

# Protozoários: Entamoebas

*Giardia duodenalis*

*Chilomastix mesnili*

*Entamoeba histolytica/dispar*

*Entamoeba coli*

*E.hartmanni*

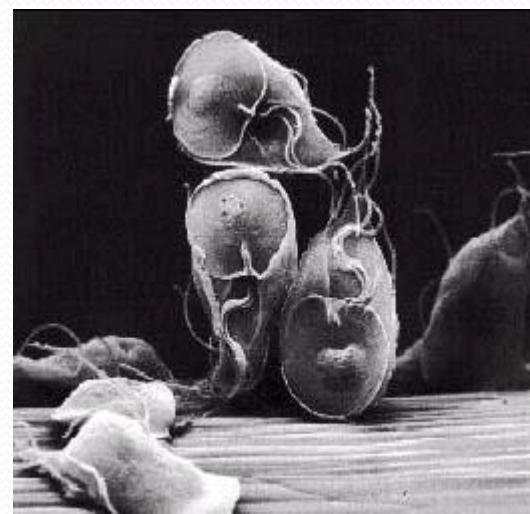
*Endolimax nana*

*Iodamoeba butschlii*

*Blastocystis hominis*

# *Giardia duodenalis*

- Doença: Giardose
- Habitat: duodeno e jejuno. Raramente em vesícula biliar e condutos biliares.
- Via de transmissão: Ingestão de cistos em alimentos e bebidas contaminadas.
- Morfologia: trofozoítos e cistos.
- Parasita monoxeno e eurixeno.
- Hospedeiros: homem e mamíferos em geral, aves e répteis.
- Divisão por fissão binária longitudinal.





Disco  
suctorial

2 axonemas

2 Corpos  
Parabasais  
ou  
medianos

4 pares de  
flagelos

2 núcleos

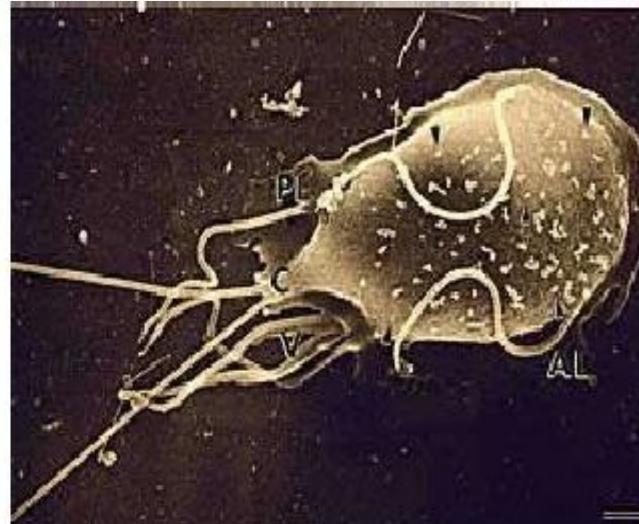
8  
Blefaroplastos  
ou corpos  
basais

## Trofozoíto

20 µm x 10 µm

# *Giardia duodenalis*

- Disco suctorial
  - Responsável pela aderência do parasito
- Axonemas
  - Eixo por onde passam os flagelos em trajeto intra-celular.
- Blefaroplasto
  - Aglomerado de cromatina responsável pela formação do flagelo
- Corpos parabasais ou medianos
  - Formado por microtúbulos e proteínas contráteis
- Flagelos
  - Responsáveis pela locomoção do parasito



Citoplasma com presença de retículo endoplasmático, aparelho de Golgi, ribossomos e glicogênio. Ausência de mitocôndria

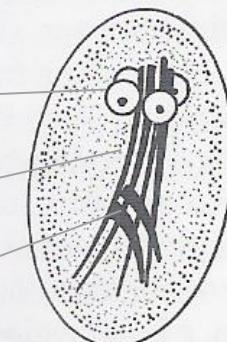
# Cisto

2 a 4 núcleos

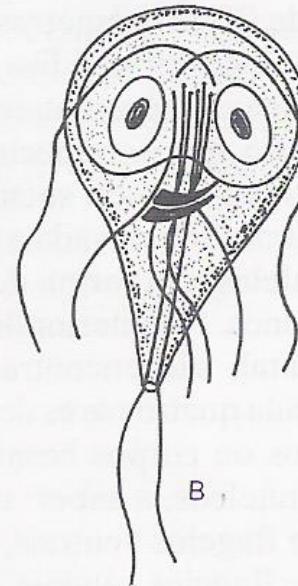
axonemas de flagelos

corpos parabasais ou

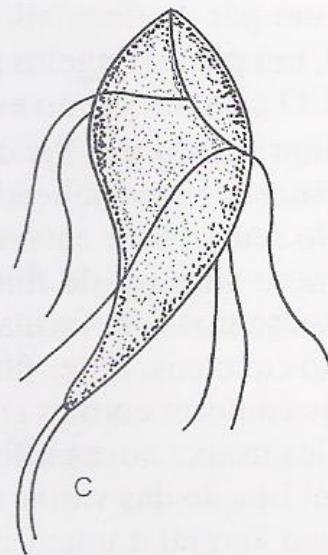
Primórdios do disco suctorial?



A



B



C

# Trofozoíto



12  $\mu\text{m}$  x 8  $\mu\text{m}$

## Cisto



# Ciclo biológico

- Ingestão do cisto.
- Desencistamento no estômago pela ação do ph ácido (pH 2).
- Liberação dos trofozoítos no duodeno e jejuno.
- Aderência à superfície da mucosa através do disco suctorial.
- Formação de revestimento extenso na superfície da mucosa. Nutrição do parasito realizada por pinocitose.
- O ciclo se completa pelo encistamento do parasito, principalmente no ceco, e sua eliminação para o exterior através das fezes formadas.

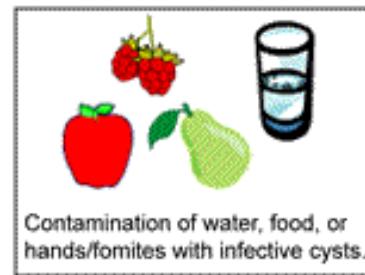
- O trofozoíto inicia o processo de encistamento no baixo íleo nas seguintes condições:
  - Influência do ph intestinal
  - Estímulo de sais biliares
  - Destacamento do trofozoíto da mucosa
- O trofozoíto recolhe os flagelos e secreta uma membrana cística formada de quitina.
- No interior do cisto ainda ocorre a nucleotomia
- Resiste no ambiente por 2 meses
- Dois trofozoítos são liberados de cada cisto.



SAFER • HEALTHIER • PEOPLE™

<http://www.dpd.cdc.gov/dpdx>

1  
2



Contamination of water, food, or hands/fomites with infective cysts.

Trophozoites are also passed in stool but they do not survive in the environment.

1

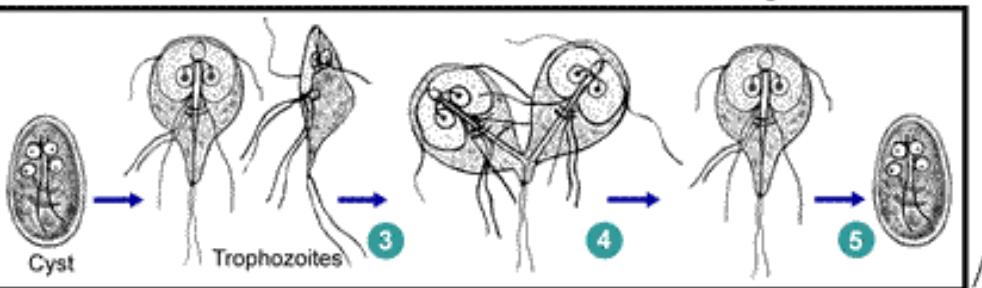
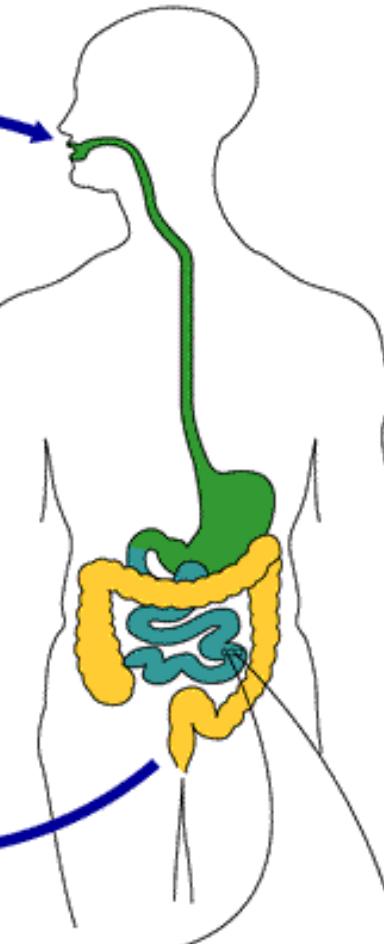
i  
d

Cyst



d

Cyst



# Patologia

- Atrofia das vilosidades e dos microvilos, com redução da área de absorção intestinal, infiltração de leucócitos e aumento da secreção de muco.
- Os trofozoítos na luz intestinal tornam-se aderentes ao epitélio e podem invadir a mucosa
- Ação citotóxica dos macrófagos para os parasitos

# Patologia

- Ativação de linfócitos e liberação de linfocinas suficientes para destruir os parasitos na maioria dos indivíduos.
- Ação dos granulócitos sobre trofozoítos
- Ação de anticorpos anti-Giardia :IgA, IgG, IgM e IgE.

# Patologia

- IgE promove degranulação de mastócitos que liberam histamina : edema e contração do músculo liso > motilidade intestinal.
- Liberação prostaglandina pelos mastócitos que > motilidade intestinal

# Patologia

- Pacientes parasitados geralmente assintomáticos com cura espontânea.
- Quadros sintomáticos
  - Quadro agudo(poucos dias): diarréia com má absorção intestinal, malcheirosa, cólicas, fraqueza e perda de peso.
  - Crianças: sintomas associados à irritabilidade, insônia, náuseas e vômito.
  - Quadro crônico: esteatorréia , perda de peso e má-absorção.

