

Amibiasis: Importancia de su diagnóstico y tratamiento. Mini-revisión.

José Araujo¹, María Eugenia García¹, Odelis Díaz-Suárez¹ y Haidee Urdaneta².

¹Instituto de Investigaciones Clínicas “Dr. Américo Negrette”, Facultad de Medicina, Universidad del Zulia, Maracaibo, Venezuela e ²Instituto de Inmunología Clínica, Facultad de Medicina, Universidad de los Andes, Mérida, Venezuela.

Palabras clave: Amibiasis, cepas patógenas, diagnóstico, tratamiento.

Resumen. El protozooario *E. histolytica* es el agente etiológico de la amibiasis humana; la identificación de su patogenicidad ha sido de gran ayuda en la búsqueda de antígenos importantes para su inmunodiagnóstico e inmunoprofilaxia. En 1995 se describió el aislamiento y axenización de las dos primeras cepas de *E. histolytica* venezolanas procedentes de pacientes sintomáticos, denominadas IULA: 1092:1 e IULA: 0593:2. Estas cepas han sido evaluadas a través de estudios de perfiles electroforéticos, demostrándose la presencia del zimodemo de tipo II característico de cepas patógenas. También han mostrado ser de alta virulencia. Además, presentan un complejo patrón de reactividad y la presencia de un antígeno marcador de patogenicidad; el análisis isoenzimático ha mostrado correlación con el análisis genotípico, indicando una organización genotípica propia de una cepa patógena. Con esta cepa se han podido evaluar todos los casos de amibiasis remitidos al Instituto de Inmunología Clínica de la Universidad de Los Andes, y han sido de utilidad en otras localidades al emplear sus antígenos para evaluar poblaciones urbanas e incluso indígenas, por lo que pueden ser usadas como cepas nativas de referencia en los ensayos de diagnóstico y profilaxis. Las limitaciones del examen microscópico, específicamente los falsos diagnósticos de amibiasis, y su incapacidad para discriminar entre infecciones por *E. histolytica* y *E. dispar*, han conducido al desarrollo de procedimientos de laboratorio que permiten la detección de componentes de las especies presentes. El éxito de tales procedimientos permitiría una disminución de tratamientos innecesarios, los cuales pueden llevar a resistencia ante las diferentes drogas anti-amibianas.

Amebiasis: importance of the diagnosis and treatment.**Minireview.**

Invest Clin 2008; 49(2): 265 - 271

Key words: Amebiasis, pathogenic strains, diagnosis, treatment.

Abstract. The protozoa *E. histolytica* is the etiologic agent of human amebiasis, the identification of its pathogenicity has been of great aid in the search of important antigens for immunodiagnostic and immunoprofilaxis. In 1995 the isolation and axenization of the first two strains of Venezuelan *E. histolytica* were described from symptomatic patients, which were denominated: IULA 1092:1 and IULA: 0593:2 These strains have been evaluated through studies of electrophoretic profiles, demonstrating the presence of type II zymodemes, characteristic of pathogenic strains. Also, they have shown to be of high virulence, they present a complex pattern of reactivity and the presence of a marker antigen of pathogenicity. The isoenzymatic analysis has shown correlation with the genotypic analysis, showing a genotypic organization typical of a pathogenic strain. With this strain, it has been possible to evaluate all the amebiasis cases sent to the Institute of Clinical Immunology of Universidad de Los Andes, in Merida, Venezuela. These strains have been useful, here, as well as in other sites, when using their antigens to evaluate urban and even indigenous populations. They can be used, like native strains of reference, in diagnostic tests and prophylaxis for this parasitosis. The limitations of the microscopic analysis, specifically, the false amebiasis diagnosis and its inability to discriminate between infections caused by *E. histolytica* and *E. dispar* have led to the development of laboratory procedures that allow for the detection of components of the species present. The success of such procedures would result in a diminution of unnecessary treatments, which could be the cause of antiamebic drug resistance.

