



El saber de mis hijos  
hará mi grandeza

# UNIVERSIDAD DE SONORA

## UNIDAD REGIONAL SUR

DIVISIÓN DE CIENCIAS E INGENIERÍA  
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS QUÍMICO-BIOLÓGICAS Y AGROPECUARIAS

---

---

**“FACTORES DE VIRULENCIA Y ACTIVIDAD  
ENZIMÁTICA PARA EL DIAGNÓSTICO  
DIFERENCIAL ENTRE *ENTAMOEBAS HISTOLYTICA*  
Y *ENTAMOEBAS DISPAR*”**

**TESIS PROFESIONAL  
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE**

**QUÍMICO BIÓLOGO CLÍNICO**

**PRESENTAN**

**MARÍA LUISA CÓZARIT MOROYOQUI  
GABRIEL SOLÍS AGUILERA**

**NAVOJOA, SONORA**

**JUNIO DE 2013.**

# Universidad de Sonora

Repositorio Institucional UNISON



"El saber de mis hijos  
hará mi grandeza"



Excepto si se señala otra cosa, la licencia del ítem se describe como openAccess

## APROBACIÓN

Los miembros del jurado asignado para revisar la tesis profesional de María Luisa Cózarit Moroyoqui y Gabriel Solís Aguilera lo han encontrado satisfactorio y recomiendan que sea aceptada como requisito parcial para obtener el título de Químico Biólogo Clínico.

---

Q.B. ROSA AMELIA VÁZQUEZ CURIEL  
PRESIDENTE

---

Q.B. SILVIA ELENA RODRÍGUEZ MÁRQUEZ  
SECRETARIO

---

DRA. GUADALUPE GONZÁLEZ OCHOA  
VOCAL

---

Q.F.B. GLORIA ALICIA LIMÓN REYNOSA  
SUPLENTE

## DECLARACIÓN INSTITUCIONAL

Se permite y se agradece las citas breves del material contenido en este trabajo de tesis profesional sin permiso especial de los autores, siempre y cuando se de crédito correspondientes a los autores y a la Universidad de Sonora, Unidad Regional Sur.

La publicación en comunicaciones científicas o de divulgación popular de los datos contenidos en este trabajo, deberá dar los créditos a la universidad de sonora, previa aprobación escrita del manuscrito en cuestión, del director de la tesis profesional.

## AGRADECIMIENTOS Y DEDICATORIAS

*Agradezco primeramente a Dios por todas las bendiciones que me ha dado, que siempre está presente en mi mente y en mi corazón, las cuales agradezco todos los días.*

*A la institución UNIVERSIDAD DE SONORA por permitirme hacer uso del material académico para concluir mi tesis, por las facilidades otorgadas por la educación y conocimientos que recibí para forjarme como persona profesional, y por los buenos momentos que pase durante mi estancia.*

*Infinitamente agradezco por su valiosa e invaluable dirección de tesis a Q.B. Rosa Amelia Vázquez Curiel, por la total disposición, por el tiempo otorgado, por su respaldo en todo momento para culminar con mi tesis, por sus consejos, por ser tan noble y guiarme en el camino del saber.*

*A los sinodales por sus críticas constructivas para mejorar nuestra tesis: Q.B. Silvia Elena Rodríguez Márquez, Guadalupe González Ochoa y Q.F.B. Gloria Alicia Limón Reynosa.*

*A mi amigo y compañero de tesis Gabriel Solís Aguilera por compartir su tiempo y conocimientos, por las largas jornadas de trabajo compartidas, por brindarme su amistad, por escucharme, por compartir los buenos y no tan buenos momentos.*

*A todos los compañeros y amigos de la universidad con los que guardo gratos momentos vividos, y por su amistad brindada Atenea Vega Yocupicio, Alma Adelina Moroyoqui, Ana Claudia Silva Yocupicio, Mariel González Solano, Guadalupe Félix Túcari, Edna Lorenia González Ciapara.*

## DEDICO ÉSTA TESIS

*Con todo mi amor y mi cariño a mis viejitos que los amo mucho Pedro Césarit Rosas y Estanislada Moroyoqui Ayala por su incondicional apoyo, por su infinito amor, por ser un ejemplo para mí, por su constante lucha por sacarnos adelante a mis hermanos y a mí, por sus consejos. A mi viejito por no dejarse vencer, gracias diosito, por tanta fortaleza y salud que les das para que sigan tan bien como hasta hoy.*

*A mis hermanos Tomás, Silvia, Celestina, Preciliana, por su apoyo, por sus consejos, y aunque con problemas tarde o temprano nos contentamos, somos familia y hay que seguir adelante, por ser mis hermanos mayores con sus experiencias aprendo. A la memoria de mi hermano Ismael que me brindó su apoyo incondicionalmente, lo extraño, nunca lo olvidare, siempre estará en mi corazón.*

*A mis sobrinos con cariño Antonio, Albina, Nubia, Eliza, José Alberto, por ser además mis amigos, por escucharme, por sus consejos, por compartir los buenos y malos momentos, por ser nobles y buenos, por su fortaleza. A Sergio Adrián, Carlos Tomas, María José, Ernesto Guadalupe, Celina, Pedro Isabel, Miranda Zadiel, Jesús Antonio que con su inocencia, travesuras y ocurrencias dan alegría a la familia. Los quiero mucho.*

*María Luisa Césarit Moroyoqui*

*Primeramente Gracias a dios... por haberme permitido llegar a esta etapa de mi vida y haber cumplido este objetivo...*

*Gracias a la UNISON y a mis maestros que participaron durante toda mi formación académica para que obtuviera los conocimientos necesarios en mi carrera, ética profesional y la responsabilidad del compromiso social con la comunidad.*

*A la profesora Q.B. Rosa Amelia Vázquez Curiel por su disposición y tiempo que nos brindo en asesoría para culminar con la titulación, igualmente al equipo de sinodales Q.B. Silvia Elena Rodríguez Márquez, Guadalupe González Ochoa y Q.F.B. Gloria Alicia Limón Reynosa por su colaboración y recomendaciones dadas para realizar un buen trabajo de tesis. Muchas Gracias...*

*A María Luisa Cozarit Moroyoqui, amiga y compañera de tesis que me brindo su tiempo para realizar juntos este trabajo, también gracias a todos los compañeros y amigos que también fueron parte en mi formación profesional y como persona.*

## *DEDICO ÉSTA TESIS*

*Quiero hacer una dedicación especial de este trabajo de tesis con todo mi amor a mi madre Trinidad Balbaneda Aguilera Baldenegro (†), y a mi padre Gabriel Solís Aguilera por la lucha y el esfuerzo que hicieron para que culminara mi carrera, por ser siempre mi admiración y haberme inculcado el hábito del estudio desde mi niñez, por ser mi aliento en las etapas de alegría y tristeza de mi vida, por ser mi motivación para salir adelante y superarme. Vives en mi corazón mamá...*

*Dedicado con mucho cariño para mi hermana Susana Eunice y mi hermano Juan Miguel y a toda mi familia ya que son parte de este logro obtenido, por estar en todo momento apoyándome siempre. Los quiero mucho...*

*Dedico también este trabajo especialmente con mucho cariño a mi hijo Ángel Gabriel por haber llegado a este mundo y ser mi motor para esforzarme cada día más para superarme y darle un buen ejemplo, igualmente para Ema Patricia Y Diana que en los últimos años he compartido mi vida diaria y por haber formado una familia pasando ratos buenos y malos. Los quiero.*

*Gabriel Solís Aguilera*



## CONTENIDO

|  | <b>Página</b> |
|--|---------------|
| <b>APROBACIÓN</b> .....  | i             |
| <b>DECLARACIÓN INSTITUCIONAL</b> .....                           | ii            |
| <b>AGRADECIMIENTOS Y DEDICATORIAS</b> .....                      | iii           |
| <b>CONTENIDO</b> .....   | vii           |
| <b>LISTA DE FIGURAS</b> .....                                    | x             |
| <b>LISTA DE TABLAS</b> .....                                     | xii           |
| <b>OBJETIVOS</b> .....   | xiii          |
| <b>RESUMEN</b> .....   | xiv           |
| <b>INTRODUCCIÓN</b> .....  | 1             |
| <b>I. GENERALIDADES</b> .....                                    | 4             |
| 1.1 Definición de amibiasis.....                                 | 4             |
| 1.2. Descripción de <i>E.histolytica</i> y <i>E.dispar</i> ..... | 5             |
| 1.3. Clasificación taxonómica.....                               | 5             |
| 1.4. Historia.....   | 7             |
| 1.5. Epidemiología.....  | 9             |
| 1.6. Características morfológicas.....                           | 11            |
| 1.6.1. Trofozoíto.....   | 11            |
| 1.6.2. Prequiste o forma de transición.....                      | 14            |
| 1.6.3. Quiste.....   | 15            |
| 1.7. Ciclo de vida.....  | 17            |
| <b>II. PATOGÉNESIS</b> .....                                     | 21            |
| 2.1. Factores de virulencia de <i>E.histolytica</i> .....        | 21            |
| 2.1.1. Moléculas de adhesión.....                                | 22            |
| 2.1.1.1. Lectina de 260 kDa.....                                 | 22            |
| 2.1.1.2. Lectina de 220 kDa.....                                 | 24            |
| 2.1.2. Amebaporos.....   | 24            |
| 2.1.3. Enzimas proteolíticas.....                                | 25            |
| 2.1.3.2. Proteasas de cisteína.....                              | 25            |

|  |           |
|--|-----------|
| 2.2. Mecanismos y actividad enzimática en el proceso de Patogenicidad..... | 28        |
| 2.2.1. Adhesión huésped-parásito.....                                      | 28        |
| 2.2.2. Citólisis de la célula blanco.....                                  | 31        |
| 2.2.2.1. Efecto citopatico dependiente de contacto.....                    | 31        |
| 2.2.2.2. Efecto de los amebaporos en la citólisis.....                     | 32        |
| 2.2.2.3. Efecto de la proteasa de cisteína en la destrucción de tejidos..  | 33        |
| 2.2.3. Fagocitosis.....  | 34        |
| 2.3. Mecanismos de defensa del hospedero.....                              | 37        |
| 2.3.1. Inmunidad innata.....   | 38        |
| 2.3.2. Inmunidad humoral.....  | 39        |
| 2.3.3. Inmunidad celular.....  | 41        |
| <b>III. PATOLOGIA Y CUADRO CLÍNICO.....</b>                                | <b>45</b> |
| 3.1. Colonización asintomática o amibiasis no invasiva.....                | 46        |
| 3.2. Amibiasis intestinal invasiva.....                                    | 46        |
| 3.2.1. Amibiasis crónica o colitis amibiana no disintérica.....            | 47        |
| 3.2.2. Amibiasis aguda o colitis amibiana disintérica.....                 | 47        |
| 3.2.3. Colitis amibiana fulminante.....                                    | 52        |
| 3.2.4. Ameboma o granuloma amebiano.....                                   | 54        |
| 3.3. Amibiasis extraintestinal invasiva.....                               | 54        |
| 3.3.1. Absceso hepático amebiano.....                                      | 54        |
| <b>IV. DIAGNOSTICO CLÍNICO DE LABORATORIO.....</b>                         | <b>60</b> |
| 4.1. Diagnóstico parasicológico.....                                       | 60        |
| 4.1.1. Recolección y conservación de la muestra.....                       | 61        |
| 4.2. Técnicas coproparasitológicas.....                                    | 63        |
| 4.2.1. Examen microscópico directo en solución salina.....                 | 64        |
| 4.2.2. Examen microscópico en solución de Lugol.....                       | 66        |
| 4.3. Técnicas de concentración fecal.....                                  | 68        |
| 4.3.1. Técnicas de concentración de Faust.....                             | 68        |
| 4.3.2. Técnicas de concentración de Ritchie.....                           | 69        |
| 4.4. Tinciones microscópicas.....  | 69        |

|  |           |
|--|-----------|
| 4.4.1. Examen microscópico con tinción hematoxilina eosina.....              | 69        |
| 4.4.2. Frotis de heces con hematoxilina férrica o coloración tricrómica..... | 71        |
| 4.5. Técnicas inmunológicas.....   | 73        |
| 4.5.1. ELISA.....  | 73        |
| 4.5.2. Contrainmunolectroforesis.....  | 75        |
| 4.6. Técnicas moleculares.....   | 76        |
| 4.6.1. PCR.....  | 76        |
| 4.6.2. Análisis de Isoenzimas.....   | 78        |
| <b>V. TRATAMIENTO.....</b>   | <b>80</b> |
| <b>VI. PROFILAXIS.....</b>   | <b>82</b> |
| <b>VII. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....</b>                              | <b>84</b> |
| <b>VIII. BIBLIOGRAFÍA.....</b>   | <b>87</b> |
| <b>ANEXOS</b>  |           |

## LISTA DE FIGURAS

|                  |   | <b>página</b> |
|------------------|---|---------------|
| <b>Figura 1</b>  | Estadios morfológicos de <i>E.histolytica</i> .....   | 17            |
| <b>Figura 2</b>  | Ciclo de Vida.....  | 19            |
| <b>Figura 3</b>  | Proteínas expresadas/secretadas por el trofozoíto de <i>E. histolytica</i> consideradas factores de virulencia..... | 27            |
| <b>Figura 4</b>  | Modelo esquemático representando moléculas de amebaporo insertadas en la bicapa lipídica de una célula diana.....   | 32            |
| <b>Figura 5</b>  | Una amiba fagocitando simultáneamente media docena de células epiteliales.....                                      | 37            |
| <b>Figura 6</b>  | Respuesta celular inducida por <i>E.histolytica</i> .....   | 42            |
| <b>Figura 7</b>  | Proceso patogénico en <i>E.histolytica</i> .....  | 43            |
| <b>Figura 8</b>  | Trofozoítos adheridos al epitelio interglandular.....   | 48            |
| <b>Figura 9</b>  | Colitis ulcerosa amebiana.....  | 49            |
| <b>Figura 10</b> | Úlcera en forma de botella.....   | 50            |
| <b>Figura 11</b> | Absceso hepático amibiano experimental de hámster.....  | 56            |
| <b>Figura 12</b> | Úlcera cutánea fagedénica del periné.....   | 57            |
| <b>Figura 13</b> | Amibiasis invasiva en diferentes tejidos del ser humano.....  | 58            |
| <b>Figura 14</b> | Trofozoíto de <i>E.histolytica</i> . Montaje en fresco con solución salina..  | 65            |
| <b>Figura 15</b> | Quistes <i>E.histolytica</i> / <i>E.dispar</i> . Montaje en fresco con solución salina.....                         | 65            |
| <b>Figura 16</b> | Trofozoítos de <i>E.histolytica</i> / <i>E.dispar</i> . Frotis teñido con Lugol.....                                | 67            |
| <b>Figura 17</b> | Quistes de <i>E. histolytica</i> / <i>E. dispar</i> en una preparación en fresco teñidos con lugol.....             | 67            |
| <b>Figura 18</b> | Tinción con la técnica de hematoxilina/eosina.....  | 70            |
| <b>Figura 19</b> | <i>E.histolytica</i> trofozoítos en tejido de colon teñido con H & E.....   | 70            |
| <b>Figura 20</b> | Trofozoítos de <i>E.histolytica</i> en una biopsia perianal teñidos con H & E.....                                  | 71            |
| <b>Figura 21</b> | Trofozoítos de <i>E.histolytica</i> / <i>E.dispar</i> teñidos con tinción Tricromica en heces.....                  | 71            |
| <b>Figura 22</b> | Quiste <i>E. histolytica</i> / <i>E.dispar</i> teñidos con tinción tricrómica.....                                  | 72            |

**Figura 23** Gel de agarosa (2%) análisis de una prueba de diagnóstico de PCR para la diferenciación entre *E. histolytica* y *E. dispar*.....

77

## LISTA DE TABLAS

|   | <b>página</b> |
|---|---------------|
| <b>Tabla 1</b> Taxonomía de <i>E. histolytica</i> . Schaudinn (1903)..... | 6             |

### **OBJETIVO GENERAL:**

Realizar una revisión bibliográfica, de las características morfológicas y enzimáticas que presentan *E. histolytica* y *E. dispar* para su diferenciación y un diagnóstico preciso.

### **OBJETIVOS ESPECÍFICOS:**

- 1.- Describir la epidemiología de las infecciones amebianas intestinales.
- 2.- Establecer las características morfológicas de *E. histolytica* y *E. dispar*.
- 3.- Analizar los factores de virulencia entre *E. histolytica* y *E. dispar*, que influyen en los mecanismos de patogenicidad.
- 4.- Identificar las pruebas específicas para un diagnóstico clínico preciso de estas dos especies.

## RESUMEN

En esta revisión, se describen algunos datos actuales de la interacción huésped-parásito que se establece en la amibiasis, así como la actividad enzimática del parásito *E. histolytica*. Éste agente etiológico posee mecanismos patogénicos complejos que le permiten invadir la mucosa intestinal y causar colitis amebiana, ya que cumple un proceso de invasión muy elaborado, en el cual secreta y expresa proteínas como amebaporos, lectinas y proteasas de cisteína.

Se revisaron distintas metodologías ya que durante mucho tiempo la confirmación parasitológica del diagnóstico se realizó por estudios microscópicos para visualizar la morfología del protozooario. Sin embargo, el descubrimiento de *E. dispar*, la cual es idéntica morfológicamente a *E. histolytica*, resaltó las deficiencias de este método. En su lugar están surgiendo un número importante de pruebas basadas en la detección de antígenos y anticuerpos.

En la actualidad el método ELISA es una de las pruebas diagnósticas disponibles comercialmente, que puede detectar antígenos en muestras de heces y anticuerpos séricos; detecta *E. histolytica* por lo que para nuestras condiciones sería de mayor utilidad, es fácil de realizar y es de bajo costo. La técnica reacción en cadena de polimerasa (PCR) presenta una sensibilidad superior a la de la microscopía y a la de la serología. Ya que éste método molecular es capaz de distinguir entre *E. histolytica*, la especie patógena, y *E. dispar*, la comensal.

Finalmente el acceso al agua potable y los servicios sanitarios adecuados, un tratamiento médico oportuno y el desarrollo de una vacuna, son los ejes para disminuir la incidencia y mortalidad de esta entidad.



## INTRODUCCIÓN

La amibiasis es una enfermedad que se produce por la presencia de *E. histolytica*, la cual es idéntica morfológicamente a *E. dispar* (no patógena). Se estima que el 10% de la población mundial sufre ésta infección, su distribución es a nivel mundial (aproximadamente 600 millones de personas), ocasionando anualmente cerca de 100,000 muertes por complicaciones presentándose con mayor frecuencia en los países pobres y con bajas condiciones socioeconómicas, por lo cual es considerada un problema de salud pública debido a su gran número de infectados (30).

Los datos más recientes sobre la prevalencia de la infección en México, evaluados mediante un método molecular (PCR), muestran que existe una prevalencia de infección por *E. histolytica* de 13.8%, mientras que para la especie *E. dispar* (morfológicamente indistinguible de *E. histolytica*) es de 9.7%. Esto equivale a un total de 21% de la población infectada por *Entamoeba* (4).

En las heces se pueden distinguir varias formas o fases de desarrollo de *E. histolytica* bajo la forma de trofozoíto, prequiste y quiste. La infección por *E. histolytica* ocurre por ingestión de quistes maduros o quiste tetranucleado que es la forma infectante en alimentos, agua o manos contaminados con heces (19).

Cuando invade el cuerpo humano puede ocasionar diversas manifestaciones clínicas que van desde el portador asintomático hasta la amebiasis extra intestinal invasiva pasando por la amibiasis intestinal invasiva; esto ocasionado por un proceso de invasión muy elaborado en el cual el protozoo secreta y expresa proteínas tales como: moléculas de adhesión, proteínas formadoras de poros y enzimas proteolíticas que le permiten adherirse al epitelio, degrada la

matriz extracelular y causar citólisis de las células epiteliales para penetrar dentro de la mucosa (10).

Así mismo, estudios de patología han determinado que durante las relaciones hospedero-parásito participan factores propios del parásito y factores del hospedero, favoreciendo el establecimiento de la enfermedad. El desarrollo de la enfermedad invasora puede depender de aspectos cuantitativos y cualitativos de la respuesta inmune (4).

Se han establecido diferencias entre ambas especies en cuanto a los caracteres bioquímicos, inmunológicos, genéticos y clínicos de cada una de ellas en el caso de *E. histolytica* presenta alta virulencia, es polimórfica, tendiendo a ser cuadrada, presenta grandes cúmulos de glucógeno en el citoplasma, causa efecto citopático en 3 minutos produciendo alteraciones dramáticas en la membrana plasmática y libera gran cantidad de proteasas, en cambio, *E. dispar* es de baja virulencia, es de forma alargada, no presenta cúmulos (podría ser la clave para distinguir las dos especies) (4).

Éstos dos protozoos son morfológicamente idénticos microscópicamente, por lo que existen limitaciones al realizar el examen microscópico, específicamente los falsos diagnósticos de amibiasis y su insuficiencia para discriminar entre infección por *E. histolytica* y *E. dispar* han conducido al desarrollo de procedimientos que permitan la detección de componentes de las especies presentes (5).

El entendimiento de las características de los eventos que intervienen en el proceso de invasión, ha generado estudios en diferentes áreas de la biología y la medicina. Se han propuesto candidatos para vacunas y métodos diagnósticos cada vez más sensibles y específicos, y se

abren nuevas expectativas terapéuticas a raíz de estos estudios que, a su vez, generan nuevas propuestas de investigaciones. Ésta enfermedad se encuentra asociada a condiciones pobres, por lo que al mejorar estas condiciones se puede mejorar en gran medida la infección (38).

## I. GENERALIDADES

### 1.1. Definición de Amibiasis

La Organización Mundial de la Salud O.M.S ha definido a la amibiasis como: “la condición de portar el parásito *E. histolytica* con o sin manifestaciones clínicas”. La amibiasis es una enfermedad que se presenta en el 10% de la población mundial aproximadamente (38).

La amibiasis es causada por la amiba *E. histolytica*, la cual parásita al ser humano y puede vivir como comensal en el intestino grueso; causando infecciones generalmente sintomáticas que llegan a adquirir importancia clínica. Ya que las amebas, ocasionalmente penetran la mucosa intestinal y pueden diseminarse a otros órganos por vía hemática, causando un efecto citopático en tres minutos, contrario a *E. dispar*, que con inóculos cien veces mayores, se producen discretos abscesos y desaparece rápidamente la necrosis inflamatoria por lo que a los 7 días prácticamente no queda huella de la infección. La confirmación de la distinción de estas dos especies es posiblemente el mayor logro en el campo de la investigación de la amibiasis (7).

Ésta enfermedad ataca al ser humano a cualquier edad manifestándose de diferentes formas. En algunos casos ocasiona: disentería aguda/fulminante con fiebres y escalofríos o diarrea sanguinolenta/mucoide (llamada disentería amibiana), llegando a causar un malestar abdominal leve, que se alterna con períodos de estreñimiento; e incluso puede provocar la muerte. Tiene una distribución mundial que varía de un lugar a otro generalmente las tasas de prevalencia son más altas en algunas zonas del trópico, donde el saneamiento es deficiente (37).

## 1.2. Descripción de *E. histolytica* y *E. dispar*

*E. Histolytica* es un parásito anaerobio eucariota protozario con forma ameboides, como su nombre lo indica, dentro del género *Entamoeba*. Se alimenta del bolo alimentario, bacterias intestinales, líquidas intracelulares de las células que destruye y además a veces fagocita eritrocitos (22).

Tiene proteínas membranales, capaces de formar poros en la membranas de las células humanas, destruyéndolas por choque osmótico, y adhesinas que le permiten fijarse a las células de la mucosa de modo que no sean arrastradas por la diarrea, además producen enzimas, proteasas de cisteína que degradan el medio extracelular humano, permitiéndole invadir otros órganos (38).

*E. histolytica* y *E. dispar* son parásitos unicelulares del reino de los protistas filogenéticamente uno de los organismos eucariotas más primitivos (30).

## 1.3. Clasificación Taxonómica

En la actualidad se deben tomar criterios no solo morfológicos, sino moleculares, fisiológicos y genéticos para llevar a cabo la clasificación taxonómica de cualquier organismo. Sin embargo la clasificación más difundida para *E. histolytica* pertenece a la clase *Rhizopodea*, cuya característica es tener locomoción por pseudópodos y nutrición fagocítica; pertenece a la orden *Amoebida*, caracterizada por ser típicamente uninuclear (22).

De las muchas familias de este orden, sólo la familia *Endamoebidae* tiene especies de importancia médica, de éstas el género *Entamoeba* se caracteriza por tener un núcleo vesicular con un pequeño endosoma cerca del centro y la cromatina distribuida en la periferia (22).

*E. histolytica* es un parásito protista del intestino humano, caracterizado por su estructura celular simple y metabolismo primitivo. Estudios basados en la estructura, el metabolismo, la organización del DNA y RNA, así como la carencia de mitocondria, aparato de Golgi, retículo endoplásmico rugoso y citoesqueleto microtubular, sugieren que es uno de los eucariontes más primitivos, o protoeucariontes (8).

*E. histolytica* presenta cromosomas que no están condensados, con variaciones en tamaños que dificultan el poder determinar el número exacto de éstos. Es considerada como una reliquia viviente de la fase temprana de la evolución de los eucariontes, la cual ocurrió antes de que la simbiosis promitocondrial surgiera, aunque la existencia o ausencia de mitocondrias en *E. histolytica* sigue siendo un tema de debate, ya que no contiene una mitocondria con estructura y forma característica o enzimas típicas del metabolismo energético (8).

| <b>Clasificación Taxonómica</b> |                              |
|---------------------------------|------------------------------|
| <b>Reino</b>                    | Protista                     |
| <b>Subreino</b>                 | Protozoa                     |
| <b>Phylum</b>                   | Sarcomastigophora            |
| <b>Subphylum</b>                | Sarcodina                    |
| <b>Superclase</b>               | Rhizopoda                    |
| <b>Clase</b>                    | Lobosa                       |
| <b>Orden</b>                    | Amoebida                     |
| <b>Familia</b>                  | Endamoebidae                 |
| <b>Género</b>                   | Entamoeba                    |
| <b>Especie</b>                  | <i>Entamoeba histolytica</i> |

Tabla 1. Taxonomía de *E. histolytica*. Schaudinn (1903)  
Fuente :<http://itzamna.bnct.ipn.mx:8080/dspace/bitstream/123456789/320/1/pdf%20tesis.pdf>.

#### 1.4. Historia

A mediados del siglo XIX, se reconoció un síndrome clínico con manifestación intestinal aunque la etiología se desconocía. En 1850, Lambal en Praga describió el primer caso anecdótico, un niño con disentería, en cuya materia fecal demostró la presencia de un protozoo que emitía pseudópodos (29).

En 1875 el médico ruso Fedor Losch, describe el caso de un granjero joven presentaba un cuadro de disentería crónica, encontró gran cantidad de amibas en un examen de heces fecales a las que denominó con el nombre de *Amoeba coli* y cuya descripción concordaba con la morfología típica de *E. histómica* (30).

En 1887 kartulis, demostró por primera vez el papel de *E. histolytica*/*E. dispar* como patógeno. Fue hasta el año de 1903 cuando el zoólogo alemán Fritz Schaudinn diferenció *Entamoeba coli* amiba comensal del intestino, de la amiba patógena capaz de destruir tejido característico por lo que la llamo por primera vez *E. histolytica*. Schaudinn murió por complicaciones secundarias a una amibiasis adquirida de manera experimental (29).