# *Chilomastix mesnili*

- Trofozoítos
  - Forma piriforme irregular com uma extremidade mais larga e achata (anterior)
  - Núcleo localizado na extremidade mais larga
  - Movimentos rotatórios desajeitados
  - Cariossomo pequeno e excêntrico

# *Chilomastix mesnili*

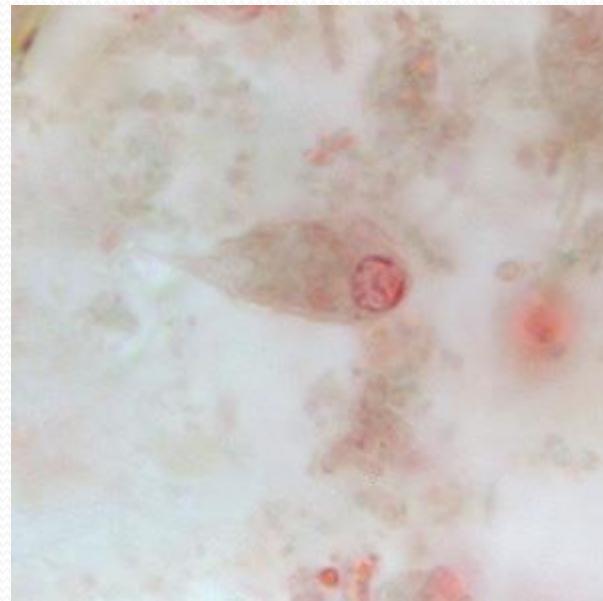
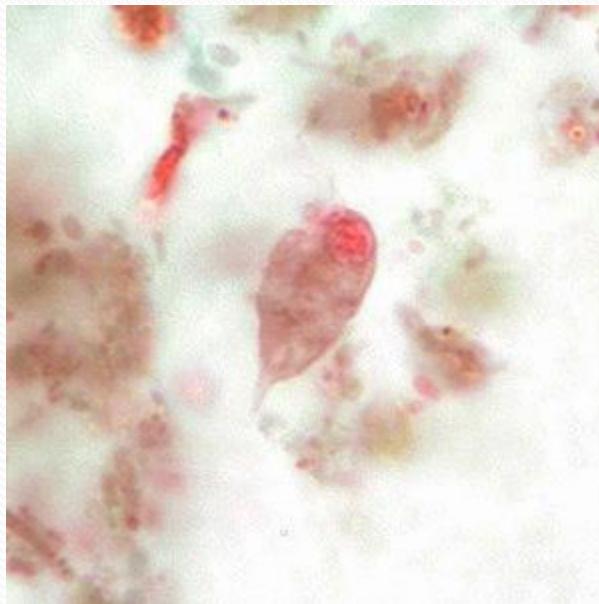
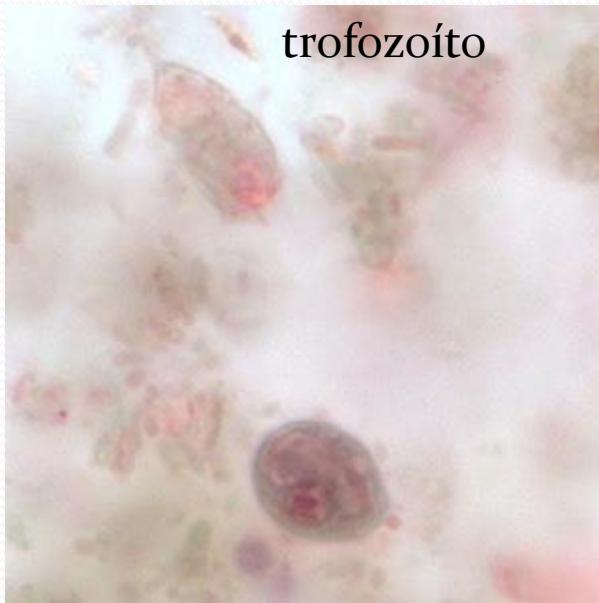


Ilustração disponível em [http://www.dpd.cdc.gov/dpdx/HTML/ImageLibrary/Chilomastix\\_il.htm](http://www.dpd.cdc.gov/dpdx/HTML/ImageLibrary/Chilomastix_il.htm)

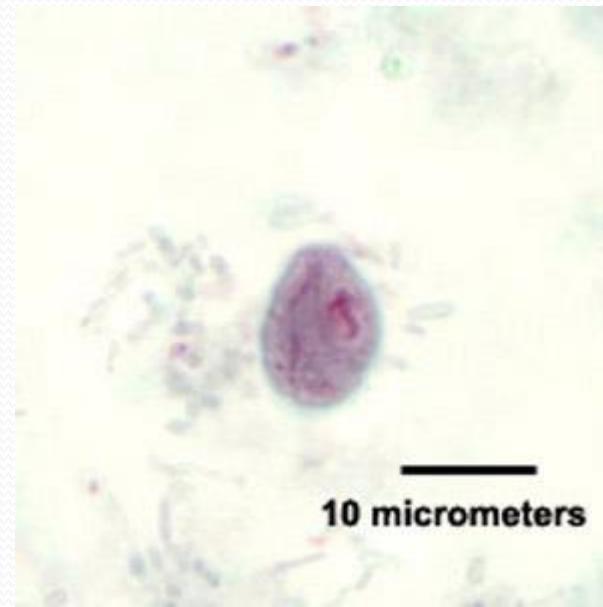
# *Chilomastix mesnili*

- Cistos
  - Formato de “limão”
  - Cromatina periférica pode estar condensada em um dos lados do núcleo

# *Chilomastix mesnili*

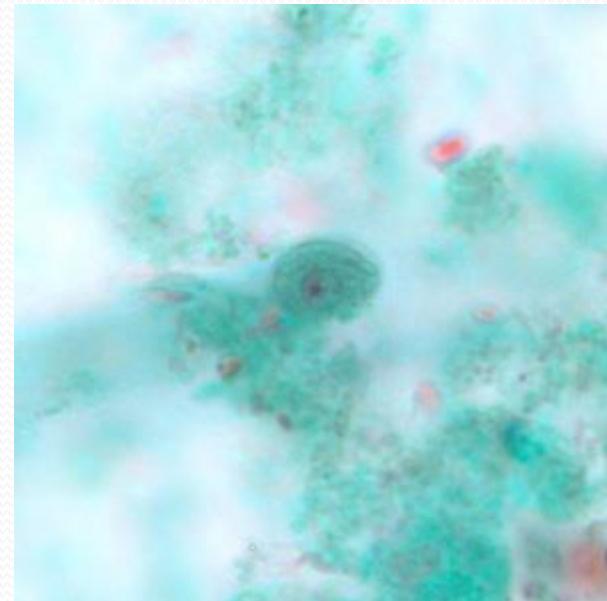
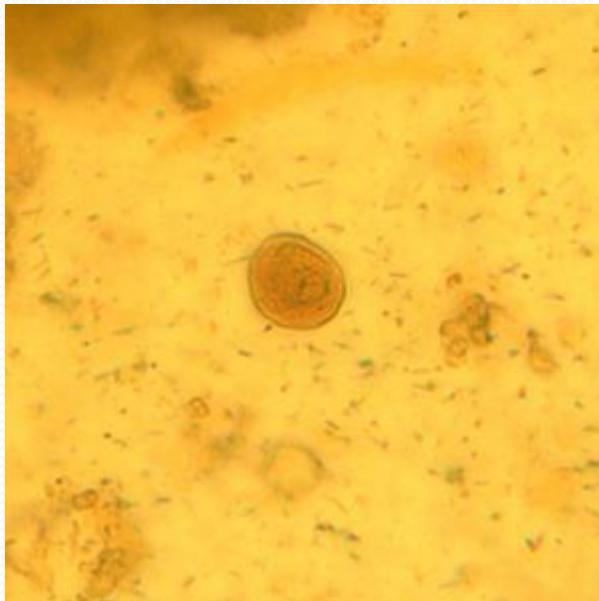


