UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS
UNIVERSITAT DE BARCELONA
VICERRECTORADO
CENTRO PSICOPEDAGÓGICO Y DE INVESTIGACIÓN EN EDUCACIÓN SUPERIOR

"PREVALENCIA DE *Entamoeba histolytica* EN NIÑOS MENORES DE 5 AÑOS QUE ACUDEN AL HOSPITAL MATERNO INFANTIL REIDUM ROINE DE RIBERALTA"

Tesis presentada para obtener el Grado Académico de Magister en Medicina Tropical y Salud Internacional.

MIRTHA RIOJA BARAHONA

La Paz – Bolivia

2014

MIRTHA RIOJA BARAHONA

"PREVALENCIA DE *Entamoeba histolytica* EN NIÑOS MENORES DE 5 AÑOS QUE ACUDEN AL HOSPITAL MATERNO INFANTIL REIDUM ROINE DE RIBERALTA"

2014

UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS

UNIVERSITAT DE BARCELONA

VICERRECTORADO

CENTRO PSICOPEDAGÓGICO Y DE INVESTIGACIÓN EN EDUCACIÓN SUPERIOR

MIRTHA RIOJA BARAHONA

"PREVALENCIA DE *Entamoeba histolytica* EN NIÑOS MENORES DE 5 AÑOS QUE ACUDEN AL HOSPITAL MATERNO INFANTIL REIDUM ROINE DE RIBERALTA"

Tesis presentada al Programa de Postgraduación en Salud Internacional de la Universidad de Barcelona en convenio con la Universidad Mayor de San Andrés de La Paz para la obtención del grado de Master en Medicina Tropical y Salud Internacional

Director: Prof. Dr. Carlos Ascaso T.

Co-director: Prof. Tomás Pérez Porcuna

Tutora: Dra. Alessandra Queiroga Gonçalves

La Paz

2014

AGRADECIMIENTO

A la Cooperación Catalana que a través de la Universidad de Barcelona, Ministerio de Salud y Deporte, en convenio con la Universidad Mayor de San Andrés, para la obtención del grado de Master en Medina Tropical y Salud Internacional de las bio – regiones bolivianas.

A CEPIES, por toda la cooperación prestada.

A la Coordinadora de la Maestría, Dra. Judith Caballero por su constante apoyo y amistad.

Al Dr. Carlos Ascaso T. Director de la Maestría por hacer posible la realización del Master.

A la Dra. Alessandra Queiroga, mi tutora por guiarme en todo el proceso de La Tesis.

A todos los pacientes; por su colaboración y participación para que este estudio se realice.

A mis compañeros Jhonny, Gaby, María Luz por haberme permitido tener su amistad y apoyo a lo largo del estudio.

DEDICATORIA

A Jehová Dios por darme la vida y fortaleza.

A mi madre y hermanos por su apoyo constante.

A mis hijas Valeria y Kiara que son el regalo más lindo que tengo. A mi esposo por su apoyo

Resumen

Introducción: La *Entamoeba histolytica* es el agente causal de la disentería amebiana, se trata de un patógeno de importancia epidemiológica porque se constituye en la tercera causa de mortalidad debida a infección parasitaria. Su detección es muy importante ya que al tener igual morfología que las especies no patógenas *Entamoeba dispar* y *Entamoeba moshkovskii*, se requiere la realización del diagnóstico diferencial a través de la técnica ELISA, por ser ésta específica y sensible.

Objetivo: Determinar la prevalencia de infecciones por *Entamoeba histolytica* en niños menores de cinco años que acuden al Hospital Materno Infantil Reidun Roine del municipio de Riberalta (Beni, Bolivia) con cuadro diarreico.

Material y métodos: En el periodo de agosto 2013 a diciembre 2013 fueron evaluadas muestras únicas de heces frescas de 156 niños. Cada muestra fue evaluada por el método Directo, método de Ritchie modificado, citología de moco fecal y ELISA para detección de antígenos de *E. histolytica*.

Resultados: Se pudo determinar que las amebas del complejo *Entamoeba histolytica* fueron las más frecuentes (64.7%) seguidas de infecciones por *Giardia lamblia*, *Trichomonas hominis*, *Chilomastix mesnilii*, *Áscaris lumbricoides*, *Hymenolepis nana* y *Blastocystis hominis,* respectivamente. Los síntomas y signos más frecuentes presentes en los pacientes fueron vómitos, dolor abdominal y fiebre. De un total de 156 muestras analizadas por el método ELISA, 9 (5.8%) dieron positivo para infección por *E. histolytica*, siendo 6 (66.7%) de sexo femenino y 3 (33.3%) de sexo masculino (p=0.733). En cuanto a la presencia de sangre en las heces 6 (66.7%) de los pacientes con *E. histolytica* dieron positivo (p<0.001, OR=71.5 (IC 95% 12.99-393.45).

Conclusiones: Mediante el presente estudio se pudo confirmar por primera vez en área amazónica boliviana la presencia de infecciones por *Entamoeba histolytica* en niños menores de 5 años. Debido a su alta sensibilidad y especificidad y facilidad técnica, el método ELISA debería ser incorporado como método de diagnóstico en los laboratorios de los establecimientos de salud del municipio. También es importante considerar la realización de más estudios que permitan evaluar la prevalencia del protozoo en otros municipios y localidades de la región amazónica boliviana.

Palabras clave: *Entamoeba histolytica*; Inmunodiagnóstico, Amebiasis, Bolivia

Juk'aptawi

Qalltawi: Entameoba histolytica uka laquwa juchani disentería amebiana jan walt'awi utjañapataki, ukhamatwa uka laq'uxa kimsiri jisk'a lalanakar jan walt'ayas jiwañar puriyir jakhun jikxatasiraki laqunak tuqit usuntayirjama. Uka jan walt'ayir Entamoeba dispar ukhamaraki Entamoeba moshkovskii jan walt'ayir laq'unaka usutapa uñt'añatakix ELISA yant'awi thakinjamaw lurañ wakisi.

Amtawi: Qawqha jisk'a lalanakas phisqa maranit aynachan qutunkirinakat, khaysa jach'a qullaña wawaninakan ukhamaraki wawanakan "Reindun Roine" sutin utaru, wichu usu entamoeba histólitica sat sutimpi uñt'at usuta uñjayasiri khaysa Municipio de Riberalta markankirinakax puripxi, uksat amta phuqañani.

Yanäka thakhi: Entamoeba histolytica laq'unaka katjañatakixa, chiqap thakhi ukharusti Ritche modificado thakhi, ukhamaraki citología de moco fecal y ELISA tuqwa katjataspa. Pataka phisqakunta suxta wawanakan, chhuyu jamanakatwa lakani phaxsita jallu qallta phaxsikama pä waranqa tunka kimsani marana yant'awiru uskusiwawi. Yant'awi amta phuqhawinxa uñstawayiwa jilpachaxa (64.7%) Entamoeba histolytica, ukxarusti Giardia lamblia, Trichomonas hominis, chilomastix mesnilii, Ascaris lumbricoides, Hymenolepis nanay Blastocystis homini, laq'unakaw chikanchasi. Aknir usuruxa Waq'aqiña ukhamarusa purak usu ukhamaraki janchi samana junt'uwa qhananchi. ELISA thakhimpixa yant'awi lurasaxa Pataka phisqatunka suxtani wawanakatxa, 9(5.8 %) Entamoeba histolytica laq'unipxiwa. 6(66,7 %) imill wawanaka ukxarusti 3(33.3%) lluqall wawanakaraki (p=0.733) ukampisa yaqha yant'awixa jamampi wilampi chikt'atawa utjki ukanxa 6 (66.7%) E. histolytica ukanipxaraki.

Tukt'ayawi: ELISA thakhimpi Phisqa maraninakat aynachankir wawanakar nayrir yant'awi lurataxa, khaysa junt'u uraqi amazónica utjki kollasuyu markasanxa uka lurawinakwa qhananchistu, Entamoeba histolytica laq'umpiwa jani yaqasiña utxatapata usuntapxi, ukxarusti uksa qullayasiña utanakanxa uskutañapawa "ELISA thakhi" yant'awinaka aknir laq'unakat pachaparjam katjañataki pachpa muninicipiona. Ukhamaraki wali wakiskiriwa yaqha municipionakana ukhamarus jisk'a markanakans uka pachpa yänaka utjañapa Kullasuyu markasana ukhamata taqinis k'umara sarnaqasipxañaptaki.

Resumo

Introdução: A *Entamoeba histolytica* é o agente etiológico da disenteria amebiana e trata-se de um patógeno de importância epidemiológica porque se constitui na terceira causa de mortalidade devido a uma infecção parasitaria. A detecção desta ameba é muito importante porque ao ter morfologia similar às espécies não patógenas *Entamoeba dispar* y *Entamoeba moshkovskii*, se requer a realização de um diagnóstico diferencial através da técnica de ELISA, por esta ser especifica e sensível.

Objetivo: Determinar a prevalência de infecções por *Entamoeba histolytica* em crianças menores de cinco anos que se apresentem ao Hospital Materno Infantil Reidun Roine do município de Riberalta (Beni, Bolívia) com quadro diarreico.

Material e métodos: No período de agosto de 2013 a dezembro de 2013 foram avaliadas mostra únicas de fezes frescas de 156 crianças. Cada amostra foi avaliada pelo método Direto, método de Ritchie modificado, citologia do muco fecal e ELISA para detecção de antígenos de *E. histolytica.*

Resultados: As amebas do complexo *Entamoeba histolytica* foram as mais frequentes (64.7%) seguidas de infecções por *Giardia lamblia*, *Trichomonas hominis*, *Chilomastix mesnilii*, *Ascaris lumbricoides*, *Hymenolepis nana* e *Blastocystis hominis,* respectivamente. Os sintomas e sinais mais frequentes presentes nos pacientes foram vômitos, dor abdominal e febre. De 156 amostras analisadas pelo método de ELISA, 9 (5,8%) foram positivas para infecção por *E. histolytica*, sendo 6 (66,7%) do sexo feminino e 3 (33,3%) do sexo masculino (p= 0.733). Sobre a presença de sangue nas fezes, 6 (66,7%) dos pacientes com *E. histolytica* foram positivos (p<0.001, OR=71.5 (IC 95% 12.99-393.45)).

Conclusões: No presente estudo se confirmou por primeira vez, em área amazônica boliviana, a presença de infecções por *Entamoeba histolytica* em crianças menores de 5 anos. Devido à sua alta sensibilidade e especificidade e facilidade técnica, o método de ELISA deveria ser incorporado como método de diagnóstico nos laboratórios dos estabelecimentos de saúde do município. Também é importante considerar a realização de mais estudos que permitam avaliar a prevalência do protozoário em outros municípios e localidades da região amazônica boliviana.

Palavras chave: *Entamoeba histolytica*; Imunodiagnóstico, Amebíase, Bolívia

Lista de Figuras

Figura 1 - Ciclo de vida de la *Entamoeba histolytica*[1] 13
Figura 2 - Mapa de ubicación geográfica de Riberalta. 23

Lista de Tablas

Tabla 1 - Proporción de casos positivos de infecciones por parásitos intestinales según sexo 33
Tabla 2 - Características clínicas de los casos de infección por E. histolytica diagnosticados por ELISA 34

Lista de Abreviatura

AHA – Absceso hepático amebiano

E. Histolytica – Entamoeba histolytica

E. Dispar – Entamoeba dispar

ELISA - Enzyme Linked Inmunoabsorvent Assay

ADN – Acido desoxirribonucleico

PCR – Polimerase Chain Reaction

AASANA – Administración de Aeropuertos y Servicios Auxiliares a la Navegación Aérea

Tabla de contenido

Resumen v
Juk'aptawi vi
Resumo vii
Lista de Figuras viii
Lista de Tablas viii
Lista de Abreviatura viii
1. INTRODUCCIÓN 1
1.1. Perspectivas Históricas 2
1.2. Conceptualización Actual 7
1.3. Avances Recientes 7
1.4. Epidemiología 9
1.5. La Salud del Niño 11
1.6. Entamoeba histolytica 12
1.6.1. Morfologia 12
1.6.2. Ciclo de Vida 13
1.6.3. Modo de Transmisión 13
1.7. Amebiasis 14
1.8. Patogenia 15
1.9. Patología 16
1.10. Diagnóstico 18
1.11. Contexto de la Investigación 22
2. JUSTIFICACIÓN 24
3. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS 25
3.1. Hipótesis 25
3.2. Objetivos 25
3.2.1. Objetivo General 25

3.2.2. Objetivos Específicos 25
4. MATERIAL Y MÉTODOS: 26
4.1. Modelo de Estudio 26
4.2. Población de Estudio. 26
4.3. Muestra 26
4.4. Reclutamiento de la muestra 26
4.5. Criterios de Selección de muestras 26
4.5.1. Criterios de Inclusión: 26
4.5.2. Criterios de Exclusión: 26
4.6. Desarrollo del Estudio 27
4.7. Técnicas Para el Estudio y Procedimientos de Recolección 27
4.7.1. Coproparasitológico 28
4.7.1.1. Método Directo: 28
4.7.1.2. Coproparasitológico por Enriquecimiento - Método de Richie Modificado 29
4.7.1.3. Test ELISA: (Enzyne Linked Inmunoabsorvent Assay) 30
5. RESULTADOS 32
5.1. Características de la población estudiada 32
5.2. Perfil de infección por otros parásitos de la población estudiada 32
5.3. Identificación de E. histolytica por ELISA y características de la infección 33
6. DISCUSIÓN 35
7. CONCLUSIONES 39
8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS 41

"PREVALENCIA DE *E. HISTOLYTICA* EN NIÑOS MENORES DE 5 AÑOS QUE ACUDEN AL HOSPITAL MATERNO INFANTIL REIDUM ROINE DE RIBERALTA"

1. INTRODUCCIÓN

La *Entamoeba histolytica* es el protozoario patógeno causante de la infección invasiva intestinal y extra intestinal denominada amebiasis, afección cosmopolita que tiene especial incidencia en los países tropicales y sub tropicales.[1]

La detección de *E. histolytica*, agente causal de la amebiasis, es de suma importancia particularmente en países en vías de desarrollo, puesto que después de la malaria y la esquistosomiasis, se constituye en la tercera causa de mortalidad debida a infecciones parasitarias. En cuanto a la relación parásito – hospedador, durante décadas se trató de explicar la gran discrepancia existente entre el número de infectados asintomáticos y los que desarrollaban la enfermedad, dando lugar a confrontar las hipótesis de que se tenía un parásito tisular obligatorio y comensal que potencialmente podía causar enfermedad, o que en realidad se trataban de dos especies morfológicamente iguales, la *E. dispar y la E. dysenteriae*, siendo ésta última la especie patógena, que en algunos casos podía llegar a causar infecciones asintomáticas.

