

Protozoários: Entamoebas

Giardia duodenalis

Chilomastix mesnili

Enteromonas hominis

Entamoeba histolytica/dispar

Entamoeba coli

E.hartmanni

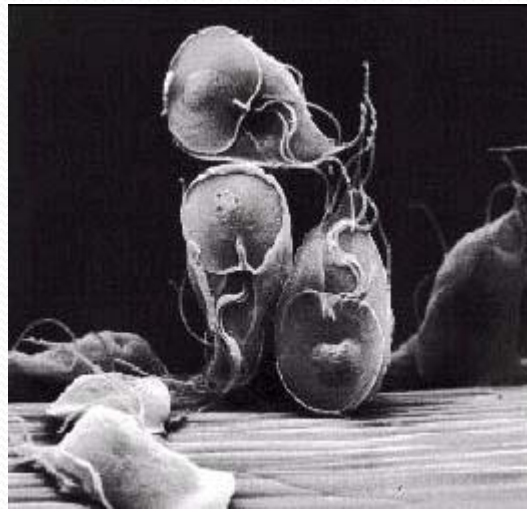
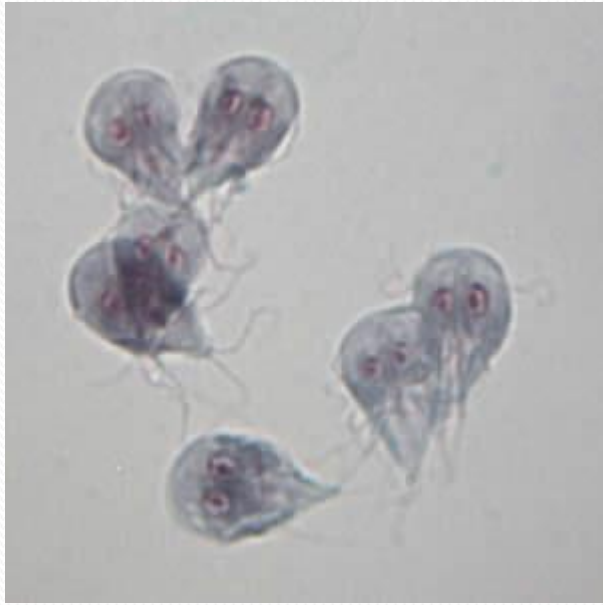
Endolimax nana

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.
- Hospedeiros: homem e mamíferos em geral, aves e répteis.
- Divisão por fissão binária longitudinal.





Disco
suctorial

2 núcleos

2 axonemas

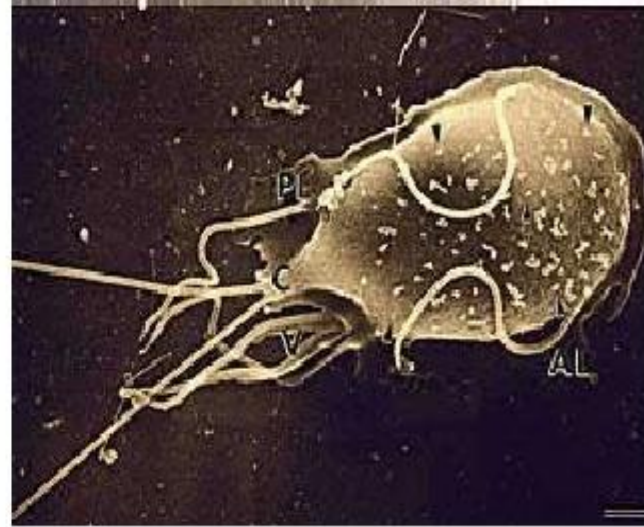
2 Corpos
Parabasais
ou
medianos

8
Blefaroplastos
ou corpos
basais

4 pares de
flagelos

Trofozoíto

20 μm x 10 μm



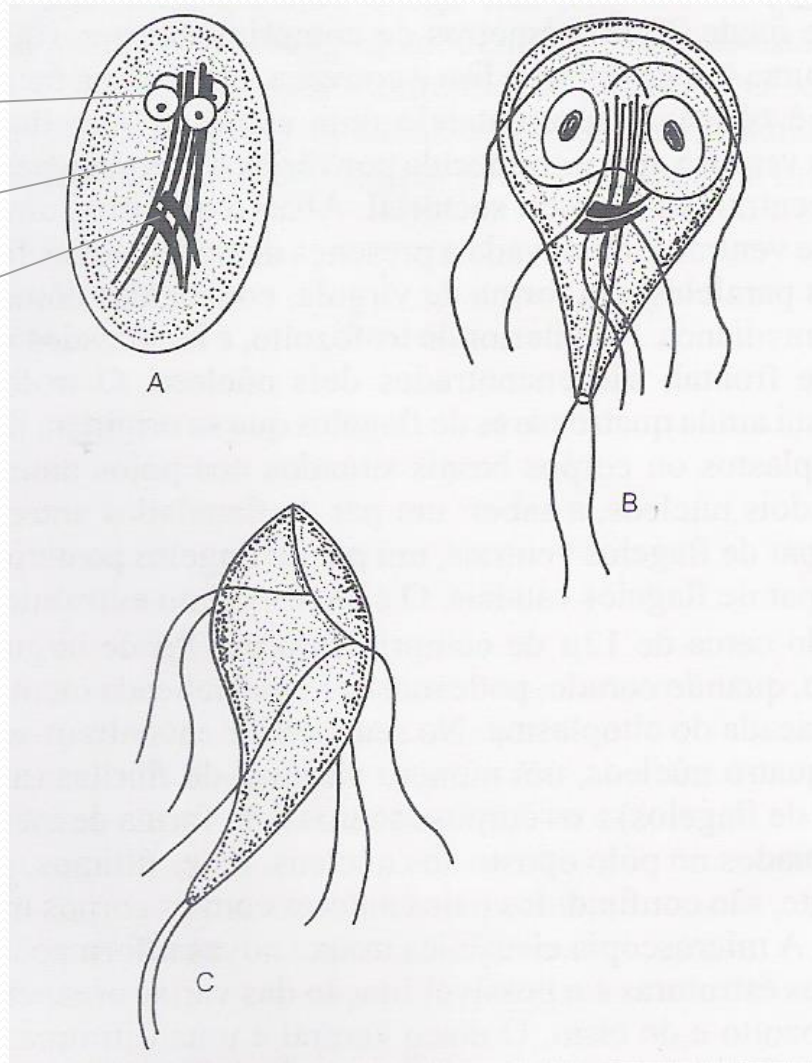
Citoplasma com presença de retículo endoplasmático, Aparelho de Golgi, ribossomos e glicogênio. Ausência de mitocôndria

Cisto

2 a 4 núcleos

axonemas de flagelos

corpos parabasais ou
Primórdios do disco suctorial?



Trofozoíto



Cisto



12 μm x 8 μm

Ciclo biológico

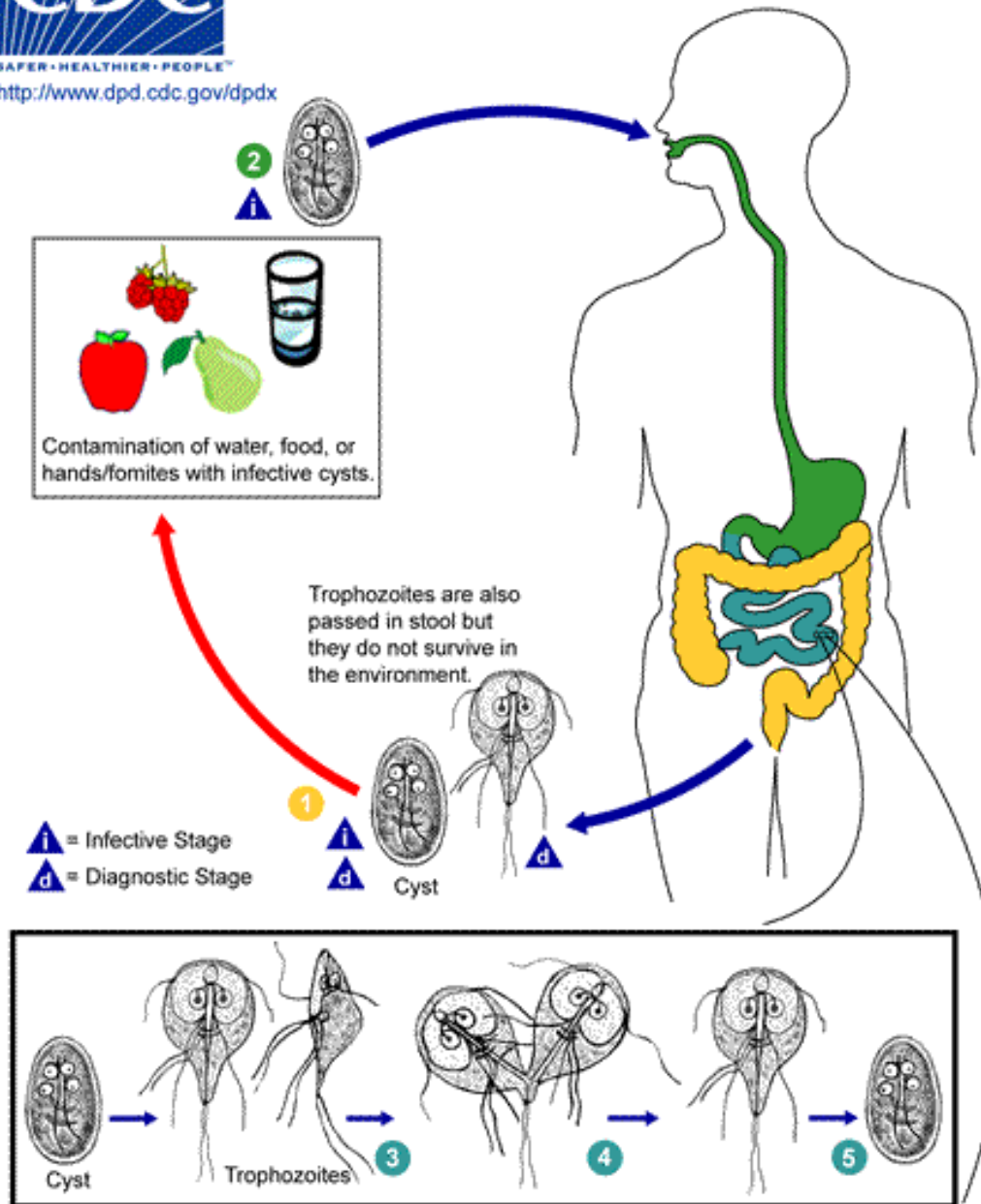
- Ingestão do cisto.
- Desencistamento no estômago pela ação do pH ácido (pH 2).
- Liberação de dois trofozoítos no duodeno e jejuno.
- Aderência à superfície da mucosa através do disco suctorial.
- Formação de revestimento extenso na superfície da mucosa. Nutrição do parasito realizada por pinocitose.
- 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>



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 achatada (anterior)
 - Núcleo localizado na extremidade mais larga
 - Movimentos rotatórios desajeitados
 - Cariossomo pequeno e excêntrico