trofozoíto



cisto

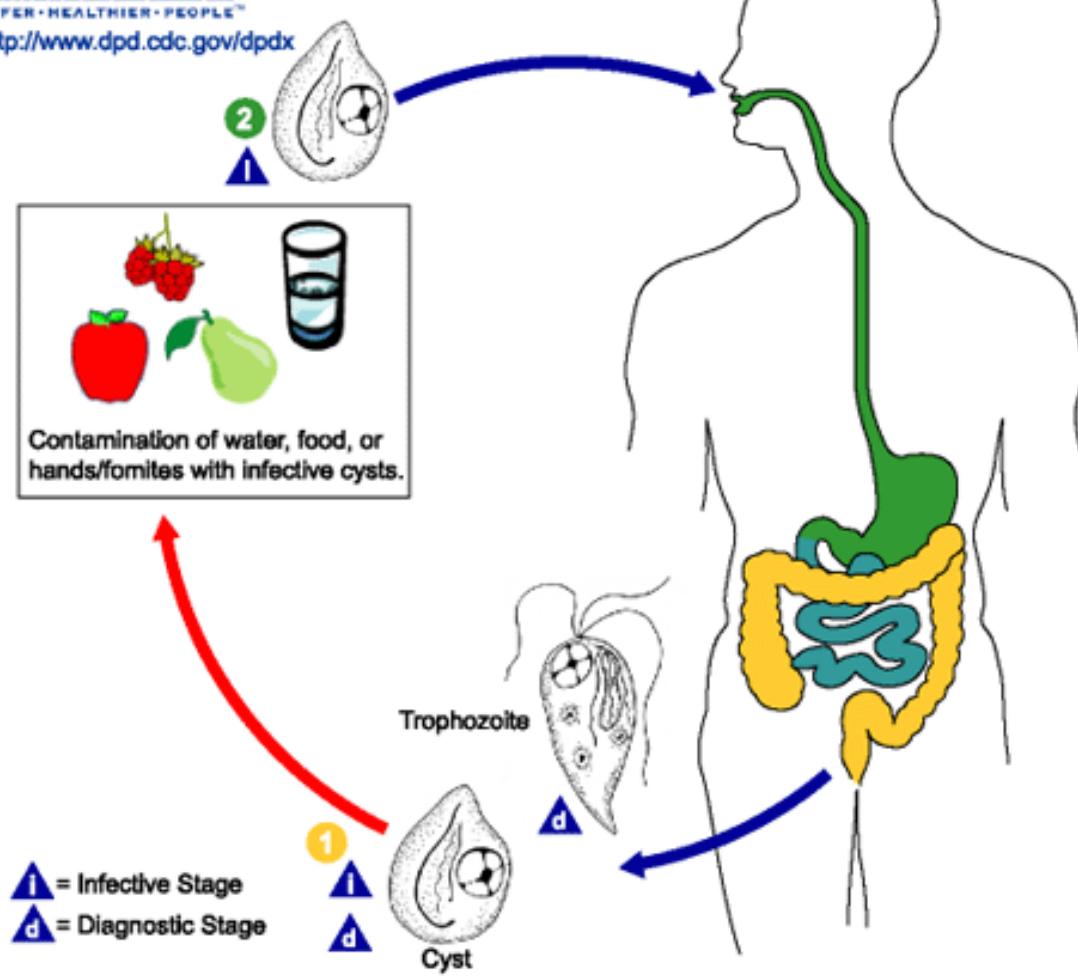
# *Chilomastix mesnili*



cistos



<http://www.dpd.cdc.gov/dpdx>



# Amebas

- Análise das principais características morfológicas
  - Tamanho do protozoário
  - Motilidade do trofozoíto
  - Tipo de material ingerido pelo trofozoito
  - Núcleo:
    - quantidade de núcleos
    - presença de cromatina periférica e sua distribuição,
    - tamanho e localização do cariossoma.
  - Presença e tipo de corpos cromatoides nos cistos

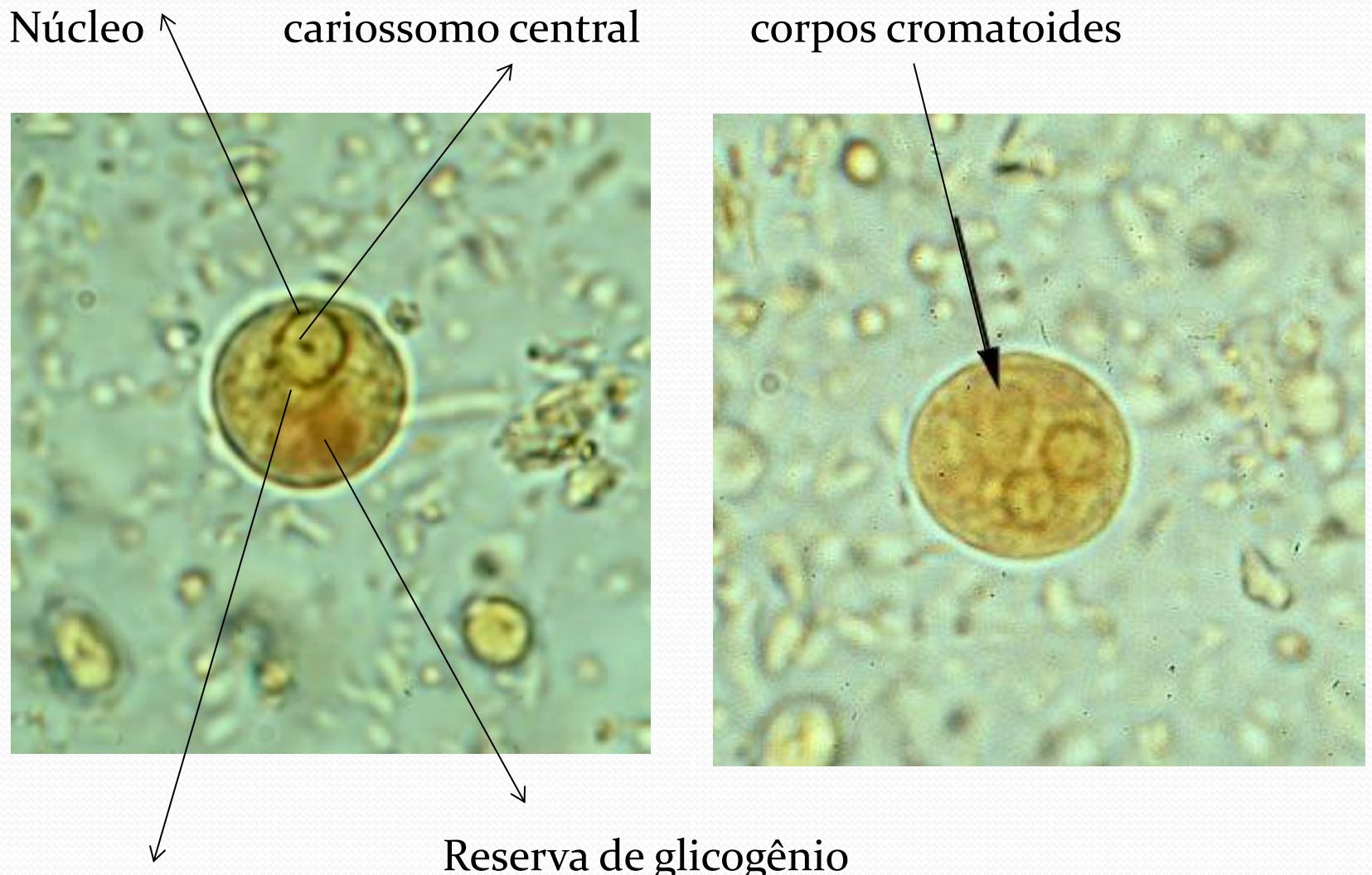
# *Entamoeba histolytica*

- Doença: amebose
- Habitat: Intestino delgado e grosso.
- Locomoção por emissão de pseudópodes
- Via de transmissão: Ingestão de cistos em alimentos e bebidas contaminadas, contato oral-anal e transporte mecânico por insetos.
- Morfologia: cistos, metacistos, trofozoítos e pré-cistos
- Parasita monoxeno
- Reprodução por divisão binária

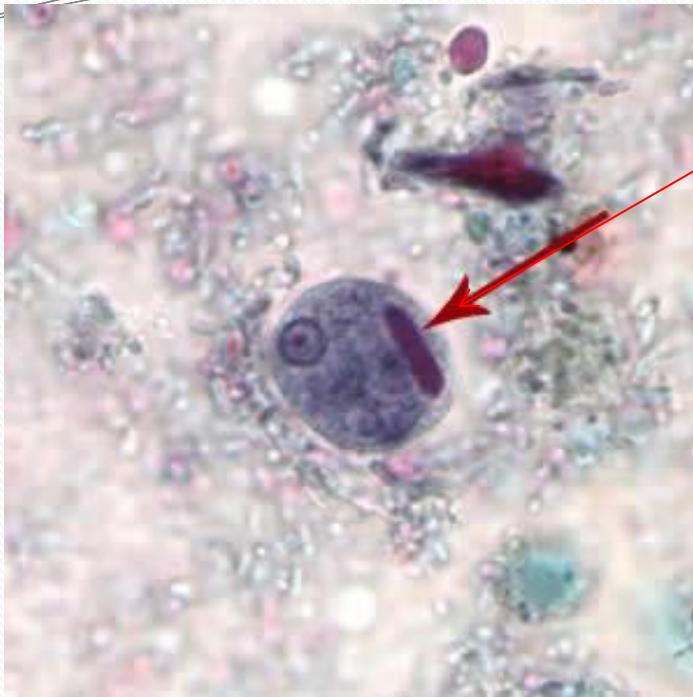
# Cistos



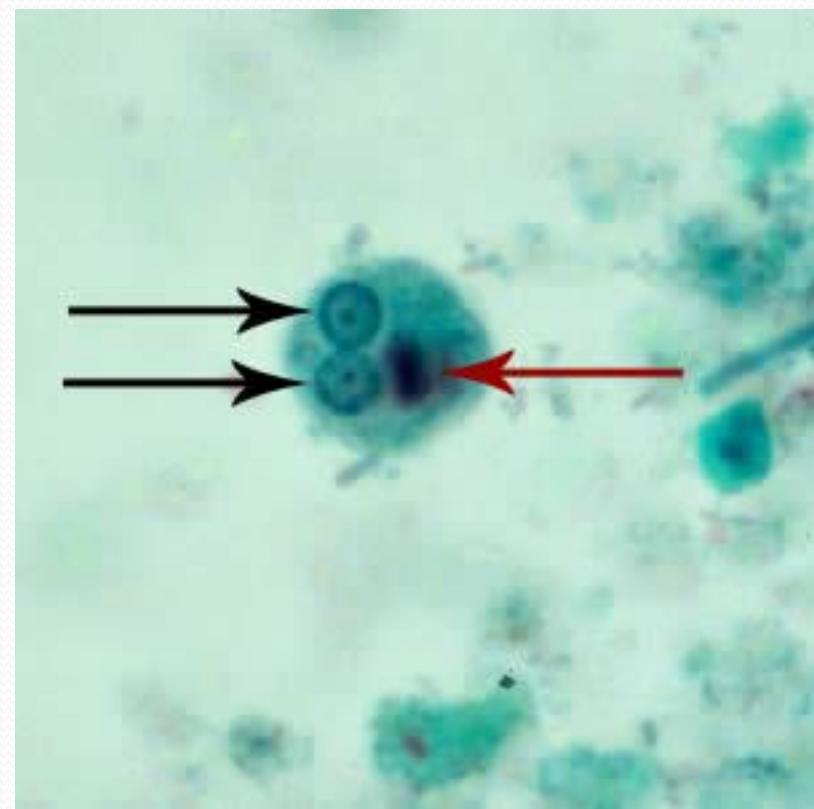
Tamanho variando entre 10 a 20  $\mu\text{m}$



