

De amibas y **amebiasis**:

Entamoeba histolytica

María Cristina **González Vázquez**
Alejandro **Carabarin Lima**
Lidia **Baylon Pacheco**
José Luis **Rosales Encina**

La amebiasis es definida por la Organización Mundial de la Salud (OMS) como la infección provocada por *Entamoeba histolytica*. Este parásito protozoario tiene una distribución global y especialmente una prevalencia alta en países donde predominan condiciones socioeconómicas y sanitarias pobres. En naciones de primer mundo, esta infección se ha observado en turistas y en inmigrantes provenientes de zonas endémicas.¹ A pesar de que el 90% de las infecciones amebianas son asintomáticas y autolimitantes, existe un estimado de 50 millones de casos de infección anuales. De acuerdo con la OMS, *E. histolytica* se encuentra clasificado como el tercer parásito responsable de muertes con un estimado de 100,000 defunciones al año.²

EPIDEMIOLOGÍA

La infección por *E. histolytica* ocurre a nivel mundial, pero es más prevalente en el trópico. Se estima que aproximadamente 480 millones de personas (aproximadamente 12% de la población mundial) está infectada. La prevalencia de la infección difiere de un área a otra, así como la severidad de la enfermedad de paciente a paciente. Las diferencias en la prevalencia frecuentemente dependen de los métodos de detección usados y del número de análisis realizados. Alrededor del 10% de los pacientes infectados presentan sintomatología.

De los aproximadamente 48 millones de pacientes con síntomas clínicos, el 80 a 98% tiene síntomas relacionados con la mucosa intestinal (diarrea o disentería).³

En México, la amibiasis es una de las veinte principales causas de enfermedad; sin embargo el porcentaje de mortalidad debido a complicaciones severas de la amibiasis ha disminuido en los últimos cuarenta años (<http://www.dgepi.salud.gob.mx>), debido al acceso a drogas antiamebianas efectivas durante las últimas décadas. No obstante, un estudio seroepidemiológico reportó que el 8.41% de la población mexicana tenía anticuerpos circulantes antiamebia, indicando la exposición alta de la población al parásito. Por otro lado, la incidencia de amibiasis intestinal de 1995 al año 2000 se encontraba entre 1000 y 5000 casos por cada 100,000 habitantes, de manera anual. Siendo los individuos menores de 15 años de edad los más frecuentemente afectados, con un marcado incremento en niños de entre 5 y 9 años de edad. Con respecto a la incidencia del absceso hepático amibiano en México, en el periodo comprendido entre los años 1995 y 2000 fue de 10 casos por cada 100,000 habitantes. Desafortunadamente,

El feto humano. Jane Sharp, 1671. Tomado de Harry Robin, *The Scientific Image: From Cave to Computer.* Harry N. Abrams, Inc., Publishers, New York, 1992.



desde el año 2002, el absceso hepático amibiano no es una enfermedad comunicable en México; durante ese año el porcentaje de incidencia fue de 3.8 casos por cada 100,000 habitantes.^{4,5}

EL AGENTE CAUSAL

E. histolytica fue inicialmente descrita por Fedor Lösch en 1875 en San Petersburgo, Rusia, quien describió la forma de trofozoíto y la amibiasis intestinal en detalle. Councilman y LaFleur, encontraron evidencia clínica y patológica de la asociación de *E. histolytica* con la disentería y el absceso hepático. Quincke y Ross, en 1893, describieron la forma de quiste, mientras que el nombre de la especie *E. histolytica* fue introducido por Fritz Schaudinn en 1903. Posteriormente, en 1925, Boeck y Drbohlav fueron los primeros en cultivar a *E. histolytica*; sin embargo, el primer cultivo axénico fue realizado por Diamond en 1961. Actualmente los medios TYI-S-33 y YI-S son los más ampliamente usados para el cultivo axénico de *E. histolytica*. Los cultivos de *E. histolytica* pueden realizarse a partir de muestras fecales, biopsias rectales o aspirado de absceso hepático. Las técnicas de cultivo han ayudado grandemente a comprender las diferencias patogénicas entre diferentes cepas de *E. histolytica* y a entender cómo se lleva a cabo la interacción huésped-parásito.^{3,6}