En el año de 1925 Emil Brumpt, parasitólogo francés describió una especie de *Entamoeba* similar morfológicamente a *E. histolytica*, con cuatro núcleos en su forma quística, y la denominó *E. dispar*, considerándola no patógena (30). Argumentando sus experimentos en primero: el seguimiento por un periodo de ocho años de individuos infectados que nunca presentaron síntomas, segundo: la infección de gatos, un método muy sensible para la producción experimental de amibiasis intestinal, que con *E. dispar* nunca llevo a la producción

de síntomas y por último estudios epidemiológicos que demostraban altas tasas de infección por *E. histolytica* en países en los que no se reportaban casos de amibiasis (37).

Así mismo, los datos mostraron que las infecciones en países de zonas templadas eran debidas a una especie distinta aunque morfológicamente idéntica a *E. histolytica* y la denominó *E. dispar*, todos estos argumentos fueron rechazados por la comunidad científica internacional principalmente por considerarse en ese momento que el concepto de especie representaba una idea morfológica y no debería basarse en aspectos patológicos (30).

En 1978 Sargeant, analizando el patrón electroforético de tres isoenzimas (Glucosa fosfato isomerasa, Fosfoglucomutasa y malato oxido reductasa), con la inclusión de la hexoquinasa de *E. histolytica*, estableciendo su gran valor para el estudio de la relación hospedador-parásito, logró determinar dos tipos de patrones electroforéticos los cuales denominó “zimodemos parásitos” y “zimodemos no parásitos” (9).

Diamond y Clark, 1993 redescubren la hipótesis de Brumpt, 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 (29).

Hasta 1997 la Organización Mundial de la Salud (OMS) aceptó esta hipótesis por comité de expertos, reunidos en la 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 (37).



## 1.5. Epidemiología

La amebiasis es una de las parasitosis más tempranamente reconocidas y universales. Esta se presenta frecuentemente en países tropicales aunque también se presentan casos en las zonas templadas y frías, pero más aun en áreas pobres y mal saneadas donde priva el hacinamiento y el mal manejo de de aguas y excretas (30). El hombre es el principal hospedero y reservorio de *E. histolytica* y la expulsión asintomática de quistes es la que origina las nuevas infecciones (9).

Según la O M S se estima que el 10% de la población mundial está infectada por *E. dispar* o por *E. histolytica*, lo que resulta en aproximadamente 50 millones de casos de amibiasis invasora y hasta 100.000 muertes por año (3). La prevalencia de infección amibiana puede ser tan alta como 50% en ciertas áreas de los países en desarrollo (4).

Los estudios serológicos en ciudad de México indicaron que hasta el 9% de la población estaba infectada con *E. histolytica*. Tasas elevadas de infección amibiana ocurren en el subcontinente indio, África occidental, lejano oriente y Centroamérica. La prevalencia de la infección amibiana depende de hábitos culturales, edad, nivel de saneamiento, hacinamiento (35).

La transmisión de la infección puede ocurrir por varios mecanismos ya sea por la contaminación del agua, vegetales, frutas u otros alimentos crudos mal cocinados y a través de vectores mecánicos como moscas y cucarachas que transporten quistes, desde las heces hasta los alimentos (2).

El desenquistamiento ocurre en el intestino delgado y los trofozoítos son liberados y migran al colon (24). Los trofozoítos se reproducen por fisión binaria y producen quistes que se eliminan con las heces (22). Debido a la protección de la pared, los quistes pueden sobrevivir días o semanas en el medio externo y son los responsables de la amibiasis (24). Los trofozoítos en el medio externo mueren rápidamente (14).

En muchos casos los trofozoítos permanecen confinados en la luz intestinal de los infectados, quienes son entonces portadores asintomáticos o eliminadores de quistes. En algunos individuos los trofozoítos invaden la mucosa intestinal, o a través de la circulación, invaden el hígado, pulmones cerebro etc. Se ha establecido que las formas invasivas y no invasivas representan especies separadas: *E. histolytica* y *E. dispar* respectivamente, que son morfológicamente indistinguibles (22).

En general, la infección por *E. dispar* es 10 veces más común que la de *E. histolytica*. La amibiasis invasora sintomática se desarrolla en un 10% de los individuos con infección asintomática por *E. histolytica* (22).

Es importante señalar que entre los muchos miles de individuos estudiados hasta hoy no se ha reportado que *E. dispar* cause enfermedad invasora. Además la *E. dispar* no induce la producción de anticuerpos. En cambio, la infección asintomática por *E. histolytica* sí causa una respuesta inmune humoral (3).

Los datos más recientes sobre la prevalencia de la infección en México, evaluados mediante un método molecular (PCR), muestran que existe una prevalencia de infección por *E. histolytica* de 13.8%, mientras que para la especie *E. dispar* (morfológicamente indistinguible de *E. histolytica*) es de 9.7%. Esto equivale a un total de 21% de la población infectada por *Entamoeba* (3).

En referencia al diagnóstico el hallazgo de trofozoítos con eritrocitos fagocitados en heces frescas o biopsias se correlaciona con la presencia de *E. histolytica*. Por el contrario los quistes de ambos protozoarios son indistinguibles. Por estas razones en los últimos años se han realizado considerables esfuerzos en desarrollar técnicas inmunológicas para una fácil detección

de *E.Histolytica*, para la detección de antígenos en heces y anticuerpos en suero, para ambos casos la técnica más utilizada es el ELISA (30).

La efectividad de los diferentes métodos de prevención contra las enfermedades tropicales es muy diversa, pero la mejor manera de evitarlas es ser precavido utilizando el sentido común evitara el riesgo de padecerlas por lo cual es importante el acceso al agua potable y los servicios sanitarios adecuados, un tratamiento médico oportuno y el desarrollo de una vacuna, son los ejes para disminuir la incidencia y mortalidad de esta entidad por lo tanto una comunidad con buen saneamiento ambiental está menos expuesta a las enteroparasitosis (14).

## **1.6. Características Morfológicas**

El protozooario de *E.histolytica* es una de las más primitivas células eucarióticas, la forma móvil o trofozoíto se diferencia de los procariotas, por tener núcleo organizado, genoma complejo y superficie constituida por una sola membrana plasmática. Esta ultima son características de los eucariota, las amibas se distinguen también de éstos por su organización citoplásmica rudimentaria y división nuclear sin cromosomas evidentes (1).

En las heces se pueden distinguir varias formas o fases de desarrollo de *E. histolytica* bajo la forma de trofozoíto, prequiste y quiste (figura 5). A pesar de que para establecerse en el tubo digestivo, *E. histolytica* tiene como forma infectante habitual al quiste tetranucleado (19).

### **1.6.1. Trofozoíto**

El trofozoíto es la forma parasitaria, que habita en la luz y en la pared del colon, especialmente sigma y recto. Se divide asexualmente por fisión binaria, se desarrolla en medio anaerobio, y se

nutre de sustratos bacterianos tisulares, se alimenta por fagocitosis (2). Miden aproximadamente 7-40  $\mu\text{m}$  de diámetro por lo que es de 4-5 veces mayor que un glóbulo rojo. Es extraordinariamente pleomórfico, ya que su aspecto y movilidad están muy influidos por los cambios de pH, potencial redox y osmolaridad. Presentan un pseudópodo frontal, un uroide posterior y numerosos filopodios (21).

El trofozoíto o forma vegetativa de la *E. histolytica* se reconocen de las demás por características morfológicas de gran importancia diagnóstica, en preparaciones coloreadas, el tamaño del parásito puede reducirse de 1 a 1.5  $\mu\text{m}$  por el encogimiento que provocan los reactivos para la coloración. Requiere de un pH bajo (6.0 -6.5), la presencia de bacterias y un medio complejo para crecer. Los trofozoítos en heces sobreviven de 2 a 5 horas a una temperatura de 37°C y pueden sobrevivir hasta 96 horas a 5°C (19).

La membrana plasmática del trofozoíto presenta las características estructurales de las membranas de los eucariontes superiores. Está constituida por una bicapa de fosfolípidos y los grupos adicionales unidos al grupo fosfato son principalmente la ceramida aminoetil fosfonato, la que la hace diferente a las membranas de mamíferos. En las membranas vesiculares de los trofozoítos predomina la fosfatidilcolina y ceramida aminoetil fosfonato (22).

El fosfolípido que integra a la membrana citoplásmica es resistente a la hidrólisis enzimática y probablemente protege al trofozoíto de las enzimas del aparato digestivo. En la membrana plasmática se presentan proteínas integrales membrana como las adhesinas, las lectinas y enzimas relacionadas con el proceso respiratorio de óxido-reducción, como la piruvato ferredoxin oxidorreductasa (PFO), la peroxiredoxina (PRD), la flavina reductasa (FR) y la hierro superóxido dismutasa (Fe-SOD) (22).

Éstas últimas son capaces de inactivar los metabolitos del oxígeno y del nitrógeno, lo que le permite a *E. histolytica* evadir algunos mecanismos innatos de protección por parte de los tejidos del huésped. La sobre expresión de la Fe-SOD y de la PRD, está relacionada también con la resistencia que presentan algunas cepas al metronidazol (22).

La membrana del trofozoíto presenta movimiento lateral selectivo de las moléculas reconocidas por el sistema inmune del huésped, induciendo a la formación de casquetes o “caps”, que pueden ser endocitados o desprendidos de la célula, promoviendo la evasión de la respuesta inmune (22).

El citoplasma del trofozoíto carece de algunos organelos que se encuentran en la mayoría de los eucariontes como son: citoesqueleto estructurado, microtúbulos citoplasmáticos, mitocondrias, aparato de golgi, peroxisomas, y retículo endoplásmico rugoso (21).

Por microscopía electrónica de transmisión, se ha observado en los trofozoítos de *E. histolytica* dos regiones que no están separadas físicamente, pero si bien diferenciadas: el endoplasma y el ectoplasma. El endoplasma presenta vacuolas endocíticas, fagocíticas, exocíticas, autofágicas, así como también lisosomas primarios y secundarios y cuerpos cromidiales que contienen restos celulares y hematíes intactos o en vías de degradación, gránulos de almidón, pero no bacterias, ribosomas y polirribosomas (21).

El ectoplasma es hialino, ancho transparente, sin inclusiones y, representa más o menos la tercera parte del parásito que cuando esta móvil emite un pseudópodo amplio frontal, es unidireccional parecido a un dedo que se proyecta como un saco herniario hacia el exterior de la célula; muy fácilmente distinguible del resto del citoplasma que es granuloso (22).

Los seudópodos le proporcionan una movilidad al parásito de aproximadamente 50  $\mu\text{m}/\text{seg}$  permitiéndole motilidad continua así como numerosos filopodos también presenta un uroide en la parte posterior, conformado principalmente por miosina II (22).

Es fácil observar que todo el endoplasma se dirige hacia el seudópodo hasta llenarlo nuevamente y en la misma dirección, se produce otro seudópodo que va a realizar las mismas funciones del anterior y así sucesivamente, dando por resultado final el desplazamiento activo del parásito. La presencia de pseudópodos es una de las maneras de distinguir la *E. histolytica* con otra especie común en el hombre, la *E. coli*, que carece de éstos (2).

El núcleo del trofozoito se caracteriza por ser excéntrico de 4-7  $\mu\text{m}$ , se le ha descrito como “forma de carreta” puede a veces reconocerse en la ameba como un anillo granuloso y fino, que es visible generalmente sólo con tinciones, con una concentración de cromatina puntiforme y generalmente concéntrica llamado cariosoma (21).

Cada núcleo tiene un nucléolo el cual es puntiforme y central. El núcleo contiene por la cara interna un material fibrilar con alto en RNA; la pericromatina y DNA. En el centro se encuentra el endosoma, organización rica en DNA. La tinción con hematoxilina muestra una membrana nuclear muy clara, cuya superficie está cubierta de gránulos de cromatina uniformes y pequeños (21).

### **1.6.2. Prequiste o Forma de Transición**

Es la forma intermedia entre el trofozoito y el quiste. En la luz del intestino los trofozoítos eliminan las vacuolas alimenticias y demás inclusiones intra citoplasmáticas, se inmovilizan y

forman prequistes el cual es un organismo, redondeado u ovoide, incoloro de 10-20 micras de diámetro; éstos adquieren una cubierta y dan origen a quistes inmaduros con un núcleo inmóvil agrandado que contiene un cariosoma más o menos central, con una membrana quística blanda, en vía de formación, sin inclusiones citoplasmáticas, pero ocasionalmente con cuerpos cromatoidales y vacuolas llenas de glucógeno y barras cromidiales que se caracterizan por tener sus extremos gruesos. La diferenciación con *E. coli* solo es posible por el estudio de las características del núcleo en preparaciones coloreadas (2).

### 1.6.3. Quíste

Si las condiciones del medio ambiente no son propicias, el trofozoíto empieza a cambiar de forma, deja de emitir pseudópodos, el ectoplasma y el endoplasma ya no se diferencian, de manera que casi desaparece el primero, se pierde la forma irregular y se hace esférico, al tiempo que aparece una pared gruesa llamada pared quística (2).

También ha expulsado al exterior todo el contenido de las vacuolas y empieza a formar material de reserva como vacuolas de glucógeno y barras cromatoidales. El cambio del trofozoíto concluye con la formación de un quíste, el cual sucede exclusivamente en la luz del colon y nunca en el medio ó en los tejidos (1).

El quíste es la forma infectante de *E. Histolytica*, mide de 10-18  $\mu\text{m}$ , su morfología nuclear es similar a la de los trofozoítos, excepto por que los núcleos son más pequeños. Contiene de 1 a 4 núcleos, dependiendo de la madurez (2). A veces se observan tanto en fresco como coloreados. En muestras sin teñirse pueden ser como cuerpos hialinos con paredes refringentes, el citoplasma es granuloso e incoloro y puede contener eritrocitos (1).

Los quistes son de forma redondeada o ligeramente ovalada y posee una cubierta gruesa que forma una membrana de quitina (polímero de N-acetilglucosamina unida por enlaces alfa), ésta pared mide 125-150  $\mu\text{m}$  de grueso. El citoplasma de los quistes jóvenes es incoloro por lo que se pueden ver fácilmente 1-3 vacuolas con glucógeno y cuerpos cromatoides, que son alargados oscuros, muy refringentes, de extremos redondeados. Estos cuerpos cromatoides, contienen fosfatos y ácido desoxirribonucleico, tienden a desaparecer cuando el quiste madura. Ambos tipos de inclusiones citoplásmicas representan reservas de alimentos (22).

Los individuos infectados pueden expulsar hasta 45 millones de quistes por día, éstos son una forma de resistencia de *E. histolytica*, ya que pueden sobrevivir fuera del hospedero por semanas o meses en un ambiente húmedo, y permanecer viables por períodos prolongados de tiempo bajo diferentes condiciones ambientales (42).

Los quistes pueden resistir en condiciones adversas como permanecer en el suelo por ocho días a una temperatura de 28 a 34°C, y durante más de un mes si la temperatura es de 10°C, resistiendo incluso temperaturas de congelación. Son resistentes a los jugos gástricos y a las enzimas digestivas así como al cloro en cantidades que se utilizan normalmente para purificar agua por lo que, este procedimiento no puede prevenir las epidemias causadas por la contaminación fecal del agua (42).

El quiste se elimina a temperaturas altas de 68 °C por lo que el agua hervida es segura, los procedimientos de filtración y por el método de electrólisis, así como la ebullición, yodo y ácido acético. Los quistes de esta ameba conservan su capacidad infectiva en heces, en agua y en el suelo. Por su alta resistencia, los quistes permanecen viables en agua dulce, agua de mar, drenaje y tierra húmeda, dependiendo de la temperatura (19).



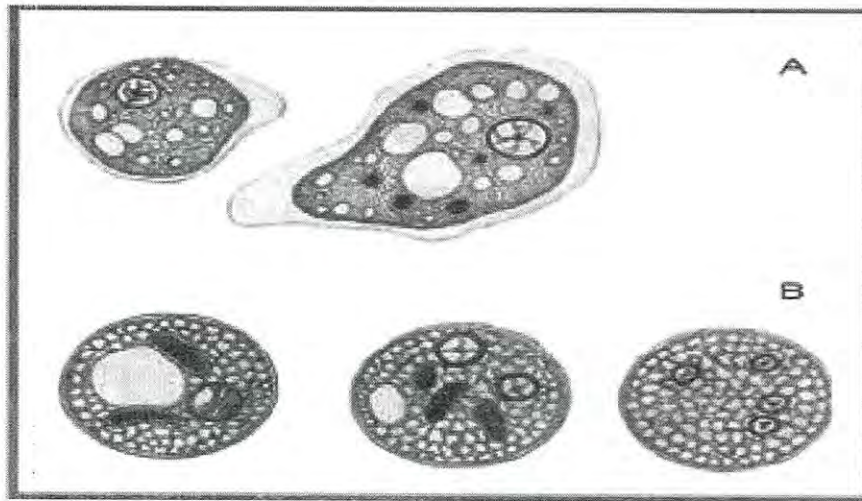


Figura 1. Estadios morfológicos de *E. histolytica*.

A. Trofozoitos y B. Prequistes y Quistes.

Fuente: [http://www.amimc.org.mx/revista/2011/31\\_2/entamoeba.pdf](http://www.amimc.org.mx/revista/2011/31_2/entamoeba.pdf)

### 1.7. Ciclo de Vida

*E. histolytica* posee un típico ciclo de vida oral-fecal, el cual consiste en la evacuación de quistes y la replicación de los trofozoitos dentro del intestino grueso. En el medio externo los quistes permanecen viables en condiciones apropiadas durante semanas ó meses y son diseminados por agua, manos, alimentos y objetos contaminados con materia fecal (figura 2) (22).

Finalmente este parásito llega a la boca para iniciar la infección; con la ingesta de quistes maduros (tetranucleado) infecciosos se desplazan por el estómago atravesando el intestino delgado llegando hasta el íleon terminal, el cual gracias a su dura cubierta no es dañado, aunque si reblandecido, por la acción de los jugos gástrico y pancreático, lo cual permite su desenquistamiento o eclosión (19).

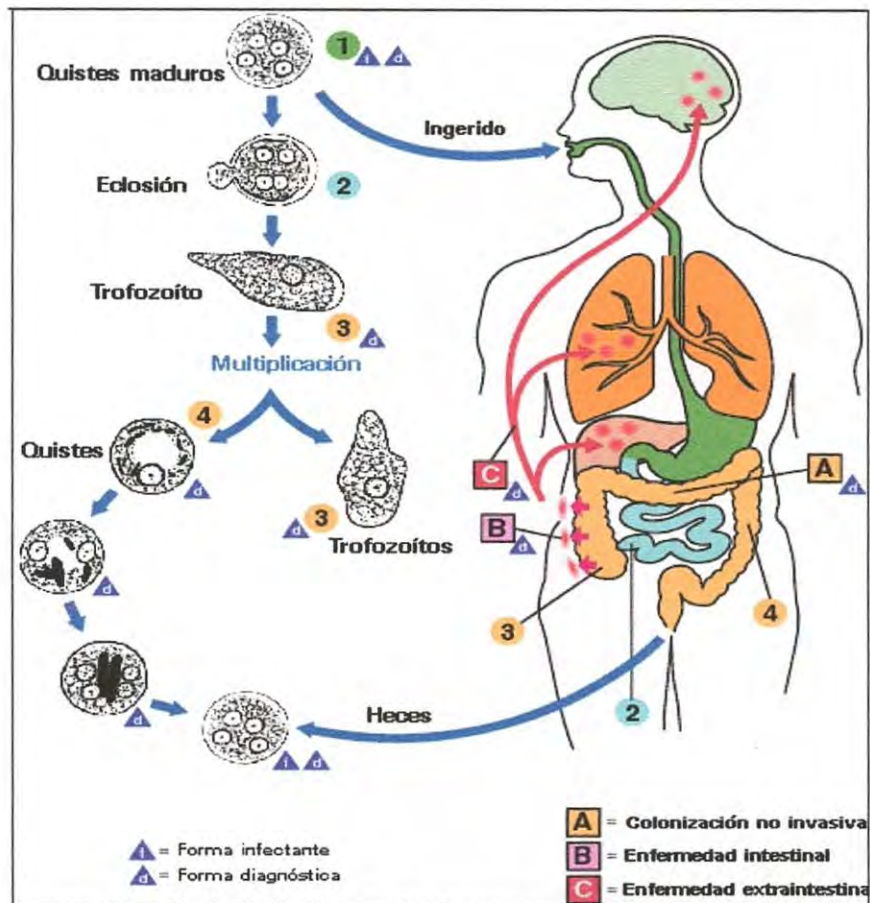
Del quiste sale una ameba tetranucleada que multiplica sus núcleos para formar una ameba de 8 núcleos. Posteriormente esta se fragmenta en 8 pequeñas amebas, llamadas amébulas

metaquísticas, las cuales se transforman en trofozoítos que finalmente se establecen en la luz del colon, especialmente el ciego y el rectosigmoide adhiriéndose a la mucosa intestinal del colon o invadiendo la pared intestinal, y pueden hospedarse ahí como comensales (22).

El parásito elimina las vacuolas alimenticias y demás inclusiones intra citoplasmáticas alimentándose así de bacterias y restos celulares. Allí ellos maduran, transformándose en los llamados "trofozoitos de la luz intestinal", se dividen por fisión binaria, se eliminan con las heces y se destruyen en el medio ambiente (19).

Si el trofozoíto continúa avanzando por el colon, inicia su proceso de enquistación proceso aparente estimulado por condiciones lumbinales no ideales para los trofozoítos, desprendiéndose de la mucosa, avanza por el colon, y en la luz del intestino grueso las células pierden movilidad, toman una forma esférica, se deshidratan y excretan por las reservas alimenticias presentes en las vacuolas digestivas, asumiendo la forma de prequiste, posteriormente producen una pared de quitina y forman pilas de ribosomas que a su vez forman los cuerpos cromidiales, transformándose en quistes uninucleados inmaduros (22).

Éstos presentan sucesivas divisiones nucleares y origina nuevamente el quiste maduro, el cual será eliminado en las heces ya en el medio ambiente, pueden permanecer viables por semanas o meses, son impulsados por el viento y contaminan vegetales, frutas y agua potable, y cuando son consumidos transmiten la enfermedad, completándose así el ciclo (21).



**Figura 2. Ciclo de Vida de *E. histolytica***

Fuente: <http://itzamna.bnct.ipn.mx:8080/dspace/bitstream/123456789/4302/1/DISTRIBSUBCEL.pdf>

En el ciclo de vida la infección por *E. histolytica* ocurre por ingestión de quistes maduros (1) en alimentos, agua o manos contaminados con heces. El desenquistamiento (2) ocurre in el intestino delgado y los trofozoítos (3) son liberados y migran al colon. Los trofozoítos se reproducen por fisión binaria y producen quistes (4) que se eliminan con las heces. Debido a la protección de la pared, los quistes pueden sobrevivir días o semanas en el medio externo y son los responsables de transmisión. Los trofozoítos en el medio externo mueren rápidamente.

En muchos casos los trofozoítos permanecen confinados en la luz intestinal (A, infección no invasiva) de los infectados, quienes son entonces portadores asintomáticos o eliminadores de quistes. En algunos individuos los trofozoítos invaden la mucosa intestinal (B: enfermedad

intestinal), o, a través de la circulación, invaden el hígado, pulmones cerebro etc. (C: enfermedad extraintestinal). Se ha establecido que las formas invasivas y no invasivas representan especies separadas: *E. histolytica* y *E. dispar* respectivamente, que son morfológicamente indistinguibles.

## II. PATOGÉNESIS

### 2.1. Factores de Virulencia de *E. histolytica*

Desde 1975, se han descrito diferentes tipos de factores de virulencia, los cuales son utilizados por *E. histolytica* para invadir exitosamente el intestino grueso y los tejidos extra intestinales (38).

La patogénesis asociada con la infección por *E. histolytica* se debe entre otros factores a la capacidad de este parásito para invadir tejidos y destruir células del hospedero. La adherencia, la actividad citolítica y la actividad proteolítica son inherentes a la biología de ambas especies, estas actividades no necesariamente conducen a un proceso patológico. Por lo tanto; la patogénesis es el resultado de los efectos combinados de varios factores del parásito y/o del hospedero por lo cual, la virulencia esta estrictamente relacionada con el parásito y puede representar el grado en el cual el hospedero puede controlar la invasión y replicación (14).

*E. histolytica* tiene una amplia gama de factores de patogénesis, cuyo objetivo es la adhesión, daño a la membrana celular, lisis, fagocitosis y digestión de las células ingeridas, con los fines últimos de la reproducción y supervivencia. Cada día es más claro el papel que cumplen estos factores y cómo los trofozoítos de este parásito invaden y lesionan los tejidos mediante una secuencia de eventos en los que participan mecanismos relacionados tanto con el parásito como con el huésped (38).

Los trofozoítos han desarrollado un proceso de invasión muy elaborado, en el cual secretan y expresan proteínas, lo que les permite adherirse al epitelio, degradar la matriz extracelular y producir citólisis de las células epiteliales para penetrar dentro de la mucosa (figura 3). La capacidad patógena de *E. histolytica* se ha atribuido en muchas ocasiones a la capacidad de este microorganismo para fagocitar, a su resistencia al sistema del complemento y a la expresión de adhesinas, proteasas de cisteínas, amebaporos (péptidos formadores de poros), colagenasas o fosfolipasas, o su actividad citotóxica, las cuales se definirán a continuación (38).

### **2.1.1. Moléculas de Adhesión**

Las moléculas del patógeno especializadas en establecer contactos con las células del hospedero para que se lleve a cabo el efecto citopático se conocen con el nombre de adhesinas las cuales se mencionan a continuación: (21).

**2.1.1.1. Lectina de 260 kDa.** La lectina es una glucoproteína multimérica que reconoce residuos expuestos de galactosa/Nacetil-D-galactosamina en las glucoproteínas de la membrana de la célula diana (38). 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. Por lo tanto media la adherencia a mucinas del colon humano y a células epiteliales, así como parte fundamental de los mecanismos de locomoción y fagocitosis del trofozoíto. Estos azúcares también inhiben la adherencia de los trofozoítos a las células efectoras del sistema inmune, incluyendo neutrófilos y macrófagos (21).

La lectina Gal/GalNAc consta de un heterodímero compuesto por la subunidad pesada (Hgl) de 170 kDa, disulfito ligado a un glucosilfosfatidilinositol (GPI), que está codificada por 5 genes;

el dominio citoplasmático reconoce específicamente la galactosa/N-acetil-D galactosamina y su secuencia presenta homología con las integrinas  $\beta 2$  y  $\beta 7$  (38).

También se ha sugerido que la señalización de este dominio puede controlar la actividad adhesiva extracelular de la lectina amebiana y propone un papel importante de la lectina en la virulencia. A este complejo se encuentra ligada por puentes disulfuro la subunidad liviana (Lgl) de 31 o 35 kDa. Hgl-Lgl se encuentra, a su vez, ligado a la subunidad intermedia (Igl) de 150 kDa por uniones no covalentes (38).

La subunidad liviana de la lectina contribuye a la regulación de la adherencia y a la señalización de eventos asociados con la virulencia. Cada subunidad de la lectina está representada por múltiples genes dentro del genoma de *E. histolytica*. Además, se han realizado estudios que demuestran la existencia de una subunidad de 37 kDa que puede servir como receptor de la fibronectina (38).

Esta proteína polimérica tiene un papel principal, no sólo en la adhesión, sino también en la evasión del sistema del complemento del huésped. Sin embargo, como mecanismo de defensa del huésped, la mucina del intestino puede inhibir la acción de la lectina Gal/GalNAc, a lo que *E. histolytica* responde con la secreción de diferentes carbohidratos, como la glucosidasa, manosidasa, galactosidasa, fucosidasa, xilosidasa, glucoronidasa y N-acetil-D-galactosaminidasa, para generar la alteración de la mucosa y aumentar su afinidad por las proteasas y otras sustancias que la ameba secreta (38).

