER, D.D., GWADZ, R.W., HOTEZ, P.J.  
(eds) New York Springes-Verlag. Third Edition, 1995, p.155.

DIAMOND, L.S., CLARCK, C.G.S A redescription of Entamoeba histolytica  
Schaudinn, 1903 separating it from Entamoba dispar Brumpt, 1925.  
**Journal Euk. Microbiology, 40:** 340-344, 1993.

FEITOSA, L.F.M. Aspectos da amebíase intestinal e hepática no Hospital  
Universitário Getúlio Vargas, Manaus – AM. Tese de Mestrado. Belo  
Horizonte, Universidade Federal de Minas Gerais, 1986. 120p.

FRAIHA, H. Parasitoses intestinais. *In: Saúde na Amazônia*. LINHARES, A.C. 2ed, São Paulo, AMPES, 1983, 120 pp.

GOODMAN, L.S., GILMAN, A. **The Pharmacological Basis of Therapeutics**. 9 edition. Mcgraw-Hill, Tennessee, USA, 1996.

HAQUE, R., ALI, L. K., AKTHER, S., PETRI, W.A.Jr. Comparison of PCR, isoenzyme analysis, and antigen detection for diagnosis of *Entamoeba histolytica* infection. **Journal of Clinical Microbiology**, **36**: 449-452, 1998.

JELINEK, T., PEYERL, G., LOSHER, T., NOTHDURFT, H.D. Evaluation of an antigen-capture enzyme immunoassay for detection of *Entamoeba histolytica* in stool sample. **European Journal of Clinical Microbiology and Infections Diseases**, **15**:752-755, 1996.

KOROLKOVAS, A. **Dicionário Terapêutico Guanabara**. 4 ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 1997.

LEVENTHAL, R., CHEADLE, R.F. Protozoa. **Parasitologia Médica**. (ed) São Paulo, Premier LTDA, 1997, p.55-92.

LOPES, H.V. Amebíase. *In: Doenças Transmissíveis*. Amato Neto, V. (ed) São Paulo, Sarvier, 1989, p. 169-178.

MACAMBIRA, R.P., PEVECS.G., FORMIGA, L.B Amebíase. **Jornal Brasileiro de Medicina**, **66** (3): 161-177, 1994.

PALOMO, A.M. **Amibiasis**. (ed) México, Médica Panamericana, 1989.

PÓVOA, M.M., ARRUDA, J.E.G., SILVA, M.CM., BICHARA,C.N.C., ESTEVES, P., GABBAY, Y.B., MACHADO, R.L.D. Diagnóstico de amebíase intestinal utilizando métodos coproscópicos e imunológicos em amostra da população da área metropolitana de Belém, Pará, Brasil. **Caderno de Saúde Pública**, **16**(3): 843-846, 2000.

OWEN, R. L. Parasitoses intestinais. In: **Doenças Gastrointestinais: Fisiopatologia, Diagnóstico, Tratamento**. LEISENGER, M.H.S., FORDTRAN J.S. (ed) Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 1991, p. 977 – 1007.

QUE, X., REED, S.L. The role of extracellular cysteine proteinases in pathogenesis of *Entamoeba histolytica* invasion. **Parasitology Today** **13**: 190-194, 1997.

RAVIDIN, J.I. Diagnosis of invasive amebiasis- time to end morphology era. **Gut**, **35**:1018-1021, 1994

REED, S.L., KEENE, W.E., MCKERROW, J.H. Thiol proteinase expression and pathogenicity of *Entamoeba histolytica*. **Journal of Clinical Microbiology** **27**: 2772-2777, 1989.

REY, L. *Entamoeba histolytica* e amebíase: a doença. In: **Parasitologia**. REY, L. (ed). Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 1991, p. 252-265.

SALATA, R.A., RAVIDIN, J.I. Review of the human immune mechanism directed against *Entamoeba histolytica*. **Review Infections Diseases**. **8**: 261-272, 1986.

SALLES, J.M., SALLES, M., SALLES, J.M., BICHARA, C.M., PÓVOA, M.M., MACHADO, R.L.D. **Monografia de Amebíase**. Salles, J.M. (ed) Rhodia, São Paulo, 1998, 107p.

SALLES, J. M. C. Avaliação da eficácia do secnidazol na amebíase aguda. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, sup. 66, 1989.

SILVA, P. **Farmacologia**. 5<sup>a</sup> ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 1998.

SILVA, E.F., SALLES, J.M.C., SALLES, MJC. Amebíase. In: **Parasitologia humana**. CIMMERMAN, B., CIMMERMAN, S. (ed) São Paulo, Atheneu, 1999, p.113-125.

SILVA, E.F., GOMES, M. A. Amebíase: *Entamoeba histolytica/Entamoeba dispar*. In: **Parasitologia Humana**. NEVES, D.P.(ed) São Paulo, Atheneu, 2000. P.114-127

THOMAS, V., SINNIH, B., LENG, Y.P. Assesment of the sensitivity, especificity, and reproductibility of the indirect imunofluorescent technique for the diagnosis of amebiasis. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, **30**:57-62, 1991.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Report of a consulation of experts on amoebiasis. In: XIII Seminário sobre Amibiasis. Mexico City, Mexico, 1997. P. 28-29.