Membrana nuclear escura e regular devido ao revestimento de cromatina



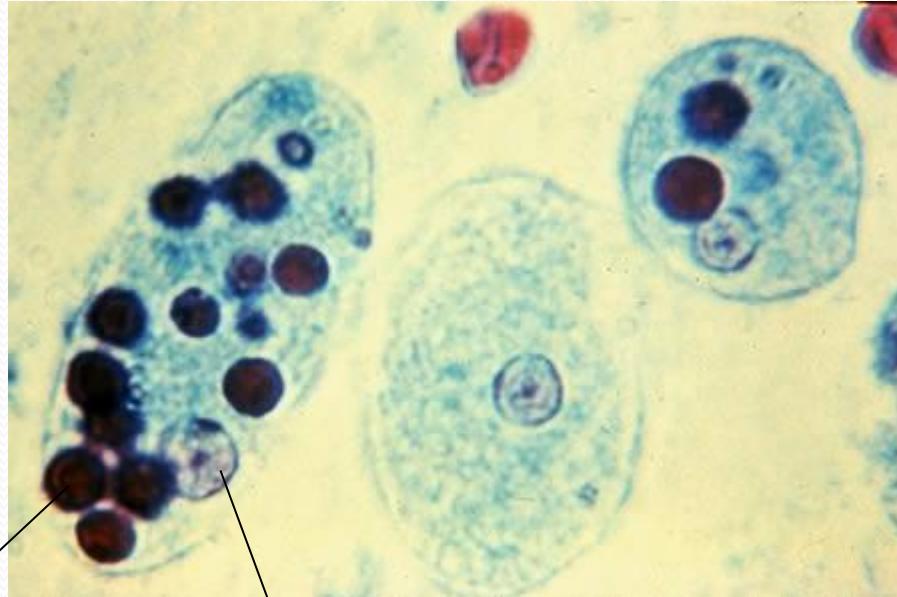
Corpos cromatóides na forma de bastonete



- Método de tricômio

# Trofozoíto

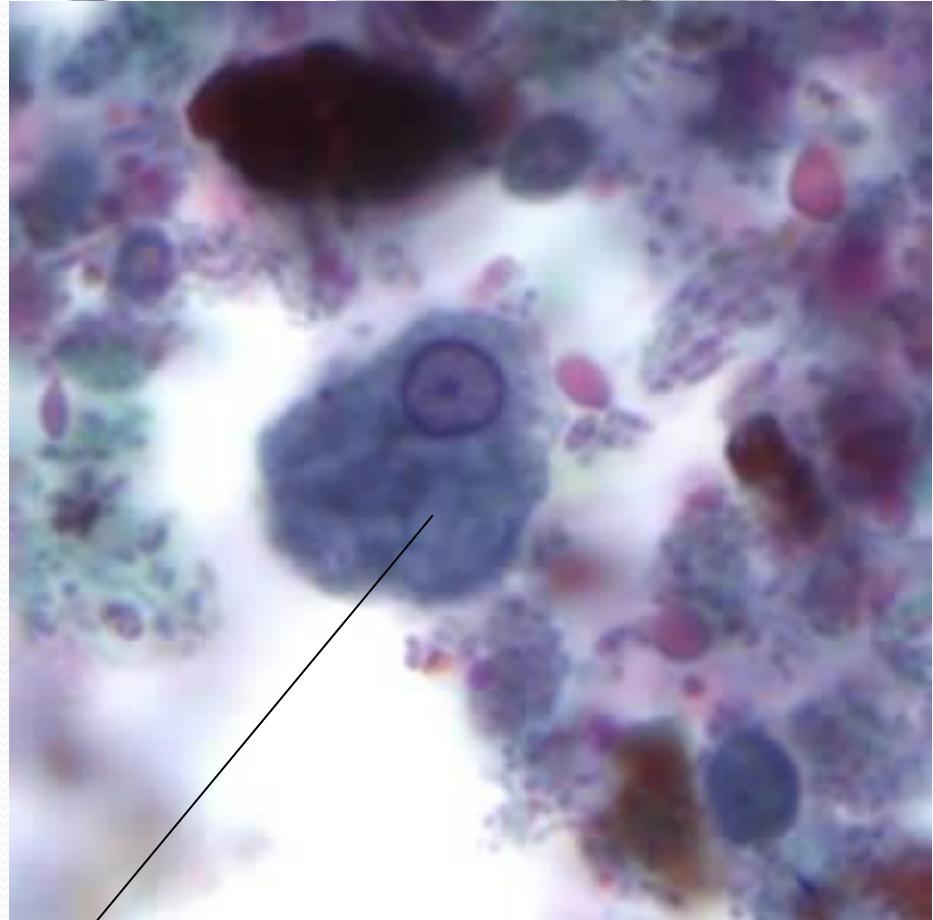
20 a 60  $\mu\text{m}$



Hemárias

Núcleo com cariosoma pequeno e central

Citoplasma diferenciado em ecto e endoplasma



vacúolos

Trofozoitos ativos e rápidos

# Ciclo biológico – T minuta

- Ingestão de cistos
- Resistem ao pH estômago
- Processo de desencistamento no final do ID e início IG com temperatura de 37°C em meio anaeróbio
- Um cisto tetranucleado entra em divisão e produz oito amebas com um só núcleo - metacisto.
- Amadurecimento do metacisto e formação de trofozoítos.
- Os trofozoítos ficam aderidos à parede intestinal alimentando-se de bactérias e detritos. (10-20µm)
- Multiplicação na luz do IG

# Ciclo biológico

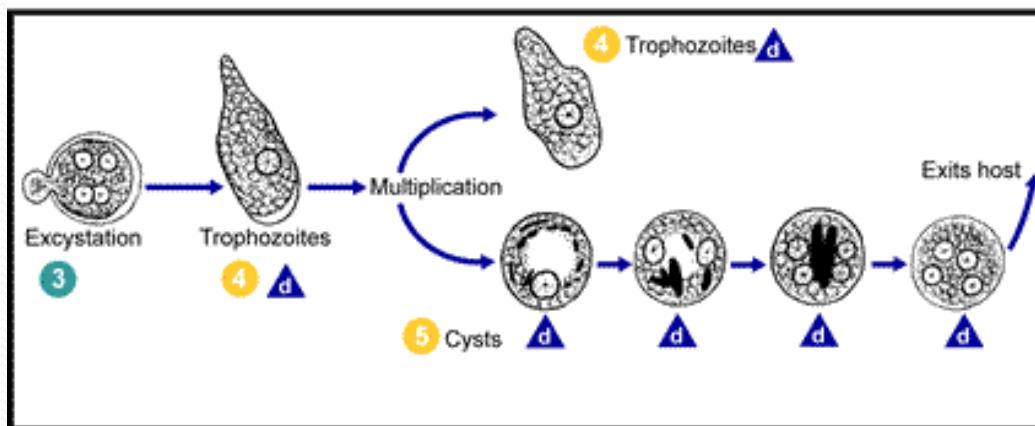
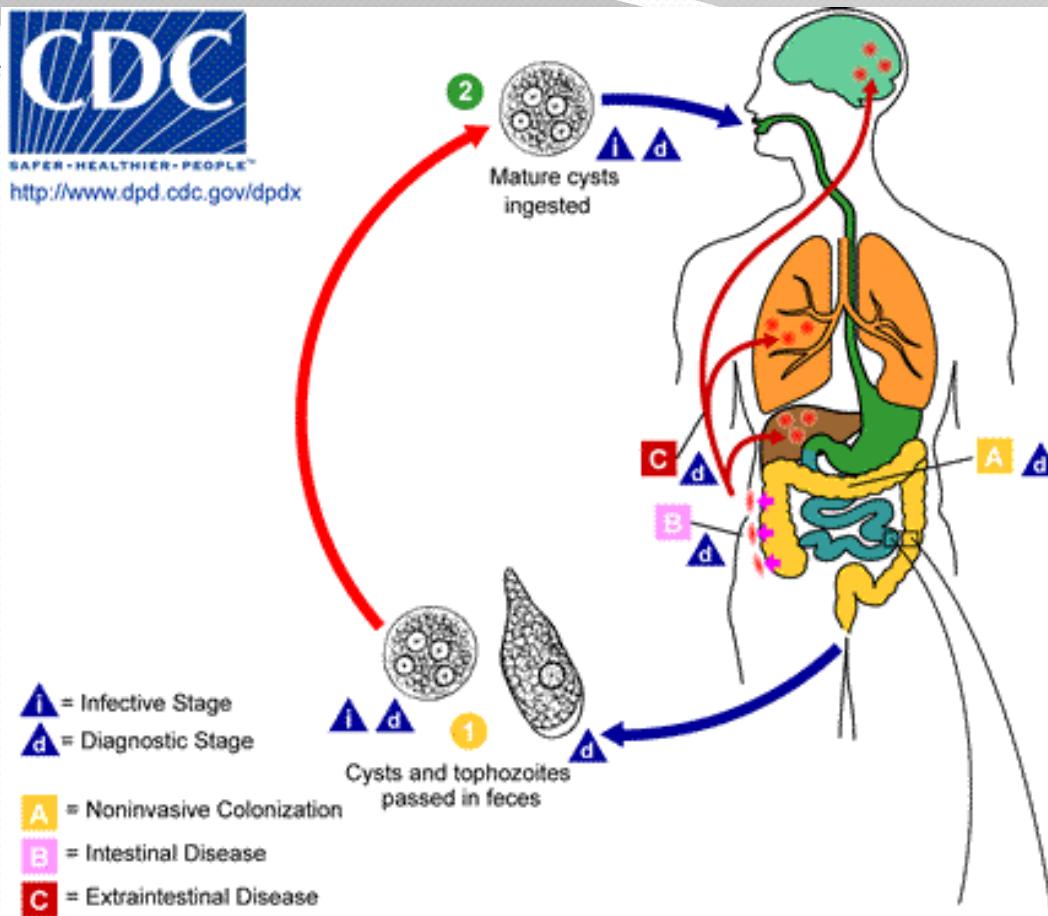
- Trofozoítos são encontrados em fezes diarréicas.
- Processo de encistamento:
  - formação dos pré-cistos
  - diminuição da atividade de fagocitose
  - Diminuição da motilidade pela não emissão de pseudópodes
  - desaparecimento dos vacúolos,
  - aparecimento dos corpos cromatóides
  - transformação em pré-cistos e secreção de membrana cística

# Ciclo biológico

- Divisão nuclear com produção de cistos tetranucleados.
- Grande área do citoplasma ocupada por formação de glicogênio.
  - Obs: A coloração por hematoxilina férrica remove o glicogênio deixando no lugar um grande vacúolo vazio, enquanto na coloração por lugol, o glicogênio cora-se de castanho –avermelhado.
- Os cistos são eliminados pelas fezes.