La lectina es por lo tanto una proteína multifuncional cuya actividad es crucial para la evasión de la respuesta inmune del huésped y la citotoxicidad de la ameba. Estas moléculas de adhesión son reconocidas por sueros de pacientes con amibiasis invasiva (10).

**2.1.1.2. Lectina de 220 kDa.** Otra molécula altamente inmunogénica es la proteína de membrana de 220 kDa (L220) la cual presenta actividad de lectina, aglutina eritrocitos humanos y se ha demostrado que es clave en la eritrofagocitosis característica de *E. histolytica*. Además, en estudios realizados en modelos de ratón, se encontró que posee la capacidad de suprimir o activar la proliferación de linfocitos T e inducir la producción de IL-4 e IL-10, esenciales para la respuesta inmune contra este parásito (38).

### **2.1.2. Amebaporos (Proteínas formadoras de poros)**

La lisis tisular, en la que participan, además, los mecanismos de defensa del huésped, ocurre gracias a que la ameba contiene enzimas, las llamadas “formadoras de poros”, éstas proteínas solubles, son pequeñas de 8.2 kDa. La formación de estos poros en las células del tejido epitelial permite un flujo elevado de iones a través de la membrana, la cual conduce a una rápida despolarización de la membrana y por tanto produce la muerte celular (10).

Son proteolíticas y se localizan en los compartimientos vacuolares de los trofozoítos; éstos son más activos en pH ácidos que facilitan la invasión de los tejidos, permeabilizan la membrana y se insertan en la bicapa lipídica de la membrana de la célula diana. Por tanto, pueden inducir la necrosis de células epiteliales y leucocitos durante la invasión del parásito, ya que es capaz de formar poros en la membrana plasmática de macrófagos y linfocitos (10).

Los amebaporos comprenden tres isoformas, amebaporo A, B y C y se encuentran en una proporción de 35:10:1 respectivamente las cuales son integradas por 77 aminoácidos. En *E. dispar* se ha demostrado la presencia de amebaporo A y B en menor concentración y con menor



actividad biológica, lo que se cree tiene un impacto en la carencia de capacidad patógena de ésta especie y la isoforma C no se presenta en éste protozoo (30).

Se identifica un péptido homólogo al amebaporo A de *E.histolytica* en *E. Dispar*, su secuencia aminoácida es muy similar (95%); sin embargo su actividad es 60% menor. Debido a su presencia en *E. Dispar* se ha sugerido que su función primaria es destruir bacterias fagocitadas, que es la principal fuente de nutrientes de las amibas en el intestino (21).

### **2.1.3. Enzimas Proteolíticas**

Entre las enzimas identificadas en la membrana plasmática se encuentran fosfolipasas A1 y A2, metalocolagenasa, neuraminidasa, una ATP calcio dependiente y cisteína proteasa. Éstas últimas son las proteasas más importante y con mayor actividad y se han implicado de manera importante en la patogenicidad (38).

**2.1.3.2. Proteasas de cisteína.** Son enzimas proteolíticas secretadas por la ameba dentro de su microambiente. Se trata del más abundante tipo de proteasas presente en *E.histolytica*; considerada factor importante de virulencia en la patogénesis y esencial en la habilidad de este parásito para destruir los tejidos humanos. Recientemente se ha demostrado que estas proteasas son capaces de degradar la matriz extracelular incluyendo el fibronectina, colágeno y la elastina y separan las células, facilitando la invasión (21).

El proyecto del genoma de *E. histolytica* reveló que, aproximadamente, 40 genes codifican para proteasas de cisteína, pero sólo una minoría (8 genes) expresan las proteasas de cisteínas in vitro. Se han descrito 20 genes diferentes (EhCP1 –EhCP19, EhCP112) y tres de ellos han

presentado altos niveles de expresión para sus respectivas enzimas; éstas son la EhCP1 (27-35 kDa), la EhCP2 (35 kDa) y la EhCP5 (29 kDa). Éstas enzimas son las responsables de, al menos, 90% de la actividad total de las proteasas de cisteína halladas en éste protozoario. De éstas proteasas, las EhCP1, EhCP2 y EhCP5 están localizadas dentro de las vacuolas digestivas, pero, además, las EhCP5 y EhCP12 están presentes en la superficie del trofozoíto (38).

Sin embargo, la alta concentración de EhCP5 aumenta su papel en la virulencia, ya que se ha demostrado que rompe la capa de mucina en su dominio carboxi-terminal, lo cual favorece la invasión. La expresión exagerada de los genes para EhCP1 o EhCP2 incrementa la actividad de la enzima correspondiente, mientras que la del gen para la EhCP5 aumenta la actividad de las tres enzimas, lo cual es consistente con la conversión enzimática de la EhCP5. En modelos de ratón se ha encontrado que EhCP5 juega un papel crucial en la producción de la inflamación para la formación de abscesos hepáticos, lo que corrobora su papel en la capacidad patógena de *E. histolytica* (38).

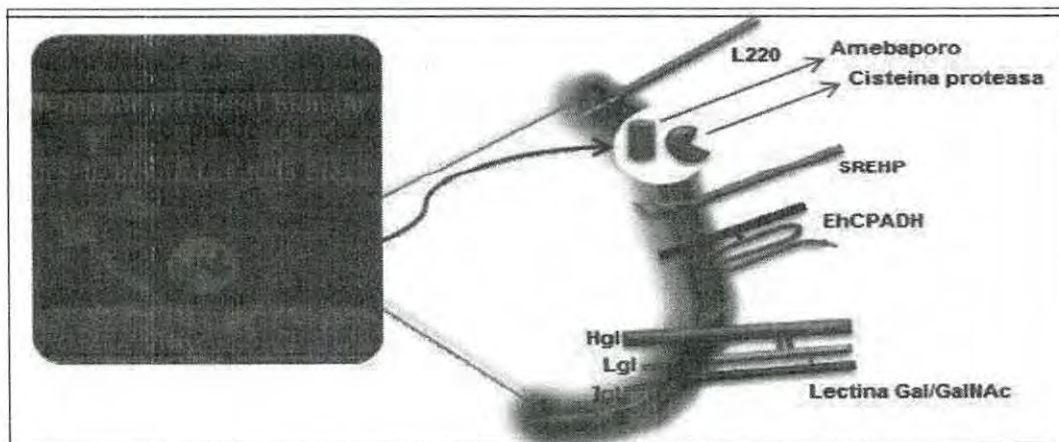
Las proteasas de cisteína se consideran como uno de los ejes centrales de las interacciones de la *E. histolytica* con la respuesta inmune y no inmune del huésped ya que tienen la capacidad de degradar a la IgA e IgG componentes de la respuesta humoral inmune, también degradan la proteína precursora pro-IL-18, responsable de la maduración de la citocina IL-18, clave en los procesos proinflamatorios y una importante mediadora de la respuesta Th1 (22).

Además las proteasas de cisteína inducen la activación de macrófagos y la secreción del IFN $\gamma$ , actuando como quimioatrayentes de neutrófilos, macrófagos y polimorfonucleares, siendo éstos eventos primordiales en el ataque contra los trofozoítos. Como las proteasas de cisteína también están involucradas en el reclutamiento de células inflamatorias para la respuesta local a la

invasión, activan el complemento por la vía alterna, por escisión directa de la cadena alfa del C3, pero degradan el C3a y C5a, anafilotoxinas generadas por la activación de la cascada del complemento (25).

Se ha determinado que estas proteinasas presentan, además de lo anterior, una actividad ICE (enzima convertidora de IL-1B), lo cual sugiere que ésta es la responsable que las proteínas puedan activar la cascada de las caspasas dentro de los hepatocitos e inducir la apoptosis. Por todo esto, se puede concluir que juegan un papel importante en la destrucción celular del huésped (38).

En *E. dispar* se ha demostrado la presencia de proteasas de cisteína en menor concentración y con menor actividad biológica, en lo cual puede estar la clave de la capacidad patógena de la una y la inocuidad de la otra. (10).



**Figura 3. Proteínas expresadas/secretadas por el trofozoíto de *E. histolytica* consideradas factores de virulencia.**

Fuente: <http://www.scielo.org.co/pdf/inf/v13n2/v13n2a05.pdf>

Las principales proteínas estudiadas de *E. histolytica* a la fecha son: proteína de membrana de 220 kDa (L220), amebaporos, proteasas de cisteína, proteína rica en serina (SREHP), complejo

heterodimérico adhesina/proteasa de cisteína (EhCPADH) y la lectina de adhesión lectina Gal/GalNAc .

## **2.2. Mecanismos y actividad enzimática en el proceso de patogenicidad**

*E. histolytica* es un patógeno que tiene un sin número de factores de virulencia. En los últimos años se han producido importantes progresos en el desarrollo de modelos *in vivo* e *in vitro* de la amibiasis, que nos permiten comprender las complejas interacciones que se dan entre el trofozoíto de *E. histolytica*, las células y tejidos del huésped durante la infección (22).

Los estudios genéticos entre *E. histolytica* y *E. dispar* indican que la virulencia es una característica inherente del parásito, ya que cualquiera de los factores de virulencia se encuentra en ambas especies, aunque con diferencias cuantitativas. La adherencia, la actividad citolítica y la actividad proteolítica son inherentes a la biología de ambas especies, estas actividades no necesariamente conducen a un proceso patológico (22).

El mecanismo patogénico de la amiba es un proceso complejo y multifactorial aun no comprendido en su totalidad. A pesar de esto existe consenso en que al menos 3 eventos son imprescindibles para la colonización del epitelio intestinal. 1) La adhesión de los trofozoítos a la célula blanco; 2) El efecto citolítico dependiente de contacto; 3) y La fagocitosis (21).

### **2.2.1. Adhesión Huésped-Parasito**

Toda la secuencia o cadena de eventos posteriores precisamente se desencadenan por la adherencia o primer “contacto” entre parásito y célula. La adherencia es un fenómeno biológico generalizado en la naturaleza que comprende la unión relativamente estable de un

microorganismo a una superficie u otra célula. En general, para los microorganismos patógenos, la adhesión es un factor importante de virulencia, ya que les permite establecerse, multiplicarse e invadir los tejidos que infectan (21).

En el mecanismo de adhesión inicialmente se presenta un movimiento quimiotáctico, originado por sustancias liberadas por el hospedero conduciendo a la amiba a un primer contacto con el moco intestinal. Ésta adherencia probablemente no contribuya a la patogénesis y es simplemente un mecanismo por el cual la amiba avance lentamente sobre el substrato. Sin embargo, una vez producido el desenquistamiento en la amiba la adhesión es un paso indispensable para la sobrevivencia del trofozoíto, con el que se protege de ser arrastrado al exterior por los movimientos peristálticos y el flujo intestinal (21).

Por otro lado, la adhesión puede convertirse en desventaja, porque pone al parásito a disposición del sistema inmune, inmovilizándolo, permitiendo que lleguen hasta él, macrófagos, linfocitos T, anticuerpos y otros elementos del sistema de defensa del organismo parasitado, ya que una vez producida la adhesión del parásito a las células del epitelio, la respuesta inicial a la invasión amibiana es la inflamatoria, que puede conducir a la destrucción de los tejidos afectando también al parásito hasta ocasionarle la muerte (22).

La primera barrera en prevenir el daño por *E. histolytica* es la mucosa intestinal, que está compuesta principalmente por agua y mucina. Para que los trofozoitos de *E. histolytica* logren acceder al epitelio por proteólisis de la mucina MUC 2 que es el principal componente glucoproteico de la mucosa intestinal, es necesario que se establezca un contacto directo por medio de la interacción entre lectinas del parásito y las glucoproteínas presentes en la mucina del colon. Así ejerce su potencial patogénico hacia las células del huésped ya que para que la

ameba se adhiera, debe encontrar sobre la célula blanco un receptor adecuado, que generalmente es también una glicoproteína (38).

La mucina es codificada por el gen *muc2*, el cual es altamente polimórfico, presenta 12 alelos identificados en la población caucásica y es modificada en el aparato de Golgi de las células epiteliales. Las adhesinas juegan un rol importante también en el proceso de colonización en el intestino grueso, ya que tienen una muy alta afinidad por las mucinas colónicas, ricas en galactosa, lo que determina su fijación. Una vez instaladas en el colon, pueden degradar ese mucus, llegar al epitelio e intervenir en los procesos de adhesión celular (42).

*E. histolytica* reside dentro de la capa mucosa del colon; la predilección de las amibas por este sitio se debe en parte a la presencia de un gran número de bacterias y a la expresión en la superficie del trofozoíto de la lectina de unión galactosa N-acetil-D-galactosamina (Gal/GalNAc) que tiene la más alta afinidad por macrocomplejos de ligandos de azúcar presentados por las moléculas de mucina que se encuentran en el colon y que son las principales glicoproteínas de la capa de la mucosa (38).

Una vez que la amiba se adhiere al epitelio intestinal mantiene contacto a través de las moléculas lectina, amebaporo y proteasas de cisteína con glicoproteínas de las células epiteliales, causando un efecto paradójico por lo cual promoviendo la producción de mucina permite abrir paso a través de la capa mucosa y su secreción a la luz intestinal lo que ocasiona la pérdida de éste componente glucoproteico ya que las células caliciformes encargadas de la producción de mucina agotan su capacidad de reposición (10).

Se conoce la capacidad de *E. histolytica* de secretar glucosidasa, manosidasa, galactosidasa, fucocidasa, 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 (21).

Al momento en que los trofozoítos penetran la mucosa intestinal, provocan una reacción inflamatoria que puede conducir a la destrucción de los tejidos. La lisis de las células epiteliales se lleva a cabo por un mecanismo dependiente de contacto, así que después de llevarse a cabo la adhesión, se desencadena una cascada de señalización intracelular ocurriendo la liberación de agentes líticos (37).

### **2.2.2. Citólisis de la Célula Blanco**

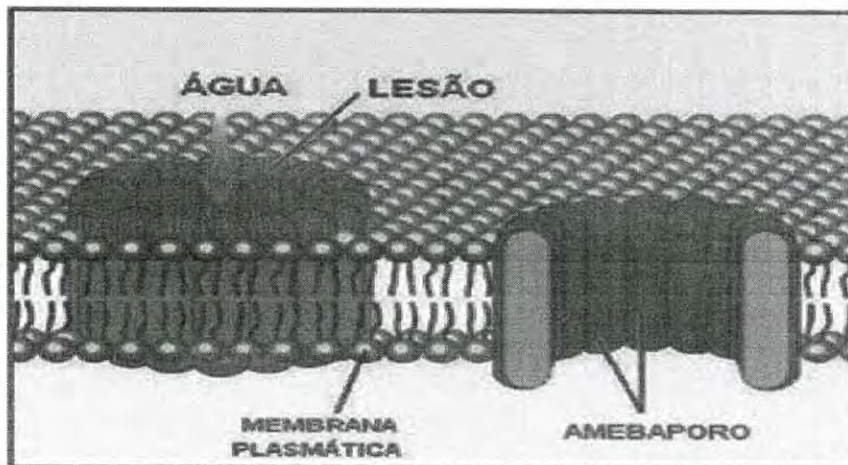
**2.2.2.1. Efecto citopático dependiente de contacto.** *E.Histolytica* es una célula citotóxica más potente que se conoce. Ocasiona disrupción de la barrera intestinal secretando enzimas proteolíticas y lisando células epiteliales e inflamatorias del huésped (22).

Al cabo de pocos minutos, después que se da la adhesión y el contacto con *E. histolytica*, las células epiteliales empiezan a dar señales de alteración; las delicadas microvellosidades que recubren la porción externa de las células epiteliales desaparecen o se engruesan grotescamente y las zonas de contacto entre células vecinas, o uniones celulares, pierden cohesión (3).

Las capas celulares empiezan a fragmentarse; al retraerse las células individuales, se crean espacios cada vez mayores, ó se forman protuberancias sobre la superficie de la célula epitelial, las células se redondean y se despegan del sustrato y finalmente se lisan o son fagocitadas por el trofozoíto. Éste mecanismo esta mediado principalmente por dos proteínas: las cisteínproteasas (CP) y los péptidos formadores de poros, llamados amebaporos (3).

La citólisis dependiente de contacto también ocasiona el aumento intracelular de  $\text{Ca}^{2+}$  e induce la apoptosis. Además las evidencias morfológicas muestran, sin embargo, que la movilidad de las amibas, al desplazar células alteradas e invadir activamente resquicios intercelulares, contribuye a la destrucción de las capas celulares (38).

**2.2.2.2. Efecto de los amebaporos en la citólisis.** Después del contacto establecido por el reconocimiento de las moléculas de galactosa (GAL) o N-acetil-D-galactosamina (GalNAc) en la superficie de las células diana de las lectinas expresadas por el parásito, se desencadena una cascada de señalización intracelular, produciendo la liberación de moléculas de proteína conocido como amebaporos (figura 4). Éstas moléculas entran en la membrana de la célula diana para formar los canales de iones (37).



**Figura 4. Modelo esquemático representando moléculas de amebaporo insertadas en la bicapa lipídica de una célula diana.**  
Fuente:[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S167624442008000400004](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S167624442008000400004)

Se presenta un flujo continuo de agua hacia el interior de la célula. Éste mecanismo resulta en muerte celular en virtud de su lisis osmótica. El amebaporo, o ionóforo de 77 aminoácidos, presenta vesículas que se transportan a la membrana citoplasmática del trofozoíto y atacan la superficie de la célula huésped en el punto de contacto entre ambas; esto ocasiona la



degradación del colágeno y los oligosacáridos de la matriz celular, formando canales por lo que se difunde el agua a través del cual se produce la salida de un flujo elevado de iones ( $\text{Na}^+$  y  $\text{K}^+$  y entrada de  $\text{Ca}^{+2}$ ) y otras moléculas pequeñas, pasando libremente conduciendo a una rápida despolarización de la membrana (38).

En consecuencia el medio interno celular cambia en unos cuantos minutos, se observan cambios importantes en la célula diana, como hinchazón y alteraciones de la superficie que finalmente ocasionan que la membrana pierda sus funciones dando lugar a la lisis celular por choque osmótico. Se ha postulado que los trofozoítos de *E. histolytica* son resistentes a la actividad del amebaporo por cuanto su membrana celular posee fosfolípidos neutros que impiden la unión de los polipéptidos (37).

**2.2.2.3. Efecto de la proteasa de cisteína en la destrucción de tejidos.** Las proteasas de cisteína son proteínas proteolíticas, críticas para la invasión de tejido humano por su capacidad para degradar componentes de la matriz extracelular, como colágeno, elastina, fibrinógeno, laminina, las mucoproteínas y la membrana basal epitelial con esto separan las células y facilitan la invasión de *E. histolytica* (38).

También se ha demostrado su capacidad de interferir en la función del sistema inmune al inactivar al precursor inactivo de IL-18, además, cuando el parásito llega al torrente sanguíneo, las moléculas de cisteína-proteasa son capaces de degradar tanto la clase de inmunoglobulina A (IgA) presentes en la mucosa humana y moléculas de IgG a través de la descomposición de su cadena pesada; Así mismo activan la vía alterna del complemento y evaden la respuesta inflamatoria al inactivar los productos de degradación del complemento específicamente las anafilatoxinas, como C3a y C5a (35).

Además de las CP y los amebaporos, se ha señalado que los microfilamentos y el flujo transmembranal de calcio son necesarios para que los trofozoítos de *E. histolytica* puedan lisar la célula (37).

### **2.2.3. Fagocitosis**

La fagocitosis juega un papel importante en la expresión de la virulencia de *E. histolytica*, un parásito que atraviesa las barreras naturales en el intestino y de ahí se extiende en la profundidad de los órganos dando como resultado los diferentes cuadros clínicos de la amibiasis. La motilidad del parásito y su habilidad para lisar y fagocitar las células humanas facilita el paso de la amiba a través del epitelio intestinal (22).

Este proceso consiste en la ingestión de fragmentos celulares, células vivas, partículas inertes, y la típica ingestión de glóbulos rojos. En donde, la unión del parásito puede estar mediada por fuerzas electrostáticas. Pero también existen mecanismos altamente específicos en los que intervienen moléculas de superficie y componentes del citoesqueleto (4).

La fagocitosis tiene diversas funciones, muchos protozoarios ingieren bacterias para cubrir sus requerimientos nutricionales. En células del sistema inmune, por su actividad protectora son llamados fagocitos profesionales, aquí se incluyen a los monocitos, los polimorfonucleares y los macrófagos (22).

Este proceso va acompañado por la formación del fagolisosoma, dirigido por GTPasas y proteínas Rab, que actúan como moduladores en la regulación de la fusión vesicular con las

membranas de la célula blanco (4). Las proteínas del citoesqueleto como la miosina IB y actina F, juegan un papel central en los procesos de desplazamiento de la amiba hacia la célula blanco en la fagocitosis, la endocitosis y en el reordenamiento de los receptores en su superficie celular. En el cual la actina se polimeriza y forma microfilamentos por debajo de la membrana y alrededor de todo el canal fagocítico (3).

Lo primero que ocurre en el inicio de la fagocitosis es un desplazamiento quimiotáctico; al llegar a ellas los trofozoítos se adhieren de forma específica a la superficie celular mediante adhesinas. Una vez consumada la unión, ocurre una redistribución de las adhesinas con sus respectivos ligandos sobre la membrana plasmática de los trofozoítos, agrupándose en casquetes (21).

En el momento en el que se produce el contacto entre el trofozoíto y la célula blanco, proteínas del citoesqueleto, especialmente del sistema de microfilamentos y vesículas recubiertas de clatrina, permiten la emisión de pseudópodo por el trofozoíto y la endocitosis de la célula blanco. La célula internalizada queda ahora dentro de un fagosoma. En el citoplasma del protozoario se fusiona el fagosoma a los lisosomas, lo que permite que las enzimas digestivas entren en contacto con la partícula fagocitada. Finalmente, tiene lugar el reciclaje de los receptores a la membrana plasmática de la ameba (21).

El citoesqueleto de la amiba juega un papel importante en el proceso de fagocitosis, puesto que cuando la amiba se adhiere al receptor de la célula blanco ocurre la polimerización de los filamentos de actina. Éstos filamentos son marcadamente reclutados en la copa fagocítica y alrededor de los fagosomas internalizados. Diferentes moléculas de unión a la actina se encuentran involucradas en la polimerización de la actina para la formación del pseudópodo,

como la profilina y el complejo de proteínas Arp2/3, que se une a la actina y participa en la regulación de su polimeración (22).

La proteína ABP120 también participa en la fagocitosis de *E. histolytica*, ya que es visto que cuando ABP120 está ausente, el tamaño y la formación de pseudópodos disminuye, con ello también se reduce la quimiotaxis, la locomoción y la fagocitosis. Ésta proteína fue identificada en los pseudópodos de *E. histolytica*. También se ha identificado en los pseudópodos a la miosina 1B y en la maduración del fagosoma se ha visto que filamentos de actina y de miosina 1B se encuentran alrededor del fagosoma (22).

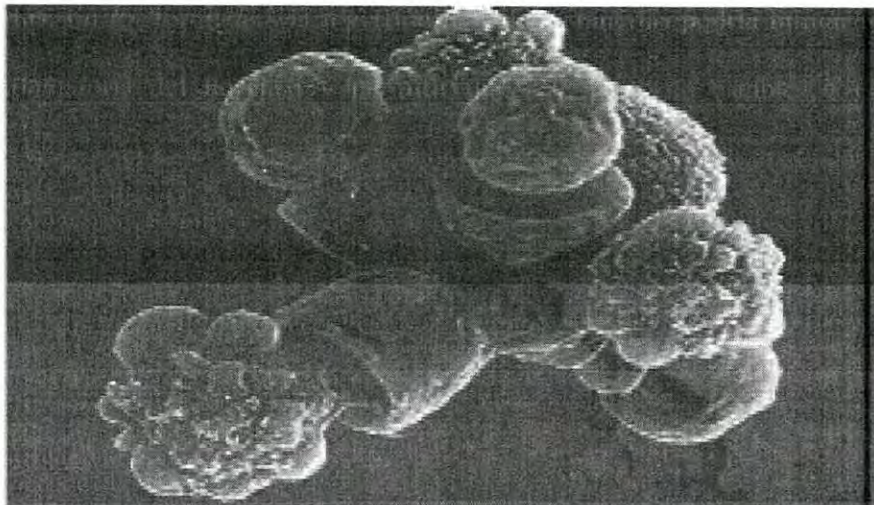
La fusión del fagosoma con los lisosomas permite el contacto de la partícula o célula ingerida con las enzimas líticas para llevar a cabo la digestión completa de la célula blanco. La formación del fagosoma y su transporte a endosomas y posteriormente a lisosomas puede estar regulada por GTPasas pequeñas de la familia Rab, como EhRab5, EhRab7, EhRab11 y EhRabB (21).

Finalmente, ocurre un proceso de exocitosis que da lugar al reciclaje de los receptores y a la expulsión de los productos no digeridos. La regulación de la formación y el control direccional del pseudópodo está fuertemente relacionada con la expresión de la proteína PAK, la cual es una putativa p21-cinasa, esta molécula en *E. histolytica* no tienen el motivo CRIB característico de otras cinasas, pero en su parte amino-terminal presenta sitios para la activación de pequeñas GTPasas como RacA y RacG, que han sido descritas en *E. histolytica* como regulatorias de la organización de la actina en el citoesqueleto (22).

La sobre-expresión de EhPAK en mutantes inhibe la polarización de la membrana y aumenta la formación del número de pseudópodos, pero impide la direccionalidad del mismo hacia el

blanco; lo que sugiere que esta proteína es el elemento regulatorio que coordina los cambios morfológicos de *E. histolytica* en ausencia de CRIB (22).

En múltiples organismos, la fagocitosis es el paso final en la vía de la apoptosis y sirve para limitar la inflamación, previniendo el derrame al medio del contenido intracelular tóxico de las células muertas. En *E. histolytica*, la ingestión de células muertas podría limitar igualmente la respuesta inflamatoria del huésped y permitir que este protozoo establezca una infección persistente (38).



**Figura 5. Una ameba fagocitando simultáneamente media docena de células epiteliales, vistas al microscópico electrónico de barrido.**  
Fuente:[http://bibliotecadigital.ilce.edu.mx/sites/ciencia/volumen1/ciencia2/47/htm\\_ml/sec\\_7.html](http://bibliotecadigital.ilce.edu.mx/sites/ciencia/volumen1/ciencia2/47/htm_ml/sec_7.html)

### 2.3. Mecanismos de Defensa del Hospedero

La patogénesis de la enfermedad amibiana invasiva resulta de una interacción entre los factores de virulencia del protozoario y la respuesta sistémica y local del hospedero (21).

### 2.3.1. Inmunidad Innata

Entre los mecanismos inmunes que participan en la protección del huésped a la colonización de la amiba se encuentran en primer lugar los innatos. Las enzimas digestivas, la flora bacteriana y la capa de moco forman una barrera que protege la integridad del epitelio de la mucosa. La explicación de por qué algunas personas que tienen en su intestino la especie patógena, no sufren la invasión tisular, radica en los diversos mecanismos que el huésped presenta para impedir esa invasión (3).

Éstos mecanismos van dirigidos al bloqueo o destrucción de la lectina de adherencia, mediante hidrolasas de origen pancreático y bacteriano. Por la acción de la galactosa presente en la mucina intestinal, los trofozoítos se adhieren a ella en la luz del intestino y no llegan a las células. Otro mecanismo es la producción de inmunoglobulina A secretoria contra las proteínas de adherencia (21).

Al principio de la invasión de tejidos del huésped la inmunidad innata tiene un papel importante en el que las moléculas de Enterocitos reconocen patrones moleculares asociados a patógenos (PAMPS). En las amebas, el PAMPS están formados por lectinas específicas, las moléculas de proteasa ricas en serina, lipophosphoglycan (GLP) y lipofosfopeptideoglicanos (LPPGs). Éstas proteínas son identificadas como los principales antígenos hacia los cuales se dirige la respuesta inmune, los cuales se identifican principalmente en la superficie del parásito (37).

