



## CONTRIBUIÇÃO AO ESTUDO DO DIAGNÓSTICO CLÍNICO LABORATORIAL E DIFERENCIAL DAS Entamoeba histolytica E Entamoeba dispar

### RESUMO

Desde que, a Entamoeba histolytica foi considerada espécie distinta da Entamoeba dispar, o diagnóstico diferencial entre elas tornou-se indispensável. Nesse cenário esse estudo, objetivou realizar uma revisão bibliográfica a partir de documentos e bases de dados consolidadas com a meta de subsidiar os profissionais em saúde sobre o conhecimento no que concerne aos exames clínicos laboratoriais para efetuar a distinção entre os amebídeos antes citados, minimizando as dúvidas que por ventura permeia esses profissionais.

**PALAVRAS-CHAVE:** Diagnóstico Diferencial; Entamoeba histolytica; Entamoeba dispar.

## CONTRIBUTION TO THE STUDY OF CLINICAL LABORATORY AND DIFFERENTIAL DIAGNOSIS OF THE Entamoeba histolytica AND Entamoeba dispar

### ABSTRACT

Since Entamoeba histolytica was considered distinct specie from Entamoeba dispar, the different diagnostics between them became indispensable. In this scenario, this study aimed the realization of a bibliographic revision starting at documents and consolidated data bases, with the goal of subsidize the health professionals about the knowledge of what concerns about clinical lab exams, to make a distinction between the species upped cited, minimizing the doubts that could eventually come to the mind of those professionals.

**KEYWORDS:** Differential Diagnosis; Entamoeba histolytica; Entamoeba dispar.

*Scire Salutis*, Aquidabã, v.3, n.2,  
Abr, Mai, Jun, Jul, Ago, Set 2013.

ISSN 2236-9600

SECTION: *Articles*

TOPIC: *Parasitologia*



DOI: 10.6008/ESS2236-9600.2013.002.0009

### Carinele Marques Veras da Silva

Universidade Tiradentes, Brasil  
<http://lattes.cnpq.br/9399838745556421>  
[carinele1@hotmail.com](mailto:carinele1@hotmail.com)

### Synara Alexandre Araujo Silva

Universidade Tiradentes, Brasil  
<http://lattes.cnpq.br/2202619947647065>  
[synaraalexandre@yahoo.com.br](mailto:synaraalexandre@yahoo.com.br)

### Adriana de Oliveira Guimarães

Universidade Tiradentes, Brasil  
<http://lattes.cnpq.br/5198069378130459>  
[adrianabiomedica@hotmail.com](mailto:adrianabiomedica@hotmail.com)

### Sheyla Alves Rodrigues

Instituto Federal de Sergipe, Brasil  
<http://lattes.cnpq.br/1400038875315410>  
[shelrodrigues@hotmail.com](mailto:shelrodrigues@hotmail.com)

### Ana Maria Guedes de Brito

Universidade Tiradentes, Brasil  
<http://lattes.cnpq.br/4002465424542592>  
[profanaquedes@yahoo.com.br](mailto:profanaquedes@yahoo.com.br)

Received: 18/05/2013

Approved: 05/09/2013

Reviewed anonymously in the process of blind peer.

### Referencing this:

MOTA, E. O.; FREITAS, M. M.; FRANÇA, R. R..  
Contribuição ao estudo do diagnóstico clínico  
laboratorial e diferencial das Entamoeba histolytica e  
Entamoeba dispar. *Scire Salutis*, Aquidabã, v.3, n.2,  
p.99-112, 2013. DOI:  
<http://dx.doi.org/10.6008/ESS2236-9600.2013.002.0009>

## INTRODUÇÃO

A amebíase é causada pelo protozoário *Entamoeba histolytica*, pertencente ao filo *Sarcomastigophora* e classe *Sarcodina* (SANTOS; SOARES, 2008). Devido sua distribuição e o elevado número de infectados é considerada uma parasitose cosmopolita, acometendo cerca de 500 milhões de pessoas, sendo que 100 mil morrem anualmente em consequência da forma invasiva da doença (OMS, 1997; XIMENEZ et al., 2009; LORENZI et al., 2010; OLIVEIRA, 2011). A amebíase é avaliada como sendo a segunda causa de morte desencadeada por protozooses mundialmente, atrás apenas da malária (DELIALIOGLU et al., 2004).

Pesquisas desenvolvidas nas últimas três décadas do século XX verificaram a existência das duas espécies, conforme havia proposto Brumpt em 1925 e que seus cistos são morfológicamente congêneres quando observadas em amostras fecais por microscopia de luz, cujo protocolo é o mais utilizado na rotina dos laboratórios clínicos para diagnosticar amebídeos (DIAMOND; CLARK, 1993).

A Organização Mundial de Saúde (OMS), em 1997, reconheceu a existência da *Entamoeba dispar* e recomendou o desenvolvimento de diagnósticos clínicos laboratoriais que apresentassem sensibilidade, especificidade e fossem capazes de diferenciar *Entamoeba histolytica* e *Entamoeba dispar*. Mediante o exposto, o presente trabalho objetivou contribuir para o conhecimento dos profissionais em saúde a respeito do diagnóstico clínico laboratorial e diferencial dos amebídeos *Entamoeba histolytica* e *Entamoeba dispar*, através de um levantamento exploratório bibliográfico, visto que a diferenciação dessas espécies é de suma importância para prevenção da parasitose, conduta terapêutica, igualmente para a saúde pública.

## METODOLOGIA

Trata-se de um estudo de natureza bibliográfica e documental desenvolvido de Agosto de 2013 a Novembro de 2013. O levantamento bibliográfico foi realizado através de consultas a livros e periódicos, bem como artigos científicos oriundos das bases de dados indexadas: Scientific Electronic Library Online - SciELO, Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde - LILACS, Medical Literature Analysis and Retrieval System on-line - MEDLINE.

Quanto à pesquisa dos dados, foram usadas as terminologias cadastradas nos Descritivos em Ciências da Saúde (DeCS) gerados pela Biblioteca Virtual em Saúde (BVS). Padronizados a partir do *MeSH - Medical Subject Headings* da *U.S. National Library of Medicine (NLM)*, que admite o uso de terminologia comum em Português, Inglês e Espanhol.

