

TÉCNICAS UTILIZADAS PARA LA DETECCIÓN Y EL DIAGNÓSTICO DE AMEBIASIS INTESTINAL CAUSADA POR *ENTAMOEBIA HISTOLYTICA*

TECHNIQUES USED FOR DETECTION AND DIAGNOSIS OF INTESTINAL AMEBIASIS CAUSED BY *ENTAMOEBIA HISTOLYTICA*

*José Humberto Gutiérrez-Munguía , *Jesús Alejandro Macías-Rodríguez , **Brandhy María Valenzuela-Medina , **Carlos Boroel-Cervantes.

*Estudiante de Licenciatura en Medicina de la Universidad de Sonora, Departamento de Medicina.

**Estudiante de Licenciatura en Medicina de la Universidad de Sonora, Departamento de Medicina. Autor de correspondencia: brandhy4@gmail.com.

***Médico especialista medicina interna e infectología, Instituto Mexicano del Seguro Social Hospital General de Zona No. 14, Servicio de Infectología. República de Cuba s/n, Colonia Mirasoles, Hermosillo, Sonora. C.P. 83120.

RESUMEN

La amebiasis intestinal causada por *Entamoeba histolytica* es una parasitosis caracterizada por la presencia de diarrea, dolor abdominal y vómitos; siendo la segunda causa de muerte en el mundo. Dentro de México los estados con mayor incidencia destacan Chiapas, Oaxaca, Puebla, Hidalgo y Sinaloa. Debido a los cambios en el flujo migratorio del país, en Sonora existe la posibilidad de un aumento de casos de dicha enfermedad; ya que éste se ha convertido para los migrantes en un punto de arribo para continuar su camino hacia EUA. Realizando una revisión en diversas plataformas de publicaciones científicas investigamos las técnicas de diagnóstico. Las más comunes son la microscopía, detección de antígenos, serología, técnicas moleculares y colonoscopia, siendo lo más efectivo una combinación de la microscopía con la detección de antígenos o serología positiva, sin embargo, la PCR es, hoy en día, la mejor técnica para detectar protozoarios intestinales. Sin embargo, el análisis de heces por microscopía sigue siendo el gold standard para la detección y el diagnóstico. En Sonora no se poseen las pruebas estandarizadas para la búsqueda de este organismo.

Palabras Clave:

Parasitosis, amebiasis, *Entamoeba histolytica*, diagnóstico amebiasis.

ABSTRACT

Intestinal amoebiasis caused by *Entamoeba histolytica* is a parasitic infection characterized by diarrhea, abdominal pain and vomit. It's the second cause of death worldwide. In Mexico, states like Chiapas, Oaxaca, Puebla, Hidalgo and Sinaloa, have the highest incidence rates in parasitosis. An increase in cases can be expected in Sonora, due to migratory flux changes in the country as it has become an arrival point for migrants on their way to USA. We reviewed various diagnostic tools as we searched in scientific databases. Microscopy, antigen detection, serology, molecular techniques and colonoscopy are the most common. Nevertheless, PCR is until today the best identifying intestinal protozoan. However, stool microscopy remains as a gold standard for detection and diagnosis. Standard screening or diagnostic tests are not available in Sonora.

Keywords:

Parasitosis, amebiasis, *Entamoeba histolytica*, diagnosis amebiasis



INTRODUCCIÓN

La gastroenteritis es un síndrome caracterizado por la presencia de dolor abdominal, vómitos y/o diarrea; ocasionalmente puede presentarse fiebre y cólicos como parte del cuadro clínico. Es común que inicie abruptamente en individuos sanos^{1,2}. Puede ser causada por virus, bacterias, parásitos o etiologías no infecciosas.

Dentro de estas infecciones, la parasitosis intestinal constituye un problema de Salud Pública a nivel mundial, debido a que afecta a 3.5 billones de personas; en especial a niños^{3,4}. En América se estima que cerca de 46 millones de niños, entre 1 y 14 años, están en riesgo de infectarse; mientras que en México se registraron 514, 442 casos en el año 2017^{4,5,6,7}.

Existen diversos factores que predisponen el desarrollo de una parasitosis intestinal; entre los principales se encuentran: consumo de agua y alimentos contaminados, hacinamiento y malos hábitos de higiene, así como bajo nivel socioeconómico^{3,4,6,8,9}.

