

Metodologias aplicadas na identificação e diferenciação da entamoeba histolística e entamoeba dispar: uma revisão narrativa

Methodologies applied in the identification and differentiation of entamoeba histolística and entamoeba dispar: a narrative review

DOI:10.34117/bjdv7n8-038

Recebimento dos originais: 03/07/2021

Aceitação para publicação: 03/08/2021

José Pedro Martins Barbosa Filho

Graduando em Farmácia pela Universidade Federal de Pernambuco

Instituição: Universidade Federal de Pernambuco

Endereço: Av. Artur de Sá, S/N, CEP 50740-520, Cidade Universitária, Recife – PE,
Brasil

E-mail: pedro.martinsf@ufpe.br

José Odimar de Caldas Brandão Filho

Mestrando em Inovação Terapêutica pela Universidade Federal de Pernambuco

Instituição: Universidade Federal de Pernambuco

Endereço: Av. Artur de Sá, S/N, CEP 50740-520, Cidade Universitária, Recife – PE,
Brasil

E-mail: odimar.brandao@ufpe.br

Vanessa Maria Andrade Machado Miranda

Residente em Planejamento e Gestão de Serviços Farmacêuticos e Hospitalares

Instituição: Hospital da Restauração

Endereço: Av. Gov. Agamenon Magalhães, S/N, CEP 52171-011, Derby, Recife – PE,
Brasil

E-mail: andradevanessa.vm@gmail.com

Auygna Pamyda Gomes da Silva

Bacharel em Farmácia pela Universidade Federal de Pernambuco

Endereço: Av. Artur de Sá, S/N, CEP 50740-520, Cidade Universitária, Recife – PE,
Brasil

E-mail: auygna@gmail.com

Danilo David da Silva Vieira

Bacharel em Farmácia pela Universidade Federal de Pernambuco

Endereço: Av. Artur de Sá, S/N, CEP 50740-520, Cidade Universitária, Recife – PE,
Brasil

E-mail: danilodavid21@gmail.com

Mikaella Cavalcante Ferreira

Residente em Planejamento e Gestão de Serviços Farmacêuticos e Hospitalares

Instituição: Hospital da Restauração

Endereço: Av. Gov. Agamenon Magalhães, S/N, CEP 52171-011, Derby, Recife – PE,
Brasil

E-mail: mikaellacf@hotmail.com

Stheffany Neves de Melo Menezes

Bacharel em Farmácia pela Universidade Federal de Pernambuco
Endereço: Rua Alameda dos Ingazeiros, 107, Aldeia, Camaragibe – PE, Brasil
E-mail: sthemenezess@gmail.com

Denis Roberto da Silva

Mestrando em Ciências Farmacêuticas pela Universidade Federal de Pernambuco
Instituição: Universidade Federal de Pernambuco
Endereço: Av. Artur de Sá, S/N, CEP 50740-520, Cidade Universitária, Recife – PE,
Brasil
E-mail: denisroberto36@gmail.com

RESUMO

Introdução: A *Entamoeba histolytica*, única espécie definitivamente associada a danos patológicos, é um protozoário patogênico intestinal invasivo causador da amebíase. A observação microscópica para identificação de cistos e trofozoítos nas fezes é ainda o exame mais realizada para o diagnóstico da amebíase. Entretanto, este procedimento tem sido reavaliado desde que foi demonstrado que existem duas espécies distintas de *Entamoeba*, que apesar de possuírem características morfológicas semelhantes, apresentam capacidade diferentes de causar a doença. **Objetivo:** Realizar um levantamento sobre o processo de descoberta, identificação e diferenciação das espécies *E. histolytica* e *E. dispar*. **Metodologia:** Foi realizada uma busca na literatura utilizando as bases de dados ScienceDirect, PubMed e Scopus. As palavras-chave utilizadas foram “*Entamoeba*”, “diagnóstico” e “história”. **Resultados e Discussão:** O diagnóstico da amebíase tem sido tradicionalmente feito pela aplicação da coproscopia, que é incapaz de diferenciar a *E. histolytica* da *E. dispar*. A distinção entre as duas espécies vem sendo alvo de vários estudos provando que a espécie patogênica e a não patogênica podem ser distinguidas individualmente usando eletroforese isoenzimática. **Conclusão:** As duas espécies podem ser diferenciadas por métodos de biologia molecular, bioquímicos e imunológicos, sendo esse, um instrumento preciso, viável e rápido para a confirmação da infecção pela *E. histolytica*.

