



UNIVERSIDAD DE ORIENTE  
NÚCLEO DE SUCRE  
ESCUELA DE CIENCIAS  
DEPARTAMENTO DE BIOANÁLISIS

EVALUACIÓN DE *Entamoeba histolytica* Y SU RELACIÓN CON  
LEUCOCITOS  
FECALES EN MUESTRAS DIARREICAS DE PACIENTES PROVENIENTES  
DE DIFERENTES CENTROS DE SALUD DE LA CIUDAD  
DE CARÚPANO, ESTADO SUCRE  
(Modalidad: Tesis de Grado)

LEONOR TERESA GONZÁLEZ DÍAZ

TRABAJO DE GRADO PRESENTADO COMO REQUISITO PARCIAL PARA  
OPTAR AL TÍTULO DE LICENCIADA EN BIOANÁLISIS

CUMANÁ, 2012

EVALUACIÓN DE *Entamoeba histolytica* Y SU RELACIÓN CON  
LEUCOCITOS  
FECALES EN MUESTRAS DIARREICAS DE PACIENTES PROVENIENTES  
DE DIFERENTES CENTROS DE SALUD DE LA CIUDAD  
DE CARÚPANO, ESTADO SUCRE

APROBADO POR:

---

Profa. Leonor Mora  
Asesora

---

Profa. Del Valle Guilarte  
Jurado

---

Profa. Brunnell González  
Jurado

## INDICE

DEDICATORIA .....	i
AGRADECIMIENTO .....	ii
LISTA DE TABLAS .....	iii
RESUMEN.....	iv
INTRODUCCIÓN .....	1
METODOLOGÍA .....	6
METODOLOGÍA .....	7
Población en estudio .....	7
Obtención de las muestra .....	7
Diagnóstico Coproparasitológico.....	7
Técnica de leucograma fecal.....	8
Ensayo copro-inmunoenzimático (ELISA).....	8
Análisis estadístico.....	9
RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	10
Análisis coproparasitológico.....	10
CONCLUSIONES .....	21
BIBLIOGRAFÍA .....	21
BIBLIOGRAFÍA .....	22
ANEXO.....	28
ANEXO.....	29
HOJA DE METADATOS .....	33

## **DEDICATORIA**

A:

Mi querido Dios, quien me dio la fortaleza, salud y esperanza para culminar mi trabajo, el cual quiero compartir con mis seres queridos y a quienes le dedico con amor.

Ti mi querida Madre, Silvia por ser mi motivo y el pilar fundamental para lograr mi meta pero más que todo por ser lo más grande de mi vida, sin esperar nada a cambio anhelas ver llegar este día. Te quiero mucho, madre.

Mis hermanas Mariana y Dennys, quienes son fuente de sabiduría para culminar esta meta, las quiero mucho.

Mi tía Male y a mis primas, Deyanira, Yenny, María José y Aura Rosa por formar parte de mi vida y brindarme su apoyo.

Los traviesos de la casa, mis sobrinos: Rafael Enrique, José David, Mariangela Isabel, Silmaris, José Francisco, Peter Javier, María Daniela, Andrea Paola, Deymar y Cesar José, a quienes adoro mucho. Que este logro les sirva de ejemplo en el futuro.

Esa persona tan especial la cual forma parte de mi vida, quien durante y a lo largo de mi carrera universitaria ha estado en todo momento, a ti Edgar Alexander, te quiero mucho, mi triunfo también te lo dedico.

Mi cuñado José Luis por su amistad y cariño incondicional.

Mis compañeros y amigos, con los que he compartido momentos gratos y difíciles. Siempre los recordare con cariño. A todos gracias.

## **AGRADECIMIENTO**

A:

Mi asesora académica Leonor Mora por su generosidad al brindarme la oportunidad de recurrir a su capacidad y experiencia como investigadora para la culminación de este trabajo, por su tiempo empleado en el transcurso del mismo, le estaré eternamente agradecida.

Mi asesor asistencial, Pedro Hernández por su desinteresada ayuda y por incentivar me a desarrollar este trabajo de investigación.

Las instituciones que prestaron su colaboración para la realización de este trabajo.

Las licenciadas Betzy Cedeño y Zuleika Medina por la colaboración prestada.

## LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Parásitos intestinales observados en muestras diarreicas de individuos provenientes de diferentes laboratorios de la ciudad de Carúpano, estado Sucre, durante los meses julio-octubre de 2008.....	10
Tabla 2. Asociación de <i>Entamoeba histolytica</i> con otros parásitos determinados a través del examen directo en diferentes laboratorios de la ciudad de Carúpano, estado Sucre, durante los meses julio-octubre de 2008.....	13
Tabla 3. Leucocitos fecales en muestras diarreicas con o sin <i>Entamoeba histolytica</i> , observados al examen directo, en diferentes laboratorios de la ciudad de Carúpano, estado Sucre, durante los meses julio-octubre de 2008.....	14
Tabla 4. Detección del antígeno de <i>Entamoeba histolytica</i> por el método de ELISA en muestras de heces observadas al examen directo con <i>Entamoeba histolytica</i> , <i>Entamoeba coli</i> y leucocitos, en diferentes laboratorios de la ciudad de Carúpano, estado Sucre, durante los meses julio-octubre de 2008.....	16
Tabla 5. Presencia de leucocitos fecales en muestras procesadas por ELISA de individuos provenientes de diferentes laboratorios de la ciudad de Carúpano, estado Sucre, durante los meses julio-octubre de 2008.....	19

## RESUMEN

Se evaluó la presencia de *Entamoeba histolytica* y su relación con leucocitos fecales en muestras diarreicas de individuos de todas las edades y ambos géneros que asistían diariamente a diferentes centros asistenciales de la ciudad de Carúpano, estado Sucre. Un total de 209 muestras fecales y sus resultados fueron recolectados durante julio-octubre 2008. Las muestras se analizaron a través de: examen directo con solución salina fisiológica al 0,85% y lugol, además de la aplicación del leucograma fecal y del método copro-inmunoenzimático (ELISA). *Entamoeba histolytica* fue el protozooario de mayor frecuencia encontrada en el análisis de los resultados al examen directo reportándose 46 muestras, lo que representó un 22,00%. En cuanto a la técnica de leucograma fecal, 61 muestras resultaron con presencia de leucocitos fecales (29,19%), de las cuales 27 presentaron *Entamoeba histolytica* (12,92%). Por otra parte se evidenció el 5,43% de antígenos de *Entamoeba histolytica* y en cuyas muestras se observaron leucocitos fecales, lo que representó el 100,00%. La diferencia en cuanto a los porcentajes obtenidos aplicando las diversas técnicas, refleja que la aparición de *Entamoeba histolytica* es infrecuente y que existe una sobreestimación del parásito en la población en estudio. El empleo del ensayo copro-inmunoenzimático para la detección de antígenos de *Entamoeba histolytica* debe ser empleado como prueba de rutina en los diferentes centros asistenciales debido a la similitud morfológica al microscopio óptico con otras especies amébicas en particular con *Entamoeba dispar*, de esta manera, se garantizarían resultados confiables y la emisión de tratamientos adecuados a la infección existente.

## INTRODUCCIÓN

La amibiasis o amebiasis es una enfermedad parasitaria causada por el protozooario entérico *Entamoeba histolytica* (Rosales *et al.*, 2002). La Organización Mundial de la Salud (OMS) la define como la condición de portar el parásito con o sin manifestaciones clínicas exclusivas del humano (OMS, 1997).

Taxonómicamente, *Entamoeba histolytica* pertenece al phylum Sarcomastigophora, subphylum Sarcodina, superclase Rhizopoda, clase Lobosea, orden Amoebida, familia Endamoebidae, género *Entamoeba*, especie *Entamoeba histolytica*, Shaudinn, 1903 (Haque *et al.*, 2000; Stanley, 2001). Se presenta en dos formas evolutivas: trofozoítos (forma invasiva) que causa la enfermedad en el hospedero, y quistes (forma infectante). Los trofozoítos miden 12 a 60  $\mu\text{m}$  de diámetro, poseen un solo núcleo que tiene forma esférica con una membrana bordeada de pequeños gránulos de cromatina y un pequeño cariosoma central. Emiten pseudópodos con movimientos unidireccionales. El citoplasma puede mostrar vacuolas con inclusiones y hematíes, característica que lo diferencian de otras amibas. Los quistes son esféricos y miden de 10 a 20  $\mu\text{m}$  de diámetro, contienen 1 a 4 núcleos dependiendo de su madurez (Botero y Restrepo, 1998; Corachán, 1995; Homéz *et al.*, 1995; Dimiceli, 2004).

La infección causada por *Entamoeba histolytica* puede transmitirse por contacto fecal-oral, a través de aguas o alimentos contaminados que contengan quistes de la amiba, rara vez por contacto sexual ano-genital y oro-anal. Los individuos infectados pueden excretar aproximadamente 45 000 000 de quistes al día (Cabrera, 1999; Tuyuta *et al.*, 2002). La amiba, habita en el intestino grueso del hombre o invadiendo la mucosa intestinal causando lesiones intestinales, produciendo síntomas tales como dolor abdominal, náuseas, fiebre, flatulencias y signos como diarrea mucosanguinolenta (Botero y Restrepo, 1998; Fonte, 2000).