La amebiasis intestinal originada por *Entamoeba histolytica* es la segunda causa de muerte con alrededor de 55,500 defunciones al año en el mundo, después de criptosporidiosis. En México se reporta que 8% de la población es seropositiva para este parásito¹⁰ y una

incidencia de 199,482 casos de amebiasis en 2018. Dentro de los Estados con mayor incidencia destacan Chiapas, Oaxaca, Puebla, Hidalgo y Sinaloa⁷.

A pesar de la baja incidencia en amebiasis intestinal que presenta Sonora⁷, con respecto a los Estados que conforman la zona sur de México, existe la posibilidad de que los casos aumenten debido a los cambios en el flujo migratorio que se han dado en los últimos años. Dichos cambios se han realizado a causa de las estrategias implementadas por EUA para evitar el paso de los migrantes, provenientes mayormente del sur de nuestro país, por la frontera de Tijuana hacia California; la cual anteriormente era la ruta tradicional. Esto ha provocado la utilización de una nueva ruta de entrada, conformada por Altar-Arizona. Además, Hermosillo se ha convertido en el punto de arribo terrestre y aéreo para continuar su camino hacia EUA¹¹. Por tanto, es importante que los médicos de nuestra región conozcan más a fondo dicha enfermedad; esto con el fin de poder realizar intervenciones eficaces y evitar así complicaciones.

En consecuencia, en esta revisión se hablará sobre las diferentes técnicas de detección y diagnóstico con las que se cuentan actualmente; así como las ventajas y desventajas que éstas presentan. Además, se incluye un panorama general sobre técnicas que aún están en vías de investigación.