Palavras-Chave: Parasitologia, Amebíase, Identificação, Diagnóstico.

ABSTRACT

Introduction: *Entamoeba histolytica*, the only species definitely associated with pathological damage, is an invasive intestinal pathogenic protozoan that causes amoebiasis. Microscopic observation for the identification of cysts and trophozoites in feces is still the most common test for the diagnosis of amoebiasis. However, this procedure has been reevaluated since it was demonstrated that there are two different species of *Entamoeba*, which despite having similar morphological characteristics, have different capacity to cause the disease. **Objective:** Conduct a survey on the process of discovery, identification and differentiation of *E. histolytica* and *E. dispar*. **Methodology:** A literature search was performed using the ScienceDirect, PubMed and Scopus databases. The keywords used were “*Entamoeba*”, “diagnosis” and “history”. **Results and Discussion:** The diagnosis of amoebiasis has traditionally been made through the application of coproscopy, which is unable to differentiate *E. histolytica* from *E. dispar*. The distinction between the two species has been the subject of several studies proving

that the pathogenic and non-pathogenic species can be distinguished individually using isoenzymatic electrophoresis. Conclusion: The two species can be differentiated by molecular biology, biochemical and immunological methods, which is an accurate, viable and fast instrument for confirming *E. histolytica* infection.

Keywords: Parasitology, Amebiasis, Identification, Diagnosis.

1 INTRODUÇÃO

O gênero *Entamoeba* engloba um grupo de organismos unicelulares, anaeróbicos, organismos parasitários encontrados em humanos, primatas não humanos, outras espécies de vertebrados e invertebrados em todo o mundo (NGOBENI et al., 2017). Contém muitas espécies, seis das quais, *Entamoeba histolytica*, *Entamoeba dispar*, *Entamoeba moshkovskii*, *Entamoeba polecki*, *Entamoeba coli* e *Entamoeba hartmanni* residem no lúmen intestinal humano (CLARK; DIAMOND, 1991).

A *Entamoeba histolytica*, única espécie definitivamente associada a danos patológicos, é um protozoário patogênico intestinal invasivo causador da amebíase que, além de parasitar seres humanos, pode ser encontrada em proporções menores, em animais como primatas, gatos, cães e alguns roedores (SINGH et al., 2009).

Esta parasitose apresenta ampla distribuição geográfica com alta prevalência em regiões tropicais, onde as condições de higiene e educação sanitária são consideradas deficientes (SILVA et al., 2005). A crescente migração de pessoas de países em desenvolvimento para países desenvolvidos favoreceu a disseminação do parasito por todo o mundo. No Brasil em particular, existem diferenças quanto a frequência da parasitose de acordo com a região analisada. Estimativas da Organização Mundial de Saúde (OMS) indicam que aproximadamente 50 milhões de pessoas são afetadas pela *E. histolytica*, sendo responsável por cerca de cem mil mortes por ano, tornando-a uma das causas mais importantes de morbimortalidade no homem, o que a torna a segunda principal causa de morte por infecção provocada por protozoário parasito (BAXT; SINGH, 2008; XIMÉNEZ et al., 2010).

O ciclo biológico do parasito apresenta dois estágios básicos e bem definidos: trofozoítos e cistos. A infecção amebiana tem início quando o homem ingere a forma cística madura contida em alimentos, água ou por qualquer tipo de contato fecal-oral. Também são possíveis formas menos usuais de transmissão, incluindo o sexo anal e oral e equipamentos de lavagem intestinal contaminados (CORDEIRO; MACEDO, 2007). A

observação microscópica para identificação de cistos e trofozoítos nas fezes é ainda o exame mais realizada para o diagnóstico da amebíase. Entretanto, este procedimento tem sido reavaliado desde que foi demonstrado que existem duas espécies distintas de *Entamoeba*, que apesar de possuírem características morfológicas semelhantes, apresentam capacidade diferentes de causar a doença (CLARK; DIAMOND, 1993).