El ciclo de vida de *Entamoeba histolytica* se inicia cuando el hombre ingiere los quistes maduros, estos sufren desenquistamiento en el intestino delgado debido a la acción de los jugos digestivos que debilitan la pared quística, produciéndose una división nuclear seguida de la división citoplasmática originándose ocho trofozoítos, los cuales se dirigen a nivel del intestino grueso. Los trofozoítos liberados se adhieren a la mucosa del colon por la presencia de una proteína de adherencia o lectina que junto con las enzimas proteolíticas favorece la penetración y degradación de la mucosa, generándose las lesiones intestinales (úlceras típicas en botón de camisa). Los trofozoítos pueden diseminarse por vía hematógena, invadiendo ciertos órganos como el hígado, pulmón, cerebro, entre otros; estableciéndose la infección extraintestinal (Corachán, 1995; Botero y Restrepo, 1998).

Las infecciones amebianas se presentan bajo dos formas: la amebiasis intestinal, donde los trofozoítos invaden la pared del colon causando lesiones agudas o crónicas; la fase aguda se caracteriza por la aparición de signos y síntomas de forma brusca con dolores abdominales de cierta intensidad, tenesmo y constipación; las heces son de aspecto disentérico, conteniendo moco y sangre. La forma intestinal crónica es de evolución lenta y puede ser consecutiva de una fase aguda o ser la manifestación inicial de la infección amebiana, cursa con evacuaciones ocasionales con moco y rara vez con sangre; además, se puede observar astenia, flatulencia e insomnio (Fernández *et al.*, 2000; Incani, 2000). La amebiasis extraintestinal es la otra forma de presentarse la enfermedad, donde se produce lesiones en algunos órganos del cuerpo provocadas por la localización de los trofozoítos de *Entamoeba histolytica* fuera del intestino (Ohnishi y Murata, 1997; Tannich, 1998; Acuña *et al.*, 2000).

En la infección por *Entamoeba histolytica* se evidencia una respuesta inmune natural y adquirida. La respuesta inmune natural la representa las barreras naturales del organismo como lo son el pH ácido del estómago y las enzimas digestivas, que

destruyen los trofozoítos, la competencia que se establece con la flora bacteriana intestinal y la capa de moco que cubre la mucosa intestinal la cual contiene mucina que interfiere en la adherencia de los trofozoítos al epitelio intestinal (Botero y Restrepo, 1998; Fonte, 2000).

También ocurre una respuesta inmunológica humoral la cual puede persistir por años a bajos títulos después de la cura de la enfermedad (Fonte, 2000). Diversos autores coinciden en señalar que los títulos de anticuerpos no están necesariamente correlacionados con la protección del hospedero, y sugieren que la inmunidad humoral no protege contra la infección por *Entamoeba histolytica*. Al contrario, de la respuesta inmunológica celular, existen dos mecanismos implicados en la necrosis tisular amebiana, uno mediado por el contacto célula-célula y otro que depende directamente de los efectos de sus productos tóxicos sobre los componentes tisulares. En la lisis mediada por el contacto célula-célula, *Entamoeba histolytica* muestra una potente quimiotaxis para los leucocitos polimorfonucleares neutrófilos y una gran capacidad para destruirlos, siendo responsables del efecto quimiotáctico. Por otro lado, la proteína de adherencia que es inhibida por la galactosa, y otros componentes solubles que estimulan la secreción IL-8 por las células del epitelio intestinal del hospedero ante la presencia de este protozooario (Rosales *et al.*, 2002; Requilme y Uribe, 2004; Gómez *et al.*, 2007).

El trofozoito de este protozooario se considera una de las más importantes células citotóxicas y citolíticas no inmune conocidas hasta el momento. Este parásito cumple un proceso de invasión muy elaborado, en el cual se secretan y expresan proteínas que le permiten adherirse al epitelio, degradar la matriz extracelular y causar citólisis de las células epiteliales para penetrar dentro de la mucosa. En este proceso intervienen diferentes moléculas en la patogénesis de la amebiasis dentro y fuera del intestino (Trejos y Castaño, 2009).

En cuanto al diagnóstico, la detección de *Entamoeba histolytica* se fundamenta en la demostración de trofozoítos y/o quistes del parásito en las heces, en los síntomas clínicos y en la presencia de anticuerpos específicos en el suero y antígenos en heces, además de los estudios de ácido desoxirribonucleico (ADN) del parásito (Rossi y Urdaneta, 1997). Se conoce de técnicas serológicas orientadas a la detección de antígenos fecales y anticuerpos en suero, fundamentados en la técnica de inmunoensayo enzimático (ELISA). La detección de antígenos fecales, hoy en día es uno de los más aplicados, ya que con ello se evita el traumatismo de la toma de muestra y permite la detección del parásito evidenciando la infección en los individuos, ofreciendo un diagnóstico rápido para la aplicación de un tratamiento certero (Rossi y Urdaneta, 1997; Reyes y León, 2002; Dimiceli, 2004).

En el diagnóstico de *Entamoeba histolytica* son implementadas otras técnicas complementarias como son las tinciones tricrómica y la coloración de hematoxilina férrica las cuales ayudan al analista a orientarse en cuanto a la diferenciación de las características estructurales de la amibas (Alger, 1998; Yau *et al.*, 2001).

*Entamoeba histolytica* es considerada un problema de salud pública, donde la diseminación y transmisión de la enfermedad es facilitada por la mala higiene personal, la falta de agua potable e inadecuada manipulación de alimentos, resultando afectada en su mayoría, las poblaciones de bajos recursos económicos y de extrema pobreza (Fernández *et al.*, 1998; Valdez *et al.*, 1999; Jackson, 2000).

La parasitosis producida por *Entamoeba histolytica* está presente en todos los continentes y es una infección cosmopolita, con tasas de prevalencia elevadas en diferentes zonas geográficas con saneamiento ambiental inadecuado, como ocurre en los países en vías de desarrollo y en los tropicales así como, Asia, África y América latina. A nivel de los países latinoamericanos, México resultó de mayor endemia con

cifras de infección de hasta el 75,00%, Colombia de 45,00 a 60,00% y Chile de 18,00 a 20,00%. En Venezuela, se han reportado tasas variables de 6,80 a 42,00%, distribuidas en 1,80 a 29,50% para las áreas urbanas y hasta 20,00% en poblaciones rurales (Reyes *et al.*, 2004).

La prevalencia de las parasitosis intestinales en Venezuela no se diferencia de las registradas en otros países latinoamericanos con características climáticas, condiciones de insalubridad y pobreza semejante. Al respecto, en el estado Sucre, se han reportado diferentes porcentajes para *Entamoeba histolytica*, así lo señala el trabajo de Díaz (2004) quien obtuvo el 50,67% al evaluar 75 muestras diarreicas por la técnica de ELISA para *Entamoeba histolytica* y el de Mora *et al.* (2005) quienes publicaron una prevalencia de 16,00% del complejo *Entamoeba histolytica/Entamoeba dispar* al analizar 400 muestras de pacientes con síntomas gastrointestinales por el método de solución salina y lugol. Por otra parte, Martínez *et al.* (2007) reportaron el 66,20% de *Entamoeba histolytica* en el estado Zulia en una población de 66 niños de ambos géneros y en edades de 7 meses a 14 años.

La importancia del diagnóstico de *Entamoeba histolytica* radica en el hecho de la aparición de especies morfológicamente idénticas pero genéticamente distintas; una denominada *Entamoeba dispar* descrita por Brumpt (1925) y la otra *Entamoeba moshkovskii*, por Clark y Diamond (1991). Esta teoría está sustentada por los estudios de análisis de isoenzimas, tipificación de antígenos de superficie con anticuerpos monoclonales y por los estudios de biología molecular (Urdaneta *et al.*, 1998, Cornejo *et al.*; 1999; Gutiérrez, 2007; Pinilla *et al.*; 2008). Esto ha traído variaciones en cuanto a la prevalencia de *Entamoeba histolytica* a nivel mundial y su importancia como patógeno en humanos, lo que cambia drásticamente la epidemiología de la amibiasis, ya que la mayoría de las infecciones asintomáticas han sido atribuidas a esta ameba (Chacín, 2001; Blessmann y Nupa, 2004). En este sentido, se planteó la necesidad de evaluar a *Entamoeba histolytica* y su relación con los leucocitos fecales

en muestras diarreicas en pacientes provenientes de diferentes centros de salud de la ciudad de Carúpano, estado Sucre.

## **METODOLOGÍA**

### **Población en estudio**

Para este estudio, la muestra poblacional estuvo comprendida por individuos de todas las edades y de ambos géneros provenientes del Laboratorio del Hospital General “Dr. Santos Aníbal Dominicci” y de los ambulatorios “Francisco Pachico Aguilera” y “Otaola Rugliani” de la ciudad de Carúpano, estado Sucre, durante los meses julio-octubre del 2008. A cada paciente se le solicitó por escrito su consentimiento en la colaboración de esta investigación cumpliendo con los lineamientos de la declaración de Helsinki establecidos por la OMS, para trabajos de investigación en grupos humanos (Anexos 1, 2 y 3) (OPS, 2000).