Recibido: 08-03-2007. Aceptado: 31-05-2007.

INTRODUCCIÓN

La Organización Mundial de la Salud (OMS) define a la amibiasis como la infección producida por *Entamoeba histolytica*, protozooario entérico que tiene su hábitat normalmente en el intestino grueso. Este puede invadir la mucosa intestinal produciendo ulceraciones y tener localizaciones extraintestinales, diseminándose hacia otros órganos. Afecta predominantemente a los individuos que viven bajo condiciones de insalubridad y de pobreza extrema (1). A

nivel mundial, anualmente se reportan alrededor de 500 millones de personas infectadas con este parásito, 10% de las cuales presentan síntomas clínicos; intestinales en un 80% a 98% de los casos y extraintestinales del 2 al 20%, ocasionando una mortalidad que oscila entre 40.000 y 110.000 casos por año (1-5). El desarrollo de estudios para la detección de antígenos fecales de *E. histolytica* en el diagnóstico de la amibiasis ha sido designado como una prioridad por la Organización Mundial de la Salud (6).

La aparición de una especie amibiana no patógena (*Entamoeba dispar*), descrita por Brumpt en 1925 y morfológicamente idéntica a *E. histolytica*, ha tenido implicaciones importantes en la epidemiología de la amibiasis (4, 7). En la actualidad, la OMS considera a la amibiasis como una infección producida sólo por *E. histolytica* y debe ser reportada como complejo *E. histolytica/E. dispar* en los casos donde se realice el análisis microscópico como diagnóstico de rutina (1). El diagnóstico de estas especies es de gran interés clínico debido a que mediante microscopía óptica no es posible la diferenciación entre *E. histolytica* y *E. dispar*, excepto en el caso de la observación microscópica de trofozoítos hematófagos en cuadros diarreicos (8).

La diferencia entre el número de infectados y el porcentaje relativamente bajo de pacientes que desarrollan amibiasis invasiva ha sido explicada, en parte, por la elevada prevalencia de infección con cepas no invasivas del parásito, el cual es morfológicamente idéntico, pero genotípicamente distinto de las cepas invasivas (9-11). Errores en la identificación microscópica de amibas no patógenas tales como *Endolimax nana*, *Entamoeba coli* y *Entamoeba hartmanni* podría contribuir también a incrementar la prevalencia de infección asintomática por *E. histolytica* (12).

Entre los países latinoamericanos, México ha resultado el de mayor endemia con cifras de infección de hasta un 75%, seguido de Colombia con un 45-60%, y Chile con un 18-20%. Estudios epidemiológicos en diferentes regiones del mundo han señalado a *E. dispar* como la especie más prevalente principalmente en individuos asintomáticos, mientras que *E. histolytica* se ha registrado con mayores porcentajes de morbilidad y mortalidad en países como México, India y África (13-17).

En Venezuela, país en desarrollo, con una numerosa población infantil, se regis-

tra a la amibiasis como principal enfermedad parasitaria, reportándose 100.000 casos al año con 80 muertes (18). Se han reportado tasas variables de infección por el complejo *E. histolytica/E. dispar* las cuales varían de 6,8 a 42%, distribuidos en 1,8 a 29,5% para las áreas urbanas y hasta 20% en poblaciones rurales, con un mayor porcentaje en los niños (9). De acuerdo al Ministerio del Poder Popular para la Salud, en el Boletín Epidemiológico Semanal, Semana Epidemiológica N° 19 (06 de abril al 12 de Mayo de 2007) se reportaron 2.781 (2,36%) casos de amibiasis a nivel nacional y un acumulativo de 74.478 en lo que va de año, con una mayor frecuencia en niños entre 1-4 años de edad (19).

Los efectos patogénicos y la expresión clínica de la amibiasis dependen de la virulencia del parásito y del sistema inmunitario del hospedero, así mismo varía según las diferentes áreas geográficas, así como de las condiciones sanitarias y socioeconómicas de la población (15, 20).