As manifestações clínicas da amebíase podem se apresentar de formas muito diversas. A maioria dos infectados não apresenta sintomas, e só uma pequena percentagem sofre de febre, disenteria ou abscesso hepático. O acometimento extra intestinal atinge com mais frequência o fígado, causando a hepatite amebiana ou o abscesso de fígado (ACKERS, 2002). Considera-se atualmente a existência de duas espécies, a *E. histolytica*, que é invasiva e patogênica, e a *E. dispar*, não invasiva e não patogênica. Esta reclassificação foi resultado de dados clínicos, bioquímicos, imunológicos e genéticos, resultando um avanço significativo no conhecimento sobre a amebíase (HUSTON; PETRI, 1999). Diante disso, o objetivo dessa revisão foi realizar, na literatura, um levantamento sobre o processo de descoberta, identificação e diferenciação das espécies *E. histolytica* e *E. dispar* ao longo do tempo.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

Trata-se de uma revisão narrativa de natureza qualitativa, utilizando como descritores: “*Entamoeba*”, “diagnóstico/diagnosis” e “história/history”. A busca bibliográfica foi realizada nas bases de dados ScienceDirect, Pubmed e Scopus. Foram selecionados artigos com informações referente a descoberta do gênero *Entamoeba*, identificação e métodos utilizados para diferenciar as espécies *E. histolytica* e *E. dispar*. A coleta de dados foi realizada no período de junho de 2020.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O surgimento da linhagem de *E. histolytica* nas Américas pré-colombianas e no Oriente Médio por volta do século XII dá origem a hipóteses de como as migrações humanas (rotas do Atlântico ou do Pacífico) contribuíram para a difusão desse patógeno, resultando em sua distribuição atual. Nos últimos 6000 anos, os dados coletados até agora relacionados a *E. histolytica* sugere como hipótese uma origem europeia da atual cepa do parasito, com uma possível difusão para o leste e depois para as Américas por meio de migrações ou trocas humanas via rotas comerciais (LE BAILLY et al., 2016).

Esses achados arqueológicos mostram o papel dos seres humanos na difusão de patógenos e na atual distribuição de patologias, e também confirma que os parasitas são uma valiosa informação para o estudo de rotas de migração antigas (MONTENEGRO et al., 2006; ARAUJO et al., 2008; LE BAILLY; BOUCHET, 2010).

Pizzi e Schenone (1954), foram os primeiros a observar cistos de *Entamoeba* sp. em amostras arqueológicas (possivelmente *E. coli* de acordo com as hipóteses), enquanto Witenberg (1961), foi o primeiro a atestar a presença de *E. histolytica* em amostras antigas. Ele encontrou cistos de ameba usando microscopia de luz em dois coprólitos humanos de uma caverna do deserto da Judéia em Nahal Mishmar, datado do período Bar-Kokhba (132–135 d.C.).

O diagnóstico da amebíase tem sido tradicionalmente feito pela aplicação da coproscopia, que é incapaz de diferenciar a *E. histolytica* da *E. díspar*. A distinção entre as duas espécies vem sendo alvo de vários estudos, desde que Sargeant et al. (1978), demonstraram que a espécie patogênica e a não patogênica poderiam ser distinguidas individualmente usando eletroforese isoenzimática. Estimar a verdadeira prevalência da amebíase não é uma tarefa fácil, uma vez que, a maioria das pesquisas foram baseadas no resultado da coproscopia, limitando o entendimento da magnitude e epidemiologia desta infecção (TANYUKSEL; PETRI, 2003).

Em 1875, Feder Aleksandrovich Lösch, em São Petersburgo, na Rússia, encontrou amebas nas fezes de um fazendeiro que sofria de desinteria crônica. Ele fez a descrição microscópica da ameba patogênica que denominou de *Ameba coli* e demonstrou que produziam ulcerações e disenteria em cachorros. O paciente de São Petersburgo, foi o primeiro registro de morte por amebíase, com demonstração em sua necropsia de numerosas e extensas ulcerações na mucosa do cólon (ACKERS, 2002).

O zoólogo alemão Fritz Schaudinn em 1903, renomeou o microorganismo de Lösch de *Entamoeba histolytica*. Ele morreu em 1906 aos 35 anos de idade por complicações secundárias a amebíase adquirida por autoinfecção. Schaudinn decidiu chamar de *E. histolytica* por ser produtora de lise tecidual (GALINDO, 2000).

Com base em observações clínicas e epidemiológicas e estudos experimentais em gatos, o parasitologista francês Emile Brumpt em 1925 apontou a existência de *E. histolytica* como um complexo de duas espécies morfologicamente iguais ao que ele chamou de *E. dysenteriae* causando a infecção sintomática e *E. díspar* encontrados em assintomáticos, porém essa abordagem foi inicialmente rejeitada pela comunidade científica internacional na época (MARÍN et al., 2000; REYES; LEÓN, 2002).