### **Obtención de las muestra**

Se recolectaron las muestras fecales y se solicitaron los resultados de las mismas, en cada uno de los centros asistenciales, las cuales fueron analizadas como se describe a continuación:

### **Diagnóstico Coproparasitológico**

Examen directo (solución salina al 0,85% y lugol), el cual permitió la visualización o búsqueda de las diferentes formas parasitarias, el mismo comprendió un estudio macroscópico donde se observaron las características físicas de la muestra como aspecto, consistencia, color, olor, presencia o ausencia de moco, sangre, vermes adultos y un estudio microscópico en el cual se colocó una gota de solución salina fisiológica y una de lugol en cada extremo de la lámina, con un aplicador de madera se tomó una pequeña porción de materia fecal, previamente se mezcló e hizo una suspensión primero en la gota de solución salina y luego en la de lugol, ambas preparaciones se cubrieron con laminillas. Se observó al microscopio óptico con el objetivo de 10X y 40X (Botero y Restrepo, 1998). Posteriormente, fueron trasladadas al

Laboratorio Clínico privado Dr. “Santos Aníbal Dominicci” para la realización de técnicas de coloración de Giemsa y del ensayo copro-inmunoenzimático (ELISA), cuyas metodologías se mencionan a continuación.

### **Técnica de leucograma fecal**

Esta técnica se basó en la detección de leucocitos en materia fecal con el fin de orientar el posible agente invasivo, la cual consistió en realizar un frotis delgado con materia fecal en una lámina portaobjetos, se fijó el extendido con alcohol metílico durante 3 min, teniendo la precaución de no dejar que el alcohol se evaporara, se cubrió la lámina con solución de Giemsa diluida en proporción 1:10, dejándola actuar por 20 min, transcurrido el tiempo requerido, se lavó con agua destilada y se dejó secar a temperatura ambiente, para luego, ser observada al microscopio óptico con objetivos de 40 y 100X (Fleck y Moody 1988). El recuento diferencial de segmentados neutrófilos, mononucleares y eosinófilos se realizó en base a 100 células según el criterio establecido por Pinto, 2005.

### **Ensayo copro-inmunoenzimático (ELISA)**

Este ensayo se fundamenta en la detección de un antígeno específico de *Entamoeba histolytica* a través de anticuerpos policlonales en los pozos de la placa que detecta la adhesina del complejo *Entamoeba histolytica* /*Entamoeba dispar* y anticuerpos monoclonales que captan específicamente el antígeno *Entamoeba histolytica* según protocolo del Kit Diagnostic Automation, Inc. CA. 91302./ USA-*Entamoeba histolytica*,. ISO 13485-2003.

El diagnóstico copro-inmunoenzimático se realizó en aquellas muestras diarreicas con presencia del complejo *Entamoeba histolytica*/ *Entamoeba dispar*, y las observadas con trofozoítos hematófagos así como también un grupo de muestras

con observación de *Entamoeba coli* y con leucocitos.

La técnica consistió en diluir previamente las muestras fecales, empleando tubos Eppendorf plásticos con capacidad de 1,5 ml; a los cuales se les agregaron 400 µl del diluyente (Thimerosal 20X) a las muestras diarreicas, se mezclaron cuidadosamente hasta el momento de ser vertidos a los pocillos correspondientes. Se añadió 1 gota del conjugado a cada pocillo de la placa. Posteriormente, se agregó 100 µl del control positivo al pocillo correspondiente y 100 µl del control negativo, respectivamente. Se transfirieron 100 µl de las muestras diluidas en los tubos a sus respectivos pocillos. Se cubrió la placa y se incubó a temperatura ambiente por 30 min, luego, se lavó la placa 3 veces. Se añadieron 200 µl de sustrato reactivo 1 (anticuerpo monoclonal anti-*E. histolytica*) a todos los pozos; se mezclaron e incubó por 5 min y se lavó por 3 veces. Se añadieron 200 µl del reactivo 2 (segundo anticuerpo conjugado con peroxidasa), se incubó por 5 min y se lavó por 3 veces. Se agregaron 200 µl del cromógeno (tetramethylbenzidine-TMB) e incubó por 5 min. Los resultados se realizaron cualitativamente mediante la visualización de un cambio de color al agregar las 2 gotas de solución de parada (ácido fosfórico 1M). La observación de un color amarillo evidenció la detección del antígeno *Entamoeba histolytica* (Sharp *et al.*, 2001).

### **Análisis estadístico**

Los datos fueron expresados utilizando fórmulas de prevalencia y frecuencia para reflejar la aparición de las especies en estudio, también se utilizó el análisis estadístico chi cuadrado ( $\chi^2$ ) para establecer la asociación de *Entamoeba histolytica* y leucocitos fecales (Morales y Pino, 1995).



## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Análisis coproparasitológico

Un total de 209 resultados de muestras fecales, fueron recolectados, obteniéndose 130 parasitadas (62,20%), predominando los protozoarios en un 59,80% (125/209) sobre los helmintos 8,61% (18/209). De los protozoarios, *Entamoeba histolytica* fue la especie de mayor frecuencia reportada en los centros asistenciales, representando el 22,00%, en donde se observó la fase quística en 18,66% (39/46) y la fase trofozoítica en 3,35% (7/46), seg *Blastocystis* sp. con 20,57% y otros parásitos intestinales, tal como se puede observar en la tabla 1.

Tabla 1. Parásitos intestinales observados en muestras diarreicas de individuos provenientes de diferentes laboratorios de la ciudad de Carúpano, estado Sucre, durante los meses julio-octubre de 2008.

Parásitos intestinales	Nº	Prevalencia ( %)
<i>Entamoeba histolytica</i>	46	22,00
<i>Blastocystis</i> sp.	43	20,57
<i>Endolimax nana</i>	28	13,40
<i>Entamoeba coli</i>	23	11,00
<i>Giardia duodenalis</i>	20	9,57
<i>Chilomastix mesnili</i>	15	7,18
<i>Trichuris trichiura</i>	11	5,26
<i>Ascaris lumbricoides</i>	5	2,39
<i>Strongyloides stercoralis</i>	2	0,96

Nº: número; %: porcentaje

En la presente investigación se registró un elevado porcentaje de parasitosis intestinales (62,20%) en donde se evidenció que más de la mitad de la población, estaba en su mayoría parasitada, por protozoarios.

Al respecto, Traviezo *et al.* (2006) obtuvieron una prevalencia de parasitosis

intestinales en un 47,00% al evaluar pacientes de todas las edades y ambos sexos del municipio Palavecino, estado Lara, así como también, Devera *et al.* (2007) registraron cifras del 45,70% de prevalencia de parásitos intestinales, al estudiar la población del Instituto Nacional del Menor en Ciudad Bolívar, relacionando estos resultados con niveles socioeconómicos bajos e inadecuados hábitos higiénicos y sanitarios.

En las muestras parasitadas se pudo apreciar que los protozoarios predominaron sobre los helmintos con 59,80% y 8,61%, respectivamente, hallándose a *Entamoeba histolytica* y *Blastocystis* sp. como los más frecuentes, mientras que en helmintos resultó *Trichuris trichiura*. Esto pone en evidencia que la población en estudio está sometida a una exposición continua a diferentes enteroparásitos, debido en su mayoría a elementos contaminantes en el ambiente, lo que permite la permanencia y difusión de las formas evolutivas infectantes de estos parásitos (Botero y Restrepo, 2008).

*Entamoeba histolytica* es considerada un problema de salud pública debido a su alta prevalencia en países en vías de desarrollo, en el presente estudio fue reportada como el principal protozoario en las muestras de consistencia blanda y líquida, así como también con presencia de moco y sangre, características que orientan en su diagnóstico dado la patogenicidad de la especie a nivel intestinal. Por otro lado, factores como, el consumo de agua no potable, los malos hábitos de higiene personal y carencia en los servicios básicos, pueden estar vinculadas a estas infecciones por *Entamoeba histolytica* u otros protozoarios intestinales encontrados en los individuos en estudio (Gómez *et al.*, 2007).

Es de señalar que la prevalencia para *Entamoeba histolytica* que muestra la tabla 1, fue obtenida a través de examen directo con solución salina al 0,85% y lugol, de utilidad para la identificación de parásitos intestinales como protozoarios y

helminthos, con la particularidad que para *Entamoeba histolytica*, se deben tomar consideraciones como la prontitud en el análisis de la muestra para la observación de trofozoítos hematófagos característicos. Dado que los quistes son morfológicamente iguales a *Entamoeba dispar* y *Entamoeba moshkovskii*, así como fácilmente confundibles con células como leucocitos y macrófagos, es por ello que las características morfológicas observadas en el examen directo no constituyen ser criterio para identificar a *Entamoeba histolytica*, y en este sentido debe reportarse *Entamoeba histolytica/Entamoeba dispar*. De esto se deriva la importancia de la aplicación de técnicas complementarias como: coloraciones (hematoxilina férrica, tricrómico), técnicas serológicas: copro-antígenos (ELISA) y estudios de ADN del parásito a través de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), para el diagnóstico de la especie patógena, lo cual permitiría con exactitud ofrecer resultados confiables (Gallego *et al.*, 2003; Araujo *et al.*, 2008; Trejos y Castaño, 2009).