Se sabe que *E. histolytica* tiene en su ciclo de vida dos estadios principales: el quiste y el trofozoíto. El quiste es la forma infectiva no móvil del parásito, además es la forma resistente de *E. histolytica*; se encuentra en las heces del humano infectado, por lo cual es considerado como la forma de transmisión de este parásito. El quiste es una estructura redondeada de 10-15 μm , contiene una cubierta de cromatina gruesa con gránulos uniformes finos, posee cuatro núcleos, el cariosoma es pequeño, compacto y usualmente con localización central, en el citoplasma pueden presentarse cuerpos cromatoides alargados. Los quistes pueden sobrevivir durante semanas en el suelo o en el agua, que son las principales fuentes de infección. Cuando los quistes llegan al intestino, comienza la división citoplásmica y nuclear, para dar como resultado la generación de ocho trofozoítos.

El trofozoíto es la forma móvil del parásito; este puede residir en el intestino del humano y, ocasionalmente, invadir

la mucosa intestinal, penetrándola e invadiéndola. Tienen un diámetro de 15-20 μm y es activamente móvil debido a sus pseudópodos, su núcleo presenta un cariosoma central pequeño y compacto y cromatina periférica con gránulos uniformes, su citoplasma es fino y granular. Los trofozoítos tienen la capacidad de colonizar la mucosa intestinal.^{3,6}

CICLO BIOLÓGICO

El ciclo biológico de *E. histolytica* inicia cuando los quistes infecciosos se introducen en el organismo al ingerir alimentos o agua previamente contaminados con heces. Posterior a la ingestión y el paso hacia el estómago, el organismo se desenquista para originar finalmente al trofozoíto activo en el intestino delgado. Los trofozoítos se multiplican por división simple y se enquistan cuando se mueven hacia el intestino grueso. Los quistes son expulsados junto con las heces y pueden permanecer viables durante semanas, e incluso meses (Figura 1). Muchas infecciones (>90%) permanecen asintomáticas. La invasión intestinal puede ocurrir días o años después de la infección inicial y se caracteriza por dolor abdominal y diarrea con sangre. También pueden ocurrir diarrea acuosa o conteniendo moco, constipación y tenesmo. Los casos severos de colitis amibiana se caracterizan por diarrea abundante con sangre, dolor abdominal difuso y raramente fiebre.

La colitis necrotizante extensivamente fulminante, es la forma más severa de la enfermedad intestinal y es frecuentemente fatal. Las complicaciones de la enfermedad intestinal incluyen fístulas recto-vaginales, formación de masas intraluminales (ameboma), ulceración del tejido perianal, megacolon tóxico, perforación, peritonitis, shock y la muerte. En raras ocasiones los trofozoítos de *E. histolytica* entran al torrente sanguíneo y se diseminan a otros órganos, más comúnmente al hígado a través de la vena porta. La invasión hepática resulta en una marcada destrucción tisular con reclutamiento de neutrófilos, necrosis celular y formación de micro abscesos. Muchos pacientes (65%-75%) presentan un absceso simple, sin embargo se pueden formar múltiples abscesos. La presentación clínica del absceso hepático amibiano es altamente variable, pero comúnmente se observa hepatomegalia y dolor en el cuadrante superior derecho y, a diferencia de la colitis amibiana, el absceso hepático amibiano es comúnmente acompañado por fiebre. Entre las complicaciones se