Después del reconocimiento de Patrones Moleculares Asociados a Patógenos (PAMS) por medio de receptores similares a Toll (TLR) 2 y 4 se produce activación intracelular y la

liberación de citoquinas proinflamatorias y factores solubles como IL-8, IL-1  $\alpha$ , IL-6, FACTOR ESTIMULANTE DE COLONIAS GRANULOCITO-MACROFAGO (GM-CSF) ,GROalfa (21).

La producción de las interleuquinas 1, 6, y 8, el TNF, y probablemente otros componentes, inducidos por los productos parasitarios, causan sobretodo proliferación, activación, y quimiotaxis de macrófagos, linfocitos, y neutrófilos, y aumentan las moléculas de adhesión y la permeabilidad de los vasos sanguíneos locales. Ésto permite la marginación, extravasación, e infiltración de estas células en torno al parásito, constituyendo un foco de inflamación inespecífica conocido como respuesta de fase aguda (37).

La presencia de neutrófilos y macrófagos en el sitio de la invasión, es una de las barreras inespecíficas de la respuesta inmune. Los neutrófilos infiltran la lámina propia fenómeno mediado principalmente por la interleucina 8, secretada por las células epiteliales intestinales, la cual es inducida por el trofozoito; los neutrófilos se exponen a ser lisados por éste, ya que al entrar en contacto con amibas virulentas pierden su motilidad, se degranulan y mueren, aumentando así la lisis tisular, lo que permite a *E. histolytica* continuar su expansión por la mucosa y la submucosa (10).

### **2.3.2 Inmunidad Humoral**

En las mucosas, las inmunoglobulinas (IgS) de secreción constituyen la primera línea de defensa contra agentes patógenos, ya que su principal actividad es la de evitar la adherencia de antígenos a la superficie del epitelio, por lo cual juega un papel importantísimo en la respuesta inmune. Las células plasmáticas productoras, fundamentalmente de inmunoglobulina del isotipo IgA, se

encuentran principalmente en los ganglios linfáticos y en las células plasmáticas difusas, que se localizan en las paredes del intestino. Estas células son fundamentales en la respuesta inmune de las mucosas, secretando alrededor del 80% de Inmunoglobulina A (IgA) (25).

La Inmunoglobulina A secretoria (IgAs) destaca por su capacidad de evitar el efecto citolítico de la amiba, al reaccionar con el parásito e impedir su enlace a los enterocitos. La Inmunoglobulina A secretoria IgAs reacciona con diferentes antígenos amibianos; sin embargo, es característica su combinación con una lectina que enlaza galactosa (lectina-Gal) y al hacerlo inhibe la adhesión a las células, impidiendo su actividad citolítica. Aun así, los trofozoítos son capaces de degradar a ésta inmunoglobulina, por medio de las proteasas que secreta. Esto se relaciona con los mecanismos de defensa del parásito a nivel de mucosas (25).

Así mismo, la respuesta inmunitaria se caracteriza por la formación de anticuerpos de las clases M y G en la cual la mayoría de los anticuerpos anti-amibianos está formada por Inmunoglobulina G (IgG), probablemente de la subclase 2 (2).

Los trofozoítos tienen la capacidad de cortar las inmunoglobulinas G mediante la actividad de la cisteína proteasa neutral. Además, el parásito evade los efectos del anticuerpo a través de un mecanismo que le permite polarizar los anticuerpos depositados sobre su superficie hacia la región uroide, donde la globulina es eliminada espontáneamente por el trofozoíto como agregados supramoleculares o capuchones, sin causarle daño alguno, previniendo su unión a los antígenos amibianos de superficie, propiedad que pudiera explicar en parte la inefectividad de la respuesta humoral para controlar la infección por *E. histolytica* (25).

Los anticuerpos IgM e IgG activan al complemento cuando se combinan con la amiba y pueden destruir al trofozoíto. Sin embargo, 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 (2).

Después del contacto entre las moléculas de la lectina y glicoconjugados, se produce un cambio conformacional en la subunidad mayor de la lectina. Lo cual provoca una cascada de transducción de señales responsables de la citólisis de las células diana. En ésta la función de las lectinas es proteger a los trofozoítos del ataque del sistema del complemento, ya que parecen tener similitud funcional con el complemento de proteínas reguladoras, la CD59, que se une a C8 y subunidades C9 del complejo C5b-9 (37).

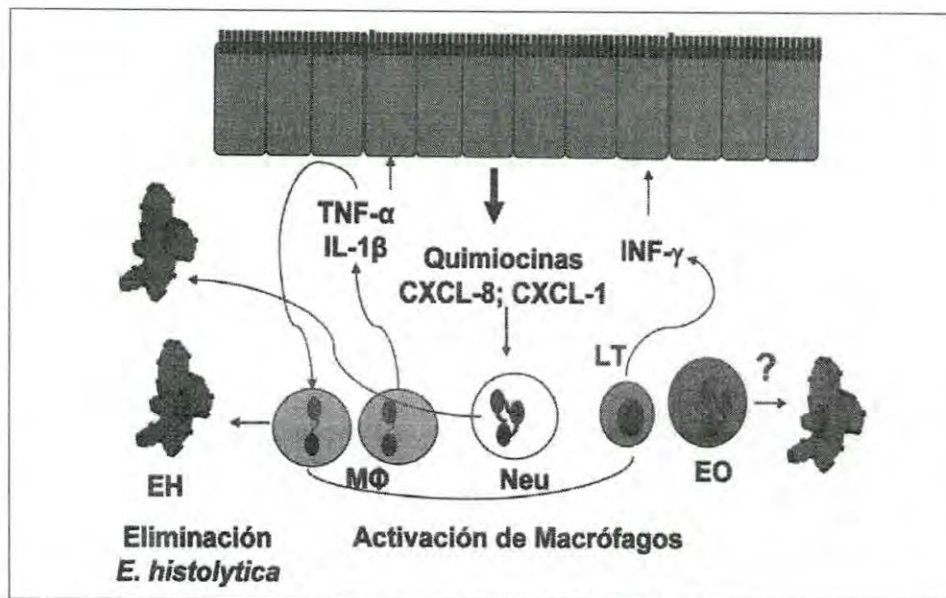
La proteína CD59 también denominado inhibidor de membrana de la lisis reactiva, es el principal inhibidor de membrana del complejo de ataque de membrana (estructura de poros liposoluble que produce la lisis osmótica de las células) (25).

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. Una vez eliminado los anticuerpos; se presenta el mecanismo de adhesión (40).

### **2.3.3 Inmunidad Celular**

Al vencer la protección de la inmunidad innata entra en juego la inmunidad adquirida (adaptativa). Debido a que el primer contacto, el Complejo mayor de histocompatibilidad mediante el HLA II, activa los linfocitos T CD4 que inducen el segundo contacto, en este caso para los linfocitos B.

Previo a esto hay secreción de citocinas por los fagocitos mononucleares, los linfocitos granulares grandes y principalmente por los linfocitos T CD4 (Figura 6). En el caso de los trofozoitos amebianos circulantes (que son extracelulares) las citocinas secretadas son IL-4 que activan la vía Th2 (respuesta humoral) secretando IL-5 que activa a los eosinófilos, IL-9 que activa a los mastocitos, IL-6, IL-13, IL-4 que activan a los linfocitos B (27).



**Figura 6. Respuesta celular inducida por *E. histolytica*.**

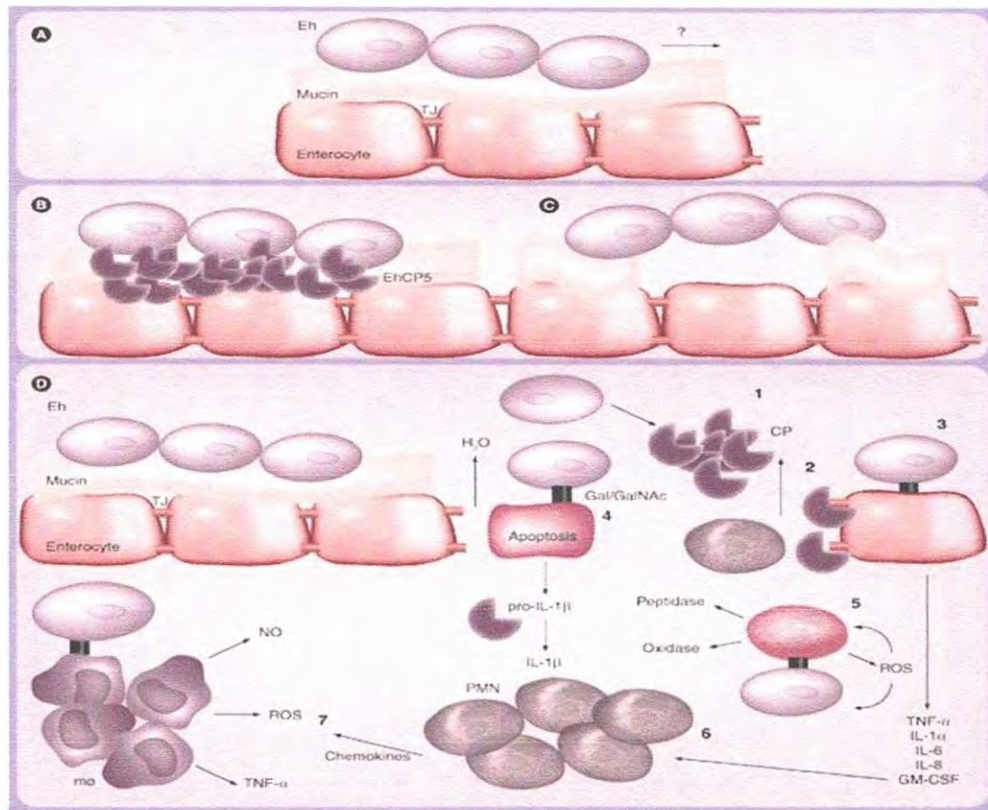
Fuente: <http://redalyc.uaemex.mx/redalyc/pdf/576/57629304.pdf>

Mo: Macrófagos, Neu: Neutrófilos, LT: linfocitos T, EH: Trofozoitos de *E. histolytica*

La interacción de *E. histolytica* con el epitelio intestinal origina la producción de citosinas y quimiocinas, como IL-1 β y CXCL-8, éstas citosinas y quimiocinas regulan el reclutamiento de macrófagos y neutrófilos al sitio de infección; ambos tipos celulares involucrados en la destrucción de *E. Histolytica*; a su vez, la producción de TNF- α no sólo activa a los macrófagos sino que influyen sobre la activación de las células epiteliales. Los linfocitos T modulan la respuesta inmune al generar un perfil de citosinas que inducen la activación de los macrófagos y neutrófilos. Adicionalmente, la producción de INF- γ por los linfocitos T está relacionada con la activación de células epiteliales.

Cuando los trofozoitos de ameba *Histolytica* se enquistan, se activan los neutrófilos, mediante la IL-12 estimula la vía Th1 (respuesta celular) activando a los linfocitos CD8 citotóxicos mediante el INF- $\gamma$  que activa a los macrófagos, también por este mediador se puede activar a las células B (Figura 7). Gracias a la IL-12 y al INF- $\gamma$  de los macrófagos activados se activan a las células NK (natural killer) (25).

La citosina IL-10 reguladora de la inmunidad celular participa para no tener una respuesta inmune descontrolada. Muchas veces la inmunidad adaptativa puede controlar a la *E.histolytica*, por el contrario es probable que se desarrolle la infección pero si no fuera así se desencadenaría la infección y luego cualquiera de las formas clínicas intestinales: disentería amebiana, colitis amebiana, colitis fulminante o ameboma (18).



**Figura 7. Proceso patológico de *E.histolytica*.**

Fuente: <http://itzamna.bnct.ipn.mx/dspace/bitstream/123456789/11428/1/10.pdf>

(A) En una relación normal de huésped-parásito *E. histolytica* se nutre de la capa mucosa protectora sin dañar el tejido subyacente. (B) El protozoo libera EhCP5, que degrada las defensas del huésped luminales mediante la escisión de los dominios ricos en cisteína de mucina secretora (MUC2), lo que resulta en la despolimerización del polímero MUC2 (C) Siguiendo con la interrupción del gel de moco protector. (D) Los trofozoítos continúan secretando PC (1), que escinden las proteínas de unión estrecha (2). Los trofozoítos se adhieren a la superficie de los enterocitos (3) a través de la Gal-lectina y estimulan la liberación de citoquinas proinflamatorias: TNF- $\alpha$ , IL-1 $\alpha$ , -6 y -8, y GM-CSF.

La unión de los trofozoítos de enterocitos resulta en la lisis / apoptosis y liberación de citoquinas pro-IL-1 $\beta$ , que se convierte a la IL-1 $\beta$  por IL-1 de conversión de la actividad de la enzima de CPs (4). *E. histolytica* por medio de las proteínas secretadas de IL-1 $\beta$  estimular la liberación de IL-8 por las células epiteliales que atraen a los neutrófilos (PMNs) al el sitio de la infección (5). Los PMNs activadas liberan altos niveles de ROS y / o se lisan al entrar en contacto con trofozoítos. ROS, así como las oxidasas citotóxicos liberados y proteasas líticas de los PMN muertos, causan daño a los tejidos no específica a células espectadoras. PMN atraídos al sitio de la invasión (6) también liberan quimiocinas que atraen a M $\phi$  para ayudar en la defensa del huésped (7). Los macrófagos activados por el Gal-lectina también liberan NO, ROS y TNF- $\alpha$ , que amplifica aún más la destrucción del tejido.

CP = proteasa cisteína; Eh = *E. histolytica*, GM-CSF = colonias de granulocitos monocitos factor estimulante; MO = macrófagos, NO = óxido nítrico; PMN = leucocitos polimorfonucleares; ROS = especies reactivas del oxígeno.

### III. PATOLOGIA Y CUADRO CLINICO

*E.histolytica* debe su nombre a su capacidad para destruir los tejidos, éste parásito frecuentemente se establece como un comensal dentro del intestino grueso sin ocasionar manifestaciones clínicas. Sin embargo los trofozoítos pueden invadir el epitelio intestinal ocasionando úlceras y disentería. La progresión del proceso invasor puede provocar amibiasis extraintestinal; por lo tanto, es un patógeno facultativo que exhibe una gran capacidad de virulencia (14).

El cuadro clínico producido por *E.Histolytica* se conoce tradicionalmente como amebiasis. La cual se clasifica por sus manifestaciones en sintomática y asintomática, por su localización en intestinal y extraintestinal y por su evolución en crónica y aguda, de la combinación de estas clasificaciones se integran los cuadros específicos de la amibiasis. El intervalo transcurrido entre la ingestión de quistes y el comienzo de los síntomas puede variar desde días hasta años, por lo que no es posible en la mayoría de los casos, definir con precisión el período de incubación (1).

La gravedad de la infección por *E. histolytica* depende de las condiciones del individuo, de su estado nutricional e inmunológico, de las condiciones sanitarias y de la calidad de vida. Las manifestaciones clínicas de la amibiasis intestinal van de paciente asintomático hasta un cuadro severo de gran toxicidad sistémica que incluso puede ocasionar la muerte, por lo cual la amibiasis se clasifica de la siguiente manera: (2)

### **3.1. Colonización Asintomática o Amibiasis no Invasiva**

Esta forma de amibiasis no invasiva, se diagnostica por medio del examen coprológico, que generalmente revela únicamente quistes. Los portadores sanos representan un gran papel desde el punto de vista epidemiológico, ya que son la principal fuente potencial de transmisión de la enfermedad, por lo cual es importante identificar y tratar a éstos pacientes. La infección puede persistir o progresar hacia una enfermedad invasora (2).

La ausencia de síntomas se explica ya que los parásitos viven en la luz del colon y no invaden la mucosa. En éstos casos lo más probable es que la amibiasis sea debida a la *E. dispar*, pero puede también ser por *E. histolytica*, cuando habita en la luz intestinal ya que *E. dispar* es responsable de 90% de la colonización intestinal asintomática. Únicamente del 10 al 25% de las personas que presentan *E. histolytica*, en el colon son sintomáticas, el resto se considera portadores sanos. No todos los que tengan la especie patógena presentan enfermedad, pues ésta depende de la interacción entre la virulencia del parásito y la defensa del huésped (2).

Estudios en México y otras regiones han mostrado que un mayor porcentaje de infecciones por esta ameba son asintomáticas; los síntomas aparecen cuando se da la invasión de los tejidos (19).

### **3.2. Amibiasis Intestinal Invasiva**

La amibiasis intestinal invasiva se presenta cuando hay invasión de los trofozoítos a la pared del colon, con producción de lesiones. Puede tener dos formas: crónicas y aguda (2).

### **3.2.1. Amibiasis Crónica o Colitis Amibiana no Disentérica.**

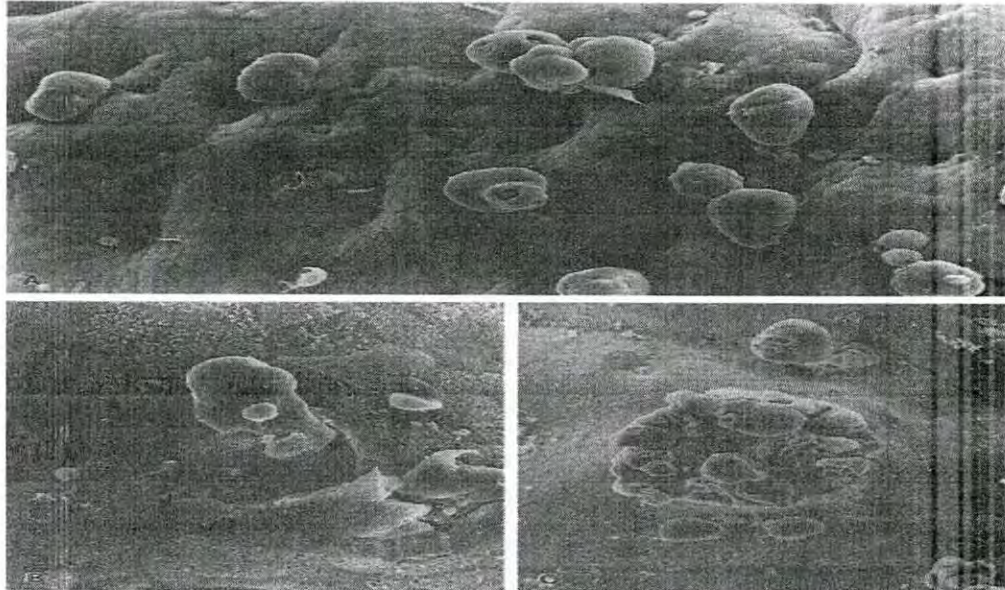
La amibiasis crónica se puede definir como aquella en la cual hay síntomas de colitis, pero no se presenta el cuadro disentérico. Las infecciones sintomáticas no disentéricas exhiben síntomas variables los cuales pueden ser desde pocos duraderos hasta transitorios o intensos, prolongados o duraderos y puede ser consecutiva a una fase aguda (14). Está caracterizada principalmente por dolor abdominal, diarrea intermitente, presencia ocasional de moco y rara vez existencia de sangre en las heces (2).

En éste tipo de amibiasis el pujo no es frecuente como en la amibiasis aguda pero puede presentarse en forma leve. El cambio en el ritmo de defecación consiste en alternabilidad de períodos de evacuaciones frecuentes, con períodos de constipación. En el primer caso, las heces son blandas, pastosas o líquidas y en la etapa de constipación el examen coprológico revela quistes. Son síntomas propios de éste tipo de amibiasis las náuseas, distensión abdominal, anorexia, calambres flatulencia y borborismos (2).

### **3.2.2. Amibiasis Aguda o Colitis Amibiana Disentérica**

La invasión de la mucosa colónica comienza en el epitelio interglandular. En éste sitio es donde se renuevan las células epiteliales con menor resistencia a la penetración. Inicialmente la ulceración es superficial y la necrosis e infiltración celular son mínimas, las lesiones de la mucosa son puntiformes con bordes hiperémicas (26) ( Figura 8). Puede haber hiperplasia reactiva en los agregados linfoides cercanos. Las amibas se multiplican activamente, pasan la muscularis mucosa y llegan hasta la submucosa, donde encuentran mejor ambiente para

reproducirse y formar verdaderas colonias, causando lisis tisular produciendo ulceraciones mayores (2).



**Figura 8. Imagen del intestino interglandular vista al microscopio electrónico.**

Fuente:[http://www.fmvuba.org.ar/grado/medicina/ciclo\\_biomedico/tercer\\_a%F1o/microbiologia/catedra1/Parasitologia/ClasesTeoricas/Mec\\_patogenicos\\_Directos/Mec\\_patogenicos\\_Directos.pdf](http://www.fmvuba.org.ar/grado/medicina/ciclo_biomedico/tercer_a%F1o/microbiologia/catedra1/Parasitologia/ClasesTeoricas/Mec_patogenicos_Directos/Mec_patogenicos_Directos.pdf).

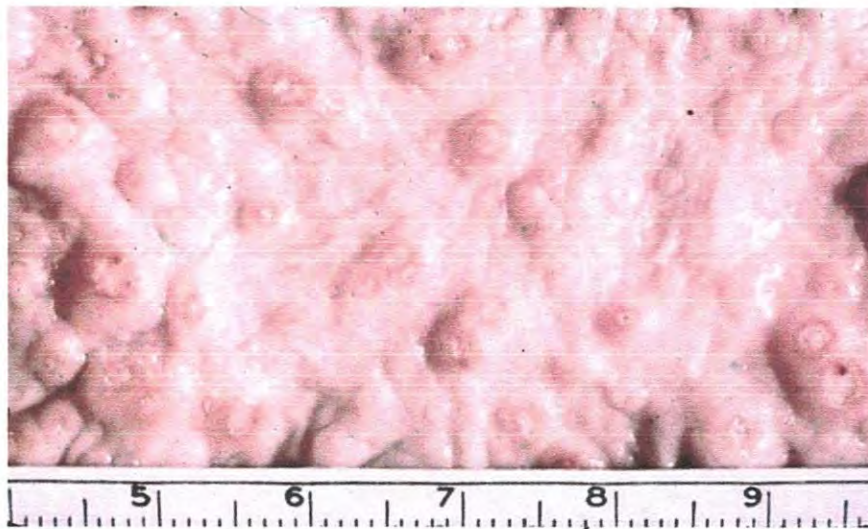
- a) Trofozoítos adheridos al epitelio interglandular
- b) Lesión invasiva temprana
- c) Numerosos trofozoítos en úlcera colónica.

El hallazgo anatomopatológico típico son las úlceras localizadas en el colon, predominantemente en el ciego, el sigmoide y el recto. Estas úlceras se presentan en dos formas nodular e irregular (10).

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 las áreas están llenas de un material mucoso y amarillento, en las



cuales pueden verse trofozoitos, denominadas “úlceras en botón de camisa” (figura 9). 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 (10). El proceso ulcerativo puede continuar hacia una expansión lateral o descendente. Si el número presente de úlceras es grande, estas pueden coalescer lo cual conduce a la eliminación localizada de la pared intestinal (14).



**Figura 9. Colitis ulcerosa amebiana. Úlceras con bordes elevados y poca inflamación entre las lesiones.**

Fuente:<http://amibiasis-intestinal.blogspot.mx/>

Las úlceras irregulares o serpiginosas 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 (10).

Las úlceras nodulares e irregulares pueden encontrarse en un mismo paciente, con extensas áreas de denudación superficial. Las lesiones crecen y confluye por la base, se unen y dan

lugar a ulceraciones que llegan a medir varios centímetros, ovaladas o redondas, con bordes prominentes e irregulares, rodeadas de zonas hiperémicas (2) (figura 10).

Las amibas pueden extenderse lateralmente en la submucosa (debajo del epitelio), eliminando células del hospedero durante el progreso de la lesión, formando una úlcera en forma de botella con una pequeña abertura y una base amplia (14).



**Figura 10. Úlcera en forma de botella que consiste en pérdida de mucosa.**

Fuente:<http://amibiasis-intestinal.blogspot.mx/>

En esta forma clásica disentérica, lo más habitual es que inicialmente muestre una sintomatología poco intensa, usualmente se presentan con una historia de 1 a 2 semanas de dolor abdominal, con anorexia, astenia, lengua subrral, alteraciones del tránsito del intestino y diarrea trivial no sanguinolenta. Los síntomas reflejan simplemente la existencia de un proceso irritativo del colon, y se trata de una fase inicial de la enfermedad que puede prolongarse por varios meses (19).

Una vez que el colon esta extensamente invadido por el trofozoíto, los síntomas se hacen mucho más intensos. El paciente puede verse postrado, con fiebre de hasta 40.5 grados centígrados y presentar cólico, tenesmo, vómito, hipersensibilidad abdominal generalizada y crecimiento inespecífico del hígado con hipersensibilidad dolorosa.

En éste tipo de amibiasis los síntomas más importantes son:

1) Diarrea: Unos de los principales signos es la presencia de un gran número de evacuaciones intestinales al principio, posteriormente abundantes y blandas, de menor volumen con moco y sangre en estrías. El paciente experimenta necesidad de defecar con mucho esfuerzo, lo que constituye el síntoma llamado pujo. La cantidad de materia fecal eliminada es cada vez más pequeña y al final se elimina solo una poca cantidad de moco sanguinolento, el cual se ha llamado esputo rectal (2).

2) Dolor abdominal: su intensidad es muy variable y oscila desde una sensación de pesadez abdominal hasta dolores de tipo cólico, que disminuyen con la defecación (1).

3) Tenesmo: La evacuación al pasar por el ano, provoca una sensación de quemazón o desgarramiento. En el recto persiste un espasmo doloroso que produce la necesidad de una nueva evacuación. En pacientes desnutridos, en los cuales la disentería se ha prolongado por muchos días se puede observar atonía en los músculos perineales y relajación del esfínter anal, lo cual puede dar origen a prolapso rectal (2).

El número de evacuaciones diarias es muy variable, generalmente 6 o más. La materia fecal contiene trofozoítos hematófagos, que se encuentran en el moco, y con escasos leucocitos. Generalmente el cuadro disentérico evoluciona sin fiebre y en caso de existir, es leve (2).

En pacientes desnutridos especialmente niños, en los cuales la disentería se ha prolongado por muchos días, se puede observar atonía de los músculos perineales y relajación del esfínter anal acompañada de rectitis, lo cual puede dar origen a prolapso rectal. La amibiasis aguda sin ningún tratamiento evoluciona a un estado grave o algunas de sus complicaciones como episodios de diarrea que se prolongan por meses e incluso años, pasar a la etapa crónica de la enfermedad o también puede mejorar y pasar a la curación espontánea (1).

### **3.2.3. Colitis Amibiana Fulminante.**

Al progresar la invasión, las úlceras crecen tanto en dirección horizontal como en profundidad y causan necrosis en grandes áreas de mucosa, frecuentemente con hemorragia, lo que constituye la forma ulcerativa generalizada o gangrenosa llamada colitis amibiana fulminante, de muy mal pronóstico (19).

En una amibiasis hiperaguda, hay extensa destrucción de la mucosa y submucosa del colon, con úlceras en todo su trayecto, con signos y síntomas de mayor intensidad. Es una complicación inusual de la disentería amebiana que tiene un pronóstico grave, con una mortalidad mayor de 50%. Los niños de menor edad tienen más riesgo de presentar colitis fulminante. Se caracteriza principalmente por numerosas evacuaciones de sangre, malestar abdominal generalizado, diarrea, tenesmo rectal, vómito, anorexia y enflaquecimiento, fiebre y deshidratación (2).