## ANEXO 1

TERMO DE CONSENTIMENTO PÓS-INFORMAÇÃO DO  
PACIENTE SOBRE O ESTUDO A SER REALIZADO  
(Esta página fica com o médico)

Eu, .....,  
fui informado por meu médico, Dr. Paulo Esteves, sobre o estudo,  
“CORRELAÇÃO CLÍNICO-LABORATORIAL NA AMEBÍASE INTESTINAL”,  
e concordo de livre e espontânea vontade em participar do mesmo, cedendo  
sangue venoso para obtenção de soro e fezes que serão utilizados, sem fins  
lucrativos, no diagnóstico sorológico, imunoenzimático e parasitológico de  
amebíase intestinal.

Belém, ..... de ..... de 19.....

---

Assinatura do paciente ou do responsável (se menor)

**ANEXO 2**  
**PROJETO AMEBÍASE**

Nº.....

Nome :..... DATA:...../...../.....  
 Naturalidade:..... Profissão:..... Idade:..... Sexo: .....  
 Endereço:..... Tel.:.....  
 Escolaridade:  Analfabeto  1º. Grau  2º. Grau  3º. Grau  Completo  Incompleto  
 Procedência da requisição: Ambulatório Médico Central da Polícia Militar do Pará  
 Médico: Dr. Paulo Esteves Tel.: 229-7478 (Residencial)/ 2410767 (Consultório)  
 Procedência Principal :  Urbana  Rural  
 Residências anteriores (Município, cidade, Estado / Período): .....

|   |   |  |  |
|---|---|--|--|
| <b>Tipo de Residência</b><br><input type="checkbox"/> Madeira<br><input type="checkbox"/> Barro<br><input type="checkbox"/> Alvenaria<br><input type="checkbox"/> Outros  | <b>Provida de:</b><br><input type="checkbox"/> Água encanada<br><input type="checkbox"/> Água de poço<br><input type="checkbox"/> Água de cacimba<br><input type="checkbox"/> Torneira pública              | <b>Animais e Insetos Comuns na Casa</b><br><input type="checkbox"/> Cães <input type="checkbox"/> Moscas<br><input type="checkbox"/> Gatos <input type="checkbox"/> Baratas<br><input type="checkbox"/> Aves <input type="checkbox"/> Carapanãs<br><input type="checkbox"/> Outros |  |
| <b>Tipo de Sanitário</b><br><input type="checkbox"/> C/ fossa biológica<br><input type="checkbox"/> S/ fossa biológica<br><input type="checkbox"/> Cavada direto/chão<br><input type="checkbox"/> Dentro residência | <b>Localização</b><br><input type="checkbox"/> Fora residência<br><input type="checkbox"/> Próximo reserv. água<br><input type="checkbox"/> Próximo criad.animal<br><input type="checkbox"/> Próximo hortas | <b>Hábitos Alimentares</b><br><input type="checkbox"/> Gado <input type="checkbox"/> Caça<br><input type="checkbox"/> Porco <input type="checkbox"/> Legumes<br><input type="checkbox"/> Peixe <input type="checkbox"/> Aves<br><input type="checkbox"/> Outros                    | <b>Preparo do alimento</b><br><input type="checkbox"/> Assado<br><input type="checkbox"/> Cozido<br><input type="checkbox"/> Malpassado<br><input type="checkbox"/> Outros |

| <b>SINTOMAS ASSOCIADOS</b> |   |                               |   |                                  |
|----------------------------|---|-------------------------------|---|----------------------------------|
| Azia                       | <input type="checkbox"/> não                    | <input type="checkbox"/> leve | <input type="checkbox"/> moderada               | <input type="checkbox"/> intensa |
| Náuseas                    | <input type="checkbox"/> não                    | <input type="checkbox"/> leve | <input type="checkbox"/> moderada               | <input type="checkbox"/> intensa |
| Dificuldade de Digestão    | <input type="checkbox"/> não                    | <input type="checkbox"/> leve | <input type="checkbox"/> moderada               | <input type="checkbox"/> intensa |
| Constipação Intestinal     | <input type="checkbox"/> não                    | <input type="checkbox"/> leve | <input type="checkbox"/> moderada               | <input type="checkbox"/> intensa |
| Diarréia crônica           | <input type="checkbox"/> não                    | <input type="checkbox"/> leve | <input type="checkbox"/> moderada               | <input type="checkbox"/> intensa |
|                            | <input type="checkbox"/> Com presença de sangue |                               | <input type="checkbox"/> Sem presença de sangue |                                  |
| Cólica Abdominal           | <input type="checkbox"/> não                    | <input type="checkbox"/> leve | <input type="checkbox"/> moderada               | <input type="checkbox"/> intensa |
| Distensão Abdominal        | <input type="checkbox"/> não                    | <input type="checkbox"/> leve | <input type="checkbox"/> moderada               | <input type="checkbox"/> intensa |
| Inapetência                | <input type="checkbox"/> não                    | <input type="checkbox"/> leve | <input type="checkbox"/> moderada               | <input type="checkbox"/> intensa |
| Outros, especificar: _____ |   |                               |   |                                  |
| _____                      |   |                               |   |                                  |

|   |   |
|---|---|
| <b>Uso de Medicamentos ?</b><br><input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não<br>Nome do Medicamento:.....<br>..... | <b>Aspecto das fezes</b><br><input type="checkbox"/> Sólida<br><input type="checkbox"/> Pastosa<br><input type="checkbox"/> Líquida |
|---|---|

|              |
|--------------|
| OBSERVAÇÕES: |
|--------------|