Chilomastix mesnili

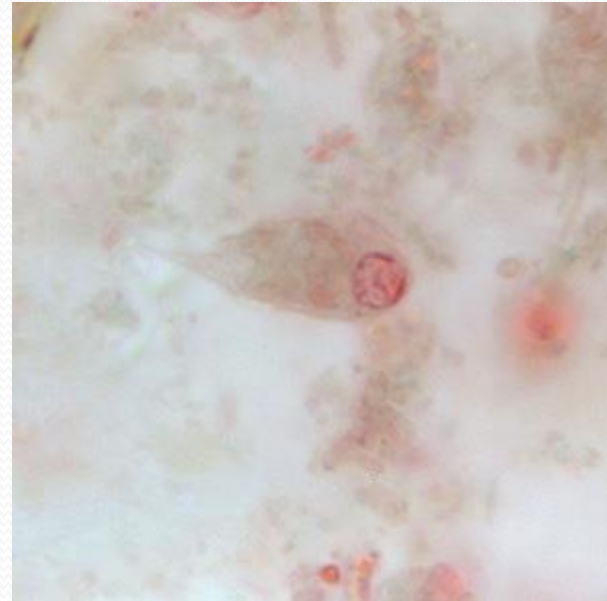
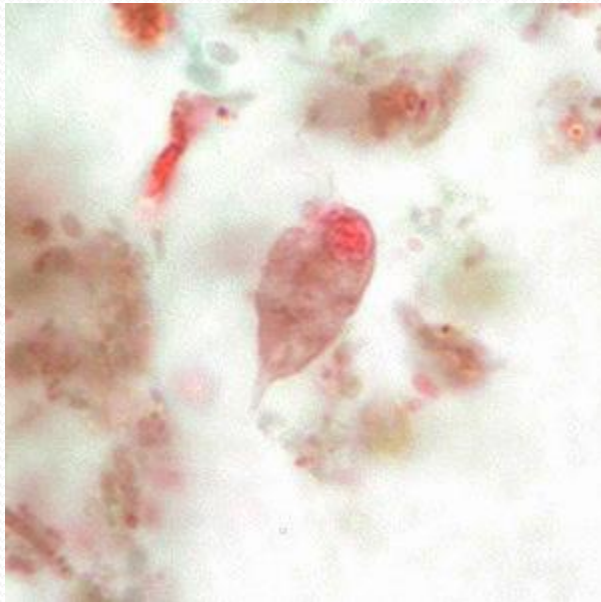
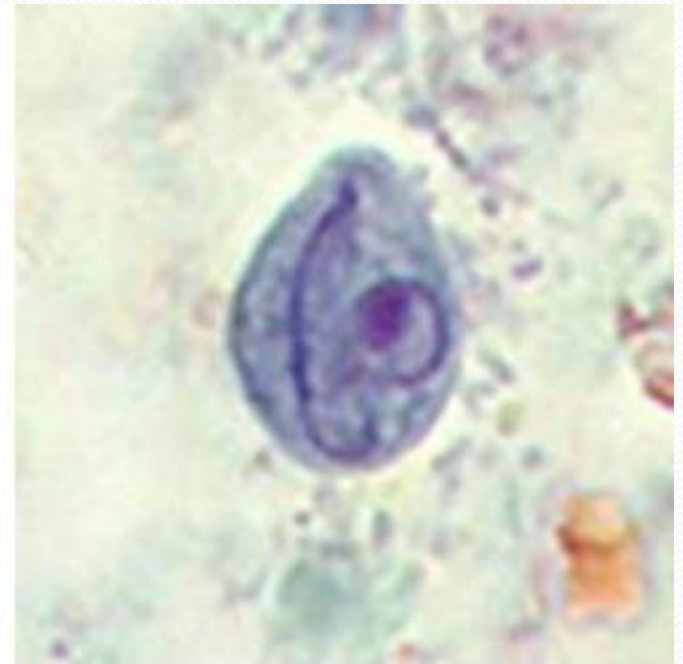
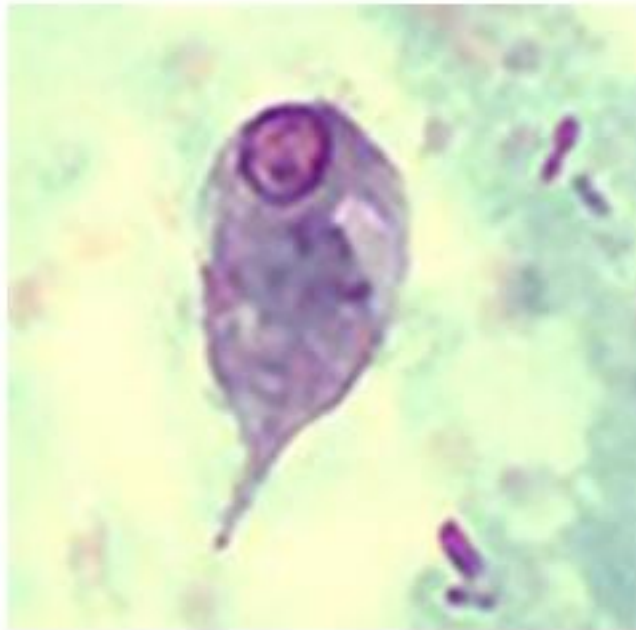


Ilustração disponível em http://www.dpd.cdc.gov/dpdx/HTML/ImageLibrary/Chilomastix_il.htm

Chilomastix mesnili

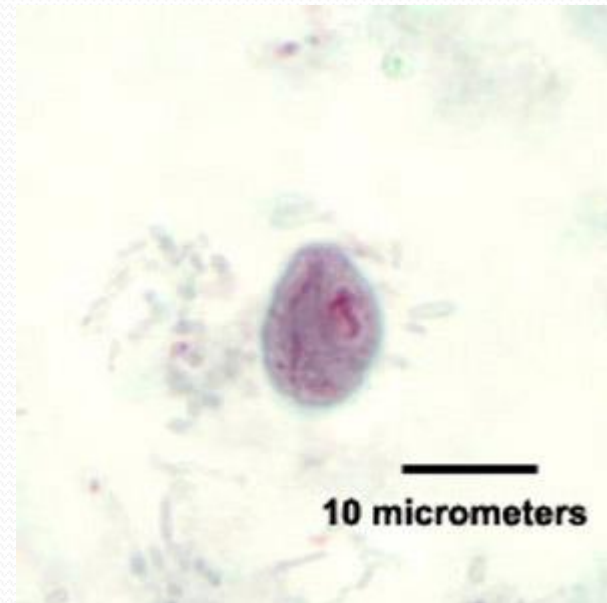
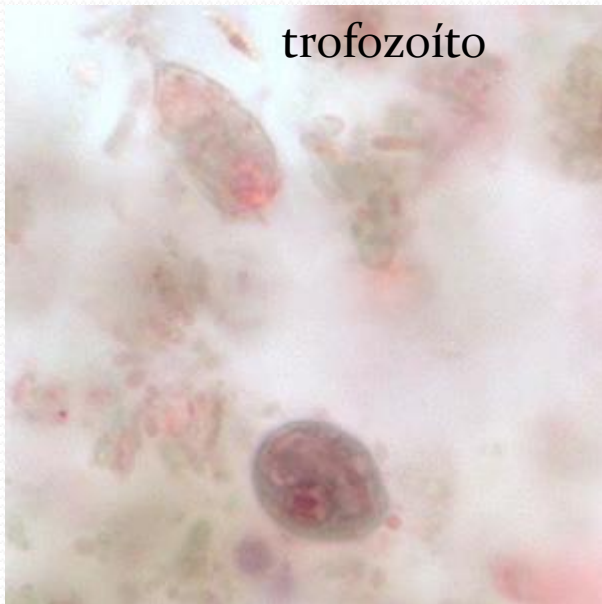
- Cistos
 - Formato de “limão”
 - Cromatina periférica pode estar condensada em um dos lados do núcleo

Chilomastix mesnili



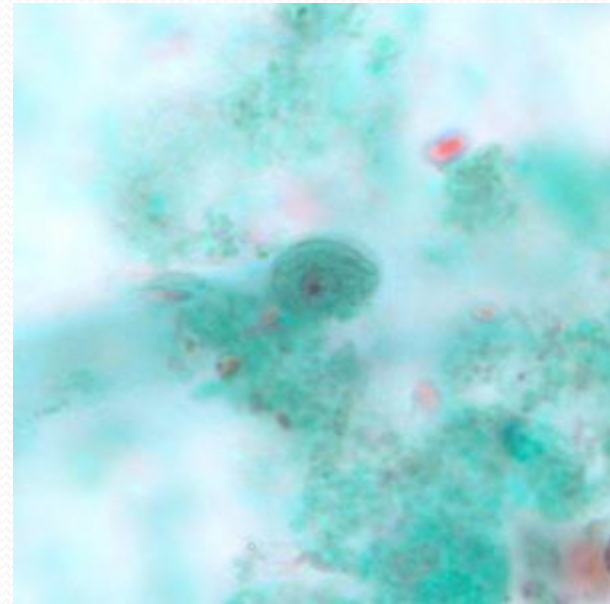
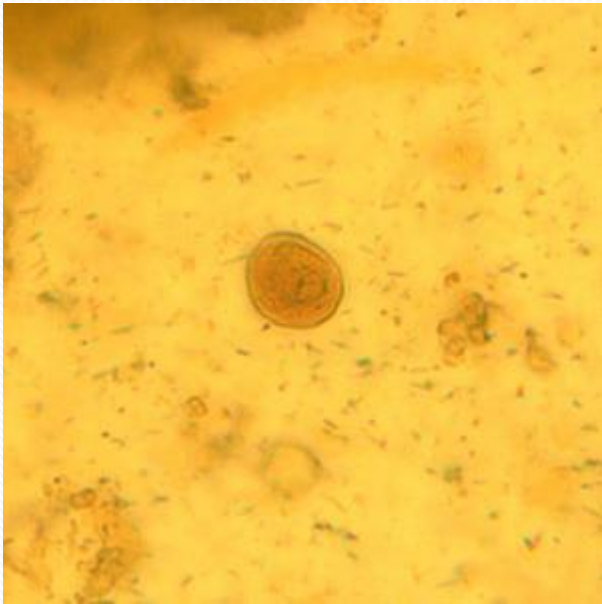
Disponível em : <http://www.med-chem.com/para-site.php?url=quizzes&quiz=66>