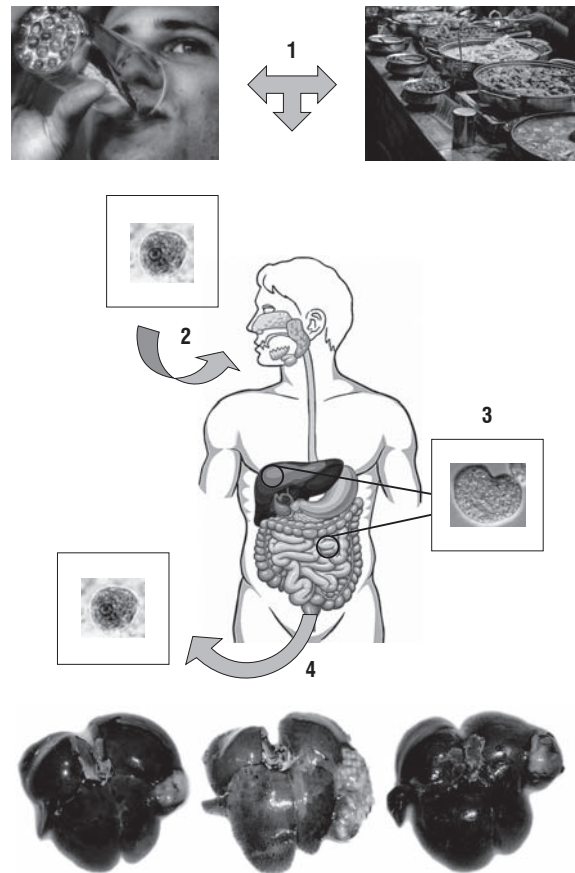


Figura 1. Ciclo biológico de *Entamoeba histolytica*. La infección ambiental es iniciada por la ingestión oral de quistes maduros, provenientes de alimentos o agua contaminada con heces (1). Después de la ingestión (2), los quistes son reblanecidos por la acción de los jugos gástricos en el estómago, esto permite posteriormente el desenquistamiento en el intestino delgado, dando origen al trofozoíto (3). Estos trofozoítos pueden vivir y multiplicarse de manera indefinida dentro de las criptas de la mucosa del intestino grueso, colonizando ciertas regiones del colon y formando nuevamente quistes, los cuales serán liberados en las heces de los individuos parasitados, pudiendo sobrevivir semanas o meses en el medio ambiente (4). El parásito puede colonizar a nivel intestinal o bien puede diseminarse e invadir otros órganos vitales, principalmente el hígado, aunque también puede invadir el cerebro o los pulmones.

incluyen: infección bacteriana secundaria, perforación hacia el peritoneo y cavidades pleurales y pericárdicas; shock séptico y la muerte. Raramente los trofozoítos terminan en otras regiones del cuerpo tales como: el cerebro, bazo, pulmones y tracto genitourinario. Los abscesos cerebrales son extremadamente raros y se asocian con altos porcentajes de mortalidad. La enfermedad diseminada no es un mecanismo adaptativo para el parásito debido a que no puede completar su ciclo de vida.^{1,3,6}

DIAGNÓSTICO

Clínicamente, es deseable distinguir a *E. histolytica* de otras cepas como: *E. dispar* y *E. moshkovskii* debido a

que solo *E. histolytica* es patógeno al humano. El diagnóstico de amibiasis invasiva usualmente es sugerido por los síntomas que presenta el paciente, la historia clínica y los hallazgos radiológicos, pero esto deberá ser confirmado con resultados microbiológicos del laboratorio. El análisis de muestras de heces frescas mediante microscopía óptica es frecuentemente el primer paso en el diagnóstico; las características de los trofozoitos o quistes pueden identificarse a través de tinciones directas, concentradas o permanentes.



El feto humano. Giulio Casserius, c. 1601. Tomado de Harry Robin, *The Scientific Image: From Cave to Computer*. Harry N. Abrams, Inc., Publishers, New York, 1992.

Debido a que los parásitos pueden aparecer de manera intermitente, la recomendación actual es analizar tres muestras de heces en diferentes días en un periodo de diez días. Desafortunadamente, en la microscopía por sí sola no se puede diferenciar a *E. histolytica* de amibas no patógenas, por lo que deben realizarse más pruebas para determinar la cepa infecciosa. No obstante, una rara

excepción es cuando los trofozoitos contienen eritrocitos ingeridos (eritrofagocitosis), ya que este hallazgo es fuertemente indicativo (pero no definitivo) de amibiasis intestinal. Los trofozoitos también pueden identificarse en especímenes de biopsia intestinal o aspirados, facilitando el diagnóstico de la amebiasis si, al realizarla, se observa invasión de la mucosa y ulceración.

