



UNIVERSIDAD ANDINA SIMÓN BOLÍVAR
SEDE CENTRAL
Sucre-Bolivia

CURSO DE MAESTRÍA EN
“MICROBIOLOGIA”
VERSIÓN II

“SEROPREVALENCIA DE ANTICUERPOS ANTI *ENTAMOEBAS*
HISTOLYTICA EN PACIENTES DE DIFERENTES INSTITUCIONES DE
SALUD DE LA CIUDAD DE TARIJA, DE JUNIO A SEPTIEMBRE DE
2012.”

Tesis presentada para obtener el Grado
Académico de Magister en “Microbiología ”

ALUMNO: DANNY FERNÁNDEZ MAMANI

Tarija - Bolivia

2012



UNIVERSIDAD ANDINA SIMÓN BOLÍVAR
SEDE CENTRAL
Sucre-Bolivia

CURSO DE MAESTRÍA EN
“MICROBIOLOGIA”
VERSIÓN II

“SEROPREVALENCIA DE ANTICUERPOS ANTI *ENTAMOEB*
HISTOLYTICA EN PACIENTES DE DIFERENTES INSTITUCIONES DE
SALUD DE LA CIUDAD DE TARIJA, DE JUNIO A SEPTIEMBRE DE
2012.”

Tesis presentada para obtener el Grado
Académico de Magister en “Microbiología ”

ALUMNO: DANNY FERNÁNDEZ MAMANI

TUTOR: Lic. ANA ROSA LOPEZ REINOSO

TARIJA-BOLIVIA

2012

DEDICATORIA

A mis padres por enseñarme a creer en Dios,
en la vida, en la generosidad, en la perseverancia
y en el saber dar.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco profundamente a todas las personas con las que he compartido y comparto mi vida, que me han inspirado, enseñado, conmovido e iluminado con su presencia.

Expreso mi reconocimiento e inmensa gratitud a mi tutora Ana Rosa López Reinoso por su gran apoyo y contribución.

RESUMEN

Antecedentes: El propósito del presente estudio fue utilizar pruebas inmunoenzimáticas (ELISA) para determinar la prevalencia de anticuerpos anti *Entamoeba histolytica* en diferentes instituciones de salud de la ciudad de Tarija. En nuestro país, la prevalencia de la amebiasis está basada en la identificación microscópica del parásito en las heces, pero debido al bajo rendimiento del método y a la imposibilidad real de distinguir entre *Entamoeba histolytica* y *Entamoeba dispar*, desconocemos la prevalencia verdadera de la infección por *Entamoeba histolytica* en la población.

Objetivo principal: Determinar la seroprevalencia de anticuerpos para *Entamoeba histolytica*, mediante la prueba enzimoimmunoenzimática (ELISA), en pacientes de diferentes instituciones de salud de la ciudad de Tarija.

Métodos: La presente investigación tiene un enfoque cuantitativo, donde la población está constituida por 88 personas; siendo las variables de estudio, la seroprevalencia de anticuerpos anti *Entamoeba histolytica*, sexo, edad, zona de procedencia e institución de salud. La información se obtuvo a partir de una fuente primaria, que fueron las historias clínicas (patrón de referencia) mediante una guía de observación y una hoja de registro. Las muestras fueron procesadas durante los meses de junio a septiembre de 2012, en el laboratorio de análisis clínico del Seguro Social Universitario y procesadas en el área de inmunodiagnóstico.

Procesamiento y análisis de los datos: Se construyó una base de datos en EXCEL, para ser analizada en el programa Epi Info 3.5.4. Calculándose la distribución de frecuencia simple con los gráficos y medidas de resumen que correspondan y elaborando tablas de doble entrada. Finalmente se elaboro tablas 2x2 identificándose la relación de asociación entre variables independientes y la variable dependiente, además de calcular, la razón de prevalencia, los límites de confianza de la razón de prevalencia, el Odds ratio de prevalencia con sus respectivos límites de confianza, Ji cuadrado y el valor de p. Las muestras fueron procesadas durante los meses de junio a septiembre

de 2012, en el laboratorio de análisis clínico del Seguro Social Universitario, y analizadas en el área de inmunodiagnóstico.

Resultados: La prevalencia de *Entamoeba histolytica* determinada por la prueba enzimo-inmunoenzimática (ELISA) en 88 pacientes de diferentes instituciones de salud de la ciudad de Tarija, fue del 39.8%, detectándose la presencia de anticuerpos para *Entamoeba histolytica* en 35 (39.8%) pacientes, de los cuales 25 (71.4%) pertenecen a individuos del sexo masculino y 10 (28.6%) al sexo femenino; la probabilidad en personas del sexo masculino de presentar un resultado reactivo es 1,90 (RP=1,90 IC: 1,04 - 3,46) veces más en relación a las mujeres. Por lo que ser varón sería un factor de riesgo para la presencia de *Entamoeba histolytica* mediante prueba de Elisa. Siendo el valor de p ($p=0,04$) menor a 0,05 se puede determinar que la diferencia de los resultados de la prueba de Elisa para *Entamoeba histolytica* según sexo es estadísticamente significativa. Con respecto a la procedencia de las 35 (39,8%) muestras positivas, 8 (22.9%) proceden del área rural y 27 (77.1%) del área urbana, la probabilidad de presentar un resultado reactivo en personas del área rural es 1,44 (RP=1.44 IC: 0,82 - 2,52) veces más en comparación con personas del área urbana, por lo que proceder del área rural sería un factor de riesgo para la presencia de *Entamoeba histolytica* mediante prueba de Elisa. Siendo el valor de p ($p=0,37$) mayor a 0,05 se puede afirmar que la diferencia entre los resultados de la prueba de Elisa para *Entamoeba histolytica* según procedencia no es estadísticamente significativa. El intervalo de edad donde se presenta mayor cantidad de casos con serología reactiva para *Entamoeba histolytica* es de 45 a 65 años con 14 individuos (40%), seguido del grupo de edad de 66 a 86 años con 9 individuos (25,7%). Además, podemos indicar que tener entre 3 a 23 años de edad es un factor de protección para la presencia de *Entamoeba histolytica* mediante la prueba de ELISA en comparación con las personas de más edad, por lo tanto tener entre 3 a 23 años no es un factor de riesgo. De la relación del resultado de la prueba de Elisa para *Entamoeba histolytica* entre las instituciones de salud HRSJDD, SSU y PROSALUD, se puede evidenciar que ser paciente del HRSJDD sería un factor de protección para la presencia de *Entamoeba histolytica* mediante prueba de Elisa, y no un

factor de riesgo. Con los resultados obtenidos se puede señalar que la prueba de Elisa para *Entamoeba histolytica*, es una herramienta necesaria y de gran valor para el diagnóstico de la amibiasis, y que debe ser incluida para el diagnóstico de la infección por *Entamoeba histolytica*, pues permite al clínico identificar las verdaderas infecciones por *Entamoeba histolytica* y realizar el tratamiento adecuado, que va a favor trascendente en la salud del individuo y la comunidad.

SUMMARY

Antecedent: The purpose of this study was to use immunoenzyme test (ELISA) to determine the prevalence of antibodies against *Entamoeba histolytica* in different institutions in health of Tarija city. In our country, the prevalence of amebiasis is based on the microscopic identification of the parasite in the stool, but due to the low performance of the method and the genuine impossibility of distinguishing between *Entamoeba histolytica* and *Entamoeba dispar*, we do not know the true prevalence of *Entamoeba histolytica* infection in the population.

Main objective: To determine the seroprevalence of antibodies to *Entamoeba histolytica*, through the immunoenzyme test (ELISA), in patients from different health institutions in the city of Tarija.

Method: The present investigation has a quantitative approach, the population is made up of 88 people, the variables in the study include, the seroprevalence of antibodies against *Entamoeba histolytica*, sex, age, area of origin and health institutions. The information was obtained from a primary source, that were the case histories (gold standard) through the use of the observation guide and a register leaf. The samples were processed during the months of June to September 2012, in the laboratory of clinical analysis of the University Social Insurance, and processed in the area of immunodiagnosis.

Processing and analysis of the data:

A data base has been constructed in Excel to be analyzed in the Epi Info 3.5.4 program. It has been calculated the simple frequency distribution with graphics and summary measures that correspond, and has been developed double entry tables. Finally has been developed 2x2 tables identifying the association relationship between independent variables and the dependent variable, in addition to the calculation, the reason for prevalence, the confidence limits of the reason for prevalence, the odds ratio for prevalence with their respective confidence limits, value of p and Chi-square. The samples were processed during the months of June to September 2012, in the laboratory of clinical analysis of the University Social Insurance, and analyzed in the area of immunodiagnosis.

Results: The seroprevalence of antibodies against *Entamoeba histolytica* determined by the immunoenzyme test (ELISA) in 88 patients of different health institutions in the city of Tarija, was of the 39.8%, detected the presence of antibodies to *Entamoeba histolytica* in 35 (39.8%) patients, of whom 25 (71.4%) belong to individuals of male and 10 (28.6%) females; the probability in male sex of presenting a result reactive is 1.90 (RP = 1, 90 CI: 1.04-3.46) times more in relation to women. It would be male be a risk factor for the presence of *Entamoeba histolytica* by Elisa test. Being the p-value ($p = 0, 04$) can be less than 0.05 that the difference of the results of the Elisa test for *Entamoeba histolytica* according to sex is statistically significant. With respect to the origin, of the 35 (39.8%) samples positive, 8 (22.9%) come from rural areas and 27 (77.1%) of the urban area, the probability of presenting a result of reagent in people in the rural area is 1.44 (RP = 1 44 IC: 0.82 - 2.52) times more compared with people in the urban area, it would come from the rural area be a risk factor for the presence of *Entamoeba histolytica* by Elisa test. Being the p-value ($p = 0, 37$) greater than 0.05, we can say that the difference between the results of the Elisa test for *Entamoeba histolytica* according to origin is not statistically significant. The age range where there is greater number of cases with reactive serology for *Entamoeba histolytica* is 45 to 65 years with 14 individuals (40%), followed by the age group from 66 to 86 years with 9 individuals (25.7%). In addition, can indicate that you have between 3 to 23 years of age is a factor of protection for the presence of *Entamoeba histolytica* using the ELISA test in comparison with persons of older age, therefore have between 3 to 23 years is not a risk factor. Of the relationship between the results of the Elisa test for *Entamoeba histolytica* between the HRSJDD, SSU, and PROSALUD health institutions, can demonstrate that being patient in the HRSJDD would be a factor of protection for the presence of *Entamoeba histolytica* by Elisa test, and not a risk factor. With the results obtained, it can be said that the Elisa test for *Entamoeba histolytica*, it is a necessary tool of great value for the diagnosis of amebiasis, and that should be included for the diagnosis of infection by *Entamoeba histolytica*, then allows the clinician to

identify true infections by *Entamoeba histolytica* and proper treatment, that will favor transcendent on the health of the individual and the community.

INDICE

	Páginas
Capítulo I. Introducción	1
1.1 Antecedentes del tema de investigación	1
1.1.1 El problema	3
1.1.1.1 Identificación del problema	3
1.1.1.2 Formulación del problema	5
1.2.2 Justificación y uso de los resultados	5
1.1.3 Objetivos	6
1.1.3.1 Objetivo general	6
1.1.3.2 Objetivos específicos	6
 Capítulo II. Marco Teórico y Contextual	 7
2.1 Marco teórico	7
2.1.1 Historia	7
2.1.2 Epidemiología	14
2.1.3 Taxonomía	15
2.1.4 Morfología	15
2.1.4.1 Morfología de los trofozoítos	16
2.1.4.2 Morfología de los quistes	16
2.1.5 Ciclo biológico	17
2.1.6 Patología	19
2.1.7. Fases y mecanismos de patogénesis	20
2.1.7.1 Lesión inespecífica	21
2.1.7.2 Depresión mucopénica	21
2.1.7.3 Lesión invasiva temprana con invasión superficial	21
2.1.7.4. Lesión invasiva tardía con ulceración profunda	24
2.1.7.5. Úlcera con granulación	24
2.1.7.6. Mecanismos moleculares	24
2.1.8 Cuadro clínico	25
2.1.8.1 Amebiasis intestinal	25
2.1.8.2 Amebiasis extraintestinal	27
2.1.9 Inmunología	28
2.1.9.1 Inmunidad celular	28
2.1.9.2 Inmunidad humoral	30
2.1.9.3 Evasión de la respuesta inmune	33
2.1.10 Diagnóstico	33
2.1.10.1 Diagnóstico microscópico	33
2.1.10.2 Cultivo	35
2.1.10.3 Detección de antígenos	37
2.1.10.4 Detección de anticuerpos	40
2.1.10.5 Análisis de isoenzimas	43
2.1.10.6 Reacción en cadena de la polimerasa	43
2.1.10.7 Reacción en cadena de la polimerasa	44

en tiempo real	
2.1.11 Tratamiento	46
2.2 Marco contextual	46
2.2.1 Departamento de Tarija	46
2.2.2 Instituciones de Salud	47
Capítulo III. Marco metodológico	49
3.1 Enfoque, tipo y diseño de la investigación	49
3.1.1 Enfoque de la investigación	49
3.1.2 Tipo y diseño de la investigación	49
3.2 Población y muestra	49
3.2.1 Población	49
3.2.2 Muestra	50
3.3 Variables de estudio	50
3.3.1 Identificación de variables	50
3.3.2 Diagrama conceptual	51
3.4 Criterios de inclusión y exclusión	51
3.5 Procedimiento para la recolección de la información	52
3.6 Procesamiento y análisis de los datos	52
3.6.1 Datos	52
3.6.2 Material y métodos	52
3.6.2.1 Muestra	52
3.6.2.2 Reactivos	53
3.6.2.3 Materiales	53
3.6.2.4 Técnica	54
3.7 Delimitaciones de la investigación	55
3.8 Cronograma de actividades	56
Capítulo IV. Plan de análisis de los resultados	57
4.1 Presentación de los resultados	57
Capítulo V. Conclusiones	76
5.1 Conclusiones	76
Capítulo VI. Recomendaciones	77
6.1 Recomendaciones	77
Referencias bibliográficas	78
Anexos	

CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN

1.1. Antecedentes del tema de investigación

En todas las publicaciones sobre *Entamoeba histolytica* se mencionan las cifras que, sobre la prevalencia mundial de este protozoo, fueron estimadas por J.A. Walsh en 1988. Según estas, habría al menos 500 millones de personas en el mundo que serían portadoras del parásito. De ellas, 50 millones padecerían amebiasis invasoras cada año y entre 40 y 110 mil pacientes tendrían posibilidades de morir por la patología que produce (1).

Áreas altamente endémicas por *E. histolytica* incluyen la India, el oeste y sur de África, así como ciertas regiones de Sur y Centro América en donde más del 50% de las poblaciones de alto riesgo pueden estar infectadas. Uno de los países latinoamericanos más afectados es México en donde, de acuerdo a un estudio del año 1994, la prevalencia de anticuerpos contra *E. histolytica* en una muestra de 67,668 personas y representativa de la población general, fue de 8,4% (2).

Por otro lado en Nicaragua se ha informado una seropositividad en personas asintomáticas excretoras de quistes de aproximadamente de 7,3% con el uso de un ELISA para la detección de IgG, encontrándose además un pico de prevalencia en el grupo de edad de los 5 a 16 años.

Estudios en la región norte de las Filipinas, utilizando PCR, muestran una prevalencia del 0,96% de infección por *E. histolytica* y del 7,16 % por *E. dispar* en la población general. En Bangladesh se ha informado una prevalencia de 4,2% por *E. histolytica* y de 6,5% por *E. dispar* en niños del área urbana con diarrea y una prevalencia de 1 % por *E. histolytica* y 7% por *E. dispar* en niños asintomáticos del área rural. En Brasil, Braga y cols. reporta un 24,7% de positividad en 335 individuos con un promedio de edad de 14 años (2).

En Venezuela se han reportado tasas variables en la infección por las especies *Entamoeba histolytica/Entamoeba dispar* la cual varía de 6,8% a 42% y distribuidos en 1,8% a 29,5% para las áreas urbanas y hasta 20% en poblaciones rurales, con un mayor porcentaje en los niños. La infección causada por *Entamoeba histolytica* se origina por el contacto directo oral-fecal o a través de aguas o alimentos contaminados con los quistes de las amibas en

estudio. *Entamoeba histolytica* puede vivir en el intestino grueso o invadir la mucosa intestinal causando lesiones intestinales, produciendo síntomas tales como: dolor abdominal, náuseas, fiebre, flatulencias y dolor de cabeza, y signos como: diarrea muco-sanguinolenta, además, puede llegar a colonizar otros órganos: hígado, cerebro, piel y pulmón. Se ha señalado que la enfermedad causada por la especie patógena, está relacionada con ciertos factores como: edad, el mal saneamiento ambiental, la inadecuada eliminación de excretas, el analfabetismo, las condiciones socio-culturales e higiénicas y el hacinamiento (3).

Las prevalencias más elevadas se constatan en países con menor desarrollo socio-económico; muchos de estos se encuentran ubicados en áreas subtropicales y tropicales, sin embargo también pueden provocar infecciones invasoras en zonas frías. Con relación a la prevalencia de las especies en estudio, ésta es variable de acuerdo a las áreas geográficas, a nivel mundial oscila entre 0,5-1% en los países industrializados y de un 50-81% en los países tropicales (1, 3).

En comparación con otros enteroparásitos, la prevalencia de *Entamoeba histolytica* a ser obtenida en nuestra investigación, estaría favorecida en nuestro medio por el mal saneamiento ambiental, precarias condiciones de vida, condiciones higiénicas deficientes, factores de riesgo que juegan un papel fundamental en la transmisibilidad de las infecciones por la especie en estudio, así como la de otras parasitosis. Por estas razones en los últimos años se han realizado considerables esfuerzos en desarrollar técnicas inmunológicas para una fácil detección de *E. histolytica*. De esta forma existen en la actualidad métodos inmunológicos, algunos comercialmente disponibles, que pueden detectar tanto antígenos en heces como anticuerpos en suero y para ambos casos la técnica más utilizada es el ELISA (4).

1.1.1. El problema

1.1.1.1. Identificación del problema

A nivel mundial, la amebiasis está catalogada como la tercera parasitosis causante de muerte y es la segunda enfermedad parasitaria más importante del mundo. Alrededor del 10 a 20 por ciento de la población mundial se considera infectada y el 10 por ciento de esta población sufre de enfermedad, con una letalidad que oscila entre el 0.1 y 0.25 por ciento (en números: 500 millones de infectados, 50 millones de enfermos y entre 40 y 110 mil muertes) (3,5).

A principios del siglo XX, se conocía que algunas personas aparentemente infectadas por *Entamoeba histolytica* nunca desarrollaban síntomas y desaparecían espontáneamente sus infecciones. Esto fue interpretado por muchos investigadores como una indicación de que el parásito tenía una virulencia variable. Sin embargo, Brumpt (1925) sugirió la explicación alternativa de la existencia de dos especies, una capaz de producir la enfermedad invasora a la que propuso *Entamoeba dysinteriae* y una no patógena a la que llamó *Entamoeba dispar*. Medio siglo después, Diamond y Clark (1993), redescubren la hipótesis de Brumpt de 1925, a la luz de estudios bioquímicos, inmunológicos y genéticos para concluir la evidencia de que existen dos especies morfológicamente idénticas, una patógena y otra no patógena, que correspondían a *E. histolytica* y *E. dispar*, respectivamente. Sólo hasta 1997, la OMS aceptó esta hipótesis por comité de expertos, reunidos en Ciudad de México, reglamentando que es un complejo de dos especies, *E. histolytica/E. dispar*, morfológicamente idénticas pero sólo diferenciables mediante patrones isoenzimáticos y por determinación de adhesina en materia fecal o técnicas moleculares (6).

El diagnóstico parasitológico de la amebiasis intestinal está basado en la demostración de trofozoitos de *E. histolytica* en las heces por medio del análisis directo en solución salina, lugol o tinción (hematoxilina férrica o tinción tricrómica), o su demostración en biopsias de la mucosa intestinal o hepáticas.

El examen microscópico de una única muestra de heces lleva a una sensibilidad del 50 al 70%, por lo que se requiere de al menos el análisis de tres muestras diferentes para lograr una sensibilidad del 90% (3).

Hasta la fecha, en el diagnóstico sigue utilizándose el microscopio óptico, con las limitaciones que esto implica. Existen algunas fuentes de error en las técnicas de detección de la enfermedad intestinal. Estos errores provocan sobreestimación del problema. En estos métodos (coproparasitoscópico o ameba en fresco), aún el personal capacitado puede confundir a las amibas con macrófagos o leucocitos que contienen eritrocitos fagocitados. Además como ya se indicó la observación directa de los quistes no permite diferenciar entre *E. histolytica* y *E. dispar* (5, 8). Esto resulta en una sobreestimación del número de casos de amibiasis, en Bolivia hasta el año 2006 no existía un laboratorio que utilice herramientas inmunológicas y materiales que permitan su diferenciación (marcadores de patogenicidad), basándose solo en aspectos morfológicos; a esto se añade que la interpelación clínica de los resultados de laboratorio no tiene un criterio uniforme, y no existe una sistematización documentada de la patogenia involucrada tomando estas previsiones, el INLASA encontró que la prevalencia general encontrada es muy amplia: en el altiplano entre 0,5% a 7,9%, en los valles entre 0% a 22,9% y en el trópico entre 0,4% a 38,6% (7).

Aquí cabe varias preguntas abiertas a todos los responsables del laboratorio clínico: ¿Algunos datos controversiales de *E. histolytica* patógena y no patógena provienen de una confusión entre *E. histolytica* y *E. dispar*? ¿Permite esto cuestionar la validez de los datos epidemiológicos obtenidos? ¿Existe la posibilidad de que algunos de los aislamientos catalogados como *E. histolytica* no patógena sea *E. dispar*? Esto se vuelve singularmente importante, pues mientras más se profundiza, más microheterogeneidad se encuentra entre las cepas de *E. histolytica* que complican mucho más el diagnóstico. Por las razones mencionadas es necesario que a nivel operativo se disponga de métodos diagnósticos más sensibles, sencillos y específicos. En los últimos

años se han realizado considerables esfuerzos en desarrollar técnicas inmunológicas para una fácil detección de *E. histolytica*. De esta forma existen en la actualidad métodos inmunológicos, algunos comercialmente disponibles, que pueden detectar tanto antígenos en heces como anticuerpos en suero y para ambos casos la técnica más utilizada es el enzimoimmunoensayo (ELISA) (4, 5).

El reconocimiento de *Entamoeba dispar* como especie no patógena ha originado implicaciones importantes en el diagnóstico, tratamiento y la epidemiología de la amibiasis. Estudios epidemiológicos a nivel mundial han determinado que la mayoría de las infecciones humanas son causadas por *Entamoeba dispar* en un (88-90%) y que solo un (10 a 12%) son debido a *Entamoeba histolytica*, sin embargo la información sobre la distribución geográfica de estas especies es todavía incompleta, debido a que la metodología utilizada en la mayoría de las investigaciones no discriminan a ambas especies.

1.1.1.2. Formulación del problema

¿Cuál será la prevalencia de anticuerpos para *Entamoeba histolytica* en pacientes que acuden a las diferentes instituciones de salud y esta justificará la inclusión de la prueba inmunoenzimática (ELISA) para el diagnóstico específico de la infección por *E. histolytica*?

1.1.2. Justificación y uso de los resultados.

Los estudios epidemiológicos sobre la prevalencia de la infección por *E. histolytica* no son concluyentes y suelen presentar dificultades de interpretación debido, fundamentalmente, a tres factores. En primer término, al reducido número de sujetos infectados en los que se observa el microorganismo en un examen único de heces. En segundo lugar, a la confusión con otras especies amebianas a partir de la simple observación de trofozoitos o quistes fecales, y por último, a la variabilidad de la detección de anticuerpos antiamebianos en el suero después de la infección (11).

En nuestro país, la prevalencia de la amebiasis está basada en la identificación microscópica del parásito en las heces, pero debido al bajo rendimiento del método y a la imposibilidad real de distinguir entre *E. histolytica* y *E. dispar*, desconocemos la real prevalencia de la infección por *E. histolytica* en la población. El propósito del presente estudio fue utilizar pruebas inmunoenzimáticas (ELISA) para determinar la prevalencia de *E. histolytica* en pacientes que acuden a las diferentes instituciones de salud.

Un grupo de expertos sobre amebiasis de la OMS/OPS/UNESCO ha recomendado el desarrollo de mejores métodos para el diagnóstico específico de la infección por *E. histolytica*, poniendo énfasis en el empleo de técnicas apropiadas para los países en desarrollo (9). Dentro de estas técnicas se considera que el ensayo inmunoenzimático para la búsqueda de antígenos en heces como anticuerpos en suero es la metodología más simple y efectiva para la identificación de individuos infectados con *E. histolytica* (4, 5, 10).

1.1.3. Objetivos

1.1.3.1. Objetivo general

Determinar la seroprevalencia de anticuerpos para *Entamoeba histolytica*, mediante la prueba enzimo-inmunoenzimática (ELISA), en pacientes de diferentes instituciones de salud de la ciudad de Tarija.