SAFER • HEALTHIER • PEOPLE™  
<http://www.dpd.cdc.gov/dpdx>

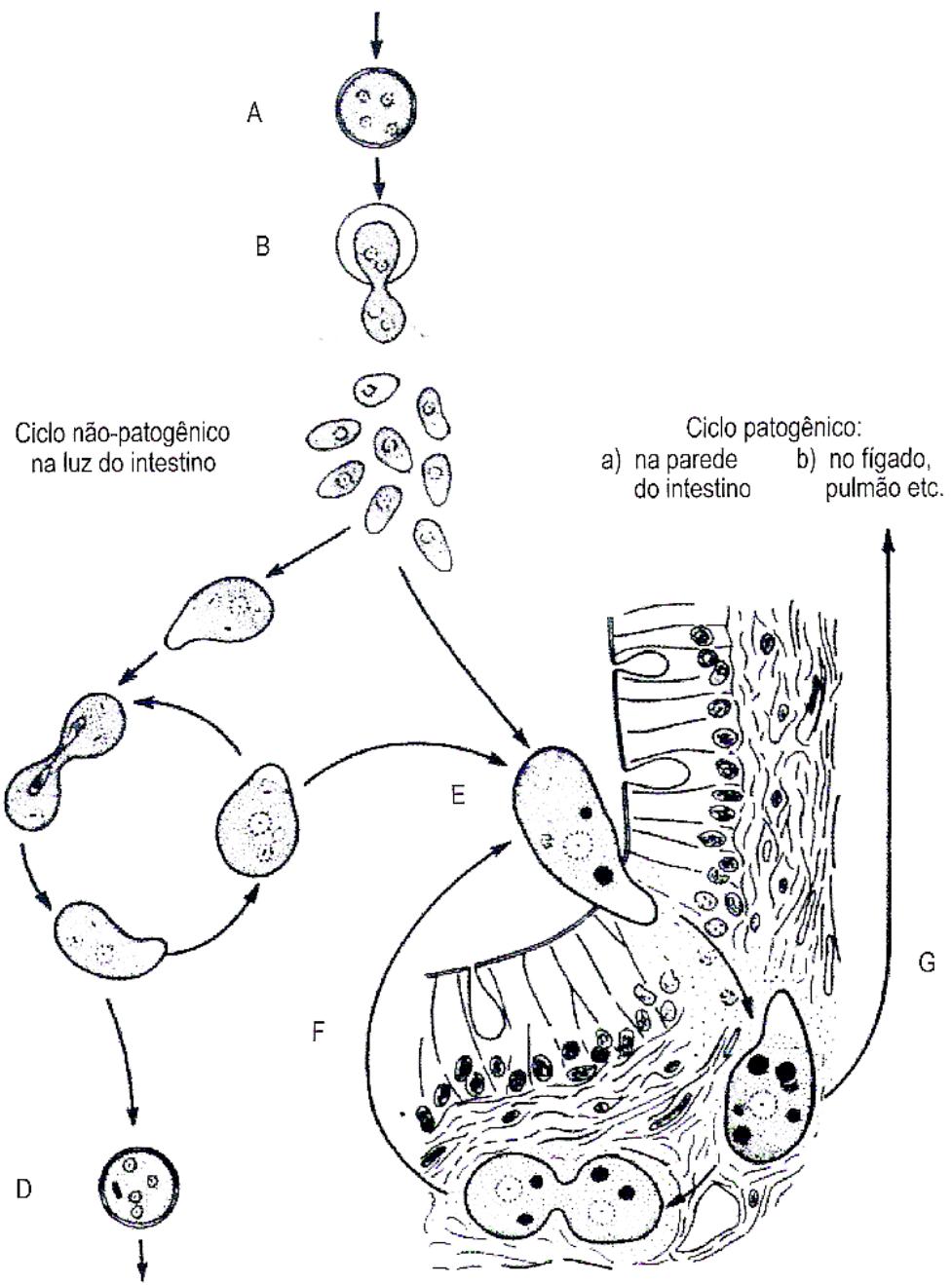


# Trofozoíto magna

- Trofozoíto magna:
  - Adquirem a capacidade de invadir a mucosa intestinal penetrando nos tecidos e produzindo formas ainda maiores. (até 60 µm)
  - Produção de hialuronidase, proteases e mucopolissacardases
  - Fagocitose de hemácias.
  - Emissão de pseudópodes grossos e digitiformes
  - Divisão binária
  - Incapacidade de produção de cistos
  - Raramente encontrada nas fezes exceto em casos de diarréia e disenteria

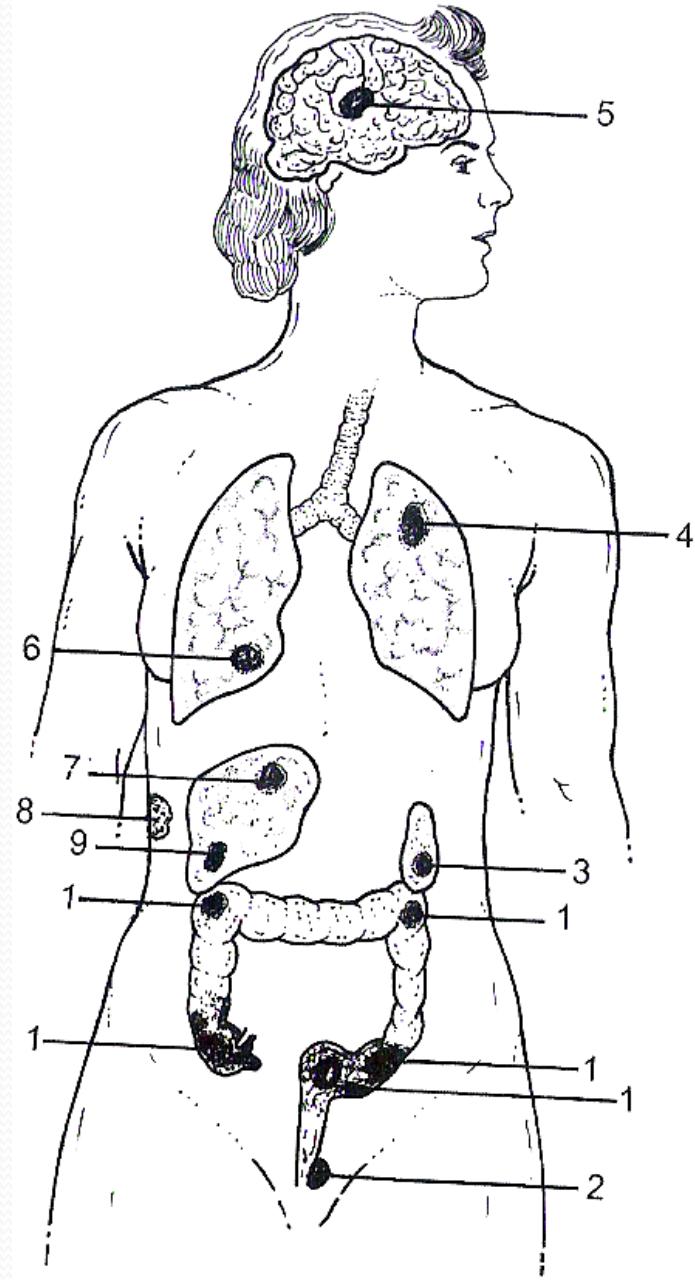
# Trofozoíto magna

- Metabolismo trofozoítico
  - Utilização de glicose e produção de ácido pirúrvico
  - Grande necessidade de ferro utilizado pelo protozoário para mecanismos respiratórios



# Patogenia da forma magna

- Amebose intestinal crônica
- Colite amebiana fulminante
- Apendicite amebiana
- Amebose hepática
- Abcesso amebiano pulmonar
- Amebose cutânea



# Patogenia da forma magna

- Varia conforme a cepa
- Dependentes da flora bacteriana
- Lesões iniciais no intestino grosso. Multiplicam-se pela submucosa, ganhando profundidade até atingirem o tecido muscular.
- Exercem ação lítica por processo enzimático
- Produzem necrose
- Invasão da corrente sanguínea pelo sistema porta podendo atingir o fígado, pulmões, cérebro e pele (normalmente da região anal e genital).

# Patogenia

- Observa-se escassez de infiltrações leucocitárias em torno dos parasitos
- Incidência de infecção bacteriana no tecido
- Lesões com maior frequência na região cecal, no sigmóide e no reto
- Locais de trânsito rápido são menos frequentes

# Patogenia

- Forma hepática:
  - Maior resistência ao parasitismo amebiano
  - Causam necrose de coagulação com liquefação asséptica do tecido pela produção de abcessos amebianos
  - Material necrosado formado por tecido hepático lisado, sangue, bile, e algumas amebas – pus de chocolate
  - Lesões antigas podem ser envolvidas por cápsula fibrótica.