Los primeros estudios que definieron las principales características de *E. histolytica* utilizaron extractos totales del protozooario, obtenidos de cultivos polixénicos, contaminados con otros componentes de la flora fecal. Los estudios sobre los requerimientos del parásito para poder vivir y los efectos que éste produce, motivaron otras investigaciones para reproducir el microambiente en el que se desenvuelve este parásito, y varios ensayos para el aislamiento de amibas permitieron un medio axénico (TYI-S-33) para el cultivo del patógeno intestinal *E. histolytica* (15, 21-23).

La axenización y mantenimiento en cultivos de *E. histolytica* ha permitido la utilización de extractos totales libres de contaminantes, para purificar y obtener extractos proteicos amibianos y caracterizar las proteínas, diferenciar cepas y producir antígenos, que permitan evaluar sus propiedades inmunodiagnósticas e inmunoprolácticas,

así como su variabilidad inmunodominante y propiedades fisiopatológicas, todo esto con la finalidad de perfeccionar los procedimientos diagnósticos y el desarrollo de una vacuna (22-28).

La secuenciación completa del genoma de *E. histolytica* y la identificación computarizada de sus genes han permitido la aplicación de nuevas pautas sobre los métodos diferenciales de diagnóstico, con la identificación de genes involucrados en proteínas de adherencia y determinación del polimorfismo de las cepas infectantes (29-33)

En Venezuela se ha reportado el aislamiento y axenización de las dos primeras cepas de *E. histolytica* venezolanas procedentes de pacientes sintomáticos, a las que se denominó IULA: 1092:1 e IULA: 0593:2. Estas cepas han sido evaluadas a través de estudios de perfiles electroforéticos que han demostrado la presencia del zimodemo de tipo II, característico de cepas patógenas reportadas internacionalmente. Así mismo han demostrado ser de alta virulencia, produciendo abscesos hepáticos amebianos en todos los animales inoculados. Además presentan un complejo patrón de reactividad frente a los sueros positivos y un antígeno marcador de patogenicidad reconocido por el monoclonal HU-511. Los resultados del análisis isoenzimático han mostrado correlación con el análisis genotípico, al utilizar métodos avanzados de biología molecular como el PCR-SHELA, indicando una organización genotípica propia de una cepa patógena de referencia (15, 23, 34).

Gracias a estas cepas venezolanas se han podido evaluar todos los casos de amebiasis remitidos al Instituto de Inmunología Clínica de la Facultad de Medicina de la Universidad de los Andes en Mérida, Venezuela y también han sido de utilidad en otras localidades al emplear sus antígenos para evaluar poblaciones urbanas (35, 36) e incluso indígenas (37). Además, la utiliza-

ción de una cepa autóctona (23) ha permitido acortar la diversidad genética, en cuanto a un polimorfismo poblacional (38) con un aislado clínico propio del país.

Con base a los criterios anteriormente señalados se puede afirmar que las 2 cepas venezolanas reportadas son de alto potencial patógeno, pudiendo ser usadas como cepas nativas de referencia en los ensayos de inmunodiagnóstico e inmunoprofilaxis. (15).

Hasta el momento, *E. dispar* no ha sido documentada como causa de colitis o abscesos hepáticos, mientras que *E. histolytica* es responsable de todos los casos de colitis y abscesos hepáticos, además de que puede mantenerse también como una colonización asintomática. Cuando se diagnostica *E. histolytica* se recomienda que sea tratada con drogas antiamebianas, no así en aquellos individuos portadores de *E. dispar* cuyo tratamiento es innecesario. Dado que la colonización de *E. dispar* es mucho más común que la infección por *E. histolytica* y no necesita ser tratada (8, 39), es importante realizar investigaciones aplicadas que permitan el desarrollo de pruebas que puedan ser usadas en los laboratorios para distinguir las infecciones causadas por estas dos amebas, de tal manera que sean revisadas las estimaciones sobre la verdadera prevalencia de *E. histolytica* a nivel mundial, ya que pudieran estar sobreestimadas.