1.1.3.2. Objetivos específicos

- Determinar la frecuencia de seroprevalencia de anticuerpos para *Entamoeba histolytica* (ELISA), en pacientes de diferentes instituciones de salud de la ciudad de Tarija.
- Determinar la frecuencia de seroprevalencia de anticuerpos para *Entamoeba histolytica* (ELISA) en pacientes de diferentes instituciones de salud de la ciudad de Tarija, según sexo, procedencia y edad.
- Identificar la relación de la infección por *Entamoeba histolytica* en pacientes de diferentes instituciones de salud con el sexo, procedencia y edad.

CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO Y CONTEXTUAL

2.1. Marco Teórico

2.1.1. Historia

La humanidad ha venido padeciendo desde tiempos inmemoriales el azote de la disentería descrita por Celso e Hipócrates con el nombre de “flujo de vientre”. Hipócrates (460 a 377 AC) reconoció la amebiasis en un paciente con disentería y fiebre. Posteriormente, en el Antiguo Testamento y la Medicina Interna Clásica de Huang Ti (140 a 87 AC) se denominó la disentería (13). El término disentería del griego *dys*: alteración, *enteron*: intestino, aparece en documentos de diversas culturas e idiomas: hebreo, griego, chino, sánscrito, entre otros.

En América las primeras noticias de diarrea, se remontan al 1516 (siglo XVI), en publicaciones en Alcalá de Henares, por Pedro Mártir quien visitó América. Los primeros relatos en México se remontan a 1611, cuando fray García Guerra, Arzobispo de México y Virrey de la Nueva España, falleció al poco tiempo de llegar a México porque presentó un cuadro caracterizado por fiebre y dolor en el área hepática; a su vez, el médico azteca, Martín de la Cruz, la describió y Mateo Alemán planteó la asociación entre disentería y absceso hepático. Luego en el siglo XVIII fue reconocida como una de las enfermedades más graves y epidémicas. En el siglo XIX, Miguel Jiménez en México puntualizó la indicación de la punción y drenaje del absceso hepático (AH) como terapia eficaz con reducción de la mortalidad: «*ofrecían una gran ventaja las punciones hechas con trocar por los espacios intercostales para dar salida al pus del absceso*» (6).

Luego en el siglo XX, Bernardo Sepúlveda se consagró al estudio de la amebiasis y coordinó la publicación de un número especial dedicado a la amebiasis (1936), y estimuló a la OMS y OPS a estudiarla (14).

A mediados del siglo XIX se reconoció un síndrome clínico con manifestación intestinal aunque la etiología no se sabía. Justamente Lambal en Praga (1850) sospechó la etiología parasitaria al describir el primer caso anecdótico, un niño

con disentería en cuya materia fecal demostró la presencia de un protozoo que emitía pseudópodos. Pero sólo hasta 1875, Feder Lösch, en San Petersburgo, encontró amebas en las heces de un agricultor, pero no consideró que éstas fueran la causa de la disentería, sino que mantenían el proceso inflamatorio. Lesh, médico ruso, hizo la descripción microscópica de la ameba patógena obtenida de las heces de un paciente con disentería (13,15).

Luego Koch (1886) en Egipto estudio casos de disentería, encontrando amebas en las úlceras de la submucosa intestinal y demostró la presencia del parásito en lesiones hepáticas; con estos hallazgos casi simultáneamente Esteban Kartulis en El Cairo (1886) realizó 150 autopsias de pacientes que habían fallecido por disentería y observó la presencia de úlceras colónicas descritas por Lösh y Koch; además, demostró la presencia de amebas como agente causal de lo que se llamaba AH tropical y de la disentería tropical, por tanto el AH era secuela de la disentería amebiana. Prontamente otros autores como Hlava en Praga (1887), Councilman y Lafleur en Baltimore (1891) demostraron con pruebas clínicas y anatomopatológicas que la ameba es el agente causal de un tipo específico de disentería y de AH. Simultáneamente, Osler (1890) realizaron la primera descripción del AHA (absceso hepático amebiano) y la colitis, en un médico que falleció; del estudio de este caso Councilman y Lafleur publicaron una monografía sobre patología de la amebiasis en la que introdujeron los términos de *disentería amebiana* y *absceso hepático amebiano*. En 1893 Quincke y Roos describieron los quistes (16,2)

A través del tiempo este parásito recibió diversos nombres como *Amoeba coli*, Lösch (1885); *Amoeba dysenteria*, Councilman y Lafleur (1891); *Entamoeba dysenteriea* por Councilman y Lafleur (1891) y Craig (1905); *Entamoeba tetrágena* por Hartmann (1908); *E. histolytica* por Schaudinn (1903) y Hickson (1909); *Entamoeba hartmanni* por von Prowazek (1912); *Endamoeba dysenteriae* por Kofoid (1920) y *Entamoeba dispar* por Brumpt (1925) (1).

El zoólogo alemán Fritz Schaudinn en 1903, diferenció entre *Endamoeba histolytica* y *Endamoeba coli*; murió en el año 1906 a la edad de 35 años de complicaciones secundarias a una amebiasis adquirida por autoinfección.

Schaudinn decidió llamar a la ameba *histolytica* por ser productora de lisis tisular.

Walker y Sellards en Filipinas obtuvieron pruebas, en personas voluntarias, de que *E. histolytica* es la causa de colitis amebiana y que *E. coli* es un comensal del intestino grueso. Estos autores en 1913 contribuyeron para conocer la patogenicidad de la *E. histolytica* diseñando un estudio para hacer ingerir quistes de amebas en tres grupos de

“voluntarios” de la prisión de Bilibid en Manila concluyendo que *E. histolytica* causa colitis amebiana, que los portadores asintomáticos o “sembradores de amebas”, término propuesto por Martín en 1908, transmiten y pueden desarrollar en cualquier momento la enfermedad amebiana y que *E. coli* es un comensal del intestino grueso. En 1914, Izar desarrolló la técnica de fijación de complemento para determinar la presencia de anticuerpos en pacientes con amebiasis (2,13).

El parasitólogo francés Emile Brumpt (1925), basado en observaciones clínicas y epidemiológicas y estudios experimentales en gatos, señaló la existencia de *E. histolytica* como un complejo de especies morfológicamente iguales a las que denominó

E. dysenteriae causante de la infección sintomática y *E. dispar* encontrada en asintomáticos, sin embargo este planteamiento fue rechazado inicialmente por la comunidad científica internacional en esa época (2,15)

Simultáneamente Boeck y Drvohlav (1925) describieron el primer medio de cultivo mixto, de preparación bifásica a base de huevo en tubo inclinado con solución salina isotónica, en el cual la *E. histolytica* se multiplicaba con relativa facilidad. Dobell y Laidlaw (1926) introdujeron un medio de cultivo mixto enriquecido con arroz como fuente de carbohidratos. Craig (1928-1931) basado en antígenos obtenidos de trofozoitos en estas condiciones intentó desarrollar pruebas para el inmunodiagnóstico de amebiasis con especificidad baja por no contener antígenos puros (17).

Dobell describió el ciclo de vida de la *E. histolytica* en el ser humano, mediante cultivos de una cepa amebiana obtenida de un mono, con base en cuatro formas sucesivas: el trofozoíto, el prequiste, el quiste y la ameba metaquística.

Posteriormente, se estableció que el examen seriado de al menos 3 muestras permite mejorar la sensibilidad del diagnóstico microscópico dado que la expulsión de quistes es intermitente (2).

Eddson-Dew y Maddeson en Durvan (1952) establecieron el valor diagnóstico y epidemiológico del test de difusión en gel. Goldman (1953) desarrolló la técnica de anticuerpos fluorescentes para diferenciar *E. histolytica*. Se utilizaron otros métodos como hemoaglutinación indirecta, la precipitación por el acetato y la contraelectroforesis, demostrando que la presencia de anticuerpos puede persistir por meses o años aun cuando los síntomas o signos de la enfermedad hayan pasado. En diciembre de 1954 la Comisión Internacional de Nomenclatura Zoológica revocó el dictamen de 1928 y legalizó el de *Entamoeba* como nombre genérico suprimiendo el de *Endamoeba* (17).

Shaudinn especificó el nombre de *E. histolytica* teniendo una controversia con Von Prowazek con la *E. hartmanni*. Esta discusión fue dilucidada por varios investigadores entre ellos Faust (1951-1958), Burrows (1957), Hoar (1958) y Freedman y Elsdon-Dew (1959). La diferenciación entre las especies de *E. histolytica* y *E. hartmanni* radica en que los quistes de la primera especie son de tamaño mayor de 10 μ y los de la segunda menores de 10 μ aunque son morfológicamente idénticas siendo la primera patógena y la segunda no.

A partir de los años 60 se desarrollaron nuevos medios de cultivo. Louis Diamond y cols. (1961) desarrollaron la técnica para el cultivo en medio axénico de *E. histolytica* (sin asociación con bacterias) que permitió realizar estudios *in vivo* e *in vitro*. Luego, en 1968 este autor introdujo el medio monofásico TPS-1, que comenzó a tener amplio uso, pero fue remplazado por el TYI-S-33. Para el aislamiento de cepas de *E. histolytica* en medios de cultivos mixtos, se utilizó el medio de cultivo bifásico descrito por Robinson (1968) (18).

Es importante resaltar que la obtención del cultivo axénico de *E. histolytica* permitió el desarrollo de las pruebas inmunológicas para el diagnóstico de la amebiasis, entre las que se han descrito las técnicas de hemoaglutinación indirecta, inmunodifusión, fijación del complemento,

contraelectroforesis, inmunofluorescencia indirecta, ELISA y Western Blot (17,18).

En 1968, Reeves y Bischoff diferenciaron las especies de *Entamoeba* patógena y no patógena, mediante perfiles isoenzimáticos pero sin llegar a distinguir entre cepas patógenas y no patógenas de *E. histolytica*.

En los comienzos de los años setenta se comenzaron a acumular datos que apoyaban la hipótesis de Brumpt de la existencia de dos especies diferentes de *E. histolytica*. Sólo hasta 1978, luego de varios años de investigación, Sargeant y Williams lograron por primera vez, diferenciar por medio de estudios electroforéticos de isoenzimas, cepas de *E. histolytica* aisladas de pacientes con manifestaciones clínicas de amebiasis y portadores asintomáticos, confirmándose que la *E. histolytica* está constituida por cepas patógenas y no patógenas (2).

De esta manera se describieron diferentes zimodemas de *E. histolytica*. Se definió zimodemas como poblaciones de amebas que difieren entre sí en la movilidad electroforética de ciertas enzimas. Así, se estableció un marcador de patogenicidad dado por la presencia de banda β en ausencia de banda α en la enzima fosfoglucomutasa (PGM). Petri y cols. (1987) lograron demostrar, mediante electroforesis con un grupo de sueros inmunes humanos, que la proteína de 170 kDa con mayor antigenicidad correspondía a la lectina galactosa-N-acetil-D-galactosamina (Gal-GalNac lectin).

Braga y cols. (1992) demostraron la similitud entre la lectina de adherencia y la proteína CD59 de las células sanguíneas, por lo que *E. histolytica* evade la lisis inducida por complemento (19-20).

Petri y cols. (1989), identificaron la estructura de la lectina galactosa-N-acetil-D-galactosamina mediante anticuerpos monoclonales, en modelos experimentales. Ésta es una proteína de la superficie del parásito por la cual se adhiere a las células de la mucosa del colon y otras células blanco (21).

Luego estudios con técnicas de inmunofluorescencia con anticuerpos monoclonales demostraron la diferencia de los antígenos de superficie entre las dos especies. Tannich y cols., identificaron las diferencias genéticas entre las cepas patógenas y no patógenas (22).

Diamond y Clark (1993), redescubren la hipótesis de Brumpt de 1925, a la luz de estudios bioquímicos, inmunológicos y genéticos para concluir la evidencia de que existen dos especies morfológicamente idénticas, una patógena y otra no patógena, que correspondían a *E. histolytica* y *E. dispar*, respectivamente. Sólo hasta 1997, la OMS aceptó esta hipótesis por comité de expertos, reunidos en Ciudad de México, reglamentando que es un complejo de dos especies, *E. histolytica/E. dispar*, morfológicamente idénticas pero sólo diferenciables mediante patrones isoenzimáticos y por determinación de adhesina en materia fecal o técnicas moleculares (9).

Se concluyó: Informar en exámenes por microscopia la presencia de quistes como complejo *E. histolytica/E. dispar* y la presencia de trofozoitos con glóbulos rojos en el citoplasma indican la presencia de *E. histolytica*. En pacientes sintomáticos la presencia de títulos altos de anticuerpos está correlacionada con amebiasis invasiva; el concepto de amebiasis es la infección por *E. histolytica* con o sin manifestaciones clínicas. Se recomendó: Idealmente la *E. histolytica* debe ser identificada y tratada, si sólo se identifica *E. dispar* el tratamiento no es necesario y si el paciente tiene síntomas gastrointestinales se deben buscar otras causas; por cultivo no se puede excluir la presencia de *E. histolytica*; en individuos asintomáticos no se recomienda tratamiento cuando se identifica el complejo de *E. histolytica/E. dispar* a menos que haya sospecha de infección con *E. histolytica*, las razones para sospechar infección incluyen títulos de anticuerpos específicos altos, historia de contacto estrecho con un caso de amebiasis invasiva o un brote; en presencia del complejo, en un paciente sintomático, no se debe asumir que sea *E. histolytica* sino deben ser consideradas otras causas; estas recomendaciones son adecuadas para todos los individuos incluyendo homosexuales, embarazadas, HIV, áreas endémicas (9).

A partir de la década de los años noventa se desarrollaron pruebas para detectar antígenos de *E. histolytica* en heces y suero de pacientes sintomáticos o asintomáticos, mediante ELISA o coagulación. Estas pruebas pueden diferenciar *E. histolytica* de *E. dispar* al utilizar anticuerpos monoclonales específicos contra Gal/GalNAc lectina, con sensibilidad y especificidad mayores

a 90%, en áreas endémicas permiten diferenciar infección reciente de pasada (23,24).

Tachibana y cols. (1991) utilizaron la PCR para diferenciar *E. histolytica* patógena y no patógena (4) y usaron la PCR (1992), en el líquido del absceso hepático amebiano, para confirmar el diagnóstico. Acuña-Soto y cols. (1993) aplicaron PCR en muestras de materia fecal para diferenciar *E. histolytica* patógena de no patógena en una población rural de México (25). Con relación a la estructura molecular, Ghosh y cols. (2003) identificaron la estructura del ADN ribosomal de la *E. histolytica* (26).

A partir de 1988, se empezaron a reportar estudios en modelos animales de inoculación de antígenos amebianos para inducir inmunidad protectora, demostrando claramente que los antígenos son capaces de generar respuesta, humoral y celular, que podría ser explorada para el desarrollo de vacunas.

En la actualización más reciente del desarrollo de la vacuna realizado por Stauffer y Ravdin (2003) informan el desarrollo de estudios experimentales utilizando subunidad de Gal/GalNAc lectina recombinante para estimular la respuesta inmune celular y humoral. En el momento hay investigaciones en curso para una vacuna oral (27).

En resumen, la redescrición de la *E. histolytica* con respecto a *E. dispar* reconociéndola como patógena y comensal, respectivamente, ha cambiado claramente la visión en el enfoque del cuadro clínico, el diagnóstico y el tratamiento; se visualiza que la *E. dispar* es más común en la población mundial, lo que ya ha sido informado en algunos países, por lo tanto la infección por *E. histolytica* debe ser realmente menos frecuente. A pesar de todos los avances, actualmente el diagnóstico de laboratorio de uso cotidiano es el examen de materia fecal al microscopio, el que requiere de personal experto dedicado. Por ende, se requieren métodos más precisos, rápidos y económicos asequibles para el clínico alrededor del orbe.

2.1.2. Epidemiología

En todas las publicaciones sobre *Entamoeba histolytica* se mencionan las cifras que, sobre la prevalencia mundial de este protozoo, fueron estimadas por J.A.

Walsh en 1988. Según estas, habría al menos 500 millones de personas en el mundo que serían portadoras del parásito. De ellas, 50 millones padecerían amebiasis invasoras cada año y entre 40 y 110 mil pacientes tendrían posibilidades de morir por la patología que produce (1).

Las prevalencias más elevadas se constatan en países con menor desarrollo socio-económico; muchos de estos se encuentra ubicados en áreas subtropicales y tropicales, sin embargo también pueden provocar infecciones invasoras en zonas frías. Con relación a la prevalencia de las especies en estudio, ésta es variable de acuerdo a las áreas geográficas, a nivel mundial oscila entre 0,5-1% en los países industrializados y de un 50-81% en los países tropicales (1,3).

Áreas altamente endémicas por *E. histolytica* incluyen la India, el oeste y sur de África, así como ciertas regiones de Sur y Centro América en donde más del 50% de las poblaciones de alto riesgo pueden estar infectadas. Uno de los países latinoamericanos más afectados es México en donde, de acuerdo a un estudio del año 1994, la prevalencia de anticuerpos contra *E. histolytica* en una muestra de 67,668 personas y representativa de la población general, fue de 8,4%. Por otro lado en Nicaragua se ha informado una seropositividad en personas asintomáticas excretoras de quistes de aproximadamente de 7,3% con el uso de un ELISA para la detección de IgG, encontrándose además un pico de prevalencia en el grupo de edad de los 5 a 16 años. Estudios en la región norte de las Filipinas, utilizando PCR, muestran una prevalencia del 0,96% de infección por *E. histolytica* y del 7,16 % por *E. dispar* en la población general. En Bangladesh se ha informado una prevalencia de 4,2% por *E. histolytica* y de 6,5% por *E. dispar* en niños del área urbana con diarrea y una prevalencia de 1 % por *E. histolytica* y 7% por *E. dispar* en niños asintomáticos del área rural. En Brasil, Braga y cols. reporta un 24,7% de positividad en 335 individuos con un promedio de edad de 14 años (2).

En Venezuela se han reportado tasas variables en la infección por las especies *Entamoeba histolytica/Entamoeba dispar* la cual varía de 6,8% a 42% y distribuidos en 1,8% a 29,5% para las áreas urbanas y hasta 20% en poblaciones rurales, con un mayor porcentaje en los niños.

En Bolivia hasta el año 2006 no existía un laboratorio que utilice herramientas inmunológicas, y materiales que permitan su diferenciación (marcadores de patogenicidad), basándose solo en aspectos morfológicos; a esto se añade que la interpelación clínica de los resultados de laboratorio no tiene un criterio uniforme, y no existe una sistematización documentada de la patogenia involucrada tomando estas previsiones, el INLASA encontró que la prevalencia general encontrada es muy amplia: en el altiplano entre 0,5% a 7,9%, en los valles entre 0% a 22,9% y en el trópico entre 0,4% a 38,6% (7).

2.1.3. Taxonomía

Reino: Animalia
Subreino: Protozoo
Phylum: Sarcomastigophora
Superclase: Rhizopoda
Clase: Lobosea
Orden: Amoebida
Familia: Endamoebidae
Género: Entamoeba

2.1.4. Morfología

En lo que respecta a *E. histolytica* y *E. dispar* son idénticas morfológicamente y su diferenciación solo puede realizarse con métodos diferentes de los microscópicos, tales como la determinación de patrones de isoenzimas, detección de antígeno y/o análisis de DNA. Solo en aquellos casos en que se observe hematíes fagocitados o se las detecte en especímenes de origen extraintestinal, puede confirmarse desde el punto de vista microscópico que se trata de *E. histolytica*.

2.1.4.1. Morfología de los trofozoítos

Los trofozoítos vivos son pleomórficos y presentan un diámetro que varía entre 10 a 60 μm . Aunque su tamaño promedio es de 15 a 20 μm , en general, los trofozoítos presentes en la heces moldeadas son de menor tamaño que los que

se encuentran en las heces diarreicas o disentéricas que habitualmente miden 20 μm . El citoplasma se encuentra diferenciado en un ectoplasma más externo, claro y bien delimitado, y un endoplasma, de tipo granuloso, con apariencia de “vidrio molido” (1). En su interior pueden contener bacterias, restos de eritrocitos, leucocitos y/o pequeñas vacuolas digestivas o de excreción. La presencia de eritrocitos fagocitados permite identificar a *E. histolytica*, ya que *E. dispar* no es capaz de ingerirlos. Esta particularidad es la única que permite distinguir desde el punto de vista morfológico, ambas especies. Su único núcleo, excéntrico es esférico, mide de 4 a 7 μm de diámetro y solo visible en preparados coloreados. Tiene una delicada membrana acromática bordeada por una fina capa periférica de cromatina, bien repartida y dispuesta regularmente. Presenta un pequeño cariosoma esférico (0,5 μm de diámetro), a menudo ubicado centralmente (fig. 1). Presenta locomoción rápida y unidireccional, por medio de pseudópodos hialinos, con forma de “dedo de guante”, a menudo extendido explosivamente, sin diferenciación perceptible entre ectoplasma y endoplasma (1, 12, 28).

2.1.4.2. Morfología de los quistes

Son la forma infectiva, independientemente del número de núcleos que posean. Predominan en las deposiciones de los portadores asintomáticos o de quienes padecen formas leves de la enfermedad. Son esféricos, con un diámetro comprendido entre 10-20 μm (usualmente miden 12 a 15 μm). No poseen fibrillas ni flagelados intraquísticos. Se reconocen dos tipos de quistes inmaduros y maduros. Sus paredes, de un espesor de 125 – 150 nm, son estructuralmente rígidas, porque contienen quitina, lo que les confiere resistencia a diferentes condiciones ambientales y a los desinfectantes (1).

En el citoplasma de los quistes inmaduros se observan cuerpos cromatoides altamente refractarios, con bordes suaves y redondeados, y una vacuola de glucógeno distintiva, presentan uno o dos núcleos. Los quistes maduros se originan por divisiones nucleares sucesivas de los quistes inmaduros, contiene 4 núcleos. Durante el proceso de transformación de quiste inmaduro a maduro, desaparece la vacuola de glucógeno (fig. 1). La morfología de los núcleos es

similar a la de los trofozoítos, sus características sólo se visualizan en preparados coloreados y no son tan claramente visibles como en los trofozoítos, la cromatina se dispone periféricamente, como gránulos finos y uniformes. El cariosoma, pequeño y central, puede presentarse excéntrico. (1, 12,28)



Figura 1. Panel E. y F. Quiste de *E. histolytica* en una preparación salina (x1000). Panel G. Quiste de *E. histolytica* en heces en un preparado con lugol (x1000). Panel H. Trofozoito de *E. histolytica* con un eritrocito fagocitado en heces en una preparación salina (x1000). Panel I. Trofozoito de *E. histolytica* en heces con coloración tricrómica (x1000). Dr. Harrison Juniper. 2003

2.1.5. Ciclo biológico

Su ciclo de vida se desarrolla en dos estadios: quistes infecciosos y trofozoítos invasores. Se transmite a través de los quistes y el hombre es el único reservorio. La puerta de entrada es la oral. La infección se produce por la ingesta de quistes maduros, junto con agua o alimentos contaminados previamente con materia fecal humana (fig.2). Una vez ingeridos y mientras se encuentran en el estómago, el pH comienza a actuar, si bien no sufren cambios, una vez que pasan a intestino delgado, donde las condiciones ambientales varían porque se eleva el pH, que llega a la neutralidad o a valores ligeramente alcalinos, los organismos enquistados se activan y sus paredes se disuelven por acción de las enzimas pancreáticas, produciéndose la exquistación en la luz del intestino. Se liberan cuatro trofozoítos, denominados trofozoítos metaquísticos que se dirigen al intestino grueso. Una vez allí se

transforman en trofozoítos normales y cada uno de estos trofozoítos sufre una fisión binaria, generándose de este modo ocho trofozoítos uninucleados, que se adhieren a las células epiteliales y al mucus del colon, permaneciendo en la luz del ciego y del intestino grueso. Los trofozoítos se reenquistan en la luz del colon, resultando en la excreción de los quistes en las heces y continuando el ciclo de vida. (1,12)

Es importante destacar que la formación de los quistes se produce en el tracto intestinal y que independientemente de que los quistes contengan uno, dos o cuatro núcleos, representan el modo de transmisión de un hospedador a otro. Los trofozoítos pueden invadir el epitelio del colon y en algunas oportunidades, luego de penetrar la mucosa intestinal, pasar al torrente sanguíneo diseminándose por vía hematogena y dando lugar a infecciones extraintestinales (1, 12, 28, 29).