# Patogenia

- Sintomas
  - Dor ou desconforto no hipocôndrio direito que se agrava com movimentação.
  - Confunde-se com cólica biliar.
  - Febre irregular com calafrios, suores, náuseas e vômitos.
  - Fígado aumentado de volume e doloroso a percussão na área do abcesso.
  - Ligeira icterícia.

# Patogenia

- Amebiase pulmonar :
  - Invasão torácica pode ocorrer via hematogênica ou hepatobrônquica – ruptura do abcesso hepático na cavidade pleural e peritonial
- Sintomas
  - Tosse com expectoração de material gelatinoso, ora de coloração achocolatada ora avermelhada
  - Febre
  - Dor torácica
  - Em caso de infecções bacterianas secundárias: secreção de aspecto amarelado.

# *Entamoeba coli*



Cistos esféricos medindo entre 10 e 35 µm

Cariossoma excêntrico

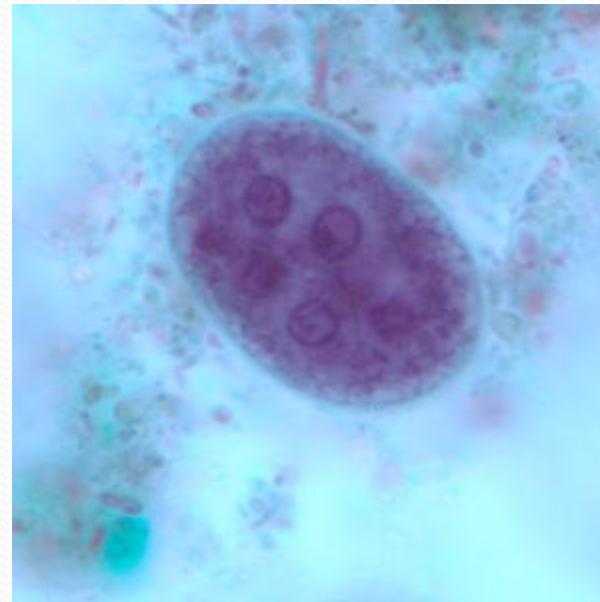
Membrana nuclear grosseira com grânulos cromáticos irregulares

Corpos cromatóides finos – não visualizados em cistos maduros

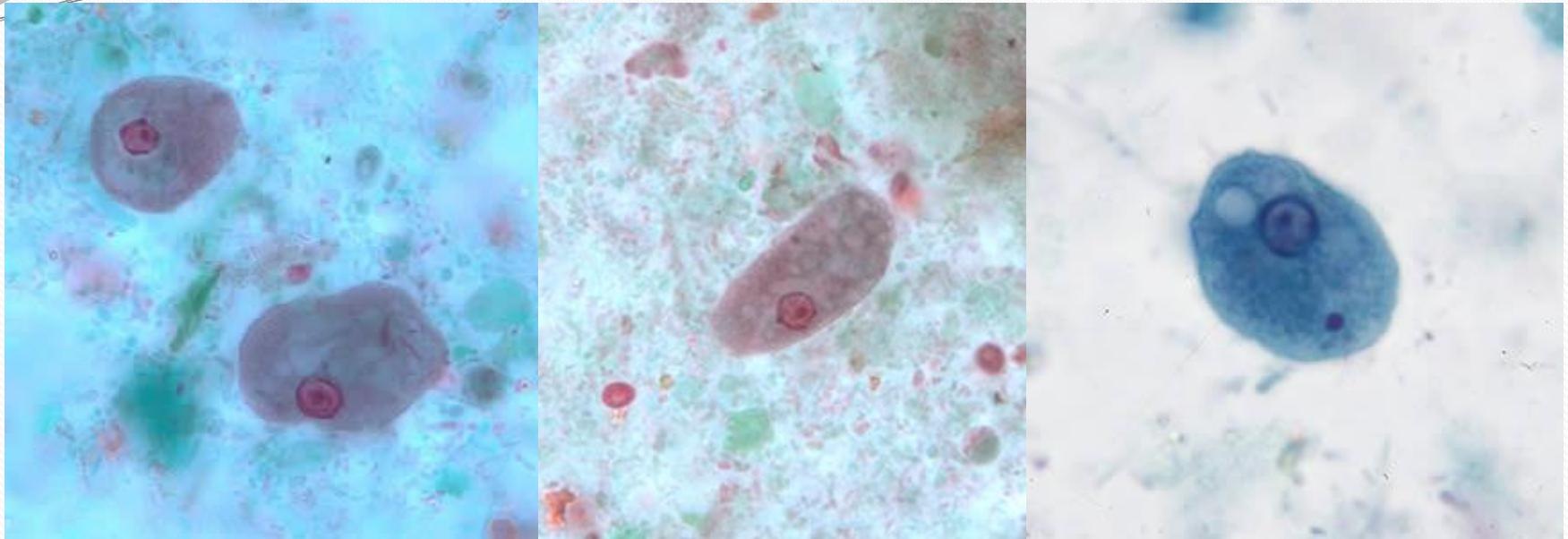
## Vacúolo de glicogênio de cisto imaturo



núcleos



cisto maduro



15 a 50  $\mu\text{m}$

- Movimentos lentos
- Citoplasma não diferenciado
- Trofozoítos com cariossoma grande e excêntrico

# *E. hartmanni*

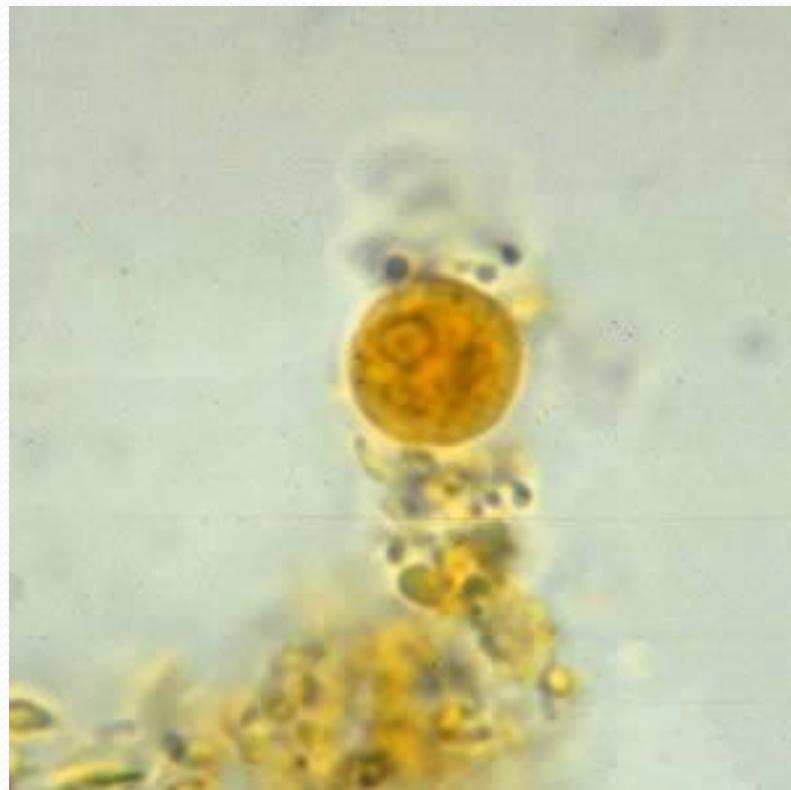
- Não patogênico
- Localizado na luz do Intestino grosso
- Fagocitose de bactérias e fungos
- Morfologicamente confundido com formas pequenas de *E.histolytica*
- Diagnóstico diferencial pela morfologia do núcleo ou tamanho dos cistos

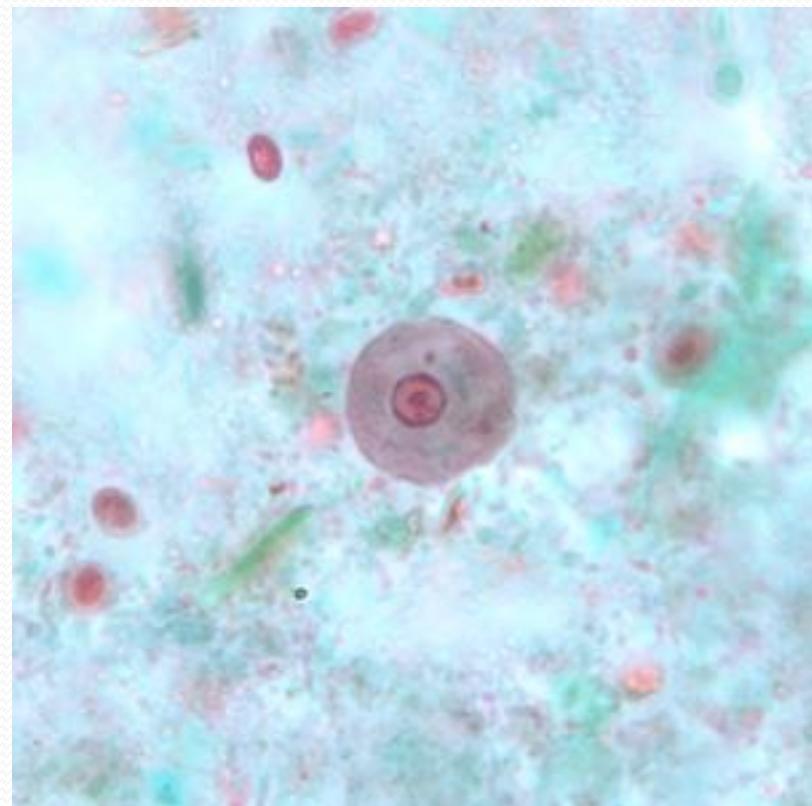
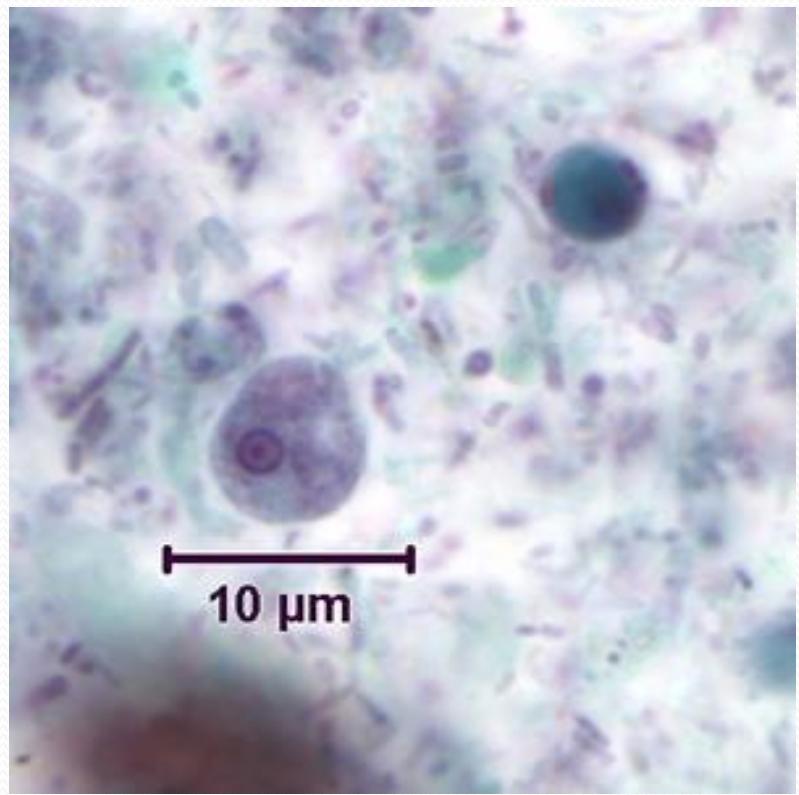
# *E. hartmanni*