Posteriormente mediante el análisis electroforético de las isoenzimas de amebas en cultivo, se demostró la existencia de zimodemos patógenos en las amebas invasivas y zimodemos no patógenos en las no invasivas. Estos estudios confirmaron el concepto de que lo que se consideraba como *E. histolytica* se trataba en realidad de dos especies morfológicamente iguales. Subsecuentemente, se demostraron diferencias genéticas y se propusieron los nombres *E. histolytica y E. dispar* para estas dos especies. La primera es un patógeno potencial causante de la amebiasis y la segunda es un comensal. Más adelante se describió la presencia de la *E. moshkovskii*, indistinguible morfológicamente de las dos especies anteriores, y que si bien fue descrita inicialmente en aguas servidas, en estudios recientes ha sido identificada en humanos de diversos países. [2]

Sin embargo, lo que sí está claro es que no todas las infecciones con *E. histolytica* conducen a la enfermedad y que sólo una de cada 10 infecciones

progresan hacia el desarrollo de manifestaciones clínicas. La redescripción de *E. dispar* y la identificación de *E. moshkovskii* en el hombre han tenido un gran impacto en el conocimiento de la amebiasis con implicaciones clínicas y epidemiológicas. Como consecuencia, es necesaria la reevaluación de estos aspectos, mediante el uso de técnicas confiables que permitan realizar la diferenciación de las dos especies morfológicamente iguales. [2]

1.1. Perspectivas Históricas

La historia de *E. histolytica* ha sido muy confusa. Ningún parásito ha sido tan erróneamente diagnosticado como esta ameba y a muy pocos agentes patógenos se le han atribuido tan amplio espectro de manifestaciones clínicas. La historia de la amebiasis, desde su inicio, se ha enfocado en el papel que *E. histolytica* pudiera desempeñar como agente causal de enfermedad y se desarrolló un cuadro muy controversial de la relación parásito-hospedador. La revisión de la historia antigua del parásito revela como surgieron los diversos conceptos erróneos acerca del mismo. [3]

Lambl fue el primero en identificar amebas en el contenido intestinal del hombre en 1859, pero no le dio importancia al hallazgo. Losch, en 1875, fue el primero en darle significación a una ameba que observó en las heces y úlceras del colon de un paciente y presentó una excelente descripción de la condición clínica, hallazgos de necropsia y del parásito. Sin embargo, no consideró la ameba como patógena y la denominó Amoeba coli. Koch, en 1883, describió casos de disentería donde se observaron amebas idénticas a las descritas por Losch, en úlceras intestinales. Kortulis, 1885-1891, identificó amebas en los tejidos adyacentes a las úlceras intestinales y las consideró como las causantes de la “disentería tropical” que él había descrito.

Más tarde, observó las amebas en el pus de abscesos hepáticos y en un absceso cerebral. A este autor se le ha dado el crédito de descubrir la relación causa-efecto de las amebas y estos procesos patológicos Counneilman y Lafleur en 1891 hicieron una descripción magistral, insuperable del absceso hepático amibiano (AHA). Ellos consideraron que no era inflamatorio sino “causado por necrosis, reblandecimiento y licuefacción del tejido” y que las amebas no estaban asociadas a otros organismos. Denominaron a la ameba *Amoeba dysenteriae*.[4]

En Alemania, Quincke y Ross en 1893 y Huher y Shaudin en 1903 demostraron la fase quística del parásito. Huber realizó la primera descripción del número y características de los núcleos de *Entamoeba histolytica*, pero Schaudinn desestimó el trabajo de este autor, que era su alumno, y consideró que estos quistes pertenecían a otra especie que él mismo había observado y para la cual había propuesto el nombre de *E. tetrágena*; también diferenció *E. coli* de la ameba hematófaga que él llamó *E. histolytica*. Varios investigadores creyeron que los quistes pertenecían a una nueva especie que llamaron *E. tetrágena*.

Esta situación creó confusión, pero tal era la estatura científica de Sochaudinn que su concepto de que estos quistes cuadrinucleados correspondían a otra especie diferente a *E. histolytica* permaneció incuestionable durante más de una década. Elmassian acuñó el nombre *E. minuta* para los trofozoítos que él observó asociados con los quistes de cuatro núcleos, Craig, en 1905, consideró que Councilman y Lafleur tenían prioridad para el nombre que ellos le habían asignado a la ameba y que el nombre correcto debía ser *E. dysenteriae*. Así que debido a esta controversia en terminología., para 1910 existían cuatro nombres: *E. dysenteriae, E- tetragena, E. minuta y E. histolytica* para lo que posteriormente se consideró como una entidad única. El último término sobrevivió y el nombre aceptado para el parásito es *Entamoeba histolytica.*[4]

Walker demostró que los nombres *E. tetragena* y *E. minuta* se referían a diferentes fases de *E. histolytica*. El experimento clásico de Walker y Sellards en Manija demostró en forma concluyente, por primera vez, que el hombre podía ser infectado con los quistes de *E. histolytica* y desarrollara enfermedad. Sin embargo, estos experimentos demostraron que la infección con esta ameba no necesariamente resulta en enfermedad y que la mayoría de las infecciones son asintomáticas. [18]

La gran discrepancia entre la prevalencia de infecciones asintomáticas y sintomáticas producidas por la *E. histolytica* se hizo cada vez más aparente, y no era posible predecir la aparición de disentería en portadores de quistes. Al parecer no se le prestó mucha atención a los hallazgos de Walker y Sellards que permitieron apreciar la relación correcta entre la ameba y el hombre, actuando la primera como comensal en la mayoría de los casos.

Por el contrario, se desencadenó una gran controversia con respecto a la relación parásito-hospedador durante décadas. Así que en 1920 surgieron dos hipótesis para tratar de explicar la poca correlación entre la prevalencia de portadores de quistes y de la amebiasis invasiva: 1. Dobeil planteó que *E. histolytica* era un parásito tisular obligatorio, apareciendo la enfermedad sólo cuando el hospedador perdía la habilidad de tolerar al parásito. 2. Kuenen y Swellengrebel consideraron a *E histolytica* como una ameba comensal que bajo el efecto de algún estímulo podía invadir los tejidos con pérdida de su capacidad para producir quistes y propagar la especie.[5] Los dos conceptos diferían básicamente en el estado de los portadores de quistes; según la escuela de Dobell se trataba de un estado de enfermedad, mientras que según los comensalistas no necesariamente era el caso.

Las escuelas americanas e inglesas eran seguidoras de la hipótesis de Dobell, mientras que los comensalistas estaban prácticamente confinados al continente europeo. Brumpt, en 1925, planteé la tercera hipótesis. Consideró que existen tres especies de amebas en el hombre que producen quistes cuadrinucleados: *E. hartmanni* con quistes menores de 10 u y dos especies morfológicamente idénticas cuales son: *E. dispar*, especie no patógena y *E. dysenteriae*, especie patógena que podía ocasionar infecciones asintomáticas. Aunque esta hipótesis es la que mejor describe la relación parásito-hospedador de acuerdo a los conceptos contemporáneos, esta concepción no fue amplia mente aceptada sino a partir de 1993 casi siete décadas después.[4]

Sargeaunt, de la Escuela de Higiene y Medicina Tropical de Londres, en conjunto con investigadores de otros países en especial de África del Sur, realizaron estudios de la relación *E. histolytica*-hospedador mediante el uso de electroforesis de isoenzimas en la década de 1978-1988. Estos estudios fueron de gran impacto ya que demostraron que el análisis de isoenzimas de amebas en cultivo podía diferenciar estas especies de *Entamoeba*. Se lograron determinar 24 zimodemos, de los cuales 21 corresponden a aislados de humanos (12 de *E. dispar* y 9 de *E. histolytica*). Luego se evidenció en base a bandas estables, que sólo existían 3 zimodemos (II, XW. XIX) para *E. histolytica* y uno (I) para *E. dispar*, ya que algunos desaparecen al eliminar la flora bacteriana de los cultivos, sugiriendo que por lo menos algunas bandas son de origen bacteriano.

Estos estudios confirmaron el concepto de Brumpt de que *E. histolytica* se trataba de dos especies morfológicarnente iguales. Estudios clínicos, bioquímicos e inmunológicos demostraron diferencias entre las dos especies. Tannich y col., en Alemania, evidenciaron en forma contundente, mediante el análisis del ADN, que *E. histolytica* y *E. dispar* son diferentes genéticamente. Estos hallazgos fueron confirmados por Díamond y Clark, quienes propusieron la nomenclatura de *E. histolytica* y *E dispar* para las dos especies, la cual ha sido aceptada.[19]

Otras de las ideas que crearon incertidumbre en el conocimiento de *E. histolytica* fue el concepto de raza pequeña y grande. Von Prowazek, en 1912, descubrió una ameba intestinal con quistes de 6 a 8 um de diámetro, a la cual denominó *E. hartmanni*. *Posteriormente en 1917,* Kucnen y Swellengrebcl y Brugg en 1918, describieron las especies *E. tenuis* y *E. minutissirna*, las cuales fueron consideradas posteriormente como sinónimos de *E. hartmanni* por los mismos autores. Smith, en 1918, construyó una curva de distribución del tamaño de 1.000 quistes obtenidos de 30 casos, y obtuvo una curva bimodal con picos en 7,1 y 12,2 um de diámetro respectivamente, concluyendo que los quistes' de esta especie se dividían en dos razas que diferían sólo en el tamaño. Dohell, en 1919 concluyó que el tamaño de los quistes de *E. histolytica* variaban de 5 a 20 um dependiendo de la raza, y al igual que Wenyon en 1926, relegó a *E. hartmanni* como sinónimo de *E. histolytica*.

Este concepto, conocido como la teoría "unicista", promulgado por estos dos últimos eminentes autores facilitó que el mundo de habla inglesa se adhiriera a esta idea y los "pluralistas" quedaran prácticamente confinados al continente europeo. Brumpt, en 1949, reafirmó el rango de especie *de E. hartmanni* la cual fue aceptada por otros autores. Los estudios estadísticos de Sapero y col. en 1942, demostraron la existencia de dos poblaciones de quistes de tamaños diferentes. Burrows, en 1957 y 1959, realizó estudios morfológicos de la ameba y consideró que se puede diferenciar de *E. histolytica* por el menor tamaño de sus trofozoítos y quistes. A pesar de la clara demostración de la existencia de dos poblaciones de quistes con diferentes tamaños, no fue sino hasta la publicación de estudios morfológicos realizados por Burrows, los estudios de cultivo realizados por Freedman y Elsdon-Dew y los resultados de inmunofluorescencia de Goldman y col., que se demostraron diferencias entre las dos especies.[20]

Otro evento que causó confusión en el panorama de la amebiasis fue el hallazgo en un paciente con diarrea en Laredo, Texas en 1.956 de una ameba morfológicamente igual a *E. histolytica* pero a diferencia de ésta era capaz de crecer a temperatura ambiente. Esta ameba se conoció como la "raza Laredo de *E. histolytica*". Subsecuentemente, se demostraron diferencias antigénicas, enzimática, de susceptibilidad a las drogas y de infectividad en animales de experimentación. Posteriormente, se aislaron más razas del tipo Laredo y se demostró que tanto éstas como la raza conocida como "Huff" no solo toleraban la temperatura ambiente sino diluciones altas del medio ambiente mediante el desarrollo de vacuolas contráctiles.