Chilomastix mesnili

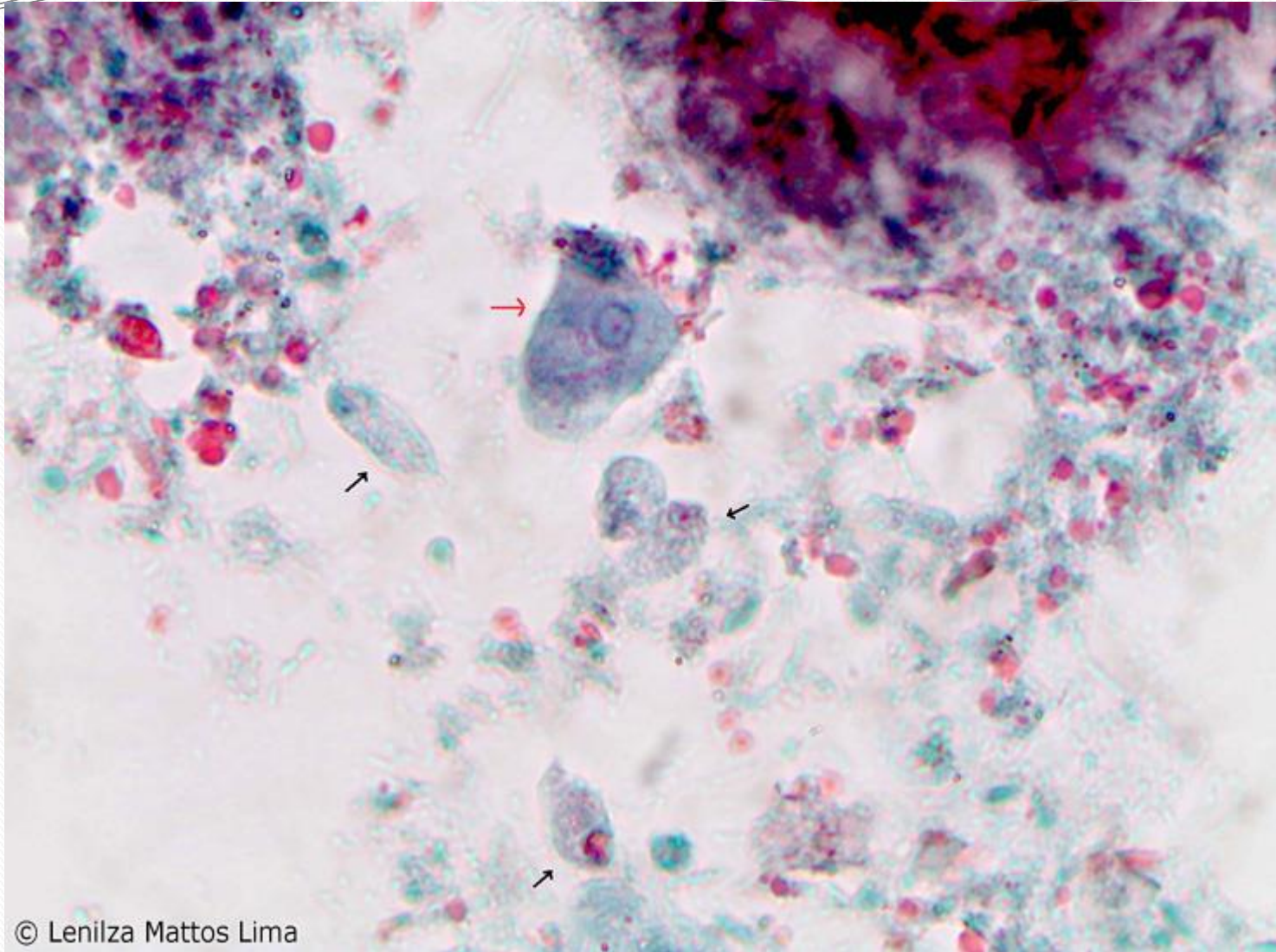


cisto

Chilomastix mesnili



cistos



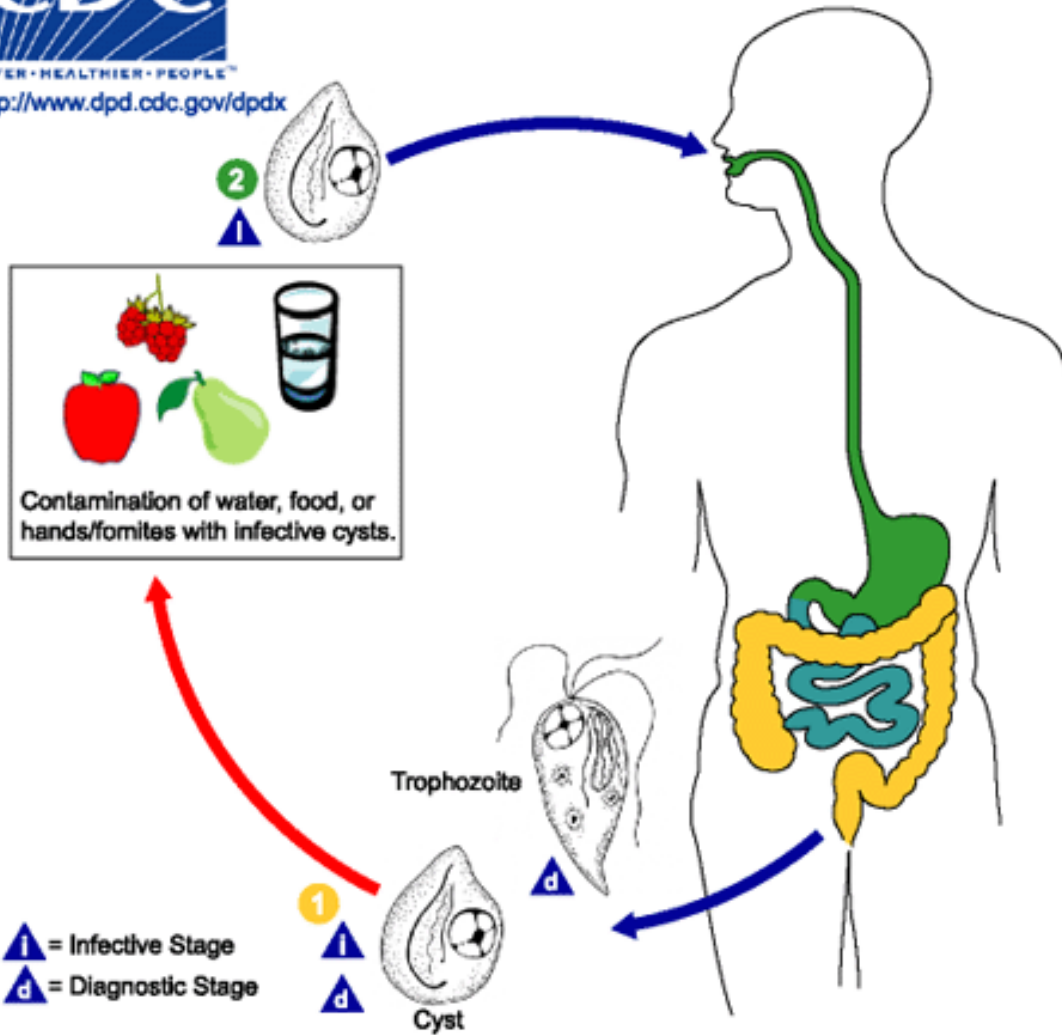
© Lenilza Mattos Lima

Trofozoítos de *C. mesnili* (seta preta) e trofozoítos de *E. histolytica/E. dispar* (seta vermelha): coloração pelo tricrômico. Objetiva com aumento de 100x



SAFER • HEALTHIER • PEOPLE™

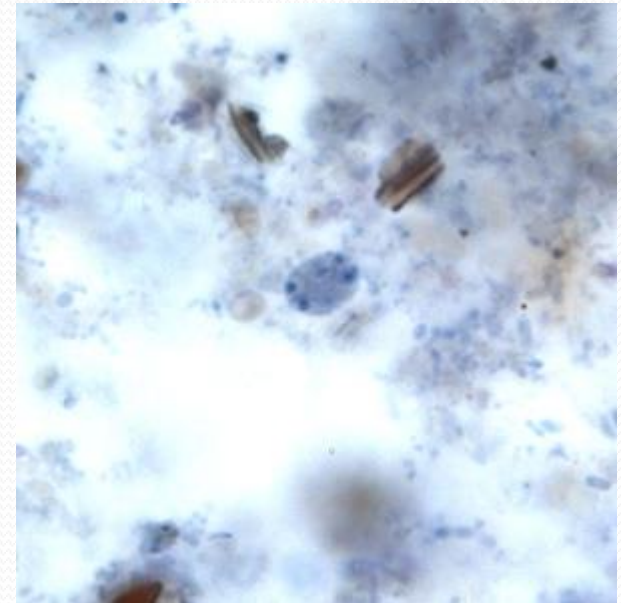
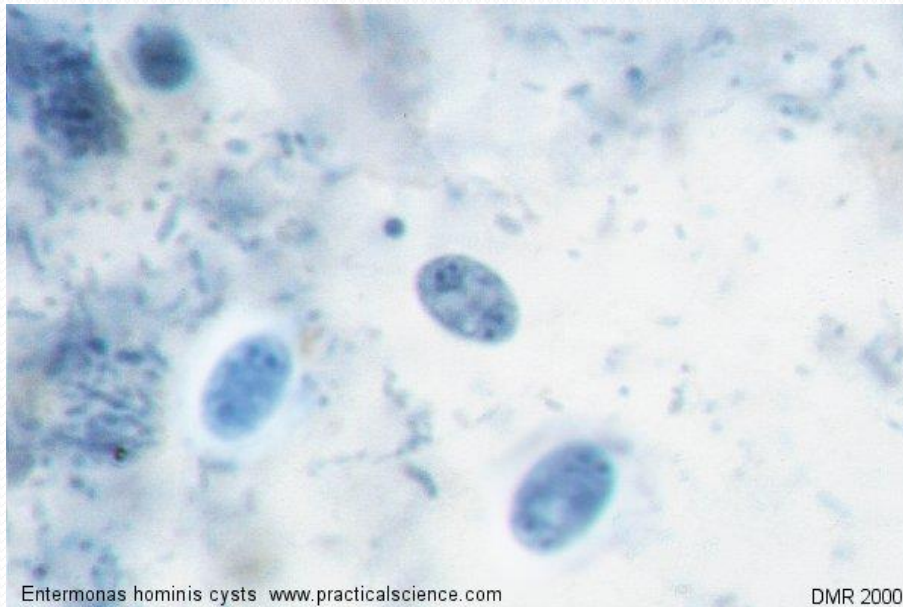
<http://www.dpd.cdc.gov/dpdx>