Los métodos actuales de identificación incluyen biopsia, serología, detección de antígenos y ensayos moleculares. Los cultivos pueden ser realizados por algunos laboratorios especializados, pero es técnicamente un reto y consume mucho tiempo. Además de que un cultivo negativo para *E. histolytica* a partir de muestras intestinales no excluye al parásito, debido a que la sensibilidad del cultivo es menor al 100%.

Las pruebas serológicas detectan la presencia de anticuerpos específicos de la especie en el suero del paciente. Las pruebas serológicas son comúnmente usadas en países no endémicos donde la prevalencia es baja y tienen una buena sensibilidad y especificidad para detectar la enfermedad intestinal invasiva. Sin embargo, las pruebas serológicas no pueden distinguir una infección pasada o actual, a menos que se puedan detectar anticuerpos IgM, los cuales para *E. histolytica* son de vida corta y raramente detectados. Por el contrario, los anticuerpos IgG son de larga vida pero altamente prevalentes en áreas endémicas debido a exposiciones pasadas. Las pruebas serológicas también son menos sensibles en infecciones asintomáticas y toman de 7 a 10 días para aparecer en el torrente sanguíneo, por lo que pueden encontrarse resultados falsos negativos.^{1,7,8}

La detección de antígenos en heces es una prueba que usa anticuerpos monoclonales o policlonales para detectar a *E. histolytica*. Esta prueba es rápida, altamente sensible y ampliamente usada en el diagnóstico de laboratorio. La prueba de antígenos se usa para confirmar los hallazgos de microscopía (falsos negativos). Estas pruebas también son de ayuda para interpretar resultados positivos en la serología amibiana en pacientes de países endémicos, debido a que los resultados positivos en una prueba de antígenos indican más una infección actual que una infección anterior.

Por otro lado, la más alta sensibilidad y especificidad para el diagnóstico de *E. histolytica* es proporcionado por pruebas basadas en DNA. Muchas pruebas actuales

y disponibles incluyen la reacción en cadena de la polimerasa (PCR convencional) y la PCR en tiempo real; sin embargo, estas técnicas son usadas principalmente en laboratorios de investigación y de referencia, debido a que se requiere de equipo de laboratorio costoso y personal capacitado para realizar los análisis.¹ En el caso del absceso hepático amibiano, el diagnóstico diferencial deberá incluir el absceso bacteriano, quistes equinocócicos, tuberculosis y tumores primarios o en metástasis. La radiología puede diferenciar entre muchas etiologías infecciosas y no infecciosas; sin embargo, los abscesos bacterianos y amibianos pueden aparecer muy similares.

En comparación con el absceso bacteriano, los abscesos amibianos son más solitarios, subcapsulares y se localizan preferencialmente en el lóbulo derecho del hígado. Ocasionalmente los abscesos hepáticos amibianos pueden tener una presentación tipo neumonía con dolor en las pleuras, tos y disnea. Las pruebas radiológicas, la historia clínica, los hallazgos en la auscultación física y los resultados serológicos son esenciales para incluir o excluir el diagnóstico de absceso hepático amibiano.¹

TRATAMIENTO

La OMS recomienda que cuando sea posible, *E. histolytica* deberá de ser diferenciada de especies morfológicamente similares y dar el tratamiento de manera apropiada, ya que un tratamiento innecesario podría favorecer el desarrollo de resistencia. Por lo tanto, la profilaxis para la infección por *E. histolytica* con amebicidas no es recomendada bajo ninguna circunstancia.