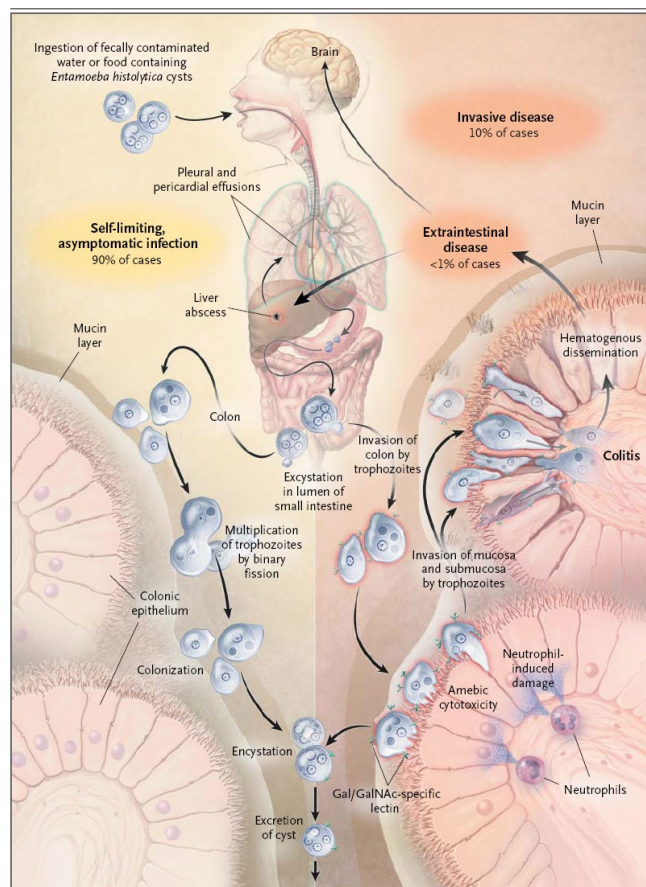


Figura 2. Ciclo de vida de *E. histolytica*. Hughes M, Houpt E, Petri WA Jr. 2003

2.1.6. Patología

Desde Councilman y La fleur, los aportes a la descripción patológica son pocos. La amebiasis intestinal puede presentar un espectro de alteraciones anatómicas, de acuerdo con su localización, que puede ir de una colitis ulcerativa a una apendicitis amebiana, pasando por el megacolon tóxico y el amebota (1).

El hallazgo anatomopatológico típico son las úlceras localizadas en el colon, predominantemente en el ciego, el sigmoide y el recto. Estas úlceras presentan dos patrones claramente definidos: nodular e irregular. Las úlceras nodulares son redondeadas, de un diámetro entre 1 y 5 mm, con áreas de mucosa ligeramente elevadas y áreas necróticas, deprimidas o hemorrágicas, rodeadas por un borde de tejido edematoso. A menudo estas áreas están llenas de un material mucoso y amarillento, denominadas "úlceras en botón de camisa", en las cuales pueden verse trofozoítos (figura 3) (12,29). En ocasiones, estas lesiones pueden llegar a cubrir la mayor parte de la mucosa del colon, causando edema y eritema en las áreas mucosas que no se encuentran comprometidas. Las úlceras irregulares tienen 1 a 5 cm de longitud y se encuentran habitualmente en el ciego y el colon ascendente, sus márgenes suelen ser elevados y edematosos, y la úlcera se llena de fibrina. Cuando las úlceras son grandes, las áreas de mucosa sin compromiso se encuentran congestivas y edematosas.

Ambos cambios morfológicos pueden encontrarse en un mismo paciente, con extensas áreas de denudación superficial. Los hallazgos microscópicos se describen en cinco etapas: lesión inespecífica, depresión mucopénica, lesión invasiva temprana con ulceración superficial, lesión invasiva tardía con ulceración profunda y la úlcera en granulación (30). Dado que estas etapas son la manifestación de cada una de las fases de la patogénesis, se las describirá junto con ellas.

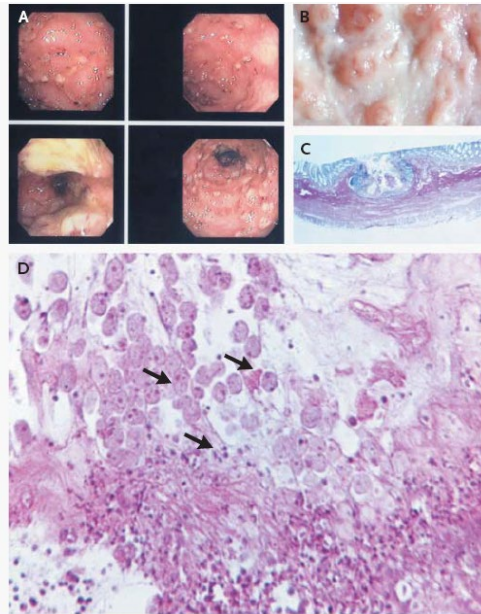


Figura 3. Panel A y B. Colon, capa mucosa con múltiples úlceras en botón de camisa. Panel C. Corte histológico, úlcera colónica (hematoxilina y eosina x20). Panel D. Múltiples trofozoitos de *E. histolytica* (hematoxilina y eosina x100). Dr. Harrison Juniper 2003

2.1.7. Fases y mecanismos de la patogénesis

El proceso de invasión desarrollado por *E. histolytica* es uno de los más elaborados entre los patógenos intestinales. La capa de mucina que recubre el epitelio del colon es el principal obstáculo para invadirlo, por lo que desarrolló sofisticados mecanismos para penetrarla. En 1970, Prathap y Gilman publicaron una clasificación de las úlceras amebianas de acuerdo con su apariencia microscópica (30). Posteriormente, se vio que esta descripción coincidía adecuadamente con las fases de la patogénesis, con la intervención de diversos mecanismos moleculares en cada fase, tanto del hospedero como del patógeno. Las fases de la patogénesis son tres: colonización, disminución o disrupción de la mucosa y enlace, y lisis de las células epiteliales del colon del hospedero (31). Si bien la infección es un proceso dinámico que involucra factores del hospedero y del agresor, la revisión se centrará predominantemente en el papel del agresor y sus mecanismos moleculares.

2.1.7.1. Lesión inespecífica

Se observa engrosamiento de la mucosa, hiperplasia glandular y edema del estroma. Durante esta fase ocurre la etapa de colonización y se inicia la fase de disrupción de la mucosa. La adherencia del trofozoíto es difícil debido a las cargas negativas de la capa mucosa, pero por medio de la lectina galactosa–N-acetil-Dgalactosamina se adhiere a ésta. Una vez adherida, secreta una serie de proteínas, entre ellas las proteasas de cisteína, por medio de las cuales causa un efecto paradójico: promueve la producción de mucina y su secreción a la luz intestinal, lo que lleva a hiperplasia glandular (30,32).

2.1.7.2. Depresión mucopénica.

En esta etapa se aprecian lesiones mucopénicas, pequeñas depresiones asociadas a pérdida de mucosa, con adherencia de los trofozoítos a ellas. El mecanismo propuesto es que las células caliciformes encargadas de la producción de mucina agotan su capacidad de reponer la mucina destruida por el trofozoíto (30). Si bien la lectina permite la adherencia del trofozoíto, ésta puede ser inhibida por la misma mucina, por lo que, al parecer, es necesaria la alteración de las mucinas por un mecanismo a distancia a cargo de proteasas y otras sustancias. Se conoce la capacidad de *E. histolytica* de secretar glucosidasa, manosidasa, galactosidasa, fucosidasa, xilosidasa, glucuronidasa y N-acetil-D-galactosaminidasa, entre otras, y en asociación con las proteasas de cisteína, de abrirse paso a través de la capa mucosa; así se completa la fase de reducción/disrupción de la mucosa. (30,12)

2.1.7.3. Lesión invasiva temprana con invasión superficial.

Durante esta fase clave se presentan tres fenómenos: erosión epitelial superficial, focos de microinvasión interglandular e infiltración de la lámina propia, completándose así el trío de acciones que implican la patogenia clásica (30).

Durante la erosión epitelial superficial, los trofozoítos alcanzan la superficie de la luz de los enterocitos e inician un proceso de lisis que depende del contacto. In vitro se determinó que este complejo proceso se desarrolla en varios pasos:

adhesión, daño dependiente del contacto (hit and run) a la membrana plasmática, fagocitosis y degradación intracelular de las células ingeridas. Estos eventos se relacionan con tres tipos de moléculas: la lectina galactosa–N-acetil-D-galactosamina (Gal-GalNac lectin), los amebaporos y las proteasas de cisteína (30,12).

La lectina Gal-GalNac se liga a los residuos galactosa–N-acetil-D-galactosamina de las glucoproteínas de la célula blanco. Otras moléculas que participan en la adhesión son una lectina de 220 kd, una adhesina de 112 kd y un lipofosfoglucono. La lectina Gal-GalNac tiene otras funciones, como se describe más adelante. Es uno de los principales factores de virulencia y su bloqueo interfiere en la capacidad de adherirse e invadir (30,12).

Una vez se ha logrado la adhesión y el contacto con la célula blanco, ocurre una rápida lisis celular, lo que lleva a edema, vacuolización de la membrana y lisis de la célula blanco, la cual puede ser linfocitos, neutrófilos o macrófagos.

La proteína amebaporo se ha encontrado en lisados de trofozoítos de *E. histolytica* y se han determinado muchas de sus características químicas y físicas. In vitro se ha apreciado su efecto citolítico contra una gran variedad de líneas celulares humanas, y actualmente se sabe que se ubica dentro de las vesículas citoplasmáticas; sin embargo, no se ha logrado demostrar que participe en los procesos de lisis celular. No se han logrado obtener indicios de su secreción extracelular y, al parecer, su función es la de lisar las bacterias fagocitadas como mecanismo de defensa (30).

Las proteasas de cisteína son un grupo de proteínas con habilidad de degradar la matriz extracelular y que participan en los procesos de lisis celular. Una vez que es penetrada la capa de enterocitos luminales, se establecen unos focos de microinvasión interglandular que se aprecian como zonas de erosión epitelial superficial con invasión de trofozoítos entre las glándulas del colon. En este punto, los trofozoítos penetran y se trasladan hacia capas más profundas; tienen que lisar los enterocitos circundantes y la matriz extracelular para seguir avanzando, llevando a cabo una lisis celular continua, una invasión a través de la locomoción y la degradación de la matriz extracelular.

No se ha explicado completamente la lisis celular continua de esta fase. Se evidenció que, aparte de la habilidad de lisar por sí misma a las células blanco, por un mecanismo no del todo conocido, *E. histolytica* induce la caspasa humana 3 que lleva a apoptosis de las células (33), pero al parecer es inducido por la lectina Gal-GalNac y por los mecanismos de señalización basados en quinasas transmembrana. Además, la fagocitosis de células apoptóticas es más rápida que la de células previamente sanas, lo que demuestra que ésta es una forma importante para que el trofozoíto consiga nutrientes. Por otra parte, el trofozoíto atrae neutrófilos que infiltran la lámina propia, fenómeno mediado principalmente por la interleucina 8, cuya expresión y secreción por las células epiteliales intestinales son inducidas por los trofozoítos (30); los trofozoítos también bloquean otras rutas quimiotácticas, aparentemente con el fin de atraer sólo polimorfonucleares.

Los neutrófilos al ser atraídos por el trofozoíto se exponen a ser lisados por éste y así aumentan la lisis tisular, lo que permite a *E. histolytica* continuar su expansión por la mucosa y la submucosa. El trofozoíto resiste la acción tóxica del neutrófilo gracias a una ferro-superóxido dismutasa y el peróxido producido se elimina a través de una proteína rica en cisteína, de 29 kd, que suple la catalasa que no contienen los neutrófilos (12,30).

El citoesqueleto de *E. histolytica* le permite realizar dos funciones importantes para la patogénesis: la locomoción y la fagocitosis. Esto se logra mediante la polimerización de la actina, la cadena pesada de la miosina II y un conjunto de proteínas ligadoras de calcio, además de otros mecanismos de señalización intracelular (34,36). La lectina Gal-GalNac, a través de una serie de quinasas transmembrana relacionadas, induce cambios estructurales en el trofozoíto y en la célula blanco a través de mecanismos no identificados, para formar una placa de anclaje (35,36). Después, la miosina pesada II y la actina interactúan “contrayendo” el trofozoíto, que de esta manera avanza. Durante el proceso de fagocitosis, el reconocimiento de la célula blanco depende nuevamente de la lectina. Así, el trofozoíto penetra rápidamente por la mucosa y la submucosa, extendiendo la invasión a capas más profundas. Las proteasas de cisteína (caspasas) juegan un papel importante en esta etapa, dado que permiten

degradar casi todos los componentes de la matriz extracelular y su actividad depende de la virulencia del trofozoíto. Los principales componentes destruidos por las proteasas son laminina, colágeno tipo I y IV, y fibronectina (37).

2.1.7.4. Lesión invasiva tardía con ulceración profunda

A medida que avanza la invasión, la úlcera se extiende profundamente en un área mayor de la submucosa, dado que el tejido subyacente al epitelio interglandular ofrece menor resistencia, lo que da lugar a las típicas úlceras en botón. Para obtener el hierro necesario para su supervivencia, el trofozoíto procesa los eritrocitos fagocitados por medio de hemoglobinasas. En este momento se aprecia una notable infiltración por células como neutrófilos, macrófagos y algunos linfocitos. Llama la atención la pasividad de los macrófagos, secundaria a la alteración del perfil de citocinas inducido por el parásito, con disminución de la secreción de IL5, IL6, IFN γ , y FNT α . El macrófago, previamente activado con IFN γ , es la única célula capaz de enfrentar con éxito al trofozoíto y fagocitarlo (30).

2.1.7.5. Úlcera en granulación

La proliferación de pequeños vasos indica curación de la herida y es el marcador de esta etapa. No se tienen reportes que permitan saber si esta etapa ocurre espontáneamente o depende del tratamiento (30).

2.1.7.6. Mecanismos moleculares

Lectina galactosa-N-acetil-D-galactosamina (Gal-GalNac lectin). Se trata de una molécula compuesta por un heterodímero entre una cadena pesada (170 kd) y una liviana (35/31 kd) (13). Su principal papel es la adhesión celular, la cual es uno de los mecanismos patógenos más importantes, dado que si es bloqueado, el trofozoíto pierde su capacidad invasora. No se ha determinado si participa directamente en el proceso de lisis, aunque puede estar implicada en la activación de la caspasa humana 3 e inducir apoptosis (33). Es parte fundamental de los mecanismos de locomoción y fagocitosis del trofozoíto. Dado su parecido estructural, presenta reactividad antigénica cruzada con CD-

59, por lo cual inhibe la formación del complejo de ataque a membrana. *E. dispar* también presenta esta molécula que, por lo tanto, si bien es indispensable para el proceso de invasión, no es la única responsable del mismo (30,36).

Amebaporo. Esta proteína está formada por 4 hélices alfa y existen 3 isoformas denominadas A, B, y C, de las cuales la C es la más activa. Forma canales que permiten el paso de iones, agua y moléculas pequeñas, lo cual altera el equilibrio osmótico de la célula y lleva a su lisis. Ejercen actividad citolítica in vitro contra varias líneas celulares humanas y se localizan en vesículas citoplasmáticas del trofozoíto de ambas especies. No se ha demostrado que sean secretadas por los trofozoítos, así que su actividad es intracelular para digerir las células previamente fagocitadas (30). Su estructura es muy similar a la de otras proteínas porinas (38).

Proteasas de cisteína. Se trata del más abundante tipo de proteasas presente en *E. histolytica*; son seis proteasas de cisteína (ehcp 1-6) y la de mayor importancia es la ehcp-5 (30,32,37). Son muy importantes en la adquisición de nutrientes y el desarrollo del ciclo de vida, así como en la invasión del hospedero. Es conocida su actividad contra diversos componentes de la matriz extracelular, pero también se ha descrito un efecto citopático directo. Se sabe que la ehcp-5 rompe la capa de mucina en su dominio carboxi-terminal, lo cual favorece la invasión (39). Se han descrito, además, sus efectos en la evasión de la inmunidad, por degradación directa de la IgA, y en la disrupción de la IgG que confiere resistencia a la lisis mediada por complemento e interrumpe la amplificación de la respuesta inmune por degradación de anafilo-toxinas C3a y C5a. Existen diferencias entre las proteasas de cisteína de *E. histolytica* y de *E. dispar*, en lo cual puede estar la clave de la capacidad patógena de la una y la inocuidad de la otra (32).

2.1.8. Cuadro clínico

2.1.8.1. Amebiasis intestinal

La forma más frecuente de presentación de la amebiasis es la infección intestinal no invasora asintomática, que se caracteriza porque no se pueden

identificar trofozoítos hematófagos y sangre en las muestras de materia fecal, y porque la mucosa colónica es normal en la endoscopia. Las formas clínicas predominantes de amebiasis intestinal invasora son la disentería o rectocolitis amebiana y la diarrea aguda sanguinolenta, que pueden afectar a ambos sexos y a todos los grupos de edad, en los lactantes puede producir hemorragia rectal sin diarrea (1).

La disentería amebiana se caracteriza por presentar varias deposiciones por día, mucosanguinolentas y poco abundantes, acompañadas por dolor cólico moderado que precede a la evacuación, y tenesmo rectal. Solo un tercio de estos cuadros son acompañados de fiebre y generalmente esta no supera los 38,5°C. Mucho menos frecuentes son las colitis fulminantes, los amebomas, las apendicitis amebianas y las lesiones perianales (1,29).

Las colitis amebianas fulminantes pueden llevar a la muerte, afectan comúnmente, a pacientes con mal estado general, mujeres embarazadas, pacientes tratados con corticoesteroides y niños pequeños. El cuadro clínico se caracteriza por evacuaciones muy frecuentes (20 o más por día) de heces sanguinolentas o heces sola, dolor cólico intenso, tenesmo rectal constante y agudo, náuseas, anorexia, fiebre de 39 a 40°C, deshidratación e inestabilidad hemodinámica que puede incluso derivar en shock. Dos complicaciones graves pueden hacer el cuadro más ominoso aún, la perforación intestinal derivada de las zonas necróticas del colon, y el megacolon tóxico que si no responde a la terapia farmacológica, es necesario realizar una colectomía. Los amebomas se ubican en el ciego, colon ascendente y rectosigmoides, clínicamente se manifiestan con deposiciones disentéricas o diarrea sanguinolenta, dolor abdominal y una masa abdominal palpable. Los síntomas y signos de las apendicitis amebianas son similares a los de las bacterianas. Pueden existir amebiasis cutáneas secundarias a una infección intestinal, se producen en la región genital y puedan ser ulcerosas o condilomatosas, producen dolor y hemorragia. Además de los síndromes agudos, la amebiasis intestinal puede ser causa de un síndrome crónico no disentérico, caracterizado por cuadros de diarrea mucosa intermitente, dolor abdominal, flatulencias y pérdida de peso, acompañados por inflamación colónica crónica de menor intensidad, pequeñas

ulceras, identificación de trofozoítos hematófagos, presencia de anticuerpos anti *E. histolytica* y buena respuesta a drogas antiamebianas (28,29).

Otros autores consideran que, en algunos pacientes luego de un episodio agudo de colitis amebiana, se podría instalar un cuadro crónico denominado colitis ulcerosa posdisentérica, caracterizado por diarreas mucosanguinolentas recidivantes con compromiso del estado general, sin identificación de trofozoítos en materia fecal, que no responde a drogas antiamebianas y se presentan títulos altos de anticuerpos contra *E. histolytica*..

2.1.8.2. Amebiasis extraintestinal

El absceso hepático amebiano es la manifestación más común de las amebiasis extraintestinales. Hacer un diagnóstico temprano es un desafío, pues los síntomas y signos pueden no ser específicos y muchas veces imitan a los de otras patologías. Pueden presentarse en forma aguda, evolución <10 días, o subaguda, hasta 6 meses de evolución (1). El síntoma más común es el dolor abdominal en el cuadrante superior derecho, que puede ser sordo o agudo, y que frecuentemente es referido al hombro derecho. Los pacientes con evolución rápida habitualmente tienen fiebre, pero ésta sólo se presenta en el 50% de los subagudos. Un grupo de pacientes (10-15%) presenta fiebre moderada sin dolor abdominal, por lo que hay que incluir a los abscesos amebianos entre las causas probables de fiebre de origen desconocido (1,29). Sólo la tercera parte de los abscesos amebianos pueden coincidir con cuadros de diarrea por amebiasis intestinal. Los principales diagnósticos diferenciales se deben realizar con abscesos piogénicos, quistes hidatídicos y tumores necróticos de hígado.

La amebiasis pleuropulmonar es una complicación frecuente de los abscesos hepáticos (20-30%). Además se pueden constatar derrames serosos, consolidaciones o abscesos, empiema o fístulas hepato-bronquiales. La amebiasis peritoneal es la segunda complicación más frecuente del absceso hepático; la amebiasis pericárdica es la complicación más seria de los abscesos hepáticos amebianos, se caracteriza por presentar intenso dolor precordial, disnea e hipertensión venosa general (15,16,28).

El absceso cerebral amebiano es la manifestación menos frecuente de las amebiasis extraintestinales, la infección puede ser mortal se da en pacientes inmunocomprometidos.

2.1.9. Inmunología

En los últimos años, las técnicas de genética molecular y los nuevos modelos de experimentación han enseñado mucho acerca de la patogénesis de la amebiosis, pero a pesar de su importancia, persisten interrogantes acerca de la respuesta inmune frente a la infección por este parásito. Hallazgos característicos en la inmunidad celular y humoral han sido detectados en pacientes con esta enfermedad.

2.1.9.1. Inmunidad celular

La invasión tisular por la *E. histolytica* induce supresión de la respuesta inmune celular, hay evidencia que la respuesta celular en la infección amebiana está relacionada con inmunidad protectora la cual emerge luego de la recuperación de la amebiasis invasiva. La modulación de la función de los macrófagos es multifactorial, tienen gran actividad amebicida cuando son activados *in vitro* por interferón gamma (INFgamma), factor de necrosis tumoral alfa (FNTalfa), lipopolisacáridos y factor estimulante de colonias 1 (FEC-1) y en la infección por *E. histolytica* se asocia con alteración en su función, la ameba patógena causa lisis directa de los macrófagos y otras células (40).

Varios estudios *in vivo* e *in vitro* han evidenciado alteración en la función efectora y accesoria de los macrófagos, los cuales se vuelven refractarios a la activación por INF gamma y lipopolisacáridos, se reduce la habilidad para presentar antígenos a linfocitos T por disminución en la expresión del complejo mayor de histocompatibilidad II, aumento en la producción de metabolitos del ácido araquidónico principalmente la prostaglandina E2, leucotrienos C4 y B4 que disminuyen la producción de proteínas y promueven la formación de granulomas, defectos en la producción de interleuquinas y FNTalfa (necesarios para la formación de oxido nítrico, activación de granulocitos, fibroblastos, macrófagos y adherencia y migración de neutrófilos), modulación en la

producción de metabolitos oxidativos (H_2O_2 , O_2^-) y no oxidativos (óxido nítrico) e ineffectividad en la lisis amebiana.

Aunque las alteraciones en la función de los linfocitos están menos caracterizadas, tienen un papel importante en la estimulación de macrófagos y activación de células T, muestran actividad amebicida directa y producen interleuquina 2 (IL-2), INFgamma y factor de necrosis tumoral beta (FNTbeta) (respuesta Th1) necesarios para una inmunidad efectiva contra la ameba. Estudios de Salata reportan muerte en el 92 % de trofozoitos por células T CD8+, que requiere un mecanismo de adherencia secuencial y posterior citolisis, estos mecanismos amebicidas de los linfocitos continúan en estudio. Así, la activación antígeno-específica de células T, la producción de citoquinas y la actividad efectora de estas células son un componente importante de la inmunidad contra *E. histolytica* (40).

Durante la infección los linfocitos T no proliferan a diversos estímulos (fitohemaglutinina y concavalina A). En adición, existe una relación CD4⁺/CD8⁺ menor que en pacientes no infectados lo cual retarda el desarrollo de inmunidad celular antígeno-específica. Estudios recientes han mostrado una promoción a la producción de linfoquinas respuesta Th2 que conllevan a disminución en la proliferación de células T y activación deficiente de macrófagos en respuesta a antígenos amebianos (40).

También se ha visto incapacidad de los neutrófilos para destruir la *E. histolytica*, al parecer ésta escapa a la actividad citotóxica de las moléculas liberadas por los neutrófilos a través de diversas enzimas como la superóxido dismutasa que liga hierro, la oxido reductasa de NADPH-flavina, la oxidasa de NADPH generadora de H_2O_2 y otros mecanismos aún no explicados. No hay evidencia de cómo el parásito escapa a las moléculas citotóxicas de los neutrófilos, alternativamente se ha especulado que los neutrófilos presentes en la lesión no se encuentran activados dado que se ha evidenciado su actividad amebicida cuando han sido previamente activados con INFgamma o FNT alfa. Lo contrario ocurre con la *E. dispar* contra quienes son altamente efectivos en eliminarla en las primeras 96 horas luego de la inoculación (30).

Los eosinófilos, al igual que los neutrófilos y los macrófagos, son destruidos por la *E. histolytica in vitro*, sin embargo, si los eosinófilos se encuentran activados son amebicidas. Los eosinófilos se encuentran en fases tempranas de la enfermedad en contacto directo con el trofozoíto y la presencia de eosinofilia se asocia a protección contra la infección, mientras la presencia de eosinopenia se asocia con mayor mortalidad, sugiriendo una participación activa del eosinófilo en la protección de amebiosis invasiva.

La identidad de las moléculas amebianas involucradas en la modulación de la respuesta inmune del huésped es desconocida. Los receptores y la interacción con estos, las vías de transducción que son usadas y los elementos de regulación genética deben ser elucidados y es probable que más de una molécula se encuentre involucrada. La lectina de adhesión y la proteína rica en serina de *E. histolytica* tienen efectos inmunoprotectores más que inmunosupresores (40).

2.1.9.2. Inmunidad humoral

No hay duda que la infección por *E. histolytica* provoca una respuesta humoral, los anticuerpos son producidos en amebiasis sintomática pero también en amebiasis asintomática probablemente como resultado de invasión subclínica controlada (40).