Enteromonas hominis

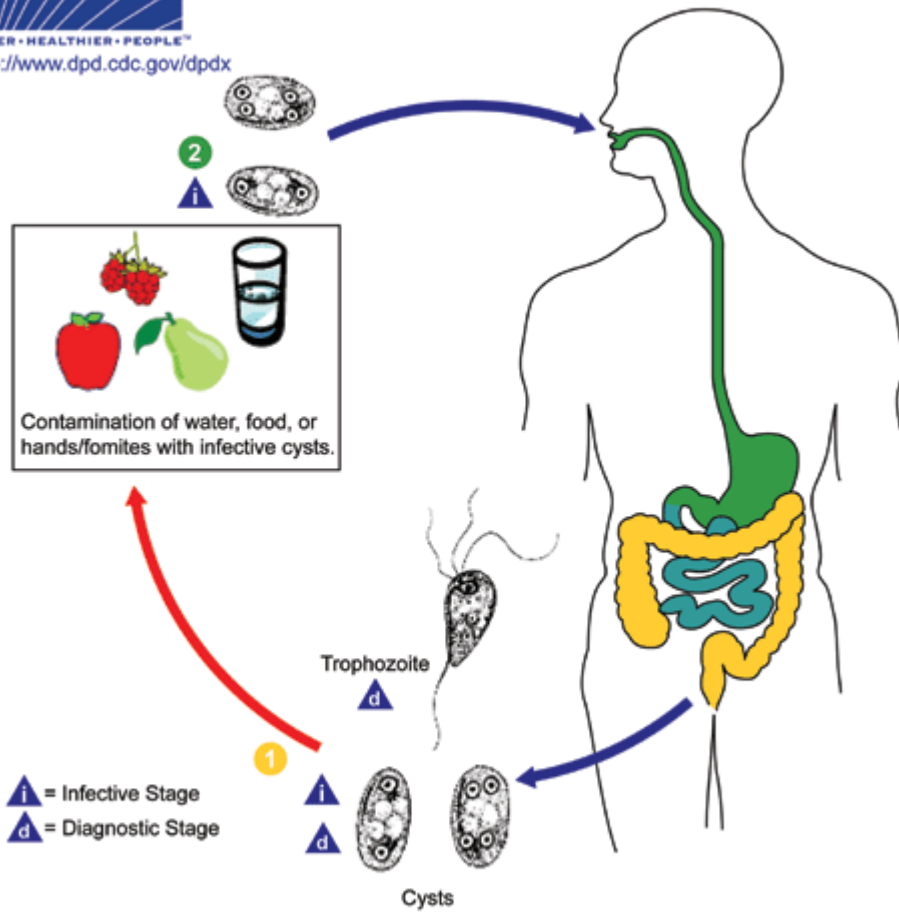
- Flagelado não patogênico
- Comensal do intestino grosso
- **Cistos** apresentam **quatro núcleos** que ficam distribuídos na **periferia**.
- **Cariossomo central e largo.**
- Forma cística mede aproximadamente 4-8 x 3-5 micrometros.

Enteromonas hominis

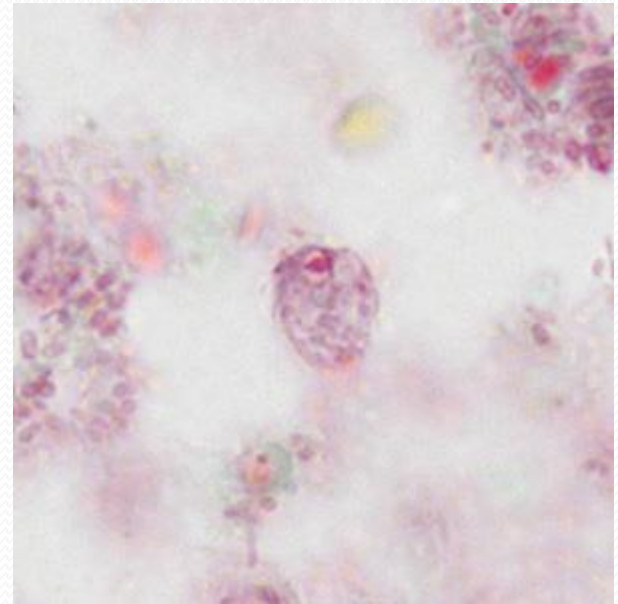




SAFER • HEALTHIER • PEOPLE™
<http://www.dpd.cdc.gov/dpdx>



Enteromonas hominis



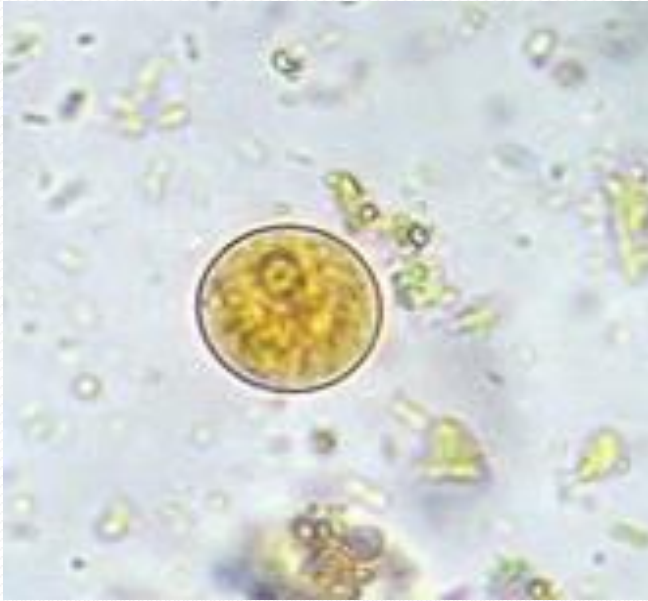
Amebas

- 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
- Reprodução por divisão binária