En el 80 % de los casos atonía o hipotonía del esfínter anal, si la lesión avanza produce hemorragia, perforación seguida de peritonitis y el tratamiento específico es inefectivo, por lo que la intervención quirúrgica puede ser requerida. El desarrollo clínico de la colitis fulminante está asociado con la extensión de las úlceras hasta la capa serosa; ya que generalmente las

amibas se detienen en la capa muscular, pero en ocasiones pueden penetrarla, extenderse a serosa y aun perforarla (19).

Presentándose complicaciones con más frecuencias en pacientes con deficientes defensas inmunológicas. Éstas complicaciones y los casos más fatales se han observado con mayor frecuencia en mujeres embarazadas y en menores de dos años. Entre las más frecuentes es la amibiasis perforada (2).

Esta complicación se presenta principalmente en el curso de la enfermedad de una forma necrótica fulminante, especialmente en el colon transversal, sigmoide y ciego, el contenido intestinal pasa a la cavidad peritoneal y puede originarse peritonitis séptica y química o absceso hepático (2)

La perforación es generalmente múltiple y casi siempre las lesiones son microscópicas o de pequeño tamaño, tal que pasan desapercibidas en el examen macroscópico, pudiendo en ocasiones alcanzar uno ó más centímetros de diámetro. La perforación es la principal causa de muerte en los casos fatales de amebiasis intestinal, especialmente asociada a desnutrición o mal estado general del paciente (2).

Uno de los primeros síntomas es la distensión abdominal, la cual se manifiesta por abombamiento y timpanismo, existe fuerte dolor abdominal, vómito, deshidratación y un intenso estado de toxemia. Como signo característico de que ha ocurrido la perforación, se presenta atonía del esfínter rectal, con salida espontánea de material mucosanguinolento y con abundantes trofozoítos (2).

### **3.2.4. Ameboma o Granuloma Amebiano**

Raramente hay una respuesta inflamatoria que da como resultado tejido de granulación sin fibrosis conocido como ameboma. Ocasionalmente, puede llenar el lumen y producir obstrucción. Aproximadamente, el 1 % de los pacientes con enfermedad intestinal desarrollan el ameboma, el cual se puede presentar como una masa abdominal completamente asintomática o acompañado de disentería. Los amebomas son lesiones pseudotumorales predominantemente en regiones verticales del colon ascendente, el ciego y el recto. Consiste en un engrosamiento marcado de la pared intestinal que tiende a obstruir la luz, simulando un adenocarcinoma (19).

El tamaño es variable y puede llegar a medir hasta 30 centímetros. En la mayoría de los casos su forma es circular y se asocia a úlceras de la mucosa. El tejido que lo forma es edematoso y fibroso, con infiltración de eosinófilos, plasmocitos, linfocitos y ausencia de trofozoítos (1).

La mayoría de los pacientes presentan una masa intestinal que puede presentar dolor a la palpación, caracterizado por diarrea mucosanguinolento ocasional. Una prueba serológica o una biopsia evitarían una cirugía innecesaria. Finalmente la amibiasis intestinal también puede progresar hacia una infección sistémica o extraintestinal como la amibiasis hepática (19).

## **3.3. Amibiasis Extraintestinal Invasiva**

### **3.3.1. Absceso Hepático Amibiano**

Una vez que los trofozoítos alcanzan los vasos sanguíneos, la complicación más frecuente es el absceso hepático amebiano, puede manifestarse al cabo de varios días, meses o años del cuadro

intestinal, aparece tanto en formas intestinales graves como leves, incluso un buen número de personas no manifiestan síntomas previos de amibiasis intestinal. El absceso hepático amibiano es la complicación extraintestinal más frecuente de la amibiasis; en la cual el hígado es el órgano más comúnmente infectado y esto probablemente se debe al transporte directo de los trofozoítos a partir del intestino grueso hacia el hígado por la vía porta (40).

Al alcanzar el hígado, las amebas producen una reacción inflamatoria con posteriores lesiones las cuales son focos pequeños de necrosis que tienden a extenderse y fusionarse generando un solo absceso. Éste puede continuar ampliándose conforme los trofozoítos progresivamente destruyan e ingieran células hepáticas (14).

La lesión tisular puede estar diseminada en el parénquima o muy bien localizada a una zona del hígado. En el absceso, el parénquima hepático está completamente sustituido por restos necróticos con escasos trofozoítos y células inflamatorias. La lisis de los neutrófilos por las amebas libera productos tóxicos no-oxidativos que contribuyen a la destrucción del tejido (19).

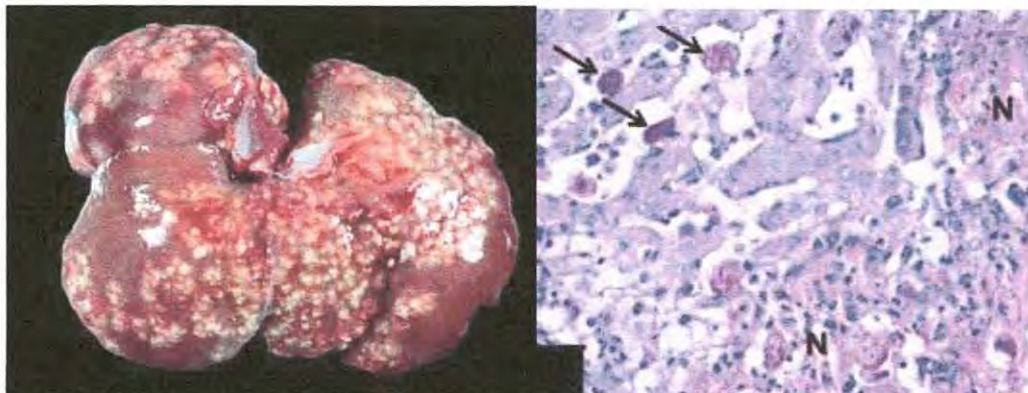
Los trofozoítos sólo se encuentran en la pared del absceso hepático, los cuales son frecuentemente detectados en el lóbulo derecho del hígado, debido en parte a la irrigación sanguínea del órgano y a su volumen. El color del fluido puede variar de amarillento hasta café oscuro, con apariencia de pasta de anchoas (figura 11). El examen microscópico del fluido del absceso revela debris granular de eosinófilos con escasas o sin células (14).

En la amebiasis hepática, alrededor de 80% de los pacientes con absceso hepático amebiano tienen síntomas después de dos a cuatro semanas de la infección, aunque no existe un consenso en relación con un periodo de incubación de la enfermedad invasora propiamente dicho. Entre

los viajeros con absceso hepático luego de dejar un área endémica, 95% lo desarrolla en los primeros cinco meses (14).

Éste tipo de amebiasis evoluciona en dos fases: fase de inflamación y fase de absceso. Se presenta con un curso lento e insidioso, acompañado de pérdida de peso, dolor en el hipocondrio derecho, hay dolor en el hipocondrio izquierdo en 5% de los casos y puede ser indicativo de absceso del lóbulo izquierdo, fiebre no muy elevada, hepatomegalia ligera e ictericia discreta. Cuando el absceso va creciendo hacia los límites hepáticos, existe el riesgo de ruptura a cavidad o apertura a órganos contiguos, como son pulmón y pleura (40).

Los síntomas gastrointestinales concomitantes incluyen: náusea, vómito, distensión abdominal y estreñimiento y se manifiestan en 10 al 35% de los casos. Los pacientes ancianos de áreas endémicas tienen una probabilidad mayor de padecer un curso subagudo, de unos seis meses de duración, con pérdida de peso y hepatomegalia. Si se toma en consideración que 10 al 15% de los pacientes sólo manifiestan fiebre, el absceso hepático amibiano debe tenerse en cuenta en el estudio de la fiebre de origen desconocido. Más de 80% de los pacientes tiene tos seca, y quizá un tercio tenga tos productiva, lo que puede sesgar el diagnóstico (42). Sin un tratamiento, el absceso hepático puede romperse al espacio pleural, peritoneal o pericardio y presentar la muerte (2).



**Figura 11. Absceso hepático amibiano experimental de hámster (6 días).**

Fuente: En: <http://www.medigraphic.com/pdfs/facmed/un-2011/un112c.pdf>



a) Aspecto macroscópico: el hígado presenta hepatomegalia con lesiones puntiformes distribuidas en todos los lóbulos. b) Aspecto microscópico: diversos trofozoítos (flechas) se encuentran fuera del área de necrosis(N) en contacto con hepatocitos sin aparente daño celular y sin células inflamatorias. Tinción PAS.

Otro tipo de amibiasis invasiva es la cutánea aunque es extremadamente rara se desarrolla como consecuencia de la exposición de la piel o membrana mucosoma a fluidos conteniendo trofozoítos generalmente es perianal, por propagación de los parásitos a partir de úlceras rectales (figura 12). Los cuadros cutáneos se manifiestan como úlceras de bordes bien definidos, sangrantes, dolorosos y de crecimiento rápido, tanto que llegan a duplicar en extensión en 24 horas, pueden destruir completamente una región e incluso llegar al hueso (31).



**Figura 12. Úlcera cutánea fagedénica del periné, muy dolorosa, observada en varón de 16 años de edad. En el examen en fresco se observaron trofozoítos hematófagos de *E. histolytica*.**

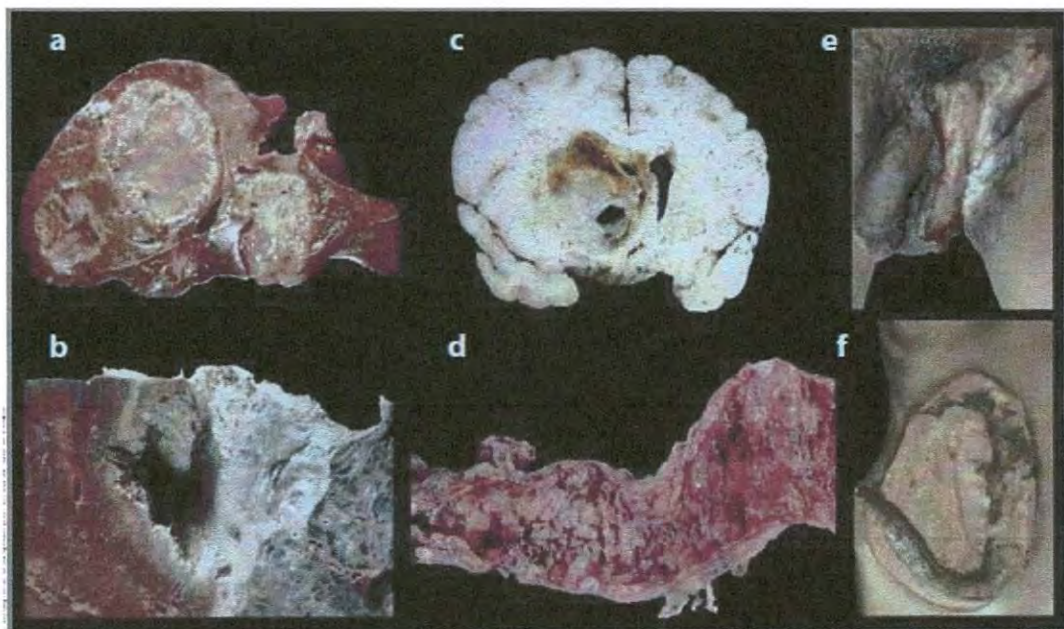
Fuente: <http://dpd.cdc.gov/dpdx/Default.htm>

La propagación de los trofozoítos hematófagos hacia otros sitios, tales como los pulmones o el cerebro es poco frecuente, sin embargo puede ocurrir (figura 13). El tipo más común de la

infección pleuropulmonar es la extensión de un absceso hepático a través del diafragma, las lesiones hepáticas entran a la pleura y los pulmones, muy rara vez por vía hemática (40).

Los síntomas más frecuentes se caracterizan por tos, dolor de pecho, disnea (dificultad para respirar), escalofríos, fiebre, leucocitosis. También puede ocurrir una expectoración abundante de material purulento con sangre y con algunos trofozoítos, en la cual el síntoma fundamental es un dolor intenso y continuo en la parte inferior del hemotórax derecho como consecuencia de la inflamación de la pleura diafragmática, que va acompañado de la tos persistente no productiva. Si el absceso se abre hacia un bronquio, se elimina con la tos su contenido, de típico color rojizo o pardo grisáceo (26).

Por último, el absceso cerebral amibiano es una localización secundaria por diseminación hematógena. Los síntomas son los de un tumor o absceso cerebral, la infección puede ser mortal. Se da en pacientes inmunocomprometidos, siempre se diagnostican post-mortem (26).



**Figura 13. Amibiasis invasiva en diferentes tejidos del ser humano.**  
Fuente: <http://www.medigraphic.com/pdfs/facmed/un-2011/un112c.pdf>

a) Absceso hepático amibiano (AHA) con múltiples lesiones. b) Ruptura de AHA e invasión a pulmón. c) Lesión amibiana en cerebro. d) Megacolon tóxico. e) Amibiasis inguinal. f) Invasión de la pared anterior del hemiabdomen derecho por un AHA. Las lesiones en piel son causadas por contigüidad al intestino o hígado infectados.

## IV. DIAGNÓSTICO CLÍNICO DE LABORATORIO

De forma rutinaria, la infección ha sido diagnosticada por estudio microscópico de los quistes o trofozoítos en muestras clínicas. Actualmente existe un consenso sobre la importancia de diferenciar *E. histolytica* de *E. dispar*. La aceptación de éste último como una nueva especie ha cambiado la comprensión de la epidemiología de la amebiasis y destacó la necesidad de desarrollar técnicas de diagnóstico que puedan diferenciar éstas especies. Por ésta razón, en las últimas décadas se han realizado importantes avances en el desarrollo de técnicas moleculares aplicadas al diagnóstico del protozoo (37).

### 4.1. Diagnóstico Parasitológico

El diagnóstico tradicional de la amebiasis se ha basado durante muchos años en la microscopía. Sin embargo, desde la separación formal de *E. histolytica* en dos especies, la patógena *E. histolytica* y la comensal *E. dispar*, las técnicas microscópicas no son válidas para diferenciarlas, ya que son idénticas morfológicamente (12).

Los métodos de diagnóstico dependerán si la amebiasis es extraintestinal o intestinal. En el diagnóstico de la amebiasis intestinal, se debe distinguir claramente entre enfermedad amebiana y estado de portador (33).

En el caso del portador asintomático elimina principalmente quistes más que trofozoítos en materia fecal, por tanto es muy importante desde el punto de vista epidemiológico; La infección puede ser causada por las dos especies, pero la enfermedad o amebiasis propiamente dicha es causada por *E. histolytica* (16).

El diagnóstico de la amibiasis en sus diferentes formas clínicas se establece en forma directa con la demostración del parásito o en forma indirecta con la identificación de anticuerpos específicos (33).

A continuación se describirán los métodos de laboratorio más importantes para efectuar el diagnóstico etiológico de amibiasis, ya que llevan como finalidad demostrar el quiste o trofozoito de *E. histolytica* y *E. dispar* (33).

El diagnóstico parasitológico 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 tricromica ), o su demostración en biopsias de la mucosa intestinal o hepáticas (30).

#### **4.1.1. Recolección y Conservación de la Muestra**

La calidad de la muestra depende de que el recipiente sea limpio, seco y libre de impurezas, orina y agua, debe obtenerse antes del uso de medicamentos antiparasitarios, o hasta 2-5 días después de su administración (15).

Hasta su recepción en el laboratorio, las muestras se deben conservar adecuadamente. Si el transporte se demora, es conveniente mantenerlas refrigeradas en nevera o añadir alguna sustancia que impida la acción bacteriana y conserve los parásitos en condiciones idóneas para su correcta identificación. Se puede utilizar formol diluido en agua (al 5 ó 10%, según la consistencia fecal), o merthiolatiodoformalina (MIF); aunque las muestras fecales conservadas con formol sólo sirven para la pesquisa de quistes u otro fijador adecuado como el alcohol polivinílico PVA, ya que puede preservar al protozoario en su fase de trofozoito (19).

La demora en el procesamiento de la materia fecal implica reducir la sensibilidad de la prueba, porque en la mayoría de los casos, la viabilidad de los trofozoítos es de aproximadamente 20 minutos después de su eliminación (16).

Si no se dispone de los medios de transporte o fijación antes señalados puede ser refrigerada (no congelada) durante un máximo de 24 horas antes de ser procesada, pero disminuirá el rendimiento del estudio parasitológico. De vez en cuando se ven en movimiento trofozoítos en muestras fecales que se mantuvieron en refrigeración durante un período de hasta 4 horas, aunque se desintegran rápidamente en las muestras no fijas (2).

Tan pronto como se reciban las heces en el laboratorio se debe observar su consistencia (grado de humedad) y anotar en el recipiente una de las letras: F (formada), B (blanda), S (suelta), A (acuosa). También es importante ver si presentan mucosidad o sangre. La consistencia o grado de humedad servirá de orientación para saber si es más probable encontrar trofozoítos o quistes. Las heces formadas son útiles para la identificación de quistes éstas pueden examinarse en cualquier momento del día, pero no deben dejarse de un día para otro, ya que los quistes pueden desintegrarse (1).

Si se reciben varias muestras al mismo tiempo, hay que examinar primero las que contengan sangre o moco, y a continuación las muestras líquidas. Estas muestras son las que con mayor probabilidad contienen trofozoítos amebianos, también en material obtenido por endoscopia. Los trofozoítos son muy frágiles por lo que un manejo inadecuado de las heces los destruye, también pueden morir al poco tiempo de la excreción, y se puede obtener un resultado falso negativo, por lo que deben examinarse dentro de las dos primeras horas de su emisión (2).

La muestra no debe ser contaminada con orina y debe recolectarse en un frasco limpio. No debe ingerirse laxantes aceitosos porque las gotas eliminadas dificultan la identificación de los quistes. Si se trata de lactantes la muestra deberá obtenerse mediante la cucharilla rectal (técnica de Olarte) y hacer la observación inmediatamente, no se debe tomar la muestra de los pañales ya que como comentamos anteriormente los trofozoítos mueren rápidamente (16).

#### **4.2. Técnicas Coproparasitoscópicas**

El examen en fresco es el método más utilizado en las áreas endémicas para hacer el diagnóstico parasitológico de la amibiasis intestinal, aunque es especialmente difícil debido a que se requiere personal altamente capacitado; en éste examen se realiza la observación directa por microscopia, de los quistes o trofozoítos en heces o de estos últimos en los tejidos invadidos como la muestra del borde de la úlcera ;la identificación microscópica depende de la buena recolección de la muestra, la toma directa por vía rectal o mejor por rectosigmoidoscopia asegura un buen material de estudio. Aunque el examen microscópico puede resultar complicado, ya que se necesita una baja intensidad de luz y la dificultad en la diferenciación entre las amebas sin teñir y el material celular (1).

La eliminación de los parásitos no es constante, ya que los quistes se vierten en el lumen intestinal en forma intermitente por lo que el exámen microscópico debe ser seriado, una única muestra de heces tiene una sensibilidad del 50 al 70%, por lo que se requiere de al menos el análisis de 3 o más muestras en días alternos ó durante 5 días de estudio (aún cuando se lleve a cabo una sigmoidoscopia) para lograr una sensibilidad del 90%, detectando más del 80 a 90% de infecciones (30).

Es muy importante que al visualizar un trofozoíto estudiar su tamaño, diferenciación del ecto y endoplasma, el tipo de movimiento, presencia o ausencia de núcleo así como sus características y la presencia de elementos fagocitados. Aspectos que son determinantes en su diferenciación con los macrófagos que abundan en la colitis bacilar, pueden tener pequeños pseudópodos, fagocitan eritrocitos pero se diferencia de los trofozoítos por falta de movimiento y por la presencia de citoplasma granuloso (1).

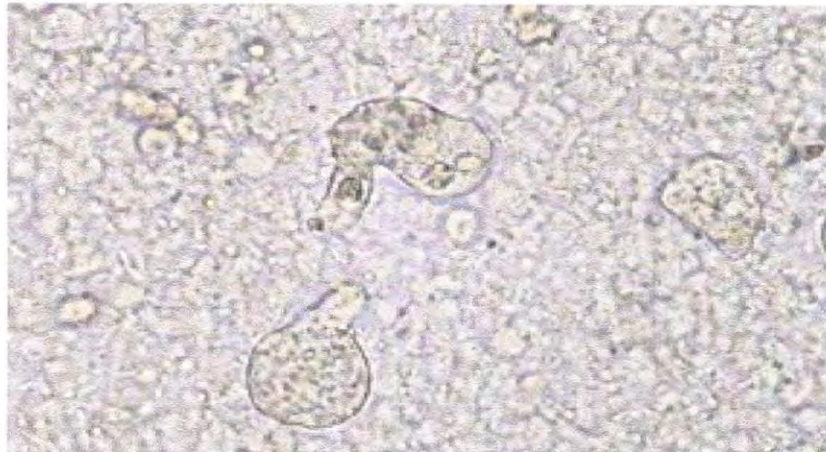
El examen realizado por personal entrenado inadecuadamente para el diagnóstico en el laboratorio, puede conducir a resultados falsos positivos por confusión con leucocitos u otras células o en otros casos se puede pasar por alto una verdadera infección. Hoy, con los adelantos de la ciencia moderna han surgido muchas técnicas para examinar heces; actualmente entre las variantes para examinar las heces en fresco es utilizar la solución salina, solución yodada y azul de metileno (19).

#### **4.2.1. Examen Microscópico Directo en Solución Salina**

Se realiza homogeneizando la muestra fecal en un portaobjetos con las soluciones anteriores tamponado a pH ácido. A continuación se coloca el cubreobjetos y se procede a la observación por microscopía óptica. Se recomienda seleccionar aquellas partes de la muestra que presenten restos de sangre, moco o pus. El examen debe ser exhaustivo, comenzando por un ángulo del cubreobjetos, desplazando el campo del microscopio hasta el otro extremo, y continuando el movimiento en zig-zag hasta completar toda la superficie. Se debe realizar un examen a 100 aumentos (19).



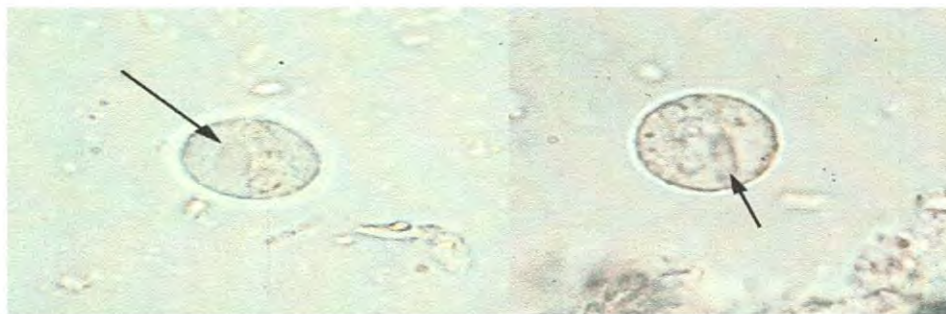
Se utiliza primordialmente para observar los trofozoítos y los quístes aunque también puede revelar la presencia de eritrocitos, leucocitos y residuos no patógenos (figura 14). En materiales fecales sólidos y blandos es fácil encontrar quístes, los cuales en solución salina se reconocen por su forma redondeada y su tamaño lo que obliga hacer preparaciones fijas y teñidas para distinguirlo de otras amibas. Los cuerpos cromatoidales, de los quístes jóvenes, son blancos refringentes en ésta solución (2).



**Figura 14: Trofozoíto de *E. histolytica*. Montaje en fresco con solución salina.**

Fuente: <http://medicina.udea.edu.co/parasitologia/Sarcodina.html>

Las muestras que contengan sangre y moco así como el material obtenido por endoscopia/rectosigmoidoscopia ya que son los que más presentan trofozoítos se deben de realizar con solución salina en las primeras horas siguientes a su recolección, pues posteriormente se inmovilizan y su interpretación es difícil (34).



**Figura 15: Quístes *E. histolytica* / *E. dispar*.**

Fuente: <http://dpd.cdc.gov/dpdx/Default.htm>

Montaje en fresco con solución salina. Observe los cuerpos cromatoidales con extremos romos y redondeados (flechas).

En el caso de la mucosa no se debe muestrear menos de seis áreas, el material raspado o aspirado de la superficie de la mucosa puede ser examinado mediante una preparación en fresco con solución salina al 0.85% para detectar movimiento amebiano (19).

La técnica es poco sensible (20%-30%), cuando el examen es realizado por personal entrenado inadecuadamente, lo cual puede conducir a resultados falsos positivos por confusión con leucocitos u otras células o parásitos y en otros casos se puede pasar por alto una verdadera infección (19).

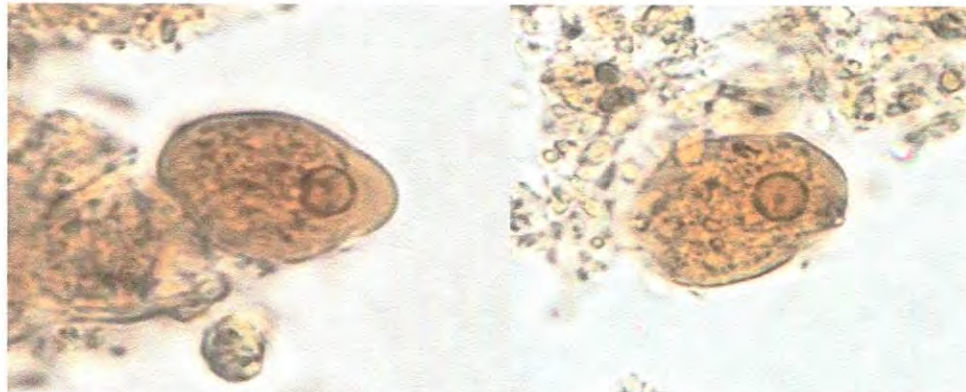
Las heces en fresco diluidas en solución salina y yodo; es uno de los métodos más sencillos y a los que en nuestro medio se acude con mayor frecuencia, por razones de mayor accesibilidad. Con ésta preparación pueden identificarse los trofozoitos en heces recién emitidas, en los quistes se utiliza principalmente para teñir su glucógeno así como los núcleos (17).

#### **4.2.2. Examen Microscópico en Solución de Lugol**

Con lugol resaltan los núcleos que van de 1 en los quistes jóvenes, hasta 4 en los maduros los quistes pueden presentar vacuola iodófila principalmente los inmaduros, en los cuales ocupan gran parte del citoplasma (39).

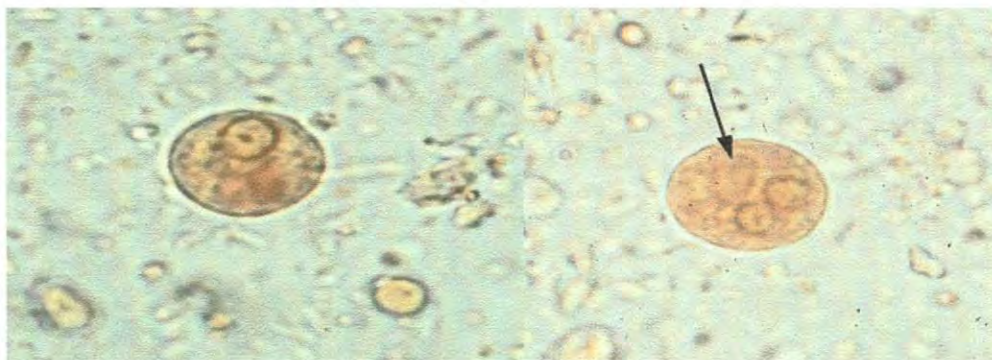
El Lugol es un colorante que presenta gran afinidad por los azúcares complejos, permite obtener coloraciones contrastadas que facilitan la observación de elementos intracelulares. Con

esta coloración, el trofozoíto pierde motilidad., puede conservar la forma indefinida con clara diferencia entre ectoplasma y endoplasma o puede ser redondo; se observa con mayor claridad numerosas vacuolas e inclusiones citoplasmáticas como gránulos, material fagocitado y en algunas oportunidades presencia de vacuola de glicógeno, puede verse o no, el núcleo característico del genero *Entamoeba*. (Figura 16) (39).