Os grupos de palavras-chave empregadas para busca nas bases de dados foram: *Entamoeba histolytica* e *Entamoeba dispar*, Diagnóstico Laboratorial Parasitológico das *Entamoeba histolytica* e *Entamoeba dispar*, Diagnóstico Laboratorial Imunológico das *Entamoeba histolytica* e *Entamoeba dispar*, Diagnóstico Laboratorial Molecular das *Entamoeba histolytica* e

*Entamoeba dispar*, Diagnóstico Laboratorial Diferencial entre *Entamoeba histolytica* e *Entamoeba dispar*. Por tratar-se de uma revisão bibliográfica se buscou informações em trabalhos científicos desde 1925 até 2012, com a meta de melhor embasamento.

Os critérios de inclusão foram pesquisas e evidências que abordasse o diagnóstico clínico laboratorial dos amebídeos *Entamoeba histolytica* e *Entamoeba dispar* e também aqueles que discorreram sobre o diagnóstico diferencial dos protozoários supracitados, sendo excluídos os estudos não pertinentes ao diagnóstico clínico laboratorial e diferencial das *Entamoeba histolytica* e *Entamoeba díspar*.

## DISCUSSÃO TEÓRICA

### Breve histórico e sistemática da avaliação do diagnóstico clínico laboratorial e diferencial das *Entamoeba histolytica* E *Entamoeba díspar*

Existem relatos de pessoas com sintomas de disenteria datada antes de Cristo que cursava de forma contagiosa, com provável origem amebiana (LESH, 1975). Seus sintomas já eram evidenciados pelos Hebreus, cujos sem os conhecimentos científicos que explicassem as causas das disenterias que apresentavam fezes diarréicas, sanguinolentas ou não, e que poderiam conduzir-se juntamente com ulcerações intestinais, tenesmo e dores abdominais (ARRUDA, 2008; CHAVES et al., 2010).

Na Rússia, após o falecimento de um camponês por disenteria prolongada, o médico Fedor Aleksandrovich Losch, em 1875, encontrou a forma de trofozoíto da *Entamoeba histolytica*, ao examinar a amostra fecal do falecido. Posteriormente, ensaios pré-clínicos reproduziram a amebíase intestinal, inoculando em animais o parasito do camponês acima referido e assim comprovando a patogenicidade dessa ameba, com a presença de exsudatos purulentos retirados das ulcerações presentes na mucosa intestinal, e das fezes, que continham formas trofozoíticas (Lösch, 1875 citado por Jackson, 1998).

A disenteria foi reconhecida, entretanto, como uma doença severa no século XVIII, e devido à proporção de pessoas acometidas por esse agravo à saúde, chegando à quantidade superior ao esperado, foi considerada uma epidemia. O diagnóstico do abscesso amebiano hepático (AH), na época dos anos 70, era baseado em suspeitas clínicas, resultados de exames laboratoriais não específicos, e a confirmação era feita através de punção hepática ou intervenção cirúrgica (PINILLA et al., 2008).

O período de 1988 a 1993 compreendeu uma fase de desenvolvimento de pesquisas que buscaram provar as diferenças bioquímicas, genéticas e antigênicas entre as espécies de amebas (SANTOS et al., 2007). Tendo a *Entamoeba histolytica* seu status taxonômico reescrito formalmente em 1993 por Diamond e Clark, diferenciada da *Entamoeba díspar*, como Brumpt

sugeriu em 1925 a partir de evidências baseadas em estudos imunológicos, bioquímicos e genéticos (ARRUDA, 2008).

No que concerne a Sistemática dos amebídeos acima referidos, tem-se que a *Entamoeba histolytica* pertence ao Reino Protista, Subreino Protozoo, Filo Sarcomastigophora, Subfilo Sarcodina, Superclasse Rhizopoda, Classe Lobosea, Subclasse Gymnamoebia, Ordem Amoebida, Subordem Tubulina, Família Entamoebida, Gênero Entamoeba e Espécie *Entamoeba histolytica*. Quanto a *Entamoeba dispar* sua Sistemática difere apenas na espécie que é nomeada como *Entamoeba dispar* (LEVINE-CHAIRMAN et al., 1980).

### **Etiologias, formas de vida, ciclo evolutivo e peculiaridades da relação parasita-hospedeiro**

As *Entamoeba histolytica*, *Entamoeba dispar*, *Entamoeba coli*, *Entamoeba gingivalis*, *Endolimax nana*, *Iodamoeba butschlii*, *Dientamoeba fragilis* são as espécies de amebídeos que acometem o homem, dentre elas apenas a *Entamoeba histolytica* causa danos ao organismo de seu hospedeiro (CHAVES et al., 2010).

As formas de vida do complexo *Entamoeba histolytica/Entamoeba dispar* são os cistos e trofozoítos com fases bem definidas. Os pré-cistos antecedem os cistos antes de se diferenciarem completamente, e os metacistos vêm antes dos trofozoítos maduros se formarem, sendo que as últimas duas formas citadas são definidas como fases intermediárias ou alternativas (DOLABELLA, 2007).

Na fase de trofozoíto o parasita se apresenta na forma vegetativa, posto, respira, reproduz, alimenta-se, locomove, excreta, e são extremamente sensíveis a mudanças de temperaturas, pH, osmolaridade e potencial de oxido-redução ou seja, desenvolve todas as atividades mantenedoras da vida. Seu tamanho pode variar bastante, em torno de 10µm a 40µm (MANOEL et al., 2011). Já Santos et al. (2005) afirmou que nas formas invasivas esse diâmetro pode chegar até a 60µm e comumente, a média é de 25µm.

É notável a expansão de dobras citoplasmáticas curtas em pequena quantidade e transitória (pseudópodes), estomas/cistóstomas e um uróide posterior na sua superfície. Os pseudópodes (lobopódios) podem se formar espontaneamente em qualquer área superficial de seu corpo, sendo sua zona anterior a mais frequente (GONZÁLEZ-ROBLES; MARTÍNEZ-PALOMO, 1983).

