

## ARTIGOS

### AUSÊNCIA DE AMEBÍASE INVASIVA EM AIDÉTICOS HOMOSSEXUAIS MASCULINOS, NO RECIFE

Luiz Cláudio Arraes de Alencar, Vera Magalhães, Vilma Marcelina de Melo,  
Ivanise Aka, Marcelo Magalhães e Seiki Kobayashi

*Estudou-se a incidência da Entamoeba histolytica entre aidéticos homossexuais masculinos com o objetivo de determinar se entre esses pacientes o protozoário, incapaz de produzir doença na população geral do Recife, causaria amebíase invasiva. Dos 77 pacientes incluídos na investigação, apenas um (1,3%) albergava a E. histolytica. A eletroforese em gel de amido da linhagem isolada mostrou um perfil de isoenzimas compatível com o zimodema I, não patogênico. Além disso, nenhum dos pacientes examinados apresentou no soro anticorpos anti-ameba, verificados pelos testes de precipitação em ágar e imunoenzimático. Estes resultados mostraram que, mesmo entre indivíduos de sistema imunológico comprometido, as linhagens de E. histolytica prevalentes no Recife carecem de potencialidades patogênicas. Não se justifica, portanto, o emprego do metronidazol nos portadores de cistos de ameba, sejam eles aidéticos ou não.*

*Palavras-chaves:* Amebíase. AIDS. Diarréia. Entamoeba histolytica.

A amebíase é uma infecção do intestino grosso produzida pela *Entamoeba histolytica*. Na maioria dos pacientes infectados observa-se o estado carreador assintomático, mas doença diarréica que varia de diarréia leve a disenteria fulminante pode ocorrer. Entre as complicações extra-intestinais, a mais comum é o abscesso hepático<sup>10</sup>.

A amebíase constitui sério problema de saúde pública no mundo inteiro, de maneira particular nos países em desenvolvimento. Segundo os cálculos da Organização Mundial de Saúde, 10% da população mundial albergam o parasito<sup>25</sup>.

Embora a amebíase tenha distribuição universal, algumas áreas geográficas são mais acometidas do que outras. Além disso, a proporção de casos de amebíase invasiva em relação à totalidade dos casos de infecção por ameba, também varia segundo a região<sup>14, 20</sup>. Num mesmo país, as taxas de prevalência podem variar segundo o nível sócio-econômico e o comportamento sexual do segmento populacional estudado. O conceito de amebíase

como doença sexualmente transmissível (DST) é relativamente recente<sup>15, 21</sup>. Ele data do final dos anos 70, e é resultado de observações realizadas em diversas partes do mundo. Essas observações mostraram ainda que, a exemplo de outras DSTs, a amebíase acometia mais os homens homossexuais<sup>8, 20, 23</sup>. Takeuchi em 1988<sup>20</sup>, enfatiza a similitude epidemiológica entre a amebíase e a infecção pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV). Similitude esta considerada tão estreita que já foi sugerido que o declínio da amebíase numa determinada região pode servir de dado indireto para o controle da infecção pelo HIV<sup>11</sup>.

Inquéritos epidemiológicos iniciais realizados no Recife e em outras capitais do Nordeste Brasileiro mostraram que muitos de seus residentes, embora portadores de cistos de *E. histolytica* nas fezes não possuíam anticorpos anti-ameba em seus soros, demonstrando que as formas invasivas da amebíase são raras ou ausentes nessa região<sup>9</sup>. Estudos subseqüentes, envolvendo eletroforese em gel de amido<sup>3</sup>, anticorpos monoclonais<sup>18</sup> e reação em cadeia da polimerase<sup>19</sup>, confirmaram que as linhagens de *E. histolytica*, isoladas das fezes de nordestinos, pertencem a zimodemas não patogênicos. São, portanto, incapazes de causar doença invasiva.

Desde que nas relações parasito-hospedeiro ambos componentes são importantes no evoluir da infecção, decidiu-se verificar se mesmo em pacientes imunocomprometidos as

Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, PE.

Financiado pela JICA (Japanese International Cooperation Agency).

Endereço para correspondência: Dr. Luiz Cláudio A. de Alencar. Estrada das Ubaias 670/602 - Casa Forte, 52061-080 Recife, PE.

Recebido para publicação em 22/02/95.

linhagens de *E. histolytica* pernambucanas manteriam suas características não invasivas.