En una investigación sobre prevalencia del complejo *Entamoeba histolytica/Entamoeba dispar* en 400 pacientes con síntomas gastrointestinales de diarrea, en Cumaná, estado Sucre se reportó el 16,00% de prevalencia para el complejo mencionado, indicando que existe en la población un problema de salud pública que debe ser abordado por las autoridades sanitarias (Mora *et al.*, 2005).

*Blastocystis* sp. fue el segundo parásito en frecuencia (20,57%) lo que es comparable con diversos trabajos realizados en poblaciones rurales y urbanas en paciente con y sin sintomatología clínica (Devera *et al.*, 2007; Rodríguez *et al.*, 2008; Chíncha *et al.*, 2009; Mora *et al.*, 2009; Rivero *et al.*, 2009). Estudios epidemiológicos señalan a este protozoario asociado a cuadros de diarrea, considerándolo como nuevo parásito patógeno intestinal que se encuentra en muestras de heces de personas sintomáticas y asintomáticas pero principalmente frente a un comportamiento oportunista, en especial, en pacientes inmunodeficientes (Muños y Frade, 2005; Velarda y Mendoza (2006). Por su parte, Arias *et al.* (2010) sugieren

hacer un estudio de asociación casual que permita conocer la participación de este parásito como agente patógeno.

De acuerdo a los reportes obtenidos de los exámenes directos realizados en distintos centros asistenciales de la Ciudad de Carúpano, se encontró que 17 de 46 muestras (43,59%) que presentaron *Entamoeba histolytica*, estaban acompañadas de otras especies, encontrándose a *Blastocystis* sp. y *Giardia duodenalis* en igual número de aparición (6), mientras que parásitos como *Entamoeba coli*, *Chilomastix mesnili* y *Strongyloides stercoralis* fueron escasos en las muestras con *Entamoeba histolytica* al examen directo (Tabla 2)

Tabla 2. Asociación de *Entamoeba histolytica* con otros parásitos determinados a través del examen directo en diferentes laboratorios de la ciudad de Carúpano, estado Sucre, durante los meses julio-octubre de 2008.

Parásitos	<i>Entamoeba histolytica</i>			Chi-cuadrado ( $\chi^2$ )
	Presente N°	Ausente N°	Total N°	
<i>Blastocystis</i> sp.	6	40	46	p: 0,2209; 1,50 ns
<i>Endolimax nana</i>	5	41	46	p: 0,7453; 0,11 ns
<i>Entamoeba coli</i>	1	45	46	p: 0,0574; 3,61 ns
<i>Chilomastix mesnili</i>	1	45	46	p: 0,2439; 1,36 ns
<i>Giardia duodenalis</i>	6	40	46	p: 0,5331; 0,39 ns
<i>Trichuris trichiura</i>	2	44	46	p: 1,0000; 0,00 ns
<i>Ascaris lumbricoides</i>	2	44	46	p: 0,6625; 0,19 ns
<i>Strongyloides stercoralis</i>	1	45	46	p: 0,9183; 0,01 ns

$\chi^2$  = ns(no significativo); p>0,05

N°: número

Al aplicar el Chi- cuadrado ( $\chi^2$ ) no se encontró asociación estadística de *Entamoeba histolytica* con alguno de los parásitos reportados al examen directo.

En este sentido, se podría deducir, que las especies involucradas pudieran tener

participación o ser responsables de los cuadros diarreicos, quizás una en mayor grado que otra, dependiendo de las densidades parasitarias y las interacciones entre los mismos, si existen. Estas infecciones por dos o más parásitos, pueden estar relacionadas con el hecho de que comparten la misma vía de transmisión fecal-oral; así como también, estos individuos pudieran tener similares factores de riesgo asociados con la adquisición de la infección y/o estar expuestos a la susceptibilidad específica a estas especies (Botero y Restrepo, 2008 ).

En contraste con estos resultados, Rodríguez (2009), al evaluar a *Entamoeba histolytica* y *Entamoeba dispar* en individuos sintomáticos y asintomáticos a través de metodología convencional y molecular, encontró asociación significativa de *Entamoeba histolytica* con *Blastocystis* sp., proporción de probabilidad (OR\*) 6,2; P: 0004 con  $p < 0,05$ .

Por otro lado, en cuanto a la realización del leucograma fecal, 61 muestras resultaron con presencia de leucocitos lo que representó el 29,19%, de las cuales, 27 presentaron *Entamoeba histolytica* (12,92%) mientras que las 34 restantes correspondieron a muestras sin *Entamoeba histolytica* (16,27%) como lo señala la tabla 3.

Tabla 3. Leucocitos fecales en muestras diarreicas con o sin *Entamoeba histolytica*, observados al examen directo, en diferentes laboratorios de la ciudad de Carúpano, estado Sucre, durante los meses julio-octubre de 2008.

<i>Entamoeba histolytica</i>	Leucocitos fecales				Total N°
	Presencia		Ausencia		
	N°	%	N°	%	
Presente	27	12,92	19	9,09	46
Ausente	34	16,27	129	61,72	143
Total	61	29,19	148	70,81	209

N°: Número; %: Porcentaje

Al comparar los resultados del leucograma fecal con los exámenes directos obtenidos en los distintos centros asistenciales, se pudo observar que, la presencia o ausencia de leucocitos fecales, no es un parámetro indicativo de amibiasis, ya que se encontraron en mayor cantidad de muestras sin *Entamoeba histolytica*.

En cuanto al recuento diferencial leucocitario realizado, se obtuvo un predominio de segmentados neutrófilos con un promedio de 75,00%, seguido de mononucleares con 21,00% y por último, eosinófilos en 4,00%. Al respecto, Vélez (2003) señala que la prueba diferencial de leucocitos en heces tiene una sensibilidad que varía de 45 a 95,00%. Los leucocitos están presentes en las heces, por diversas causas como por ejemplo: enfermedades intestinales inflamatorias, bacterianas y parasitarias. El hallazgo de 5 o más leucocitos por campo en heces indica enfermedad diarreaica inflamatoria.

El empleo del ensayo copro-inmunoenzimático evidenció la presencia del antígeno específico de *Entamoeba histolytica* en los individuos estudiados. Este ensayo se aplicó en muestras cuyos resultados al examen directo, obtenidos en los distintos centros asistenciales, presentaron *Entamoeba histolytica* (46); una de las cuales estaba co-infectada con *Entamoeba coli* y 28 de ellas presentaban leucocitos, 23 muestras parasitadas con *Entamoeba coli* de las cuales 5 presentaron leucocitos y 23 muestras con leucocitos fecales solamente. La interpretación del resultado obtenido en la presente investigación por la técnica ELISA fue cualitativa, mediante la visualización de color al ser comparado con el control positivo, el color amarillo de mayor o igual intensidad del control positivo determinó la reacción indicando la detección del antígeno de *Entamoeba histolytica*.

Del total de muestras analizadas sólo 5 resultaron positivas a la técnica, 3 correspondieron a las observadas al examen directo con quistes *Entamoeba histolytica* y 2 con quistes y trofozoítos de *Entamoeba histolytica*, lo que representó

el 5,43% del total de la población analizada como lo muestra la tabla 4.

Tabla 4. Detección del antígeno de *Entamoeba histolytica* por el método de ELISA en muestras de heces observadas al examen directo con *Entamoeba histolytica*, *Entamoeba coli* y leucocitos, en diferentes laboratorios de la ciudad de Carúpano, estado Sucre, durante los meses julio-octubre de 2008.

Examen directo	Copro-inmunoenzimático (ELISA)				Total N°
	Positivos		Negativos		
	N°	%	N°	%	
<i>Entamoeba histolytica</i>	5	5,43	41	44,56	46
<i>E. histolytica</i> con <i>Entamoeba coli</i>	0	0,00	1	1,09	1
<i>Entamoeba coli</i>	0	0,00	17	18,48	17
<i>Entamoeba coli</i> con leucocitos	0	0,00	5	5,43	5
Leucocitos	0	0,00	23	25,00	23
<b>Total</b>	<b>5</b>	<b>5,43</b>	<b>87</b>	<b>94,57</b>	<b>92</b>

N°: número; %: Porcentaje

Se pudo apreciar en los resultados, la poca frecuencia del antígeno de *Entamoeba histolytica* en la población analizada, al ser comparada con los resultados que registró el examen directo, que reflejó 7 muestras con trofozoítos de *Entamoeba histolytica* y 39 con observaciones de quiste de la especie, originando un elevado porcentaje de falsos positivos, lo que permitió deducir que en los diferentes centros en donde se procesaron los exámenes directos se incurrió en sobreestimación de este protozoario, quizás al confundir con leucocitos u otras amibas.

Al respecto, Fonte (2000) menciona, que pueden confundirse con mucha frecuencia trofozoítos amebianos con leucocitos, de manera particular con macrófagos que han fagocitado hematíes y quistes de otras amibas, lo que conduce en muchas ocasiones a falsos positivos. Es de señalar, que las muestras no identificadas como *Entamoeba histolytica*, pudieran corresponder a la especie no patógena *Entamoeba dispar*.