O citoplasma do trofozoíto é dividido em duas superfícies, apesar de não estarem claramente separadas. O ectoplasma que se caracteriza pela ausência de estruturas membranosas ou vacuolares e relacionadas aos pseudópodes e endoplasma, onde a presença de vesículas e vacúolos de tamanhos diferentes é abundante, rodeada por uma matriz citoplasmática. No citoplasma observa-se a presença de hemácias fagocitadas na *Entamoeba histolytica*. Possui um núcleo esférico, não fixo, com um endossoma central (CHÁVEZ-MUNGUÍA et al., 2008).

Os pré-cistos representam um estágio intermediário, pois são formas entre os trofozoítos e os cistos, sendo ovais ou ligeiramente arredondadas com tamanho inferior ao dos trofozoítos (DOLABELLA, 2007). Quanto aos cistos maduros, segundo Vieira (2004) são esféricos ou ovais, medem de 10 µm a 16 µm, já Dolabella (2007) e Freitas (2007) mencionam um diâmetro de 8µm a 20µm, com uma média de 12µm.

Após entrada do cisto no trato digestório do hospedeiro ocorre transformação em metacisto, ameba tetranucleada, cuja seu mecanismo de liberação ainda é desconhecido. Ao duplicar seus núcleos e citoplasmas inúmeras vezes originam-se dos metacistos quatro e depois oito amebas uninucleadas, chamadas de trofozoítos metacísticos com 8µm de diâmetro (MANUEL et al., 2011).

No que diz respeito ao ciclo biológico da *Entamoeba histolytica*, esse é simples e gira em torno basicamente de dois estágios bem definidos, que são os cistos, forma resistente, causadores da infecção e os trofozoítos amebóides, forma vegetativa (SILVA; GOMES, 2005). É um ciclo do tipo monoxênico, uma vez que não necessita de hospedeiro intermediário para se desenvolver, sendo o homem seu hospedeiro natural (SILVA, 2005).

A infecção inicia quando o homem ingere o parasito no estágio de cisto maduro, através do contato fecal-oral, ingestão de água e/ou alimentos que estejam contaminados por fezes de pessoas parasitadas. Mãos sujas infectadas podem transmitir o parasita homem a homem, mas formas menos habituais como o sexo oral/anal e equipamentos de lavagem intestinal contaminados também são meios transmissíveis (CORDEIRO; MACEDO, 2007; OLIVOS-GARCÍA et al., 2011).

Devido a sua parede cística resistente, ao passar pelo estômago o cisto resiste à acidez do suco gástrico do órgão e chega ao intestino, onde ocorrerá o desencistamento na região ileocecal, que fica na porção terminal do intestino delgado, local de baixa tensão de oxigênio (FREITAS, 2007; VIEIRA, 2004). De uma pequena fenda localizada na parede do cisto é liberado o metacisto, após o desencistamento (VIEIRA, 2004). Embora alguns estudos mostrem que a forma de vida liberada seja o trofozoíto metacístico (ARRUDA, 2008; SILVA, 2005).

Após inúmeras divisões nucleares e citoplasmáticas, cada metacisto dá origem a quatro e em seguida a oito trofozoítos metacísticos, esses migraram para o intestino grosso até o cólon, onde se fixam e estabelecem adesão à camada de mucina que reveste a superfície do epitélio intestinal (MARTÍNEZ-PALOMO, 1989).

No intestino, crescem e alimentam-se ingerindo bactérias e partículas nutritivas do meio, multiplica-se por divisão binária simples e ao se desprenderem da mucosa intestinal por mecanismos que ainda não foram totalmente esclarecidos, transformam-se em pré-cistos, em seguida, cistos, que são as formas de resistência (CORDEIRO; MACEDO, 2007; DOLABELLA, 2007). Os cistos são eliminados nas fezes, completando o ciclo de vida do parasita e se os dejetos fecais não forem devidamente descartados (saneamento básico) poderão infectar outros indivíduos (OLIVOS-GARCÍA et al., 2011).

A susceptibilidade do hospedeiro a infecção por *Entamoeba histolytica* vem sendo questionada desde 1913, quando Walker e Sellards demonstraram variações de resposta individual do hospedeiro e manifestações clínicas variadas, desde assintomáticas até colites disentéricas, a partir da infecção cística em voluntários. Pérez-Tamayo (1986) reportou como patogenia os fatores que levam a invasão da *Entamoeba histolytica*, sua evolução e seu resultado final. Já Hamm et al. (2009) definiram como sendo a produção ou não de uma enfermidade pelo parasito, bem como sua relação específica com o hospedeiro e que sua virulência varia desde formas assintomáticas até as formas invasivas letais.

A citotoxicidade do amebídeo supracitado é multifatorial e diversas variáveis estão envolvidas nos mecanismos de virulência e patogenicidade para que ele se manifeste na sua forma invasiva. Fatores intrínsecos do hospedeiro, parasito e meio ambiente podem influenciar no progresso da infecção (CORDEIRO; MACEDO, 2007; PETRI-JÚNIOR, 2002). Apesar das causas que desencadeiam a infecção amebiana ainda serem pouco conhecidas. Lesões intestinais e hepáticas são exemplos de contraste de como a ameba e a resposta do hospedeiro nos dois órgãos podem atuar de maneira diferente (OMS, 1997).

A *Entamoeba histolytica* pode agir de diferentes formas no organismo do hospedeiro, desenvolvendo quadros que podem variar de assintomáticos a colite amebiana fulminante ou a necrose hepática, fator que pode levar o hospedeiro a óbito, além de casos intermediários, que são os mais comuns (VIEIRA, 2004). Como exemplo, a diferença entre lesões causadas pelo protozoário no intestino e a forma hepática (OMS, 1997).

Existem propostas que diferentes tipos de moléculas amebianas são os agentes indutores da destruição celular através de dados de experimentos *in vivo* e *in vitro* a partir de uma alta variedade de modelos experimentais (FREITAS, 2007). Essas moléculas são as adesinas, amebaporos, colagenases, cisteína proteinases (CPs), serino proteinases e fosfatases. Essas proteínas e outros antígenos de superfície do parasita são potenciais alvos para vacinas (COSTA, 2010).