Constituíram-se em objetivos do presente trabalho:

1. verificar a prevalência de *E. histolytica* nas fezes de aidéticos homossexuais masculino, empregando-se a microscopia óptica e o cultivo.
2. determinar o zimodema das linhagens eventualmente isoladas.
3. verificar através da imunodifusão em gel de ágar e do ensaio imunoenzimático (ELISA), se no soro daqueles pacientes existiriam anticorpos anti-ameba, indício de anteriores infecções invasivas.

## MATERIAL E MÉTODOS

Investigou-se 77 pacientes com a Síndrome da Imunodeficiência adquirida (SIDA), atendidos nas enfermarias e ambulatórios dos dois hospitais universitários do Recife (Hospital das Clínicas da UFPE e Hospital Oswaldo Cruz da UPE). Destes, 54 pacientes apresentavam diarreia.

Todos os pacientes examinados detinham sorologia positiva para o HIV-1, realizada em pelo menos duas ocasiões por enzimaensaio com antígeno obtido pela técnica de DNA recombinante (Abbott, Laboratories, Chicago, II) e encontravam-se no estágio da SIDA completamente desenvolvida conforme critérios do Centro de Controle de Doenças dos Estados Unidos (CDC)<sup>2</sup>.

**Métodos parasitológicos.** De cada paciente coletou-se um espécime fecal. Uma parte do espécime foi colocada em recipiente contendo álcool polivinílico, e a outra em potes de plásticos esterilizados, os quais eram imediatamente enviados para o setor de Parasitologia do Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami da Universidade Federal de Pernambuco.

**Pesquisa direta de trofozoítos.** Esfregaço em lâminas da porção de fezes fixadas em álcool polivinílico foram corados pelo método tricrômio<sup>21</sup> e examinados ao microscópio óptico.

**Pesquisa direta de cistos.** Parte do material fecal, recebido *in vitro*, foi concentrada pelo método formalina-éter de Ritchie<sup>12</sup> e os esfregaços feitos a partir do sedimento foram corados pelo lugol e examinados ao microscópio óptico.

**Cultura.** Outra parte dos espécimes não fixados foi utilizada para as tentativas de isolamento do protozoário. Os métodos de cultivo empregados foram aqueles preconizados por Robinson<sup>13</sup>. Os tubos-cultivo eram incubados a 37°C e verificados, após 48h e, em seguida após 4 dias, para verificar-se a presença de trofozoítos de *E. histolytica*. Isto foi realizado examinando-se ao microscópio alíquotas da cultura coradas pelo lugol, entre lâmina e lamínula.

**Determinação dos zimodemas.** As culturas positivas foram subcultivadas para outros tubos contendo o meio de Robinson para que se obtivesse massa celular suficiente à realização das eletroforeses em gel de amido para a determinação dos zimodemas. Estes foram caracterizados pelos perfis eletroforéticos de suas isoenzimas hexoquinase, fosfoglicomutase, enzima málica e isomerase glicosefosfato, obedecendo-se às recomendações de Sargeant e cols<sup>16</sup>.

**Métodos imunológicos.** A pesquisa de anticorpos anti-ameba no soro dos pacientes foi realizada pelo método da difusão precipitação em gel de ágar e pelo método imunoenzimático (ELISA)<sup>9</sup>. Controles positivos e negativos acompanharam os testes.

## RESULTADOS

Dos 77 pacientes, apenas um portador de diarreia, e não em uso de metronidazol, apresentou cistos de *E. histolytica* em seu espécime fecal. O perfil eletroforético das isoenzimas da única linhagem isoladas, mostrou que ela pertencia ao zimodema I, não patogênico. Os testes de precipitação em gel de ágar e de ELISA não detectaram anticorpos anti-ameba em nenhuma amostra de soro dos 77 pacientes examinados.

## DISCUSSÃO

Os resultados corroboram achados anteriores de estudos cooperativos entre pesquisadores brasileiros e japoneses, realizados no LIKA, que demonstraram através de métodos parasitológicos, imunológicos e genéticos que as linhagens de *E. histolytica*, prevalentes no Recife, carecem de potencialidades patogênicas<sup>9 18 19</sup>.