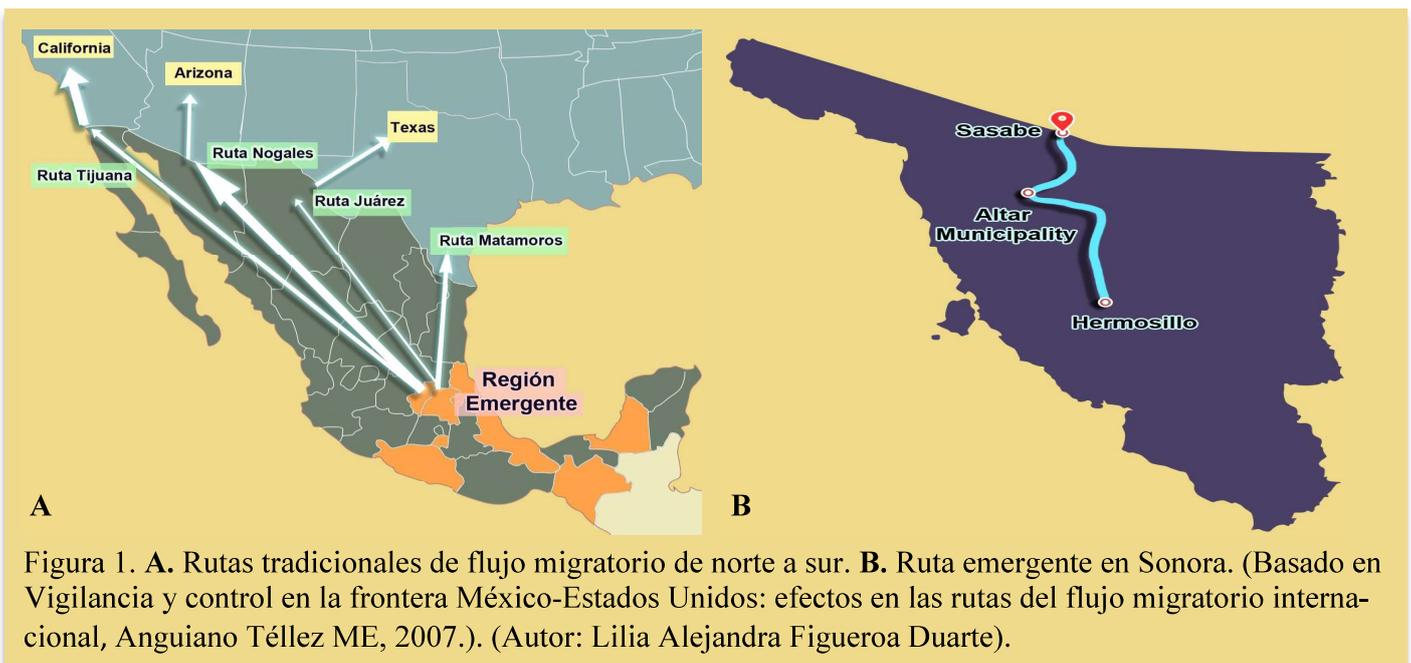


Figura 1. A. Rutas tradicionales de flujo migratorio de norte a sur. B. Ruta emergente en Sonora. (Basado en Vigilancia y control en la frontera México-Estados Unidos: efectos en las rutas del flujo migratorio internacional, Anguiano Téllez ME, 2007.). (Autor: Lilia Alejandra Figueroa Duarte).



MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizó una revisión en plataformas de publicaciones científicas (PubMed, ClinicalKey, ScienceDirect, UpToDate).

Los términos utilizados en la búsqueda fueron: parasitosis intestinal, gastroenteritis, amebiasis, amoebiasis diagnosis, update on amoebiasis, *Entamoeba histolytica*, *Entamoeba histolytica* diagnóstico, diferenciación + *Entamoeba histolytica* + *Entamoeba dispar*.

Los criterios de inclusión para la selección de artículos se basaron en: antigüedad no mayor a 5 años (en su mayoría), revisión de diagnósticos para *E. histolytica* y actualización sobre amebiasis.

Mediante el Sistema de Solicitudes de Información Pública del Estado de Sonora, se solicitaron las pruebas para determinaciones de epidemiología que realiza el Laboratorio Estatal de Salud Pública. Específicamente, fue Servicios de Salud Sonora quien proporcionó los datos necesarios.

DESARROLLO

Diversas son las técnicas que pueden ser empleadas para la detección y el diagnóstico de la amebiasis intestinal. En la actualidad, los métodos existentes son: microscopía, detección de antígenos, pruebas serológicas, colonoscopia con biopsia y técnicas moleculares. La sinergia entre la visualización del parásito en heces y la detección de antígenos o las pruebas serológicas positivas son, por ahora, lo más efectivo para lograr un diagnóstico certero sobre la presencia de *Entamoeba histolytica*¹².

MICROSCOPIA

Esta técnica tiende a ser el primer paso para evaluar la existencia de *Entamoeba histolytica*, en la materia fecal.

La excreción de este organismo puede ser intermitente, por ello, es necesario realizar una recolección de 3 muestras de heces, que daten de diferentes fechas dentro de un período de 10 días, esto con el fin de disminuir las probabilidades de un falso negativo. La posibilidad de observar trofozoítos es mayor en he-

ces sueltas que contienen moco, pus y trazas de sangre oculta. Mientras que los quistes se pueden observar tanto en heces formadas, como en heces sueltas. Las muestras deben ser examinadas en un lapso de 1 hora, después de su recolección.

Por tanto, si el examen no puede ser realizado inmediatamente, dicha muestra debe conservarse en alcohol polivinílico (PVA), fijador de Schaudinn o acetato de sodio-ácido acético-formalina (SAF). Para la realización del frotis se pueden utilizar tinciones como azul de metileno, Giemsa o Wright; sin embargo, las tinciones predilectas para uso rutinario son hematoxilina férrica de Heidenhain y la tricrómica de Wheatley.

Un resultado positivo en el análisis fecal proporciona evidencia de especies de *Entamoeba*, pero no puede distinguir *Entamoeba histolytica* de *Entamoeba dispar* o *Entamoeba moshkovskii*; a menos que se lleguen a observar inclusiones de glóbulos rojos, lo cual sugeriría *Entamoeba histolytica*. Es importante recordar que la falta de detección de los organismos en la muestra fecal no excluye el diagnóstico^{13,14}.

DETECCIÓN DE ANTÍGENOS

La prueba de antígeno de heces TechLab *E. histolytica* es una prueba ELISA específica¹², y se obtienen los resultados de una manera más eficaz. Cuenta con un alto potencial diagnóstico^{12,13}; es capaz de proporcionar resultados confirmatorios ante la presencia de alguna especie de *Entamoeba*, aun cuando exista una microscopía negativa^{12,14,15}.

PRUEBAS SEROLÓGICAS

La hemaglutinación indirecta es el ensayo serológico más sensible que existe actualmente.