**Figura 16: Trofozoítos de *E.histolytica* / *E.dispar*. Frotis teñido con lugol**  
Fuente: <http://dpd.cdc.gov/dpdx/Default.htm>

En la preparación con lugol el núcleo de los quístes maduros es tetranucleado se presenta con cromatina uniforme y cariosoma central, además pueden encontrarse quístes uni y binucleados, cuerpos cromatoidales en forma de bastoncitos con extremos romos inmaduros de forma muy variada rodeando las vacuolas de glucógeno.( figura 16) (36).



**Figura 17: Quístes de *E. histolytica* / *E. dispar* en una preparación en fresco teñidos con lugol. Observe los cuerpos cromatoidales con extremos romos y redondeados (flechas).**  
Fuente: <http://dpd.cdc.gov/dpdx/Default.htm>

Las masas de glucógeno que generalmente se presentan en los quistes inmaduros de uno y dos núcleos, se aprecian de color oscuro, conforme madura se localiza en una vacuola que desaparece en la etapa final de la maduración (36).

Las técnicas más usadas por método de concentración son la de faust (sulfato de zinc) modificada por varios especialistas y la de Ritchie (formol-éter). En éstas se utiliza la centrifugación para acelerar la flotación y obtener un sedimento. Cabe mencionar que mediante éstas dos técnicas en comparación con las otras los quistes se distorsionan menos (39).

La posibilidad de identificar al parásito definitivamente aumenta utilizando éstas técnicas las cuales se realizan cuando la muestra tiene pocos microorganismos, y es posible que no se detecten parásitos en el examen en fresco. Se emplea especialmente cuando se trata de heces formadas. Por lo que es recomendable en nuestro medio, siempre que sea posible, concentrar la muestra. Por otra parte, los quistes pueden recuperarse por concentración, pero los trofozoítos no se verán ya que el procedimiento suele destruirlos. Por ése motivo es imprescindible el examen en fresco como fase inicial del estudio microscópico (39).

### **4.3. Técnicas de Concentración Fecal**

#### **4.3.1. Método de Concentración de Faust**

Concentración por flotación, se basa en una diferencia de densidades entre el parásito y la solución en la que se emulsionan las heces (se utilizan soluciones de alta densidad como sulfato de zinc al 33% en agua destilada). En éste caso, los parásitos se quedan en el sobrenadante. El inconveniente de esta técnica radica en que los quistes protozoarios pueden experimentar

alteraciones debido tanto a la aparición de corrientes osmóticas a través de la membrana quística, como a la agresión que puede producir en la cubierta alguna de las sustancias empleadas (1).

#### **4.3.2. Método de Concentración de Ritchie**

Concentración por sedimentación o concentración de las muestras, tratadas con sulfato de zinc o acetato etil formalina con la técnica de sedimentación. Consiste en homogeneizar las heces en una solución de formalina. Ésta emulsión se filtra y se añade éter. A continuación se centrifuga de forma que los quistes de protozoos se sedimentan en el fondo del tubo (11).

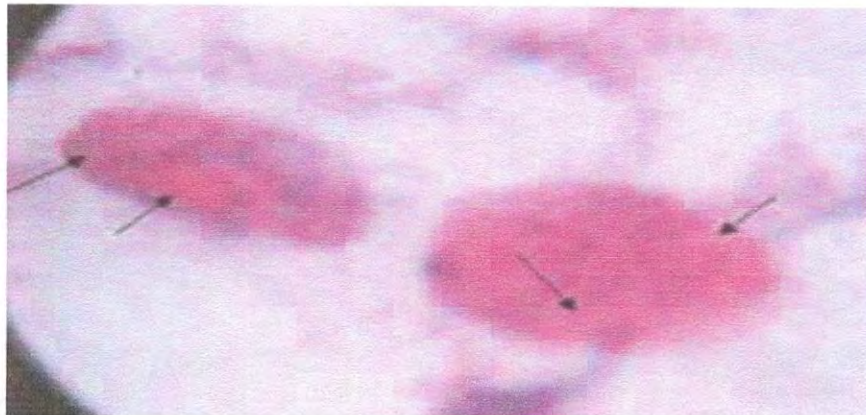
### **4.4. Tinciones Microscópicas**

#### **4.4.1. Frotis de Heces con Tinción Hematoxilina-Eosina**

Tinción muy importante ya que puede ser una alternativa para la identificación de éstas especies dado que se obtienen muy buenos resultados al microscopio (11).

Consiste en hacer un frotis de la evacuación en una laminilla fijándola en alcohol al 80% durante 5 minutos; luego se sumerge en hematoxilina por 5 minutos y se lava la muestra en agua corriente para someterla a baño en alcohol ácido (0.5 ml de concentrado de ácido clorhídrico por cada 100 ml de alcohol), para luego lavar la laminilla y sumergirla en agua amoniacal (0.5 ml de concentrado de amoníaco por cada 100 ml de agua destilada), se lava y se sumerge en eosina por 5 minutos, se deshidrata y se aclara con xileno y se observa al microscopio (11).

Esta técnica permite ver los más finos detalles citológicos, se realiza con el fin de precisar características morfológicas específicas como el núcleo con cromatina uniforme y cariosoma central, cuerpos cromatoidales en forma de tabaco. Características diferenciales de los trofozoítos por ésta tinción (figuras 18,19 y 20) (11).



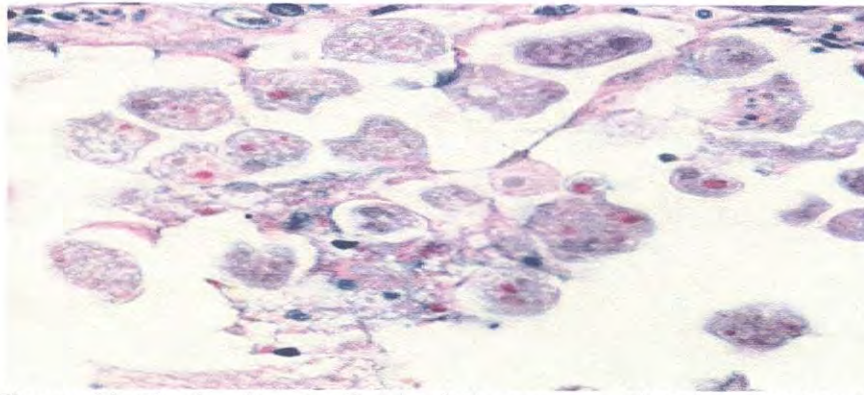
**Figura 18: Tinción con la técnica de hematoxilina/eosina. Las flechas señalan eritrocitos fagocitados, algunos hemolizados por la digestión intracelular.**

Fuente: [www.medigraphic.com/pdfs/pediat/sp2005/sp053b.pdf](http://www.medigraphic.com/pdfs/pediat/sp2005/sp053b.pdf)



**Figura 19: *E. histolytica*. Trofozoítos en tejido de colon teñido con H & E.**

Fuente: <http://dpd.cdc.gov/dpdx/Default.html>

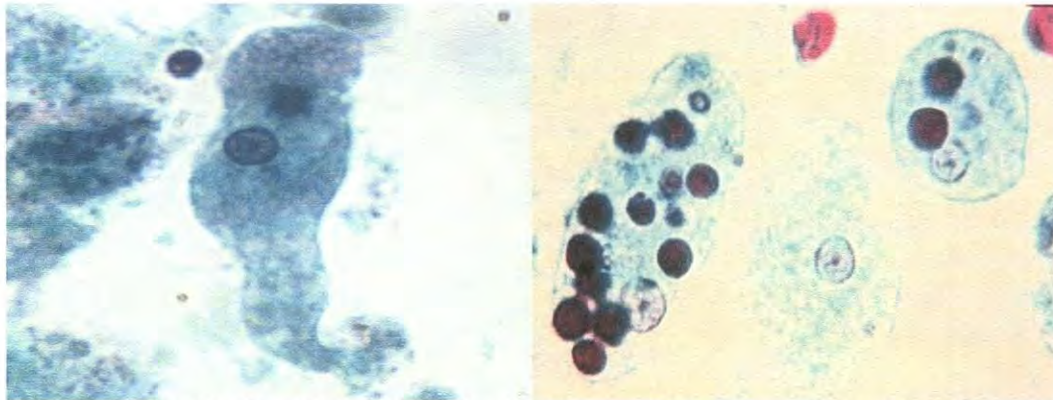


**Figura 20: Trofozoítos de *E. histolytica* en una biopsia perianal, teñidos con H & E.**

Fuente: <http://dpd.cdc.gov/dpdx/Default.htm>

#### 4.4.2. Frotis de Heces con Hematoxilina Férrica o Coloración Tricrómica

La confirmación del organismo, además del examen directo en fresco de la muestra por medio de tinciones permanentes como la tinción hierro-hematoxilina o la tinción tricrómica de Wheatley, es el método estándar recomendado para la identificación del parásito, ya que clasifica género y especie, tanto trofozoítos como quístes (1).

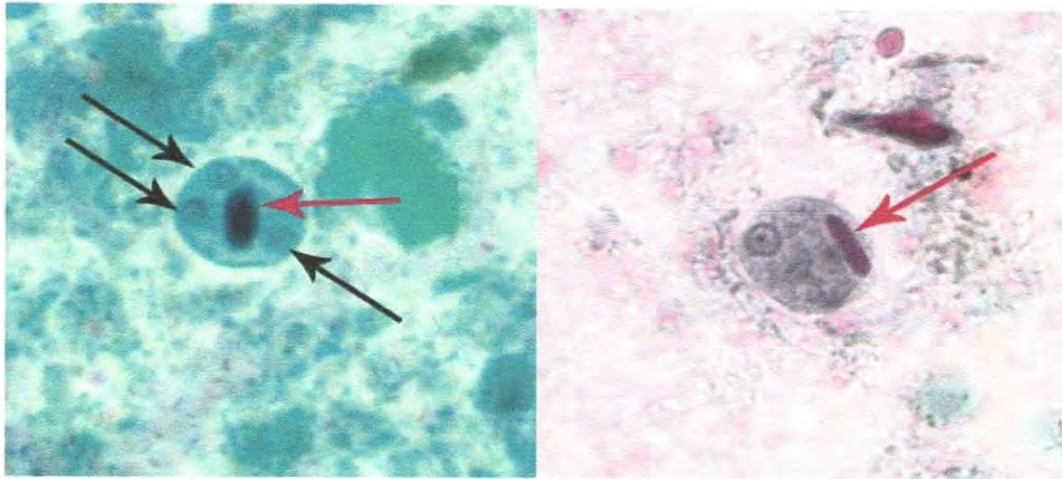


**Figura 21: Trofozoítos de *E. histolytica* / *E. dispar* teñidos con tinción tricrómica en heces (objetivo 1000x).**

Fuente: <http://dpd.cdc.gov/dpdx/Default.htm>

Los frotis fecales teñidos proporcionan un método satisfactorio para mantener una evidencia positiva de los protozoos intestinales identificados en el laboratorio. La tinción es un procedimiento rápido que da buenos resultados para propósitos de rutina, ya que es simple, de

gran utilidad para la definición de las estructuras citoplásmicas y detalles morfológicos internos del núcleo de los trofozoítos, por lo que permite diferenciar las amebas patógenas y no patógenas de glóbulos blancos y otros artefactos presentes en la muestra (Figura 21 y 22) (19).



**Figura 22: Quiste *E. histolytica* / *E. dispar* teñidos con tinción tricrómica.**  
Fuente: <http://dpd.cdc.gov/dpdx/Default.htm>

En muestras histológicas, es probable que en algunos organismos no sea posible observar todos los detalles del núcleo y sea necesario examinar secciones secuenciadas para poder identificar dicho organismo. Los aspirados hepáticos pueden examinarse para buscar al organismo, pero el procedimiento raramente se realiza y cuando se hace, en ocasiones no se realiza de forma correcta (17).

En éstas muestras, las amebas se encuentran esparcidas en el material necrótico del centro del absceso, pero son más abundantes en las paredes marginales. De manera que, se encuentran más comúnmente en las últimas porciones del material aspirado. En la amibiasis extraintestinal, los organismos pueden o no encontrarse en las heces; por lo tanto, se hace necesario utilizar alguno de los exámenes serológicos disponibles para el diagnóstico (19).



El procedimiento mediante comparaciones hechas entre varios métodos revelan que el examen de muestras fecales mediante tinciones demuestran tener gran sensibilidad ya que se ha reconocido como una herramienta diagnóstica sensible para la detección de parásitos detectando de 30% a 50% más infecciones por *E. histolytica* que el examen directo con lugol y solución salina o únicamente solución salina intestinales (17).

Con el material obtenido de la mucosa intestinal, puede también hacerse un frotis e inmediatamente ser sumergido en fijador de Schaudinn. Un método alternativo para preparar un frotis fijo de la muestra consiste en agregar de 2 a 3 gotas de alcohol polivinílico PVA directamente sobre el material de la mucosa en la lámina, mezclarlo y permitir que seque al aire. Los dos métodos proveen un montaje permanente que puede ser teñido con la tinción tricrómica (19).

El fijador de Schaudinn, preserva la morfología de los quistes y principalmente la de los trofozoítos; ya que también los componentes de la tinción tricrómica tienen una fuerte afinidad a la cromatina la cual se tiñe de forma clara y prominente. El citoplasma tanto de ambos estadios de los protozoarios como el de los leucocitos se observa de color verde azulado en un fondo pálido, mientras que la cromatina en el núcleo de un color morado rojizo (19).

## **4.5. Técnicas Inmunológicas**

### **4.5.1. Elisa**

En la actualidad el método ELISA es una de las pruebas diagnósticas disponibles que existen comercialmente, que puede detectar antígenos en muestras de heces y anticuerpos séricos; la

prueba es muy confiable y tiene una especificidad y sensibilidad de 95 y 100%, respectivamente, para la detección de *E. histolytica* (28).

En la cual uno de los reactivos se conjuga con una enzima formando un complejo con actividad inmunológica y enzimática. Es hasta ahora la más prometedora. Su base es a través de anticuerpos monoclonales (33).

La técnica de ELISA utiliza anticuerpos monoclonales dirigidos contra epítomos específicos de la lectina de galactosa/Nacetilgalactosamina (Gal/GalNAC) de *E. histolytica* o anticuerpos monoclonales dirigidos contra el antígeno rico en serina de *E. histolytica* (34).

Los ensayos demuestran que son más sensibles que la microscopía y que el cultivo, pero presenta una sensibilidad menor a la técnica de PCR en la diferenciación de *E. histolytica* y *E. dispar* (28).

La determinación de anticuerpos séricos anti-amibianos por ELISA es otra de las estrategias diagnósticas que puede ser de utilidad como apoyo al diagnóstico clínico de amibiasis intestinal o extraintestinal invasora. Tiene valores de especificidad y sensibilidad de 81.6 y 97.1%, respectivamente (28).

Se utilizan para la detección de anticuerpos IgG e IgM, existe una persistencia de títulos positivos de anticuerpos IgG para *E. Histolytica* detectado por ELISA en áreas endémicas debido a que los anticuerpos se presentan por años, lo cual no puede diferenciar de una infección aguda a una pasada (28).

En un estudio de la cinética de inmunoglobulina G (IgG) e inmunoglobulina M (IgM) mediante ELISA en pacientes con absceso hepático amibiano encontraron que los niveles de IgM específica declinaron significativamente en tres meses mientras que los títulos de IgG persistieron, es así como los anticuerpos IgM, pueden ser indicador de actividad en amibiasis invasiva (28).

#### 4.5.2. Contrainmunolectroforesis

La CIEF fue una prueba empleada desde la década de los años setenta, antes del advenimiento de la ELISA. Es una prueba cuantitativa. Tiene igual o mayor sensibilidad que otras pruebas serológicas. La ejecución es rápida y sencilla: se titulan anticuerpos. El principio se basa en la afinidad de cargas eléctricas que hay entre el antígeno de *E. histolytica* y anticuerpos correspondientes (34).

Los componentes de éste sistema migran en sentido contrario en un campo eléctrico al colocarse uno frente al otro, reaccionan entre sí debido a una especificidad: por lo tanto, la formación de bandas de precipitado entre el antígeno y suero problema indica la presencia de anticuerpos, lo que a su vez probablemente se correlaciona con los niveles de que ellos se encuentren en el curso de la infección (33).

En pacientes con amibiasis en donde el parásito ha invadido los tejidos, se pueden detectar títulos hasta de 1:128 o más (alto índice de amibiasis invasora): los títulos menores no son detectados. Los anticuerpos van aumentando progresivamente, por lo que hay que tomar dos pruebas, una en la fase aguda y otra en la convalecencia que son de 3-4 semanas después de la fase aguda (44).

## 4.6. Técnicas Moleculares

### 4.6.1. Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR)

Las técnicas de PCR que se han desarrollado en los últimos años, tienen una elevada sensibilidad y especificidad para la detección de amebiasis (1).

El diagnóstico de PCR se puede realizar en heces para ello se lleva a cabo el siguiente procedimiento (20).

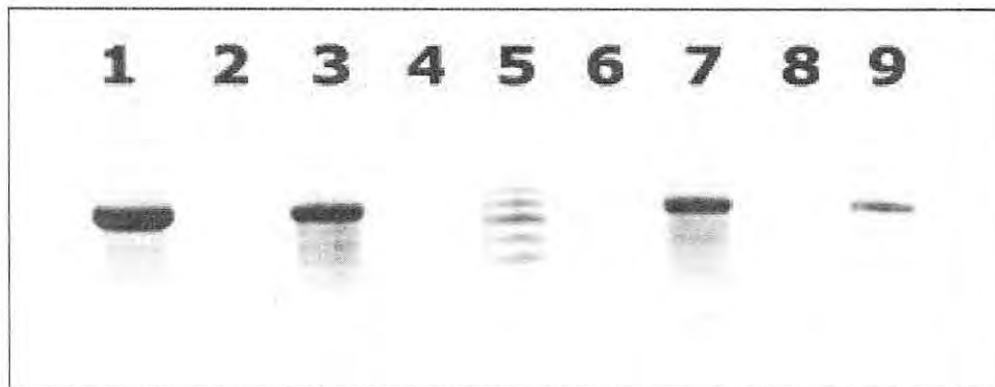
- a). Obtención de la muestra
- b). Extracción del ADN
- c). El diseño de los cebadores o iniciadores.
- d). Amplificación del ADN
- e). Hidrólisis enzimática de los fragmentos amplificados
- f). Separación electroforética

Una vez que se obtienen los productos amplificados de ADN de *E. histolytica* mediante PCR se continua con la hidrólisis enzimática de los fragmentos amplificados con el fin de diferenciar las secuencias específicas amplificadas para *E. histolytica* y para *E. dispar* (23).

La hidrólisis de éstos productos amplificados se lleva a cabo con la enzima endonucleasa Bgl II que reconoce sitios con secuencias AGATCT, esta región de corte solo se encuentra en los productos amplificados de *E. histolytica* y no así en los productos amplificados de *E. dispar*, así es como se puede diferenciar a los dos parásitos protozoarios (23). En el diagnóstico de la amebiasis intestinal la técnica de PCR presenta una sensibilidad superior a la de la microscopía

y a la de la serología. El método molecular es capaz de distinguir entre *E. histolytica*, la especie patógena, y *E. dispar*, la comensal (16).

En estudios comparativos de PCR con detección de antígenos en heces mediante ELISA, se reportaron valores contraproducentes, ya que las heces es la muestra más compleja para realizar una técnica de PCR debido a la presencia de sustancias inhibidoras, como hemoglobina, bilirrubina, sales biliares, pectinas y carbohidratos, que se extraen junto con el ADN del parásito y disminuyen la sensibilidad y especificidad de la técnica. Por lo que los autores recomiendan la estandarización de los procedimientos de laboratorio y manejo de muestras para garantizar resultados más confiables (16).



**Figura 23: Gel de agarosa (2%). Análisis de una prueba de diagnóstico de PCR para la diferenciación entre *E. histolytica* y *E. dispar*.**

Fuente: <http://dpd.cdc.gov/dpdx/Default.htm>

Carriles 1 - 4: Amplificación PCR con los primers específicos Psp3/Psp5 para *E. histolytica*.

Tamaño de la banda de diagnóstico 876-pb.

Carriles 6 - 9: Amplificación PCR con el par de cebadores NPsp3/NPsp5 específica para *E.*

*dispar*. Tamaño de la banda de diagnóstico - 876 pb.

Carriles 1 y 6: *E. histolytica* 200 NIH: zymodeme II (control positivo para *E. histolytica*).

Carriles 2 y 7: *E. dispar* 351 IMMiT: zymodeme I (control positivo para *E. dispar*).

Carriles 3 y 8: Muestra tomada de un paciente con un absceso hepático (positivo con cebadores de *E. histolytica* y negativo con primers de *E. dispar*). *E. histolytica* 333: IMMiT zymodeme XIV.

Carriles 4 y 9: Muestras de un paciente asintomático (positivo con primers de *E. dispar* y negativa con primers de *E. histolytica*). *E. dispar* 389: IMMiT zymodeme I.

Carril 5: Estándar Molecular, 100-pb escalera (de 600 a 1.000 pb).

#### 4.6.2. Análisis de isoenzimas

El cultivo de *E. histolytica* no es un método rutinario y no está al alcance de todos los laboratorios clínicos. Los métodos de cultivo en la actualidad pueden ser divididos en axénicos, monoxénicos y plurixénicos: la división está hecha en función de la ausencia o presencia y número de bacterias entéricas (33). Los cultivos axénicos están libres de bacterias ya que estas se desarrollan junto con la ameba. El cultivo axénico fue desarrollado por Diamond sirve para investigación o para la obtención de antígeno amibiano de *E. histolytica* (34).

Los trabajos de Sargeant en 1978 demostraron que el análisis isoenzimático del cultivo de amebas era capaz de diferenciar entre las entonces denominadas *E. histolytica* patógena y *E. histolytica* no patógena (1). Un edema es definido como una población genéticamente diferenciable que comparte el patrón electroforético para varias enzimas. El análisis isoenzimático originalmente implicaba el estudio de cuatro sistemas, enzima málico (ME), fosfoglucomutasa (PGM), glucosa-fosfoisomerasa (GPI) y hexoquinasa (HK). Éste último es el más utilizado actualmente (1).

De los 20 zimodemas que describió Sargeant, nueve son de la especie patógena *E. histolytica* y el resto de la no patógena *E. dispar* (1). Actualmente, según los estudios de Diamond y

colaboradores empleando cultivos axénicos, se considera que sólo existen cuatro zimodemas, de los que II, XIV y XIX corresponden a *E. histolytica* y el zimodema I a *E. dispar*. El resto de los patrones enzimáticos descritos anteriormente en cultivos xénicos podían ser el resultado de artefactos, originados por la presencia de bacterias en el medio (34).

El análisis de zimodemas presenta varias desventajas, entre las que destaca su gran complejidad, su precio elevado y la necesidad de laboratorios con personal calificado. Además, el tiempo de realización de la técnica es largo, se requiere el establecimiento de las amebas en cultivo y se precisa de una gran cantidad de células para llevar a cabo el análisis de enzimas (33).

El cultivo de amebas no siempre tiene éxito y, además, tiene el inconveniente de que favorece el crecimiento de una especie sobre otra en el caso de infecciones mixtas. Resulta obvio que no es sencillo incorporarlo como técnica rutinaria en los laboratorios asistenciales. Por lo que el análisis isoenzimático para el estudio de *E. histolytica* ha sido suplantado por los métodos basados en el análisis del ADN del parásito (12).

La eficacia de muchas de estas técnicas diagnósticas, básicamente la observación directa de las heces así como las tinciones, está determinada por la habilidad y experiencia del microbiólogo para detectar y diferenciar a los trofozoítos de otras especies no patógenas de *E. histolytica* o leucocitos, ya que puede presentar muchos falsos positivos debido al error de confundirlos. Además como ya se indicó la observación directa de los quistes no permite diferenciar entre *E. histolytica* y *E. dispar*, excepto que se vean eritrocitos fagocitados por lo que la microscopía es de bajo rendimiento también cuando los parásitos son escasos (30).

Cuando el diagnóstico se realiza con el microscopio óptico los quistes de ambas especies son indistinguibles y deben ser informados como “de *E. histolytica* / *E. dispar*” (3).

## V. TRATAMIENTO

Todas las drogas antiamebianas actúan contra los trofozoítos y son incapaces de penetrar la pared de los quistes, su desaparición después de un tratamiento, se debe al ataque de las drogas sobre las formas trofozoíticas que los originan y no por acción directa contra ellos (1).

La quimioterapia tiende a: 1) Combatir el ataque agudo, 2) Destruir los trofozoítos en la mucosa y la luz del intestino. 3) Vencer la infección bacteriana secundaria, evitar que en algún momento se presente la amibiasis invasiva así como eliminar la sintomatología. La pauta a seguir en todo tratamiento debe basarse en la localización de los trofozoítos. Pueden estar en la luz del intestino, en la pared del colon o en los tejidos extraintestinales. Por lo cual los medicamentos antiamebianos se pueden dividir en dos grupos: (1)

Acción luminal: actúan sobre las formas del parásito que se encuentran dentro del lumen intestinal, hay dos razones que lo justifican: eliminar los parásitos de la luz intestinal para cortar la cadena de transmisión y evitar que en algún momento tengan amibiasis invasiva, en caso de ser *E. histolytica* y no *E. dispar* (1).

Los medicamentos de acción luminal son el iodoquinol, la tetraciclina el furoato de diloxanida y la paromomicina. El iodoquinol tiene más toxicidad gastrointestinal que el furoato de diloxanida y con el uso a largo plazo puede causar neuritis óptica y atrofia. La tetraciclina presenta efectos gastrointestinales frecuentes, no se administra a niños ni a mujeres embarazadas. La paromomicina, un aminoglucósido no absorbible, es la droga de elección en mujeres embarazadas, pero tiene como efecto secundario la diarrea (1).



Acción tisular: Para la infección invasora el tratamiento de elección es el metronidazol, que exhibe una tasa de curación de 90%. Constituyen el mayor avance en terapéutica antiamebiana ya que es un antibiótico del que se han acumulado más de 25 años de experiencia de alta eficacia terapéutica. Son efectivos casi exclusivamente en los tejidos: se absorben muy bien y rápido en el intestino delgado, por esta razón se indican en la amebiasis sintomática, también se utilizan tinidazol, tetraciclina y eritromicina (42).

Para confirmar la erradicación de la infección, luego de terminar el tratamiento, se debe realizar detección de antígeno parasitario en las heces. El tratamiento ideal debe ser metronidazol y luego continuar con un medicamento de acción luminal como la paromomicina para evitar recaídas; no se deben prescribir ambos al tiempo por la intolerancia gastrointestinal que producen al usarse en combinación. Los efectos secundarios del metronidazol incluyen cefalea, anorexia, sabor metálico, vómito, los cuales se presentan en un tercio de los pacientes (26).

Generalmente, el esquema utilizado es metronidazol 750-800 mg (30 mg/Kg/día sin exceder los 2 g/día) tres veces al día por seis a 10 días, seguido de paromomicina 500 mg (30 mg/Kg/día) tres veces al día por siete días. A pesar de esto, es importante destacar que el esquema debe ser ajustado a cada caso particular y que las complicaciones suelen requerir tratamiento quirúrgico. Si la determinación de antígenos identifica colonización por *E. dispar*, no se requiere tratamiento. Se ha trabajado intensamente pero aún no se dispone de una vacuna que sería la forma ideal para prevenir esta importante enfermedad (31).