Cistos



Tamanho variando entre 10 a 20 μm

Núcleo

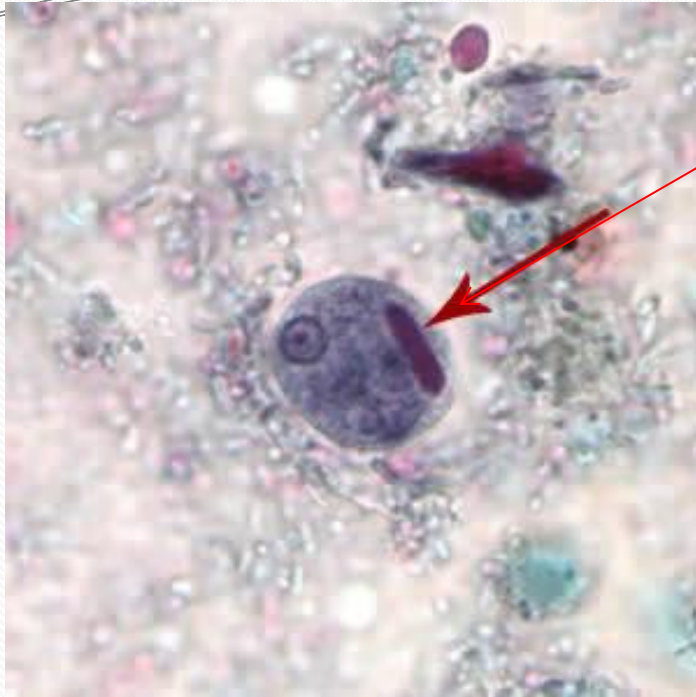
cariossomo central

corpos cromatoides



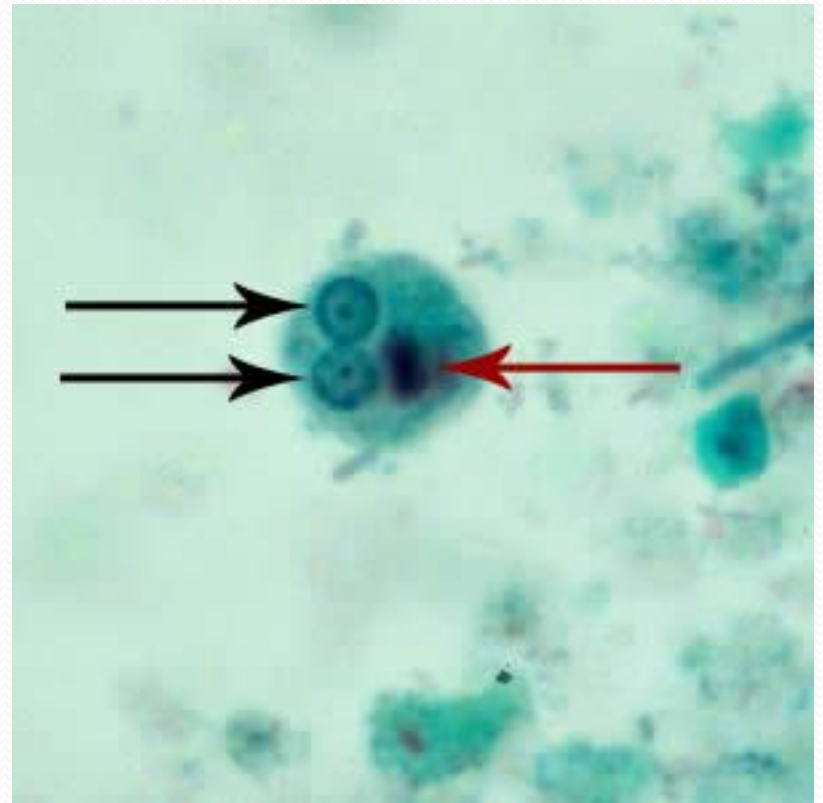
Reserva de glicogênio

Membrana nuclear escura e regular devido ao revestimento de cromatina

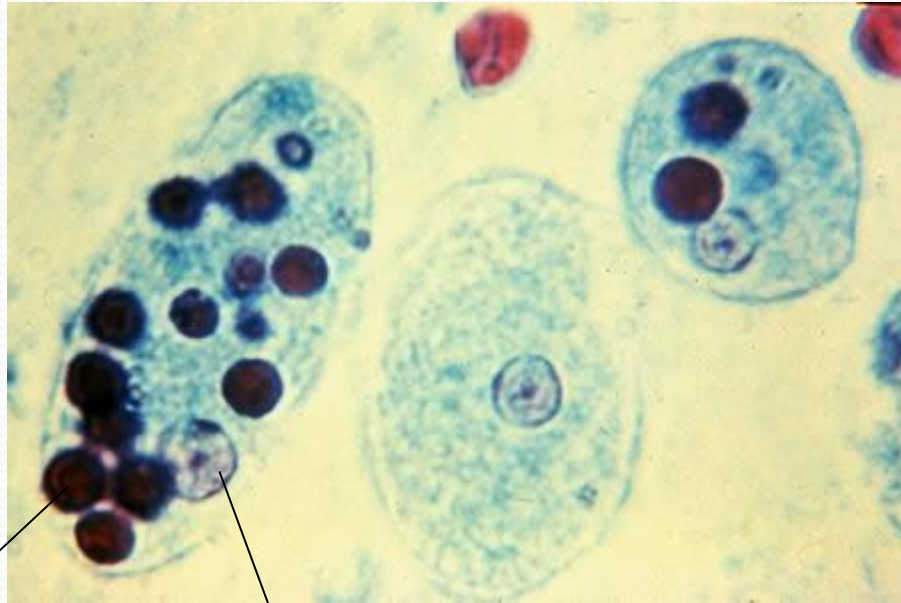


Corpos cromatóides na forma de bastonete

- Método de tricômio



Trofozoíto

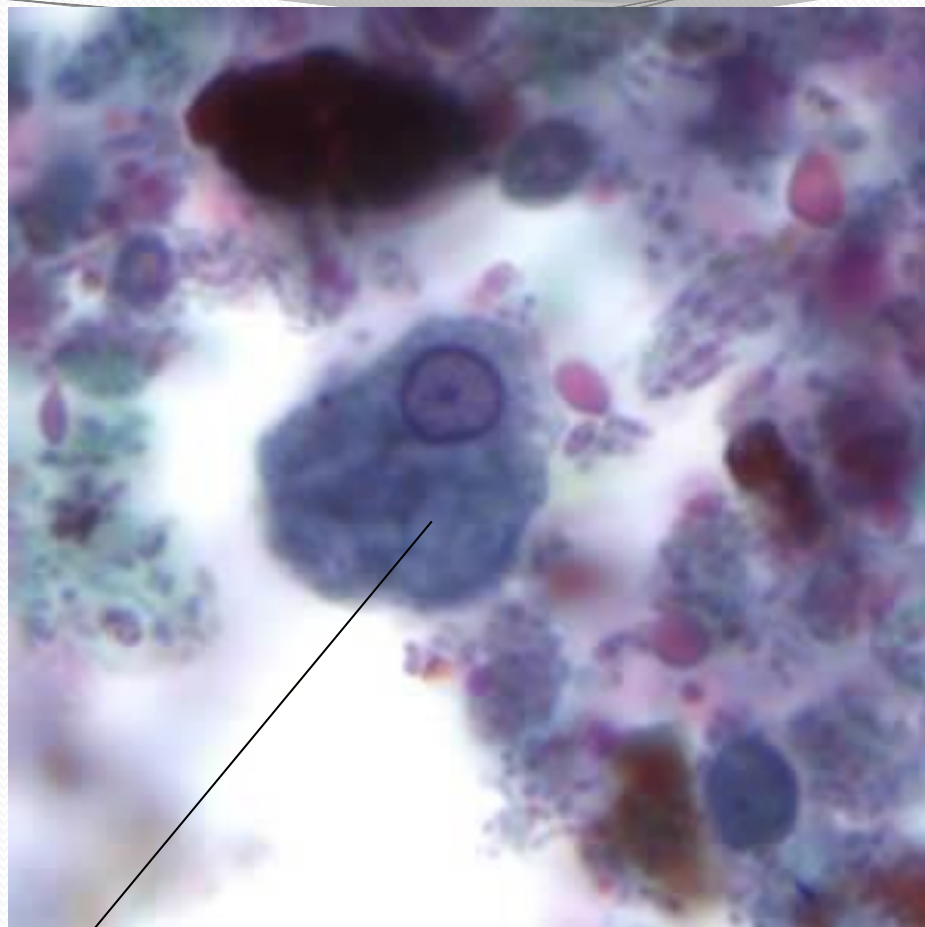


20 a 60 μm

Hemácias

Núcleo com cariossoma pequeno e central

Citoplasma diferenciado em ecto e endoplasma



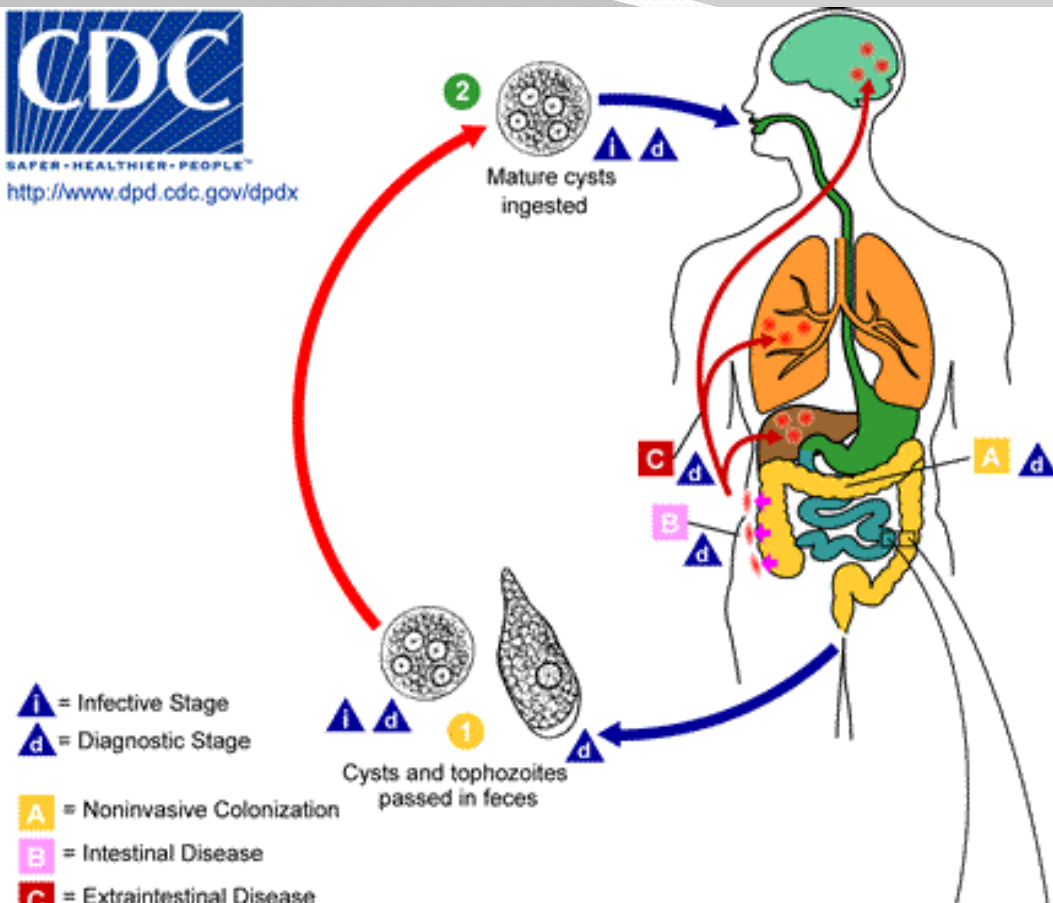
vacúolos



Trofozoitos ativos e rápidos

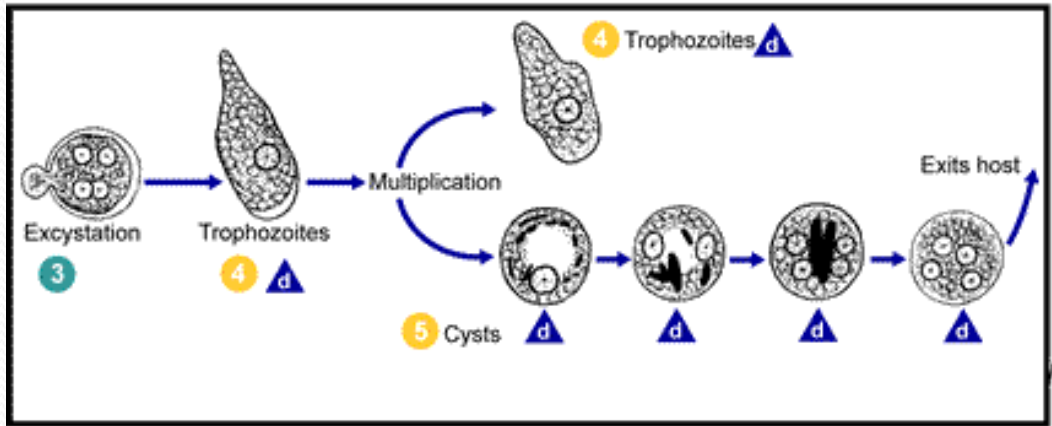


SAFER • HEALTHIER • PEOPLE™
<http://www.dpd.cdc.gov/dpdx>



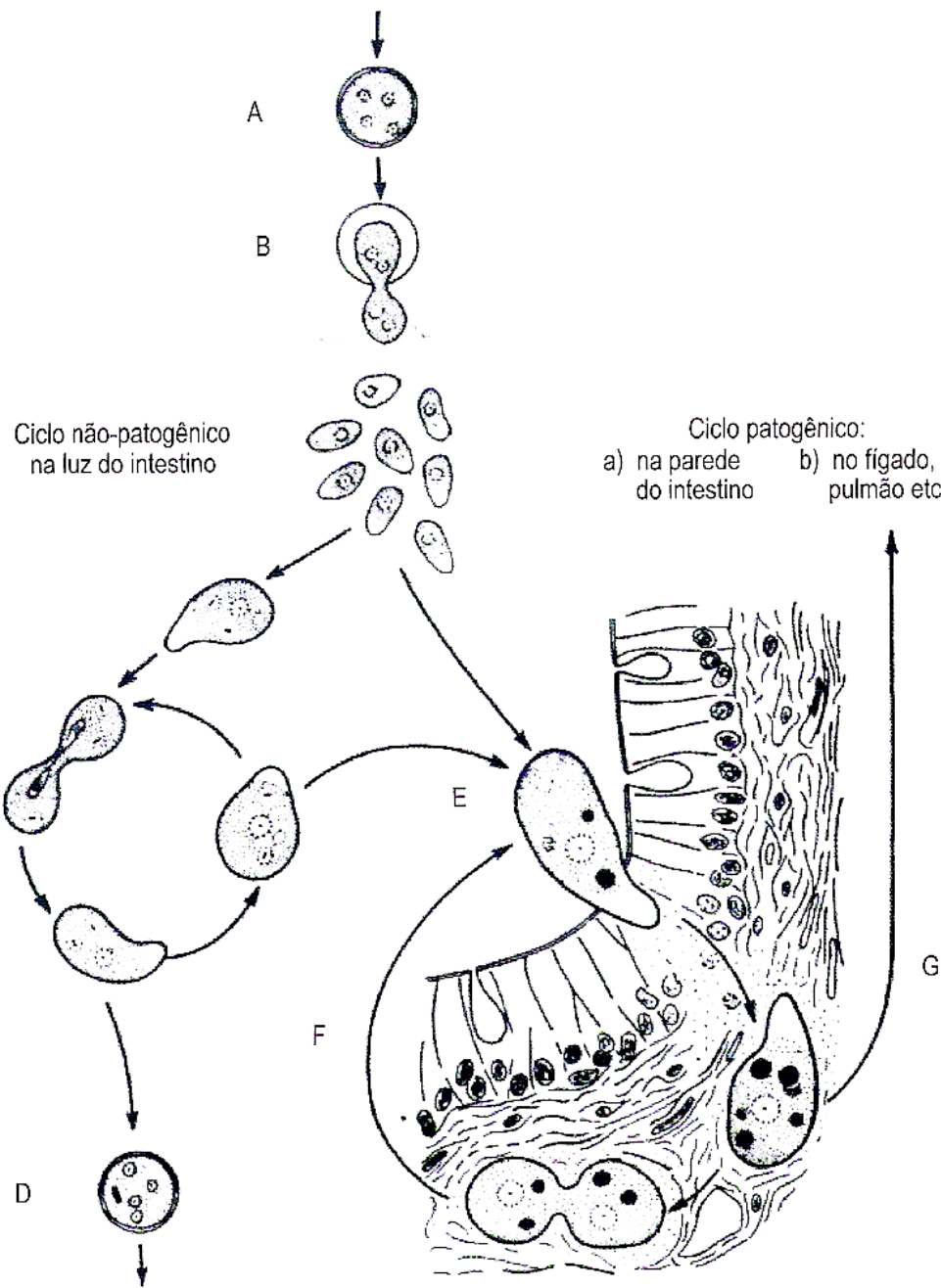
i = Infective Stage
d = Diagnostic Stage