- Trofozoíto medindo 5 a 12 µm
- Movimentos ativos
- Cariossomo pequeno, puntiforme e central.
- Cromatina periférica igualmente distribuída.
- Cisto com 4 núcleos e cromatina fina, medindo 4 a 10 µm
- Possui corpos cromatóides com extremidade quadrada.

# *E. hartmanni*

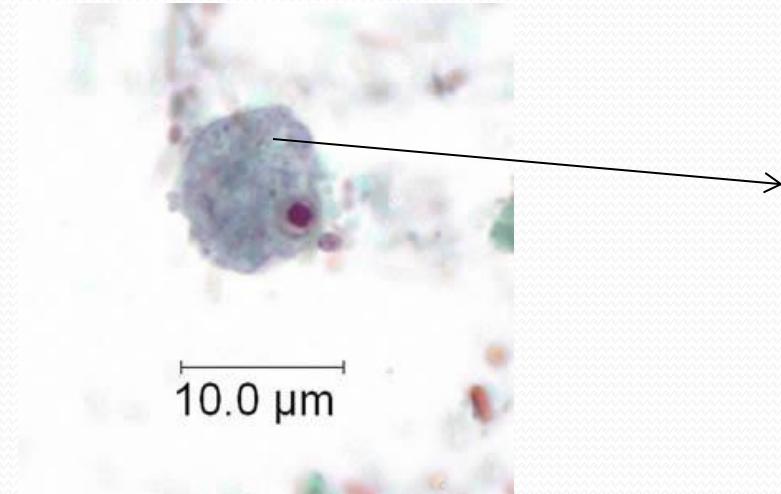
Cisto





Trofozoítos – método tricômio

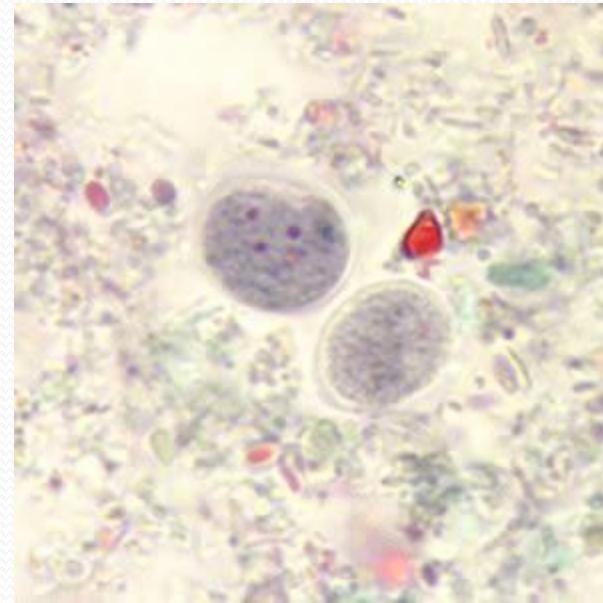
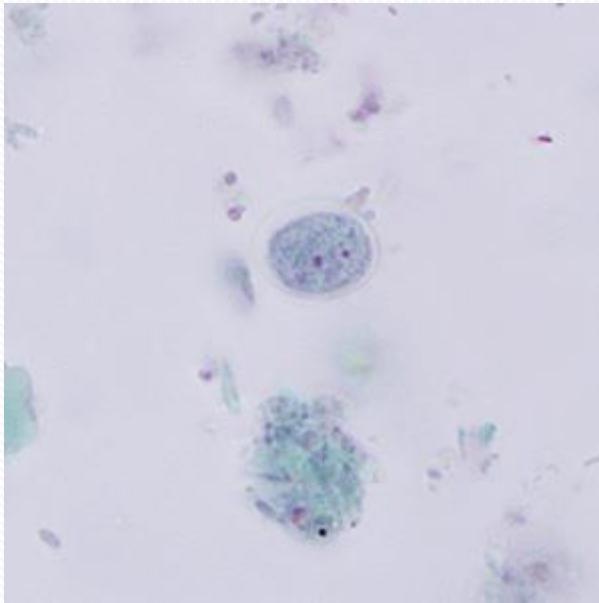
# *Endolimax nana*



trofozoíto

- Menor ameba que vive no homem
- Citoplasma claro
- Membrana nuclear fina e sem grãos de cromatina
- Cariossoma grande irregular

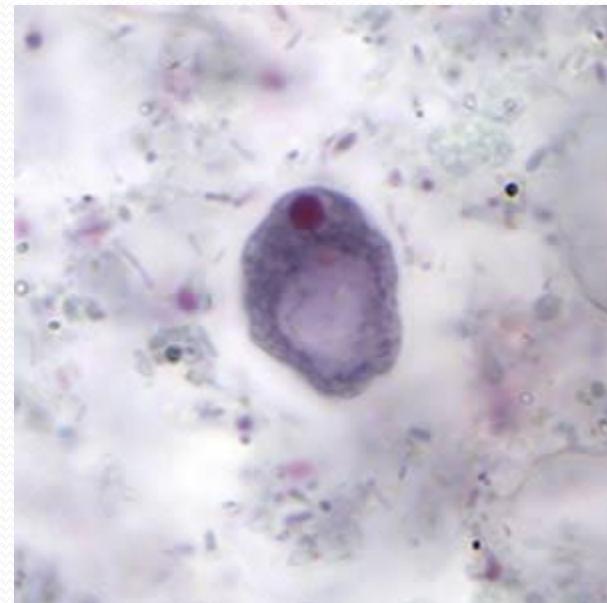
# *Endolimax nana*



- Cisto oval com aproximadamente 5 a 10 µm
- Presença de 4 núcleos pequenos pobres em cromatina

# *Iodamoeba butschilii*

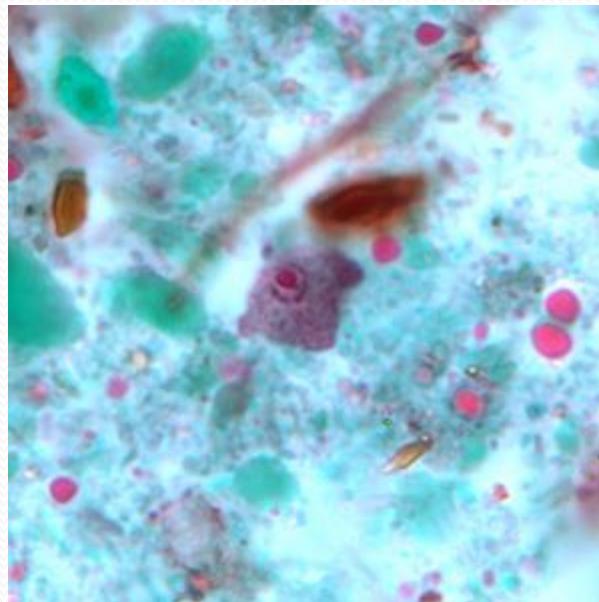
- Cistos



- Possui somente um núcleo
- Presença de grande vacúolo de glicogênio
- 10 a 12 µm

# *Iodamoeba butschilii*

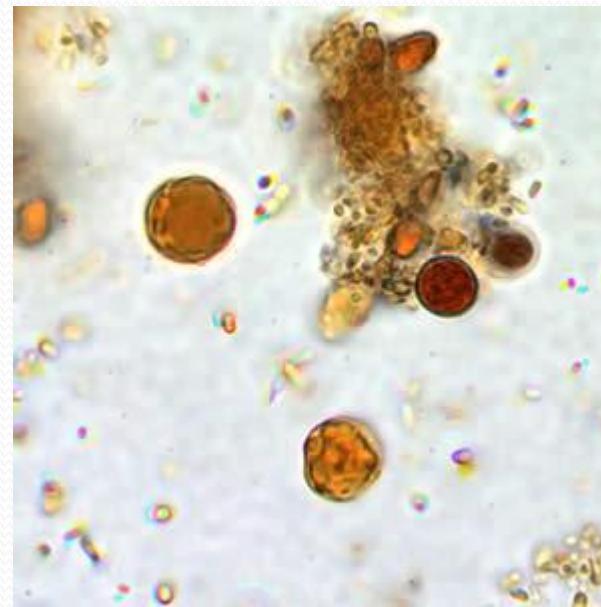
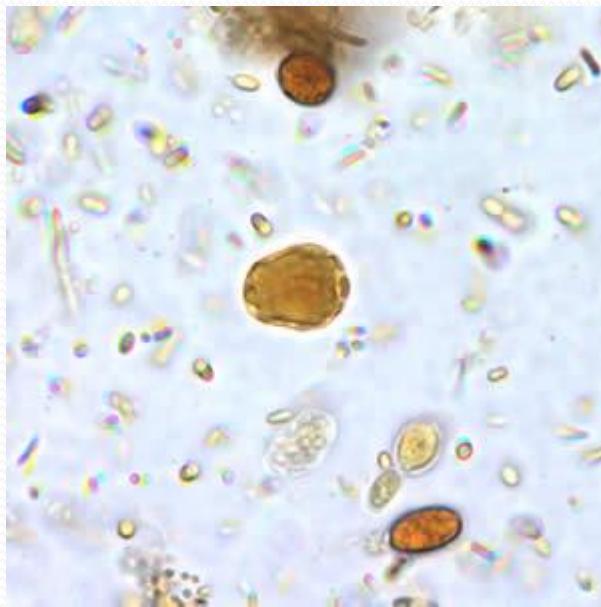
- Trofozoítos