La raza Laredo de *E. histolytica* es morfológicamente indistinguible de *E. moshkovskii*, especie descrita por primera vez en aguas servidas de Moscú, Rusia por Tshalaia en 1941 y luego en otros países y se consideró como una ameba de vida libre. Ambos tipos de amebas comparten algunos rasgos biológicos, que las diferencian de la clásica *E. histolytica* y *E. dispar*, como la capacidad de crecer a temperatura ambiente la osmotolerancia y la resistencia a la emetina Clarky Diamond en 1991, demostraron, mediante estudios moleculares, que la raza Laredo *de E. histolytica* es una raza de *E. moshkovskü*. Aunque los primeros aislamientos de esta ameba se hicieron de aguas servidas, posteriormente se ha identificado cada vez con mayor frecuencia en humanos. Estas son amebas que probablemente han sido diagnosticadas erróneamente como *E. histolytica*. De tal manera que de las varias especies del género Entamoeba, seis se han identificado en el hombre: *E. coli, E. histolytica, E. dispar, E harrmarnii. E. polecki* y *E rnoshkcvskii*.[2]

Los argumentos controversiales acerca de si *E. histolytica* era una especie o comprendía más de una, o si era siempre un patógeno o un comensal potencialmente patógeno obscurecieron el conocimiento de la correcta reacción parásito-hospedador. Frente a las francas manifestaciones de la disentería y el AHA, el diagnóstico clínico y parasitológico no deben presentar mucha dificultad para los clínicos y parasitólogos expertos. Sin embargo la interpretación del hallazgo de quistes en ausencia de síntomas manifiestos es lo que puede ofrecer dificultad. La literatura está repleta de falsas asociaciones de la ameba con una diversidad de manifestaciones clínicas, tales como síntomas oculares, alergias y artritis reumatoide, lo cual Elsdon-Dew denominó "amebiasis iatrogénica" Este panorama

dudoso se debió en gran parte al concepto de la escuela de Dobell de que *E. histolytica* era un parásito tisular obligatorio.[20]

1.2. Conceptualización Actual

En las dos últimas décadas, la biología molecular ha permitido la caracterización de Entamoeba y la detección de diferencias genéticas, previamente desconocidas, dentro de este género lo cual ha revolucionado su taxonomía y el conocimiento de la epidemiología y la relación parásito-hospedador en la amebiasis. La aplicación de las técnicas moleculares modernas permitió conocer que lo que se conocía clásicamente *histolytica* comprendía dos especies*, E. histolytica y E. dispar*. De las seis especies de Entamoeba que residen en el intestino humano, tres son indistinguibles morfológicamente: *E. histolytica, E. dispar y E. moshkovskii*.

En base a la redefinición de *E. histolytica* se estimó 'que del 10% de la población mundial que alberga *E. histolytica* y *E. dispar,* 90% están colonizados por *E. dispar* y sólo el 10% por *E. histolytica*; sólo una de cada 10 infecciones produce enfermedad. [6]

E. histolytica puede ocasionar infecciones asintomáticas o sintomáticas intestinales o extraintestinales con manifestaciones clínicas de colitis, absceso hepático e infecciones genitourinarias, respiratorias y cerebrales. El portador de quistes, asintomático o ligeramente sintomático, es la forma más común de la infección y representa el 90% de los casos. La infección puede desaparecer espontáneamente sin haber producido enfermedad o conducir a la amebiasis intestinal sintomática u otros tipos de formas clínicas. Estudios longitudinales de individuos con infecciones asintomáticas de *E. histolytica* durante un año, demostraron que de 4 a 10% desarrollaron la enfermedad intestinal o extra intestinal. Se acepta que los perfiles de anticuerpos a *E. histolytica /E. dispar* reportados en estudios seroepidemiológicos de la amebiasis están relacionados a *E. histolytica* y que *E. dispar* no produce reacciones serológicas.

1.3. Avances Recientes

Aunque *E. dispar* se ha considerado como una especie comensal, estudios recientes han identificado esta ameba en pacientes con síntomas gastrointestinales. Sin embargo, hasta el presente, no existen evidencias de una relación causa-efecto entre el parásito y la sintomatología. Existen reportes, algunos basados en estudios

de zimodemos patógenos y no patógenos, de que *E. dispar* puede tener efectos patógenos, tales como la destrucción de monocapas de células epiteliales in vitro, lesiones intestinales focales en animales y cambios patológicos en humanos. Sin embargo, los hallazgos no han cumplido los postulados de Koch y no se han realizado estudios controlados para determinar si *E. dispar* realmente es un patógeno potencial.

Estudios recientes han reportado la presencia de *E. moshkovskii* en humanos de diferentes naciones, tales como Estados Unidos, Italia, Irán, Turquía, Bangladesh, India y Australia. La posición taxonómica de *E. moshkovskii* todavía no se conoce con exactitud; parece ser un complejo de por lo menos dos especies. Este parásito ha sido considerado como un comensal. Sin embargo, estudios recientes en India y Bangladesh lo han identificado como el único probable enteropatógeno potencial en pacientes con manifestaciones gastrointestinales, incluyendo la disentería. Sin embargo, no se sabe si estos pacientes tenían otros agentes bacterianos o virales que fueran patógenos. Se necesitan más estudios para determinar si esta ameba es patógeno potencial.[15]

Los factores que determinan la virulencia de *E. histolytica* continúan siendo un enigma. Las variables dependientes del parásito y del hospedador que contribuyen al desarrollo de la enfermedad no están claras; probablemente exista una interacción compleja entre la genética, inmunidad, nutrición y flora intestinal del hospedador y los rasgos genéticos del parásito. Una posibilidad es que el genotipo de la ameba determine su patogenicidad. Estudios de aislados de *E. histolytica* de diversas áreas geográficas demostraron la existencia de un gran polimorfismo en los genes SREHP y SSG - Se han evidenciado diferencias genéticas entre razas de *E. histolytica* causantes de enfermedad intestinal o hepática mediante la demostración de polimorfismo en el gen SREHP Sin embargo, otro estudio no fue consistente con estos hallazgos.

Estudios de *E. dispar*, usando ADN extraído de muestras fecales y el gen quitinasa como un marcador, revelaron la presencia de diferentes razas en diversas áreas geográficas. Actualmente se ha demostrado polimorfismo variable para estas dos especies indicando su potencial para ser usado como marcador para investigar

la epidemiología de estas amebas. También se han reportado considerables diferencias genéticas en aislados de *E. moshkovskii.* [6]

1.4. Epidemiología

La amebiasis es una de las parasitosis más tempranamente reconocidas y universales, la disentería amébica se presenta frecuentemente en países tropicales aunque también se presentan casos en las zonas templadas y frías.[7]

A nivel mundial es catalogada como la tercera parasitosis que causa muerte, *Entamoeba histolitica* infecta alrededor del 10% (500 millonres) de la población y el 10% de estos infectados (alrededor de 50 millones) padece alguna enfermedad, de las cuales el 80% al 98% presentan disentería y el 2 al 20% llegan a tener lesiones extraintestinales y entre 40 y 110 mil muertes. Esta prevalencia varía mucho entre las distintas regiones del planeta pudiendo ser del 1 -2 % en zonas de clima templado y hasta un 50% en muchos países de zonas calidas y húmedas. Bulgaria, Africa y Asia son las regiones del mundo mas afectadas considerándose zonas endémicas.

En países de America Central y America Latina el parasito muestra un comportamiento endémico, principalmente en Ecuador, Mexico y Brasil. En Mexico la tasa de incidencia de la amebiasis intestinal desde 1995 hasta el año 2000 fue de entre 1000 y 5000 casos/100.000 habitantes/año.

La prevalencia en el Brasil varia de acuerdo a la región, presentaron índices mas elevados Belen, Estado de Para (región norte) donde afecta al 29% de la población; en Fortaleza, Estado de Ceara (región nordeste) la infección detectada fue del 10,6% , en Pernambuco (región nordeste) no se detectaron infección por *Entamoeba histolytica,* estos estudios se realizaron empleando procedimientos inmunológicos. [21]

En Bolivia en una zona rural se encontró un 11,8% de positividad para el complejo *E. histolytica* identificándose el mayor número de caso positivos en las edades comprendidas de 6 a 10 años [32], un estudio realizado por cuatros hospitales como son Hospital Ovidio Aliaga Uria en la ciudad de La Paz, German Bush Urquidi en la ciudad de Cochabamba y Boliviano – Japones y Mario Ortiz de niños en Santa

Cruz, 10/133 dio positivo para el complejo *E.histolytica* y solo 2/10 dio positivo para infección por *E. histolytica* usando el método de ELISA [33] .

En el Municipio de Riberalta – Beni – Bolivia zona ubicada en la Amazonia Boliviana no se cuentan con datos ya que no se reporta la realización de ningún estudio al respecto.

La prevalencia de la amebiasis al igual que casi todas las enfermedades entéricas, varía según el grado de sanidad, y en general es mayor en las regiones tropicales y sub tropicales que en los climas templados. Así mismo tanto la gravedad del padecimiento como la frecuencia de complicaciones son mayores en los trópicos.

La amebiasis es común en las zonas rurales y en los grupos socio económicos más bajos, sin embargo, tratándose de cualquier región este padecimiento es más frecuente en los sitios donde predomina el hacinamiento y puede alcanzar proporciones epidémicas en orfanatos, prisiones y asilos.

Desde el punto de vista epidemiológico es importante diferenciar entre las etapas de infección aguda, crónica y asintomática (o de portador de quistes). La disentería amebiana aguda no tiene importancia en lo que se refiere a la transmisión de la enfermedad, ya que los trofozoitos no pueden sobrevivir durante mucho tiempo fuera del huésped. Los sujetos con infección crónica eliminan trofozoitos o quistes en diferentes momentos, en tanto que los pacientes asintomáticos suelen producir solo quistes, los cuales tienen la mayor importancia para la transmisión del padecimiento, así como una resistencia relativa aunque se destruyen con técnicas de secado, temperaturas superiores a 55º C y cloración de adición de yodo al agua potable. En tanto que en muchas regiones la fuente primaria de infección es el agua contaminada, también lo son las personas que manejan alimentos. En otras regiones el “riego nocturno” con excremento humano para fertilizar, la contaminación de alimentos a partir de moscas y, tal vez cucarachas tienen importancia epidemiológica para la transmisión.[8]

La amebiasis puede transmitirse a través del consumo del agua, incluso en naciones desarrolladas, dado que no se usan marcadores parasitológicos para determinar la pureza del agua; por lo tanto, en toda nación con amebiasis endémica pueden presentarse brotes de infección por consumo de agua contaminada. [6]

Aunque la amebiasis no es una infección oportunista, no es clara la relación entre inmunosupresión e amebiasis. Se ha observado una incidencia creciente de la amebiasis en pacientes con VIH, lo que ha alertado sobre la disminución en la práctica de sexo seguro y sobre la posibilidad de que el VIH sea un factor de riesgo independiente. Sin embargo, no se ha demostrado que la infección por VIH aumente la seriedad de la infección amebiana, aunque algunos autores lo proponen.

En los pacientes con inmunosupresión o aquéllos que residen en zonas tropicales, no hay variables que permitan estratificar el riesgo de presentar infección o de no hacerlo, a pesar de ser los sitios más afectados por esta situación, por lo que es necesario comenzar a controlar los factores de riesgo conocidos (sanidad pública) e investigar otros factores que puedan favorecer la infección.

1.5. La Salud del Niño

Según la ENDSA 2011. la Mortalidad infantil (menores de 1 año) se estima en 42.16 defunciones por mil nacidos vivos, la mortalidad neonatal en 27 muertos por mil nacidos vivos y la de menores de 5 años es de 50 muertos por cada mil nacidos vivos.

La mortalidad infantil es más elevada en el área rural que en la urbana (75 y 43 muertos por mil nacidos vivos, respectivamente) datos del 2008; las diferencias más importantes se presenta según el nivel de instrucción de las madres, pues en mujeres sin instrucción mueren 87/1000 de sus niños antes de cumplir un año, frente a 33/1000 hijos de mujeres con instrucción superior. También se observa una alta mortalidad infantil cuando el intervalo intergenésico es menor a dos años: 79/1000 nacidos vivos.[1]

Ya en un contexto geográfico, Oruro y Potosí presentan las tasas más alta, de mortalidad infantil (88 y 72/1000 respectivamente) en comparación a 29/1000 en Tarija o 33/1000 en Beni y Pando. Al igual que otras variables demográficas las da mortalidad son cuestionables por errores de declaración; ello se atribuye sobre todo, a las características de las inhumaciones en los cementerios rurales, donde casi nunca se registran los decesos. Según la Dirección Nacional de Registro civil.

En cuanto a la mortalidad diferenciada, 36% de las muertes de menores de 5 años se atribuyen a diarrea, 20% a neumonía, 16% a causas perinatales, 3% a enfermedades inmunoprevenibles y 25% a otras causas.[9]

1.6. Entamoeba histolytica

Es un protozoo parasito anaerobio en forma ameboide, es patógeno para el hombre y los canidos causando amebiasis incluyendo colitis amebica y absceso hepático y cerebral**.**

1.6.1. Morfologia

Se pueden distinguir varias formas o fases de desarrollo.