A = Noninvasive Colonization
B = Intestinal Disease
C = Extraintestinal Disease



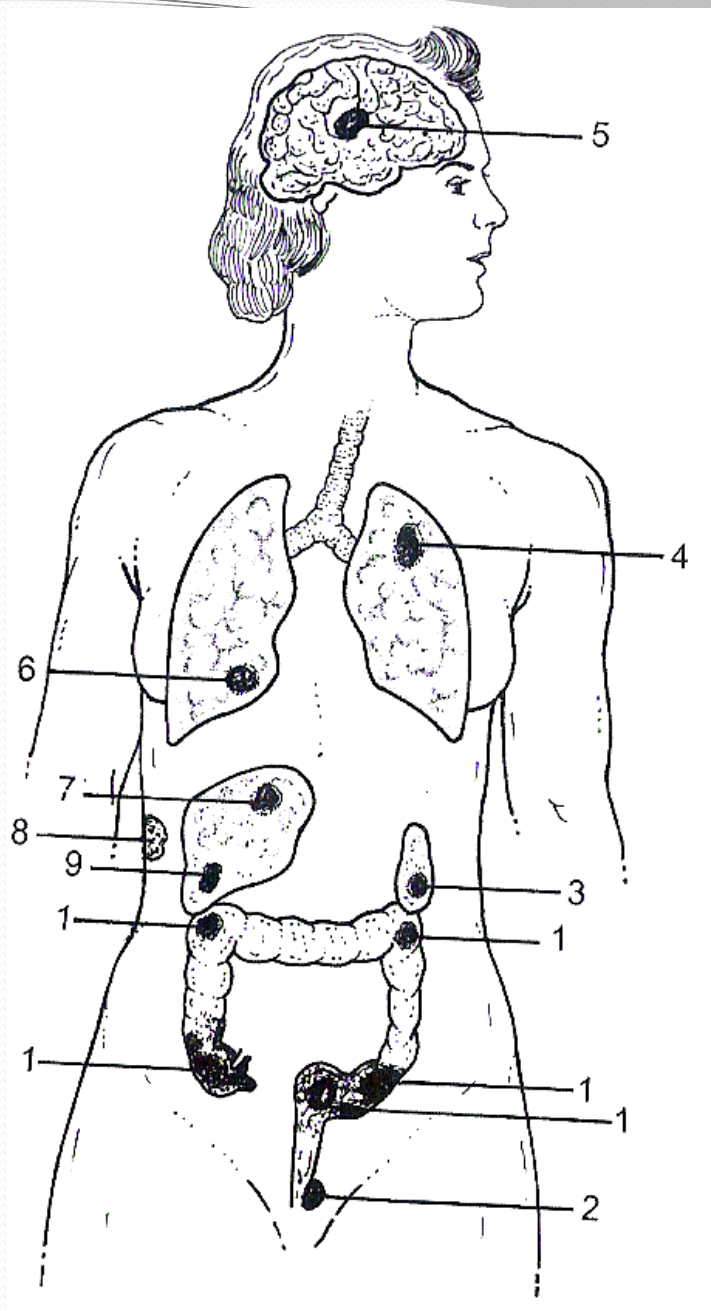
Ciclo não-patogênico
na luz do intestino

Ciclo patogênico:
a) na parede
do intestino b) no fígado,
pulmão etc.

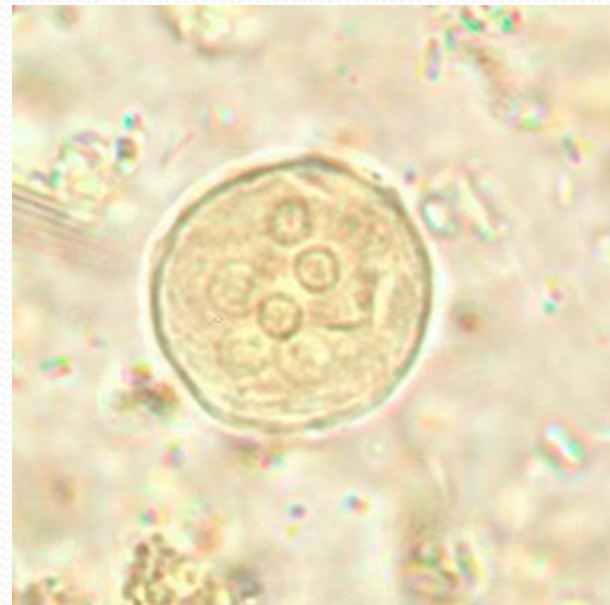


Patogenia da forma magna

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



Entamoeba coli



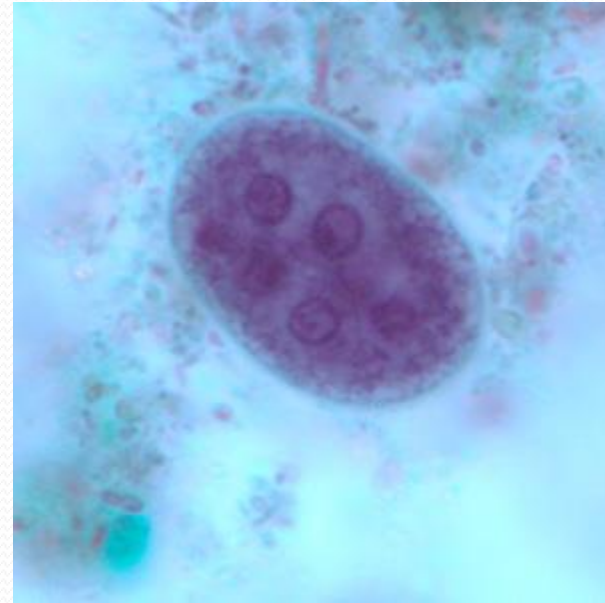
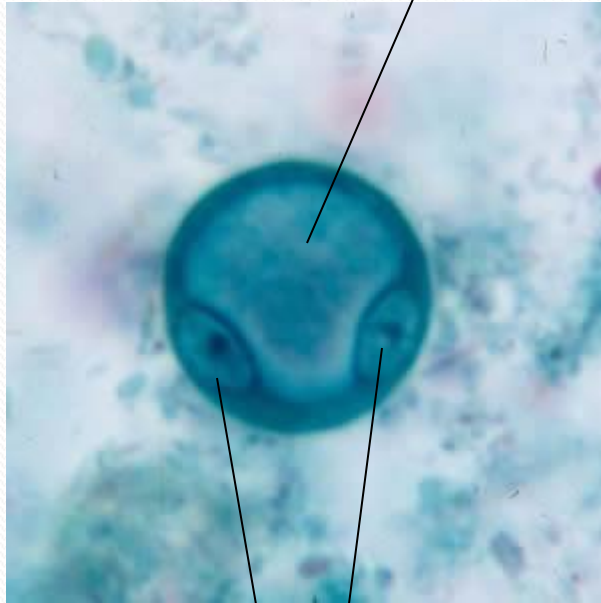
Cistos esféricos medindo entre 10 e 35 μm

Cariossoma excêntrico

Membrana nuclear grosseira com grânulos cromáticos irregulares

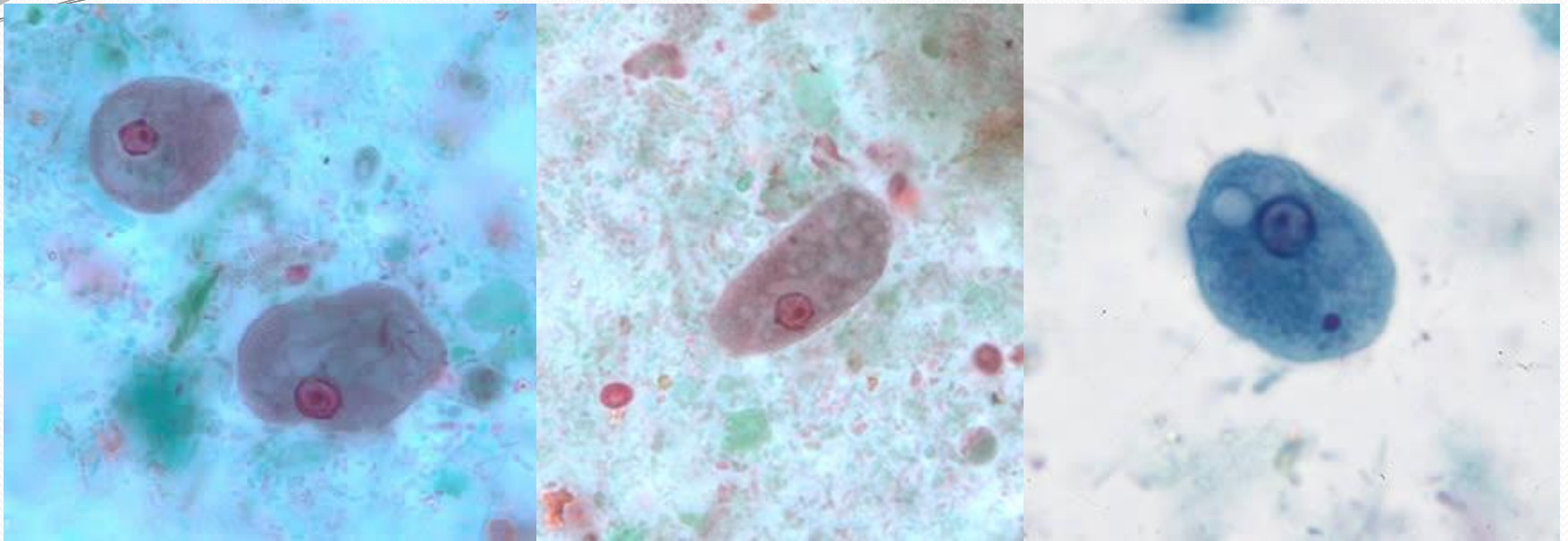
Corpos cromatóides finos – não visualizados em cistos maduros