Nas relações parasito-hospedeiro, virulência não é uma propriedade inerente apenas ao parasito; a maior ou menor capacidade de

produzir doença por parte de um microrganismo patogênico depende também das condições fisiológicas e imunológicas do hospedeiro<sup>7</sup>. Portanto, quando se considera o grupo populacional selecionado para esta investigação, constituído por pacientes aidéticos, com seus sistemas imunológicos comprometidos, substancia-se mais ainda o conceito sobre a incapacidade das cepas pernambucanas de *E. histolytica* de causar amebíase invasiva. Além disso, nossos resultados foram até certo ponto inesperados ao demonstrar que mesmo o estado de portador de cistos de ameba foi extremamente raro na população estudada, indicando que as cepas pernambucanas carecem também da propriedade de colonizar e de se estabelecer no ambiente intestinal. Dessa maneira, eles discordam de observações feitas por variados autores<sup>5, 8, 11</sup> inclusive nacionais<sup>6, 10</sup>, que encontraram elevada incidência de portadores de cistos de *E. histolytica* entre homossexuais masculinos. Afora isso, o grupo por nós estudado, reunindo as condições de homossexualismo e contaminação pelo HIV, pressupunha um grupo potencialmente de risco para aquisição da *E. histolytica*. A correlação entre os riscos de aquisição de ambos os patógenos é tão estreita que já foi sugerido que o declínio da amebíase numa determinada região pode servir de dado indireto para o controle da infecção pelo HIV<sup>17</sup>. Por outro lado, trabalhos pesquisando a presença de *E. histolytica* em pacientes homossexuais do sexo masculino em diversas partes do mundo quase sempre revelaram presença de zimodemas não patógenos<sup>20, 22</sup>, até mesmo em áreas endêmicas para zimodemas patogênicos como o México<sup>4</sup>.

Alguns pontos devem ser considerados em relação a sensibilidade dos testes empregados. A análise de apenas uma amostra de fezes de cada paciente representa, certamente, uma limitação. Baransk (1976)<sup>1</sup> nos lembra ainda que a possível confusão entre a *E. bartmani* e a *E. histolytica*, pelo fato de ambas produzirem cistos tetranucleados, pode gerar resultados falsos. Outro dado a ser considerado é a possibilidade de um trânsito intestinal rápido acelerar a eliminação do microrganismo. A maioria de nossos pacientes apresentava diarreia. Além disso, 16,7% de nossos pacientes estavam em uso de metronidazol. Isso, entretanto, não invalida ou prejudica a

interpretação dos resultados dos testes imunológicos, os quais não detectaram anticorpos anti-ameba no soro daqueles pacientes, demonstrando-se assim a inexistência de episódios de amebíase invasiva, anteriores ao tratamento, naqueles pacientes.

Podemos concluir com o presente estudo, que a amebíase não parece desempenhar um papel de importância na etiologia diarreica nos aidéticos recifenses, não estando indicado o tratamento com o metronidazol nos eliminadores assintomáticos de cistos.

## SUMMARY

*The purpose of this paper was to determine if among male homosexual SIDA patients, the Entamoeba histolytica was able to product invasive illness. From the 77 investigated patients only one (1.3%) has cysts of E. histolytica in his stools. The electroforesis of the only isolated strain has shown it was from zimodeme I, non pathogenic. The research of antimebic antibodies was negative in the serum of the totality of patients. Those results showed that even in immunocompromissed patients with SIDA, E. histolytica strain found in Recife was not able to produce disease. The utilization of metronidazol is not indicated in amoebic cysts carriers.*

*Key-words: Amoebiasis. SIDA. Diarrhea. Entamoeba histolytica.*

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Baransk, M. Amebíase. In: Veronesi R (ed) Doenças Infecciosas e Parasitárias. 6ª edição. Guanabara-Koogan, Rio de Janeiro, p. 638-656, 1976.
2. Centers for Disease Control (CDC). Revision of the CDC surveillance case definition for acquired immunodeficiency syndrome. Morbidity and Mortality Weekly Report 36:15, 1987.
3. Gonçalves JF, Tanabe M, Medeiros FM, Gonçalves FL, Aca I, Mota S, Tateno S, Takeuchi T. Parasitological and serological studies on amoebiasis and other intestinal parasitic infections in the rural sector around Recife, Northeast Brazil. Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo 32:428-435, 1990.
4. Jessurun JP, Rodriguez LPB, Tinoco JS, Avila NH. The prevalence of invasive amebiasis is not creased in patients with AIDS. Acquired Immunodeficiency Syndrome 6:307-309, 1992.
5. Keystone JS, Keystone DC, Proctor EM. Intestinal parasitic infections in homosexual mem:

- Prevalence, syndroms and actors in transmission. Canada Medicine Association Journal 123:512-514, 1980.
6. Pereira RM. Epidemiologia das amebíases entre homossexuais do Rio de Janeiro. Soma Médica, Ano 8, Nº 1 p.31-32, 1990.
  7. Macleod CM, Bernheimer AW. Pathogenic properties of bacteria. In: Dubos RJ, Hirsh JG (eds) Bacterial and mycotic infections of man, 4ª edition. JB Lippincott Company, Philadelphia, p. 146-169, 1965.
  8. Markell EK, Havens RF, Kuritsubo RA, Wingerd J. Intestinal protozoa in homosexual men in the San Francisco boy area: prevalence and correlates of infection. The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene 33:239-245, 1984.
  9. Okasaki M, Okasaki M, Miranda J, Diegues V, Alves J, Cavas M, Tanabe M, Kobayashi S, Takeuchi T. Parasitological and serological studies on amoebiasis and other intestinal parasitic infections in Recife and its suburban area, Northeast Brazil. Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo 30:313-321, 1988.
  10. Plorde JJ. Amebiasis. In: Isselbacher KJ, Braunwald E, Wilson JD, Martin JB, Fauci AS, Kasper DL (eds) 12ª edição. McGraw-Hill Inc, p. 778-782, 1991.
  11. Quinn TC, Spamm WE, Goodell SE, Benedetti J, Corey L, Schumffler MD. The polymicrobial origin of intestinal infections of homosexual men. New England Journal of Medicine 309:376-382, 1984.
  12. Ritchie LS. An ether sedimentation technique for routine stool examinations. Bull. US. Army Medical Department 8:326, 1948.
  13. Robinson GL. The laboratory diagnosis of human parasitic amoebae. Transactions of Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene 62:285-294, 1968.
  14. Rodrigues JLPN, Lesert P, Silva TMJ. Prevalência de criptosporidiose em pacientes HIV positivos. Revista Associação Médica Brasileira 37:79-84, 1991.
  15. Saurgeant PG, Oates JK, Maclennau L, Oriel JD, Goldmeier D. *Entamoeba histolytica* in male homosexuals. British Journal of Venereal Disease 59:193-195, 1983.
  16. Saurgeant PG, Williams JE, Greene JD. The differentiations of invasive and non invasive *E. histolytica* by isoenzyme eletrophoresis. Transactions of Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene 72:519-21, 1978.
  17. Sorvillo FJ, Strassburg MA, Deidel J. Amebic infections in asymptomatic homosexual men, lack of evidence of invasion. American Journal of Public Health 76:1137-1139, 1986.
  18. Tachibana H, Kobayashi S, Kato Y. Identification of a pathogenic isolate-specific 30,000-M, antigen of *Entamoeba histolytica* by using a monoclonal antibody. Infection and Immunity 58:955-966, 1988.
  19. Tachibana H, Kobayashi S, Paz K, Aca I, Tateno S, Ihara S. Analysis of pathogenicity by restriction-enzyme digestion of amplified genomic DNA of *Entamoeba histolytica* isolated in Pernambuco, Brazil. Parasitology Reviews 78:433-436, 1992.
  20. Takeuchi T. Sexually transmitted amoebiasis: Current epidemiology. Kitasata Archives of Experimental Medicine 61:171-179, 1988.
  21. Walsh JA. Amebiasis in the world. Archives of Investigative Medicine (Méx) 17(supl):385, 1986.
  22. Walsh JA. Problems in recognition and diagnosis of amoebiasis: Estimation of the Global Magnitude of Morbidity and Mortality. Reviews of Infection Disease 8:228-38, 1986.
  23. Weinke T, Frederich-Janicke PH, Janitschke K. Prevalence and clinical importance of *Entamoeba histolytica*. In two high-risk groups: Travelers Returning from The Tropics and Male Homosexuals. Acquired Immunodeficiency Syndrome 161:1029-1031, 1990.
  24. Wheatley WB. A rapid staining procedure for intestinal amoeba and flagellates. American Journal of Clinical Pathology 21:990-991, 1951.
  25. World Health Organization. Expert Committee. Amoebiasis. Technical Report Series, 421:22, 1969.