* **Trofozoito:** es la forma móvil de la especie. Se caracteriza por tener un nucleo con una concentración de cromatina puntiforme y generalmente concéntrica llamado cariosoma central, asi como la formación de cromatina en la periferia del nucleo.

* **Forma magna:** tipo de trofozoíto muy patógeno causante de la disentería amebiana. Mide de 20 a 30 um que ingiere glóbulos rojos, está rodeada de pseudópodos que le permiten motilidad continua.

* **Forma minuta:** trofozoíto no patógeno, mide de 10 a 20 um y no ingiere glóbulos rojos.

* **Quiste:** forma infectante, contiene de 1 a 4 núcleos, de forma redondeada, refringente con una membrana claramente demarcada, en el citoplasma se pueden ver con frecuencia de 1 a 3 inclusiones de glucógeno oscuras llamadas cuerpos comatidales.

* **Metaquistes:** poseen las mismas características que los quistes por derivarse de estas durante el proceso de desenquistamiento en la luz del colon proximal. Son estos los que darán origen a los trofozoítos por lo que tienen una membrana más irregular y delgada que un quiste.

1.6.2. Ciclo de Vida

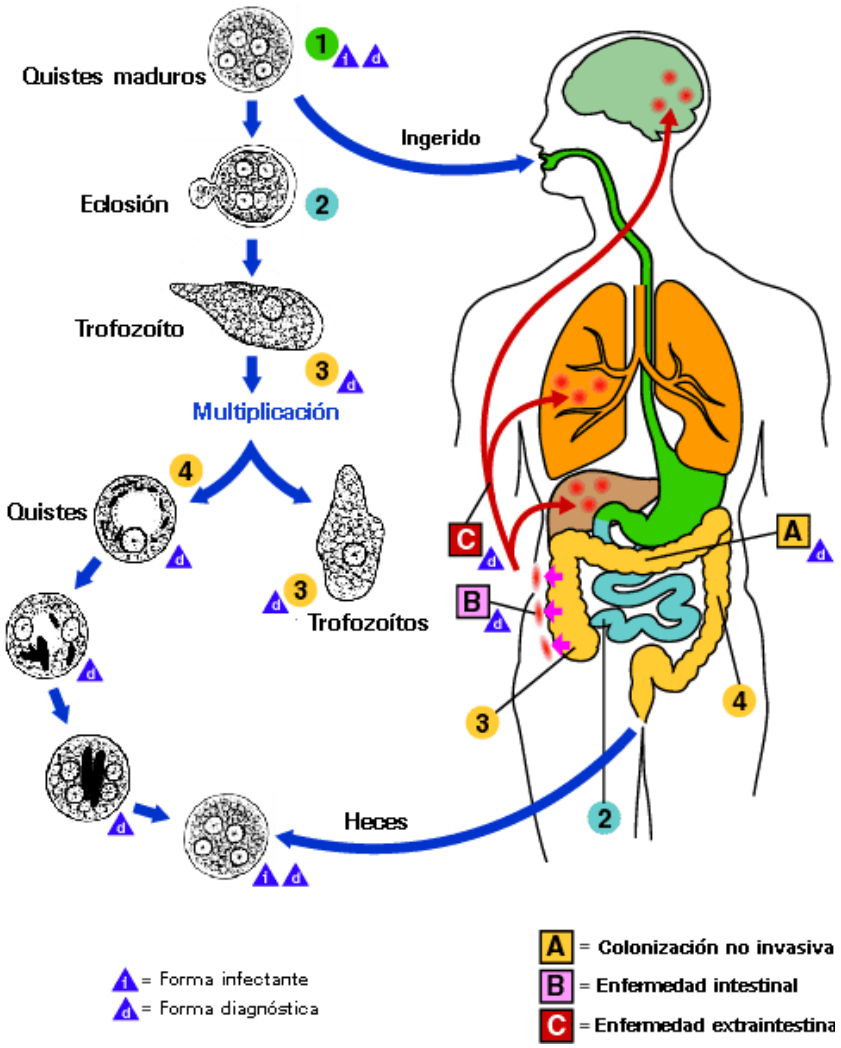

Figura 1 - Ciclo de vida de la *Entamoeba histolytica*[1]

Los quiste son excretadas por las heces de personas infectadas, tras ingerir agua o alimento contaminados pasan por el estómago sin modificarse llegando hasta la porción inicial del colon, el ciego donde se induce a su transformación en metaquistes las cuales se dividen en 8 trofozoitos , estas se adhieren fuertemente a las mucosa del colon multiplicándose y pudiendo causar muchas dolencia, algunas metaquiste se transforman en forma quística que no se adhieren a la mucosa y son expelidas en las heces.[22]

1.6.3. Modo de Transmisión

La vía es fecal – oral, el hombre es el principal reservorio. La infección es por ingesta de quistes a través de las manos, verduras, moscas, cucarachas, agua, etc.

contaminadas con heces infectadas por quistes. También se transmite por contacto sexual. Son reservorios animales como perros y roedores.

1.7. Amebiasis

Es la forma de diarrea infecciosa con sangre y moco, causada por *Entamoeba histolytica*, pudiendo además atacar el hígado causando un acceso hepático amebiano también puede producir abceso cerebral aunque es muy raro ya que se encontró alrededor de 100 casos en todo el mundo.

Los diferentes laboratorios informan en forma sobredimensionada a la *E. histolytica*, porque al no completar las pruebas con ciertas tinciones suelen confundir los leucocitos con parásitos y desconocer la presencia de *Entamoeba dispar*. En el momento no todos los laboratorios de Bolivia utilizan herramientas inmunológicas y moleculares que permitan su diferenciación (marcadores de patogenicidad) por lo que solamente nos basamos en aspectos morfológicos: a esto se debe que la interpretación clínica de los resultados de laboratorio no den un criterio uniforme, y no existe una sistematización documentada de la patogenia involucrada.[10]

Los casos de amebiasis intestinal aguda (colitis ulcerativa amebiana), con un síndrome diarreico o disentérico no son frecuentes y excepcionalmente se reconocen pacientes con absceso hepático amebiano.

De ahí que para confirmar el diagnóstico de infestación por *E. histolytica* o *Entamoeba dispar*, basta con ver la morfología de los quistes en solución de lugol y por ello, las investigaciones anteriores deben incluir tanto a *E. histolytica* como la *Entamoeba dispar*.

Bravo realizó un estudio en 30 niños menores de diez años provenientes de zona urbana de Sucre (Venezuela), con diagnóstico de disentería; 94% de ellos tenían en el examen citodiagnóstico alguna forma evolutiva de *Entamoeba histolytica* solamente el 50% de estos tuvieron serología positiva, Gaspar completó esta investigación en 100 niños de zonas suburbanas de Sucre, encontrando 24 parasitados con amebas .[11]

Esteban y cols. informaron de dos encuestas (123 y 254 niños), desarrolladas en el Altiplano norte, encontrando una prevalencia de *E. histolytica* y/o *Entamoeba*

dispar de 7,3 - 7,9% respectivamente; el aislamiento de *Dientamoeba fragilis* ocurrió en el 0,8% de niños en ambas encuestas.

En todo caso, la información recolectada no reveló la observación de amebas de vida libre.

En Riberalta, se realizó la determinación de la parasitosis más frecuente en pacientes pediátricos en el Hospital Obrero 69 en el periodo de septiembre a noviembre del 2010, por el Dr. Ursus Javier Laura Aimamri (Medicina familiar), donde menciona que por los factores sociales, económicos y en especial al medio ambiente de la población de Riberalta no está exenta de las parasitosis, indicando que un porcentaje elevado de la población es portador de parásitos en heces **,** aunque en la mayoría de los casos en forma asintomática siendo la *Entamoeba histolytica*, el protozoo de mayor prevalencia. El método de diagnóstico utilizado fue la microscopía simple mostrándonos nuevamente que no es el mejor método para determinar la presencia de esta ameba, siendo necesario buscar otros métodos más específicos como el ELISA o PCR.

1.8. Patogenia

Gran parte del armamento enzimático que se estima que emplea *E. histolytica* y que probablemente le confiere su modo de acción patogénica lo coloca entre los organismos llamados Zimodemo II. Se piensa que la presencia en el organismo o la capacidad de uso mayor o menor de dicho armamento enzimático confieren a las diferentes cepas sus características virulentas, siendo más dañinas las que combinen el mayor número de estos componentes. En efecto, el uso de ese repertorio enzimático del grupo Zimodemo II es el método más común para diferenciar entre un organismo patógeno o no patógeno de *Entamoeba histolytica*[3]. Algunos de los factores patogénicos principales que aumentan la capacidad de causar daño al hospedador humano, son:

• Actividad colagenasa. Los trofozoítos tienen propiedades secretoras bioquímicas con actividad de proteasas, que degradan el colágeno, como en el tejido hepático, pudiendo ser ese uno de los métodos para la formación de los abscesos hepáticos.

• Enzimas proteolíticas. Además de colagenasas, se ha demostrado la acción de una enzima cito tóxica muy parecida a la catepsina B llamada EhCP112, implicada en la disolución de la matriz intercelular que mantiene unidas las células de la mucosa epitelial. Tiene también un efecto destructivo en contra de ciertas células en el cuerpo leucocitarias.

• Proteínas formadoras de poros. La producción de estas moléculas ocasiona lisis en la célula diana por medio de cambios osmóticos.

• Sustancias neuro-hormonales, Se les ha culpado de conferir a ciertas cepas la facultad de crear disturbios en el transporte intestinal de electrolitos, cualidad de las diarreas perdedoras de volumen.

1.9. Patología

Las lesiones por *E. histolytica* pueden ser intestinales o extra intestinales potencialmente involucrando a varios órganos.

El grado de patología del agente dependerá del tipo de cepa, cantidad y localización, y de la extensión de la invasión tisular. Con respecto al huésped es importante la predisposición, la edad, el sexo y el estado nutricional e inmunológico.

1.9.1. Lesiones intestinales

Se caracteriza por presentar evacuaciones pequeñas y numerosas con moco, sangre y poco contenido fecal. El paciente tiene dolor abdominal, pujos y tenesmo.

La patología intestinal ocurre principalmente en cualquier parte del colon, en particular el ciego, sigmoides y el recto. La interacción inicial del trofozoíto conlleva a lisis de las células diana, probablemente por acción proteolitica de lectinas. Una vez atravesado el epitelio intestinal, penetra por la capa de la *muscularis mucosae* e instala hábitat en la submucosa, formando una apertura pequeña de entrada con un fondo ancho, que tiene la apariencia histológica de un botón de camisa o en matraz. La reacción inflamatoria resu1tante en el tejido intestinal produce nódulos que progresan a úlceras y subsecuente necrosis localizada corno resultado de trastornos del riego sanguíneo. La resistencia del parásito al ataque del sistema del complemento, hace que pueda sobrevivir en medio de un sobrepoblación infiltrativa de células linfocitarias (célula plasmáticas, linfocitos, eosinófilos, etc).

1.9.2. Lesiones extraintestinales

Amebiasis hepática (hepatitis y absceso hepático): se origina por diseminación de la infección de la mucosa intestinal a través de la circulación portal. Se caracteriza por hepatomegalia (aumento de tamaño del hígado) dolorosa, con irradiación al hombro del mismo lado. Hay fiebre mayor de 38°C y mal estado general.

La complicación más frecuente es la ruptura del absceso hacia pleura, peritoneo, bronquios o pericardio.

El material necrótico del absceso se caracteriza por su color y aspecto chocolatado, generalmente sin trofozoitos ni bacterias.

El parenquima hepático que rodea al absceso tiene baja reacción inflamatoria y presenta abundantes trofozoitos.

Es más frecuente en adultos varones. Generalmente no se encuentran trofozoitos en las heces.

Amebiasis cutánea: se caracteriza por una ulceración de la piel, de bordes elevados enrojecidos y dolorosos, que sangra con facilidad y se extiende muy rápidamente, pudiendo llegar a destruir el tejido subcutáneo.

Se produce por diseminación fecal o fistulización de un absceso amebiano.

Amebiasis genital: se la ha hallado en vulva, vagina y útero en la mujer y pene en el hombre.

1.9.3. Otras localizaciones

Se han descrito abscesos en pulmón, riñón, cerebro, etc., que se producen por vía hematógena.

Al comenzar a multiplicarse los trofozoítos la mayoría de las infecciones son controladas por el sistema inmunitario no habiendo generalmente síntomas pero sí excreción de quistes Infecciosos.

A medida que aumenta el número de parásitos, provocan la destrucción de la mucosa intestinal con ruptura de los vasos sanguíneos y destrucción de las células caliciformes que almacenan el moco. El sistema inmunitario rechaza su presencia

generando focos diseminados de inflamación del intestino. El resultado es la mala absorción de agua y nutrientes de los alimentos (debida a la destrucción de las vellosidades de los enterocitos) con diarrea sanguinolienta y con moco.