Se ha demostrado el aumento de anticuerpos circulantes en pacientes infectados por *E. histolytica*, predominantemente la IgG que puede detectarse una semana luego de iniciados los síntomas en humanos y animales de experimentación (13). Estos anticuerpos, principalmente la IgG persisten años después de resuelta la amebiasis invasiva. Luego de 2 a 6 semanas, del inicio de los síntomas, la IgG puede ser detectada por diferentes métodos (13,16). Los títulos elevados no se relacionan con la severidad clínica o pronóstico, pero coinciden con estadios tempranos de la enfermedad, los cuales con el tratamiento caen a velocidades variables. Análisis estadísticos indican relación entre amebiasis activa y aumento de la concentración de IgG, los pacientes con AHA muestran niveles más altos de IgG que aquellos con colitis amebiana o pacientes sanos ($p < 0,001$) (49).

En estudios seroepidemiológicos el 81-100 % de los pacientes con AHA y un porcentaje menor (50 %) de pacientes con colitis amebiana desarrollan IgG específica para *E. histolytica*. Un bajo porcentaje de falsos negativos puede ser debido al desarrollo tardío en la producción de anticuerpos y resultados falsos positivos se encuentran más frecuentemente en áreas endémicas por infecciones pasadas. La IgA y IgE séricas también pueden aumentarse aunque en menor grado, no muestran correlación con amebiosis invasiva (AHA o colitis amebiana), siendo sus valores séricos similares con los de pacientes asintomáticos y con patrones diferentes de evolución luego del tratamiento (40).

Niveles elevados de IgM se correlacionan con pacientes con AHA ($p < 0,01$), pero no en pacientes con colitis amebiana comparados con controles ($p > 0,1$); sin embargo, en otro estudio se encontró IgM específica contra lectina de adhesión hasta en el 45 % de pacientes con colitis amebiana (41,42).

Niveles elevados de IgA secretoria se encuentran en pacientes con AHA, tanto en pacientes con enfermedad aguda como en pacientes con enfermedad ya tratada hasta 8 meses previos ($p < 0,002$). Esta inmunoglobulina se ha encontrado en saliva, leche materna y heces de pacientes con amebiasis invasiva. La IgA secretoria bloquea la adherencia de trofozoitos a las células epiteliales intestinales, se ha destacado su papel protector en resistencia a la reinfección, aunque de manera transitoria.

Se ha visto que las cisteinproteasas de la *E. histolytica* degradan tanto la IgA como la IgG, lo cual puede limitar la efectividad de la respuesta humoral del huésped (30).

El suero de pacientes con amebiasis invasiva previa o pacientes infectados que tienen títulos altos de anticuerpos contra el trofozoíto de *E. histolytica* es amebicida a través de activación del complemento, generando componentes que pueden lisar la *E. dispar* y a los cuales escapa la *E. histolytica* su resistencia esta dada en virtud a la lectina de adhesión que tiene reactividad cruzada antigénica con la proteína CD59 de las células sanguíneas (30). Esta proteína CD59 también denominado inhibidor de membrana de la lisis reactiva, es el principal inhibidor de membrana del complejo de ataque de membrana

(estructura de poros liposoluble que produce la lisis osmótica de las células). Su presencia en las membranas de las células del huésped (eritrocitos, linfocitos, monocitos, neutrófilos, plaquetas, células endoteliales, células epiteliales) y su ausencia en las superficies de los agentes infecciosos (bacterias, protozoos) da lugar a una inhibición selectiva de la activación del complemento en las células del huésped pero no en los microorganismos, así el sistema de complemento distingue entre lo propio y lo no propio.

De otra parte, las anafilotoxinas C3a y C5a (potentes estimulantes de respuesta inflamatoria) son degradadas por cisteinproteasas amebianas, mecanismos que se han implicado en la patogenia de la amebiasis, considerándose un factor necesario para la invasión o diseminación *in vivo* (30,32)

La contribución de la respuesta humoral a la inmunidad protectora no ha sido establecida, aparentemente no previene infecciones posteriores que pueden ocurrir inclusive con títulos altos de anticuerpos, sin embargo el suero inmune tiene efectos citolíticos sobre trofozoitos, inhibe su crecimiento, neutraliza la virulencia e inhibe la eritrofagocitosis, lo cual sugiere el papel protector de los anticuerpos, y aunque para algunos autores esto es discutible, lo que no se pone en duda es su valor en el diagnóstico y en estudios epidemiológicos de la amebiasis. Para la detección de anticuerpos se encuentran disponibles varios métodos para el diagnóstico de amebiasis, estas pruebas pueden permanecer positivas por meses o años, por lo que es necesario darles valor, dado que una reacción positiva puede corresponder a una infección amebiana pasada (8).

En estudios de AHA se han determinado niveles de IgM y se ha observado que su presencia no es tan marcada como ocurre con IgG y por tanto no diferencia una infección pasada y de una reciente, en el estudio de Pinilla y colaboradores se reporta una sensibilidad de 18 % y especificidad de 100 % para un punto de corte de 0,511 de ELISA IgM, otro estudio utilizando detección de IgM específica contra lectina de adhesión tiene mayor sensibilidad (43).

2.1.9.3. Evasión de la respuesta inmune

La respuesta inmune frente a la infección por *E. histolytica* está dada, principalmente, por inmunidad innata inespecífica. El principal mecanismo de defensa es la secreción de mucina, y una vez éste es sorteado, se facilita el proceso de invasión. Los neutrófilos infiltran la mucosa luego de la liberación de IL8 por las células epiteliales intestinales, la cual es inducida por el trofozoíto. El reconocimiento del parásito se logra por medio de receptores similares a Toll (TLR) 2 y 4 (44). Algunos autores proponen que *E. histolytica* puede variar sus patrones moleculares asociados al patógeno (PMAP) y no ser detectada (45).

El complemento es inactivado por medio de reactividad cruzada de la lectina Gal-GalNac con el CD 59, lo cual lleva al bloqueo en la formación del complejo de ataque a membrana, y las proteasas de cisteína degradan las anafilotoxinas (20,32).

La lectina de 220-kd de *E. histolytica* causa una disminución importante de IL5, IL6, IFN γ , y FNT α , con lo cual se genera un efecto antiinflamatorio, atrayendo macrófagos inactivos o inactivando los más cercanos. Esto lleva a que el macrófago no pueda fagocitar adecuadamente los trofozoítos y que no se pueda iniciar una respuesta inmune específica, la cual, si ocurre, lleva a la producción de IgA de mucosas y de IgG sérica dirigida a la lectina Gal-GalNac. La inmunidad adquirida es de corta duración, con protección de 86% a un año pero inferior a 43% a los cuatro años (46).

2.1.10. Diagnóstico

2.1.10.1. Diagnóstico Microscópico

Lo más importante cuando se realizan los exámenes microscópicos es identificar los trofozoítos hematófagos de *E. histolytica*. Estos estudios pueden efectuarse en materia fecal, moco rectal, material de raspado de úlceras, muestras obtenidas por biopsia y aspirado de abscesos. Los exámenes pueden llevarse a cabo observando la muestra “en fresco”, con algún líquido de montaje, como solución salina, lugol, colorante de Bailenger o bien mediante coloraciones permanentes las más comunes son tricrómica de Wheatley y hematoxilina férrica. Los antibióticos, antiácidos, antidiarreicos, enemas y

agentes de contraste para radiografía pueden interferir con la recuperación de este parásito y no deben ser suministrados hasta que la muestra haya sido examinada (1).

Para realizar el examen “en fresco” de heces diarreicas, deben observarse dentro de los 30 minutos de la deposición en busca de los trofozoítos hematófagos móviles. Si esto no fuera posible, debe efectuarse una tinción permanente ya que la demora permite que los microorganismos se deformen dificultando la identificación posterior. En la disentería amebiana, la materia fecal a menudo es ácida, puede contener cristales de Charcot Leyden y abundantes hematíes y polimorfonucleares destruidos, estos últimos pueden estar ausentes cuando las amebas son muy activas (1,2).

Los quistes pueden ser detectados, fundamentalmente, en las heces formadas o semisólidas. Debido a que no se eliminan, constantemente se recomienda efectuar exámenes seriados para aumentar la sensibilidad de la detección. Es importante recordar que, en los individuos asintomáticos, en general sólo se van a observar quistes y, con menor frecuencia, algunos trofozoítos (1). La ventaja de observar los preparados “en fresco” es que se visualiza la movilidad de los trofozoítos hematófagos, sin embargo su identificación, así como de los quistes en frotis fecales sin teñir, plantea un problema para todo microscopista, por experimentado que sea. La confusión entre *E. histolytica*, otras amebas no patógenas, macrófagos, células epiteliales y leucocitos, frecuentemente provoca un sobrediagnóstico de las amebiasis (1,2,5,13).

En el libro *Practical Guide to Diagnostic Parasitology*, Lynne García considera que la técnica más importante para la recuperación e identificación de organismos protozoos es la coloración permanente (fig. 4). Los extendidos se deben preparar a partir de heces frescas o de materia fecal conservada en PVA o en SAF. Otros agentes conservadores de heces, como el formol al 10%, no son aconsejables para la preparación de frotis teñidos. Las coloraciones más usadas y de mejor resultado en la identificación de trofozoitos y quistes de *E. histolytica* son la coloración tricrómica y la tinción con hematoxilina férrica (1,2)(fig. 4).

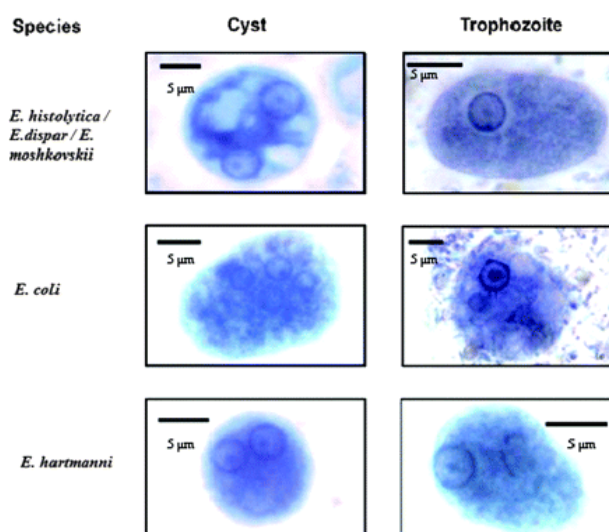


Fig. 4 Quistes y trofozoitos de las especies de *Entamoeba*

Debe tenerse en cuenta que la sensibilidad de las técnicas de identificación por microscopía óptica sólo alcanza el 60%, con relación a la sensibilidad de los cultivos de las heces (1). Otros tipos de muestras que pueden ser investigadas en busca de formas no quísticas de este parásito son las que se obtienen mediante técnicas semiinvasivas (usando un endoscopio), de las lesiones de la mucosa o moco rectal.

En la amebiasis extraintestinal, a menudo el examen microscópico de las heces es negativo, por lo que se debe efectuar biopsia o punción de los abscesos (14,15).

2.1.10.2. Cultivo

Las técnicas de cultivo para el aislamiento de las especies de *Entamoeba* han estado disponibles por más de 80 años. Los medios de cultivo incluyen sistemas xénico (difásicos y monofásicos) y axénicos. El cultivo xénico se define como el crecimiento del parásito en presencia de una flora indefinida (18). El cultivo xénico de *E. histolytica* fue introducido por Boeck y Drbohlav en 1925 en un medio difásico con huevo, y una modificación de este medio (Locke-huevo) todavía se utiliza hoy (18).

Para el aislamiento primario a partir de materia fecal, el más ampliamente utilizado es el medio de Robinson. Otros de los medios propuestos es el de Pavlova (1938) modificado por Jones y De Carneri. El TYSGM-9, formulado por Diamond, también puede ser usado, pero su mayor utilidad radica en generar gran número de amebas, para poder determinar los perfiles de isoenzimas.

Diversos medios monofásicos que fueron desarrollados para el *E. histolytica*, son el medio de infusión de la yema de huevo de Balamuth, el medio de Jones, y TYSGM-9. De los diversos medios desarrollados para el cultivo xénico de *E. histolytica*, solamente tres medios, Locke difásico, el medio de Robinson, y los TYSGM-9 monofásicos, son de uso común (13,18).

El cultivo axénico de *E. histolytica* se llevó a cabo por primera vez por Diamond en 1961, utilizó un medio difásico complejo (TTY S CEEM). El medio monofásico TP-S-1 fue desarrollado y utilizado extensamente para el cultivo de *E. histolytica* en diversos laboratorios de investigación. Actualmente TYI-S-33 y YI-S son los medios más ampliamente utilizados para el cultivo axénico de *E. histolytica* (1,18).

El cultivo de *E. histolytica* se puede realizar a partir de materia fecal, biopsia rectal, o de aspirado de absceso hepático (1,4,11), la adición de bacterias o de trypanosomas es necesario antes de la inoculación de amebas en el medio de cultivo xénico (18).

El índice de éxito para el cultivo de *E. histolytica* está entre 50 y 70% en los laboratorios de referencia. Como el cultivo de *E. histolytica* es de muestras clínicas tales como heces o abscesos de hígado, tiene un índice significativo de resultados falsos negativos y son técnicamente difíciles, de emprenden en un laboratorio clínico rutinario.

Entamoeba dispar puede desarrollar en medios de cultivo xénicos; sin embargo, la mayoría de los aislamientos desarrollan pobremente en medios de cultivo monoxénicos, y el crecimiento de algunas variedades de *E. dispar* fue divulgado como viable en medio de cultivo axénico, sugiriendo que el *E. dispar* no posee la capacidad de *E. histolytica* para obtener los nutrientes en un medio de cultivo de partículas libres (18).

El cultivo de *E. histolytica* en un laboratorio de diagnóstico clínico no es factible como procedimiento rutinario y es menos sensible que el diagnóstico por microscopia como método de detección. Los medios de cultivo son difíciles, costosos, y es necesario realizar un trabajo laborioso para el diagnóstico. El crecimiento excesivo de organismos no deseados como bacterias, hongos, u otros protozoos durante el cultivo es el mayor problema encontrado, por lo tanto el cultivo no se recomienda como procedimiento de diagnóstico rutinario para la detección de la especie de *Entamoeba* (18).

2.1.10.3. Detección de antígenos

Varios investigadores han desarrollado técnicas de enzimoimmunoensayo (ELISA) para la detección de antígenos en muestras fecales. Estas pruebas de detección del antígeno tienen una sensibilidad parecida al diagnóstico por cultivo. Los kits de ELISA basados en la detección de antígenos específicos para *E. histolytica* usan anticuerpos monoclonales contra la **Lectina galactosa-N-acetil-D-galactosamina (Gal-GalNac lectin)**, (*E. histolytica* II; TechLab, Blacksburg, VA) o anticuerpos monoclonales contra el antígeno rico en serina de *E. histolytica*. (kit Optimum S; Merlin Diagnostika, Bornheim-Hersel, Alemania). Otros kits de ELISA para la detección de antígenos es el Kit Entamoeba Celisa Path que también usa anticuerpos monoclonales específicos contra la lectina de *E. histolytica* (cuadro 1). Además de los análisis clínicos antedichos, algunas pruebas de investigación basadas en la detección de antígenos incluyen el uso de anticuerpos monoclonales contra un antígeno superficial rico en lectina (47), un lipofosfoglicano (48), y un antígeno améxico que es una lectina de adherencia (170-kDa) detectado en saliva (49).

Cuadro 1. Test disponibles para la detección de antígenos en el diagnóstico de amebiasis

Test	Sensitivity, % (reference)	Specificity, % (reference)	Manufacturer	Detection limit
TechLab <i>E. histolytica</i> II ^a	96.9-100, ^b 14.2 (61), ^c 87.5 (76), ^d 86 (76), ^e 71 (201), ^f 95 (80), ^f 79 (153) ^g	94.7-100, ^b 98.3 (61), ^c 100 (76), ^d 98 (76), ^e 100 (201), ^f 93.0 (80), ^f 96 (153) ^g	TechLab, Blacksburg, VA	0.2-0.4 ng of adhesion per well
<i>Entamoeba</i> CELISA-PATH ^a	95-100 ^b	93-100 ^b	Cellabs Pty Ltd., Brookvale, Australia	0.2-0.4 ng of adhesion per well
Optimum S <i>Entamoeba histolytica</i> antigen ELISA ^a	100 (134)	NP ^h	Merlin Diagnostika, Berheim-Hersel, Germany	Not given
Triage parasite panel ⁱ	96.0 (58), ^j 68.3 (133), ^k 100 (167)	99.1 (58), ^j 100 (133), ^k 100 (167)	BIOSITE Diagnostics, San Diego, CA	Not given
ProSpecT <i>Entamoeba histolytica</i> microplate assay ⁱ	87, ^m 54.5 (61), ^c 78 (128) ⁿ	99, ^m 94 (61), ^c 99 (128) ⁿ	REMEL Inc., Lenexa, KS ^o	40 ng/ml of <i>E. histolytica</i> -specific antigen

^a Specific for *E. histolytica*.

^b Sensitivity and specificity compared to culture/zymodeme, as cited by the manufacturer.

^c Sensitivity and specificity compared to culture and microscopy.

^d Compared to isoenzyme analysis.

^e Compared to culture.

^f Compared to culture and microscopy.

^g Compared to real-time PCR.

^h NP, not published.

ⁱ Cannot distinguish between *E. histolytica* and *E. dispar*.

El kit de TechLab para *E. histolytica* fue creado en 1993 para detectar específicamente *E. histolytica* en heces. Esta prueba de detección de antígeno, captura y detecta la **Lectina galactosa-N-acetil-D-galactosamina (Gal-GalNac lectin)** en muestras fecales (48). Se considera a la lectina altamente inmunogenética, y debido a las diferencias antigénicas entre las lactinas de *E. histolytica* y *E. dispar*, la prueba permite la identificación específica de la enfermedad que causa *E. histolytica*. El nivel de detección de antígenos ambientales es alto, requiriéndose aproximadamente 1.000 trofozoítos por pocillo (48). Sin embargo, esta prueba sufre la desventaja que los antígenos detectados son desnaturalizados por fijación de la muestra, por lo tanto el uso de la prueba esta limitada a las muestras frescas o congeladas. Esta prueba ha demostrado buena sensibilidad y especificidad para la detección de antígeno

de *E. histolytica* en individuos que sufren de colitis amebiana y de infección intestinal asintomática (23,-50).

La detección de antígeno de *E. histolytica* mediante el reactivo de TechLab ELISA en personas que sufrían de diarrea, demostró tener una correlación excelente con PCR, y en otros estudios esta prueba demostró ser más sensible (80 a 94%) y específica (94 a 100%) que la microscopia y el cultivo (23,50). En otro estudio comparativo donde se uso ELISA y PCR para la detección de *E. histolytica* y *E. dispar*, se encontró que la reacción en cadena de la polimeriza es 100 veces más sensible que ELISA para la diferenciación de las dos especies (48). Este Kit fue discontinuado por el fabricante y substituido por un kit de segunda generación el TechLab II ELISA , que demostró ser más sensible (86% a 95%) y el específico (93% a 100%) comparado con la microscopia (montaje con solución salina y lugol) y el cultivo en la identificación de *E. histolytica* como método de screening en áreas endémicas (80). El TechLab II ELISA comparado con la reacción en cadena de la polimeriza en tiempo real como una prueba de referencia, también demostró buenos niveles de sensibilidad y especificidad para la diagnosis de *E. histolytica*. (71 a 79% y 96 a 100%, respectivamente) (51).

El kit TechLab II ELISA para *E. histolytica* también puede utilizarse para la detección del antígeno de lectina de *E. histolytica*, en suero y pus del absceso hepático en pacientes con enfermedad hepática (23). En Bangladesh, el 96% (22/23) y 100% (3/3) de pacientes con absceso hepático amebiano tenían niveles detectables del antígeno lectina en sus muestras de suero y pus del absceso hepático, respectivamente, antes del tratamiento con el metronidazol. Sin embargo, la sensibilidad de este método era solamente de 33% (32/98) y 41% (11/27), para suero y pus del absceso hepático respectivamente, después de algunos días de tratamiento con el metronidazol, que probablemente se asocia a una disminución de la cantidad de antígeno en suero o pus después de la terapia (23).

Los resultados para la detección del antígeno usan ambos kits de TechLab, sugieren que pruebas de diagnóstico más específicas y más sensibles, tales como la reacción en cadena de la polimeriza, sea necesario establecer la

distribución mundial real de *E. histolytica* y del *E. dispar* (51,52). La detección de antígenos específicos de *E. histolytica* y de *E. dispar* en heces por ELISA podría ser útil para los estudios clínicos y epidemiológicos donde los análisis moleculares no pueden ser utilizados. De los diferentes métodos de diagnóstico, es decir, detección de antígeno, detección de anticuerpos, microscopia, y análisis de isoenzimas, la detección de antígeno usando ELISA es el más rápido y técnicamente más simple de realizarse y se puede utilizar en los laboratorios que no cuentan con instrumentos moleculares. En todos los casos, la combinación de pruebas serológicas con la detección del parásito (ELISA o PCR) ofrece el mejor acercamiento a la diagnóstico de la amebiasis (25,48,52).

2.1.10.4. Detección de anticuerpos

Las pruebas serológicas para la identificación de la infección por *E. histolytica*, pueden ser provechosas desde una perspectiva de diagnóstico en naciones industrializadas, donde no es tan común las infecciones debido a *E. histolytica*. Sin embargo, en áreas donde la infección es endémica y la gente ha estado expuesta a *E. histolytica*, hace de las pruebas serológicas de poca utilidad para distinguir más allá de una infección pasada (53).

La detección de anticuerpos puede ser provechosa en el caso de absceso hepático amebiano, donde los pacientes no tienen parásitos perceptibles en heces. La sensibilidad encontrada para la detección de anticuerpos contra *E. histolytica* en suero en pacientes con absceso hepático amebiano fue cerca de 100% (54). En cambio, un estudio en un área endémica, Hue en Vietnam, reveló que 82.6% (38/46) de los individuos que fueron infectados con *E. histolytica* tenían títulos significativos de anticuerpos antiameba incluso en individuos asintomáticos. Estos resultados fueron confirmados por la reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (PCR-tiempo real) (51). Diversos ensayos se han desarrollado para la detección de anticuerpos, incluyendo la hemaglutinación indirecta (HAI), la aglutinación en látex, la inmunoelectroforesis, la contrainmunolectroforesis (CIE), difusión en gel, la inmunodifusión, la fijación de complemento, el análisis de la

inmunofluorescencia indirecta (IFI), y el enzimoimmunoanálisis (ELISA). Una variedad de ensayos para la detección de anticuerpos de *E. histolytica* en suero humano están disponibles en el comercio (cuadro 2).

Cuadro 2. Test disponibles para la detección de anticuerpos en el diagnóstico de amebiasis

Antibody assay	Sensitivity, % (reference)	Specificity, % (reference)	Manufacturer
Cellognost-Amoebiasis (IHA)	100 ^a (134), 99 (84)	90.9-100 ^a (134), 99.8 (84)	Dade Behring Marburg GmbH, Marburg, Germany
Novagnost <i>Entamoeba</i> IgG	>95 ^b	>95 ^b	NovaTec Immundiagnostica GmbH, Dietzenbach, Germany
Bichro-Latex Amibe	93.3 (194), 98.3 (149)	95.5 (194), 96.1 (149)	Fumouze Diagnostics, Levallois-Perret Cedex, France
I.H.A. Amoebiasis	93.4 (149)	97.5 (149)	Fumouze Diagnostics, Levallois-Perret Cedex, France
Amoeba-Spot IF	NA ^c (61)	NA (61)	bioMérieux, Marcy-l'Etoile, France
Amebiasis Serology microplate ELISA	95 ^b	97 ^b	Light Diagnostics
Amebiasis Serology microwell EIA (HK-9 antigen, axenic)	97.9 (84), 92.5 (169)	94.8 (84), 91.3 (169)	LMD Laboratories, Inc., Carlsbad, CA
RIDASCREEN <i>Entamoeba</i> (IgG detection)	100 ^b , 97.7-100 (100)	95.6 ^b , 97.4 (100)	R-Biopharma AG, Darmstadt, Germany

^a For the titer of $\geq 1:64$, 100% sensitive and 90.9% specific; for the titer of $\geq 1:512$, 100% sensitive and 100% specific.

^b As recommended by the manufacturer.

^c NA, not available.

Las pruebas de fijación de complemento parecen ser menos sensibles que otras, siendo caras y no utilizadas por la mayoría de los laboratorios. En cambio HAI es fácil de realizar y ha demostrado ser altamente específica (99.1%) en el diagnóstico de pacientes infectados con VIH que presentaban síntomas gastrointestinales. Sin embargo, su baja sensibilidad puede llevar a resultados falsos negativos comparados con ELISA. La prueba de aglutinación en látex parece detectar el mismo anticuerpo que HAI, los kits comerciales están disponibles, y la prueba se puede realizar en 10 min, sin embargo, debido a las reacciones no específicas, la especificidad de esta prueba parece ser decepcionante (15,17).

Inmunoelectroforesis, contraimmunoelectroforesis, y la inmunodifusión usan la característica de precipitación del anticuerpo y del antígeno en una membrana

de gel agar. Sheehan y cols. divulgó que la detección de anticuerpo en amebiasis extraintestinal por CIE tiene una alta sensibilidad (100%) en pacientes con amebiasis invasiva (55).