En base a lo anteriormente expuesto, se considera importante que en los

laboratorios clínicos se apliquen técnicas específicas que ayuden a identificar a la especie patógena. Si bien, las técnicas moleculares requieren de equipos y reactivos costosos, además de un personal entrenado, las técnicas serológicas como por ejemplo el ELISA orientadas a la identificación de antígenos directo en la muestra fecal son de fácil ensayo, rapidez y a la vez ofrece la detección de una infección aguda. Es notorio en la presente investigación que en los diferentes laboratorios seleccionados, se desconocen los criterios para reportar esta especie y las implicaciones en su diagnóstico, debido a que todas las muestras fecales fueron reportadas como *Entamoeba histolytica*, sin tomar en cuenta la propuesta de la Organización Mundial de Salud (1997).

En cuanto a los resultados aquí obtenidos, se pudo relacionar con un trabajo realizado en una población rural de Cundinamarca, donde se evaluaron 104 muestras de individuos de todas las edades, donde se detectaron 23 muestras con el complejo *Entamoeba histolytica/Entamoeba dispar* de las cuales, sólo 2 fueron identificadas por copro-ELISA, lo que representó el 8,69% de *Entamoeba histolytica* indicando la baja prevalencia de la especie patógena en la región (Guzmán *et al.*, 2001).

En otro estudio, reportado por Ramírez *et al.* (2008) sobre diferenciación de *Entamoeba histolytica/Entamoeba dispar* por ELISA, evaluaron en 80 muestras la presencia de quistes de las especies anteriormente mencionadas y al aplicar el ensayo inmunoenzimático (Ridascreen), se detectó sólo el 11,00% de antígeno de *Entamoeba histolytica*, y concluyeron que el resto de las muestras (69) correspondían a *Entamoeba dispar* u otra amiba o célula de forma y tamaño similar.

Mora *et al.* (2008) mencionaron que existe una sobreestimación de la amibiasis, en un estudio realizado a 428 individuos con sintomatología gastrointestinal de diarrea de la ciudad de Cumaná, estado Sucre, cuando fueron comparados los resultados de PCR utilizando cebadores específicos de cada uno de



las especies en estudio, se obtuvo para *Entamoeba histolytica* 6,31% y para *Entamoeba dispar* 4,44% de prevalencia, mientras que el examen directo reflejó un 20,09% para *Entamoeba histolytica/ Entamoeba dispar*. Además la PCR, permitió registrar 4 infecciones mixtas *Entamoeba histolytica/ Entamoeba dispar*.

En la tabla 5, se muestra que la presencia de leucocitos fecales fue del 100,00%, en las 5 muestras que resultaron positivas al antígeno de *Entamoeba histolytica*, y al analizar estos resultados estadísticamente se obtuvo, asociación entre estas dos variables ( $\chi^2 = 4,13^*$ ; p: 0,0422; \*significativo p< 0,05).

Posiblemente estos pacientes, se encontraban en la etapa inicial de la amibiasis, en donde los mecanismo líticos del parásito, no han podido destruir los polimorfonucleares presentes; sin embargo, su presencia no es determinante en el diagnóstico de la especie, aun cuando puede ser de orientación para el analista cuando se inicia la infección amebiana, además aunque hubo asociación estadística, el hallazgo de leucocitos no permite sugerir la presencia de *Entamoeba histolytica*, ya que en el mayor número de muestras donde estuvieron presentes no se evidenció el parásito.

Al respecto, Beltramino *et al.* (2009), en investigación de sobrediagnóstico de amibiasis en niños con disentería, observaron, en la totalidad de muestras analizadas (75) a través de la evaluación macro y microscópica, la presencia de sangre y leucocitos fecales, sin embargo al aplicar la técnica de ELISA (adhesina Eh) sólo se detectó *Entamoeba histolytica* en 21/75.

Tabla 5. Presencia de leucocitos fecales en muestras procesadas por ELISA de individuos provenientes de diferentes laboratorios de la ciudad de Carúpano, estado Sucre, durante los meses julio-octubre de 2008.

<i>Entamoeba histolytica</i>	N°	Leucocitos fecales			
		Presentes		Ausentes	
		N°	%	N°	%
Positivos	5	5	5,43	-	-
Negativos	87	56	60,90	31	3,69
Total	92	61	66,30	31	100,00

$\chi^2= 4,13^*$ ; p: 0,0422; \*Significativo (p< 0,05) con corrección de Yates; N°: número

Por otra parte, los leucocitos fecales han sido objeto de estudio en investigaciones sobre su relación al comportamiento en infecciones bacterianas, así se tiene el trabajo realizado por Cuartas *et al.* (2008) quienes evaluaron la especificidad y sensibilidad de leucocitos en materia fecal para predecir la presencia de bacterias *Salmonella* o *Shigella* en pacientes con enfermedad diarreica aguda y señalaron que la sensibilidad de la prueba descendió y su especificidad aumentó en la medida en que se incrementaba el recuento de leucocitos en la materia fecal. También, Tomat *et al.* (2009), señalaron que los leucocitos en heces son observados en la fase aguda, y de fiebre en pacientes con disentería por bacterias como *Shigella*, *Salmonella*, *Campylobacter* y *Escherichia coli* enteroinvasiva.

Según Fonte (2000), en una invasión amebiana, se observa un intenso flujo de estas células al sitio donde se desarrolla la agresión. Este reclutamiento leucocitario es consecuencia de la liberación de elementos quimiotácticos por los trofozoitos de *Entamoeba histolytica*, sobre todo de la secreción de IL-8 por las células del epitelio intestinal del hospedero ante la presencia de este protozoo. Sin embargo, poco tiempo después, muchas de las células inflamatorias en las lesiones son escasas debido a que son víctimas de los mecanismos líticos del parásito antes de que puedan realizar sus funciones defensivas.

Existen evidencias que señalan a la inmunidad mediada por células como

protectora ante la amibiasis o reinfección por *Entamoeba histolytica*, en base a esto algunos autores han sugerido que cuando este tipo de respuesta inmunológica se encuentra deprimida se observa un incremento de la invasión por parte del parásito y un aumento en la severidad del cuadro clínico (Ghadirian *et al.*, 1983; Denis y Chadee, 1987; Wang *et al.*, 1992; Pérez y Kretschmer, 1994; Fonte, 2000).

Por lo anteriormente expuesto y debido a la escasa frecuencia de *Entamoeba histolytica* en la población, se evidencia que está sobreestimado su registro en los centros de salud que colaboraron en esta investigación, lo que ha conllevado, muy probablemente, a la aplicación de tratamientos errados, sin atacar al agente causal de la diarrea y, posiblemente, alterando la flora intestinal de los pacientes reportados con *Entamoeba histolytica*.

Es por ello, que se debe unificar el criterio en cuanto a reporte propuesto por la OMS, en todos los laboratorios clínicos, cuando no se distinga la especie patógena de otras amibas u otras células; así como también, la solicitud de recursos para la aplicación de técnicas precisas que permitan ofrecer resultados confiables.

## CONCLUSIONES

La presencia o ausencia de leucocitos fecales resulto ser una herramienta útil, sin embargo no es determinante en la infección por *Entamoeba histolytica*.

Se evidenciaron pocos casos de *Entamoeba histolytica*, por ELISA, en la presente investigación.

Aunque *Entamoeba histolytica* estuvo acompañada de otros parásitos, no se encontró asociación estadística con ninguno de los géneros y especies observadas.

## BIBLIOGRAFÍA

- Acuña, R.; Maguire, J. y Wirth, D. 2000. Gender distribution in asymptomatic and invasive amebiasis. *American Journal Gastroenterology*, 95: 1277-1283.
- Alger, J. 1998. *Entamoeba histolytica* /*Entamoeba dispar* interpretación del diagnóstico parasitológico. *Revista Médica Hondureña*, 66: 205-211.
- Araujo, J.; García, M.; Díaz, O. y Urdaneta, H. 2008. Amibiasis: importancia de su diagnóstico y tratamiento. *Investigación Clínica*, 49: 265-271.
- Arias, J.; Guzmán, G.; Lara, T.; Torres, E. y Gómez, J. 2010. Prevalencia de protozoos intestinales en 79 niños de 2 a 5 años de edad de un hogar infantil estatal en Circasia, Quindío. *Infectología*, 14: 31-38.
- Beltramino, J.; Sosa, H.; Gamboa, N.; Busquets, N.; Navarro, L.; Virgolini, S. y Ricardo, O. 2009. Sobrediagnóstico de amebiasis en niños con disentería. *Archivo Argentino Pediátrico*, 107: 510-514.
- Blessmann, J. y Nupa, T. 2004. Longitudinal study of intestinal *Entamoeba histolytica* infections in asymptomatic adult carriers. *Journal of Clinical Microbiology*, 4: 4745- 4750.
- Botero, D. y Restrepo, M. 1998. *Parasitosis humanas*. Tercera edición. Cooperación para las investigaciones biológicas Medellín- Colombia.
- Brumpt, E. 1925. Étude sommaire de l' "*Entamoeba dispar*" n. sp. Amibe à kystes quadri nucléés, parasite de l'homme. *Bulletin Academic Medical*. (Paris) 94: 943-952.
- Cabrera, F. 1999. *Diagnóstico clínico de la amibiasis*. México. Medicina y Mercadotecnia, S.A.
- Chacin, B. 2001. Relevancia del reconocimiento de *Entamoeba dispar* en la amibiasis. *Investigación Clínica*, 42: 157-160.
- Chincha, O.; Bernabé, A.; Salmavides, F.; Soto, L.; Gotuzzo, E. y Terashima, A. 2009. Infecciones parasitarias intestinales y factores asociados a la infección por coccidias en pacientes adultos de un hospital público de Lima, Perú. *Revista Chilena Infectología*, 26: 440-444.