Otros síntomas frecuentes son los intestinales, náuseas y vómitos La formación de ulceras intestinales y las pérdidas de sangre pueden causar anemia por déficit de hierro, especialmente en las mujeres. La disentería amebiana puede ser recurrente, con períodos asintomáticos y sintomáticos, durante muchos años. A veces ocurren infecciones bacterianas asociadas debido a la fractura de la mucosa del intestino.

1.10. Diagnóstico

Durante mucho tiempo la confirmación parasitológica del diagnóstico se realizó por estudios microscópico para la visualización dela morfología del protozoario. Sin embargo, el descubrimiento de *E. dispar* que morfológicamente es idéntica a *E. histolytica* resalto las deficiencias este método.

Para conocer con precisión la prevalencia, transmisión y epidemiología de las enfermedades parasitarias, se requiere el empleo de métodos diagnósticos que deberían ser simples, sensibles, específicos, reproducibles y al alcance de cualquier laboratorio.

La Organización Mundial de la Salud ha hecho énfasis en la necesidad de profundizar los estudios para lograr una estandarización del diagnóstico seguro y precoz de las infecciones parasitarias, la alta morbilidad y mortalidad de algunas infecciones parasitarias deben considerarse a la hora de evaluar los métodos diagnósticos, sobre todo en ámbitos geográficos de alta prevalencia.

El diagnóstico adecuado de *E. histolytica* es de suma importancia, no solo para los pacientes con la enfermedad sino también para aquellos que tienen infecciones asintomáticas ya que estas se pueden transmitir con facilidad de persona a persona, especialmente en el mundo en vías de desarrollo donde prevalecen el inadecuado saneamiento ambiental y tratamiento de agua potable.[13]

1.10.1. Método microscópico

El examen directo con solución salina y lugol ha sido la primera línea para la visualización del parásito, tanto de trofozoitos como quistes, también se han utilizado

otras técnicas de concentración y de fijación con el fin de precisar características morfológicas.[14]

En el examen directo de heces, el análisis morfológico de estructuras, inclusiones citoplasmáticas y elementos fagocitados como eritrocitos, junto con la movilidad del parásito son fuertes indicadores del potencial patogénicos, estos procedimientos además de requerir personal especializado, resultan ser laboriosos, de baja sensibilidad y con frecuencia generan resultados positivos falsos por la confusión introducida por otras células.

Existe dificultad para diferenciar entre un trofozoito inmóvil de un leucocito, macrófago y células tisulares. La calidad de la muestra depende de que el recipiente sea limpio, seco y libre de orina y agua igualmente pueden interferir (laxante, antibióticos como tetraciclina, sulfonamidas, antiácidos, catárticos como sulfato de magnesio, antidiarreicos).

Para mejorar la sensibilidad del examen microscópico se ha recurrido a la realización de exámenes seriales y se afirma que en ocasiones son necesarias hasta 12 determinaciones en el mismo paciente. Estos hechos hacen del examen parasitológicos una técnica poco versátil impulsándose asi la investigación en busca de otros métodos más sensibles y prácticos.[15]

1.10.2. Diagnóstico Inmunológico

Son procedimientos de confirmación diagnóstica para la detección de anticuerpos en diferentes fluidos biológicos. La evaluación de la respuesta humoral se ha podido llevar a cabo gracias a la obtención de antígenos parasitarios libres de cualquier otra célula con efecto metabólico o purificados a partir de ingeniería genética, anticuerpos poli y monoclonales de alta especificidad y sensibilidad.

La respuesta inmunológica específica se inicia cuando el parásito entra en contacto con las células del sistema inmunológico, luego de romper las barreras primarias de defensa. Generalmente el microorganismo o sus proteínas son atrapados por los macrófagos y las células foliculares interdigitante de los ganglios linfáticos, bazo o el tejido linfoide asociado a mucosas. Estas células son capaces de internalizar y procesar los antígenos en sus compartimientos endosómicos, para luego expresar péptidos antigénicos asociados con moléculas del complejo mayor

de histocompatibilidad (NHC) de clase II; de esta manera se crean las condiciones ideales para el inicio de una respuesta inmunológica. Los linfocitos B pueden interactuar directamente con los antígenos a través de sus receptores de membrana tipo inmunoglobulina, mientras que los linfocitos T CD4+ colaboradores (Th) reconocen al péptido antigénico incrustado en las moléculas NHC de clase II, sobre la célula que lo proceso.[16]

Las células que han sido capaces de reconocer a los antígenos parasitarios comenzaran a interactuar y a estimularse entre sí para inducir por un lado, la proliferación y diferenciación de los linfocitos B hacia células productoras de anticuerpos específicos, y por el otro, la proliferación y diferenciación de los linfocitos Th, bien sea hacia células del tipo 1 (Th1) productoras de interferón gamma inductoras de respuestas mediadas por células, o hacia células del tipo 2 (Th2) generadoras de interleucina 4 y de la respuesta mediada por anticuerpos o humoral.

Los parásitos extracelulares como *E. histolytica* y algunas especies de *Trypanosoma* despiertan respuestas pero dominantemente de anticuerpos y dirigidas por linfocitos Th 2, ya que son demasiado grandes para ser fagocitados o lisados por las células citotóxicas. Aunque todavía se desconoce si la desviación hacia Th2 es producto de un mecanismo de evasión que los parásitos han desarrollado a lo largo de la evolución, para escapar de las respuestas Th1, potencialmente dañinas.

Estas reacciones están definitivamente presentes en muchas infecciones por microorganismos extracelulares gobernadas por linfocitos Th 2, que se caracterizan por una producción muy importante de anticuerpos específicos de todas las clases (IgM, IgG, IgA e IgE), cada uno de éstas con funciones particulares, como lo son la lisis celular mediada por las proteínas del complemento (IgG1, IgG3 e IgM), la facilitación de la fagocitosis mediante la opsonozación de organismos extraños (IgG1, IgG 3, IgAs e IgE), la citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (IgG 1, IgG 3 e IgE), y la protección de las mucosas contra la adhesión e invasión de agentes microbianos (IgAs, IgG e IgM).[16]

1.10.3. ELISA

La técnica de ELISA es uno de los mejores métodos para el inmunodiagnostico debido a su alta sensibilidad (95%-100 %), de gran utilidad para

evaluaciones epidemiológicas. Es especialmente apropiado en las formas invasora de la amebiasis, ya que en la intestinal, principalmente en los pacientes sin diarrea, generalmente pocos anticuerpos circulantes son detectados por las pruebas serológicas. Es un ensayo ideal para la rutina del laboratorio, teniendo la ventaja de que no requieren personal especializado y que permiten el procesamiento simultaneo de un volumen elevado de muestras. El ELISA consiste en una prueba heterogénea con conjudados enzimaticos unidos a anticuerpos que se emplean en la reacción de tinción inmunoquimica. Este método puede ser de varios tipo: competitivos, no competitivos, directos, indirectos y otras variantes. Se ha utilizado para determinar hormonas, drogas y cuantificar antígenos o anticuerpos presentes en infecciones bacterianas, micoticas, parasitarias o por virus.

La técnica ELISA (Enzyme Linked Inmunoabsorvent Assay) se basa en la detección de un antígeno inmovilizado sobre una fase sólida mediante anticuerpos que directa o indirectamente producen una reacción cuyo producto, por ejemplo un colorante, puede ser medido espectófotométricamente. Este principio tiene muchas de las propiedades de un inmunoensayo ideal: es versátil, robusto, simple en su realización, emplea reactivos económicos y consigue, mediante el uso de la fase sólida, de una separación fácil entre la fracción retenida y la fracción libre (Pumarola, et al., 1987).

La técnica ELISA ha sido muy usada para determinar diferencias entre *E. histolytica* y *E. Dispar*: En los años posteriores a 1978, se desarrollaron anticuerpos monoclonales contra varios antígenos que permiten diferenciar las cepas invasoras de las no invasoras. Dentro de estos se encuentran: la lectina de adherencia Gal/GalNac (GIÁP), un antígeno de superficie de 96 kDa, un antígeno proteínico interno de 81-84 kDa, una proteína hidrofilica de membrana de 29 kDA/30 kDa, así como el antígeno aislado de los gránulos electrodensos (EDG) producidos al interactuar trofozoitos del parásito con colágeno “in vitro” (Reyes y León,2002).

Otros métodos más específicos utilizan la lectina denominada GIAP. Esta lectina de 260 kDa presenta dos subunidades: una pesada de 170 kDa unida por puentes disulfuro con otra subunidad liviana de 35 kDa. La subunidad de 170 kDa es antigénicamente conservada y además es inmunogénica, por el contrario la de 35 kDa no desarrolla una respuesta inmune. Por lo anterior, el antígeno de 170 kDa ha

sido utilizado tanto para la detección de anticuerpos, como para el desarrollo de anticuerpos monoclonales que permiten su identificación directamente en las heces. Se ha desarrollado anticuerpos monoclonales contra esta subunidad y establecido la presencia de al menos 6 epitopos importantes como posibles herramientas para la diferenciación de E. histolytica, E. dispar. Dos de estos anticuerpos monoclonales reconocen dos epitopos presentes en ambas especies y los cuatro restantes reconocen epitopos que se encuentran sólo en la especie patógena (Reyes y León, 2002).

Los procedimientos de captura antigénica para la detección de antígenos resultan ser las modalidades más objetivas del Elisa en la aproximación diagnostica por haber sido diseñada para la demostración en forma directa del parasito o sus productos; algunas de ellas permiten inclusive diferenciar las amebas patógenas de las no patógenas.[14]

Entre otras técnicas utilizadas para el diagnóstico de infección por *E. histolytica* están: PCR, AP—PCR, ISOENZIMAS, Electroforesis de isoenzimas, IFI,HAI,Radioinmunoensayo.

1.11. Contexto de la Investigación

Aspectos Físicos – Geográficos De Riberalta – Bolivia

Riberalta es la capital de la provincia Vaca Diez del Departamento Beni en el Estado Plurinacional de Bolivia. El Censo de Población y Vivienda realizado el año 2012 reporta que Riberalta tiene 78.754 habitantes. Los límites del municipio son, al Este con el municipio de Guayaramerín, al Sur con la provincia Ballivian y Yacuma del departamento del Beni, al Norte con el Departamento de Pando y al Oeste con la provincia Madre de Dios y Manuripi del departamento de Pando. (Figura 2)

La altitud media es de 172 metros sobre el nivel del mar, la fisiografía es bastante homogénea, típica de la zona amazónica. El relieve pertenece a las cuencas amazónicas bolivianas que corresponde a la clasificación de las selvas húmedas ecuatoriales.

La temperatura promedio anual es de 26ºC; La precipitación promedio anual es de 1500ml, el 90% se registra entre los meses de octubre a marzo y el 10% entre los otros meses. La humedad relativa ambiental promedio es de 85% en época de lluvia y 30% en época seca (AASANA), la evapotranspiración de los bosques húmedos tropicales es de 15%, característico de la amazonia húmeda tropical.

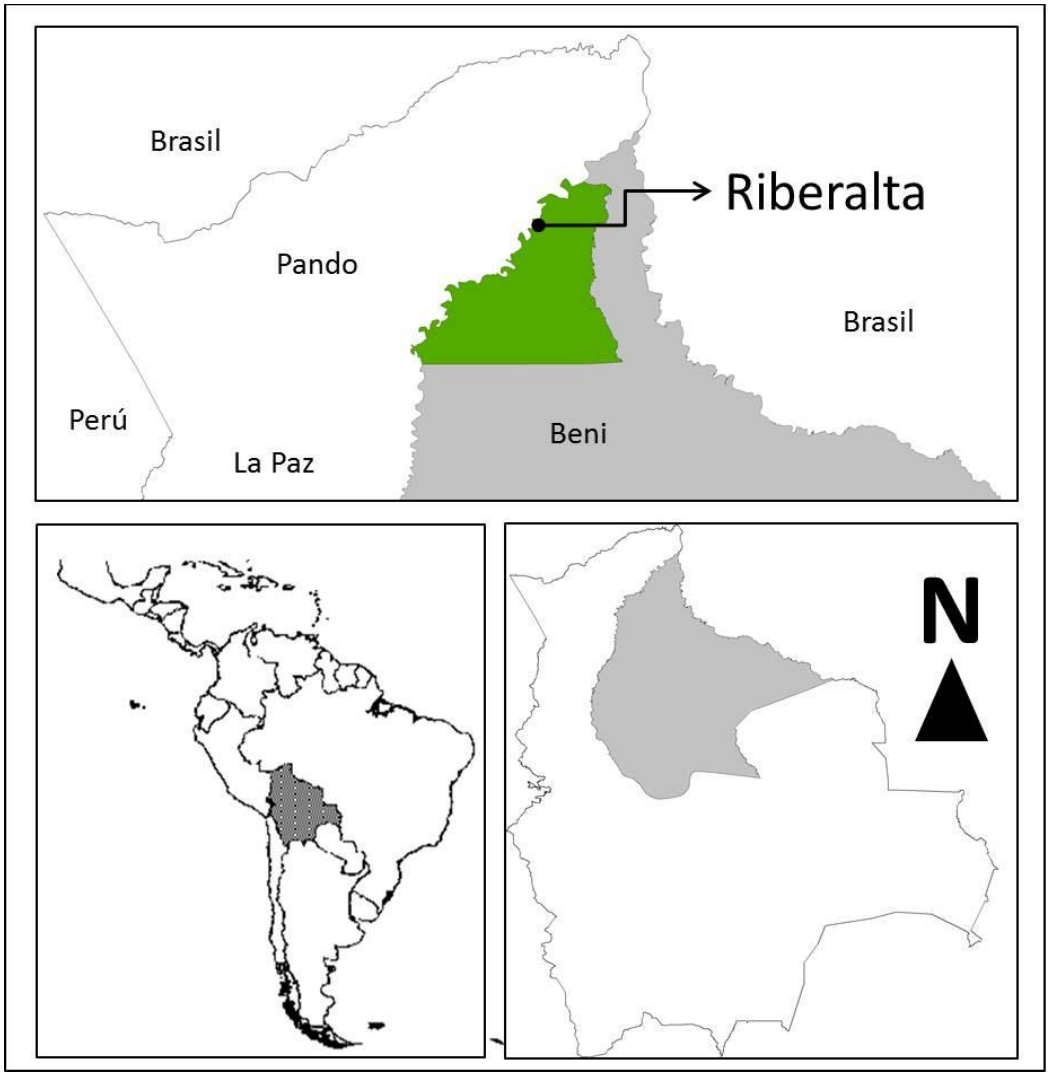

Figura 2 - Mapa de ubicación geográfica de Riberalta.