La medicación recomendada para tratar la amebiasis confirmada, varía con las manifestaciones clínicas. La infección intestinal asintomática con *E. histolytica* deberá de ser tratada con amebicidas lumbales, como la paromomicina. Esta medicación erradicará las amibas lumbales y prevendrá una subsecuente invasión al tejido y la diseminación de la enfermedad a través de los quistes.⁹

Comparada con la infección asintomática, la enfermedad invasiva intestinal y extraintestinal son procesos aeróbicos y deberán de ser tratadas con amebicidas tisulares, como los 5-nitroimidazoles (por ejemplo, metronidazol). De manera similar a la colitis amibiana, el absceso hepático típicamente responde bien a un tratamiento por 5-10 días con metronidazol. El metronidazol es la droga

de elección debido a que presenta una rápida absorción intestinal, una excelente biodisponibilidad en tejido y una buena penetración en el absceso. Posterior al tratamiento, la ultrasonografía puede ser utilizada para monitorear la regresión del absceso, el cual ocurre lentamente durante un periodo de 3-12 meses.^{1,10}

VACUNAS

Actualmente, uno de los principales problemas para el control de la amibiasis es la carencia de una vacuna capaz de prevenir la transmisión del parásito o, al menos, de evitar la progresión hacia la enfermedad invasiva en individuos infectados.

Hasta el momento se han investigado diferentes proteínas que pudieran servir como vacunas, así como las diferentes vías de inmunización que desarrollen una mejor respuesta inmunológica, entre ellas se encuentran la peroxirredoxina Eh29, los lipofosfoglicanos (LPGs), las proteasas de cisteína y las dos proteínas más prometedoras como candidatos vacunales que son una proteína rica en serinas de 25 kDa denominada SREHP, y la Gal/GalNac-lectina de 260 kDa (Tabla 1).¹¹⁻¹⁴

PROTEÍNA	VÍA DE INMUNIZACIÓN	PROTECCIÓN (%)	REFERENCIA
Proteína rica en serinas (SREHP)	Intradérmica Intraperitoneal	100 64	12
Gal/GalNac lectina	Intraperitoneal Subcutánea	86 59	13
Peroxirredoxina (Eh29)	Intraperitoneal	54	14

Tabla 1. Proteínas con potencial para el desarrollo de una vacuna contra la amibiasis. En la tabla se muestran proteínas que se han evaluado en contra de la amibiasis y que hasta la fecha han conferido cierto grado de protección, por lo que se les considera como futuros agentes para el desarrollo de una vacuna.

En este contexto, se observó una respuesta inmunológica tipo Th1 protectora en hamsters vivos e infectados con *E. histolytica*, posterior a la inmunización con una vacuna de DNA basada en genes codificantes para una proteína de adhesión (EhADH112) y una proteasa de cisteína (EhCP112). La vacunación no demostró una respuesta de anticuerpos significativa; sin embargo, los animales vacunados desarrollaron una protección significativa contra la formación del absceso hepático amibiano (85%)

cuando la inmunización se realizó de manera intradérmica, no así cuando la inmunización se realizó por vía intramuscular, caso en que no se observó una disminución significativa (28%), lo que indica que la vía de inmunización tiene un papel importante para favorecer una respuesta inmune protectora.¹⁵

Por otra parte, recientemente se realizó la fusión de los dominios de la proteína de choque térmico de 70 kDa (Hsp70) a un gen codificante para una proteína peroxirredoxina de 30 kDa y con capacidad de unión a fibras de colágena (EhCBP30). Esta fusión se realizó con la finalidad de evaluar la función inmunomoduladora y como adyuvante de los dominios de chaperona (CHP) y ATPasa (ATP) de la Hsp70. Se hizo la inmunización en el modelo de hámster sin el uso de un adyuvante comercial, y posteriormente estos animales se infectaron con *E. histolytica* a nivel de hígado. A los siete días postinfección se observó una disminución del 70% en la formación del absceso hepático amibiano en los animales inmunizados con EhCBP30 y EhCBP30-CHP; además, al analizar secciones de tejido, se observó la escasa presencia de células inflamatorias, indicando que se generó una adecuada respuesta por la inmunización con estas proteínas.¹⁶

Estos resultados indican que la inmunidad celular es de importancia durante la amibiasis, y que la vía de inmunización, el antígeno e incluso el adyuvante participan en conjunto para generar una respuesta inmune adecuada, por lo que todos estos parámetros deberán de ser tomados en cuenta en la identificación de genes o proteínas para desarrollar una vacuna efectiva contra *E. histolytica*.