El diagnóstico de la amebiasis a través de métodos convencionales como el examen microscópico representa una situación difícil para el clínico, ya que esta técnica no permite discriminar entre infección por *E. histolytica* y *E. dispar*; sólo los estudios de coproantígenos y el desarrollo de técnicas moleculares como la Reacción en Cadena de la Polimerasa (RCP) han permitido la diferenciación de ambas especies. La técnica de RCP resulta de gran utilidad para estudios epidemiológicos y, por su gran sensibilidad, permite detectar casos que no han

podido ser identificados al aplicar las pruebas convencionales, así como diagnosticar infecciones mixtas (40). Todo ello conllevaría a una disminución de tratamientos innecesarios y evitaría la diseminación de las formas evolutivas infectantes en portadores asintomáticos.

El tratamiento indiscriminado de individuos asintomáticos con *E. dispar* puede conducir a resistencia a las drogas antiamebianas. Esto no parece ser un problema serio en este momento; sin embargo, recientes reportes sobre el fracaso en el tratamiento con metronidazol (41) y diferentes susceptibilidades a ésta y a otras drogas para el tratamiento de la amibiasis (42, 43), sugieren que, a futuro podría provocar el desarrollo de una mayor resistencia a los diferentes medicamentos utilizados. En consecuencia, se hace necesario el desarrollo de pruebas que puedan ser usadas por los médicos para la efectiva identificación de ambas especies y, de esta forma, implementar estrategias que incrementen la eficacia en el tratamiento de los pacientes con *E. histolytica*, evitando el uso indiscriminado de los medicamentos antiamebianos en los pacientes con *E. dispar*.

REFERENCIAS

1. **World Health Organization (WHO).** A consultation with experts on amibiasis. *Epidem Bull PAHO* 1997; 18:13-14.
2. **Walsh JA.** Problems in recognition and diagnosis of amebiasis: examination of the global magnitude of morbidity and mortality. *Rev Infect Dis* 1986; 8:228-238.
3. **Britten D, Wilson S, Menerney R, Moody A, Chiodini L, Ackers J.** An improved colorimetric PCR-based for detection and differentiation of *Entamoeba histolytica* and *Entamoeba dispar* in feces. *J Clin Microbiol* 1997; 35:1108-1111.
4. **Diamond L, Clark G.** A redescription of *Entamoeba histolytica* Shaudinn, 1903 (Emended Walker 1911) separating it from *Entamoeba dispar* Brumpt, 1925. *J Euk Microbiol* 1993; 40:340-344.
5. **Gomes M, Pesquero J, Furst C, Valle P, Silva F.** An improved method to distinguish *Entamoeba histolytica* and *Entamoeba dispar*. *Parasitol* 1999; 119: 359-362.
6. **World Health Organization WHO/PAHO informal consultation on intestinal protozoal infections.** 21-23 de octubre. Oaxtepec, México. 1991. p: 5-10.
7. **Jackson T.** *Entamoeba histolytica* and *Entamoeba dispar* are distinct species, clinical, epidemiological and serological evidence. *Int J Parasitol* 1998; 28:181-186.
8. **Haque R, Ali I, Akther S y Petri J.** Comparison of PCR, isoenzyme analysis and antigen detection for diagnosis of *Entamoeba histolytica* infection. *J of Clin Microbiol* 1999; 36:449-452.
9. **Blanc DS.** Determination of taxonomic status of pathogenic and non-pathogenic *Entamoeba histolytica* zymodemes using isoenzyme analysis. *J Protozool* 1992; 39: 471-479.
10. **Clark C, Diamond LS.** Ribosomal genes of "pathogenic" and "non-pathogenic" *Entamoeba histolytica* are distinct. *Mol Biochem Parasitol* 1991; 49:297-302.
11. **Cruz-Reyes J, Spice WM, Rehman T, Gibson E, Ackers J.** Ribosomal DNA sequences in the differentiation of pathogenic and non-pathogenic isolates of *Entamoeba histolytica*. *Parasitology* 1992; 104: 239-246.
12. **González-Ruiz A, Ruiz-Palacios G.** *Entamoeba hartmanni*: missing or misidentified. *J Infect Dis* 1991; 164:612-613.
13. **Heckrindorn F, Goran K, Felger P, Voutnasou A, Yapi A, Oettli H, Marti M, Dobler M, Tratore K, Lohourignon L, Lengler C.** Species-specific testing of *Entamoeba* ssp. in area of high endemicity. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 2002; 96: 521-528.
14. **Petri W, Haque R, Lyerly D, Vines R.** Estimating the impact of amoebiasis on health. *Parasitol Today* 2000; 16:320-321.
15. **Urdaneta H, Cova J, Molina S, Aguirre A, Hernández M.** Evaluación inmunológica de cepas de *E. histolytica* venezolanas. *Kasmera* 1998; 26:35-49.