- Clark, C. y Diamond, L. 1991. Ribosomal RNA genes of 'pathogenic' and 'nonpathogenic' *Entamoeba histolytica* are distinct; *Molécula Biochemical Parasitology*, 47: 297-302.
- Corachán, M. 1995. *Enfermedades producidas por parásitos: Amibiasis*. Medicina Interna. Farreras, R. Décimo tercera edición. Harcourt Brace. Madrid.
- Cornejo, W.; Espinoza, Y.; Huiza, A.; Alva, P.; Suárez, R.; Sevilla, C. y Náquira, C. 1999. Prevalencia de *Entamoeba histolytica* y *Entamoeba dispar* por microscopía y ELISA en muestras fecales de una población urbana marginal de Lima. *Anales de la Facultad de Medicina*, 60: 124-128.
- Cuartas, M.; Molina, O.; Restrepo, A.; Moya, C.; Velásquez, S.; Donado, J.; Zuleta, J. y López, J. 2008. Sensibilidad y especificidad del recuento de leucocitos en materia fecales para predecir la presencia de *Salmonella* o *Shigella* en pacientes con enfermedad diarreica aguda. *Iatreia*, 21: 5-12.
- Denis, M. y Chadee, K. 1987. Modulations of tumor necrosis factor production by macrophages in *Entameba histolytica* infection. *Infection Immunology*, 60: 1750-1756.
- Devera, R.; Ortega, N. y Suárez, M. 2007. Parasitosis intestinal en la población del instituto nacional del menor, Ciudad Bolívar, Venezuela. *Revista Sociedad Venezolana Microbiología*, 27: 353-362.
- Díaz, G. 2004. Diagnóstico confirmatorio de *Entamoeba histolytica* mediante tres técnicas coproparasitológicas. Cumaná, estado Sucre. Trabajo de pregrado. Departamento de Bioanálisis, Universidad de Oriente, Cumaná.
- Dimiceli, L. 2004. *Entamoeba histolytica*, especies patogénica y no patogénica. *Laboratorio Médico*, 35: 613-616.
- Fernández, L.; Carpio, D.; Buendía, B.; Cantero, J. y Pajares, J. 2000. Amibiasis y enfermedad inflamatoria intestinal. *Revista Española Enfermedad Diagnóstico*, 95: 357-358.
- Fernández, M.; Sánchez, L.; Marín, H.; Montano, I.; Núñez, F.; Núñez, Y. y Fonte, L. 1998. Sobrediagnóstico microscópico de amebiasis intestinal: encuesta a técnicos de Laboratorio. *Revista Cubana Investigación Biomédica*, 18: 197-202.
- Fleck, M. y Moody, A. 1988. *Diagnostic techniques in medical parasitology*. Diagnostic. Parasitology-Laboratory Manuals.

Fonte, L. 2000. *Amebiasis: Enfoques actuales sobre su diagnóstico, tratamiento y control*. Editorial Elfos Scientiae, La Habana Cuba.

Gallego, M.; Gómez, J; Torres, E. y Lara, F. 2003. Prevalencia de *Entamoeba histolytica* en asentamientos temporales post- terremoto de la ciudad de Armenia. *Infectología*, 7: 190-194.

Ghadirian, E.; Meerovitch, E. y Kongshavn, P. 1983. Role of macrophage in host defense against experimental hepatic amebiasis in hamster. *Infección Immunology*, 42: 1017-1021.

Gómez, J.; Cortéz, J; Cuervo, S. y López, M. 2007. Amibiasis intestinal. *Asociación Colombiana de Infectología*, 11: 36-45.

Gómez, N.; Molina, A; García, M.; Castillo, J.; Ramos, J.; García, R.; Fonseca, I. y Valenzuela, O. 2005. Identificación de la *Entamoeba histolytica/ Entamoeba dispar* por la técnica de amiba en fresco y su tinción con hematoxilina- eosina en la diarrea aguda. *Revista Mexicana Pediátrica*, 72: 109-112.

Guerrero, M.; Hernández, Y.; Rada, M.; Aranda, A. y Hernández, M. 2008. Parasitosis intestinal y alternativas de disposición de excreta en municipio de alta marginalidad. *Revista Cubana Salud Pública*, 34: 44-56.

Gutiérrez, M. 2007. Amebiasis en España: Diagnóstico molecular y estudio epidemiológico de una parasitosis emergente. Trabajo de postgrado. Universidad Complutense Madrid.

Guzmán, C.; López, M.; Reyes, P.; Corredor, A. y Agudelo, C. 2001. Diferenciación de *Entamoeba histolytica* y *Entamoeba dispar* en muestras de materia fecal por detección de adhesina de *Entamoeba histolytica* mediante ELISA. *Biomédica*, 21: 167-171.

Haque, R.; Mollah, N.; Alí, I.; Eubanks, A.; Lyerly, D. y Petri, W. 2000. Diagnosis of amebic liver abscess and intestinal infection with the techlab *Entamoeba histolytica* II antigen detection and antibody tests. *Journal Clinical Microbiology*, 38: 3235-3239.

Homéz, J.; Soto, R.; Tarazón, S.; Méndez, H. y Mármol, P. 1995. *Manual de Parasitología*. Octava edición. Editorial Ediluz de la Universidad del Zulia.

Incani, R. 2000. *Parasitología* Universidad de Carabobo. Facultad de Ciencias de la Salud. Ediciones Delforn, C.A. Valencia; Venezuela.

Jackson, T. 2000. *Epidemiology in Amebiasis*. Ediciones London. Imperial Collage Press.

Martínez, A.; García, M.; Alfonso, N. y Urdaneta, H. 2007. Amibiasis invasiva en niños de una comunidad indígena de la Sierra de Perijá, Venezuela estado Zulia, *Infectología*, 18: 23-30

Mora, L.; García, A. y De Donato, M. 2005. Prevalencia del complejo *Entamoeba histolytica* y *Entamoeba dispar* en pacientes con síntomas gastrointestinales de diarrea procedentes de Cumaná, estado Sucre. *Kasmera*, 1: 36-45.

Mora, L.; García, A.; De Donato, M. y Urdaneta, H. 2008. Estudio epidemiológico y molecular de cepas de *Entamoeba histolytica* y *Entamoeba dispar* en pacientes con diarrea en Cumaná, estado Sucre, Venezuela. *Investigación Clínica*, 16: 513-525.

Mora, L.; Segura, M.; Martínez, I.; Figuera, L.; Salazar, S. Fermín, I. y González, B. 2009. Parasitosis intestinales y factores de higiénicos sanitarios asociados en individuos de localidades rurales del estado Sucre. *Kasmera*, 4: 22-32.

Morales, G. y Pino, L. 1995. Parasitometría Impresión. Clementes. Editores C.A. Valencia, estado Carabobo.

Muños, V. y Frade, C. 2005. *Blastocystis hominis*: Parásito enigmático. *Cuadernos*, 50: 80-88.

Ohnishi, K. y Murata, M. 1997. Present characteristics of symptomatic amebiasis due to *Entamoeba histolytica* in the east- southeast area of Tokyo. *Epidemiology Infection*, 119: 363-367.

Organización Mundial de la Salud (OMS) 1997. Informe de un comité de expertos. Prevención y control de infecciones parasitarias. Serie de informes técnicos. 749: 26-45.

Organización Panamericana de la Salud (OPS). 2000. *Bioética*. Principios éticos para los investigadores en seres humanos. Publicación científica. OMS-OPS.

Pérez, M. y Kretschmer, R. 1994. *Respuesta de inmunidad humoral*. Editorial Trillas México, 299.

Petri, W.; Haque, R.; Lyerly, D. y Vines, R. 2000. Estimating the impact of amebiasis on health. *Parasitology Today*, 16: 320-321.



Pinilla, A.; López, M. y Viasus, D. 2008. Historia del protozoo *Entamoeba histolytica*. *Revista Médica Chile*. 136: 118-124.

Pinto, P. 2005. Manual de Procedimientos. Área de Parasitología. Universidad Mayor de San Andrés. Bolivia.

Ramírez, A.; Brito, I. y Ávila, C. 2008. Diferenciación de *Entamoeba histolytica* /*Entamoeba dispar* en pacientes con diagnóstico parasitológico de *Entamoeba histolytica*. *Biomédica*, 21: 167-171.

Reyes, L y León, R. 2002. Diferenciación de *Entamoeba histolytica*/ *Entamoeba dispar* y los nuevos hallazgos en la patogénesis de la amibiasis intestinal. *Revista Costarricense Ciencia Médica*, 23: 161-173.