## VI. PROFILAXIS

Las medidas de prevención y control son similares a otras enfermedades de transmisión por ruta fecal oral. La diferencia principal es que el ser humano es el único hospedero para *E.histolytica*, ya que en el ciclo de vida de este parásito no se presenta una transmisión zoonótica. Una comunidad con buen saneamiento ambiental está menos expuesta a las enteroparasitosis, pero en todo paciente con diarrea sanguinolenta debe incluirse la posibilidad de una amebiasis por más que tenga agua potable y cloaca en su vivienda (14).

Ante el consumo de agua no potable, se debe recordar que la cloración habitual no destruye a los quistes de los parásitos. Hervir el agua (1´ minuto de ebullición), es la única forma de garantizar la destrucción de los quistes de amebas. La protección y manejo adecuado del agua puede disminuir considerablemente la endemia y epidemia de la enfermedad (4).

La prevención y control de la infección por amiba requiere educación de la población sobre el manejo individual y público de las excretas, como eliminar las heces en los lugares adecuados, higiene y manipulación de los alimentos como lavarse bien las manos después de cada evacuación y antes de preparar los alimentos, tratamiento quimioproláctico de los portadores de quistes asintomáticos, educación a grupos sexuales de alto riesgo sobre la transmisión fecal-oral, lavado de frutas y verduras con desinfectante que contengan yodo antes de consumirlas sobre todo las hortalizas, ya que éstas son las más propensas a contener quistes, por su contacto con el suelo (1).

Erradicación de poblaciones de moscas y cucarachas, ya que éstas pueden transportar los quistes de un lugar a otro. Supervisión continua de las organizaciones de salud pública a las personas

que preparan alimentos en los lugares públicos así como la limpieza general de los locales. Realizar coprológicos a todos los integrantes del círculo familiar al que pertenezca un individuo afectado, un buen sistema de drenaje, construcción de letrinas sanitarias, evitar la ingestión de alimentos en la vía pública, acudir al médico tan pronto se presenten casos de disentería (2).

Dada la morbilidad y la mortalidad asociadas a la amebiasis, se ha investigado la posibilidad de desarrollar una vacuna. La mayoría de los esfuerzos se centra en generar una respuesta humoral contra la lectina Gal-GalNac por medio de la inmunoglobulina A (IgA), dado que disminuye hasta en 86% la incidencia de amebiasis hasta dos años después de su aplicación. Hay avances en este campo, pero todavía no hay una vacuna disponible para ser evaluada en seres humanos (10).

## VII. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

La amebiasis es una enfermedad que afecta a millones de personas en todo el mundo, dada la morbilidad y la mortalidad asociadas a la amebiasis, se ha hecho el reconocimiento de *E. histolytica* como especie patógena y *E. dispar* como especie no patógena, y su clasificación como especies separadas, pero que son microscópicamente indistinguibles y las cuales han inducido a la Organización Mundial de la salud (OMS) a recomendar el desarrollo y aplicación de métodos específicos para el diagnóstico de *E. histolytica*.

*E. histolytica* es un protozooario entérico; su trofozoíto se considera una de las más importantes células citotóxicas y citolítica no inmune conocidas hasta el momento. El parásito cumple un proceso de invasión muy elaborado, en el cual secretan y expresan proteínas tales como las adhesinas y amebaporos que le permiten adherirse al epitelio, degradar la matriz extracelular y causar citólisis de las células epiteliales para penetrar dentro de la mucosa.

Diversos trabajos han demostrado que el primer evento en el mecanismo patogénico de *E. histolytica*, es la adhesión de los trofozoítos a la célula blanco. Así, el bloqueó de la adhesión por anticuerpos específicos ó por otras moléculas, no sólo inhibirá la colonización de los tejidos por el parásito, sino que también inhibiría el proceso patogénico de *E. histolytica*.

En lo que se refiere a diferencias antigénicas entre *E. dispar* y *E. histolytica* se han encontrado diferentes epitopos en la subunidad pesada de 170 kDa de la lectina inhibible por galactosa en *E. histolytica* pero no en *E. dispar*. Otra diferencia es la presencia de eritrocitos ingeridos por la *E. histolytica* lo que no sucede con la *E. dispar*.

Estudios recientes con ARN y ADN han demostrado la existencia de diferencias genéticas entre las cepas patógenas y no patógenas de *E. histolytica*, principalmente en secuencias altamente repetitivas de ADN circular extracromosomal, así como diferencias en genes codificantes para la actina, la cisteína proteínasa y la superóxido dismutasa.

Diversas publicaciones han reseñado al PCR como el método más sensible y específico para el diagnóstico de la amibiasis y lo han propuesto como la “prueba de oro” para determinar esta infección.

Aun cuando es del dominio general que existen dos especies de amibas morfológicamente semejantes: una la *E. histolytica* y la otra, la *E. dispar*, sólo pueden diferenciarse una de la otra por pruebas inmunoquímicas y estudios genéticos, que en la práctica son de difícil acceso a la mayoría de los hospitales de segundo nivel. Por esta razón la técnica de tinción tricromica y la técnica con H/E es una alternativa recomendable, por su proceso rápido y de bajo costo, que puede ser de gran ayuda para confirmar el diagnóstico y dar el tratamiento precozmente.

Será deseable que en futuras investigaciones se valore la sensibilidad y la especificidad del método de H/E tomando como estándar de oro la identificación de la amiba por la reacción en cadena de polimerasa (PCR) o la técnica de ELISA.

Se ha investigado la posibilidad de desarrollar una vacuna. La mayoría de los esfuerzos se centra en generar una respuesta humoral contra la lectina Gal-GalNac por medio de la inmunoglobulina A (IgA), dado que disminuye hasta en 86% la incidencia de amebiasis hasta dos años después de su aplicación.

Se ha podido comprobar que la amibiasis sí es un problema de salud pública, y que con mayor frecuencia se presenta en las zonas de mayor marginación, donde existe un mayor índice de contagios. Por lo tanto, se reafirma que es un problema de importancia para la sociedad y para las personas en forma individual que debe procurarse darle mayor atención por parte de las autoridades federales y estatales propiciando el fomento de buenos hábitos de higiene y de salud.

Las medidas de prevención de la amibiasis son muy simples: lavado de manos antes y después de ir al baño, desinfección de agua y hortalizas con soluciones que contengan cloro o yodo, evitar la ingestión de alimentos en la vía pública y educación básica en salud.

Sabemos que la solución a este problema consiste en elevar el nivel educativo y dotar de agua limpia y servicios sanitarios a toda la población. Sin embargo, como ésto no es factible en el corto y mediano plazo, una alternativa racional para erradicar la enfermedad es producir conocimiento sobre los mecanismos moleculares del ciclo biológico del parásito y los de la patogenicidad de la enfermedad.

Debido a que las estrategias han sido difíciles de alcanzar en países en vías de desarrollo existen avances en la búsqueda de una vacuna de antígenos recombinantes, como la lectina Gal/GaINac.

## VIII. BIBLIOGRAFIA

- 1.- Botero, D., & Restrepo, M. (2003). Amibiasis intestinal. En: Parasitosis humana. 3<sup>a</sup> ed. Editorial Corporación para investigaciones Biológicas. Medellín, Colombia.
- 2.- Botero, D., Restrepo, M. (2003). Amibiasis intestinal. En: Parasitosis humana. 4<sup>a</sup> ed. Editorial Corporación para investigaciones Biológicas. Medellín, Colombia.
- 3.- Campos, P. M., Sánchez M. V., & Villalba M. J. (2011). *E. histolytica* y su relación huésped-parásito. *Enf. Inf. Microbiol*, 31 (2),63-70.
- 4.- Cedeño, B., García A., Nacarid A., Urdaneta H. (2008). Seroprevalencia de *Entamoeba histolytica* y diagnóstico de amibiasis en cumaná, estado sucre, venezuela. *Saber*. 20(3), 318-328.  
En: [ojs.udo.edu.ve/index.php/saber/article/download/148/79](http://ojs.udo.edu.ve/index.php/saber/article/download/148/79)
- 5.- Centros para el control y la prevención de enfermedades. (2010). Atlas de parasitología CDC. Atlanta USA. (Disponible en: <http://dpd.cdc.gov/dpdx/Default.htm>. Consultado el: 25 de febrero de 2013)
- 6.- Dominguez, F. T. (2012). Análisis proteómico de la apoptosis en *Entamoeba Histolytica*. Tesis Maestría. IPN. Sec. Invest. Pos. 122 p.
- 7.-García, O. A., Saavedra E., Avendaño M.N., & Tamayo R.P. (2011). Amibiasis: Mecanismos moleculares de la patogenicidad de *Entamoeba histolytica*. *Rev. Fac. Med. UNAM*, 54(2), 10-20.
- 8.- García, V. J. (2006). Caracterización molecular de la poli (A) polimerasa (EhPAP) en *Entamoeba histolytica*. Tesis maestría. Inst. Pol. Nac, Esc. Hom.162 p.
- 9.- González, R. A. (1990). Revisión del estado actual del diagnóstico diferencial de las amibas en México. *Salud Pública Méx*, 32(5) ,589-596.
- 10.- Gómez, J. C., Cortes J. A., Cuervo S. I., & López M. C. (2007). Amebiasis intestinal. *Infection*, 11 (1), 36-45.
- 11.- Gómez, R. N., Molina M. A., García Z. G., Castillo A. J., Castillo R. J., García H. R., Fonseca C. I., & col. (2005). Identificación de la *Entamoeba histolytica/E. dispar* por la técnica de amiba en fresco vs su tinción con hematoxilina-eosina en la diarrea aguda. *Rev. Mex. Ped.*, 72(3), 109-112.
- 12.- Gutiérrez, C. M. (2007). Amebiasis en España: Diagnóstico molecular y estudio epidemiológico de una parasitosis emergente. Tesis Doctorado. Univ. Comp. Mad, Fac Farm. 116 p.

- 13.- Guzmán, C. E., López M. C., Reyes P., Gómez J. E., Corredor A., & Agudelo C. (2001). Diferenciación de *Entamoeba histolytica* y *Entamoeba dispar* en muestras de materia fecal por detección de adhesina de *Entamoeba histolytica* mediante ELISA. *Biomédica*, 21,167-171.
- 14.- Hernández, R.V. (2008). Distribución subcelular del receptor para fibronectina EhFNR en trofozoitos de *Entamoeba histolytica* recuperados de lesiones hepáticas. Tesis doctorado. I.P.N, Esc.Sup.Med.Pos.177 p.
- 15.- ISSSTE. (2011). Instructivo para la toma y envío de muestras de heces para diagnóstico de enfermedad diarreica aguda. Dep. de vig. y ctrl. Epid.
- 16.- López, M. C, Quiroz D.A., & Pinilla A. E. (2008). Diagnóstico de amebiasis intestinal y Extraintestinal, *Acta Médica Colombiana* ,33( 2) ,75-85.
- 17.- López, G.M., Cárdenas P.M., Osuna M.A. (2012). Manual de laboratorio de microbiología para el diagnostico de infecciones gastrointestinales.1ªed. Omnia Publisher SL.
- 18.- López, V. A. (2007). Proceso Inmunológico de la Amebiasis Intestinal. *Rev. Méd*, 18(28), 2074-4609.
- 19.- López, V. I. (2008). Comparación del método convencional (observación microscópica en fresco), usado en laboratorios de hospitales nacionales de Guatemala, con la tinción tricrómica de Wheatley en el diagnóstico de *Entamoeba histolytica/dispar*. Tesis Licenciatura. Univ. san. Car. Guat, Fac. Cien. Quím. Farm.41 p.
- 20.- López, Y. O., López C. M., Corredor V., Echeverri M. C., & Pinilla A. (2012) Diferenciación del complejo *Entamoeba histolytica/Entamoeba dispar* mediante Gal/GalNAc-lectina y PCR. *Rev. Med. Chile*, 140, 476-483.
- 21.- Madriz, G. X. (2005). Respuesta inmune en hámsteres inducida por los polipéptidos EHCP112 y EHADH112 de *Entamoeba histolytica*. Tesis Doctorado. I. P. N. Coor. Gen. Pos. Inv. 200 p.
- 22.- Martínez, L. M. (2004). Caracterización de la proteína EhADH112 en la virulencia in vivo e in vitro de *Entamoeba histolytica*. Tesis Doctorado. I.P.N, Esc. Nac. Med. Hom.158 p.
- 23.-Montaño, A. C., Pierre H. J., Iriarte M. (2006). Detección y Diferenciación de *Entamoeba histolytica/Entamoeba dispar* mediante Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) usando DNA extraídos de Quistes presentes en muestras de Heces Fecales Humanas. *Gaceta Medica Boliviana. Laboratorio de inmunoparasitología Chagas*.5-10.
- 24.- Mora, L., García A., & Donato M. (2005). Prevalencia del complejo *Entamoeba histolytica/Entamoeba dispar* en pacientes con síntomas gastrointestinales de diarrea procedentes de Cumaná, Estado Sucre. *Rev. Kas*, 33(1), 0075-5222.
- 25.- Ortiz, O. L., & Borjas D. R. (2007). Amibiasis: Aspectos relevantes de la respuesta inmunitaria y del diagnóstico de laboratorio. *Rev. Méd. Ext. Port. ULA*, 1(1), 45-54.



- 26.- Pérez, V. B. (1995). Amebiasis intestinal correlación clínica en signo de Alvarado Dumas y hallazgos en laboratorio clínico. Tesis Doctorado. Univ. San. Car. Guat, Fac. Cien. Med. 23 p.
- 27.- Pertuz, B. S & Flores R. L. (2004). Mini-revisión: papel de la respuesta celular en la resolución de la amebiasis. *Red. Rev. Cient. Ame. Lat. Car*, 29 (3), 91-98.
- 28.- Pinilla, A., López M., Castillo B., Morales O., Reyes P., Nicholls S., & col. (2004). Estandarización de la prueba de Elisa IgM en el diagnóstico de absceso hepático amebiano. *Infection, Asoc. Colom. De infec.* 8(3), 203-209.
- 29.- Pinilla, A. E., López M. C., & Viasus D. F. (2008). Historia del protozoo *Entamoeba histolytica*. *Rev. Méd. Chile*, 136(1),118-124.
- 30.- Reyes, L., & León, R. (2009). Diferenciación de *Entamoeba histolytica* / *Entamoeba dispar* y los nuevos hallazgos en la patogénesis de la amebiasis intestinal. *Rev. Costarric. Cienc. Méd.*, 23(3), 0253-2948.
- 31.- Ríos, Y. J., Mercadillo P. P., Yuil de Ríos E., & Ríos C. M. (2012). Amebiasis cutánea: Conceptos actuales. *Rev. Med. Hosp. Gen. Méx*, 75(2), 114-122.
- 32.- Rivero, Z., Bracho A., Carchi M., Díaz I., Acurero E., & Maldonado A. (2009). Detección y diferenciación de *Entamoeba histolytica* y *Entamoeba Dispar* mediante reacción en cadena de la polimerasa en individuos de una comunidad del estado de Zulia, Venezuela. *Cad. Salud publica, rio de Janeiro*, 25(1), 151-159.
- 33.- Romero, C. R., (2002). Microbiología y parasitología humana. Bases etiológicas de las enfermedades infecciosas y parasitarias. 1ªed. México. Editorial panamericana.
- 34.-Romero, C. R., (2007). Microbiología y parasitología humana. Bases etiológicas de las enfermedades infecciosas y parasitarias. 3ªed. México. Editorial panamericana.
- 35.- Rosales, B. D., & Ortiz L. O. (2008). Infecciones parasitarias: Mecanismos de evasión de la respuesta inmune. *Rev. Med. Ext. Port*, 2(2), 89-98.
- 36.- Salvatella R., & Eirale C. (1996). Examen coproparasitario. Metodología y empleo. Revisión técnico metodológica. *Rev. Med. Uruguay*, 12, 215-223.  
En: [www.rmu.org.uy/revista/1996v3/art6.pdf](http://www.rmu.org.uy/revista/1996v3/art6.pdf)
- 37.- Santos, N. F., & Soares M. N. (2008). Mecanismos patogénicos y diagnóstico de laboratorio de la infección causada por *Entamoeba histolytica*. *J. Bras. Patol. Lab. Méd*, 44(4), 1676-2444.
- 38.- Trejos, S. J., & Castaño J. C. (2009). Factores de virulencia del patógeno intestinal *Entamoeba histolytica*. *Rev. Infectio*, 13 (2),100-110.
- 39.- Vásquez, P. R. (2007). Evaluación de la Microbiota en niños con parasitosis intestinal. Tesis Licenciatura. Univ. San Fco Qto, Col.cienc.Sald.47 p.

- 40.- Viasus, P. D., & Pinilla A. E & López M. C. (2004). Inmunología del Absceso Hepático Amebiano. Rev. Salud publica, 6(1), 80-96 p.
- 41.- Vila, J., Álvarez, M. M., Buesa, J. & Castillo J. (2009). Diagnostico microbiologico de las infecciones gastrointestinales. Enfermedades Infecciosas Microbiologia clinica,27(7),406-411.
- 42.- Ximénez, C., Morán P., Ramos F., & Ramiro M. (2007). Amibiasis intestinal: estado actual del conocimiento. Med. Int. Mex, 23(5), 398-407.
- 43.- Zerpa L. R., Naquira V. C., Espinoza B. Y. (2009). Una nueva visión de *Entamoeba Histolytica*. Rev Méd Perú Exp. Salud publica, 24(2), 90-92.

# **ANEXOS**

## GLOSARIO

**Axénico:** Cultivo de un microorganismo que se desarrolla en un ambiente donde no hay ningún otro organismo vivo.

**Cebadores:** Es una cadena de ácido nucleico o de una molécula relacionada que sirve como punto de partida para la replicación del ADN. Es una secuencia corta de ácido nucleico que contiene un grupo 3'hidroxilo libre que forma pares de bases complementarios a una hebra molde y actúa como punto de inicio para la adición de nucleótidos con el fin de copiar la hebra molde.

**Citotóxica:** Citotóxico. Agente o proceso] dañino para las células, lo cual significa que suprime las funciones de la célula o le provoca la muerte. Se refiere especialmente a células cancerosas o infectadas.

**Infección:** Es la entrada de un microorganismo patogénico en un huésped susceptible, resultando en la presencia del microorganismo, indiferente de que cause o no efectos patológicos.

**Inmunoglobulinas:** Proteína plasmática sintetizada por los linfocitos B maduros y las células plasmáticas, en respuesta a la estimulación por un antígeno, y que actúa como anticuerpo, para la defensa específica del organismo. Las moléculas de inmunoglobulinas están constituidas por cadenas pesadas (H) y ligeras (L), unidas por puentes disulfuro. Se subdividen en cinco clases, denominadas IgG, IgM, IgA, IgD e IgE, y varias subclases, en función de la cadena pesada.

**Isoenzimas:** Enzimas que difieren en la secuencia de aminoácidos, pero que catalizan la misma reacción química.

**Patogenicidad:** cualidad o estado de ser patogénico, la habilidad potencial de producir enfermedad.

**Virulencia:** Es la habilidad de un microorganismo para invadir y dañar el cuerpo de su huésped.

**Xénico:** Crecimiento de una especie en asociación con un número desconocido de especies de otros organismos.

**Zimodema:** Conjunto de cepas de microorganismos, que comparten el mismo perfil isoenzimático.

| Estado              | Grupos de edad |               |              |              |              |              |              |              |              |              |              |              |  |  |  | Incidencia |
|---------------------|----------------|---------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--|--|--|------------|
|                     | <1             | 1-4           | 5-9          | 10-14        | 15-19        | 20-24        | 25-44        | 45-49        | 50-59        | 60-64        | 65 y +       |              |  |  |  |            |
| Aguascalientes      | 982.47         | 1074.04       | 644.88       | 482.06       | 398.40       | 531.63       | 483.99       | 555.45       | 447.92       | 576.72       | 439.88       | 553.09       |  |  |  |            |
| Baja California     | 119.85         | 218.83        | 138.59       | 93.58        | 62.59        | 83.46        | 77.18        | 81.49        | 93.14        | 131.11       | 93.97        | 97.43        |  |  |  |            |
| Baja California Sur | 110.65         | 132.47        | 722.81       | 423.63       | 387.70       | 487.91       | 416.75       | 365.05       | 361.10       | 380.00       | 423.53       | 513.13       |  |  |  |            |
| Campeche            | 3180.19        | 3013.10       | 1492.46      | 820.72       | 467.39       | 468.03       | 391.07       | 595.03       | 553.00       | 700.49       | 758.85       | 835.46       |  |  |  |            |
| Cochula             | 734.82         | 672.55        | 352.89       | 185.35       | 141.53       | 177.38       | 160.01       | 190.76       | 231.77       | 271.85       | 270.33       | 245.18       |  |  |  |            |
| Colima              | 1641.95        | 1191.54       | 714.78       | 519.39       | 439.02       | 440.85       | 297.36       | 404.11       | 363.19       | 537.79       | 368.97       | 485.92       |  |  |  |            |
| Chiapas             | 2131.09        | 2169.83       | 1181.45      | 718.06       | 486.93       | 533.89       | 536.01       | 868.54       | 774.19       | 916.56       | 849.60       | 842.56       |  |  |  |            |
| Chihuahua           | 539.75         | 544.52        | 257.56       | 154.11       | 111.31       | 122.48       | 134.70       | 173.53       | 191.21       | 241.58       | 230.59       | 195.82       |  |  |  |            |
| Distrito Federal    | 249.85         | 388.85        | 330.25       | 754.21       | 144.36       | 137.51       | 176.11       | 152.61       | 157.28       | 187.47       | 105.04       | 181.63       |  |  |  |            |
| Durango             | 997.26         | 812.23        | 486.47       | 238.83       | 173.44       | 170.27       | 190.68       | 256.74       | 280.94       | 308.21       | 325.42       | 304.11       |  |  |  |            |
| Guerrero            | 381.52         | 505.46        | 328.32       | 231.55       | 147.83       | 157.12       | 156.80       | 211.13       | 275.43       | 230.91       | 213.02       | 275.29       |  |  |  |            |
| Guerrero            | 3541.47        | 3630.46       | 1714.93      | 1233.98      | 909.26       | 843.77       | 769.55       | 1189.03      | 974.13       | 1234.81      | 1079.90      | 1788.18      |  |  |  |            |
| Hidalgo             | 1890.68        | 2449.99       | 1431.84      | 925.82       | 669.81       | 693.44       | 527.11       | 816.08       | 733.24       | 869.80       | 465.75       | 898.92       |  |  |  |            |
| Jalisco             | 577.82         | 666.01        | 312.67       | 196.01       | 174.71       | 184.91       | 169.04       | 190.27       | 233.04       | 258.78       | 241.08       | 238.99       |  |  |  |            |
| México              | 645.09         | 685.77        | 421.05       | 308.57       | 203.75       | 211.98       | 203.26       | 275.51       | 277.17       | 375.75       | 324.09       | 293.87       |  |  |  |            |
| Michoacán           | 515.81         | 538.13        | 305.55       | 177.86       | 109.26       | 131.82       | 146.78       | 189.23       | 214.32       | 284.66       | 249.92       | 214.21       |  |  |  |            |
| Morales             | 905.51         | 1124.16       | 944.47       | 670.72       | 438.51       | 485.75       | 415.05       | 468.94       | 540.08       | 574.86       | 611.40       | 584.87       |  |  |  |            |
| Nayarit             | 1409.74        | 1880.70       | 1112.00      | 731.04       | 623.36       | 706.14       | 591.87       | 862.42       | 763.02       | 860.82       | 761.78       | 821.58       |  |  |  |            |
| Nuevo León          | 378.78         | 471.54        | 246.66       | 136.60       | 77.93        | 109.55       | 89.39        | 96.39        | 123.89       | 150.49       | 158.23       | 147.98       |  |  |  |            |
| Oaxaca              | 2253.07        | 2846.69       | 1620.04      | 1064.70      | 741.89       | 701.32       | 712.32       | 960.61       | 849.45       | 1020.65      | 1002.84      | 1079.40      |  |  |  |            |
| Puebla              | 1127.26        | 1745.73       | 810.27       | 534.42       | 350.00       | 285.40       | 289.34       | 438.50       | 432.74       | 531.94       | 506.98       | 503.28       |  |  |  |            |
| Quintana Roo        | 635.31         | 1007.70       | 479.44       | 247.71       | 278.76       | 254.81       | 274.64       | 230.93       | 343.23       | 386.62       | 315.45       | 351.46       |  |  |  |            |
| Quintana Roo        | 2004.94        | 1639.65       | 819.58       | 437.00       | 290.05       | 325.80       | 308.71       | 359.08       | 385.86       | 557.61       | 618.58       | 524.15       |  |  |  |            |
| San Luis Potosí     | 597.80         | 994.00        | 594.37       | 378.87       | 287.71       | 268.13       | 249.07       | 355.18       | 363.12       | 496.61       | 399.30       | 395.71       |  |  |  |            |
| Sinaloa             | 1512.15        | 1610.27       | 861.67       | 527.19       | 374.87       | 373.61       | 397.25       | 493.42       | 545.93       | 663.77       | 669.52       | 591.16       |  |  |  |            |
| Sonora              | 507.93         | 464.26        | 242.43       | 131.67       | 131.67       | 150.89       | 119.93       | 125.16       | 141.94       | 202.64       | 226.55       | 182.34       |  |  |  |            |
| Tabasco             | 2490.89        | 2577.12       | 1567.83      | 1067.24      | 820.10       | 730.48       | 566.01       | 891.62       | 715.24       | 1033.78      | 824.09       | 985.14       |  |  |  |            |
| Tamaulipas          | 508.83         | 623.78        | 439.18       | 250.66       | 192.01       | 182.75       | 126.26       | 175.89       | 169.45       | 249.07       | 161.80       | 229.89       |  |  |  |            |
| Tlaxcala            | 665.37         | 781.93        | 467.88       | 331.41       | 211.99       | 240.35       | 289.90       | 320.15       | 441.84       | 617.53       | 496.69       | 374.03       |  |  |  |            |
| Veracruz            | 1205.96        | 1418.96       | 810.89       | 528.84       | 352.18       | 362.04       | 292.66       | 394.31       | 413.23       | 527.90       | 460.95       | 505.18       |  |  |  |            |
| Veracruz            | 2728.29        | 2631.07       | 1188.48      | 716.23       | 448.42       | 438.62       | 406.62       | 468.75       | 599.54       | 836.38       | 889.43       | 763.63       |  |  |  |            |
| Zacatecas           | 1699.83        | 1191.65       | 658.51       | 395.04       | 280.91       | 297.00       | 292.74       | 388.36       | 388.36       | 415.86       | 365.74       | 451.55       |  |  |  |            |
| <b>TOTAL GLOBAL</b> | <b>304283</b>  | <b>314624</b> | <b>65163</b> | <b>43192</b> | <b>29768</b> | <b>29975</b> | <b>26675</b> | <b>35062</b> | <b>35107</b> | <b>45280</b> | <b>41580</b> | <b>42692</b> |  |  |  |            |

**Anexo 1. Incidencia de Amibiasis Intestinal por grupo de edad de cada uno de los estados de la Republica Mexicana en el 2010.**

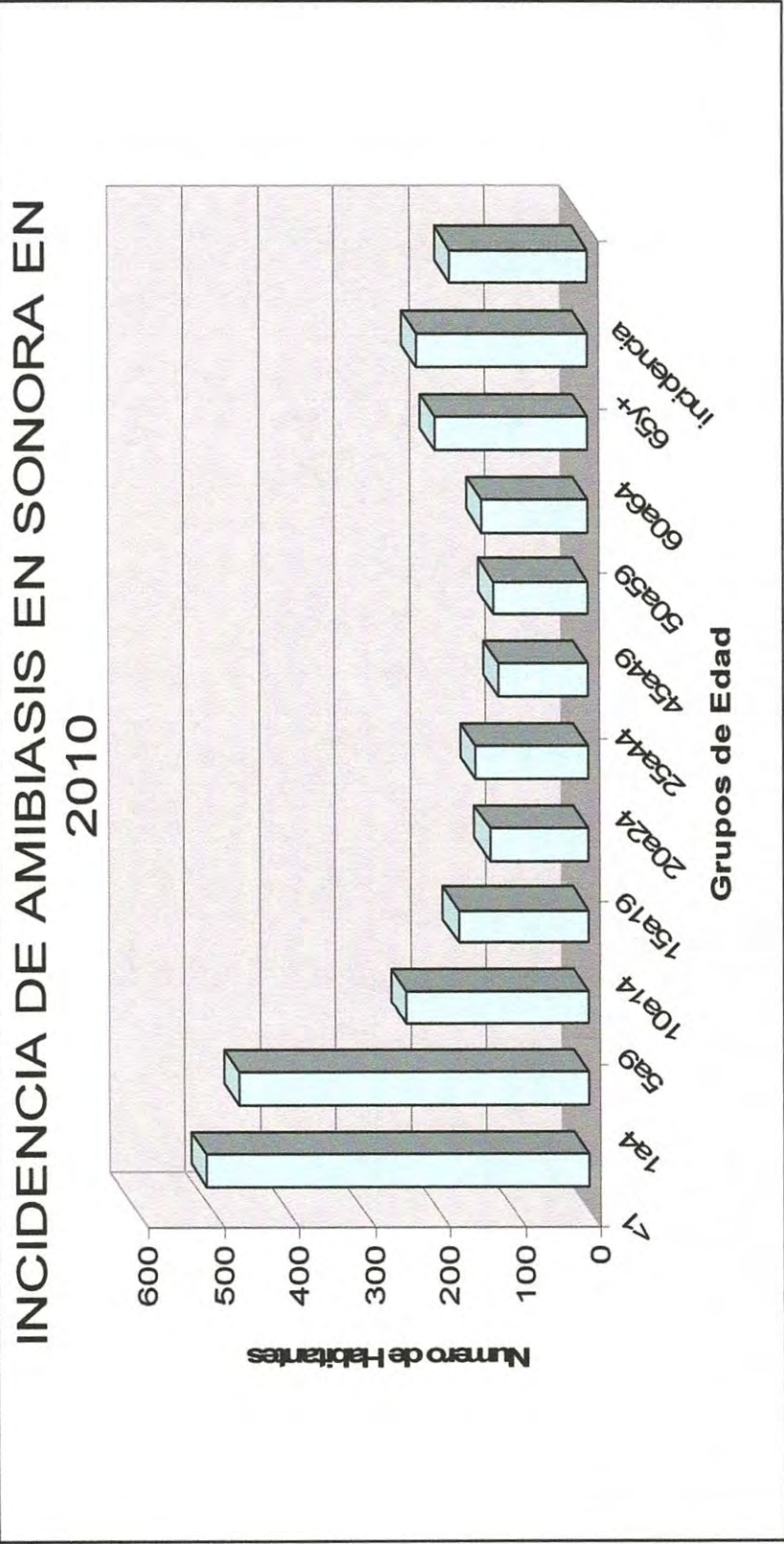
INCIDENCIA POR 100 000 HABITANTES.