2. JUSTIFICACIÓN

De las muchas enfermedades que confrontan las zonas tropicales se destaca a la amebiasis, que por ser una real expresión de la falta de un diagnóstico adecuado conlleva a complicaciones intestinales y extraintestinales de gravedad. Este fenómeno probablemente se da también en el municipio de Riberalta localizado en el área amazónica boliviana, particularmente en los centros de salud y hospitales.

En Bolivia se cuenta con estudios realizados en otros Departamentos donde la prevalencia de *E. histolytica* es baja encontrándose más bien la presencia de *Entamoeba dispar*, la que está clasificada como no patógena. En Riberalta no se cuenta con un estudio realizado sobre el tema, pero se debe tomar en cuenta que las condiciones ambientales, socioculturales y económicas son propicias para la presencia del protozoo y una mayor predisposición de adquirirlo.

En el laboratorio del Hospital Materno Infantil de Riberalta se está observando actualmente un alto porcentaje de resultados positivos para el complejo *E. histolytica* determinada por microscopia simple presentada en niños menores de cinco años que acuden a consulta al Hospital Materno Infantil Reidun Roinne necesitando en la mayoría de los casos hospitalización.

El no contar con el diagnóstico correcto hace que no se cuente con el tratamiento adecuado lo cual puede llevar a complicaciones intestinales y extra intestinales además puede ser causa de una permanencia prolongada en el hospital pudiendo llegar a ser fatales en algunos casos, esta es la identificación del problema clìnico,asi la identificación del problema es determinar si la *E. histolytica* esta presente o no en la Amazonìa Boliviana.

Mediante este trabajo de investigación se implementaron en al laboratorio del Hospital Materno Infantil de Riberalta pruebas inmunológicas (TEST DE ELISA) para determinar la presencia de *E. histolytica* mediante la búsqueda de antígenos parasitarios.

3. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

3.1. Hipótesis

La *E. histolytica* está presente en niños menores de cinco años con cuadros diarreicos y que acuden al Hospital Materno Infantil Reidun Roine de Riberalta (Bolivia).

3.2. Objetivos

3.2.1. Objetivo General

Determinar la presencia de infección por *E. histolytica* en niños menores de cinco años que acuden al Hospital Materno Infantil Reidun Roine de Riberalta (Bolivia) y que presentan cuadros diarreicos.

3.2.2. Objetivos Específicos

- **Obj.1**. Determinar el porcentaje de casos positivos de *E. histolytica* en muestras de heces a través del método Enzyme Linked Inmunoabsorvent assay (ELISA).
- **Obj.2.** Identificar las características clínicas de las infecciones por *Entamoeba histolytica.*
- **Obj. 3.** Determinar el porcentaje de casos positivos de parásitos intestinales en la población de niños estudiada.

4. MATERIAL Y MÉTODOS:

4.1. Modelo de Estudio

El presente estudio de investigación es de tipo descriptivo y transversal.

4.2. Población de Estudio.

Niños entre las edades de 0 a 5 años con cuadros diarreicos que acuden a consultas al Hospital Materno Infantil Reidun Roine –Riberalta – Beni – Bolivia en el periodo de agosto 2013 a diciembre 2013.

4.3. Muestra

El tamaño de la muestra se ha calculado para estimar una proporción esperada de *E. histolytica* del 30% con un error del 20% y un intervalo de confianza del 95%. Los cálculos han sido realizados con el EPIDAF 3.1. El tamaño mínimo de la muestra es de 156 niños.

4.4. Reclutamiento de la muestra

Se han reclutado los primeros 156 niños entre 0 a 5 años de edad con cuadros diarreicos que acudieron al Hospital Materno Infantil Reidun Roine de Riberalta en el periodo de Agosto 2013 a Diciembre 2013

4.5. Criterios de Selección de muestras

4.5.1. Criterios de Inclusión:

- Niños comprendidos entre las edades de 0 a 5 años con cuadros diarreicos que acuden a consulta al Hospital Materno Infantil Reidun Roine.
- Niños comprendidos entre las edades de 0 – 5 años con cuatros diarreicos hospitalizados en el Hospital Materno Infantil Reidun Roine.

4.5.2. Criterios de Exclusión:

- Niños de 0 – 5 años con cuadros diarreicos que no acuden a consultas al Hospital Materno Infantil Reidun Roine.
- Niños de 0 – 5 años con cuadro diarreico y que no se pudieron recolectar las muestras de heces fecales.

4.6. Desarrollo del Estudio

Este estudio se realizó entre agosto 2013 hasta diciembre 2013 en el Hospital Materno Infantil Reidun Roine de la ciudad de Riberalta – Bolivia.

La selección de los pacientes para el estudio fue de acuerdo a la edad (de 0-5 años) que asisten a consultas pediátricas del Hospital Materno Infantil Reidun Roine de Riberalta y que presenten cuadros diarreicos.

Para la recolección de la muestra se orientó al tutor del niño que la muestra debe ser recogida en un envase estéril con tapa rosca debiendo ser la recolección en forma directa y no del pañal, y posteriormente transportarla lo más rápido posible al laboratorio. En caso de niños hospitalizados se realizó la misma orientación al personal de enfermería. El llenado del cuestionario que contempla la recolección de información referente a datos demográficos y clínicos fue realizado en el momento de la consulta médica.

Una vez recolectadas las muestras en el laboratorio se llevaron a cabo los siguientes pasos:

- Primero, realizar un examen microscópico directo usando solución fisiológica y lugol para la búsqueda de Trofozoitos de *E. histolytica*.
- Como segundo paso se realizó la técnica de concentración Ritchie siguiendo todos los pasos que indica la técnica.
- Luego se procedió a congelar las muestras a -20° centígrado en pequeñas alícuotas
- Realizar el Test de ELISA directo que es básicamente una prueba empleada para la detección de antígenos. Este método de Inmunoensayo tiene un enorme marco de aplicaciones en los campos de detección de antígenos mediante productos de anticuerpos, esto sumando a que es relativamente simple de hacer, es versátil, eficaz y económico. El equipo utilizado fue el Stat Fax 303 Plus, Modelo 303 Plus.

4.7. Técnicas Para el Estudio y Procedimientos de Recolección

Las técnicas fueron realizadas en el laboratorio de análisis clínico del Hospital Materno Infantil Reidun Roine de Riberalta – Bolivia.

4.7.1. Coproparasitológico

Muestra: Heces

Características de la muestra: El recipiente con boca ancha y tapa rosca.

Cantidad: 3 – 6 gr.

Condiciones óptimas: no debe estar mezclado con orina, llevar la muestra al laboratorio lo más pronto posible.

Registro de datos: Se deben registrar los siguientes datos: nombre, edad, sexo, barrio, signos y síntomas, número de deposiciones, fecha de inicio de la diarrea.

Procedimiento:

- Las muestras se recolectan en envases estériles de boca ancha y tapa rosca, los frascos fueron identificados con el número correspondientes de acuerdo al orden de llegada.
- Junto a las muestras se recibió el cuestionario que fue llenado por el profesional médico en la consulta y/o visita médica.
- Se verifico que todos los datos del cuestionario estén debidamente llenados, completando en algunos casos en el momento de la recepción de la muestra.
- Se registraron datos del paciente como nombre, edad, sexo, barrio y fecha de recepción.

4.7.1.1. Método Directo:

Una vez recibida la muestra lo más pronto posible se realiza el examen macroscópico y microscópico, realizándose preparaciones húmedas con solución salina y solución lugol para la observación sobre todo de la forma trofozoito.

- **Material:**
  - Porta objeto
  - Cubre objetos.
  - Aplicador de madera
  - Solución fisiológica
  - Solución de lugol
  - Lápiz graso o marcador.

- **Técnica:**
  - Se homogeniza la muestra de material fecal y se escoge la parte más representativa (con estrías de sangre y/o moco).
  - Marcar el número de identificación de la muestra en un extremo del porta objeto.
  - Se coloca una gota de solución salina (al 0,9%) y una gota de lugol en el porta objeto.
  - En las gotas se carga una porción pequeña de la muestra tomada con un aplicador de madera.
  - Se homogeniza bien cada gota y se coloca encima cubre objeto.
  - Examinar al microscopio con aumento de 10 x 40 x según sea necesario confirmar la observación.

4.7.1.2. Coproparasitológico por Enriquecimiento - Método de Richie Modificado

- Colocar 3 ml de solución salina en un tubo conico de 15 ml.
- Disolver una cantidad de heces fecales en la solución salina.
- Enrasar a 7 ml con formol al 10%, homogeneizar bien, dejar en reposo durante media hora.
- Colocar en un embudo 3 capas de gasa y filtrar a un tubo de 10 ml.
- Enrasar a 8 ml con solución salina, mezclar bien (con fuerza) con el tubo tapado.
- Centrifugar a 1500 r.p.m por 3 minutos
- Decantar con cuidado el sobrenadante (verificando que quede sedimento).
- Se resuspende hasta 8 ml del tubo con solución de formol al 10% mezclar
- Enrasar a 10 ml con éter. Mezclar bien. (con fuerza).
- Centrifugar a 1500 r.p.m. por 3 minutos. Eliminar el sobrenadante.
- Colocar en un porta objeto una gota de solución salina en un costado y en el otro una gota de lugol.
- Añadir a estas gotas una gota del sedimento obtenido.
- Colocar las cubre objetos a cada preparado.
- Examinar al microscopio con aumento de 10x, 40x según sea necesario confirmar la observación.

4.7.1.3. Test ELISA: (Enzyne Linked Inmunoabsorvent Assay)

Se usó el reactivo de RIDASCREEN *Entamoeba* (C1701) para el diagnóstico in vitro este test es un enzimoinmunoensayo para la identificación cualitativa de *E. histolytica*.

Las heces a usarse previamente fueron congeladas a -20º C sin la adición de ningún conservante

Técnica:

- Ajustar la microplaca ***plate*** y reactivos a temperatura ambiente (20 – 25º C)
- Dilución 1: 10 del buffer de lavado ***wash*** con agua destilada.
- Dilución 1:11 de las muestras de heces con el buffer de dilución de muestras ***diluent.***
- Colocar las tiras de microtitulacion necesaria en el marco de soporte.
- Echar 2 gotas o 100 ml de control positivo ***control +*** , control negativo ***diluent*** o muestra.
- Echar 2 gts a 100 ml de conjugado ***conjugate***
- 60 minutos de incuvacion a temperatura ambiente (20 – 25º C).
- Lavar 5 veces con 300 ml de buffer de lavado
- Echar 2 gts a 100 ml de sustrato ***substrate***.
- 15 minutos de incubación a temperatura ambiente (20 – 25º C) en la oscuridad
- Adición de 1 gota o 50 ml de reactivo de parada ***Stop..***
- Evaluación fotométrica a 450 nm (opcional: longitud de onda de referencia > 600nm).
- El test ha transcurrido correctamente, si el valor de absorvancia del control negativo a 450 nm es mayor de 0,8. Si estos valores nominales esperados no se obtienen, se debe repetir el test.
- **Evaluación del método**
  - **Cálculo del valor limite**
    - Cut off = valor de Extinción del control negativo +*0,15*
    - Resultado del test.
    - Se evalúa como positiva las muestras cuyo valor de observancia se encuentra más de 10% por sobre el valor límite calculado.

- Se denominan como muestras de valores límites y que deben repetirse aquellas cuyo valor de absorvancia está en el rango de 10% por encima o por debajo del valor límite. Si en la repetición se mide nuevamente un valor con el rango de valores limites, entonces se debe evaluar la muestra como negativa.
- Se evalúan como negativas las muestras cuyo valor de absorvancia se encuentra más de 10% por debajo del valor límite calculado.