La detección de anticuerpos usando la prueba IFI demostró ser rápida, confiable, y reproducible y es útil para distinguir el absceso hepático amebiano de otras etiologías no amebicas (28). Además de esto, la prueba de IFI permite distinguir entre una enfermedad anterior (tratada) y una actual. Un estudio conducido por Jackson y cols. reportó que el monitoreo de los niveles de la inmunoglobulina M (IgM) usando IFI puede ser de valor clínico en casos de amebiasis invasiva. Los niveles de IgM llegan a ser negativos en un corto período de tiempo después de la infección, con más de la mitad de los individuos con resultados negativos en 6 meses y con el 100% después de 46 semanas de tratamiento (28,41,43).

ELISA es la prueba más popular en el laboratorio de diagnóstico en el mundo entero y después del examen microscópico fecal se ha utilizado para estudiar la epidemiología de la enfermedad asintomática y el diagnóstico de la amebiasis sintomática. Este método es extensamente suficiente para los propósitos clínicos, particularmente para el diagnóstico en pacientes con absceso hepático amebiano y se puede implementar fácilmente en un laboratorio clínico. También es útil en la evaluación de las infecciones intestinales y extraintestinales donde se sospecha de amebiasis, pero los organismos no se pueden detectar en las heces (4,5,9,15)

Los anticuerpos séricos IgG persisten por años después de la infección por *E. histolytica*, mientras que la presencia de anticuerpos IgM es de corta duración y se pueden detectar en el curso de una infección actual. Un test de ELISA fue utilizado con éxito en la detección de anticuerpos IgM contra la lectina de adherencia, en pacientes que sufrían de colitis aguda durante 1 semana, 45% presentaron anticuerpos IgM anti-lectina. En otro estudio, fue demostrado que un análisis basado en la detección de anticuerpos anti-LC3 (cysteine-rich galactose-specific lectin of *Entamoeba histolytica*) en saliva es una prueba más sensible y específica para el diagnóstico del absceso hepático amebiano y de colitis aguda amebiana que la detección de anticuerpos IgG anti-LC3 en suero

(49). ELISA un título alto de anticuerpos es provechoso para el diagnóstico de la amebiasis en pacientes con parásitos detectables en deposiciones fecales, pues tiene una sensibilidad del 95%, además de no presentarse ninguna reacción cruzada con otros parásitos (41,42,43,55,)

2.1.10.5. Análisis de isoenzimas

El trabajo pionero de Sargeant y cols. demostró que el análisis de isoenzimas a partir del cultivo de amebas permite la diferenciación de las diferentes especies de *Entamoeba* (18). Un zimodema se define como un conjunto de cepas de entamoeba, que comparten el mismo patrón de movilidad electroforético para varias enzimas. Los zimodemas consisten en patrones electroforéticos de las enzimas hexokinasa, glucosa fosfato isomerasa, y de la isoenzima fosfoglucomutasa (15,17). Se han descrito un total de 24 zimodemas diferentes, 21 fueron aislados de humanos (9 de *E. histolytica* y 12 de *E. dispar*). Los zimodemas están definidos por el número de bandas presentes, sólo tres permanecen para *E. histolytica* (II, XIV, y XIX) y uno para *E. dispar* (I). El análisis de isoenzimas (zimodema) a partir de cultivo de amebas permite la diferenciación de *E. histolytica* de *E. dispar* y era considerado el patrón de oro para el diagnóstico de infección amebiana antes del desarrollo de nuevas técnicas basadas en el DNA.

2.1.10.6. Reacción en cadena de la polimerasa (PCR convencional)

La reacción en cadena de la polimerasa es el método de elección para los estudios clínicos y epidemiológicos en los países desarrollados (48,51,52). *E. histolytica* puede ser identificada en una variedad de muestras clínicas, incluyendo heces, tejidos, y aspirado de absceso hepático (14). La PCR del gen de la subunidad del ARNribosomal (18S DNAr) demostró ser aproximadamente 100 veces más sensible que el mejor kit de ELISA actualmente disponible (48,56). Edman y cols. (57) utilizaron la PCR para amplificar el gen que codifica el antígeno superficial 125-kDa, que posteriormente fue adaptado para distinguir entre especies de *Entamoeba*. Los estudios iniciales de Edman y cols. y Tannich y Burchard fueron realizados con

DNA extraído del aislamiento de diferentes especies de Entamoeba. La PCR fue utilizada posteriormente en un estudio epidemiológico de la infección del complejo *E. histolytica/E dispar*, usando DNA extraído de los trofozoítos de cultivo de heces, y usando primers específicos para las secuencias altamente repetitivas presentes en las cepas patógenas y no patógenas de *E. histolytica* (cepa no patógena ahora identificada como *E. dispar*) definidas previamente a través de sus patrones respectivos de isoenzima (58).

En la actualidad hay una gran variedad de métodos que se han descrito para la detección y diferenciación de las especies de Entamoeba mediante PCR. La diversidad genética entre los 18S rDNAs de *E. histolytica* y *E. dispar* inició el uso del 18S rDNA como blanco para la diferenciación de las dos especies (48,41). Estos blancos están presentes en plásmidos extracromosomales de las amebas, haciendo que el gen 18S rDNA sea más fácilmente detectado que el fragmento de una copia simple del gen de DNA.

Los primers del gen que codifica el antígeno 29-kDa/30-kDa se ha utilizado para distinguir entre la especie patógena y no patógena de Entamoeba. Otros genes que fueron blanco de estudio por PCR incluye el gen, que codifican la proteína rica en serina de *E. histolytica* (SREPH) (59,). Otros genes usados en estudios epidemiológicos son el gen de la proteinasa cisteína (31,32) y el gen de la actina. Además, un análisis novedoso por PCR consiste en el uso del gen de hemolisina HLY6 (hemo-PCR) para la detección de DNA de *E. histolytica*, en muestras fecales y de abscesos hepáticos demostrando tener una sensibilidad y especificidad del 100%.

2.1.10.7. Reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real

La reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real es una nueva y muy atractiva metodología para el laboratorio de diagnóstico de enfermedades infecciosas, debido a sus características que eliminan el análisis post-PCR, llevando a tiempos de vuelta mucho más cortos, a una reducción en el riesgo de contaminación, y a costos reducidos del reactivo. Un aspecto importante de la reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real es su elevada sensibilidad comparada con la PCR convencional, con una capacidad de

detectar 0.1 células por gramo de heces (51). Además, la PCR en tiempo real es un método cuantitativo que permite la determinación del número de parásitos en varias muestras. Los distintos protocolos de PCR en tiempo real para la identificación y la diferenciación de *E. histolytica* de *E. dispar* se han publicado recientemente. Estos protocolos incluyen métodos orientados hacia la detección de la amplificación del rDNA 18S (51,48) y del gen SREPH en muestras fecales y de abscesos hepáticos (59).

Las secuencias seleccionadas en la mayoría de estos estudios en tiempo real han incluido el rDNA como el blanco para la polimerización por PCR. Una evaluación reciente de PCR en tiempo real que se centro en las debilidades y las fortalezas de cada análisis y de su utilidad para el diagnóstico, fue publicada por Qvarnstrom y cols. (48). Este estudio destaca diferencias en límites de detección y funcionamiento de diferentes ensayos, en esta evaluación dos de los ensayos no podrían distinguir confiablemente *E. histolytica* de *E. dispar*, incluyendo el ensayo Light Cyclor (51). Posteriormente fue desarrollado un ensayo múltiplex de PCR en tiempo real, con una sensibilidad y especificidad de 100% en la detección de diversos parásitos intestinales, este ensayo permite la detección simultánea de *E. histolytica*, *G. lamblia* y de *C. parvum* además ofrece la posibilidad de introducir la detección de DNA en el diagnóstico rutinario de infecciones parasitarias intestinales (60). La puesta en práctica de tales análisis múltiplex y el desarrollo de procedimientos automatizados para el aislamiento de DNA podrían tener un enorme impacto en la práctica rutinaria de la parasitología.

2.1.11. Tratamiento

El tratamiento de la infección depende del diagnóstico clínico. Un paciente con un cuadro de colitis amebiana no requiere el mismo tratamiento que un portador asintomático, debido a los sitios y mecanismos de acción de los medicamentos empleados. Éstos se suelen dividir en lumbinales, como las 8-hidroxiquinolinas halogenadas (yodoquinol) y las amidas (teclozán, etofamida, quinfamida, etc.), o tisulares, como los nitroimidazoles (metronidazol,

secnidazol, ornidazol). El metronidazol presenta una acción mixta, es decir, tanto luminal como tisular (61).

Los medicamentos disponibles y los esquemas de tratamiento se resumen en el cuadro 3. Se recomienda el tratamiento de los pacientes asintomáticos como una medida para controlar la transmisión, pero no existen estudios que validen esta recomendación.

Cuadro 3. Esquemas de tratamiento para *E. histolytica*

ENTIDAD	MEDICAMENTO	DURACIÓN
Portador asintomático	Teclozán, 500 mg	Cada 12 horas por tres dosis
	Etofamida, 500 mg	Cada 12 horas por tres dosis
Colitis amebiana	Metronidazol, 500 mg	Cada 8 horas por siete a diez días
	Tinidazol, 2.000 mg	Diario por dos días
	Secnidazol, 2.000 mg	Diario por cinco a siete días
Amebiasis extraintestinal	Metronidazol, 500 mg	Cada 8 horas por diez días
	Tinidazol, 2.000 mg	Diario por tres a cinco días
	Secnidazol, 2.000 mg	Diario por cinco a siete días

Algunos casos requieren manejo quirúrgico, como en la colitis amebiana fulminante (hemicolecotomías o, incluso, colectomías totales), apendicitis amebiana (cuyo diagnóstico suele ser postquirúrgico), la perforación intestinal y el ameboma. Aunque se han descrito mecanismos de resistencia al metronidazol, la respuesta clínica suele ser adecuada (62).

2.2. Marco Contextual

2.2.1. Departamento de Tarija

El departamento de Tarija está ubicado al sur de la República de Bolivia; limita al norte con el departamento de Chuquisaca, al sur con la República de Argentina al este con la República de Paraguay y al oeste con Chuquisaca y Potosí. Tiene una extensión de 37,623 km.² y una población de 509.708 habitantes (censo 2009). La capital del departamento es la ciudad de Tarija (1,866 m.s.n.m) situada entre los 21° 32' 00" de latitud sur y los 64° 47' 00" de

longitud oeste del meridiano de Greenwich, tiene una extensión de 37.623 km. Según resultados de las proyecciones de población para el año 2009, el departamento de Tarija cuenta con 509.708 habitantes, que equivale a 4,98% del total nacional, de 10.227.299 habitantes. La participación de la población masculina en este departamento es de 50,37%, mientras que la femenina es 49,63%. El departamento tiene una densidad de 13,55 habitantes por Km², mayor al promedio nacional de 9,31 habitantes por Km², cuenta con 6 provincias y 157 cantones. El departamento de Tarija se ve influenciado por cordilleras con pequeñas elevaciones. La totalidad de sus ríos son afluentes de la cuenca del Plata siendo los más importantes el de Guadalquivir y el río Bermejo. Su clima es templado y muy agradable, sus valles tienen un promedio de 17 a 23 grados y en los lugares tropicales oscila entre 25 y 35 grados, la estación lluviosa comprende los meses de diciembre a febrero, templado y frío en la zona oeste (63).

2.2.2. Instituciones de Salud

El Hospital Regional San Juan de Dios es un servicio público de salud que inició su atención en su actual infraestructura el 15 de abril de 1987. Es el único que ofrece servicios de tercer nivel en Tarija a la población urbano y rural.

La Caja Nacional de seguridad Social fue creada de acuerdo al Código de Seguridad social, el 14 de diciembre de 1956, como la principal entidad gestora de la Seguridad Social, Entidad de Derecho Público, descentralizada, descentralizada y con autonomía propia, con prestaciones de corto y largo plazo. La ley 0924 del 14 de abril de 1987 y DS. Reglamento N° 21637 del 25 de junio de 1987 modifican sustancialmente la Organización estructural de la Seguridad Social en el país al separar la Administración de los Seguros Sociales obligatorios en Seguros de largo plazo y corto plazo.

De esta manera queda conformada la Caja Nacional de Salud como entidad de carácter público descentralizada y autónoma propia del nivel operativo en el sistema de Seguridad Social, responsable de otorgar a sus asegurados prestaciones de enfermedades, maternidad y riesgos profesionales a corto plazo.

El Seguro Social Universitario ubicado en la ciudad de Tarija, fue creado como Seguro delegado de la Caja Nacional de Salud, para otorgar prestaciones de salud a todos los trabajadores docentes y administrativos de la Universidad estatal "Juan Misael Saracho". El Seguro Social Universitario es una institución de servicio y derecho público, con personería jurídica, patrimonio propio, autonomía de gestión técnica financiera y administrativa y esta vinculado a las instituciones más representativas que trabajan en el ámbito de seguridad social. El Seguro Social Universitario es miembro del SISSUB esta supeditado al control y fiscalización del INASES (Instituto Nacional de Seguros de Salud). La institución tiene como misión fundamental el otorgar prestaciones de salud, a favor de toda su población protegida, para su curación y rehabilitación total, con el único fin de velar por el bienestar del capital humano, brindando prestaciones con oportunidad, calidad y calidez buscando en lo posible optimizar los recursos económicos que se tienen y logran la satisfacción del usuario.

PROSALUD comenzó a trabajar en Bolivia en 1985 con un centro de Salud en la localidad de Pailón del departamento de Santa Cruz. En 1992 la entidad inicio un proceso de expansión y cobertura a nivel nacional, replicando su modelo en La Paz inaugurando Centros de Salud en las ciudades de El Alto, Tarija, Riberalta, Cochabamba, Yacuiba, y Oruro.

En la actualidad la Red PROSALUD está formada por 24 centros de salud y 6 clínicas de 2do nivel de atención.

CAPITULO III. MARCO METODOLÓGICO

3.1. Enfoque, tipo y diseño de la investigación

3.1.1. Enfoque de la investigación

La presente investigación tiene un enfoque cuantitativo, que busca la seroprevalencia de anticuerpos para *Entamoeba histolytica*, mediante instrumentos válidos y confiables como es la prueba enzimoimmunoenzumática (ELISA). Teniendo el investigador una perspectiva desde fuera del estudio abordado.

3.1.2. Tipo y diseño de la investigación

El presente trabajo es un estudio de tipo observacional, descriptivo de corte transversal, donde se determina la presencia de anticuerpos para *Entamoeba histolytica* en pacientes que acuden a las diferentes instituciones de salud en el periodo de junio a septiembre de 2012. En el estudio se incorpora un componente analítico, que consiste en la determinación de correlación entre variables y la significancia estadística.

3.2. Población y muestra

3.2.1 Población

La población está constituida por 88 pacientes que acudieron a consulta médica en las diferentes instituciones de salud en la ciudad de Tarija, de acuerdo al siguiente detalle:

Institución de Salud	Nº de pacientes
HRSJDD *	19
HOSPITAL OBRERO N°6	6
SSUT **	44
PROSALUD	19
TOTAL	88

Fuente: Elaboración propia

* Hospital Regional San Juan de Dios

** Seguro Social Universitario Tarija

Para el presente estudio se trabaja con el HRSJDD por ser el único hospital de tercer nivel, con el Hospital Obrero N° 6 por ser el ente asegurador más grande, con PROSALUD por tratarse de una institución de salud privada con gran afluencia de usuarios, debido a su accesibilidad y costos económicos y con el SSUT por ser la institución en que presto mis servicios como bioquímico.

3.2.2. Muestra

Hasta la fecha en el diagnóstico sigue utilizándose el microscopio óptico, con las limitaciones que esto implica, a esto se añade que la interpelación clínica de los resultados de laboratorio no tiene un criterio uniforme, y no existe una sistematización documentada de la patogenia involucrada, tomando estas previsiones no se define el tamaño de muestra, por lo tanto el número de muestras procesadas fue el total de la población igual a 88, obtenidas de las diferentes instituciones de salud, con edades comprendidas entre 3 a 84 años de todos los estratos socioeconómicos de las zonas urbano y rural.

3.3. Variables de estudio

3.3.1. Identificación de variables

Variable dependiente

- Seroprevalencia de anticuerpos anti *Entamoeba histolytica*

Variables independientes

- Sexo
- Edad
- Zona de procedencia

3.3.2. Diagrama conceptual

Objetivo Especifico	Variable	Definición Conceptual	Definición Operacional	Categorías	Instrumentación
Determinar la frecuencia de seroprevalencia de anticuerpos para <i>Entamoeba histolytica</i> (ELISA), en pacientes de diferentes instituciones de salud de Tarija.	Seroprevalencia de anticuerpos anti <i>Entamoeba histolytica</i> (dependiente)	Proporción de una población que ha resultado seropositiva a una infección.	Proporción de una población que ha resultado seropositiva a una infección, según examen serológico.	Reactivo: Resultado positivo No reactivo: Resultado negativo	Hoja de registro
Identificar la relación de la infección por <i>Entamoeba histolytica</i> en pacientes de diferentes instituciones de salud con el sexo.	Sexo (independiente)	Diferencia física y constitutiva del hombre y de la mujer del macho y de la hembra en especies animales y vegetales superiores.	Según la diferencia física y constitutiva del grupo de estudio.	Femenino Masculino	Hoja de registro
Identificar la relación de la infección por <i>Entamoeba histolytica</i> en pacientes de diferentes instituciones de salud con el lugar de procedencia.	Procedencia (independiente)	Lugar en el que reside habitualmente una persona	Según la residencia habitual de los asegurados y beneficiarios	Urbano Rural	Hoja de registro
Determinar la frecuencia de seroprevalencia de anticuerpos para <i>Entamoeba histolytica</i> (ELISA) en pacientes de diferentes instituciones de salud de Tarija, según intervalo de edad.	Edad (independiente)	Tiempo de vida transcurrido desde el nacimiento	Tiempo de vida transcurrido desde el nacimiento	Intervalos de edad: 3 a 23 años 24 a 44 años 45 a 65 años 66 a 86 años	Hoja de registro

3.4. Criterios de inclusión y exclusión

Criterios de inclusión

En los pacientes estudiados se incluyeron todas las formas clínicas de la enfermedad, tanto en pacientes con formas leves como avanzadas de la enfermedad. Formando parte del estudio los pacientes mayores de 3 años y menores de 84 años, que presentaban los siguientes detalles establecidos para el diagnóstico: datos clínicos de colon irritable, diarreas crónicas, antecedentes

de diarrea disenteriforme, pérdida de peso, antecedentes de amebiasis previa intestinal y/o extraintestinal, enfermedad diarreica aguda, otros (dolor abdominal, solicitud de la prueba de reacción de Widal) (anexo N° 1).

Criterios de exclusión

No forman parte del estudio los pacientes que recibieron tratamiento previo con amebicidas o que estén cursando una enfermedad grave.

3.5. Procedimiento para la recolección de la información

La información de los pacientes de diferentes instituciones de salud, se obtuvo a partir de una fuente primaria que fueron las historias clínicas (patrón de referencia), mediante la guía de observación (anexo N° 1), para luego ser tabulada y ordenada en la hoja de registro (anexo N° 2).

3.6. Procesamiento y análisis de los datos

3.6.1. Datos

La información recolectada fue tabulada y ordenada en una base de datos construida en EXCEL, para ser analizada en los programas Epi Info 3.5.4. y Epidat 3.1. En primera instancia se calculó la distribución de frecuencia simple con los gráficos y medidas de resumen que correspondan y subsiguientemente se elaboraron tablas de doble entrada. Finalmente se construyeron tablas 2x2 para identificar la relación de asociación entre variable dependiente y variables independientes, para lo cual se calculó, la razón de prevalencia de la enfermedad, los límites de confianza de la razón de prevalencia, Odds ratio de prevalencia con sus respectivos límites de confianza y Ji cuadrado, con la debida interpretación estadística.

3.6.2. Material y métodos

3.6.2.1. Muestra

Las muestras fueron recolectadas a partir del mes de junio a septiembre del 2012, en las diferentes instituciones de salud de Tarija: Hospital Universitario San Juan de Dios, Hospital Obrero N° 6, Seguro Social Universitario de Tarija,

y Prosalud, fueron procesadas en el área de inmunodiagnóstico del laboratorio de análisis clínico del Seguro Social Universitario de Tarija. El estudio consistió en determinar la presencia de anticuerpos anti *Entamoeba histolytica* de tipo IgG, ocupando el Kit *Entamoeba histolytica* Amebiasis de la empresa Diagnostic Automation/Cortez Diagnostics Inc., para el serodiagnóstico de amebiasis por enzimoimmunoensayo en suero humano. Los sueros fueron congelados a $-25 \pm 6^{\circ}\text{C}$ evitando descongelar y congelar en forma sucesiva. Se rechazó todo suero hemolizado, lipémico o contaminado. Los resultados de las pruebas de ELISA fueron definidos como: reactivo y no reactivo según los criterios establecidos por el laboratorio donde se desarrollo la prueba y de acuerdo a las historias clínicas de los pacientes como patrón de referencia.

3.6.2.2. Reactivos

- Test Strips: Contiene microcubetas con el antígeno *E. histolytica* de la cepa NIH-200. Pocillos para 96 determinaciones.
- Conjugado: Un (1) frasco que contiene 11 ml de Proteína A conjugada a peroxidasa
- Cromógeno: Un (1) frasco que contiene 11 ml del cromógeno tetrametilbencidina (TMB)
- Solución concentrada de lavado (20X): Un (1) frasco con 25 ml de buffer concentrado y surfactante.
- Buffer de dilución: Dos (2) frascos con 30 ml de solución de proteína tamponada al 1%.
- Control Positivo: Un (1) vial con 1 ml de suero positivo diluido de conejo.
- Control Negativo: Un (1) vial con 1 ml de suero negativo diluido de humano.
- Solución de parada: Un (1) recipiente con 11 ml ácido fosfórico 1 M.
- Agua destilada

3.6.2.3. Materiales

- Lector de placas de Elisa
- Lavador automático de placas de Elisa
- Tubos de vidrio

- Pipeta de 20 ul.
- Pipeta de 100 ul
- Pipeta de 100 a 500 ul.
- Pipeta de 1 ml
- Puntas desechables de 200 ul, 500 ul y 1 ml.
- Papel absorbente
- Cinta adhesiva

3.6.2.4. Técnica

a. Fundamento

Los micropocillos están cubiertos con el antígeno de *E. histolytica*, durante la primera fase de incubación los sueros diluidos de pacientes con el anticuerpo que sea reactivo con el antígeno se fijará a los micropozos revestidos. Después de lavar para quitar el resto de la muestra, se agrega el conjugado, si los anticuerpos están adheridos a los pozos, entonces el conjugado se une a estos anticuerpos y después de otra serie de lavados, se agrega el cromógeno (tetrametilbencidina o TMB). Si el conjugado está presente, la peroxidasa catalizará una reacción que consume el peróxido y vira el cromógeno de claro al azul. La adición de la solución de parada termina la reacción y vira el color azul a un color amarillo brillante. La reacción se puede entonces leer visualmente o con un lector de ELISA

b. Técnica

- Diluir el suero de los pacientes 1:64 con el buffer de dilución (5 ul de suero con 315 ul de buffer de dilución).
- Colocar 100 ul (o dos gotas) del control negativo en el pocillo A1, 100 ul del control positivo en el pocillo B1 y 100 ul del suero diluido de los pacientes (1:64) en el resto de los pocillos.
- Incubar a temperatura ambiente (15 a 25°C) por 10 minutos.
- Lavar los pocillos 5 veces con 300 ul.
- Agregar 2 gotas del conjugado a cada pocillo
- Incubar a temperatura ambiente por 5 minutos.

- Lavar los pocillos 5 veces con 300 ul.
- Agregar 2 gotas del cromógeno a todos los pocillos.
- Incubar a temperatura ambiente por 5 minutos.
- Agregar 2 gotas de la solución de parada y mezclar en un agitador para microplacas.

c. Lectura de resultados

Con el lector de microplacas de Elisa leer con el filtro de 450 nm y con el filtro diferencial de 650/620 nm.

d. Interpretación de los resultados

Sensibilidad

La probabilidad de clasificar correctamente a los individuos cuyo estado real sea el definido como **reactivo** respecto a la presencia de anticuerpos para *E. histolytica* es de 92%.

Especificidad

La probabilidad de clasificar correctamente a los individuos cuyo estado real sea el definido como **no reactivo** respecto a la presencia de anticuerpos para *E. histolytica* es de 99%.

Patrón de referencia

De acuerdo a las condiciones existentes donde que se realizó la presente investigación, la alternativa diagnóstica más viable para estudiar la probable presencia de anticuerpos para *E. histolytica*, fue el uso de las historias clínicas.