A invasão da mucosa intestinal pelos trofozoítos acontece quando o equilíbrio parasito-hospedeiro se desfaz. Após células epiteliais intestinais serem lisadas pelos trofozoítos, esses atravessam a mucosa até atingirem a submucosa. Com a destruição da mucosa os trofozoítos se disseminam no tecido aprofundando a lesão e se deslocando longitudinalmente. Devido a isso uma zona de necrose liquefeita é produzida, que leva à formação de pequenas úlceras superficiais. A imunidade do hospedeiro se altera à medida que as CPs são secretadas pelos trofozoítos, os quais alcançaram a corrente sanguínea (OLIVEIRA, 2011). As CPs são capazes de degradar as imunoglobulinas da classe A como IgA e IgG presentes nas mucosas, clivando suas cadeias pesadas (OLIVEIRA, 2011; BRITO et al., 2007).

## Diagnóstico laboratorial e diferencial dos amebídeos *Entamoeba histolytica*/*Entamoeba dispar*

O diagnóstico laboratorial de rotina da *Entamoeba histolytica* é realizado a partir da pesquisa de cistos e/ou trofozoítos nas fezes por microscopia de luz. Geralmente a forma cística é encontrada nas fezes sólidas e os trofozoítos nas amostras fecais liquefeitas, diarréicas ou pastosas (MANUEL et al., 2011).

Com a consolidação do complexo *Entamoeba histolytica*/*Entamoeba dispar* e sendo as duas espécies morfológicamente idênticas e biologicamente distintas, foi necessário o uso de outras ferramentas que pudessem confirmar a infecção pela *Entamoeba histolytica*, visto que o diagnóstico do parasita através da microscopia de luz permite só a observância da morfologia do amebídeo (SOBKY et al., 2011). Essa constatação levou OMS interferir e recomendar que a identificação da *Entamoeba histolytica* deva ser por métodos específicos e quando confirmada os portadores tratados, sendo eles sintomáticos ou não (VIEIRA, 2004).

As pesquisas em busca de solucionar o problema da diferenciação do complexo *Entamoeba histolytica*/*Entamoeba dispar* se intensificaram e ensaios envolvendo resultados relacionados à biologia, aos aspectos imunológicos e genéticos foram conduzidos (KHAIRNAR; et al., 2007; GUTIÉRREZ-CISNEROS et al., 2010).

Nas fezes com consistência liquefeita, diarréica e pastosa a manipulação é realizada pelo método á fresco e o diagnóstico sinaliza para a forma de trofozoito, esse procedimento deve ser executado no máximo de 20 minutos a 30 minutos após a evacuação, para que se possa observar a mobilidade das amebas (CHAVES et al., 2010). Fotedar et al. (2007) reportaram, todavia, que é admissível notar a motilidade do amebídeo até uma hora após a eliminação das fezes se conservadas a temperatura de 4°C. No entanto, os autores acima corroboraram que eritrócitos podem ser encontrados no citoplasma de *Entamoeba histolytica*.

Para Cordeiro e Macedo (2007), igualmente TANYUKSEL e PETRI-JÚNIOR (2003), a eritrofaocitose não pode ser considerada um fator de classificação para o diagnóstico da *Entamoeba histolytica* devido a *Entamoeba díspar* ter também capacidade de englobar eritrócitos, embora, com menor frequência.

O tempo decorrido entre a evacuação das fezes e sua condução ao laboratório também pode influenciar no resultado, contudo, a investigação de três amostras fecais em períodos alternados de não mais que dez dias é recomendado por propiciar um resultado relativamente mais seguro para a pesquisa do complexo em estudo, além de, contemplar o nuance da intermitência nos seus ciclos evolutivos, ou seja, a capacidade de por um período de até dez dias durante seus ciclos biológicos não ocorrer encistamento (REY, 2008).

No que tange aos exames imunológicos, esses evoluíram bastante nos últimos anos e podem proporcionar o diagnóstico da *Entamoeba histolytica* por meio da formação de anticorpos. Há uma variedade de Técnicas, como a Hemaglutinação Indireta (HAI), Aglutinação do Látex,

Reação de Fixação do Complemento, Contraímunoeletroforese (CIE), Teste de Imunodifusão Dupla em Gel de Ágar, Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFA), e Ensaio Imunoenzimático (ELISA) (DOURADO et al., 2006). O diagnóstico por ELISA tem sido cada vez mais utilizado, em especial quando a amebíase é extra-intestinal ou com abscesso hepático amebiano (OLIVOS-GARCIA et al., 2011; ZENGZHU et al., 1999).

Fotodar (2007) mencionou um estudo realizado em área endêmica do Vietnã para *Entamoeba histolytica*, cujo mostrou em portadores assintomáticos uma significativa quantidade de anticorpos anti-ameba, 82,6%. Resultados esses confirmados por Reação de Polimerase em Cadeia em Tempo Real. Já Santos; Soares (2008), e Ravdin et al. (1990) afirmaram que a sensibilidade de detecção de anticorpos no soro de paciente com abscessos hepáticos pode chegar a 100%.

Embora, sua sorologia exiba alta especificidade e sensibilidade, o Teste por ELISA demonstra limitações, como desnaturação dos antígenos devido às amostras fecais serem conservadas com formalina ou serem congeladas diversas vezes, assim como presença de anticorpos que permanecem circulantes mesmo após a infecção, conforme Liang et al. (2010) e Caballero-Salcedo et al. (1994).

Um diagnóstico por ELISA em indivíduos de áreas endêmicas se torna ineficiente, pois, não há como distinguir se a infecção é passada ou atual, visto haver a possibilidade do paciente já ter sido previamente exposto a *Entamoeba histolytica*, devido ao período de permanência dos títulos de anticorpos que continuam positivos durante meses após infecção, entretanto, pode ser interessante em regiões de baixa endemicidade (ARRUDA, 2008). Silva et al. (2005) reportaram que o ELISA é considerado um método alternativo devido a sua rapidez, praticidade, sensibilidade e especificidade serem maiores quando comparado ao exame protoparasitológico de fezes por microscopia de luz, podendo ser incluído na rotina laboratorial.