5. RESULTADOS

5.1. Características de la población estudiada

Se realizó el estudio en 156 niños menores de 5 años que acudieron al Hospital Materno Infantil Reidun Roine de Riberalta con cuadros diarreicos ,de los cuales 89 (57.1%) eran del sexo femenino, 67 (42.9%) del sexo masculino; de todos estos 65 (41.7%) requirieron hospitalización mientras que el resto recibió tratamiento ambulatorio, de acuerdo a la clínica que presentaron 99 (63.5%) presentaron fiebre; 93 (59.6%) vomito; 79 (50.6%) dolor abdominal; el total de muestras estudiadas (156) dieron negativo para presencia de moco en heces; 10 (6.4%) resultaron positivos en cuanto a la presencia de sangre en heces.

5.2. Perfil de infección por otros parásitos de la población estudiada

El resultado general de heces para las parasitosis intestinales usando el método directo y el método de concentración de Ritchie dio 114 (73.1%) positivos. De acuerdo a la distribución por sexo fueron positivos 67(58.8%) pacientes del sexo femenino y 47 (41.2%) pacientes del sexo masculino. No se encontró asociación entre sexo y estar parasitado por cualquier parasito intestinal ($p = 0.474$).

De los 156 pacientes, la frecuencia por especies o grupos de parásitos intestinales fueron las amebas del complejo *E. histolytica* las más frecuentes en la población estudiada (64.7%), seguido de *Giardia lamblia* (17.3%), *Trichomonas hominis* (10.3%), *Chilomastix mesnili* (4.5%), *Ascaris lumbricoides* (2.6%), *Hymenolepis nana* (1.3%) y *Blastocystis hominis* (0.6%) (Tabla 1); no habiéndose encontrado diferencias en cuanto al sexo para ninguno de los parásitos hallados ($p > 0.05$). (Tabla 1)

El resultado de la citología de moco fecal reportó predominio de Polimorfonucleares, habiéndose encontrado en las muestras de 75 (48.1%) niños, lo que corresponde a infección de origen bacteriano.

Tabla 1 - Proporción de casos positivos de infecciones por parásitos intestinales según sexo

Agentes Infecciosos	N (%) (n=156)	Sexo (%)*		P Valor
		femenino (n= 89)	masculino (n= 67)	
Complejo *E. histolytica*	101 (64,7)	56,4	43,6	0,833
Giardia lamblia	27 (17,3)	59,3	40,7	0,799
Trichomonas hominis[a]	16 (10,3)	43,8	56,3	0,257
Chilomastix mesnili[a]	7 (4,5)	71,4	28,6	0,699
Ascaris lumbricoides[a]	4 (2,6)	50	50	1,000
Hymenolepis nana[a]	2 (1,3)	50	50	1,000
Blastocystis hominis	1 (0,6)	100		1,000

[a] Test Exacto de Fisher

Leyenda: N= frecuencia absoluta; %= porcentaje; n= número de niños estudiados

5.3. Identificación de E. histolytica por ELISA y características de la infección

Fueron sometidas a estudio de ELISA para la búsqueda de antígenos específicos, las 156 muestras del estudio de los cuales 9/156 (5.8%) dieron positivo para infección *por E. histolytica*. De estos, 6 (66.7%) niños pertenecían al sexo femenino y 3 (33.3%) al sexo masculino. Estar infectado por *E. histolytica* no estuvo relacionado al sexo (p=0.733). En la tabla 2 se presentan las características clínicas de los casos de *E. histolytica.* De los 9 pacientes que dieron positivo para infección por *E. histolytica,* 6 (66.7%) dieron positivo para la presencia de sangre en heces, habiendo significancia estadística en cuanto a presentar sangre en heces y estar infectado por *E. histolytica* ($p < 0.001$; OR=71.5 [12.99-393.45]). (Tabla 2)

Tabla 2 - Características clínicas de los casos de infección por E. histolytica diagnosticados por ELISA

Edad	Hospit.	Fiebre	Dolor Abd.	Vómito	Flatulencia	Moco	Sangre	Co-infección	Mocofecal
3a	NO	SI	NO	NO	NO	NO	SI	SI	NEGATIVO
4a	NO	SI	SI	SI	NO	NO	NO	SI	NEGATIVO
4a	NO	SI	SI	SI	NO	NO	NO	SI	NEGATIVO
1a	SI	NO	NO	SI	NO	NO	SI	SI	POSITIVO
9m	NO	NO	SI	SI	NO	NO	SI	SI	NEGATIVO
7m	NO	NO	SI	SI	NO	NO	SI	SI	POSITIVO
6m	NO	SI	SI	NO	SI	NO	SI	SI	POSITIVO
4a	NO	NO	NO	SI	NO	NO	NO	SI	NEGATIVO
1a	SI	SI	SI	SI	NO	NO	SI	SI	POSITIVO

Leyenda: F= Femenino; M= Masculino; Edad: a=en años; m=en meses ; Hospit. = Hospitalizado; Dolor abd.= Dolor abdominal; Moco= moco en las heces; Sangre= Sangre en las heces; Co-infección= Co-infección con otros parásitos intestinales; Moco-fecal= resultado del Moco-fecal

De los 9 niños que dieron positivo para infección por *E. histolytica*, se constató que 8 son oriundos de Riberalta y 1 pertenece a una comunidad vecina del Departamento de Pando - Bolivia. En cuanto al lugar de residencia, los pacientes refirieron ser habitantes de barrios caracterizados que no cuentan con servicios básicos, agua segura para consumo, deficientes condiciones de manejo y disposición de excretas, y vías de circulación de tierra.

6. DISCUSIÓN

La determinación de la infección por *E. histolytica* utilizando métodos específicos es de suma importancia ya que de esto depende el realizar un tratamiento adecuado y oportuno evitando de esta manera las complicaciones para el paciente.

No se han encontrado estudios realizados en el Amazonia Boliviana por lo que el presente estudio se considera como el primero en esta área, donde se llegó a identificar la infección por *E. histolytica,* utilizando el método de ELISA.

Es importante resaltar que las condiciones ambientales características de la Amazonia húmeda tropical son adecuadas para que la ameba este presente y por consiguiente llegue a causar enfermedad, ya que estudios en Brasil muestran que el área amazónica de este país es una de las áreas de mayor frecuencia de cuadros clínicos de la amebiasis. Además a esto se suma las malas condiciones socio-económicas y la precariedad en cuanto a servicios básicos, características del Municipio estudiado (24, 25, 26)

Mediante la técnica de microscopia directa y el método de concentración de Ritchie la frecuencia en nuestro estudio del complejo *E. histolytica* fue elevada (64.7%). El examen directo es utilizado en nuestro laboratorio para identificar a la mayoría de los parásitos intestinales por ser fácil de realizar y de bajo costo. Sin embargo en el hallazgo de infección por *E. histolytica* la técnica de microscopia directa, así como el Ritchie, son inadecuados pues no permite diferenciar *E. histolytica, E. dispar ni E. moshkovskii* ya que estas tres especies presentan similar morfología.

Esto demuestra que para diagnosticar infección por *E. histolytica* es de suma importancia el empleo de métodos de diagnóstico específicos como el ELISA o PCR para poder dirigir adecuadamente los tratamientos; de acuerdo a la sugerencia que da la OMS el tratamiento de la disentería amebiana solo debe ser aplicado si la infección por *E. histolytica* es confirmada a través de métodos de diagnósticos específicos (ELISA o PCR).

Se tomó como referencia estudios realizados en el país de Brasil, en residentes del área metropolitana de Belém; en la ciudad de Manaus Estado del

Amazonas y en las municipalidades de Ariquemes y Montenegro estado de Rondonia pertenecientes a la Amazonia Brasilera tomando en cuenta que comparten el mismo nicho ecológico con la Amazonía Boliviana.

En los mencionados estudios se usó el método de ELISA, siguiendo las recomendaciones de la Organización Mundial de la Salud (OMS) de que los resultados positivos de los exámenes coproparasitológicos sean registrados como *E. histolytica/E. dispar* y que deben usarse procedimientos que permitan la detección específica de *E. histolytica* mediante procedimientos bioquímicos, inmunológicos y/o moleculares (18). Sin embargo, actualmente, debido al hallazgo reciente de que *E. moshvokskii* también causa infecciones en humanos y presenta la misma morfología de *E. histolytica* y *E. dispar,* la manera adecuada de registrar los resultados debe ser ¨*E. histolytica/E*. *dispar/E*. *moshvokskii*¨ *o* ¨complejo *E. histolytica*¨ (31).

Se consideran a las pruebas inmunológicas basadas en la detección de coproantígenos como pruebas con una buena sensibilidad, bajo costo, facilidad en su ejecución y que no necesariamente se requiere de personal especializado (10).

Resultados obtenidos en Belem, Parà, Brasil muestran que de 845 muestras estudiadas utilizando el método de diagnóstico ELISA dieron positivo para infección por *E. histolytica* 248 (29.35%), este estudio se realizó en pacientes de todas las edades, habiéndose distribuido en dos grupos el primero que comprendía edades de 0 a 14 años y el segundo por encima de 14 años. La infección por *E. histolytica* fue mayor en el grupo 2 (30.36%) con relación al grupo 1 (28.28%); sin embargo no hubo diferencia estadística entre los grupos. El resultado para el complejo E. histolytica fue de 84 (25.15%) de 334 muestras sometidas a examen coproparasitológico directo. (24)

Resultados en las Municipalidades de Ariquemes y Monte Negro estado de Rondonia, Amazonía occidental, Brasil, reporta que de 216 muestras estudiadas la positividad para el complejo *E. histolyitica* fue 61% (50/82) para Ariquemes y 44% (59/134) para Monte Negro (25). A cerca de la infección por *E histolytica*, la positividad fue de 36.6% (30/82) para Ariquemes y 19.4% (26/134) para Montenegro

Estudio realizado en clínicas ambulatorias de la ciudad de Manaus, Región Brasil en cuanto a los factores de riesgo para el complejo *E. histolytica* se

procesaron 1585 muestras, dando una positividad para el complejo de *E. histolytica* de 21.5% (340). En cuanto a la infección por *E. histolytica* la positividad fue de 6.5% (22). *(28).* En estos estudios realizados en diferentes regiones de la Amazonia brasilera se comprobó la utilidad y eficacia del método ELISA en áreas con escasos recursos.

Estudios realizados en Bolivia está citado el realizado en la ciudad de Cochabamba donde el método de detección fue la PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa). De 75 muestras recolectadas aleatoriamente y al ser analizadas por PCR 9.3% (7/75) fueron positivas para *E. histolytica*, 80% (60/75) dieron positividad para *E. dispar*; 10.7% (8/75) no amplificaron pudiendo tratarse de otras amebas. (29)

Otro estudio explico la etiología de la disentería en niños Bolivianos menores de 5 años en el cual participaron Hospitales de La Paz, Cochabamba y Santa Cruz. Informaron en (10/133) la presencia de trofozoitos del complejo *E. histolytica,* sometiendo estos positivos a la técnica de ELISA solo 2 dieron positividad para la infección por *E. histolytica* (30). En nuestro estudio hemos podido estimar que 5.8% de los niños, que eran menores de 5 años y presentaban diarrea, estaban infectados por *E. histolytica.* La frecuencia encontrada no fue alta tratándose de población con sintomatología para entero patógenos y que acudió al hospital, significando que otras etiologías deberían ser futuramente investigadas en este grupo etario.

En cuanto a sintomatología clínica fue la fiebre, vómito y dolor abdominal los síntomas más característicos que presentaron la mayoría de los pacientes siendo comunes de amebiasis, pero no deben considerarse concluyentes ya que pueden estar asociadas a otros microorganismos como bacterias y otras especies parasitarias.

Se ha encontrado que 6 de los 9 pacientes infectados por *E. histolytica* presentaban sangre en las heces. Esta asociación fue significativa en nuestro estudio, hecho que también se refuerza con la literatura mundial que sangre en heces está asociado a infección por *E. histolytica.* Es importante mencionar que la ausencia de sangre en heces no descarta la presencia de *E. histolytica*, esta manifestación va a depender de la respuesta del hospedero y de la virulencia de la ameba (26).

También fueron observados otros parásitos protozoarios y helmintos por medio de examen directo y el método de concentración de Ritchie Modificado encontrándose mayor porcentaje de *Giardia lamblia*; seguido de *Trichomonas hominis; Chilomastix mesnili; Ascaris lumbricoides; Hymenolepis nana; Blastocystis hominis.* Esto demuestra la continua exposición a diferentes enteroparásitos debido a elementos contaminantes del ambiente, las malas condiciones de higiene, a la falta o muy poca existencia de servicios básicos.

En resumen los datos presentados en este estudio indican que *E. histolytica* se encuentra presente en niños menores de 5 años con cuadros diarreicos pertenecientes al Municipio de Riberalta; que no existe asociación en cuanto a sexo y estar expuesto a infección por *E. histolytica* ,que la presencia de sangre en heces está relacionada con la infección por *E. histolytica* y que existen otras enteroparasitosis presentes a los que todos por las condiciones ambientales y deficiente salubridad estamos expuestos.