Vacúolo de glicogênio de cisto imaturo



cisto maduro

núcleos



15 a 50 μm

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

E. hartmanni

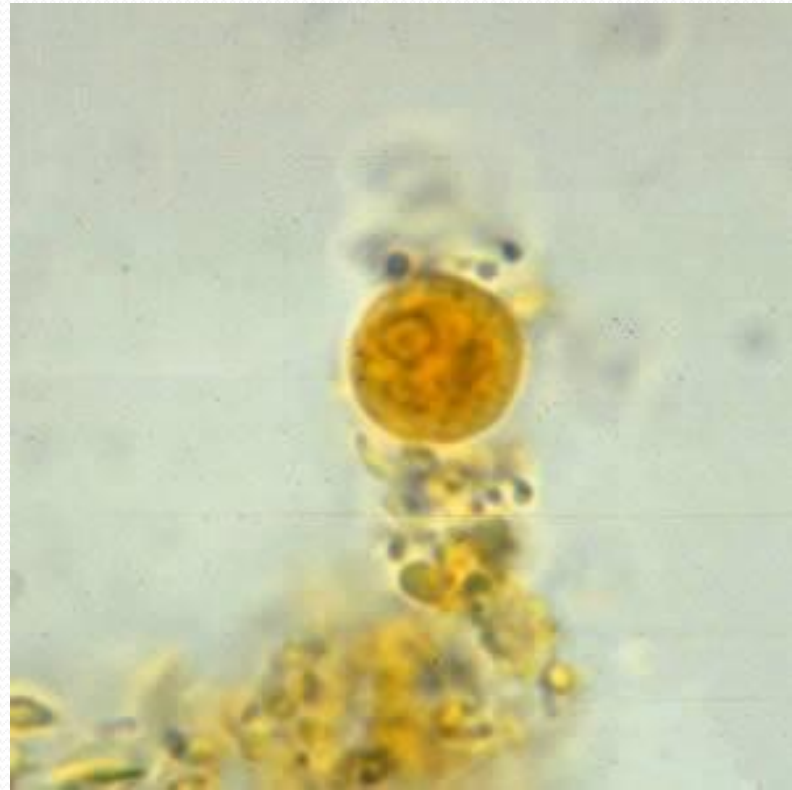
- Não patogênico
- Localizado na luz do Intestino grosso
- Fagocitose de bactérias e fungos
- Morfologicamente confundido com formas pequenas de *E.histolytica*
- Diagnóstico diferencial pela morfologia do núcleo ou tamanho dos cistos

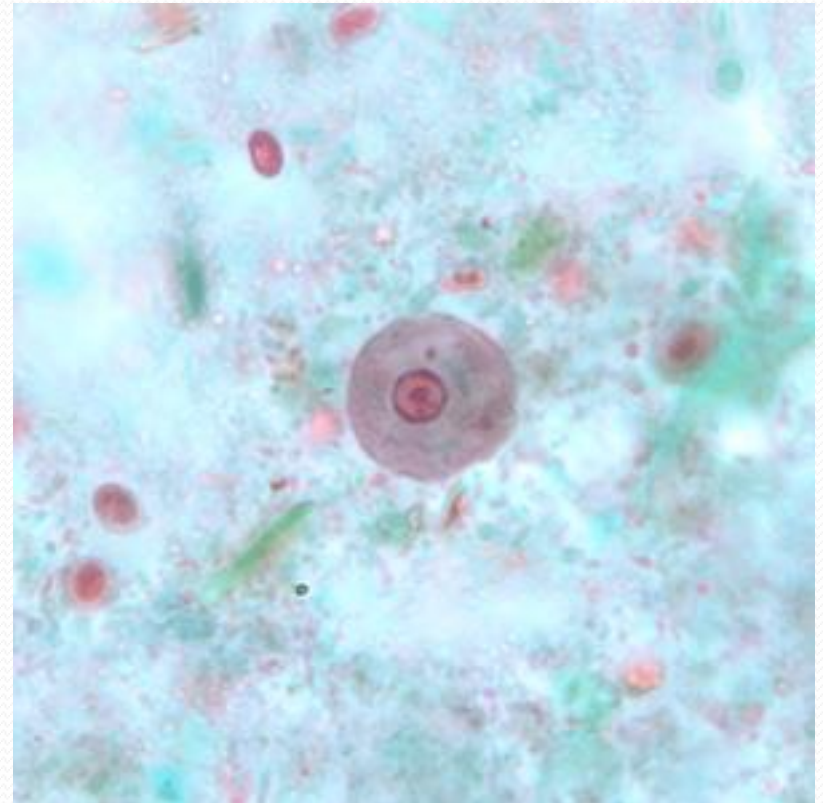
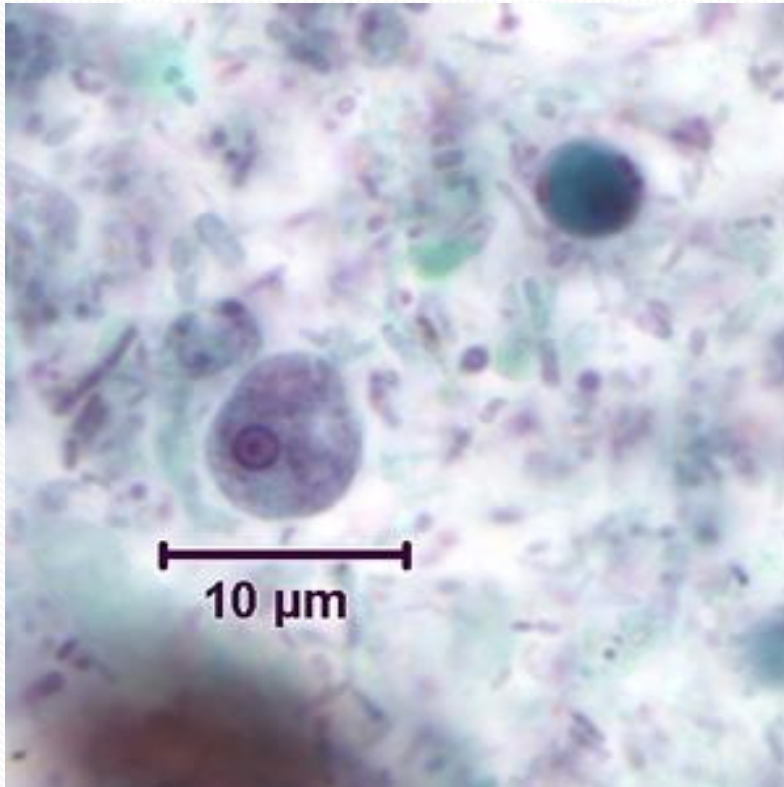
E. hartmanni

- 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 cromatoides com extremidade quadrada.

E. hartmanni

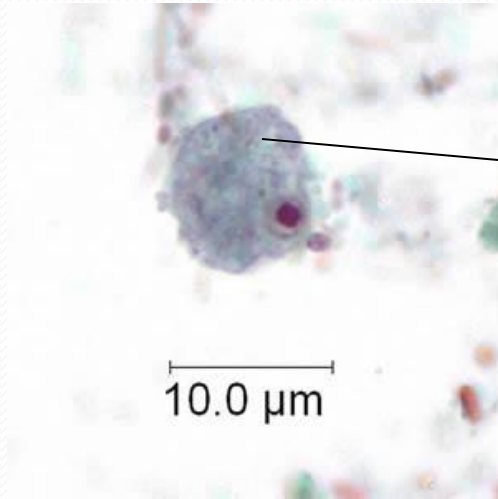
Cisto





Trofozoítos – método tricômio

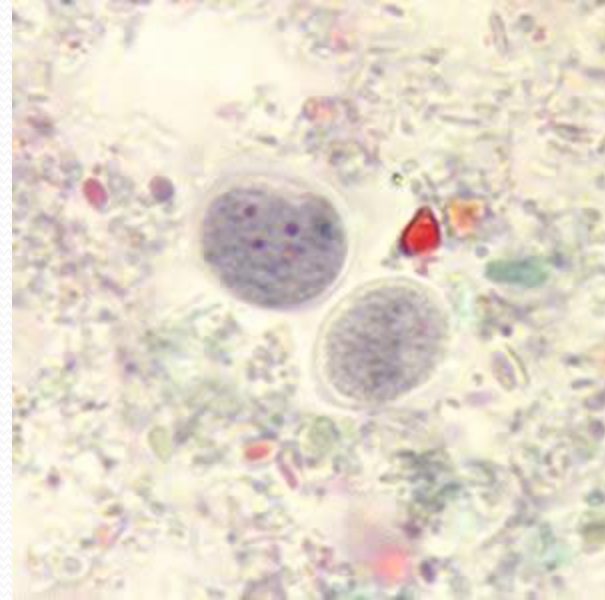
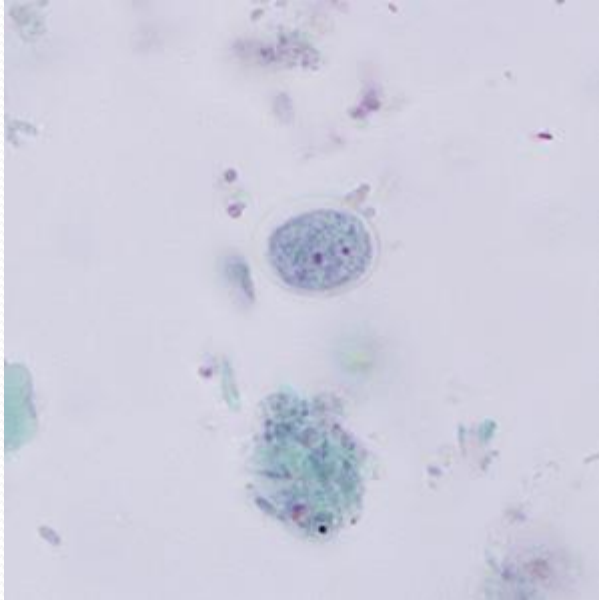
Endolimax nana



trofozoíto

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

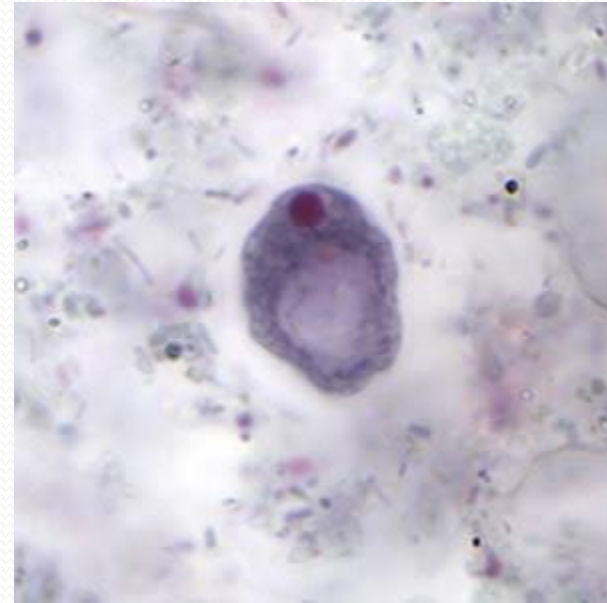
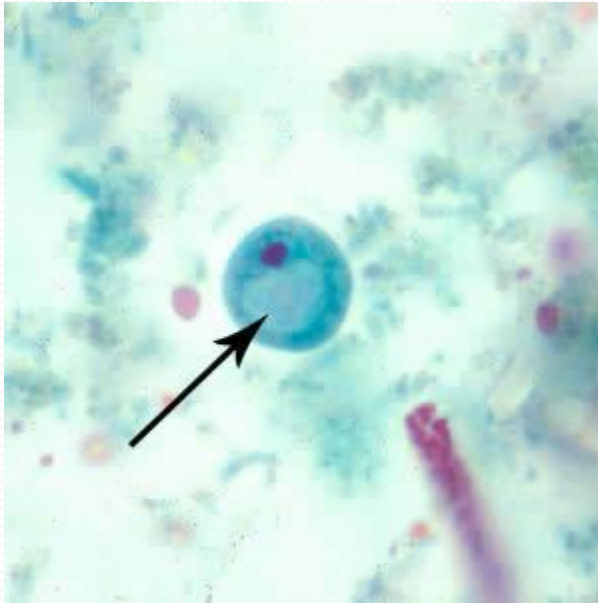
Endolimax nana