Reactivo: La absorbancia obtenida es mayor a 0.400 DO. El paciente está infectado por *E. histolytica*

No Reactivo: La absorbancia obtenida es menor a 0.400 DO. El paciente no presenta niveles detectables de anticuerpos contra *E. histolytica*

3.7. Delimitaciones de la investigación

El presente estudio se realizó en pacientes de diferentes instituciones de salud de Tarija (Hospital Regional San Juan de Dios, Seguro Social Universitario, Hospital Obrero N° 6 y Prosalud) a partir de junio a septiembre de 2012. En un

CAPÍTULO IV. PLAN DE ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS

4.1. Presentación de los resultados

Tabla N° 1 Distribución de frecuencias de pacientes de diferentes instituciones de salud en la ciudad de Tarija, según edad. 2012

EDAD (años)	Frecuencia	Porcentaje
3 a 23	30	34,1%
24 a 44	19	21,6%
45 a 65	26	29,5%
66 a 86	13	14,8%
Total	88	100,0%

De acuerdo a la Tabla N°1, la mayor cantidad de pacientes se encuentran en los intervalos comprendidos entre 3 a 23 años (34,1%) y 45 a 65 años (30,7%). Ver Gráfica N°1

Gráfica N° 1 Distribución de frecuencias de pacientes de diferentes instituciones de salud de Tarija, según edad. 2012

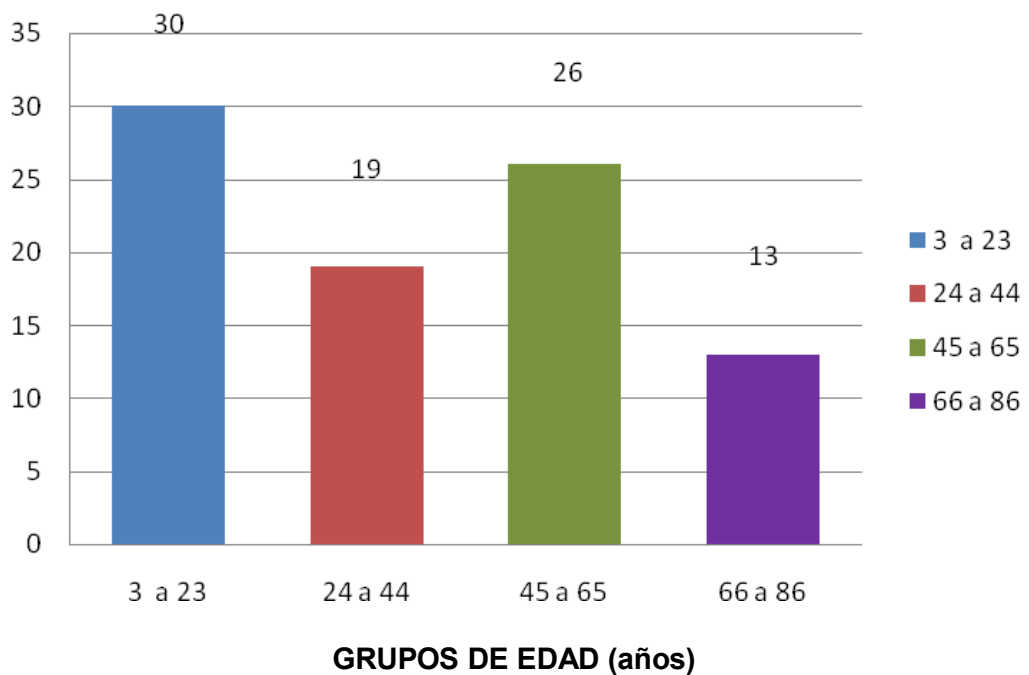


Tabla N° 2 Distribución de frecuencias de pacientes de diferentes instituciones de salud en la ciudad de Tarija, según sexo. 2012

SEXO	Frecuencia	Porcentaje
MASCULINO	50	56,8%
FEMENINO	38	43,2%
Total	88	100,0%

De acuerdo a la Tabla N°2, la mayor cantidad de pacientes corresponden al sexo masculino 50 individuos (56,8 %). Ver Gráfica N°2

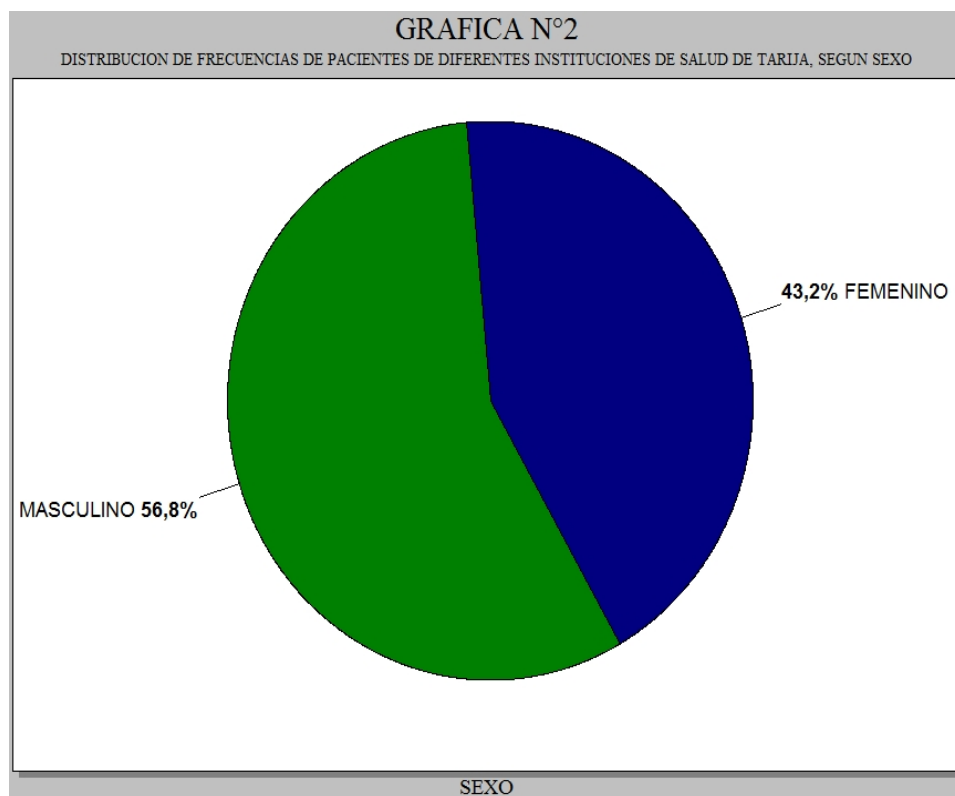


Tabla N° 3 Distribución de frecuencias de pacientes de diferentes instituciones de salud en la ciudad de Tarija, según procedencia. 2012

PROCEDENCIA	Frecuencia	Porcentaje
RURAL	15	17,0%
URBANO	73	83,0%
Total	88	100,0%

De acuerdo a la Tabla N°3, la mayor cantidad de pacientes provienen del sector urbano (83 %). Ver Gráfica N°3

Gráfico N° 3 Distribución de frecuencias de pacientes de diferentes instituciones de salud de Tarija, según procedencia. 2012

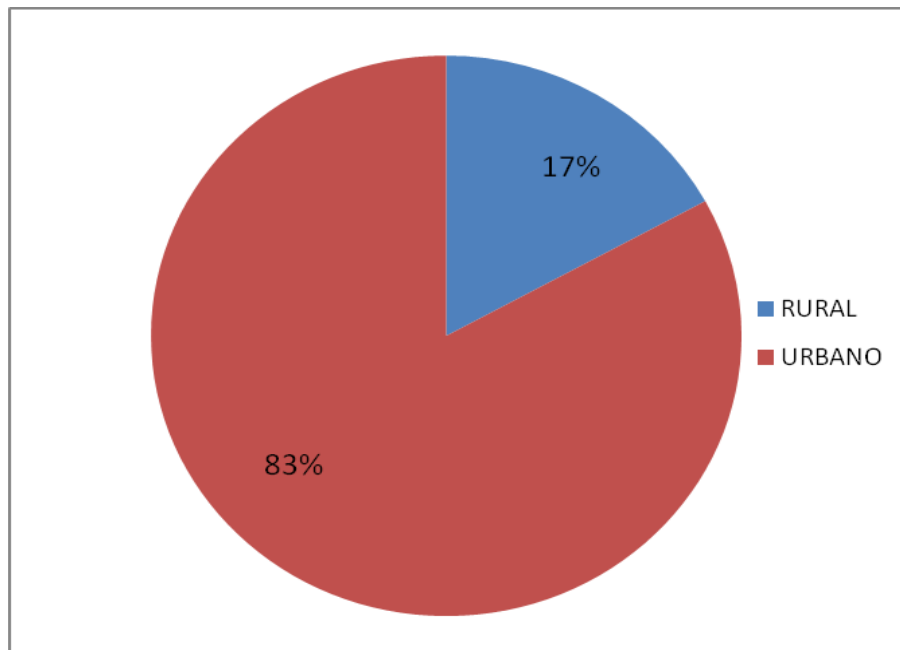


Tabla N° 4 Distribución de frecuencias de pacientes de diferentes instituciones de salud en la ciudad de Tarija, según institución de origen. 2012

INSTITUCIÓN DE SALUD	Frecuencia	Porcentaje
HRSJDD	19	21,6%
SSU	44	50,0%
HOSPITAL OBRERO N° 6	6	6,8%
PROSALUD	19	21,6%
Total	88	100,0%

De acuerdo a la Tabla N°4, la institución con mayor cantidad de muestras corresponde al Seguro Social Universitario con el 50 % del total de muestras procesadas y en menor porcentaje el Hospital Obrero N°6 con 6,8 %. Ver Gráfica N° 4.

Gráfica N° 4 Distribución de frecuencias de pacientes de diferentes instituciones de salud en la ciudad de Tarija, según institución de origen. 2012

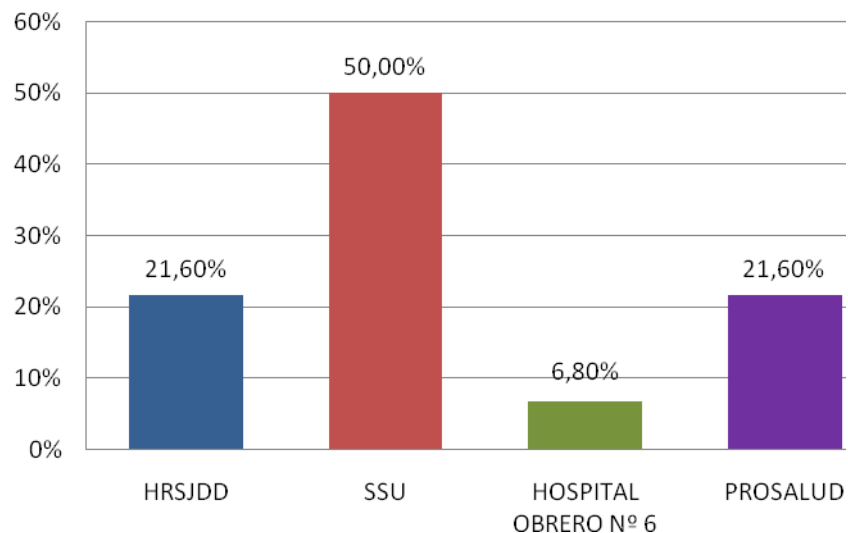


Tabla N° 5 Distribución de frecuencias de pacientes de diferentes instituciones de salud en la ciudad de Tarija, según seroprevalencia de anticuerpos para *Entamoeba histolytica*. 2012

PRUEBA DE ELISA	Frecuencia	Porcentaje	Int. Conf. 95 %
NO REACTIVA	53	60,2%	49,2%-70,2%
REACTIVA	35	39,8%	29,5%- 50,8%
TOTAL	88	100,0%	

De acuerdo a la Tabla N°5, la seroprevalencia de anticuerpos para *Entamoeba histolytica*, determinada mediante la prueba enzimoimmunoenzimática (ELISA) en pacientes de diferentes instituciones de salud en la ciudad de Tarija (HRSJDD, SSU, HOSPITAL OBRERO N°6 y PROSALUD) es de 39,8 %. Ver Gráfica N° 5

Gráfico N°5 Distribución de frecuencias de pacientes de diferentes instituciones de salud en la ciudad de Tarija, según seroprevalencia de anticuerpos para *Entamoeba histolytica*. 2012

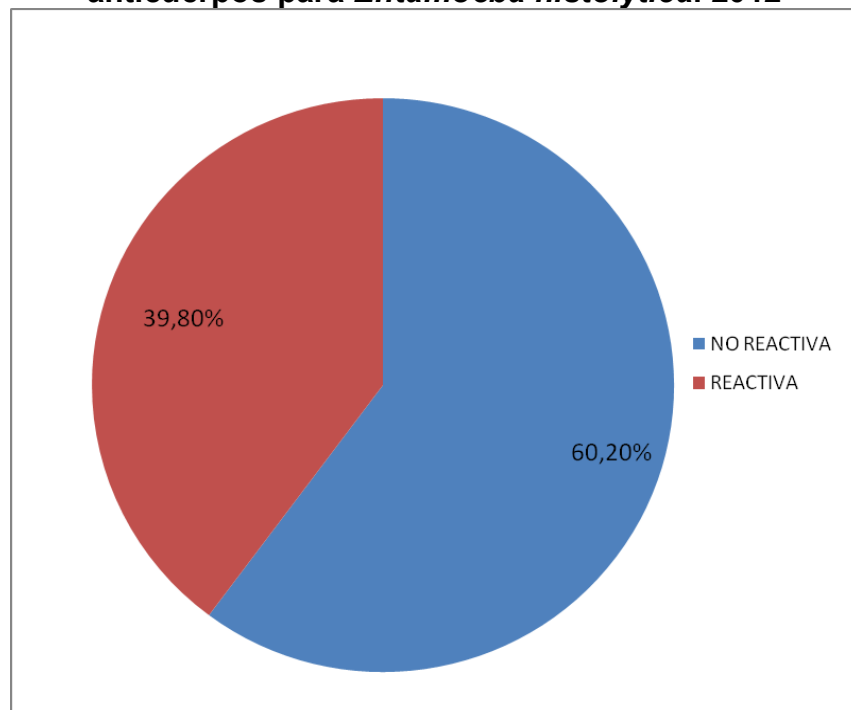


Tabla N° 6 Distribución de frecuencias de seroprevalencia de anticuerpos para *Entamoeba histolytica* (ELISA) en pacientes de diferentes instituciones de salud en la ciudad de Tarija, según sexo. 2012

ELISA <i>Entamoeba histolytica</i>			
SEXO	REACTIVA	NO REACTIVA	TOTAL
MASCULINO	25	25	50
FEMENINO	10	28	38
TOTAL	35	53	88

		95% Intervalo de Confianza	
	Estimación	L. Inferior	L. Superior
Odds Ratio (OR)	2,80	1,13	6,96
Razón de prevalencia (RP)	1,90	1,04	3,46

En el presente trabajo de investigación se utilizaron las medidas de asociación, dado que nos indican la fuerza de asociación entre dos variables. Las dos medidas de asociación que utilizamos más frecuentemente son la razón de prevalencia (RP) y la razón de productos cruzados, oportunidad relativa u odds ratio (OR), siendo la interpretación la siguiente:

RP u OR = 1: la exposición no tiene asociación con la enfermedad (es indiferente)

RP u OR > a 1: la exposición puede estar positivamente asociada a la enfermedad (significa riesgo).

RP u OR < a 1: la exposición puede estar negativamente asociada a la enfermedad (significa protección).

En lo que se refiere a la relación entre el resultado de la prueba de ELISA para *Entamoeba histolytica* y el sexo, se puede evidenciar:

Razón de prevalencia

RP = 1,90. (IC: 1,04 - 3,46)

La probabilidad de presentar un resultado reactivo de la prueba de Elisa para *Entamoeba histolytica* es 1,90 veces más en los varones en relación a las mujeres. Por lo que el ser varón sería un factor de riesgo para la presencia de *Entamoeba histolytica* mediante prueba de Elisa.

El intervalo de confianza encontrado no incluye entre sus valores límite el valor menor a 1 (nulo), por lo tanto el ser varón es verdaderamente un factor de riesgo.

Odds ratio

OR = 2,80 (IC: 1,13 - 6,96)

La probabilidad de presentar un resultado reactivo de la prueba de Elisa para *Entamoeba histolytica* es 2,80 veces más en los varones en relación a las mujeres. Por lo que el ser varón es un factor de riesgo para la presencia de *Entamoeba histolytica* mediante prueba de Elisa.

El intervalo de confianza encontrado no incluye entre sus valores límite el valor menor a 1 (nulo), por lo tanto el ser varón es verdaderamente un factor de riesgo.

Para determinar si existe una diferencia significativa en los resultados de la prueba de Elisa para *Entamoeba histolytica* y el sexo, se utiliza el cálculo de chi-cuadrado, siendo para este caso:

TEST ESTADÍSTICO	Chi cuadrado	p de 2 cola
Chi-cuadrado corregido (Yates)	4,1156	0,0424

En general mientras más alto es el valor de chi-cuadrado ($\chi^2=4.11$), mayor es la probabilidad de que exista una diferencia estadísticamente significativa entre las dos variables relacionadas, siendo para este caso el resultado de la prueba de ELISA para *Entamoeba histolytica* y el sexo. Para saber a ciencia cierta, se analiza el valor de $p=0.04$ y dado que este valor es menor a 0,05 se puede afirmar que la diferencia de los resultados de la prueba de Elisa para *Entamoeba histolytica* según sexo es estadísticamente significativa.

Tabla N° 7 Distribución de frecuencias de seroprevalencia de anticuerpos para *Entamoeba histolytica* (ELISA) en pacientes de diferentes instituciones de salud en la ciudad de Tarija, según procedencia. 2012

ELISA <i>Entamoeba histolytica</i>			
PROCEDENCIA	REACTIVA	NO REACTIVA	TOTAL
RURAL	8	7	15
URBANO	27	46	73
TOTAL	35	53	88

		95% Intervalo de Confianza	
	Estimación	L. Inferior	L. Superior
Odds ratio (OR)	1,95	0,63	5,96
Razón de prevalencia (RP)	1.44	0.82	2,52

De la relación entre el resultado de la prueba de Elisa para *Entamoeba histolytica* y el lugar de procedencia, se puede evidenciar lo siguiente:

Razón de prevalencia

RP = 1,44 (IC: 0,82 - 2,52)

La probabilidad de presentar un resultado reactivo de la prueba de Elisa para *Entamoeba histolytica* es 1,44 veces más en personas del área rural en comparación con personas del área urbana; por lo que proceder del área rural sería un factor de riesgo para la presencia de *Entamoeba histolytica* mediante prueba de Elisa. El intervalo de confianza encontrado si incluye entre sus valores límite el valor menor a 1 (nulo), por lo tanto el ser del área rural no es un factor de riesgo significativo.

Odds ratio

OR = 1,95 (IC: 0,63 - 5,96)

La probabilidad de presentar un resultado reactivo de la prueba de Elisa para *Entamoeba histolytica* es 1,95 veces más en personas del área rural en comparación con personas del área urbana, por lo que proceder del área rural sería un factor de riesgo para la presencia de *Entamoeba histolytica* mediante prueba de Elisa. El intervalo de confianza encontrado si incluye entre sus valores límite el valor menor a 1 (nulo), por lo tanto el ser del área rural no es un factor de riesgo significativo.

Para determinar si existe una diferencia significativa en los resultados de la prueba de Elisa para *Entamoeba histolytica* y el lugar de procedencia, se utiliza el cálculo de chi- cuadrado, siendo para este caso:

TEST ESTADÍSTICO	Chi cuadrado	p de 2 cola
Chi-cuadrado corregido (Yates)	0,7896	0,3742

Mientras más alto es el valor de chi – cuadrado $\chi^2=0.78$, mayor es la probabilidad de que exista una diferencia estadísticamente significativa entre las dos variables relacionadas. Para saber a ciencia cierta, se analiza el valor de $p=0.37$ y dado que este valor es mayor a 0,05 se puede afirmar que la diferencia entre los resultados de la prueba de Elisa para *Entamoeba histolytica* según procedencia no es estadísticamente significativa.

Tabla N° 8 Distribución de frecuencias de seroprevalencia de anticuerpos para *Entamoeba histolytica* (ELISA) en pacientes de diferentes instituciones de salud en la ciudad de Tarija, según edad. 2012

EDAD	REACTIVA	NO REACTIVA	TOTAL
3 a 23	5	25	30
24 a 44	7	12	19
45 a 65	14	12	26
66 a 86	9	4	13
TOTAL	35	53	88

De la Tabla N° 8 se puede afirmar que el grupo de edad de pacientes donde se presenta mayor cantidad de casos con serología reactiva para *Entamoeba histolytica* es de 45 a 65 años con un porcentaje de 40,0 %, seguido del grupo de edad de 66 a 86 años con 25,7 %.

Tabla N° 9 Distribución de frecuencias de seroprevalencia de anticuerpos para *Entamoeba histolytica* (ELISA) en pacientes de diferentes instituciones de salud en la ciudad de Tarija, según grupos de edad 3 a 23 y 24 a 44 años.

ELISA <i>Entamoeba histolytica</i>			
EDAD	REACTIVA	NO REACTIVA	TOTAL
3 a 23	5	25	30
24 a 44	7	12	19
TOTAL	12	37	49

		95% Intervalo de Confianza	
	Estimación	L. Inferior	L. Superior
Odds ratio (OR)	0.34	0.08	1.30
Razón de prevalencia (RP)	0.45	0.16	1.22

De la relación entre el resultado de la prueba de Elisa para *Entamoeba histolytica* y los grupos de edad (3 a 23 años) y (24 a 44 años), se puede evidenciar lo siguiente:

Razón de prevalencia

RP = 0.45 (IC: 0.16 – 1.22)

La probabilidad en personas con edades entre 3 a 23 años, de presentar un resultado reactivo de la prueba de Elisa para *Entamoeba histolytica* es 0,45 veces, en comparación con personas comprendidas entre 24 a 44 años.

Por lo que tener entre 3 a 23 años sería un factor de protección para la presencia de *Entamoeba histolytica* mediante prueba de Elisa, El intervalo de confianza encontrado si incluye entre sus valores límite el valor menor a 1 (nulo), por lo tanto tener entre 3 a 23 años no es un factor de riesgo.

Odds ratio

OR = 0.34 (IC: 0.08 – 1.30)

La probabilidad en personas con edades entre 3 a 23 años, de presentar un resultado reactivo de la prueba de Elisa para *Entamoeba histolytica* es 0,34 veces, en comparación con personas comprendidas entre 24 a 44 años.

Por lo que tener entre 3 a 23 años sería un factor de protección para la presencia de *Entamoeba histolytica* mediante prueba de Elisa. El intervalo de confianza encontrado si incluye entre sus valores límite el valor menor a 1 (nulo), por lo tanto tener entre 3 a 23 años no es un factor de riesgo.

Para determinar si existe una diferencia significativa en los resultados de la prueba de Elisa para *Entamoeba histolytica* entre los grupos de edad 3 a 23 años y 24 a 44 años, se utiliza el cálculo de chi- cuadrado, siendo para este caso:

TEST ESTADÍSTICO	Chi cuadrado	p de 2 cola
Chi-cuadrado corregido (Yates)	1.58	0.20

Mientras más alto es el valor de chi – cuadrado $\chi^2=1.58$, mayor es la probabilidad de que exista una diferencia estadísticamente significativa entre las dos variables relacionadas. Para saber a ciencia cierta, se analiza el valor de $p=0.20$ y dado que este valor es mayor a 0,05 se puede afirmar que la diferencia entre los resultados de la prueba de Elisa para *Entamoeba histolytica* entre los grupos de edad (3 a 23 años) y (24 a 44 años) no es estadísticamente significativa.

Tabla N° 10 Distribución de frecuencias de seroprevalencia de anticuerpos para *Entamoeba histolytica* (ELISA) en pacientes de diferentes instituciones de salud en la ciudad de Tarija, según grupos de edad 3 a 23 y 45 a 65 años.

ELISA <i>Entamoeba histolytica</i>			
EDAD	REACTIVA	NO REACTIVA	TOTAL
3 a 23	5	25	30
45 a 65	14	12	26
TOTAL	19	37	56

		95% Intervalo de Confianza	
		L. Inferior	L. Superior
Odds ratio (OR)	0.17	0.05	0.58
Razón de prevalencia (RP)	0.30	0.12	0.74

De la relación entre el resultado de la prueba de Elisa para *Entamoeba histolytica* y los grupos de edad 3 a 23 años y 45 a 65 años, se puede evidenciar lo siguiente:

Razón de prevalencia

RP = 0.30 (IC: 0.12 – 0.74)

La probabilidad en personas con edades entre 3 a 23 años, de presentar un resultado reactivo de la prueba de Elisa para *Entamoeba histolytica* es 0,30 veces, en comparación con aquellas comprendidas entre 45 a 65 años.

Por lo que tener entre 3 a 23 años sería un factor de protección para la presencia de *Entamoeba histolytica* mediante prueba de Elisa. El intervalo de confianza encontrado si incluye entre sus valores límite el valor menor a 1 (nulo), por lo tanto el tener entre 3 a 23 años no es un factor de riesgo.

Odds ratio

OR = 0.17 (IC: 0.05 – 0.58)

La probabilidad en personas con edades entre 3 a 23 años, de presentar un resultado reactivo de la prueba de Elisa para *Entamoeba histolytica* es 0,17 veces, en comparación con personas comprendidas entre 45 a 65 años.

Por lo que tener entre 3 a 23 años sería un factor de protección para la presencia de *Entamoeba histolytica* mediante prueba de Elisa. El intervalo de confianza encontrado si incluye entre sus valores límite el valor menor a 1 (nulo), por lo tanto el tener entre 3 a 23 años no es un factor de riesgo.