Reyes, H.; Navarro, P. y Sánchez, M. 2004. Infecciones por parásitos en trabajadores de la salud: Transmisión y control. *Revista Instituto Nacional de Higiene Rafael Rangel*, 35: 15-18.

Requilme, F. y Uribe, R. 2004. Determinación de anticuerpos anti-*Entamoeba histolytica* mediante inmunofluorescencia indirecta en pacientes con pruebas hepáticas alteradas. Trabajo de pregrado. Facultad de Ciencias de la Salud, Escuela de Tecnología Médica. Universidad de Talca.

Rivero, Z.; Bracho, A.; Calchi, M.; Díaz, I.; Acurero, E.; Maldonado, A.; Chourio, G.; Arráiz, N. y Corzo, G. 2009. Detección y diferenciación de *Entamoeba histolytica* y *Entamoeba dispar* mediante reacción en cadena de la polimerasa en individuos de una comunidad del estado Zulia, Venezuela. *Cadernos Saúde Pública*, 25: 1153-1156.

Rodríguez, M. 2009. *Entamoeba histolytica* y *Entamoeba dispar* en individuos sintomáticos y asintomáticos por métodos convencionales y moleculares provenientes de diferentes centros de salud de la ciudad de Cumaná estado Sucre Trabajo de pregrado. Departamento de Bioanálisis, Universidad de Oriente, Cumaná.

Rodríguez, E.; Mateos, B.; González, J.; Aguilar, Y.; Alarcón, E.; Mendoza, A.; Mier, M.; Mora, M. y Bernal, R. 2008. Transición parasitaria a *Blastocystis hominis* en niños de la zona centro del estado del Guerrero, México. *Parasitología Latinoamericana*, 63: 20-28.

- Rosales, O.; Urdaneta, H.; Hernández, M. y Muñoz, J. 2002. Evaluación de la actividad de polimorfonucleares neutrófilos frente a antígenos de cepas patógenas de *Entamoeba histolytica*. *Revista Cubana Medicina Tropical*, 54: 96-100.
- Rossi, N. y Urdaneta, H. 1997. Estudios inmunológicos de utilidad para el diagnóstico y seguimiento de la amebiasis. *Universidad de los Andes Facultad de Medicina. Instituto de Inmunología Clínica, Seminario de Inmunología*, 1: 24- 25.
- Sharp, S.; Suarez, C.; Duran, Y. y Poppiti, R. 2001. Evaluation of the triage microparasite panel for detection of *Giardia*, *Entamoeba histolytica/Entamoeba dispar* and *Cryptosporidium parvum* in patient stool specimen. *Journal Clinical Microbiology*, 39: 332-334.
- Stanley, S. 2001. Protective immunity to amebiasis: New insight and new challenges. *Infection Diagnostic*, 184: 504-506.
- Tannich, E. 1998. Amoebic disease *Entamoeba histolytica* and *Entamoeba dispar* comparison of molecular considered important for host tissue destruction. *Royal Society Tropical Medical Higiene*, 92: 593-596.
- Traviezo, L.; Triola, M. y Agobian, G. 2006. Predominio de *Blastocystis hominis* sobre otros enteroparásitismo en pacientes del municipio Palecino, estado Lara, Venezuela. *Revista Cubana Medicina Tropical*, 58: 563-584.
- Trejos, J. y Castaño, J. 2009. Factores de virulencia del patógeno intestinal *Entamoeba histolytica*. *Asociación Colombina Infectología*, 13: 36-45.
- Tomat, M.; Remartini, P.; Salinas, B.; Materan, M.; González, R.; Rosas, M. y Materan, M. 2009. Síndrome disintérico en niños menores de 5 años. *Salus*, 13: 640-650.
- Tuyuta, H.; Cermeño, R. y Cermeño, J. 2002. Prevalencia de amebiasis extraintestinal en el estado Bolívar. *Revista Sociedad Venezolana Microbiología*, 22: 120-132.
- Urdaneta, H.; Cava, A.; Molina, S.; Aguirre, A. y Hernández, M. 1998. Evaluación Inmunoquímica de cepas de *Entamoeba histolytica* Venezolanas. *Kasmera*, 26: 46-51.
- Valdez, E.; Martínez, M.; Gómez, A.; Cedillo, E.; Arellano, J.; Pérez, M.; Ramos, F.; Moran, P.; González, E.; Valenzuela, O. y Melendro, E. 1999. HLA characterization adult asymptomatic cysl passers of *Entamoeba histolytica/Entamoeba dispar*. *Parasitology Research*, 85: 833-836.

Velarda, T. y Mendoza, M. 2006. Prevalencia de *Blastocystis hominis* en menores de 12 años de una población Mexicana urbana. *Revista Cubana Pediátrica*, 78: 1-8.

Vélez, H. 2003. *Fundamentos de medicina. Enfermedades infecciosas*. Sexta edición Editorial Cooperación para investigación biológica. Medellín. 162-169.

Wang, W. Keller, K. y Chadee, K. 1992. Modulations of tumor necrosis factor production by macrophages in *Entamoeba histolytica* infection. *Infection Immunology*, 60: 3169-3174.

Yau, Y.; Crandall, I. y Kain, K. 2001. Development of monoclonal antibodies which specifically recognize *Entamoeba histolytica* in preserved stool samples. *Journal Clinical Microbiology*, 39: 716-719.

## ANEXO

### CONSENTIMIENTO VÁLIDO

Bajo la coordinación de la Profa. Leonor Mora, profesora de la Universidad de Oriente núcleo de Sucre, se está realizando en proyecto de investigación intitulado: “EVALUACIÓN DE *Entamoeba histolytica* Y SU RELACIÓN CON LEUCOCITOS FECALES EN MUESTRAS DIARREICAS DE PACIENTES PROVENIENTES DE DIFERENTES CENTROS DE SALUD DE LA CIUDAD DE CARUPANO, ESTADO SUCRE.”, cuyo objetivo general es: Evaluar *Entamoeba histolytica* y su relación con leucocitos fecales en muestras diarreicas de individuos procedentes de diferentes centros de salud de la ciudad de Carúpano, estado Sucre.

Yo: \_\_\_\_\_

C.I: \_\_\_\_\_ Nacionalidad: \_\_\_\_\_

Estado civil: \_\_\_\_\_ Domiciliado en: \_\_\_\_\_

Siendo mayor de 18 años, en uso pleno de mis facultades mentales y sin que medie coacción ni violencia alguna, en completo conocimiento de la naturaleza, forma duración, propósito, inconvenientes y riesgos relacionados con el estudio indicado, declaro mediante la presente:

1. Haber sido informado(a), de manera clara y sencilla por parte del grupo de investigadores de este proyecto, de todos los aspectos relacionados con el proyecto de investigación llevado a cabo en la Universidad de Oriente, núcleo de Sucre intitulado: “Evaluación de *Entamoeba histolytica* y su relación con leucocitos fecales en muestras diarreicas de pacientes provenientes de diferentes centros de salud de la ciudad de Carúpano”. Tener conocimiento claro de que el objetivo del trabajo antes mencionado: Evaluar, *Entamoeba histolytica* y su relación con leucocitos fecales en muestras diarreicas de individuos procedentes de diferentes centros de salud de la ciudad de Carúpano, estado Sucre. conocer bien el protocolo experimental expuesto por

el investigador, en el cual se establece que mi participación en el trabajo consiste en: donar de manera voluntaria una muestra de heces, la cual será analizada por una persona capacitada y autorizada por el licenciado Pedro Hernández, colaborador del proyecto.

2. Que la muestra de heces que acepto donar será única y exclusivamente para realizar el examen coprológico, y determinación de antígenos *-Entamoeba histolytica*.
3. Que el equipo de personas que realiza esta investigación coordinada por el licenciado Pedro Hernández me ha garantizado confidencialidad relacionada tanto a mi identidad como a cualquier otra información relativa a mi persona a la que tenga acceso por concepto de mi participación en el proyecto antes mencionado.
4. Que bajo ningún concepto podré restringir el uso para fines académicos de los resultados obtenidos en el presente estudio.
5. Que mi participación en dicho estudio no implique riesgo ni inconveniente alguno para mi salud.
6. Que cualquier pregunta que tenga en relación con este estudio me será respondida oportunamente por parte del equipo de personas antes mencionadas, con quienes me puedo comunicar por el teléfono 0416-7930318 con el bachiller Leonor González.
7. Que en ningún momento se me ha ofrecido, ni pretendo recibir ningún beneficio de tipo económico producto de los hallazgos que se puedan producir en el referido proyecto de investigación.

## ANEXO 2

### DECLARACIÓN DEL INVESTIGADOR

Luego de haber explicado detalladamente al voluntario la naturaleza del protocolo mencionado, certifico mediante la presente que a mi leal saber, el sujeto que firma este formulario comprende la naturaleza, requerimientos, riesgos y beneficios de su participación en este estudio. Ningún problema de índole médica, de idioma o de instrucción ha impedido al sujeto tener una clara comprensión de su compromiso con este estudio.