No início da década de 1970, começaram a acumular dados que sustentavam a hipótese de Brumpt da existência de duas espécies diferentes de *E. histolytica*, e em 1973 Martinez-Palomo demonstrou diferenças na aglutinação das amebas patogênicas e não patogênicas. (HUSTON; PETRI, 1999; ACKERS, 2002). Somente em 1978, após vários anos de pesquisa, pela primeira vez foi possível diferenciar por meio de estudos eletroforéticos de isoenzimas da hexoquinase do parasito, cepas de *E. histolytica* isoladas de pacientes com manifestações clínicas de amebíase e portadores assintomáticos, confirmando a existência de duas espécies de amebas, uma vez que dois zimodemas distintos foram observados, permitindo diferenciar as cepas patogênicas e não patogênicas (SARGEAUNT et al., 1984; NOZAKI et al., 1990).

Os estudos evoluíram e diferenças bioquímicas, imunológicas e genéticas entre as duas cepas foram observadas. Tannich et al. (1989), demonstraram através da análise de DNA genômico espécies distintas geneticamente. Diamond e Clark (1993), confirmaram a hipótese de Brumpt de 1925, encontrando evidências de que existem duas espécies morfológicamente idênticas, uma patogênica e outra não patogênica, que correspondiam a *E. histolytica* e *E. dispar*, respectivamente. Finalmente, em 1997 a OMS aceitou essa hipótese por um comitê de especialistas, reunido na Cidade do México, formalizou esta nova definição e recomendou vários critérios para diferenciação entre as duas espécies (WHO, 1997).

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A microscopia tem uma sensibilidade de apenas 60% comparada com a cultura e análise isoenzimática, resultando em dados superestimados e tratamentos desnecessário para a doença. Diante da incapacidade da microscopia de distinguir entre as duas espécies, a OMS, recomenda que o resultado do exame parasitológico de fezes realizado deva ser registrado como *E. histolytica*/*E. dispar*. As duas espécies podem ser diferenciadas por métodos bioquímicos, imunológicos e de biologia molecular. Entre estes, os testes de detecção do antígeno têm sido aplicados em várias pesquisas mediante sua rapidez, precisão e viabilidade, sendo um instrumento para confirmar a infecção pela *E. histolytica*.

REFERÊNCIAS

- ACKERS, J. P. The diagnostic implications of the separation of *Entamoeba histolytica* and *Entamoeba dispar*. *J. Bioscience*, v. 27, n. 6, suppl. 3, 2002.
- ARAÚJO, A.; REINHARD, K.J.; FERREIRA, L.F.; GARDNER, S.L. Parasites as probes for prehistoric human migrations?. *Trends Parasitol*, v. 24, p. 112–115., 2008.
- BAXT, L. A.; SINGH, U. New insights into *Entamoeba histolytica* pathogenesis. *Curr. Opin. Infect. Dis*, v. 21 n. 5, p. 489–494, 2008.
- CLARK, C. G.; DIAMOND, L. S. *Entamoeba histolytica*: An explanation for the reported conversion of “nonpathogenic” amoebae to the “pathogenic” form. *Exp. Parasitol.*, v. 77, p. 456-460, 1993.
- CLARK, C. G.; DIAMOND, L. S. The Laredo strain and other *Entamoeba histolytica*-like amoebae are *Entamoeba moshkovskii*. *Mol. Biochem. Parasitol.*, v. 46, p. 11–18, 1991.
- CORDEIRO, T. G. P; MACEDO, H. W. Amebíase. *Rev. Patologia Tropical*, v. 36, n. 2, p. 119-128, 2007.
- DIAMOND, L. S.; CLARK, C. G. A redescription of *Entamoeba histolytica* Schaudinn, 1903 (Emended Walker, 1911) separating it from *Entamoeba dispar* Brumpt, 1925. *JEukaryot Microbiol.*, v. 40 p. 340-344, 1993.
- GALINDO, L. F. Amebiasis: enfoques actuales sobre su diagnóstico, tratamiento y control. Ciudad de La Habana: Editorial Elfos Scientiae, 2000.
- HUSTON, C. D.; PETTRI, W. A. Amebiasis: Clinical Implications of the recognition of *Entamoeba dispar*. *Curr. Infect. Dis. Rep.*, v. 1, p. 441-447, 1999.
- LE BAILLY, M.; BOUCHET, F. Ancient dicrocoeliosis: occurrences, distribution and migration. *Acta Trop*, v. 115, p. 175–180, 2010.
- LE BAILLY, M.; MAICHER, C.; DUFOUR, B. Archaeological occurrences and historical review of the human amoeba, *Entamoeba histolytica*, over the past 6000 years. *Infection, Genetics and Evolution*, v. 42, p. 34–40, 2016.
- MARÍN, E; PINILLA A. E; LÓPEZ, M. C. Absceso hepático amebiano. Revisión de 100 años de esta patología en Colombia. *Acta Med Colomb.*, v. 25 p. 218-26, 2000.
- MONTENEGRO, A.; ARAÚJO, A.; EBY, M.; FERREIRA, L.F.; HETHERINGTON, R.; WEAVER, A. J. Parasites, paleoclimate, and the peopling of the Americas. *Curr. Anthropol*, v. 47, p. 193–200, 2006.
- NGOBENI, R.; SAMIE, A.; MOONAH, S.; WATANABE, K.; PETRI, W. A.; GILCHRIST, C. *Entamoeba* Species in South Africa: Correlations With the Host Microbiome, Parasite Burdens, and First Description of *Entamoeba bangladeshi* Outside of Asia. *The Journal of Infectious Diseases*, v. 216 n. 12, p. 1592–1600, 2017.