A diferencia de una infección generada por *E. dispar*, la infección por *E. histolytica* da como resultado el desarrollo de anticuerpos; los cuales pueden ser detectados dentro de los primeros 5 a 7 días de la infección. Además, pueden durar años en circulación sanguínea^{10,12}.

Dentro de sus ventajas se encuentran que son fáciles de realizar; proporcionan la exposición pasada o pre-



-sente ante *E. histolytica*; son útiles en pacientes con sospecha de enfermedad intestinal o extraintestinal invasiva; y ayudan al diagnóstico de absceso amebiano en pacientes sintomáticos con resultados de sugestivos de imagen. En cuanto a sus desventajas, una prueba positiva no se puede distinguir entre una infección aguda y una previa, ya que, aproximadamente, del 10% al 35% de individuos no infectados que viven en áreas endémicas tienen anticuerpos anti-amebícos, debido a una infección previa con *E. histolytica*; también pueden arrojar falsos negativos en infecciones tempranas^{10,12,15}.

COLONOSCOPIA CON BIOPSIA

Está indicada en pacientes con sospecha clínica de amebiasis intestinal, que no ha podido ser identificada con alguno de los métodos no invasivos.

La tinción de ácido peryódico de Schiff es útil para identificar a *E. histolytica*. E histopatológicamente, las úlceras en forma de matraz son características en la amebiasis.

El procedimiento está contraindicado en pacientes que presenten peritonitis; deshidratación severa; choque; coagulopatía descontrolada; o alguna otra patología que pudiera condicionar la estabilidad hemodinámica del paciente¹⁴.

TÉCNICAS MOLECULARES

Son diversas las pruebas utilizadas en el diagnóstico molecular. Para la detección y diferenciación de especies *Entamoeba*, hay variantes de amplificación de ADN en heces, tejido y material aspirado de hígado. Se incluye el PCR convencional, PCR anidado, PCR en tiempo real, PCR multiplex y la amplificación isotérmica mediada por bucle¹³.

Hoy en día la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) es la mejor técnica para detectar protozoarios intestinales. El estudio, convencionalmente hecho en muestra de heces, cuenta con una alta sensibilidad y está aprobado por la Organización Mundial de la Salud. Sin embargo, se limita su uso práctico en escenarios con recursos limitados, debido al costo elevado y requerimiento de personal técnico especializado¹⁶.

Esta técnica supone varias ventajas sobre la técnica de microscopía convencional como sensibilidad superior al identificar parásitos; diferenciación entre subtipos clínicamente relevantes; requerimiento de una sola muestra de heces; detección de protozoarios en reservorios distintos a heces (sangre, orina, saliva y líquido cefalorraquídeo); así como un mayor número de posibilidades sobre la automatización del proceso. A pesar de lo mencionado anteriormente, las desventajas han frenado el uso cotidiano de la técnica. Esto debido a su baja disponibilidad en países con recursos limitados y la poca o nula disponibilidad de ensayos para protozoarios y helmintos poco comunes¹⁷.

Existen variaciones a la prueba convencional de PCR. Algunas son: PCR anidada, PCR en tiempo real y multiplex PCR. En esencia, el fundamento de las pruebas coincide en la amplificación de secuencias genéticas y su análisis para la identificación del microorganismo deseado, en este caso el de *Entamoeba histolytica*. Cada una de ellas tiene ventajas sobre la técnica convencional. Por las limitaciones económicas en la región, es innecesario abordar profundamente cada una de ellas.

Solo es preciso mencionar que la mayoría ofrece una alta especificidad y sensibilidad, casi del 100%. Este es un valor dependiente de las diferentes secuencias analizadas en el laboratorio y las nuevas investigaciones van en dirección a encontrar la que mejor identifique al parásito en todas sus variantes. Otra ventaja importante es la rapidez con la que ofrecen un resultado. No obstante, el equipo y personal sofisticado necesario para realizar estas pruebas se convierten en un obstáculo para uso rutinario¹³.

DNA LIBRE DE CÉLULAS (CELL-FREE DNA) COMO HERRAMIENTA DIAGNOSTICA EN INFECCIONES PARASITARIAS

Una técnica emergente en el diagnóstico molecular es el uso de DNA libre de células (*cell-free DNA*). Estos son fragmentos extracelulares de DNA ubicados en distintos sitios, los cuales son posibles de identificar en diferentes fluidos corporales y tejidos; principalmente en circulación sanguínea.