16. **Raj L, Uprof T.** Clinical significance of the redefinition of the agent of amoebiasis. *Rev Latinoam Microbiol* 2001; 43:183-187.
17. **Mora L, García A, Donato M.** Prevalencia del complejo *Entamoeba histolytica/Entamoeba dispar* en pacientes con síntomas gastrointestinales de diarrea procedentes de Cumaná, Estado Sucre. *Kasmera* 2005; 33(1):36-45.
18. **Organización Panamericana de la Salud.** Organización Mundial de la Salud. Atención integrada a las Enfermedades Prevalentes de la Infancia. AIEPI. Reunión sobre el control de las HelminCIAS intestinales en el contexto AIEPI. Octubre 1998: 184.
19. **Epidemiología. Boletines Epidemiológicos 2007.** Boletín Epidemiológico Semanal. Semana Nº 19. En www.msps.gob.ve.
20. **Moody S, Becker S, Nuchamowitz Y, Mirelman D.** Virulent and avirulent *Entamoeba histolytica* and *Entamoeba dispar* differ in their cell surface phosphorylated glycolipids. *Parasitology* 1997; 114:95-104.
21. **Diamond, L.** Axenic cultivation of *Entamoeba histolytica*. *Science* 1961; 134:336-339.
22. **Diamond L.** Techniques of axenic cultivation of *Entamoeba histolytica* Schaudinn 1903 and *E. histolytica* like amebae. *J Parasitol* 1968; 54:1047-1056.
23. **Urdaneta H, Rondon M, Muñoz M, Hernández M.** Isolation and axenization of two *Entamoeba histolytica* strains. *GEN* 1995; 49:23-28.
24. **Guimaraes S, Urdaneta H, Silva E, Tavares C.** *Entamoeba histolytica*: Antigenic characterization of axenic strains from Brazil. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 1991; 33(1):6-11.
25. **Edman U, Meraz MA, Rauser S, Agobian N, Meza I.** Characterization of an immunodominant variable surface antigen from pathogenic and nonpathogenic *Entamoeba histolytica*. *J Exp Med* 1990; 172: 879-888.
26. **Stanley SL.** Amoebiasis. Review. *Lancet* 2003; 361:1025-1034.
27. **Stanley SL.** Progress towards development of a vaccine for amoebiasis. Review. *Clin Microbiol Rev* 1997; 10(4):637-649.
28. **Stanley SL.** Pathophysiology of amoebiasis. Review. *Trends Parasitol* 2001; 17(6): 280-285.
29. **Bhattacharya A, Satish S, Bagchi A, Bhattacharya S Jr.** The genome of *Entamoeba histolytica*. *Int J Parasitol*. 2000; 30(4):401-410.
30. **Davis PH, Zhang X, Guo J, Townsend RR, Stanley SL.** Comparative proteomic analysis of two *Entamoeba histolytica* strains with different virulence phenotypes identifies peroxiredoxin as an important component of amoebic virulence. *Mol Microbiol* 2006; 61(6):523-532.
31. **Datar RH, Joshi NN.** Nucleic acids in diagnosis. Review. *Natl Med J India* 2001; 14(1):34-42.
32. **Cheng XJ, Hughes MA, Huston CD, Loftus B, Gilchrist CA, Lockhart LA, Ghosh S, Miller-Sims V, Mann BJ, Petri WA Jr, Tachibana H.** Intermediate subunit of the Gal/GalNAc lectin of *Entamoeba histolytica* is a member of a gene family containing multiple CXXC sequence motifs. *Infect Immun*. 2001; 69(9): 5892-5898.
33. **Prakash A, Chakraborti A, Mahajan RC, Ganguly AK.** DNA polymorphism in north indian isolates of *Entamoeba histolytica* detected by PCR fingerprinting. *Parasitol Res* 2002; 88(2):126-129.
34. **Aguirre A, Molina S, Urdaneta H, Cova J, Guhl F.** Characterization of two Venezuelan *Entamoeba histolytica* strains using electrophoretic isoenzyme patterns and PCR-SHELA. *Arch Med Res* 1997; 28:285-287.
35. **Mora L.** Caracterización molecular y epidemiología de *Entamoeba histolytica* y *Entamoeba dispar* en pacientes con diarrea en Cumaná, Estado Sucre. [Tesis de MSc]. Cumaná: Universidad de Oriente; 2006.
36. **Bracho A.** *Entamoeba histolytica* y *Entamoeba dispar* diagnosticadas mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y su correlación con la presencia o no de manifestaciones clínicas en la comunidad de Santa Rosa de Agua. (Tesis de MSc) Maracaibo: Universidad del Zulia, 2007.
37. **Araujo J, Urdaneta H, García ME, Díaz-Suárez O, Cheng-Ng R, Estévez J, Cabre-**