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

Iodamoeba butschilii

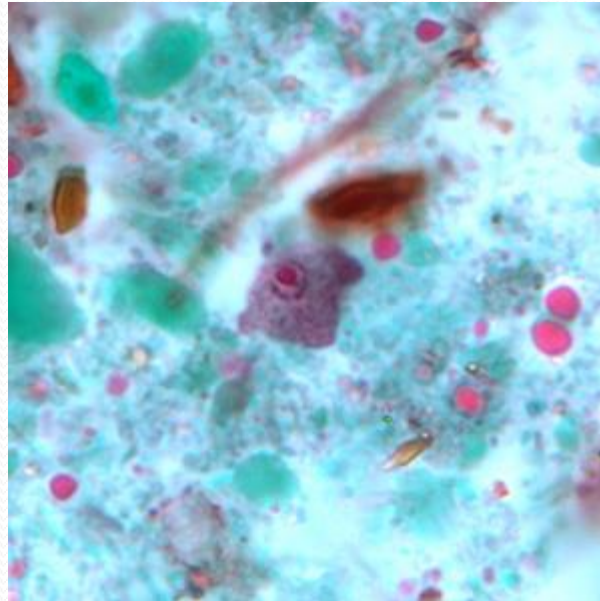
- Cistos



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

Iodamoeba butschilii

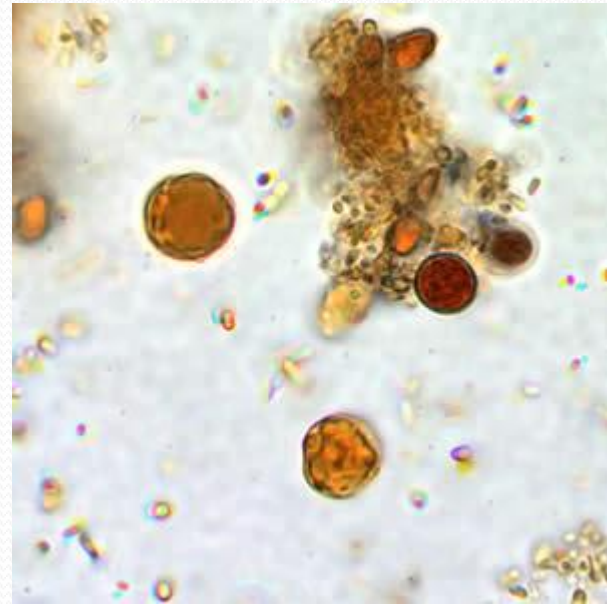
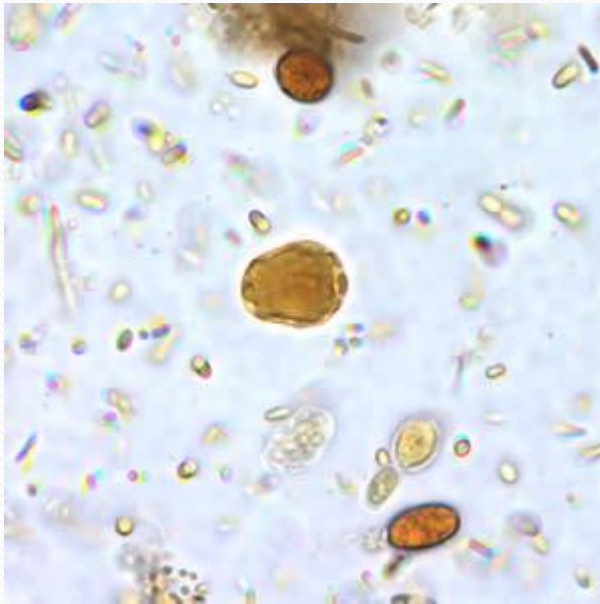
- Trofozoítos



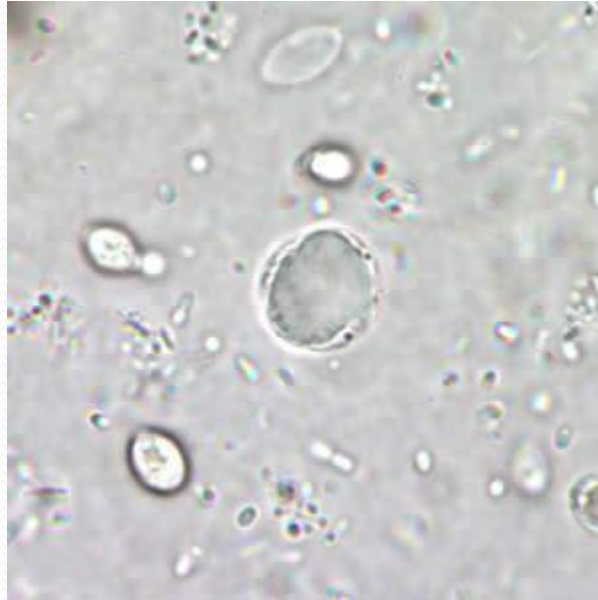
Núcleo com membrana espessa e sem cromatina periférica
Cariossoma muito grande e central

Blastocystis hominis

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

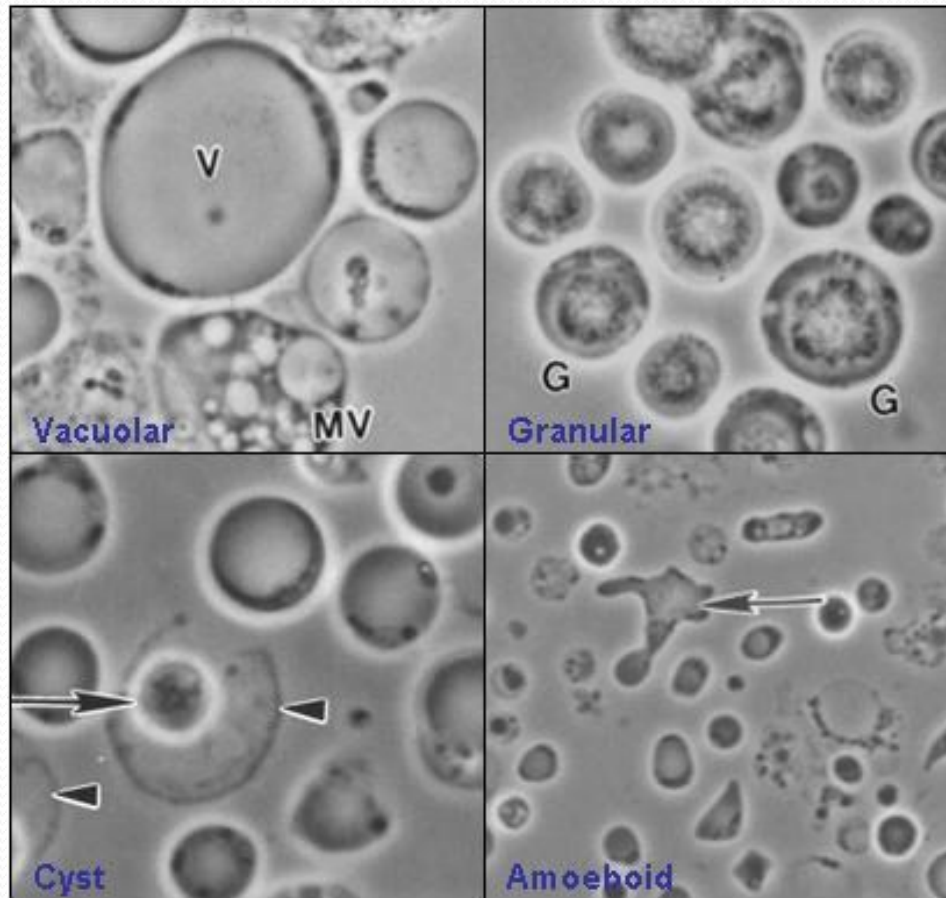


Blastocystis hominis

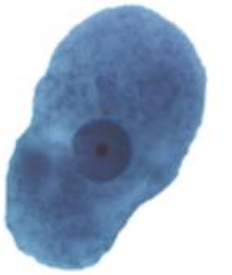

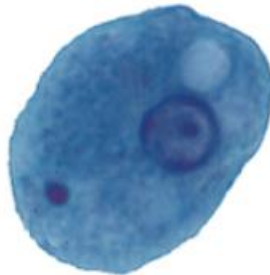
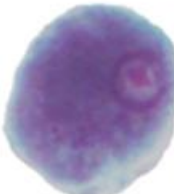


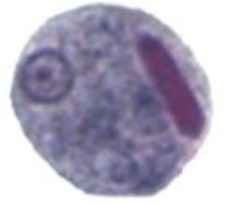

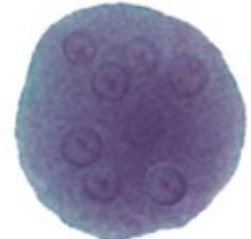
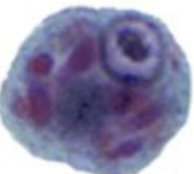
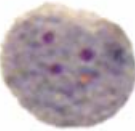
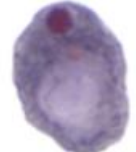

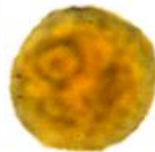










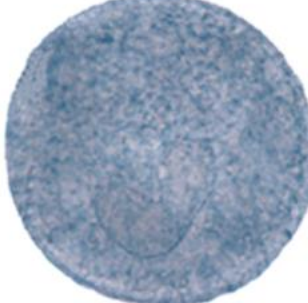

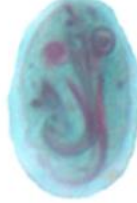


9 a 15 μm

Blastocystis hominis



Protozoário (cistos)	Tamanho μm	Qtde Núcleos (cistos)	Cariossoma	Cromatina periférica	Corpos cromatoides
<i>E.coli</i>	10 a 35	1 a 8	excêntrico	irregular	finos
<i>E. histolytica/ 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	

Stage	<i>Entamoeba histolytica/dispar</i>	<i>Entamoeba hartmanni</i>	<i>Entamoeba coli</i>	<i>Entamoeba polecki</i>	<i>Endolimax nana</i>	<i>Iodamoeba beutschlii</i>
Trophozoite						
Cyst						
						

	<i>Balantidium coli</i>	<i>Chilomastix mesnili</i>	<i>Giardia duodenalis</i>	<i>Dientamoeba fragilis</i>
Trophozoite				
Cyst				no cyst stage
				

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
 - Imunofluorescência indireta
 - Teste de dupla difusão ou de Ouchterlony realizado em ágar com diferentes antígenos

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 asmotra.

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 subsequentes, 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 clarear) 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 10g 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 10g 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 Atílio. Parasitologia Clínica.2.Ed.São Paulo: Ed. Atheneu, 2007. 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