Nas fezes, a pesquisa de antígeno esta baseada na diferenciação antigenica das lectinas que estão presentes na superfície dos trofozoítos do complexo *Entamoeba histolytica/Entamoeba dispar*, porém, sem depender da integridade do trofozoíto. Essas lectinas se ligam especificamente e reversivelmente a estrutura de carboidratos que estão agregados as proteínas e lipídios da superfície celular. Foi essa interação que possibilitou a diferenciação das espécies pelos ensaios imunoenzimáticos. Já se encontram largamente em uso anticorpos monoclonais com epítomos específicos para *Entamoeba histolytica*, fomentando um diagnóstico diferencial mais seguro nas fezes (BUSS et al., 2008).

A presença do anticorpo IgG no soro pode ser encontrada acima de 95% em apenas uma semana logo após o início da sintomatologia dos portadores que apresentam colite amebiana e abscesso hepático amebiano. É normal que testes sorológicos tenham resultados falsos positivos, em algumas ocasiões, por isso deve ser repetidos se houver a suspeita, segundo Weber et al., (2006); Sánchez-Guillén et al., (2000).

Para Jetter et al. (1997), esses resultados falso-positivos podem acontecer devido à presença dos anticorpos antilectinas estimulados pela *Entamoeba dispar* colonizada no lúmen intestinal, fato esse que ocorre raramente, pois para Silva (2005), a *Entamoeba histolytica* é a responsável pela produção desses anticorpos. Já Cordeiro e Macedo (2007) comentaram que podem ser encontrados resultados falsos negativos em teste sorológico quando realizado em fases iniciais da infecção, porém, se executados mais tardiamente os resultados serão positivados.

Santos e Soares (2008) postularam que o anticorpo IgG pode permanecer no organismo do hospedeiro durante anos depois de ter sido infectado por *Entamoeba histolytica*. Quanto a detecção do anticorpo IgM, ela pode ser feita durante a infecção presente ou corrente, pois tem curta duração. Sua detecção em parasitados com colite aguda em menos de uma semana foi realizada de maneira satisfatória, posto, 45% dos examinados apresentaram anticorpos de IgM antilectinas.

O diagnóstico de um indivíduo com abscesso hepático amebiano também pode ser realizado pela Hemaglutinação Indireta, ferramenta altamente específica em imunodeficientes com sintomas gastrointestinais. Apresenta, contudo, sensibilidade inferior quando comparado com ELISA, principalmente, em portadores de HIV por possivelmente não produzirem anticorpo anti-ameba, induzindo a resultados falsos negativos (HUNG et al., 1999; SANCHEZ-GILLEN et al., 2000). Sheehan et al. (1979) afirmaram que a Técnica CIE é 100% sensível na detecção de anticorpos de pessoas que apresentam amebíase extraintestinal, embora, se apresente baixa na amebíase intestinal.

A diferenciação entre as espécies *Entamoeba histolytica* e *Entamoeba dispar* também pode ser por Técnicas de Biologia Molecular. Essas Técnicas são capazes de instituir sequência específicas de nucleotídeos em genes evolutivamente conservados nas espécies. A PCR tem revelado ser específica e sensível para o diagnóstico das doenças infectoparasitárias (SINGH, 1997; KHAN et al., 2006). A PCR possibilita que, a partir de uma sequência específica de fragmentos de DNA, milhões de cópias sejam produzidas *in vitro* dentro de minutos (SOUZA, 2005). Essa amplificação é possível mesmo quando a quantidade do DNA é ínfima (SANTOS et al., 2011).

Por meio de uma síntese enzimática que ocorre *in vitro*, a PCR permite que milhões de segmentos específicos de DNA sejam amplificados, partindo de um DNA molde, e essa reação enzimática é catalisada através da presença da enzima DNA polimerase termoestável, conhecida como Taq DNA polimerase, capaz de suportar temperaturas elevadas sem perder sua atividade e seu trabalho é copiar o material genético (PASTERNAK, 2007). Isso explica sua alta especificidade e sensibilidade, possibilitando que as espécies das amebas *Entamoeba histolytica* e *Entamoeba dispar* sejam diferenciadas (CORDEIRO; MACEDO, 2007).

O desenvolvimento de novos processos baseadas na técnica de PCR vem consideravelmente sendo desenvolvidos, contribuindo para o diagnóstico clínico de amebas como

as *Entamoeba histolytica* e *Entamoeba díspar* em amostras fecais, ao detectar e amplificar regiões específicas de seus DNAs (KHAN et al., 2006; VIEIRA, 2004). A identificação da cepa da *Entamoeba histolytica* pode ser feita através de vários espécimes clínicos como amostras fecais, aspirado de abscesso hepático e tecidos, entre outros espécimes (FOTEDAR, 2007).

O PCR Multiplex, variação do PCR convencional, foi desenvolvido com o intuito de elevar a sensibilidade do ensaio, onde a detecção e diferenciação da *Entamoeba histolytica/ Entamoeba díspar* são realizadas simultaneamente e em uma única rodada, quando as amostras fecais são positivas para cistos das amebas supracitadas (LIANG et al., 2010). Essa modificação na PCR possibilitou ampliar sua sensibilidade para 94% e especificidade para 100%, segundo Núñez et al. (2001). Liang et al. (2010) preconizaram ainda que, a inclusão do PCR Multiplex em Tempo Real reduz contaminações, tempo de resposta e reagentes (HAMZAH et al., 2010).

O PCR em Tempo Real demonstra maior sensibilidade que a microscopia e a cultura para o diagnóstico correto da *Entamoeba histolytica*, de acordo com Blessmann et al, (2002), devido a maior quantidade de amostras positivas. No entanto, apesar do baixo custo dos reagentes, é limitada a laboratórios com equipamentos sofisticados, e segundo Olivos-García et al. (2011), esse fator torna PCR em Tempo Real uma tecnologia dispendiosa e atualmente não se encontra acessível a regiões endêmicas. Embora seja um procedimento adaptável à rotina de laboratórios bem equipados esse não substitui a microscopia (SANTOS et al., 2007). Alguns autores mencionam que resultados falsos negativos podem ser induzidos tanto pela não uniformidade fecal quanto por seus componentes endógenos que podem inativar o PCR (ORLANDI; LAMPEL, 2000).