7. CONCLUSIONES

- Se demostró por primera vez la presencia de infección por *E. histolytica* en niños menores de 5 años con cuadros diarreicos en al área amazónica boliviana.
- Se comprobó que el método inmunológico ELISA por su alta sensibilidad, facilidad de ejecución, rapidez y bajo costo, es una buena alternativa que debería ser incorporada como método de diagnóstico en los laboratorios del Municipio de Riberalta - Bolivia. Además su incorporación en hospitales públicos sería fundamental para la identificación de *E. histolytica* y subsecuentemente el correcto tratamiento de los pacientes.
- Debido a la falta de estudios publicados en Bolivia, es importante realizar más investigaciones sobre la infección por *E. histolytica* en otras poblaciones para así determinar su prevalencia, extendiéndose estos estudios a municipios circundantes al de Riberalta que también pertenecen a la Amazonia boliviana, considerándose probablemente como una de las áreas prioritarias para la vigilancia epidemiológica, tal como ocurre en al área amazónica de Brasil.
- Se debe tomar en cuenta que la sintomatología si bien ayuda al diagnóstico, no es concluyente por estar relacionada con infecciones provocadas por otras enterobacterias y parásitos.
- La presencia de sangre en heces orientará hacia la realización del diagnóstico, sin embargo, dicha característica no es concluyente, razón por la cual se requiere la confirmación del diagnóstico a través de métodos más específicos.
- Las acciones a seguir deben estar encaminadas no solo a la identificación de *E. histolytica,* sino también a mejorar las condiciones de vida de la población, a través de la provisión de servicios básicos, saneamiento ambiental, etc.
- Se deben realizar campañas de educación en salud y modos de vida saludable dirigidos a toda la población, haciendo énfasis en escuelas, colegios, clubes y organizaciones sociales.

- Se deben desarrollar estrategias de sensibilización dirigidas a las autoridades locales, regionales y nacionales, para que tomen conciencia de la importancia de mejorar las condiciones de vida de la población.
- El presente trabajo se constituye en el inicio de un proceso que pueda ser complementado mediante la implementación de otras investigaciones que nos lleven a realizar un análisis más amplio y profundo del comportamiento de esta ameba.

8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Botero D., Restrepo M., 1998, ´´Parasitosis Humana. Corporación para la investigación biológica. 3ra. Edición, Medellín, Colombia.

2. Chacín Bonilla, Leonor, Amebiasis, Implicaciones del reconocimiento de Entamoeba dispar e identificación de Entamoeba moshkovskii en humanos. (2010)

Instituto de Investigación clínica "Dr. Américo Negreta", Facultad de medicina, universidad del Zulia. Maracaibo – Venezuela. 2010

3. Elsdon-Dew R. La parasitología de Amebiasis. (The epidemiologic of amoebiasis. Adv. Parásito. 1968

4. Brumpt E. E Tude sommaire de Entamoeba Dispar n.s.p. Amike a Kystes quadrinuclees, parasite de L' hombre Bull Acad Med (Paris) 1925; 943 - 52

5. Reyes L. y León R. Diferenciación de Entamoeba Histolytica/Entamoeba Dispar y los nuevos hallazgos en la patogénesis de la Amebiasis intestinal. Rev. Costa Reic, cienci. Med. (online) dic. 2002 http/www.scielo.sa.cr/scielo

6. Stamm Wp, Ashley MJ, Bellk. The value of amoebic secrology in an arca of low endemicity. Trans. R Soc. Trop. Medic llyg 1976; 49 – 53.

7. Huston CD, Petri wa Jr. Amebiasis: clinical implication of the recognition of Entamoeba dispar. Curr Infect Dis Rep. 1999; 1:441- 447.

8. Petri WA Jr, Haque R. Lyerdy D. vines RR. Estimating the impact afamebiais on Health. Parásitol Today. 2000; 16: 320 -1.

9. Mollinedo Sergio, & Prieto Cecilia. El Enteroparasitismo en Bolivia (Memoria de la investigación 1975 -2004) 2006.

10. La entamoeba histolytica y la Amebiasis. Una pequeña revisión de aspectos inmunológicos relevantes de este problema de Salud Pública. Extraído el 15 de octubre 2005 de http.tuobra.unam.mx

11. http/www.drondonpediatria.con/amebiais. La amebiasis. Extraído el 15 de octubre de 2005.

12. Ursus Javier. Almanri Laura. Medicina familiar. Determinación de la parasitosis más frecuente en pacientes pediátricos en el hospital obrero 69 en el periodo septiembre a noviembre 2010.

13. Jackson TF. Epidemiology. En Raudin II Ed. Amebiasis London: Imperial College Press; P 47 – 63

14. Tanyukseim M. Petri WA Jr. Laboratory diagnosis of amebiasis. Clin. Microbial Rev 2003; 16: 715- 29

15. Stauffer W_1 Raydin SL. Entamoeba Histolytica an update Curr Opin Infect Dis 2003; 16: 479 – 85

16. Rossi, N., L., Peñaloza, C., Hernández, M. Vedaneta, H. V. 2000 Inmunodiagnostico Rev. Cubana Med. Trop. 52”157-164

17. Huston, C. D., R., Petri, W.A.Jr. 1999 Molecular based diagnosis of Entamoeba histolytica infection. Exp Rev. Mol. Me. 1:1-11

18. Fonte L. Amebas y amebiasis: aspectos conceptuales e históricos. En: Amebiasis: enfoques actuales sobre su diagnóstico, tratamiento y control. La Habana: 2000; pp. 15 – 24 (Links)

19**.** Sargeaunt Pg, Baveja Uk, Nanda R, Anand Bs. Influence of geographical factors in the distribution of pathogenic zymodemes of Entamoeba histolytica: Identification of zymodeme XIV in India. Trans RSoc trop Med Hyg 1984; 78 96 – 101 (Links)

20. Gonzales – Ruiz A. Ruiz – Palacios G. Entamoeba hartmani:mi ssing or misidentified. J Infect Dis 1991

21. Walls JA. Poblems inrecognition and diagnosis of amebiasis: estimation of the global magnitud of morbitidity and mortality. Rev. Infect Dis (1986)

22. Markel y Voge. Parasitología: Diagnostico, Prevención y tratamiento. Ed. Manual Moderno, pág. 33 -34

23. Entamoeba histolytica: Un desafío vigente. Salud Pública Mex 1992, vol. 34 (3): 335-341

24. Povoa MM. Arruda SEG, Silva MCMS, Bichara CN, Esteves P, Gabbay YB, et al. Diagnóstico de amebiase intestinal utilizando métodos coproscopicos e inmunológicos en amostra da populacao da área metropolitana de Belem, Para’, Brasil Cad Saude Publica. 2000; 16:843 -6

25. Vidal dos Santos R, H5617 OCCURENCE OF Entamoeba histolytica IN THE MUNICIPALITIES OF ARIQUEMES AND MONTE NEGRO, STATE OF RONDONIA WESTERN AMAZONIA, BRASIL.

WWW,scielo.br/scielo.php?pid=S0036…script..de RV Santos -2013.

26. Fonte L. Amebiasis: Enfoques actuales sobre su diagnóstico, tratamiento y control, Editorial Elfos Sxientiac, La Habana, Cuba, 2000; 193 pp

27. Michelu E. De Donato M. Prevalencia de Bastocysitis hominis en habitantes de Rio Caribe, estado Sucre, Venezuela. Saber 2001; 2: 105 – 112

28. M.L.F.N. Benetton[a], A.V. Gonzalves [b,] MEF, Meneghini, Silva[b] M. Carneiro[b]

RISK FACTORS FOR INFECTION By the Entamoeba histolytica/ E. Dispar COMPLEX: An epidemiological study conduted in autpatient clinics in the city of Manaus, Amazon Region, Brasil

29. Carmen Patricia Montano, Jean Pierre Herveg Mercedes Iriarte et al. Detección y diferenciación de Entamoeba de la Polimerasa (PCR) usando DNA

extraído de quistes presentes en muestras de Heces Fecales Humanos en laboratorio de microbiología UMSS. http:/www.scielo.org. bo/scielo. Php?=S1012-29662006000200002 8 scrip=sci_artt ext

30. ARTICULO ORIGINAL – OPS www.ops.org.bo/texto completo /msbp00390/02 pdf de CA bopp -2000- citado por 3 – ARTICULO RELACIONADOS.

31. World Health Organization – WHO News and activities, Entamoeba Taxonomy. Bull World Health Org. 1977; 75: 291 – 2

32. Lemis Dueñas Rosquete (1) Yoel F. Acosta Pastor (2) Sobrediagnostico de amebiasis intestinal asociado al examen microscopico de heces bvs.sid.cu/revistas/mciego/vol_9_02_03/articulos/a9_v90203.htm

33. Dres. Jhon M. Townes, Robert Quick, Oscar Y. Gonzales, Mirian Linares, Esther Damiani, Cheryl A. Bopp, Suzanne P. Wahiquist, Lon C. Autwagner, Erika Hannover, Eric D. Minta, Robert V. Tauxe. Etiologia de la disenteria en niños bolivianos: Implicaciones para la terapia empirica www2.bago.com.bo/sbp/revista_ped/vol139_1/html_etiologia.html

ANEXOS

Ministerio de Salud y Deporte
Red de Servicios de Salud Riberalta
Hospital Materno Infantil Reidun Roine
LABORATORIO

CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA REALIZAR SEROLOGÍA PARA

SEDES…… MUNICIPIO……
RED…….

ESTABLECIMIENTO DE SALUD……..
YO……..

De manera voluntaria certifico que:

1. Me han explicado sobre el propósito de realizar la prueba del Test de Elisa para la detección de Antígenos de *Entamoeba hystolítica*, y que es parte de una tesis de la Maestría de “Medicina Tropical y Salud Internacional”.
2. Me ha explicado en qué consiste todo el procedimiento a la que será sometida las heces de mi hijo (a).
3. Se me explicó que se me informará sobre los resultados que se obtengan.
4. Se me informo que la realización de la prueba es voluntaria a tanto el resultado como la identidad de mi hijo (a) serán manejados e manera confidencial.
5. Que, acepto que realicen la prueba a mi hijo (a), con las consideraciones y condiciones ya mencionadas.

FECHA……..

Firma padre/madre o apoderado(a) Nombre y firma del investigador

Anexo 2 - Cuestionario de recolección de datos

Cuestionario PREVALENCIA DE *Entamoeba histolytica* EN NIÑOS MENORES DE CINCO AÑOS QUE ACUDEN AL HOSPITAL MATERNO INFANTIL REIDUN ROINNE DE RIBERALTA QUE PRESENTAN CUADROS DIARREICOS

Número de registro del niño: _____ Sexo: Femenino ( ) Masculino ( )
Nombre completo: _____Fecha de nacimiento:___/___/___
Dirección completa: _____ Barrio: _____
Peso: _____ Talla: _____

DATOS CLINICOS:
¿Niño ingresado en el Hospital? Si ( ), No ( ). En caso de "Sí": ¿Niño fue ingresado debido a diarrea? Si ( ), No ( ). En caso de "No", relatar causa de ingreso: _____

Fecha de inicio de la diarrea: ____/____/_____. Numero de deposiciones al día (*considerar el día en que se entregaron las heces al laboratorio*): _____.
Fiebre: Si ( ), No ( ) Dolor abdominal: Si ( ), No ( )
Vómitos: Si ,No Flatulencias Si, No
Características macroscópicas de las heces: líquida ( ), pastosa ( ), formada ( ), presencia de sangre ( ), presencia de pus ( ), Otros ( ):_____
RESULTADOS DE LABORATORIO:

Fecha de entrega de las heces en el laboratorio: ___/___/____

EXAMEN DIRECTO: Negativo ( ), presencia de trofozoítos de *Entamoeba* spp. ( ), Presencia de *Blastocystishominis* ( ), presencia de trofozoítos de *Giardia lamblia* ( ), presencia de trofozoítos de otros flagelados (), Otros ( ): _____Fecha de realización: ___/___/ ___ (*debe ser el mismo día de la entrega de las heces*)

Técnica de sedimentación simple: Negativo (), Positivo ( ): _____ (*reportar todos los protozoos y helmintos encontrados*). Fecha de realización: ___/___/ ___.
Técnica de Richie modificado Negativo ( ), Positivo ( ) _____(*reportar todos los protozoos y helmintos encontrados*). Fecha de realización: ___/___/ ___.

CITOLOGÍA DEL MOCO-FECAL: Fecha de realización: ___/___/ ___ (*debe ser el mismo día de la entrega de las heces*).

Menos de diez leucocitos por campo ( )
Más de diez leucocitos por campo ( )
Predominio de mononucleares ( ),Predominio de polimorfonucleares ( )
Células epiteliales: negativo ( ),escasas ( ),moderadas ( ), abundantes ( )
Eritrocitos: negativo ( ), escasos ( ), moderados ( ), abundantes ( )
Bacterias: negativo ( ), escasos ( ), moderadas ( ), abundantes ( )

TEST DE ELISA Ridascreen*Entamoebahistolytica*: Negativo ( ), Positivo ( )
Resultado numérico del lector de ELISA: _____ Fecha de realización: ___/___/ ___