Técnicas utilizadas para la detección y el diagnóstico de amebiasis intestinal causada por *Entamoeba histolytica*

Lo interesante de este novedoso método no es análisis molecular que se utiliza, pues se apoya en PCR y sus variantes para encontrar el parásito, sino que es capaz de identificar fragmentos positivos para *E. histolytica* en orina y saliva. La ventaja que ofrece es la facilidad para recolectar la muestra y realizar el análisis. Además, busca establecer valores estándar, que puedan ser utilizados como referencia para un diagnóstico específico¹⁸.

PANORAMA ACTUAL EN SONORA SOBRE MATERIA DE DETECCIÓN Y DIAGNÓSTICO

En Sonora, el Laboratorio Estatal de Salud Pública no cuenta con los recursos necesarios en la realización de las pruebas estandarizadas para la detección de *E. histolytica* (19). Esto explica la escasa información epidemiológica que se posee en el Estado, sobre dicha patología.

Es fundamental efectuar inversiones en métodos diagnósticos capaces de proporcionar datos certeros, que a futuro ayuden a mejorar el sistema de vigilancia para *E. histolytica*. Así como también, detectar las poblaciones que se encuentran más vulnerables ante dicho parásito y realizar intervenciones de salud pública efectivas.

Tabla 1 Comparación de métodos diagnósticos para la detección de *Entamoeba histolytica* (Basada en Intestinal Amebae, Ibne Karim M. Ali, 2015)

Método	Ventajas	Desventajas
Cultivo	Permite la observación visual de la motilidad de los trofozoítos	Baja sensibilidad, es parcial ya que puede facilitar el crecimiento de especies u otros organismos predominantes, requiere de mucho tiempo
Isoenzima	Capaz de diferenciar entre <i>E. histolytica</i> y <i>E. dispar</i>	Requiere de mucho tiempo, es laboriosa, de baja sensibilidad, depende del crecimiento del cultivo amebiano, el cual no es siempre exitoso
PCR Convencional	Sensitiva, específica, trabaja en amplios tipos de especímenes	Propensa a contaminación; requiere de laboratorios sofisticados y habilidad; no adecuada para países de pocos recursos
PCR en tiempo real	Alta sensibilidad y especificidad, rápido, trabaja en amplios tipos de especímenes, no requiere de ampliificaciones de PCR post-análisis	Requiere de laboratorios sofisticados y habilidad; no adecuada para países de pocos recursos
Microscopía	Simple, rápido, bajo costo	Baja sensibilidad y especificidad, requiere de habilidad, no se puede realizar en especímenes congelados
Serología	Fácil de ejecutar, muestra exposición actual o anterior a <i>E. histolytica</i>	Incapaz de diferenciar entre una infección actual o pasada; poco valor de diagnóstico, especialmente en áreas endémicas de amebiasis; puede dar resultados falsos negativos en infecciones tempranas
Detección de antígeno	Simple, rápido, permite la detección específica de <i>E. histolytica</i> , técnica de diagnóstico más adecuada para países de pocos recursos donde la amebiasis es endémica	No funciona en heces fijadas en formalina; tiene menos sensibilidad que el diagnóstico por PCR



CONCLUSIÓN

Las nuevas rutas de migración poblacional, provenientes de la zona sur del país, están propiciando en nuestro Estado un posible aumento en la incidencia de casos de amebiasis intestinal por *Entamoeba histolytica*.

El análisis de heces por microscopía sigue siendo el *gold standard* para la detección y el diagnóstico de esta parasitosis; esto debido a su disponibilidad y bajo costo. Empero, es importante aclarar que, a pesar de ser la técnica más utilizada, no es la más efi-

ciente. Su sensibilidad y especificidad sigue siendo menor, en comparación con el resto de las técnicas existentes.

Sonora no posee, en el Laboratorio Estatal de Salud Pública, las pruebas estandarizadas para la búsqueda de *E. histolytica*. Esto nos coloca en una posición vulnerable, debido a que, por falta de su detección, el abordaje que se le pudiera dar al paciente infectado por este organismo dista de ser el óptimo. Por ello es importante ampliar el marco analítico de vigilancia epidemiológica, bajo el cual se trabaja actualmente.