## CONCLUSÕES

A amebíase é indubitavelmente, um grave problema de saúde pública, portanto, é premente que casos positivos para *Entamoeba histolytica/Entamoeba díspar* em exames parasitológicos de fezes se busque ferramentas que propiciem diferenciá-las, a exemplo os exames imunológicos, em especial ensaio imunoenzimático e se possível os moleculares. Quando confirmado a presença de *Entamoeba histolytica* é de suma importância o tratamento do portador, bem como a implantação de saneamento básico e educação em saúde, principalmente em áreas endêmicas.

## REFERÊNCIAS

ARRUDA, J. E. G.. **Diagnóstico e epidemiologia da *Entamoeba histolytica* em residentes do município de Juruti-Pará**. Dissertação (Mestrado em Biologia de Agentes Infecciosos e Parasitários) - Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Pará, Belém, 2008.

BLESSMANN, J.; BUSS, H.; TANNICH, E.. Real-time PCR for detection and differentiation of *Entamoeba histolytica* and *Entamoeba díspar* in fecal samples. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington DC, v.40, n.12, p.4413-4417, 2002. DOI: <http://dx.doi.org/10.1128/JCM.40.12.4413-4417.2002>

BRITO, K.; N. O.; CALIARI, M. V.; GOMES, M. A.. **Avaliação histopatológica e imuno histoquímica de cepas xênicas e axênica**. Dissertação (Mestrado em Patologia) - Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2007.

BUSS, S.; KABIR, M.; PETRI-JÚNIOR, W. A.; HAQUE, R.. Comparison of Two Immunoassays for Detection of *Entamoeba histolytica*. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, v.46, n.8, p.2778-2779, 2008.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.1128/JCM.00652-08>

CABALLERO-SALCEDO, A.; VIVEROS-ROGEL, M.; SALVATIERRA, B.; TAPIA-CONYER, R.; SEPÚLVEDA-AMOR, J. GUTIERREZ, G; ORTIZ-ORTIZ, L.. Seroepidemiology of amebiasis in Mexico. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Baltimore, v.50, n.4, p.412-419, 1994.

CHAVES, A. C. P.; SEIXAS-FILHO, J. T. S.; DANTAS, M. M. L.. Revisão do mecanismo fisiopatológico da amebíase. **Revista Augustus**, Rio de Janeiro, v.14, n.29, p.74-87, 2010.

CHÁVEZ-MUNGUÍA, B.; TALAMÁS-ROHANA, P.; RIOS, A.; GONZÁLEZ-LÁZARO, M.; MARTÍNEZ-PALOMO, A.. *Entamoeba histolytica*: fibrillar aggregates in dividing trophozoites. **Experimental Parasitology**, New York, v.118, n.2, p.280-284, 2008.

CORDEIRO, T. G. P.; MACEDO, H. W.. Amebíase. **Revista de Patologia Tropical**, Goiânia, v.36; n.2, p.119-128, 2007.

COSTA, C. A. X.. **Influência da imunidade sobre os trofozoítos e as lesões amebianas produzidas pela *Entamoeba histolytica* e *Entamoeba díspar***. Tese (Doutorado em Patologia), Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2010.

DELIALIOGLU, N.; ASLAN, G.; SOZEN, M.; BABUR, C.; KANIK, A.; EMEKDAS, G.. Detection of *Entamoeba histolytica/Entamoeba dispar* in stool specimens by using enzyme-linked immunosorbent assay. **Memorial Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v.99, n.7, p.769-772, 2004.

DIAMOND, L. S.; CLARK, C. G.. A redescription of *Entamoeba histolytica* Schaudinn, 1903 (Emended Walker, 1911) separating it from *Entamoeba dispar* Brumpt, 1925. **The Journal of Eukaryotic Microbiology**, Malden, v.40, n.3, p.340-344, 1993.

DOLABELLA, S. S.. **Estudo comparativo da patogenicidade e virulência de *Entamoeba díspar* com amostras de *Entamoeba histolytica***. Tese (Doutorado em Patologia) - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2007.

DOURADO, A.; MACIEL, A.; ACA, I. S.. Ocorrência de *Entamoeba histolytica/Entamoeba díspar* em pacientes ambulatoriais de Recife, PE. **Revista da Sociedade Brasileira Medicina Tropical**, Uberaba, v.39, n.4, p.388-389, 2006.

FOTEDAR, R.; STARK, D.; BEEBE, N.; MARRIOTT, D.; ELLIS, J. HARKNESS, J.. Laboratory diagnostic techniques for *Entamoeba* Species. **Clinical Microbiology Reviews**, Washington, v.23, n.3, p. 511-32, 2007.

FREITAS, M. A. R.. **Caracterização de cepas de *Entamoeba histolytica* isoladas de diferentes casos clínicos no Brasil: análise de expressão de genes possivelmente envolvidos com a patogenicidade**. Tese (Doutorado em Patologia) - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2007.

GONZALEZ-ROBLES, A.; MARTÍNEZ-PALOMO, A.. Scanning electron microscopy of attache dtrophozoites of pathogenic *Entamoeba hitolytica*. **The Journal of Protozoology**, Malden, v.30, n.4, p. 692-700,1983.

GUTIÉRREZ-CISNEROS, M. J.; COGOLLOS, R.; LÓPEZ-VÉLEZ, R.; MARTÍN-RABADÁN, P.; MARTÍNEZ-RUIZ, R.; SUBIRATS, M.; MERINO, F. J.; FUENTES, I.. Application of real-time PCR for the differentiation of *Entamoeba histolytica* and *E. dispar* in cyst-positive fecal samples from 130 immigrants living in Spain. **Annals of Tropical Medicine and Parasitology**, Philadelphia, v.104, n.2, p.145-149, 2010.