NOZAKI, T.; ACA, I. D. A. S.; OKUZAWA, E.; MAGALHAES, M.; TATENO, S.; TAKEUCHI, T. Zymodemes of *Entamoeba histolytica* isolated in the Amazon and the northeast of Brazil. *Trans R Soc Trop Med Hyg.*, v. 84, p. 387-388, 1990.

PIZZI, T.; SCHENONE, H. Hallazgo de huevos de *Trichuris trichiura* en contenido intestinal de un cuerpo arqueológico incaico. *Bol. Chil. Parasitol*, v. 9, p. 73-75, 1954.

REYES, L.; LEÓN, R. Diferenciación de *Entamoeba histolytica*/*Entamoeba dispar* y los nuevos hallazgos en la patogénesis de la amebiasis intestinal. *Rev Costarric Cieñe Med.*, v. 23, p. 161-173, 2002.

SARGEAUNT, P.G.; WILLIAMS, J. E.; GRENE, J. D. The differentiation of invasive and non-invasive *Entamoeba histolytica* by isoenzyme electrophoresis. *Trans R Soc Trop Med Hyg.*, v. 72, n. 5, p. 519-521, 1978.

SARGEAUNT, P. G.; BAVEJA, U. K.; NANDA, R.; ANAND, B. S. Influence of geographical factors in the distribution of pathogenic zymodemes of *Entamoeba histolytica*: identification of zymodeme XIV in India. *Trans RSoc Trop Med Hyg.*, v. 78 p. 96-101, 1984.

SILVA, M. C. DE M.; MONTEIRO, C. DO S. P.; ARAÚJO, B. DOS 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. *Cadernos de Saúde Pública*, v. 21, n. 3, p. 969-973, 2005.

SINGH, A.; HOUP, E.; PETRI, W.A. Rapid diagnosis of intestinal protozoa, with focus on *Entamoeba histolytica*. *Interdiscip. Perspect. Infect. Dis.*, p. 1-8, 2009.

TANNICH, E.; HORSTMANN, R. D.; KNOBLOCH, J.; ARNOLD H.H. Genomic DNA differences between pathogenic and nonpathogenic *Entamoeba histolytica*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, v. 86, p. 5118-5122, 1989.

TANYUKSELM, M; PETRI, W. A. Laboratory Diagnosis of Amebiasis. *Clin Microbiol Rev.*, v. 16, p. 713-29, 2003.

WHO/PAHO/UNESCO Report. A consultation with experts on amoebiasis. Mexico City, Mexico 28-29 January 1997. *Epidemiol Bull.*, v. 18, p. 13-14, 1997.

WITENBERG, G. Human parasites in archaeological findings. *Bull. Isr. Explor. Soc*, v. 25, p. 86, 1961.

XIMÉNEZ, C.; CERRITOS, R.; ROJAS, L.; DOLABELLA, S.; MORÁN, P.; SHIBAYAMA, M.; SILVA, E. F. Human amebiasis: breaking the paradigm?. *Int. J. Environ. Res. Public Health.*, v. 7, n. 3, p. 1105-1120, 2010.