REFERENCIAS

1. Getto L, Zeserson E, Breyer M. Vomiting, Diarrhea, Constipation, and Gastroenteritis. *Emerg Med Clin North Am* [Internet]. 2011;29(2):211–37. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S073386271100006X>
2. Graves NS. Acute Gastroenteritis. *Prim Care Clin Off Pract* [Internet]. 2013;40(3):727–41. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0095454313000626>
3. Garcia LS, Arrowood M, Kokoskin E, Paltridge GP, Pillai DR, Procop GW, et al. Laboratory Diagnosis of Parasites from the Gastrointestinal Tract. *Clin Microbiol Rev* [Internet]. 2017 Nov 15;31(1):e00025-17. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29142079>
4. Lo Vecchio A, Dias J, Berkley J, Boey C, Cohen M, Cruchet S, et al. Comparison of Recommendations in Clinical Practice Guidelines for Acute Gastroenteritis in Children. Vol. 63, *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*. 2016. 1 p.
5. Bastián Lima VA, Vázquez Vázquez JD. ATRACCIÓN MIGRATORIA ACUMULADA Y RECIENTE EN MÉXICO. ANÁLISIS CON ESPECIAL REFERENCIA AL ESTADO DE VERACRUZ. ACCUMULATED Recent Migr Attract Mex VERACRUZ Anal WITH Spec Ref TO STATE VERACRUZ. 2018;
6. Cardozo G, Samudio M. Predisposing factors and consequences of intestinal parasitosis in Paraguayan school-aged children. Vol. 44, *Pediatría (Asunción)*. 2017. 117–125 p.
7. Boletín Epidemiológico. Dirección general de epidemiología. Secretaría de Salud México. [Internet]. [cited 2019 Apr 8]. Available from: <http://acciones-y-programas/direccion-general-de-epidemiologia-boletin-epidemiologico>
8. Hosseini S-A, Sharif M, Gholami S, Amouei A, Daryani A, Hosseini-Teshnizi S, et al. Intestinal parasitic infections in Iranian preschool and school children: A systematic review and meta-analysis. *Acta Trop*. 2017;
9. Leung P-O, Chen K-H, Chen K-L, Tsai Y-T, Liu S-Y, Chen K-T. Epidemiological features of intestinal infection with *Entamoeba histolytica* in Taiwan, 2002–2010. *Travel Med Infect Dis* [Internet]. 2014;12(6, Part A):673–9. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1477893914000842>
10. Ali I. Intestinal Amebae. Vol. 35. 2015.
11. Anguiano Téllez ME, Trejo Peña AP. Vigilancia y control en la frontera México-Estados Unidos: efectos en las rutas del flujo migratorio internacional. Vol. 13, *Papeles de población*. scielomx; 2007. p. 45–75.
12. Leder K, Weller PF, Ryan ET. Intestinal *Entamoeba histolytica* amebiasis. 2014;
13. Saidin S, Othman N, Noordin R. Update on laboratory diagnosis of amoebiasis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2019;38(1):15–38.
14. Dye LR, Clise RK, Erickson-Hogue M, Gillam MP, Trexler Hessen M, Marcellin L, et al. Amoebiasis- Clinical Overview- ClinicalKey [Internet]. November 29. 2018 [cited 2019 Jul 22]. Available from: https://www.clinicalkey.com#!/content/clinical_overview/67-s2.0-f1290cae-7474-4439-afdb-4a9e2668c4e5
15. Sard BG, Navarro RT, Sanchis JGE. Amebas intestinales no patógenas: una visión clínicoanalítica. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2011;29:20–8.
16. Shirley D-AT, Farr L, Watanabe K, Moonah S. A review of the global burden, new diagnostics, and current therapeutics for amebiasis. In: *Open forum infectious diseases*. Oxford University Press US; 2018. p. ofy161.
17. Rijsman LH, Monkelbaan JF, Kusters JG. Clinical consequences of polymerase chain reaction-based diagnosis of intestinal parasitic infections. *J Gastroenterol Hepatol*. 2016;31(11):1808–15.
18. Weerakoon K, McManus D. Cell-Free DNA as a Diagnostic Tool for Human Parasitic Infections. *Trends Parasitol*. 2016 Feb 1;32.
19. Marco Analítico de Vigilancia Epidemiológica 2019. Laboratorio Estatal de Salud Pública del Estado de Sonora. Hermosillo; 2019.