Para determinar si existe una diferencia significativa en los resultados de la prueba de Elisa para *Entamoeba histolytica* entre los grupos de edad 3 a 23 y 45 a 65, se utiliza el cálculo de chi- cuadrado, siendo para este caso

TEST ESTADÍSTICO	Chi cuadrado	p de 2 cola
Chi-cuadrado corregido (Yates)	7.0104	0.0081

Mientras más alto es el valor de chi – cuadrado $\chi^2=7.01$, mayor es la probabilidad de que exista una diferencia estadísticamente significativa entre las dos variables relacionadas. Para saber a ciencia cierta, se analiza el valor

de $p=0.008$ y dado que este valor es menor a 0,05 se puede afirmar que la diferencia entre los resultados de la prueba de Elisa para *Entamoeba histolytica* entre los grupos de edad 3 a 23 y 45 a 65 es estadísticamente significativa.

Tabla Nº 11 Distribución de frecuencias de seroprevalencia de anticuerpos para *Entamoeba histolytica* (ELISA) en pacientes de diferentes instituciones de salud en la ciudad de Tarija, según grupos de edad 3 a 23 y 66 a 86 años.

ELISA <i>Entamoeba histolytica</i>			
EDAD	REACTIVA	NO REACTIVA	TOTAL
3 a 23	5	25	30
66 a 86	9	4	13
TOTAL	14	29	43

		95% Intervalo de Confianza	
	Estimación	L. Inferior	L. Superior
Odds ratio (OR)	0.09	0.02	0.41
Razón de prevalencia (RP)	0.24	0.10	0.58

De la relación entre el resultado de la prueba de Elisa para *Entamoeba histolytica* y los grupos de edad 3 a 23 años y 66 a 86 años, se puede evidenciar lo siguiente:

Razón de prevalencia

RP = 0.24 (IC: 0.10 a 0.58)

La probabilidad en personas con edades entre 3 a 23 años, de presentar un resultado reactivo de la prueba de Elisa para *Entamoeba histolytica* es 0,24 veces, en comparación con personas comprendidas entre 66 a 86 años.

Por lo que tener entre 3 a 23 años sería un factor de protección para la presencia de *Entamoeba histolytica* mediante prueba de Elisa. El intervalo de confianza encontrado si incluye entre sus valores límite el valor menor a 1 (nulo), por lo tanto el tener entre 3 a 23 años no es un factor de riesgo.

Odds ratio

OR = 0.09 (IC: 0.02 – 0.41)

La probabilidad en personas con edades entre 3 a 23 años, de presentar un resultado reactivo de la prueba de Elisa para *Entamoeba histolytica* es 0.09 veces, en comparación con personas comprendidas entre 45 a 65 años.

Por lo que tener entre 3 a 23 años sería un factor de protección para la presencia de *Entamoeba histolytica* mediante prueba de Elisa. El intervalo de confianza encontrado si incluye entre sus valores límite el valor menor a 1 (nulo), por lo tanto el tener entre 3 a 23 años no es un factor de riesgo.

Para determinar si existe una diferencia significativa en los resultados de la prueba de Elisa para *Entamoeba histolytica* entre los grupos de edad 3 a 23 y 66 a 86, se utiliza el cálculo de chi-cuadrado, siendo para este caso:

TEST ESTADÍSTICO	Chi cuadrado	p de 2 cola
Chi-cuadrado corregido (Yates)	9.1443	0.0025

Mientras más alto es el valor de chi – cuadrado $\chi^2=9.14$, mayor es la probabilidad de que exista una diferencia estadísticamente significativa entre las dos variables relacionadas. Para saber a ciencia cierta, se analiza el valor de $p=0.002$ y dado que este valor es menor a 0,05 se puede afirmar que la diferencia entre los resultados de la prueba de Elisa para *Entamoeba histolytica* entre los grupos de edad 3 a 23 y 66 a 86 es estadísticamente significativa.

Por lo encontrado, podemos indicar de manera general que tener entre 3 a 23 años de edad es un factor de protección para la presencia de *Entamoeba histolytica* mediante la prueba de ELISA en comparación con las personas de más edad.

N° 12 Distribución de frecuencias de seroprevalencia de anticuerpos para *Entamoeba histolytica* (ELISA) en pacientes de diferentes instituciones de salud en la ciudad de Tarija, según institución de origen. 2012

ELISA			
INSTITUCIÓN DE SALUD	REACTIVA	NO REACTIVA	TOTAL
HRSJDD	6	13	19
SSU	14	30	44
HOSPITAL OBRERO N° 6	6	0	6
PROSALUD	9	10	19
TOTAL	35	53	88

De la Tabla N°9 se puede establecer que de las 6 muestras provenientes del Hospital obrero N° 6 el 100 % son reactivas a la prueba de ELISA, asimismo el 47,4 % de las muestras de PROSALUD presentan seroprevalencia reactiva de anticuerpos para *Entamoeba histolytica*.

N° 13 Distribución de frecuencias de seroprevalencia de anticuerpos para *Entamoeba histolytica* (ELISA) en pacientes del HRSJDD y SSU en la ciudad de Tarija. 2012

ELISA <i>Entamoeba histolytica</i>			
INSTITUCION DE SALUD	REACTIVA	NO REACTIVA	TOTAL
HRSJDD	6	13	19
SSU	14	30	44
TOTAL	20	43	63

		95% Intervalo de Confianza	
	Estimación	L. Inferior	L. Superior

Odds ratio (OR)	0.99	0.31	3.14
Razón de prevalencia (RP)	0.99	0.45	2.19

De la relación entre el resultado de la prueba de Elisa para *Entamoeba histolytica* y las instituciones de salud HRSJDD y SSU, se puede evidenciar lo siguiente:

Razón de prevalencia

RP = 0.99 (IC: 0.45 – 2.19)

La probabilidad en pacientes del HRSJDD, de presentar un resultado reactivo de la prueba de Elisa para *Entamoeba histolytica* es 0.99 veces más, en comparación con pacientes del SSU.

Por lo que ser paciente del HRSJDD sería un factor de protección para la presencia de *Entamoeba histolytica* mediante prueba de Elisa. El intervalo de confianza encontrado si incluye entre sus valores límite el valor menor a 1 (nulo), por lo tanto ser del HRSJDD no es un factor de riesgo.

Odds ratio

OR = 0.99 (IC: 0.31 – 3.14)

La probabilidad en pacientes del HRSJDD, de presentar un resultado reactivo de la prueba de Elisa para *Entamoeba histolytica* es 0.99 veces más, en comparación con pacientes del SSU.

Por lo que ser paciente del HRSJDD sería un factor de protección para la presencia de *Entamoeba histolytica* mediante prueba de Elisa. El intervalo de confianza encontrado si incluye entre sus valores límite el valor menor a 1 (nulo), por lo tanto ser del HRSJDD no es un factor de riesgo.

Para determinar si existe una diferencia significativa en los resultados de la prueba de Elisa para *Entamoeba histolytica* entre HRSJDD y SSU, se utiliza el cálculo de chi- cuadrado, siendo para este caso:

TEST ESTADÍSTICO	Chi cuadrado	p de 2 cola
Chi-cuadrado corregido (Yates)	0.0763	0.7824

Mientras más alto es el valor de chi-cuadrado $\chi^2=0.07$, mayor es la probabilidad de que exista una diferencia estadísticamente significativa entre las dos variables relacionadas. Para saber a ciencia cierta, se analiza el valor de $p=0.78$ y dado que este valor es mayor a 0,05 se puede afirmar que la diferencia entre los resultados de la prueba de Elisa para *Entamoeba histolytica* entre el HRSJDD y el SSU no es estadísticamente significativa.

N° 14 Distribución de frecuencias de seroprevalencia de anticuerpos para *Entamoeba histolytica* (ELISA) en pacientes del HRSJDD y PROSALUD en la ciudad de Tarija. 2012

ELISA <i>Entamoeba histolytica</i>			
INSTITUCIÓN DE SALUD	REACTIVA	NO REACTIVA	TOTAL
HRSJDD	6	13	19
PROSALUD	9	10	19
TOTAL	15	23	38

		95% Intervalo de Confianza	
	Estimación	L. Inferior	L. Superior
Odds ratio (OR)	0.51	0.14	1.92
Razón de prevalencia (RP)	0.71	0.34	1.45

De la relación entre el resultado de la prueba de Elisa para *Entamoeba histolytica* y las instituciones de salud HRSJDD y PROSALUD, se puede evidenciar lo siguiente:

Razón de prevalencia

RP = 0.71 (IC: 0.34 – 1.45)

La probabilidad en pacientes del HRSJDD, de presentar un resultado reactivo de la prueba de Elisa para *Entamoeba histolytica* es 0,71 veces más, en comparación con pacientes de Prosalud.

Por lo que ser paciente del HRSJDD sería un factor de protección para la presencia de *Entamoeba histolytica* mediante prueba de Elisa. El intervalo de confianza encontrado si incluye entre sus valores límite el valor menor a 1 (nulo), por lo tanto ser del HRSJDD no es un factor de riesgo.

Odds ratio

OR = 0.51 (0.14 – 1.92)

La probabilidad en pacientes del HRSJDD, de presentar un resultado reactivo de la prueba de Elisa para *Entamoeba histolytica* es 0.51 veces más, en comparación con pacientes de Prosalud.

Por lo que ser paciente del HRSJDD sería un factor de protección para la presencia de *Entamoeba histolytica* mediante prueba de Elisa. El intervalo de confianza encontrado si incluye entre sus valores límite el valor menor a 1 (nulo), por lo tanto ser del HRSJDD no es un factor de riesgo.

Para determinar si existe una diferencia significativa, en los resultados de la prueba de Elisa para *Entamoeba histolytica* entre el HRSJDD y PROSALUD, se utiliza el cálculo de chi- cuadrado, siendo para este caso:

TEST ESTADÍSTICO	Chi cuadrado	p de 2 cola
Chi-cuadrado corregido (Yates)	0.4406	0.5068

Mientras más alto es el valor de chi-cuadrado $\chi^2=0.44$, mayor es la probabilidad de que exista una diferencia estadísticamente significativa entre las dos variables relacionadas. Para saber a ciencia cierta, se analiza el valor de $p=0.50$ y dado que este valor es mayor a 0,05 se puede afirmar que la diferencia entre los resultados de la prueba de Elisa para *Entamoeba histolytica* entre el HRSJDD y el PROSALUD no es estadísticamente significativa.

CAPÍTULO V. CONCLUSIONES

5.1. Conclusiones

La prevalencia de *Entamoeba histolytica* determinada por la prueba enzimo-inmunoenzimática (ELISA) en 88 pacientes de diferentes instituciones de salud de la ciudad de Tarija, fue del 39.8%, detectándose la presencia de anticuerpos para *Entamoeba histolytica* en 35 pacientes, este resultado es mayor que la prevalencia reportada por el INLASA para la ciudad de Tarija que fue de 22.9% para el complejo *Entamoeba histolytica/dispar*.

En relación al sexo de los 88 individuos estudiados, 50 pertenecen al sexo masculino y 38 al sexo femenino; de los 35 pacientes (39.8%) que resultaron positivos para *Entamoeba histolytica* mediante Elisa, 25 (71.4%) pertenecen a individuos del sexo masculino y 10 (28.6%) al sexo femenino. La probabilidad de presentar un resultado reactivo de la prueba de Elisa para *Entamoeba histolytica* es 1,90 (RP = 1,90. IC: 1,04 - 3,46) veces más en los varones en relación a las mujeres. Por lo que ser varón sería un factor de riesgo para la presencia de *Entamoeba histolytica* mediante prueba de Elisa. Dado que el valor de p ($p=0,04$) es menor a 0,05 se puede determinar que la diferencia de los resultados de la prueba de Elisa para *Entamoeba histolytica* según sexo es estadísticamente significativa.

Con respecto a la procedencia de los 88 individuos estudiados, 15 pertenecen al área rural y 73 al área urbana, de los 35 pacientes (39.8%) que resultaron positivos para *Entamoeba histolytica* mediante ELISA, 8 (22.9%) pertenecen a individuos procedentes del área rural y 27 (77.1%) del área urbana. La probabilidad de presentar un resultado reactivo de la prueba de Elisa para *Entamoeba histolytica* es 1,44 (RP=1.44 IC: 0,82 - 2,52) veces más en personas del área rural en comparación con personas del área urbana, por lo que proceder del área rural sería un factor de riesgo para la presencia de *Entamoeba histolytica* mediante prueba de Elisa. Dado que el valor de p ($p=0,37$) es mayor a 0,05 se puede afirmar que la diferencia entre los resultados de la prueba de Elisa para *Entamoeba histolytica* según procedencia no es estadísticamente significativa.

El intervalo de edad donde se presenta mayor cantidad de casos con serología reactiva para *Entamoeba histolytica* es de 45 a 65 años con 14 individuos (40 %), seguido del grupo de edad de 66 a 86 años con 9 individuos (25,7 %). Además, podemos indicar que tener entre 3 a 23 años de edad es un factor de protección para la presencia de *Entamoeba histolytica* mediante la prueba de ELISA en comparación con las personas de más edad, por lo tanto tener entre 3 a 23 años no es un factor de riesgo.

De la relación del resultado de la prueba de Elisa para *Entamoeba histolytica* entre las instituciones de salud HRSJDD, SSU y PROSALUD, se puede evidenciar que ser paciente del HRSJDD sería un factor de protección para la presencia de *Entamoeba histolytica* mediante prueba de Elisa, y no un factor de riesgo.

CAPITULO VI. RECOMENDACIONES

6.1. Recomendaciones

Es necesario que los responsables del laboratorio clínico se percaten, faculten y persuadan al personal operativo para identificar las verdaderas infecciones por *Entamoeba histolytica*. Este trabajo quiere motivar e incitar a conocer de manera más cercana los datos epidemiológicos en diferentes instituciones de salud en la ciudad de Tarija en la actualidad. Toda esta información viene al caso pues el examen coproparasitológico es un análisis de laboratorio que se solicita en forma muy frecuente y general, no sólo cuando se sospecha de una infección por *Entamoeba histolytica*, sino por un sin número de razones con el fin de conocer el estado general de salud. Esta investigación intenta sensibilizar al personal del laboratorio clínico, a nivel operativo, de su trascendente papel en la salud.

Por último, dada la importancia reconocida de la amebiasis como la tercera parasitosis causante de muerte en el mundo, es necesario intensificar la investigación tanto clínica como básica, pues al tiempo que se necesita conocer la realidad de la seroprevalencia para *Entamoeba histolytica*.

Con los resultados obtenidos en este trabajo se puede decir que la prueba de Elisa para *Entamoeba histolytica* es una herramienta necesaria y de gran valor para el diagnóstico de la amibiasis, y que debe ser incluida para el diagnóstico de la infección por *Entamoeba histolytica* pues le permite al clínico identificar las verdaderas infecciones por *Entamoeba histolytica* y realizar el tratamiento adecuado, que va a favor trascendente en la salud del individuo y la comunidad.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Basualdo JA, Coto CE, de Torres RA. Microbiología biomédica, 2 ed. Buenos Aires: El Ateneo; 2009.
2. Reyes L, León R. **Diferenciación de *Entamoeba histolytica*/*Entamoeba dispar* y los nuevos hallazgos en la patogénesis de la amibiasis intestinal.** *Rev. costarric. cienc. méd.* [revista en la internet]. 2002 Diciembre [citado 10 Marzo 2010]; 23(3-4): 161-173. Disponible en: http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0253-29482002000200006&lng=es&nrm=iso. ISSN 0253-2948.
3. Mora L, García A, de Donato M. **Prevalencia del complejo *Entamoeba histolytica*/*Entamoeba dispar* en pacientes con síntomas gastrointestinales de diarrea procedentes de Cumaná, Estado Sucre.** *Kasmera*. [revista en la internet]. jun. 2005, vol.33, no.1 [citado 10 Marzo 2010], p.36-45. Disponible en: http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0075-52222005000100005&lng=es&nrm=iso. ISSN 0075-5222.
4. Abd-Alla MD, Jackson TFHG, Gathiram V, El-Hawey AM, Ravdin JI. **Differentiation of pathogenic *Entamoeba histolytica* infections from nonpathogenic infections by detection of galactose inhabitable adherente**

protein antigen in serum and feces. J Clin Microbiol [revista en la internet] 1993 ; 31: 2845-2850.

<http://jcm.asm.org/cgi/reprint/31/11/2845?maxtoshow=&hits=10&RESULTFORMAT=&fulltext=Differentiation+of+pathogenic+Entamoeba+histolytica+infections+from+nonpathogenic+infections+by+detection+of+galactose+inhabitable+adherent+protein+antigen+in+serum+and+feces&searchid=1&FIRSTINDEX=0&resourcetype=HWCIT>

5. Conde, MC, De la Mora, C. **Entamoeba histolytica: un desafío vigente.** Salud Publica. México [revista en la Internet]. 1992, [citado 10 Marzo 2010]; 34: 335-341. Disponible en:

http://www.insp.mx/rsp/_files/File/1992/no_3%20mayo%20junio/ENTAMOEBA.pdf.

6. Pinilla Análida Elizabeth, López Myriam Consuelo, Viasus Diego Fernando. **Historia del protozoo Entamoeba histolytica.** Rev. méd. Chile [revista en la Internet]. 2008 Ene [citado 2010 Marzo 10]; 136(1): 118-124. Disponible en:

http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-8872008000100015&lng=es.doi: 10.4067/S0034-98872008000100015.

7. Mollinedo Sergio, Prieto Cecilia. **El enteroparasitismo en Bolivia** [monografía en la Internet]. La Paz: Ministerio de Salud y Deportes; 2006 [citado 2010 Marzo 9]. Disponible en:

<http://www.ops.org.bo/sociedad/rct/2006/20060801/ENTEROPAR-EN-BOLIVIA-OPS.pdf>

8. Ramírez Peralta Arturo, Brito Rodríguez Irving, Ávila Carrasco Jibram. **Diferenciación inmunoenzimática de Entamoeba histolytica / Entamoeba dispar en pacientes con diagnóstico parasitológico de Entamoeba histolytica.** Chilpancingo: Laboratorio de Investigación en Parasitología. Universidad Autónoma de Guerrero. [Citado 2010 Marzo 10]. Disponible en:

<http://investigación.uagro.mx/3coloquio/med/5.pdf>

9. Organización Panamericana de la Salud. **Consulta con expertos en amebiasis. Boletín Epidemiológico** [boletín en la internet]. 1997 Marzo [Citado 2010 marzo 12]; 18(1). Disponible en:

http://www.paho.org/spanish/sha/epibul_95-98/bs971ami.htm

10. William Cornejo, Yrma Espinoza, Alina Huiza, Pilar Alva, Roxana Suarez, Carlos Sevilla y César Náquira. **Prevalencia de *E. histolytica* y *E. dispar* por microscopía y ELISA en muestras fecales de una población urbano marginal de Lima**. Facultad de Medicina. UNMSM [Revista en la Internet]. 1999 [Citado 2010 abril 1]; 60 (2). Disponible en:

http://sisbib.unmsm.edu.pe/bVrevistas/Anales/v60_n2/e_histolytica.htm

11. José María Eiros Bouza, Raúl Ortiz de Lejarazu Leonardo. **Diagnóstico serológico de la infección por *Entamoeba histolytica* en pacientes procedentes de áreas endémicas**. Departamento de Microbiología e Inmunología. Hospital Universitario de Valladolid [Citado 2010 abril 1]. Disponible en:

http://www.seimc.org/control/revi_Sero/amebas.htm

12. Gómez Julio Cesar, Cortés Jorge Alberto, Cuervo Sonia Isable, López Myriam Consuelo. **Amebiasis Intestinal**. Rev. Infectio [Revista en la internet]. 2007 [citado 2010 abril 1]; 11(1). Disponible en:

http://www.revistainfectio.org/site/Portals/0/volumen11_1/amebiasis2.pdf

13. Tanyuksel Mehmet, Petri William A. **Laboratory Diagnosis of Amebiasis**. Clin Microbiol Rev [revista en la internet]. 2003 Octubre [citado 2010 abril 15] ; 16(4). Disponible en:

<http://cmr.asm.org/cgi/content/full/16/4/713>

14. López Myriam Consuelo, Quiroz Damián Arnoldo, Pinilla Análida Elizabeth. **Diagnóstico de amebiasis intestinal y extraintestinal.** Acta Med Colomb [revista en la internet]. 2008 Junio [citado 2010 abril 15]; 33(2): 75-83.

Disponible en:

http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-24482008000200006&lng=en

15. Pinilla Análida Elizabeth R, López Myriam Consuelo, Castillo Blanca, Murcia Martha Isabel, Nicholls Rubén Santiago, Duque Sofía, Orozco Luis Carlos. **Enfoque clínico y diagnóstico del absceso hepático.** Rev Med Chile [revista en la Internet]. 2003 Dic [citado 2010 abril 15]; 131(12): 1411-1420. Disponible en:

http://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S0034-98872003001200008&script=sci_arttext

16. Tamez A, Guillén N, Castorena G. **Absceso hepático amebiano múltiple.** Rev Med México [Revista en la Internet]. 2009 Jul-Sep [citado 2010 abril 15]; 23(3):165-172. Disponible en:

<http://www.medigraphic.com/pdfs/medcri/ti-2009/ti093h.pdf>

17. Fotedar R., Stark D., Beebe N., Marriott D., Ellis J., Harkness J. **Laboratory Diagnostic Techniques for *Entamoeba* Species** Clin Microbiol Rev [revista en la Internet] 2007 Jul [citado 2010 Abr 16]; 20: 511 - 532. Disponible en:

<http://jcm.asm.org/cgi/content/abstract/35/9/2405>

18. Graham C., Diamond L. **Methods for Cultivation of Luminal Parasitic Protists of Clinical Importance.** Clin Microbiol Rev [revista en la internet] 2002 Jul [citado 2010 Abr 16]; 15: 329-341. Disponible en:

<http://cmr.asm.org/cgi/content/full/15/3/329>

19. Petri W., Joyce P., Broman J, Smith R, Murphy Ch, Ravdin J. **Recognition of the Galactose or N-Acetylgalactosamine Binding Lectin of *Entamoeba histolytica* by Human Immune Sera.** Infection and Immunity [revista en la internet] 1987 Oct [citado 2010 Abr 16]; 55(10):2327-2331. Disponible en: <http://iai.asm.org/cgi/reprint/55/10/2327?maxtoshow=&hits=10&RESULTFORM AT=&fulltext=Recognition+of+the+Galactose+or+N-Acetylgalactosamine-Binding+Lectin+of+Entamoeba+histolytica+by+Human+Immune+Sera&searchid=1&FIRSTINDEX=0&resourcetype=HWCIT>
20. Braga L, Ninomiya H., McCoy J., Eacker S., Wiedmer T., Pham C., Wood S., Sims P., Petri W Jr. **Inhibition of the Complement Membrane Attack Complex by the Galactose-specific Adhesin of *Entamoeba histolytica*.** J Clin Invest [revista en la internet] 1992 [citado 2010 Abr 16]; 90:1131. Disponible en: <http://pubget.com/search?q=Inhibition+of+the+complement+membrane+attack+complex+by+the+galactose-specific+adhesion+of+Entamoeba+histolytica>
21. Petri W Jr., Chapman M., Snodgrass T., Mann B., Broman J., Ravdin J. **Subunit Structure of the Galactose and N-Acetyl-D-galactosamineinhibitable Adherence Lectin of *Entamoeba histolytica*.** J Biological Chemistry [revista en la internet] 1989 Feb [citado 2010 Abr 16]; 264(5): 3007-3012. Disponible en: <http://www.jbc.org/content/264/5/3007.full.pdf+html>
22. Petri W Jr., Jackson T., Gathiram V., Kress K., Saffer L., Snodgrass T., Chapman M., Keren Z., Mirelman D. **Pathogenic and nonpathogenic strains of *Entamoeba histolytica* can be differentiated by monoclonal antibodies to the galactose-specific adherence lectin.** Infect Immun [revista en la internet] 1990 Jun [citado 2010 Abr 16]; 58 (6):1802-1806. Disponible en: <http://iai.asm.org/cgi/reprint/58/6/1802?maxtoshow=&hits=10&RESULTFORMA T=&fulltext=Pathogenic+and+nonpathogenic+strains+of+Entamoeba+histolytica>

+can+be+differentiated+by+monoclonal+antibodies+to+the+galactose-specific+adherence+lectin&searchid=1&FIRSTINDEX=0&resourcetype=HWCIT

23. Haque R., Mollah N., Karim I., Ali I., Khorshed A., Eubanks A., Lysterly D., Petri W Jr. **Diagnosis of Amebic Liver Abscess and Intestinal Infection with the TechLab *Entamoeba histolytica* II Antigen Detection and Antibody Tests.** J Clin Microbiol [revista en la internet] 2000 Sep [citado 2010 Abr 16]; 38(9):3235 -3239. Disponible en:
<http://jcm.asm.org/cgi/content/full/38/9/3235>

24. Abd-Alla M., Jackson T., Gathiram V., El-Hawey A., Ravdin J. **Differentiation of pathogenic *Entamoeba histolytica* infections from nonpathogenic infections by detection of galactose-inhibitable adherence protein antigen in sera and feces.** J Clin Microbiol [revista en la internet] 1993 Nov [citado 2010 Abr 16]; 31(11):2845-2850. Disponible en:
<http://jcm.asm.org/cgi/reprint/31/11/2845?maxtoshow=&hits=10&RESULTFORMAT=&fulltext=Differentiation+of+pathogenic+Entamoeba+histolytica+infections+from+nonpathogenic+infections+by+detection+of+galactose+inhabitable+adherent+protein+>