Por el proyecto: “EVALUACIÓN DE *Entamoeba histolytica* Y SU RELACIÓN CON LEUCOCITOS FECALES EN MUESTRAS DIARREICAS DE PACIENTES PROVENIENTES DE DIFERENTES CENTROS DE SALUD DE LA CIUDAD DE CARÚPANO, ESTADO SUCRE.”

Nombre: \_\_\_\_\_

Lugar y Fecha: \_\_\_\_\_

### ANEXO 3

#### AUTORIZACIÓN

Yo \_\_\_\_\_, portador de C.I. \_\_\_\_\_, (paciente) autorizo a la Br: Leonor T. González D. C.I.: 13.772.772, a analizar la muestra de heces cuyo resultado será usado en el desarrollo de su trabajo de grado que lleva por nombre: “EVALUACIÓN DE *Entamoeba histolytica* Y SU RELACIÓN CON LEUCOCITOS FECALES EN MUESTRAS DIARREICAS, DE PACIENTES PROVENIENTES DE DIFERENTES CENTROS DE SALUD DE LA CIUDAD DE CARUPANO, ESTADO SUCRE.” Además otorgo el consentimiento para que los datos generados puedan ser utilizados para el estudio, sin revelar nombres y sean entregados a la brevedad posible.

En este estudio se seguirán los lineamientos establecidos en la declaración de Helsinki entre los cuales destacan que este trabajo de investigación estará solo a cargo de personas con la debida preparación científica y bajo la vigilancia de un profesional de la salud, por otra parte se respetará el derecho de cada individuo participante en la investigación a salvaguardar su integridad personal, se adoptaran las precauciones necesarias para respetar su intimidad y reducir al mínimo las precauciones del estudio sobre la integridad física y mental del paciente.

---

Firma

## HOJA DE METADATOS

### Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 1/6

<b>Título</b>	<b>EVALUACIÓN DE <i>ENTAMOEBAS HISTOLYTICAS</i> Y SU RELACIÓN CON LEUCOCITOS FECALES EN MUESTRAS DIARREICAS DE PACIENTES PROVENIENTES DE DIFERENTES CENTRO DE SALUD DE LA CIUDAD DE CARÚPANO, ESTADO SUCRE. (JULIO - OCTUBRE 2008)</b>
<b>Subtítulo</b>	

### Autor(es)

<b>Apellidos y Nombres</b>	<b>Código CVLAC / e-mail</b>	
<b>LEONOR TERESA GONZÁLEZ DÍAZ.</b>	<b>CVLAC</b>	<b>13.772.772</b>
	<b>e-mail</b>	<b><a href="mailto:Labionalista06@hotmail.com">Labionalista06@hotmail.com</a></b>
	<b>e-mail</b>	

### Palabras o frases claves:

<b>Amibiasis, Leucocitos, Protozooario</b>



## Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 2/6

Líneas y sublíneas de investigación:

Área	Subárea
Ciencias	Bioanálisis

Resumen (abstract):

Se evaluó la presencia de *Entamoeba histolytica* y su relación con leucocitos fecales en muestras diarreicas de individuos de todas las edades y ambos sexos que asistían diariamente a diferentes centros asistenciales de la ciudad de Carúpano, estado Sucre. Un total de 209 muestras fecales y sus resultados fueron recolectados durante julio-octubre 2008. Las muestras se analizaron a través de: examen directo con solución salina fisiológica al 0,85% y lugol, coloración de Giemsa, además del método copro-inmunoenzimático (ELISA). *Entamoeba histolytica* fue el protozooario de mayor frecuencia encontrada al análisis de los resultados al examen directo (22,00%). En cuanto a la técnica de leucograma fecal, 61 muestras resultaron con presencia de leucocitos fecales, (29,19%), de las cuales 27 presentaron *E. histolytica* (12,92%). Se evidenció el 5,43% de antígenos de *E. histolytica* y en cuyas muestras se observaron leucocitos fecales, lo que representó el 100%. La diferencia en cuanto a los porcentajes obtenidos aplicando las diversas técnicas, refleja que la aparición de *E. histolytica* es infrecuente y que existe una sobreestimación del parásito en la población en estudio. El empleo del ensayo copro-inmunoenzimático para la detección de antígenos de *E. histolytica* debe ser empleado como prueba de rutina en los diferentes centros asistenciales debido a la similitud morfológica al microscopio óptico con otras especies amébicas en particular con *E. dispar*, de esta manera, se garantizarían resultados confiables y la emisión de tratamientos adecuados a la infección existente.

## Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 3/6

Contribuidores:

Apellidos y Nombres	ROL / Código CVLAC / e-mail	
<b>Leonor Mora</b>	<b>ROL</b>	CA <input type="checkbox"/> AS <input checked="" type="checkbox"/> TU <input type="checkbox"/> JU <input type="checkbox"/>
	<b>CVLAC</b>	<b>9.273.164</b>
	<b>e-mail</b>	<b>Moralobianco @ yahoo.com</b>
	<b>e-mail</b>	
	<b>ROL</b>	CA <input type="checkbox"/> AS <input type="checkbox"/> TU <input checked="" type="checkbox"/> JU <input type="checkbox"/>
	<b>CVLAC</b>	
	<b>e-mail</b>	
	<b>e-mail</b>	
<b>Del valle Guilarte</b>	<b>ROL</b>	CA <input type="checkbox"/> AS <input type="checkbox"/> TU <input type="checkbox"/> JU <input checked="" type="checkbox"/>
	<b>CVLAC</b>	<b>9.306.350</b>
	<b>e-mail</b>	<b>Delguifa67 @gmail.com</b>
	<b>e-mail</b>	
<b>Brunell González</b>	<b>ROL</b>	CA <input type="checkbox"/> AS <input type="checkbox"/> TU <input type="checkbox"/> JU <input checked="" type="checkbox"/>
	<b>CVLAC</b>	<b>11.829.813</b>
	<b>e-mail</b>	<b>brunnell-gonzalez@ yahoo.com</b>
	<b>e-mail</b>	

Fecha de discusión y aprobación:

**Año    Mes    Día**

<b>2012</b>	<b>02</b>	<b>02</b>
-------------	-----------	-----------

Lenguaje:      SPA

## Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 4/6

Archivo(s):

Nombre de archivo	Tipo MIME
Tesis.gonzalezldoc	Word

Alcance:

Espacial: Regional (Opcional)

Temporal: Temporal (Opcional)

**Título o Grado asociado con el trabajo: Licenciatura en Bioanálisis**

---

**Nivel Asociado con el Trabajo: Licenciado**

---

**Área de Estudio: Parasitología**

---

**Institución(es) que garantiza(n) el Título o grado: Universidad de Oriente**

---

# Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 5/6



UNIVERSIDAD DE ORIENTE  
CONSEJO UNIVERSITARIO  
RECTORADO

CUN°0975

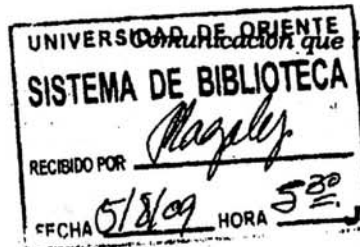
Cumaná, 04 AGO 2009

Ciudadano  
**Prof. JESÚS MARTÍNEZ YÉPEZ**  
Vicerrector Académico  
Universidad de Oriente  
Su Despacho

Estimado Profesor Martínez:

Cumplo en notificarle que el Consejo Universitario, en Reunión Ordinaria celebrada en Centro de Convenciones de Cantaura, los días 28 y 29 de julio de 2009, conoció el punto de agenda **"SOLICITUD DE AUTORIZACIÓN PARA PUBLICAR TODA LA PRODUCCIÓN INTELECTUAL DE LA UNIVERSIDAD DE ORIENTE EN EL REPOSITORIO INSTITUCIONAL DE LA UDO, SEGÚN VRAC N° 696/2009"**.

Leído el oficio SIBI – 139/2009 de fecha 09-07-2009, suscrita por el Dr. Abul K. Bashirullah, Director de Bibliotecas, este Cuerpo Colegiado decidió, por unanimidad, autorizar la publicación de toda la producción intelectual de la Universidad de Oriente en el Repositorio en cuestión.



Comunicación que hago a usted a los fines consiguientes.

Cordialmente,

**JUAN A. BOLAÑOS CUMPEL**  
Secretario



C.C: Rectora, Vicerrectora Administrativa, Decanos de los Núcleos, Coordinador General de Administración, Director de Personal, Dirección de Finanzas, Dirección de Presupuesto, Contraloría Interna, Consultoría Jurídica, Director de Bibliotecas, Dirección de Publicaciones, Dirección de Computación, Coordinación de Teleinformática, Coordinación General de Postgrado.

JABC/YGC/maruja

## Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso- 6/6

**Artículo 41 del REGLAMENTO DE TRABAJO DE PREGRADO (vigente a partir del II Semestre 2009, según comunicación CU-034-2009) :** “los Trabajos de Grado son de la exclusiva propiedad de la Universidad de Oriente, y sólo podrán ser utilizados para otros fines con el consentimiento del Consejo de Núcleo respectivo, quien deberá participarlo previamente al Consejo Universitario para su autorización”.

---

**González Leonor  
AUTOR**

---

**Mora Leonor  
ASESOR**

---

**POR LA COMISIÓN DE TRABAJO DE GRADO**