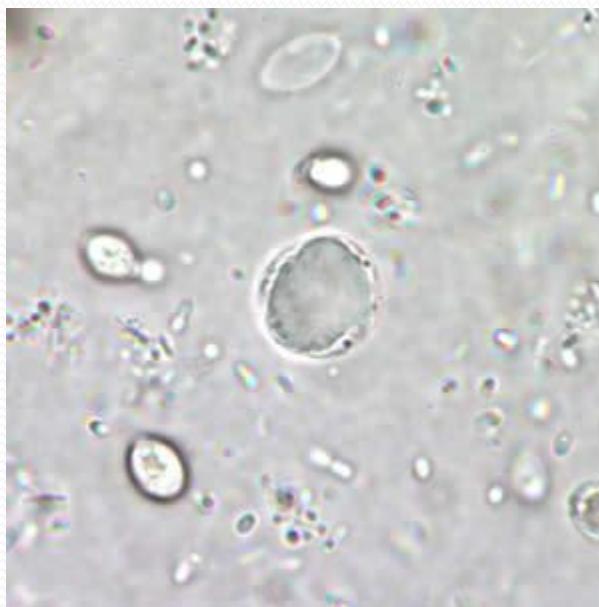
Núcleo com membrana espessa e sem cromatina periférica  
Cariossoma muito grande e central

# *Blastocystis hominis*

- Podem apresentar três formas morfológicas: vacuolar, granular e ameboide.



# *Blastocystis hominis*



9 a 15 µm

<b>Protozoário (cistos)</b>	<b>Tamanho µm</b>	<b>Qtde Núcleos (cistos)</b>	<b>Cariossoma</b>	<b>Cromatina periférica</b>	<b>Corpos cromatoides</b>
<i>E.coli</i>	10 a 35	1 a 8	excêntrico	irregular	finos
<i>E. histolytica/</i> <i>dispar</i>	10 a 20	1 a 4	central	regular	bastonete
<i>E. hartmanni</i>	5 a 12	1 a 4	central	regular e fina	extremidade quadrada
<i>E.nana</i>	5 a 7	1 a 4	grande e irregular	ausente	ausente
<i>I.butschilii</i>	10 a 12	1	grande e central	ausente	

# Formas de diagnóstico

- Identificação de trofozoítos e cistos
- Análise macroscópica do aspecto e consistência das fezes
- Verificação da presença de muco ou sangue

# Formas de diagnóstico

- Fezes líquidas
  - Coletadas e analisadas em até 30 minutos
  - Encontro de formas trofozoíticas
  - Encontro de hemácias no campo microscópico devido as ulcerações no caso de *E.histolytica*
- Fezes formadas:
  - Amostras coletadas depois de 24 horas: utilização de conservantes: MIF, SAF, PVA e formol 10%
  - Encontro de cistos

# Formas de diagnóstico

- Técnicas para pesquisa de trofozoítos:
  - Método direto à fresco
  - Hematoxilina férrica
- Fezes formadas:
  - Utilização de métodos de concentração
    - Centrífugo-flutuação: Método de Faust
    - Flutuação espontânea: Método de Willis

# Formas de diagnóstico imunológico para *E.histolytica/E.dispar*

- Imunológico:
  - ELISA
  - Hemaglutinação indireta
  - Imunoflorescencia indireta
  - Teste de dupla difusão ou de Ouchterlony realizado em ágar com diferentes抗原os

# Método direto à fresco

- 1- Colocar duas a três gotas de salina a 0,85% em uma lâmina de vidro.
- 2- Tocar com a ponta de um palito em vários pontos das fezes, transferindo uma pequena porção para a lâmina de microscopia.
- 3- Espalhar as fezes, fazendo um esfregaço e examinar ao microscópio. A espessura do esfregaço não deve impedir a passagem de luz.
- 4- Cora-se a preparação com Lugol. O uso de lamínula é facultativo.
- 5 – Realização de cinco lâminas para análise de cada amostra.

# Hematoxilina férrica

- É uma preparação de esfregaço permanente corado
- Conservação das características morfológicas
- Reagentes:
  - Líquido de Schaudinn (fixador)
  - Alúmen de ferro a 2,5%
  - Hematoxilina a 0,5%
  - Álcool-salicilato

# Hematoxilina férrica

- Filtrar as fezes, conservadas em Schaudinn ou SAF, em gaze dobrada quatro vezes.
- Transferir cerca de 2 ml para um tubo e centrifugar por um minuto a 1.500 rpm.
- Desprezar o sobrenadante, acrescentar solução salina a 0,85%, homogeneizar e centrifugar novamente.
- Repetir a operação até obter um sobrenadante límpido
- Desprezar o sobrenadante e acrescentar, ao sedimento, duas gotas de **soro humano inativado**.

# Hematoxilina férrica

- Misturar bem e fazer esfregaços finos sobre lamínulas. A lamínula deve ser presa a um suporte de borracha pequeno (pode ser utilizada a borracha que serve de rolha em vidro de penicilina) por meio de um entalhe, para facilitar o manuseio e a identificação do material. Desta forma, é possível a coloração de várias amostras ao mesmo tempo.

# Hematoxilina férrica

- Sem deixar secar o esfregaço, colocar a lamínula com o esfregaço voltado para baixo, em uma placa de Petri contendo o fixador de Schaudinn com 5% de ácido acético por 10 minutos.
- Passar a lamínula com o esfregaço voltado para cima para as placas de Petri subseqüentes, contendo os seguintes reagentes:

# Hematoxilina férrica

- a) álcool 70% (para retirar o excesso de fixador) -2 minutos
- b) álcool 70% iodado, isto é, contendo algumas gotas de tintura de iodo até atingir a cor de vinho do porto (para reagir com o mercúrio) - 5 minutos
- c) álcool 70% (para precipitar o mercúrio) -2 minutos
- d) lavar em água destilada (para retirar o excesso de mercúrio) 1 minuto

# Hematoxilina férrica

- e) alúmen de ferro 2,5% (mordente que fixa o corante)  
10 minutos
- f) lavar em água destilada (para retirar o excesso de ferro) 1 minuto
- g) hematoxilina 0,5% (corante) 5 minutos
- h) lavar em água destilada para retirar o excesso do corante- 5 minutos
- i) alúmen de ferro 2,5% (diferenciador). Obs: O esfregaço deve permanecer nessa solução até atingir uma coloração lilás clara azulada.

# Hematoxilina férrica

- j) lavar em água destilada 1 minuto
- k) álcool 70% (desidratar) 2 minutos
- l) álcool 80% (desidratar) 2 minutos
- m) álcool 95% (desidratar) 2 minutos
- n) álcool absoluto (desidratar) 2 minutos
- o) álcool-salicilato (para preparar o material para diafanizar) 2 minutos
- p) salicilato de metila 2 minutos

# Hematoxilina férrica

- Montar em lâmina de vidro com bálsamo-do-canadá ou em resina sintética com o esfregaço voltado para baixo.
- Deixar secar e examinar com objetiva de imersão.

# Método de Faust

- 1- Diluir 1og de fezes em 20 ml de água
- 2- Homogeneizar bem.
- 3- Filtrar em gaze dobrada em quatro, num copo plástico, e transferir para um tubo de Wasserman.
- 4- Centrifugar por um minuto a 2.500 rpm.
- 5- Desprezar o líquido sobrenadante e ressuspender o sedimento em água
- 6- Repetir as operações 4 e 5 até que o sobrenadante fique claro.

# Método de Faust

- 7- Desprezar o sobrenadante claro e ressuspender o sedimento com uma solução de sulfato de zinco a 33%, densidade de 1,18 g/ml.
- 8- Centrifugar novamente por um minuto a 2.500 rpm.
- 9- Os cistos e os ovos leves presentes estarão na película superficial; a mesma é recolhida com alça de platina, colocada numa lâmina junto com uma gota de Lugol e coberta com lamínula.
- O material deve ser examinado imediatamente. O sulfato de zinco pode deformar os cistos e os ovos.

# Método de Willis

- 1- Colocar 1og de fezes num frasco de Borrel ou no próprio recipiente onde estão as fezes
- 2- Homogeneiza-las com um pouco de solução saturada de sal (NaCl) ou de açúcar
- 3- Completar o volume até a borda do frasco.
- 4- Colocar na boca do frasco uma lâmina, que deverá estar em contato com o líquido.
- 5- Deixar em repouso por 5 minutos.

# Referência bibliográfica

- DE CARLI, Geraldo Attílio. Parasitologia Clínica.2.Ed.São Paulo: Ed. Atheneu, 2207. 906p
- NEVES, David Pereira. Parasitologia humana. 11.Ed.São Paulo: Editora Atheneu, 2005. 494p.
- REY, Luis. Bases da Parasitologia Médica. 3.Ed.Rio de Janeiro: Guanabara Koogan.2010.391p.
- [www.dpd.cdc.gov](http://www.dpd.cdc.gov)