25. Acuña Soto R., Samuelson J., De Girolami P., Zarate L., Millan F., Schoolnick, Wirth D. **Application of the Polymerase Chain Reaction to the Epidemiology of Pathogenic and Nonpathogenic *Entamoeba histolytica*.** J Trop Med Hyg [revista en la internet] 1993 Jun [citado 2010 Abr 17]; 48(1):58-70. [Resumen]
 Disponible en:
<http://www.ajtmh.org/cgi/content/abstract/48/1/58?maxtoshow=&hits=10&RESULTFORMAT=&fulltext=application+of+the+polymerase+chain+reaction+to+the+epidemiology+of+pathogenic+a&searchid=1&FIRSTINDEX=0&sortspec=relevance&resourcetype=HWCIT>

26. Ghosh S., Satish S., Tyagi S., Bhattacharya A., Bhattacharya S. **Differential use of multiple replication origins in the ribosomal DNA episome of the protozoan parasite *Entamoeba histolytica***. Nucl Acids Res

[revista en la internet] 2003 Feb [citado 2010 Abr 17]; 31(8):2035-2044. Disponible en:

<http://nar.oxfordjournals.org/cgi/content/full/31/8/2035?maxtoshow=&hits=10&RESULTFORMAT=&fulltext=Differential+use+of+multiple+replication+origins+in+the+ribosomal+DNA+episome+of+the+protozoan+parasite+Entamoeba+histolytica&searchid=1&FIRSTINDEX=0&resourcetype=HWCIT>

27. Petri W. Jr., Ravdin J. **Protection of gerbils from amebic liver abscess by immunization with the galactose-specific adherence lectin of *Entamoeba histolytica***. Infect Immun [revista en la internet] 1991 Jun [citado 2010 Abr 17]; 59(1):97-101. Disponible en:

<http://iai.asm.org/cgi/reprint/59/1/97?maxtoshow=&hits=10&RESULTFORMAT=&fulltext=Protection+of+gerbils+from+amebic+liver+abscess+by+immunization+with+the+galactose-specific+adherence+lectin+of+Entamoeba+histolytica&searchid=1&FIRSTINDEX=0&resourcetype=HWCIT>

28. Riquelme F., Uribe R., **Determinación de anticuerpos anti-*Entamoeba histolytica* mediante inmunofluorescencia indirecta en pacientes con pruebas hepáticas alteradas**. [monografía en la Internet]. Talca: Universidad de Talca Facultad de Ciencias de la Salud Escuela de Tecnología Médica; 2004 [citado 2010 Abr 17]. Disponible en:

http://dspace.otalca.cl/retrieve/2834/riquelme_caceres.pdf

29. Rashidul Haque, M.B., Ph.D., Christopher D. Huston, M.D., Molly Hughes, M.D., Ph.D., Eric Houpt, M.D., and William A. Petri, Jr., M.D., Ph.D. **Amebiasis**. N Engl J Med [revista en la internet] 2003 Abr [citado 2010 Abr 10]; 348(16):1565-1573. Disponible en:

<http://content.nejm.org/cgi/content/full/348/16/1565>

30. Martha Espinosa-Cantellano, Adolfo Martínez-Palomo. **Pathogenesis of Intestinal Amebiasis: From Molecules to Disease.** Clin Microbiol Rev [revista en la Internet] 2000 Apr [citado 2010 Abr 10]; 13(2):318-331. Disponible en: <http://cmr.asm.org/cgi/content/full/13/2/318?maxtoshow=&hits=10&RESULTFORMAT=&fulltext=entamoeba+hystolitica&searchid=1&FIRSTINDEX=0&resourcetype=HWCIT>
31. Darcy Moncada, Kathy Keller, Kris Chadee. **Entamoeba histolytica Cysteine Proteinases Disrupt the Polymeric Structure of Colonic Mucin and Alter Its Protective Function.** Infect. Immun. [revista en la internet] 2003 Feb [citado 2010 Abr 10]; 71(2):838-844. Disponible en: <http://iai.asm.org/cgi/content/full/71/2/838?maxtoshow=&hits=10&RESULTFORMAT=&fulltext=Moncada+D%2C+Keller+K%2C+Chadee+K.+Entamoeba+histolytica+cysteine+proteinases+disrupt+the+polymeric+structure+of+colonic+mucin+and+alter+its+protective+function&searchid=1&FIRSTINDEX=0&resourcetype=HWCIT>
32. Xuchu Que, Sharon L. Reed **Cysteine Proteinases and the Pathogenesis of Amebiasis.** Clin Microbiol Rev [revista en la internet] 2000 Abr [citado 2010 Abr 10]; 13(2):196-206. Disponible en: <http://cmr.asm.org/cgi/content/full/13/2/196?maxtoshow=&hits=10&RESULTFORMAT=&fulltext=Cysteine+proteinases+and+the+pathogenesis+of+amebiasis&searchid=1&FIRSTINDEX=0&resourcetype=HWCIT>
33. Christopher D. Huston, Douglas R. Boettner, Vanessa Miller-Sims, and William A. Petri, Jr. **Apoptotic Killing and Phagocytosis of Host Cells by the Parasite Entamoeba histolytica.** Infect Immun [revista en la internet] 2003 Feb [citado 2010 Abr 15]; 71(2):964-972. Disponible en: <http://iai.asm.org/cgi/content/full/71/2/964>

34. Godbold G.D., Mann B.J.. **Involvement of the actin cytoskeleton and p21rho-family GTPases in the pathogenesis of the human protozoan parasite *Entamoeba histolytica***. Braz J Med Biol Res [revista en la internet] 1998 Ago [citado 2010 Abr 17]; 31(8):1049-1058. Disponible en: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-879X1998000800004&lng=pt.doi:10.1590/S0100-879X1998000800004.

35. David L. Beck, Douglas R. Boettner, Bojan Dragulev, Kim Ready, Tomoyoshi Nozaki, and William A. Petri, Jr. **Identification and Gene Expression Analysis of a Large Family of Transmembrane Kinases Related to the Gal/GalNAc Lectin in *Entamoeba histolytica***. Eukaryot Cell [revista en la internet] 2005 Abr [citado 2010 Abr 17]; 4(4):722-732. Disponible en: <http://ec.asm.org/cgi/content/full/4/4/722?maxtoshow=&hits=10&RESULTFORMAT=&fulltext=Identification+and+gene+expression+analysis+of+a+large+family+of+transmembrane+kinases+related+to+the+Gal%2FGalNAc+lectin+in+Entamoeba+histolytica&searchid=1&FIRSTINDEX=0&resourcetype=HWCIT>

36. Paulo Tavares, Marie-Christine Rigotherier, Huot Khun, Pascal Roux, Michel Huerre, Nancy Guillén. **Roles of Cell Adhesion and Cytoskeleton Activity in *Entamoeba histolytica* Pathogenesis: a Delicate Balance**. Infect Immune [revista en la internet] 2005 Mar. [citado 2010 Abr 17]; 73(3):1771-1778. Disponible en:

<http://iai.asm.org/cgi/content/full/73/3/1771?maxtoshow=&hits=10&RESULTFORMAT=&fulltext=Roles+of+cell+adhesion+and+cytoskeleton+activity+in+Entamoeba+histolytica+pathogenesis&searchid=1&FIRSTINDEX=0&resourcetype=HWCIT>

37. Xuchu Que, Sharon L. Reed. **Cysteine Proteinases and the Pathogenesis of Amebiasis**. Clin Microbiol Rev [revista en la internet] 2000 Abr [citado 2010 Abr 17]; 13(2):196-206. Disponible en:

<http://cmr.asm.org/cgi/content/full/13/2/196?maxtoshow=&hits=10&RESULTFORMAT=&fulltext=Downregulation+of+selected+cytokines+in+amebiasis&searchid=1&FIRSTINDEX=0&resourcetype=HWCIT>

38. Oliver Hecht, Nico A. van Nuland, Karin Schleinkofer, Andrew J. Dingley, Heike Bruhn, Matthias Leippe, Joachim Grötzinger. **Solution Structure of the Pore-forming Protein of *Entamoeba histolytica***. J Biol Chem [revista en la Internet] 2004 [citado 2010 Abr 17];279:17834-17841. Disponible en:

<http://www.jbc.org/content/279/17/17834.full?sid=686d8cc8-8952-4bde-9e9d-794ad3d245c4>

39. Martin E. Lidell, Darcy M. Moncada, Kris Chadee, Gunnar C. Hansson. *Entamoeba histolytica* cysteine proteases cleave the MUC2 mucin in its C-terminal domain and dissolve the protective colonic mucus gel. **PNAS** [revista en la internet]. 2006 Jun [citado 2010 Abr 20]; 103(24):9298-9303. Disponible en:

<http://www.pnas.org/content/103/24/9298.full?sid=245e3a05-9bf9-41fa-8de5-a5285a8322fc>

40. Viasus Pérez Diego F., Pinilla Análida E., López Myriam C. **Immunology of the amebic liver abscess**. Rev salud pública [revista en la internet] 2004 Oct [citado 2010 Abr 17]; 6(1). Disponible en:

http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0124-00642004000400005&lng=en.

41. Abioye AA, Lewis EA, McFarlane H. **Clinical evaluation of serum immunoglobulins in amoebiasis**. Immunol [revista en la internet] 1972 Dic [citado 2010 Abr 17]; 23(6):937-946. Disponible en:

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4630782>

42. MD Abd-Alla, TG Jackson, JI Ravdin. **Serum IgM antibody response to the galactose-inhibitable adherence lectin of *Entamoeba histolytica***. Am J

Trop Med Hyg [revista en la internet] 1998 Sep [citado 2010 Abr 20]; 59(3):431-434. Disponible en:

<http://www.ajtmh.org/cgi/reprint/59/3/431?maxtoshow=&hits=10&RESULTFOR MAT=&fulltext=+Serum+IgM+antibody+response+to+the+galactose-inhibitable+adherence+lectin+of+En&searchid=1&FIRSTINDEX=0&sortspec=relevance&resourcetype=HWCIT>

43. Sathar MA, Bredenkamp BL, Gathiram V, Simjee AE, Jackson TF. **Detection of *Entamoeba histolytica* immunoglobulins G and M to plasma membrane antigen by enzyme-linked immunosorbent assay.** J Clin Microbiol [revista en la internet] 1990 Feb [citado 2010 Abr 20]; 28(2):332-335. Disponible en:

<http://jcm.asm.org/cgi/reprint/28/2/332>

44. C. Maldonado Bernal, C. J. Kirschning, Y. Rosenstein, L. M. Rocha, N. Rios Sarabia, M. Espinosa-Cantellano, I. Becker, I. Estrada, R. M. Salazar González, C. López-Macías, H. Wagner, J. Sánchez, A. Isibasi. **The innate immune response to *Entamoeba histolytica* lipopeptidophosphoglycan is mediated by toll-like receptors 2 and 4.** Parasite Immunol [revista en la internet] 2005 [citado 2010 Abr 25]; 27:127-137. Disponible en:

<http://www3.interscience.wiley.com/cgi-bin/fulltext/118650015/PDFSTART>

45. Rafael Campos Rodríguez, Adriana Jarillo Luna. **The pathogenicity of *Entamoeba histolytica* is related to the capacity of evading innate immunity.** Parasite Immunol [revista en la internet] 2005 Ene [citado 2010 Abr 25]; 27:1-8. Disponible en:

<http://www3.interscience.wiley.com/cgi-bin/fulltext/118650015/PDFSTART>

46. Rashidul Haque, Dinesh Mondal, Priya Duggal, Mamun Kabir, Shantanu Roy, Barry M. Farr, R. Bradley Sack, William A. Petri, Jr. ***Entamoeba histolytica* Infection in Children and Protection from Subsequent**

Amebiasis Infect Immun [revista en la internet] 2006 Feb [citado 2010 Abr 25]; 74(2):904 - 909. Disponible en:

<http://iai.asm.org/cgi/content/full/74/2/904?maxtoshow=&hits=10&RESULTFORMAT=&fulltext=Entamoeba+histolytica+infection+in+children+and+protection+from+subsequent+amebiasis&searchid=1&FIRSTINDEX=0&resourcetype=HWCIT>

47. William A. Petri, Jr., Upinder Singh. **Diagnosis and Management of Amebiasis**. Clin Infect Dis [revista en la Internet] 1999 Jul [citado 2010 Abr 25]; 29(5):1117-1125. Disponible en:

<http://www.journals.uchicago.edu/doi/full/10.1086/313493?prevSearch=%2528Diagnosis%2Band%2Bmanagement%2Bof%2Bamebiasis%2529%2BAND%2B%255Bjournal%253A%2Bcid%255D&searchHistoryKey=>

48. Rashidul Haque, I. K. M. Ali, S. Akther, William A. Petri, Jr. **Comparison of PCR, Isoenzyme Analysis, and Antigen Detection for Diagnosis of *Entamoeba histolytica* Infection** J Clin Microbiol [revista en la internet] 1998 Feb [citado 2010 Abr 20]; 36 : 449 - 452.

<http://jcm.asm.org/cgi/content/full/36/2/449>

49. Mohamed D. Abd Alla, Terry F. H. G. Jackson, Selvan Reddy, Jonathan I. Ravdin. **Diagnosis of Invasive Amebiasis by Enzyme-Linked Immunosorbent Assay of Saliva To Detect Amebic Lectin Antigen and Anti-Lectin Immunoglobulin G Antibodies**. J Clin Microbiol [revista en la internet] 2000 Jun [citado 2010 May 1]; 38(6):2344-2347. Disponible en:

<http://jcm.asm.org/cgi/content/full/38/6/2344?maxtoshow=&hits=10&RESULTFORMAT=&fulltext=Diagnosis+of+invasive+amoebiasis+by+enzyme+linked+immunosorbent+assay+of+saliva+to+detect+amoebic+lectin+antigen+and+antilectin+immunoglobulin+G+antibodies&searchid=1&FIRSTINDEX=0&resourcetype=HWCIT>

50. R Haque, LM Neville, P Hahn, and WA Petri, Jr. **Rapid diagnosis of Entamoeba infection by using Entamoeba and Entamoeba histolytica stool antigen detection kits.** J Clin Microbiol [revista en la Internet] Oct 1995 [citado 2010 May 1]; 33(10): 2558-2561. Disponible en: <http://jcm.asm.org/cgi/reprint/33/10/2558>

51. Joerg Blessmann, Heidrun Buss, Phuong A. Ton Nu, Binh T. Dinh, Quynh T. Viet Ngo, An Le Van, Mohamed D. Abd Alla, Terry F. H. G. Jackson, Jonathan I. Ravdin, Egbert Tannich. **Real-Time PCR for Detection and Differentiation of *Entamoeba histolytica* and *Entamoeba dispar* in Fecal Samples.** J Clin Microbiol [revista en la internet] 2002 Dic [citado 2010 May 1]; 40(12):4413-4417. Disponible en: <http://jcm.asm.org/cgi/content/full/40/12/4413>

52. Rivero Zulfbey, Bracho Ángela, Calchi Marinella, Díaz Iris, Acurero Ellen, Maldonado Adriana et al. **Detección y diferenciación de Entamoeba histolytica y Entamoeba dispar mediante reacción en cadena de la polimerasa en individuos de una comunidad del Estado Zulia, Venezuela.** Cad Saúde Pública [revista en la Internet]. 2009 Ene [citado 2010 Mayo 1]; 25(1): 151-159. Disponible en: <http://www.scielosp.org/pdf/csp/v25n1/16.pdf>

53. Arturo Caballero-Salcedo, Mónica Viveros-Rogel, Benito Salvatierra, Roberto Tapia-Conyer, Jaime Sepúlveda Amor, Gonzalo Gutierrez, Librado Ortiz Ortiz. **Seroepidemiology of Amebiasis in Mexico.** Am J Trop Med Hyg [revista en la internet] 1994 Abr [citado 2010 May 1];50:412-419. [Resumen]. Disponible en: <http://www.ajtmh.org/cgi/content/abstract/50/4/412>

54. Zengzhu, R. Bracha, Y. Nuchamowitz, W. Cheng-I, D. Mirelman **Analysis by Enzyme-Linked Immunosorbent Assay and PCR of Human Liver Abscess Aspirates from Patients in China for *Entamoeba histolytica*.**

J Clin Microbiol [revista en la internet] 1999 Sep [citado 2010 May 1]; 37(9):3034-3036. Disponible en:

<http://jcm.asm.org/cgi/content/full/37/9/3034>

55. D J Sheehan, E J Bottone, K Pavletich, M C Heath. ***Entamoeba histolytica*: efficacy of microscopic, cultural, and serological techniques for laboratory diagnosis**. Clin Microbiol [revista en la internet] 1979 Ago [citado 2010 May 1]; 10(2):128-133. Disponible en:

<http://jcm.asm.org/cgi/reprint/10/2/128>

56. H Troll, H Marti, N Weiss. **Simple differential detection of *Entamoeba histolytica* and *Entamoeba dispar* in fresh stool specimens by sodium acetate-acetic acid-formalin concentration and PCR**. J Clin. Microbiol. [revista en la internet] 1997 Jul [citado 2010 May 6]; 35(9):1701 – 1705. Disponible en:

<http://jcm.asm.org/cgi/content/abstract/44/9/3196>

57. U Edman, M A Meraz, S Rausser, N Agabian, I Meza. **Characterization of an immuno-dominant variable surface antigen from pathogenic and nonpathogenic *Entamoeba histolytica***. J Exp Med [revista en la internet] 1990 Sep [citado 2010 May 6]. Disponible en:

<http://jem.rupress.org/content/172/3/879.abstract>

58. L I Garfinkel, M Giladi, M Huber, C Gitler, D Mirelman, M Revel, S Rozenblatt. **DNA probes specific for *Entamoeba histolytica* possessing pathogenic and nonpathogenic zymodemes**. Infect Immun [revista en la internet] Mar 1989 [citado 2010 May 6]; 57(3): 26-931. Disponible en:

<http://iai.asm.org/cgi/content/abstract/57/3/926>

59. Jose E. Teixeira, Christopher D. Huston. **Participation of the Serine-Rich *Entamoeba histolytica* Protein in Amebic Phagocytosis of Apoptotic Host**

Cells. Infect Immun [revista en la internet] 2008 Mar [citado 2010 May 6];76(3): 959-966. Disponible en:

<http://iai.asm.org/cgi/content/abstract/76/3/959?maxtoshow=&hits=10&RESULTFORMAT=&fulltext=E.+histolytica+SREPH+&searchid=1&FIRSTINDEX=0&resourcetype=HWCIT>

60. Jaco J. Verweij, Roy A. Blangé, Kate Templeton, Janke Schinkel, Eric A. T. Brienen, Marianne A. A. van Rooyen, Lisette van Lieshout, Anton M. Polderman.

Simultaneous Detection of *Entamoeba histolytica*, *Giardia lamblia*, and *Cryptosporidium parvum* in Fecal Samples by Using Multiplex Real-Time PCR. J Clin Microbiol [revista en la Internet] 2004 Mar [citado 2010 May 15]; 42(3):1220-1223. Disponible en:

<http://jcm.asm.org/cgi/content/abstract/42/3/1220>

61. Idsociety.org [página principal en la internet]. Virginia: **Infectious Diseases Society of America.** [actualizado 2009; citado 2010 May 15]. Disponible en: <http://www.idsociety.org/>

62. Devendra Bansal, Rakesh Sehgal, Yogesh Chawla, Nancy Malla y R.C. Majan. **Multidrug resistance in amoebiasis patients.** Indian J Med Res. [revista en la internet] 2005 Sep. [citado 2010 May 15];124:189-94. Disponible en:

<http://www.icmr.nic.in/ijmr/2006/august/0810.pdf>

63. www.ine.gov.bo [página principal en la internet]. La Paz: Instituto Nacional de Estadística. [actualizado 2010 Jun 15; citado 2010 Jun 15]. Disponible en: www.ine.gov.bo

ANEXO N° 1

GUIA DE OBSERVACIÓN

Paciente N°:

Fecha:

Procedencia: Urbano Rural

Edad en años:

Sexo: Masculino Femenino

Detalle Establecido en el Diagnóstico	SI	NO	OBS
Datos clínicos de colon irritable			
Diarreas crónicas			
Antecedentes de diarrea disenteriforme			
Pérdida de peso			
Antecedentes de amebiasis previa, intestinal y extraintestinal			
EDA (Enfermedad diarreica aguda)			
Otros			

Resultado analítico de la prueba de Elisa para *Entamoeba histolytica*:

Reactivo

No reactivo

Anexo Nº 2

HOJA DE REGISTRO

Nº PACIENTE	EDAD en años	SEXO		PROCEDENCIA		DETALLE ESTABLECIDO EN DIAGNÓSTICO							RESULTADO DE LA PRUEBA DE ELISA		INSTITUCIÓN DE SALUD
		M	F	U	R	CI	DC	ADD	PP	AAPIE	EDA	OTROS	REACTIVO	NO REACTIVO	
1	56		X	X				X		X			X		HRSJDD
2	56	X		X		X	X						X		CNS
3	67		X	X				X				X		X	SSU
4	52	X			X		X				X		X		SSU
5	83	X		X			X	X				X	X		SSU
6	42	X		X			X				X			X	SSU
7	63		X	X					X			X		X	SSU
8	22	X		X				X			X		X		SSU
9	73	X			X			X			X		X		SSU
10	37		X	X			X							X	SSU
11	84	X		X			X		X				X		CNS
12	76	X			X		X	X				X	X		CNS
13	56	X		X			X		X				X		CNS
14	52		X	X						X			X		SSU
15	65	X		X				X			X		X		SSU
16	53	X		X			X		X				X		CNS
17	46		X	X			X						X		PROSALUD
18	28		X	X			X							X	PROSALUD
19	37	X		X			X					X	X		PROSALUD
20	5	X		X							X			X	PROSALUD

21	78	X			X	X	X						X		PROSALUD
22	8		X	X			X	X						X	PROSALUD
23	62	X			X		X							X	PROSALUD
24	8		X		X		X							X	PROSALUD
25	27		X	X				X					X		PROSALUD
26	54	X		X			X	X						X	SSU
27	34		X	X		X	X		X				X		PROSALUD
28	11	X		X			X					X	X		HRSJDD
29	6	X		X								X		X	HRSJDD
30	44	X		X			X						X		HRSJDD
31	24	X			X							X		X	HRSJDD
32	13	X		X								X		X	HRSJDD
33	10		X	X								X		X	HRSJDD
34	4		X		X				X					X	HRSJDD
35	15		X	X							X			X	HRSJDD
36	10		X	X							X			X	HRSJDD
37	26		X	X							X			X	HRSJDD
38	36	X			X			X				X	X		HRSJDD
39	3		X	X				X			X		X		HRSJDD
40	17	X		X							X			X	HRSJDD
41	55		X	X			X				X			X	SSU
42	83		X	X							X			X	SSU
43	10	X		X							X			X	SSU
44	5		X	X							X			X	SSU
45	33		X	X							X			X	SSU

46	59		X	X			X							X	SSU
47	46		X	X			X				X			X	SSU
48	55	X		X					X		X			X	SSU
49	4	X		X			X	X					X		SSU
50	10	X		X			X				X			X	SSU
51	36		X	X			X	X					X		SSU
52	16	X		X		X					X			X	SSU
53	10	X		X							X			X	SSU
54	10	X		X							X	X		X	SSU
55	8	X		X			X				X			X	SSU
56	45		X	X								X		X	SSU
57	5	X		X								X		X	SSU
58	11	X		X						X				X	PROSALUD
59	41	X		X							X			X	SSU
60	59		X	X								X		X	SSU
61	40	X		X							X			X	SSU
62	38	X			X		X	X					X		SSU
63	50	X		X							X			X	SSU
64	81	X		X			X		X		X		X		SSU
65	59		X	X			X				X			X	SSU
66	10		X	X							X			X	SSU
67	65	X		X				X			X		X		SSU
68	69		X	X		X							X		PROSALUD
69	48	X		X							X		X		PROSALUD
70	15	X		X			X				X		X		PROSALUD

71	39	X		X							X			X	PROSALUD
72	78	X		X				X			X		X		SSU
73	15	X		X							X	X		X	SSU
74	20		X	X							X	X		X	SSU
75	61	X		X								X		X	SSU
76	76		X		X	X	X						X		CNS
77	63	X		X							X		X		HRSJDD
78	59		X		X	X	X						X		SSU
79	54	X		X			X						X		SSU
80	36		X	X		X								X	PROSALUD
81	18	X		X			X							X	SSU
82	72		X		X		X				X			X	HRSJDD
83	56		X		X							X		X	HRSJDD
84	59	X		X				X					X		PROSALUD
85	4	X		X								X		X	HRSJDD
86	27		X	X			X		X					X	PROSALUD
87	19		X		X						X			X	HRSJDD
88	40		X	X					X		X			X	PROSALUD

CI: Colon irritable

DC: Diarreas crónicas

ADD: Antecedentes de diarrea disenteriforme

PP: Pérdida de peso

AAPIE: Antecedentes de amebiasis previa, intestinal y/o extraintestinal

EDA: Enfermedad diarreica aguda

OTROS: Dolor abdominal, Reacción de Widal