- ra L. *Entamoeba histolytica*: Relación entre la evaluación coproparasitológica e Inmunológica en una comunidad Yucpa de la Sierra de Perijá, Estado Zulia Venezuela (Resumen) Memorias de las X Jornadas Científicas "Dra Haydee Parra de Soto". 2001. Maracaibo, Venezuela. p. 123-124.
38. **Ayeh-Kumi PF, Ali IM, Lockhart LA, Gilchrist CA, Petri WA Jr, Haque R, Clark CG.** *Entamoeba histolytica*: genetic diversity of clinical isolates from Bangladesh as demonstrated by polymorphisms in the serine-rich gene. *Exp Parasitol* 2001; 99(2):80-88.
39. **Bansal D, Malla N, Mahajan R.** Drug resistance in amoebiasis. Review. *Indian J Med Res* 2006; 123:115-118.
40. **Tanyukel M, Petri W.** Laboratory diagnosis of amebiasis. *Clin Microbiol Rev* 2003; 16:713-729.
41. **Hanna RM, Dahniya MH, Badr SS, El-Betagy A.** Percutaneous catheter drainage in drug-resistant amoebic liver abscess. *Trp Med Int Health* 2000; 5:578-581.
42. **Adagu IS, Nolder D, Warhurst DC, Rossignol JF.** *In vitro* activity of nitazoxanide and related compounds against isolates of *Giardia intestinalis*, *Entamoeba histolytica*, *Trichomonas vaginalis*. *J Antimicrob Chemother* 2002; 49: 102-111.
43. **Bansal D, Sehgal R, Chawla Y, Mahajan RC, Malla N.** *In vitro* activity of anti-amoebic drugs against clinical isolates of *Entamoeba histolytica* and *Entamoeba dispar*. *Ann Clin Microbiol Antimicrob* 2004; 3:27-33.