A/N= Ausencia de notificación

FUENTE: SINAIVE/DGE/Sistema de notificación semanal de casos nuevos/ Acceso al cierre de 2010

N.A.= No aplica para este grupo de edad

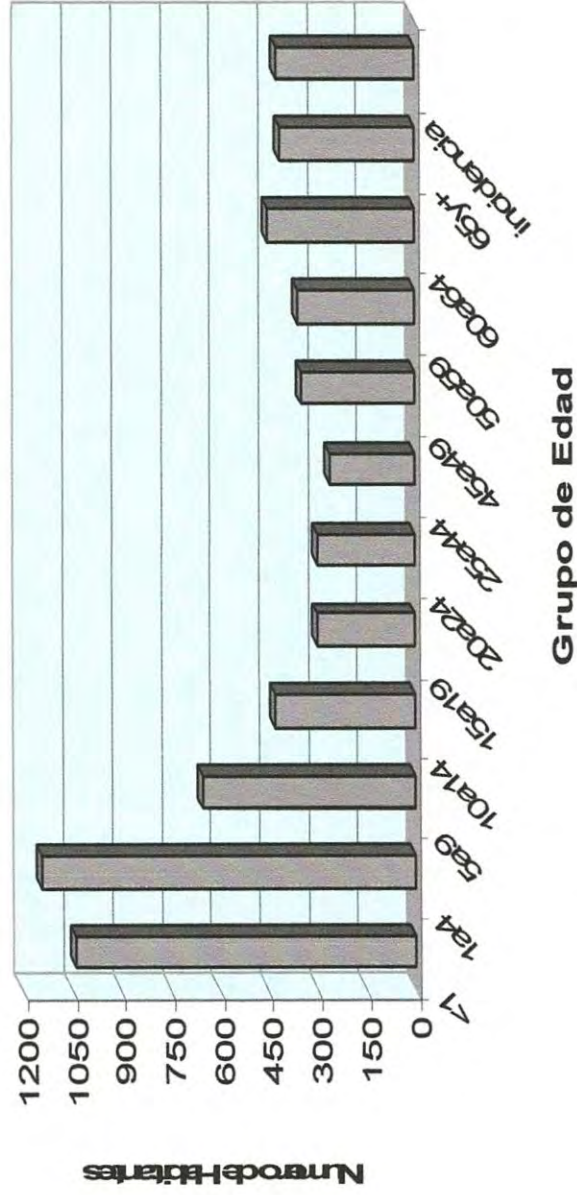
FUENTE: SINAIVE/DGE/Sistema de notificación semanal de casos nuevos/ Acceso al cierre de 2010



**Anexo 2. Incidencia de Amebiasis intestinal en Sonora por grupo de edad en el 2010. Incidencia por 100 000 habitantes.**

FUENTE: SINAVE/DGE/Salud/Sistema de notificación semanal de casos nuevos.

**Casos probables de Amebiasis Intestinal registrados en el Sistema de  
 Notificación Semanal  
 Estados Unidos Mexicanos 2010  
 Población General**  
**INCIDENCIA POR 100 000 Habitantes**



**Anexo 3. Incidencia de Amebiasis intestinal en México por grupo de edad en el 2010.**  
 Incidencia por 100 000 habitantes.  
 FUENTE: SINAVE/DGE/Salud/Sistema de notificación semanal de casos nuevos.



| Estado               | Institución    |                |               |               |              |              |              |              |               |              | Total |
|----------------------|----------------|----------------|---------------|---------------|--------------|--------------|--------------|--------------|---------------|--------------|-------|
|                      | Salud          | IMSS-Ord       | ISSSTE        | IMSS-Op       | DIF          | PEMEX        | SEDENA       | SEMAR        | Otras         | Total        |       |
| Aguascalientes       | 1 417          | 2 147          | 527           | S/R           | 0            | S/R          | 1            | S/R          | 2 320         | 641          |       |
| Baja California      | 937            | 1 697          | 205           | 39            | S/R          | S/R          | 11           | 0            | 280           | 3 16         |       |
| Baja California Sur  | 1 328          | 1 212          | 360           | S/R           | S/R          | S/R          | 64           | 8            | 5/R           | 297          |       |
| Campeche             | 3 657          | 1 136          | 407           | 833           | 15           | 321          | 12           | 243          | 13            | 672          |       |
| Coahuila             | 1 312          | 3 695          | 909           | 127           | 8            | S/R          | 8            | S/R          | 451           | 651          |       |
| Colima               | 1 103          | 615            | 321           | S/R           | 270          | S/R          | 249          | 108          | 291           | 2 95         |       |
| Chiapas              | 11 650         | 4 315          | 3 104         | 18 031        | S/R          | 23           | 32           | 14           | 1 106         | 38 34        |       |
| Chihuahua            | 863            | 2 582          | 810           | 1 992         | S/R          | S/R          | 32           | S/R          | 422           | 6 70         |       |
| Distrito Federal     | 5 055          | 6 193          | 3 152         | 0             | 394          | 250          | 196          | 140          | 679           | 16 04        |       |
| Durango              | 1 817          | 1 855          | 774           | 21            | 6            | S/R          | 27           | S/R          | 231           | 4 73         |       |
| Guerrero             | 5 347          | 3 574          | 1 155         | 7             | S/R          | 95           | 2            | S/R          | 1 236         | 11 41        |       |
| Guerrero             | 28 961         | 4 728          | 6 562         | 15            | S/R          | S/R          | 62           | 0            | 49            | 40 37        |       |
| Hidalgo              | 17 299         | 3 009          | 3 419         | 2 510         | 9            | 440          | 0            | S/R          | 132           | 21 84        |       |
| Jalisco              | 5 324          | 8 047          | 477           | 8             | 469          | 25           | 214          | 0            | 2 334         | 16 81        |       |
| México               | 15 552         | 10 854         | 468           | 26            | 3 139        | S/R          | 239          | S/R          | 4 895         | 44 11        |       |
| Michoacán            | 2 182          | 3 527          | 1 284         | 1 464         | S/R          | S/R          | 0            | 3            | S/R           | 8 46         |       |
| Morelos              | 3 365          | 4 532          | 1 500         | 116           | S/R          | S/R          | 356          | S/R          | S/R           | 9 86         |       |
| Nayarit              | 2 042          | 1 713          | 1 003         | 510           | 406          | S/R          | 242          | 61           | 208           | 7 98         |       |
| Nuevo León           | 1 609          | 4 035          | 446           | 2             | S/R          | 28           | 0            | S/R          | 542           | 6 66         |       |
| Oaxaca               | 18 423         | 5 110          | 2 627         | 11 426        | 120          | 226          | 186          | 36           | 150           | 38 31        |       |
| Puebla               | 7 610          | 7 431          | 1 605         | 9 574         | 65           | 38           | 3            | S/R          | 2 389         | 28 71        |       |
| Querétaro            | 2 151          | 3 371          | 366           | 0             | 18           | S/R          | 35           | S/R          | 213           | 6 15         |       |
| Quintana Roo         | 2 952          | 3 172          | 996           | S/R           | S/R          | S/R          | 3            | 65           | S/R           | 7 13         |       |
| San Luis Potosí      | 3 164          | 2 347          | 1 586         | 1 971         | S/R          | 31           | 8            | S/R          | 793           | 9 90         |       |
| Simaboa              | 5 639          | 5 856          | 2 042         | 518           | 387          | 2            | 37           | 110          | 1 110         | 15 71        |       |
| Sonora               | 1 213          | 2 762          | 94            | 8             | S/R          | S/R          | 68           | 27           | 446           | 4 61         |       |
| Tabasco              | 9 000          | 3 457          | 813           | S/R           | S/R          | 1 723        | 119          | 803          | 3 485         | 20 31        |       |
| Tamaulipas           | 3 672          | 1 810          | 661           | 220           | 297          | 65           | 312          | 6            | 383           | 7 42         |       |
| Tlaxcala             | 1 168          | 2 688          | 376           | 16            | 0            | S/R          | 0            | S/R          | 52            | 4 30         |       |
| Veracruz             | 9 248          | 11 232         | 1 670         | 12 371        | 154          | 1 455        | 130          | 592          | 0             | 36 81        |       |
| Yucatán              | 6 360          | 4 565          | 498           | 2 925         | 173          | S/R          | 0            | 7            | 331           | 14 81        |       |
| Zacatecas            | 1 785          | 1 034          | 1 429         | 670           | 21           | S/R          | 0            | S/R          | 382           | 6 22         |       |
| <b>TOTAL FEDERAL</b> | <b>180 005</b> | <b>134 151</b> | <b>42 726</b> | <b>65 400</b> | <b>5 951</b> | <b>4 731</b> | <b>2 648</b> | <b>2 252</b> | <b>24 923</b> | <b>462 7</b> |       |

**Anexo 4. Casos probables de Amibiasis intestinal en los estados de la República Mexicana, fuente de notificación en el 2010.**

**Población General.**

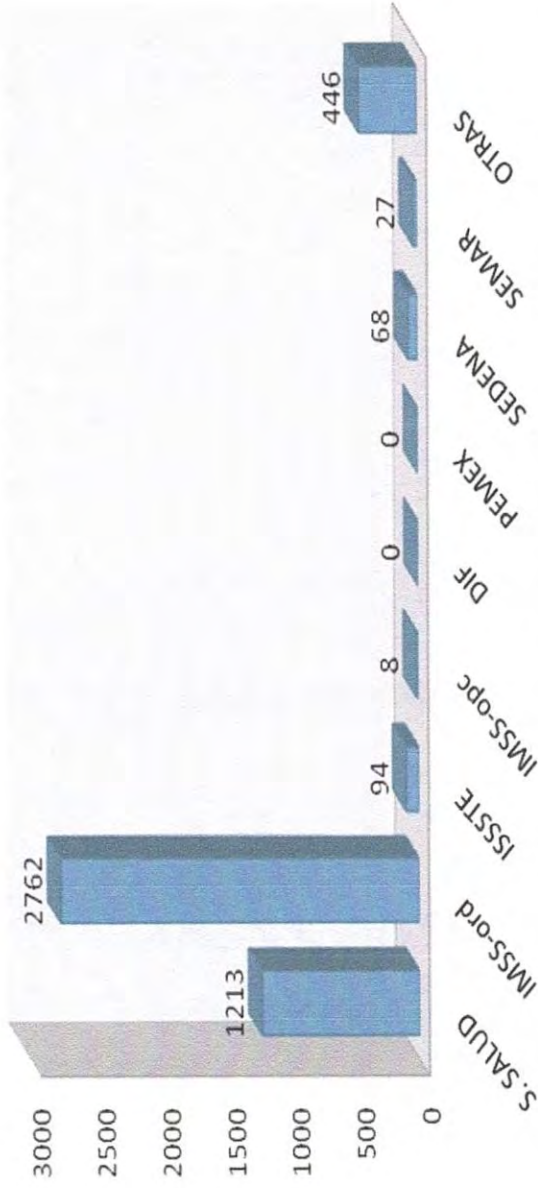
A/N= Ausencia de notificación

S/R= Sin representación de la institución de la entidad federativa

FUENTE: SINA VE/DGE/Salud/Sistema de notificación semanal de casos nuevos/ Acceso al cierre de 2010

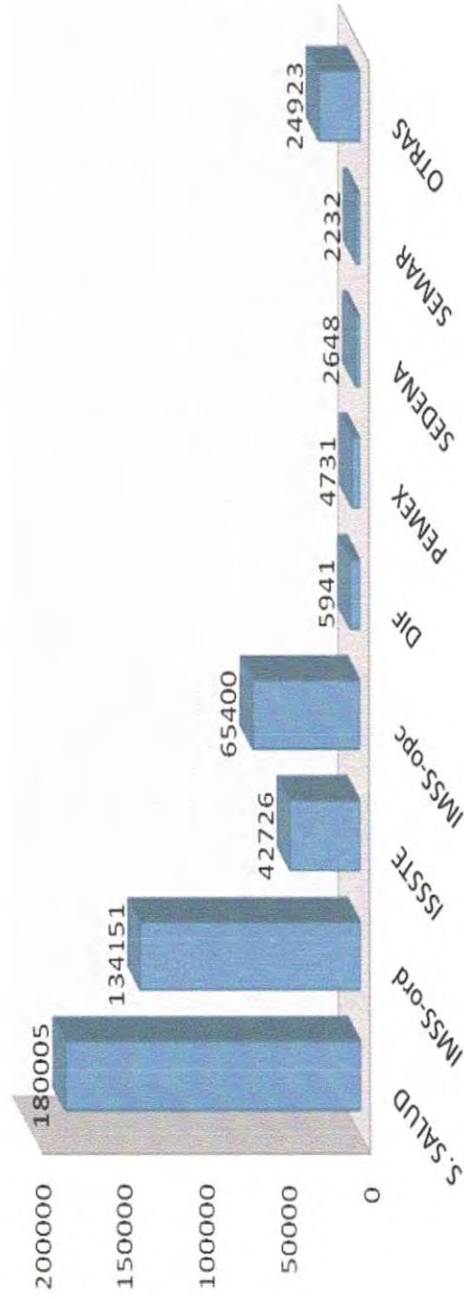
CASOS PROBABLES DE AMIBIASIS INTESTINAL EN SONORA  
 POR FUENTE DE NOTIFICACION EN EL 2010

TOTAL DE CASOS: 4618



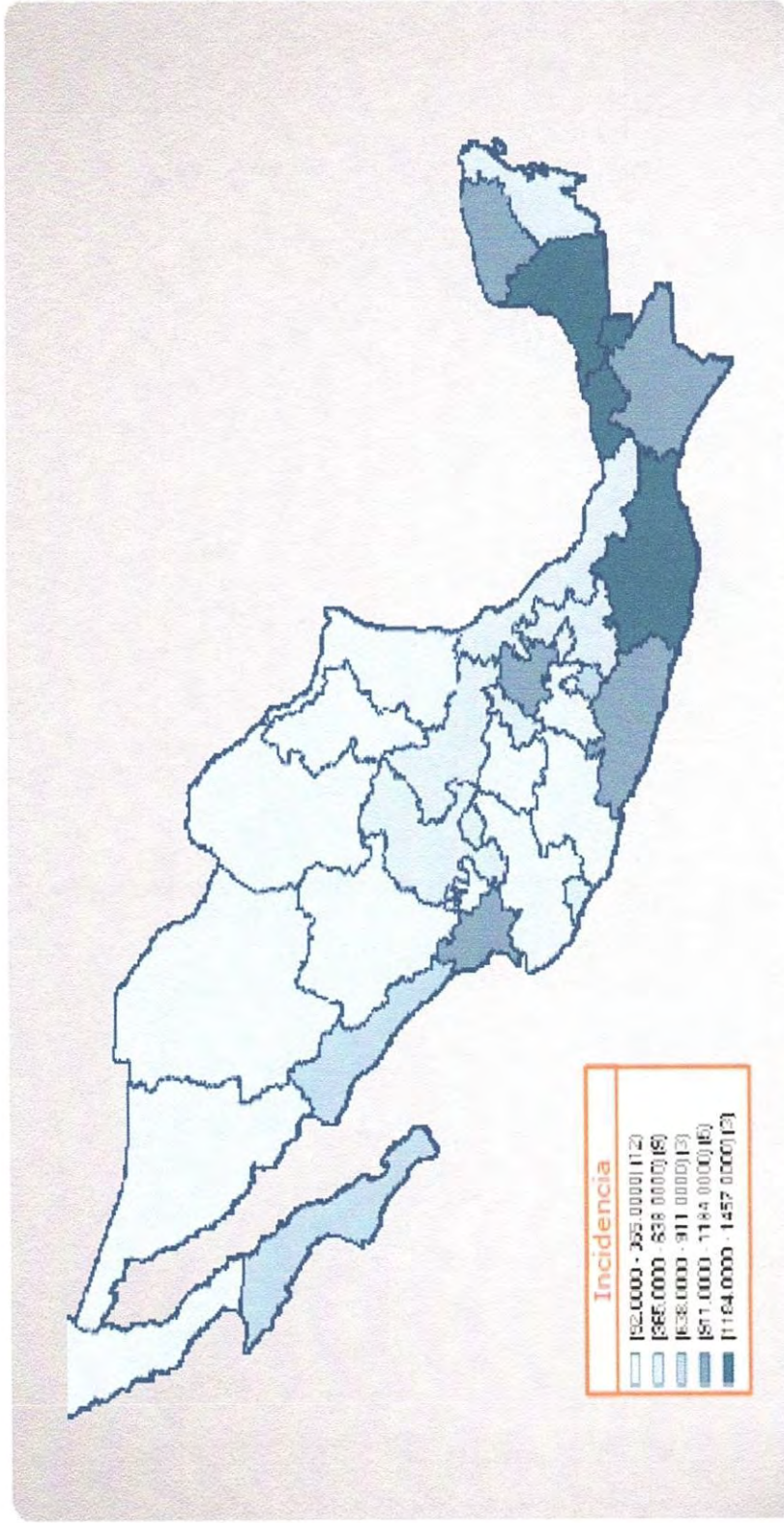
Anexo 5. Gráfica que muestra los casos probables de Amibiasis Intestinal en Sonora, fuente de notificación en el 2010.  
 FUENTE: SINAVE/DGE/Salud

CASOS PROBABLES DE AMIBIASIS INTESTINAL EN MEXICO POR FUENTE DE NOTIFICACION EN EL AÑO 2010.



TOTAL DE CASOS: 462 767

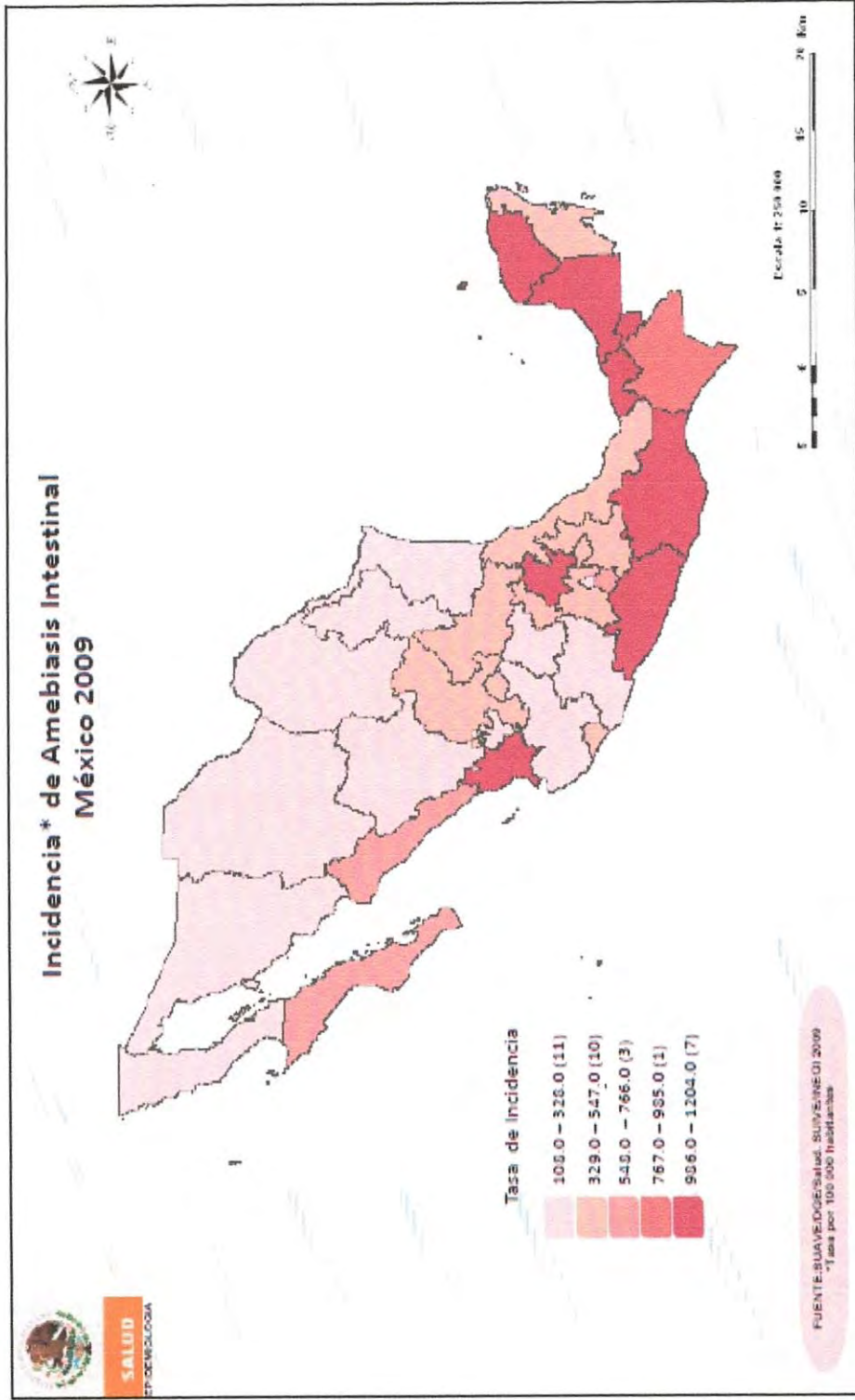
Anexo 6. Gráfica que muestra los casos probales de Amibiasis Intestinal en México, fuente de notificación en el 2010.  
FUENTE: SINA VE/DGE/Salud



Anexo 7. Mapa de la República Mexicana que muestra la incidencia de Amibiasis en el 2008.

\*Tasa por 100 000 habitantes

FUENTE: SUAVE/DGE/Salud. SUIVE/INEGI 2008



**Anexo 8. Mapa de la República Mexicana que muestra la incidencia de Amebiasis en el 2009.**

\*Tasa por 100 000 habitantes

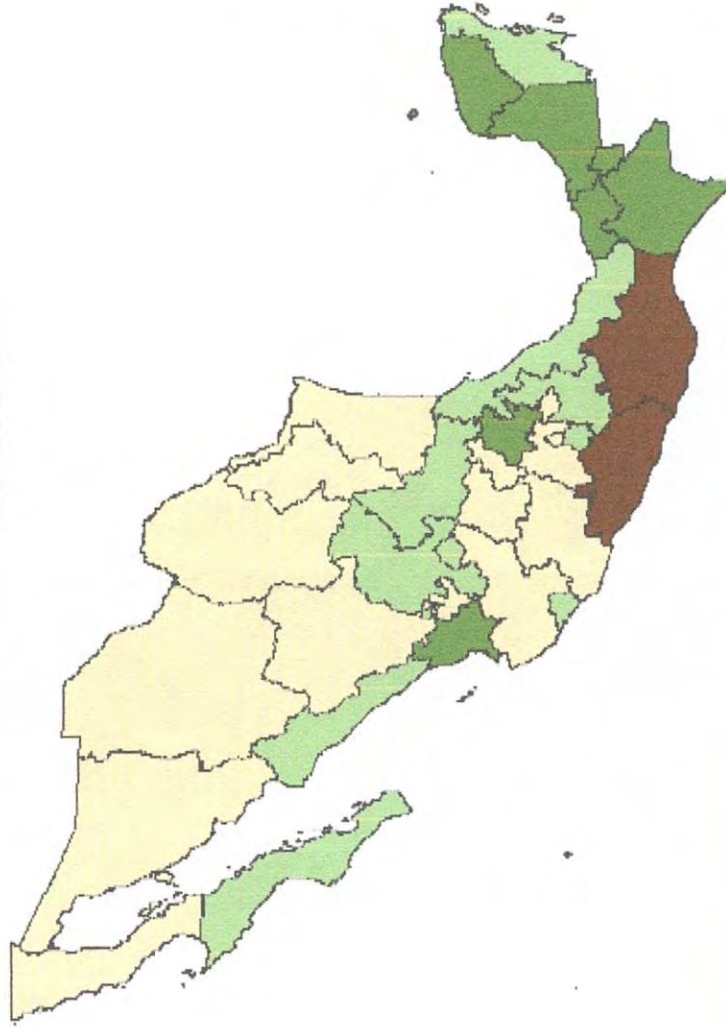
FUENTE: SUAVE/DGE/Salud. SUIVE/INEGI 2009



**SALUD**

EPIDEMIOLOGÍA

## Incidencia\* de Amebiasis Intestinal México 2010



FUENTE: SUAVE/DGGE/SALUD. SUIVE/INEGI 2010  
\* Tasa por 100,000 habitantes

**Anexo 9. Mapa de la República Mexicana que muestra la incidencia de Amebiasis en el 2010.**

\*Tasa por 100 000 habitantes

FUENTE: SUAVE/DGE/Salud. SUIVE/INEGI 2010