HAMM, D. M.; AGOSSOU, A.; GANTIN, R. G.; KOCHERSCHIEDT, L.; BANLA, M.; DIETZ, K.; SOBOSLAY, P. T.. Coinfections with *Schistosoma haematobium*, *Necator americanus*, and *Entamoeba histolytica* / *Entamoeba díspar* in children: Chemokine and Cytokine responses and changes after antiparasite treatment. **The Journal of Infectious Diseases**, Chicago, v.199, n.11, p.1583-1591, 2009.

- HAMZAH, Z.; PETMITR, S.; CHAVALITSHEWINKOON-PETMITR, P.. Development of multiplex real-time polymerase chain reaction for detection of *Entamoeba histolytica*, *Entamoeba dispar* and *Entamoeba moshkovskii* in clinical specimens. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Baltimore, v.83, n.4, p.909- 913, 2010.
- HUNG, C. C.; CHEN, P. J.; HSIEH, S. M.; WONG, J. M.; FANG, C. T.; CHANG, S. C.; CHEN, M. Y.. Invasive amoebiasis: an emerging parasitic disease in patients infected with HIV in an area endemic for amoebic infection. **AIDS**, London, v.13, n.17, p.2421–2428, 1999.
- JACKSON, T. F.. *Entamoeba histolytica* and *Entamoeba dispar* are distinct species; clinical, epidemiological and serological evidence. **International Journal for Parasitology**, Oxford, v.28, n.1, p.181-186, 1998.
- JETTER, A.; WALDERICH, B.; BRITTEN, D.; METE, O.; GÖRAL, V.; BURCHARD, G. D.; ACKERS, J.. An epidemiological study of *Entamoeba histolytica* and *E. dispar* infection in eastern Turkey using a colorimetric polymerase chain reaction. **Archives of Medical Research**, New York, v.28 Spec., p.319-321, 1997.
- KHAN, U.; MIRDHA, B. R.; SAMANTARAY, J. C.; SHARMA, M. P.. Detection of *Entamoeba histolytica* using polymerase chain reaction in pus samples from amebic liver abscess. **Indian Journal of Gastroenterology**, Bombay, v.25, n.2, p. 55-57, 2006.
- KHAIRNAR K.; PARIJA S. C.; PALANIAPPAN R.. Diagnosis of intestinal amoebiasis by using nested polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism assay. **Journal of Gastroenterology**, Tokyo, v.42, n.8, p. 631-640, 2007.
- LESH, F. A.. Massive development of amebas in the large intestine. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Baltimore, v.24, n.3, p.383-392, 1975.
- LEVINE-CHAIRMAN, N. D.; CORLISS, J. O.; COX, F. E. G.; DEROUX, G.; GRAIN, J.; HONIGBERG, B. M.; LEEDALE, G. F.; LOEBLICH, A. R.; LOM, J.; LYNN, D.; MERINFELD, E. G.; PAGE, F. C.; POLJANSKY, G.; SPRAGUE, V.; VAVRA, J.; WALLACE, F. G.. A newly revised classification of protozoa. The committee on Systematics and Evolution of the Society of Protozoologists. **The Journal of Eukaryotic Microbiology**, Malden, v.27, n.1, p.37-58, 1980.
- LIANG, S.; HSIA, K. T.; CHAN, Y. H.; FAN, C. K.; JIANG, D. D.; LANDT, O.; JI, D. D.. Evaluation of a new single-tube multiprobe real-time PCR for diagnosis of *Entamoeba histolytica* and *Entamoeba dispar*. **The Journal of Parasitology**, Washington, v.96, n.4, p.793-797, 2010.
- LORENZI, H. A.; PUIU, D.; MILLER, J. R.; BRINKAC, L. M.; AMEDEO, P.; HALL, N.; CALER, E. V.. New assembly, reannotation and analysis of the *Entamoeba histolytica* genome reveal new genomic features and protein content information. **Neglected Tropical Diseases**, San Francisco, v.4, n.6, p.1-12, 2010.
- MANUEL, C. P. J.; VIRGINIA, S. M.; D'ARTAGNAN, V. M. J.. *Entamoeba histolytica* y su relación huésped-parásito. **Enfermedades Infecciosas y Microbiología**, Benito Juárez, v.31, n.2, p.63-70, 2011.
- MARTÍNEZ–PALOMO, A. C.. **Amibiasis**. Cidade do México: Médica Panamericana, 1989.
- NÚÑEZ, Y. O.; FERNÁNDEZ, M. A.; TORRES-NÚÑEZ, D.; SILVA, J. A.; MONTANO, I.; MAESTRE, J. L.; FONTE, L.. Multiplex polymerase chain reaction amplification and differentiation of *Entamoeba histolytica* and *Entamoeba dispar* DNA from stool samples. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Baltimore, v.64, n.5-6, p.293–297, 2001.
- OLIVEIRA, F. M. S.. **Análise da resposta imunológica e das lesões intestinais em camundongos C57BL/6 WT e C57BL/6 CD1-/- na fase aguda da infecção amebiana inoculados com *Entamoeba histolytica***. Dissertação (Mestrado em Patologia) - Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2011.
- OLIVOS-GARCÍA, A.; SAAVEDRA, E.; AVENDAÑO, M. N.; PÉREZ-TAMAYO, R.. Amibiasis: mecanismos moleculares de la patogenicidad de *Entamoeba histolytica*. **Revista de la Facultad de Medicina de la UNAM**, Ciudad de Mexico, v.54, n.2, p.10-20, 2011.
- OMS/WHO. News and activities. **Bulletin of the World Health Organization**, Geneva, v.75, n.3, p. 291-292, 1997.

ORLANDI, P. A.; LAMPEL, K. A.. Extraction-free, filter-based template preparation for rapid and sensitive PCR detection of pathogenic parasitic protozoa. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, v.38, n.6, p.2271–2277, 2000.

PASTERNAK, J. J.. **Uma introdução à GENÉTICA MOLECULAR HUMANA**: Mecanismos das doenças hereditárias. 2 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2007.

PÉREZ-TAMAYO, R.. **Pathology of amebíases**. In: MARTÍNEZ-PALOMO, A. ed. Amebiasis – Human Parasitic Diseases, Amsterdam:Elsevier Science Publishers, 45-94, 1986.