CONCLUSIONES

La amibiasis es una enfermedad ocasionada por el parásito *E. histolytica*, al cual comúnmente se le conoce como amiba, y es responsable de la infección de aproximadamente 480 millones de personas a nivel mundial. Esta enfermedad se encuentra asociada a condiciones sanitarias pobres, por lo que al mejorar estas condiciones se puede evitar en gran medida la infección. Actualmente el anti-amibiano de elección es el metronidazol, sin embargo su mal uso puede generar resistencia en *E. histolytica*.

Por otra parte, la caracterización de proteínas novedosas involucradas en adherencia, muerte celular y fagocitosis continuarán siendo tema de investigación para identificar futuros candidatos para generar nuevas vacunas.

REFERENCIAS

- 1 Pritt BS and Clark CG. Amebiasis. *Mayo Clin Proc* 83 (2008) 1154-1159.
- 2 Sateriale A, Huston CD. A sequential model of host cell killing and phagocytosis by *Entamoeba histolytica*. *J Parasitol Res* (2011) 2011:926706. doi: 10.1155/2011/926706.
- 3 Bruckner DA. Amebiasis. *Clin Microbiol Rev* 5 (1992) 356-369.
- 4 Jiménez C. Epidemiology of amebiasis in Mexico: a molecular approach. *Arch Med Res* 37 (2006) 263-265.
- 5 Jiménez C, Morán P, Rojas L *et al*. Reassessment of the epidemiology of amebiasis: state of the art. *Infect Genet Evol* 9 (2009) 1023-1032.
- 6 Fotedar R, Stark D, Beebe N *et al*. Laboratory diagnostic techniques for *Entamoeba* species. *Clin Microbiol Rev* 20 (2007) 511-532.
- 7 Kalkan IH and Dağlı U. What is the most accurate method in the diagnosis of amebic dysentery? *Turk J Gastroenterol* 21 (2010) 87-90.
- 8 Araujo J, García ME, Díaz-Suárez O *et al*. Amebiasis: importance of the diagnosis and treatment. *Invest Clin* 49 (2008) 265-271.
- 9 Kappagoda S, Singh U and Blackburn BG. Antiparasitic therapy. *Mayo Clin Proc* 86 (2011) 561-583.
- 10 Astelbauer F and Walochnik J. Antiprotozoal compounds: state of the art and new developments. *Int J Antimicrob Agents* 38 (2011) 118-124.
- 11 Lotter H and Tannich E. The current status of an amebiasis vaccine. *Arch. Med. Res.* 37 (2006) 292-296.
- 12 Zhang T, Cieslak PR and Stanley SL Jr. Protection of gerbils from amebic liver abscess by immunization with a recombinant *Entamoeba histolytica* antigen. *Infect Immun* 4 (1994) 1166-1170.
- 13 Petri WA, Jr and Ravdin JI. Protection of gerbils from amebic liver abscess by immunization with the galactose-specific adherence lectin of *Entamoeba histolytica*. *Infect Immun* 59 (1991) 97-101.
- 14 Soong CJ, Torian BE, Abd-Alla MD *et al*. Protection of gerbils from amebic liver abscess by immunization with recombinant *Entamoeba histolytica* 29-kilodalton antigen. *Infect Immun* 63 (1995) 472-477.
- 15 Martínez MB, Rodríguez MA, García-Rivera G *et al*. A pcDNA-Ehcpadh vaccine against *Entamoeba histolytica* elicits a protective Th1-like response in hamster liver. *Vaccine* 27 (2009) 4176-4186.
- 16 González-Vázquez MC, Carabarin-Lima A, Baylón-Pacheco L *et al*. Obtaining of three recombinant antigens of *Entamoeba histolytica* and evaluation of their immunogenic ability without adjuvant in a hamster model of immunoprotection. *Acta Trop* 122 (2012) 169-176.

María Cristina González Vázquez

Alejandro Carabarin Lima

Lidia Baylón Pacheco

José Luis Rosales Encina

Departamento de Infectómica

y Patogénesis Molecular

Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del I.P.N., México

ecoli_75@hotmail.com