PETRI-JÚNIOR, W. A.. Pathogenesis of amebiasis. **Current Opinion in Microbiology**, New York, v.5, n.4, p.443-447, 2002.

PINILLA, A. E.; LÓPEZ, M. C.; VIASUS, D. F.. Historia del protozoo *Entamoeba histolytica*. **Revista Médica Chile**, Santiago, v.136, n.1, p.118-124, 2008.

RAVDIN, J. I.; JACKSON, T.F.; PETRI-JÚNIOR, W.A.; MURPHY, C.F.; UNGAR, B.L.; GATHIRAM, V.; SKILOGIANNIS, J.; SIMJEE, A. E.. Association of serum antibodies to adherence lectin with invasive amebiasis and asymptomatic infection with pathogenic *Entamoeba histolytica*. **The Journal of Infectious Diseases**, Chicago, v.162, n.3, p.768–772, 1990.

REY, L.. **Parasitologia**: parasites e doenças parasitárias do homem nos trópicos ocidentais. 4 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008.

SÁNCHEZ-GUILLÉN, M. C.; VELÁZQUEZ-ROJAS, M.; SALGADO-ROSAS, H.; TORRES-RASGADO, E.; PÉREZ-FUENTES, R.; MARTÍNEZ-MUNGUÍA, J.; TALAMÁS-ROHANA, P.. Seroprevalence of anti-*Entamoeba histolytica* antibodies by IHA and ELISA assays in blood donors from Puebla, Mexico. **Archives of Medical Research**, New York, v.31, n.4, p.53-54, 2000.

SANTOS, H. L.; PERALTA, R.H.; de MACEDO, H.W.; BARRETO, M.G.; PERALTA, J.M.. Comparison of multiplex-PCR and antigen detection for differential diagnosis of *Entamoeba histolytica*. **Brazilian Journal of Infectious Diseases**, Rio de Janeiro, v.11, n.3, p.365-370, 2007.

SANTOS, F. L. N.; GONÇALVES, M. S.; SOARES, N. M.. Validation and utilization of PCR for differential diagnosis and prevalence determination of *Entamoeba histolytica/Entamoeba dispar* in Salvador City, Brazil. **Brazilian Journal of Infectious Diseases**, Rio de Janeiro, v.15, n.2, p.119-125, 2011.

SANTOS, F. L. N.; SOARES, N. M.. Mecanismos fisiopatogênicos e diagnóstico laboratorial da infecção causada pela *Entamoeba histolytica*. **Jornal Brasileiro Patologia Medicina Laboratorial**, Rio de Janeiro, v.44, n.4, p.249-261, 2008.

SHEEHAN, D. J.; BOTTONI, E.J.; PAVLETICH, K.; HEATH, M.C.. *Entamoeba histolytica*: efficacy of microscopic, cultural, and serological techniques for laboratory diagnosis. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, v.10, n.2, p.128–133, 1979.

SINGH, B.. Molecular Methods for Diagnosis and Epidemiological Studies of Parasitic Infections. **International Journal Parasitology**, Oxford, v.27, n.10, p.1135-1145, 1997.

SILVA, E. F.; GOMES, M. A.. **Parasitologia humana**. 11 ed. São Paulo: Atheneu, 2005.

SILVA, M. C. M.. **Estudo epidemiológico da amebíase no estado do Pará utilizando diferentes metodologias para diagnóstico**. Tese (Doutorado em Biologia de Agentes Infecciosos e Parasitários) - Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Pará, Belém, 2005.

SILVA, M. C. M.; MONTEIRO, C. S. P.; ARAÚJO, B. A. V.; SILVA, J. V.; PÓVOA, M. M.. Determinação da infecção por *Entamoeba histolytica* em residentes da área metropolitana de Belém, Pará, Brasil, utilizando ensaio imunoenzimático (ELISA) para detecção de antígenos. **Caderno Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v.21, n.3, p.969-973, 2005.

SOBKY, M. M. E.; MELEGI, M. A. E.; ABO-KHALIL, N. A.. Use of multiplex PCR in the differential detection of *Entamoeba histolytica* and/or *Entamoeba dispar* in comparison to microscopic examination. **Parasitologists United Journal**, Cairo, v.4, n.2, p.193-200, 2011.

SOUZA, P. X.. **Nova abordagem laboratorial na investigação das enteroparasitoses em humanos.** Dissertação (Mestrado em Patologia) - Universidade Federal Fluminense, Rio de Janeiro, 2005.

TANYUKSEL, M.; PETRI-JÚNIOR, W. A.. Laboratory diagnosis of amebiasis. **Clinical Microbiology Reviews**, Washington, v.16, n.4, p.713-29, 2003.

VIEIRA, R. M. R.. **Amebíase e outras parasitoses intestinais no município de São João do Piauí, PI – Brasil.** Dissertação (Mestrado em Patologia) - Universidade Federal Fluminense, Rio de Janeiro, 2004.

WEBER, C.; GUIGON, G.; BOUCHIER, C.; FRANGEUL, L.; MOREIRA, S.; SISMEIRO, O.; GOUYETTE, C.; MIRELMAN, D.; COPPEE, J.Y.; GUILLÉN, N.. Stress by heat shock induces massive down regulation of genes and allows differential allelic expression of the Gal/GalNAc lectin in *Entamoeba histolytica*. **Eukaryotic Cell**, Washington, v.5, n.5, p.871–875, 2006.

XIMENEZ, C.; MORÁN, P.; ROJAS, L.; VALADEZ, A.; GÓMEZ, A.. Reassessment of the epidemiology of amebiasis: state of the art. **Infection, Genetics and Evolution**, Amsterdam, v.9, n.6, p.1023–1032, 2009.

ZENGZHU, G.; BRACHA, R.; NUCHAMOWITZ, Y.; CHENG-I, W.; MIRELMAN, D.. Analysis by enzyme-linked immunosorbent assay and PCR of human liver abscess aspirates from patients in China for *Entamoeba histolytica*. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, v.37, n.9, p.3034–3036, 1999.