

## Historia del protozoo *Entamoeba histolytica*

Análida Elizabeth Pinilla<sup>1</sup>, Myriam Consuelo López<sup>2a</sup>,  
Diego Fernando Viasus<sup>1</sup>.

### *History of the Entamoeba histolytica protozoan*

*This article presents a history of Entamoeba histolytica spanning since the remote times when it was not even recognized as a cause of human disease to the recent molecular advances. Feder Lösch (1875) in Saint Petersburg, found amoebae in fecal samples but only regarded them as responsible for maintaining the inflammatory process, not as a cause of dysentery. Fritz Schaudinn (1903) established the differentiation between Entamoeba histolytica and Endamoeba coli, Schaudinn decided to call it E. histolytica because of its ability to cause tissue lysis. Emile Brumpt (1925) based on experimental studies, pointed out the existence of E. Histolytica as a species complex, comprising two morphologically indistinguishable species, E. dysenteriae which is the cause of symptomatic infection, and Entamoeba dispar found only in asymptomatic carriers. Louis Diamond et al (1961) during the 1960's developed an axenic culture medium for E. histolytica which allowed in vivo and in vitro studies. Sargeant and Williams (1978) distinguished for the first time E. histolytica strains by isoenzyme electrophoresis, thus confirming that E. histolytica was indeed a species complex comprising both pathogenic and non-pathogenic species. William Petri et al (1987) demonstrated that the 170 kDa protein with greater antigenicity was the Gal/GalNac-specific lectin. Diamond and Clark (1993) described again Brumpt's original 1925 hypothesis, concluding that there was enough evidence to support the existence of two morphologically indistinguishable species, a pathogenic and a nonpathogenic one, corresponding to E. histolytica and Entamoeba dispar respectively. The World Health Organization accepted this hypothesis in 1997 (Rev Méd Chile 2008; 136: 118-24).*

**(Key words:** Dhg12 protein, Entamoeba dispar; Dysentery, amebic; Entamoeba histolytica)

Recibido el 21 de agosto, 2006. Aceptado el 21 de diciembre, 2006.

<sup>1</sup>Departamento de Medicina Interna, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá. <sup>2</sup>Departamento de Salud Pública, Universidad Nacional de Colombia.

<sup>3</sup>Bacterióloga

Se presenta la recopilación histórica de este parásito desde épocas remotas cuando no se reconocía como causa de enfermedad hasta los avances moleculares. *Entamoeba histolytica* es un

protozoo de distribución mundial, que afecta en particular a países en vía de desarrollo, infecta alrededor de 500 millones de personas y anualmente 110.000 mueren por complicaciones. Así, la amebiasis es considerada la tercera parasitosis causante de mortalidad mundial después de la malaria y la esquistosomiasis. Las personas infectadas se dividen en dos grupos de acuerdo a sus manifestaciones clínicas: 90% son asintomáticos (portadores sanos) y 10% son sintomáticos princi-

**Correspondencia a:** Dra. Análida Elizabeth Pinilla. Departamento de Medicina Interna, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá. Telefax: 57-1-3165000 extensión 15167/15011. E mail: apinillar@unal.edu.co; apinilla@supercabletv.net.co

palmente a nivel intestinal (disentería amebiana, rectocolitis aguda, colitis no disintérica crónica, ameboma) y extraintestinal (absceso hepático amebiano –AHA-, absceso cerebral, enfermedad genitourinaria y cutánea). Sin embargo, 1% de las personas infectadas pueden desarrollar patologías potencialmente fatales como colitis amebiana fulminante o AHA<sup>1,2</sup>.

**Primeros tiempos.** La humanidad ha venido padeciendo desde tiempos inmemoriales el azote de la disentería descrita por Celso e Hipócrates con el nombre de “flujo de vientre”. Hipócrates (460 a 377 AC) reconoció la amebiasis en un paciente con disentería y fiebre. Posteriormente, en el Antiguo Testamento y la Medicina Interna Clásica de Huang Ti (140 a 87 AC) se denominó la disentería<sup>3</sup>.

El término disentería del griego *dys*: alteración, *enteron*: intestino, aparece en documentos de diversas culturas e idiomas: hebreo, griego, chino, sánscrito, entre otros<sup>4</sup>.

**América.** Las primeras noticias de diarrea que mejoraba con la ipecacuana, se remontan al siglo XVI, 1516, en publicaciones en Alcalá de Henares, por Pedro Mártir quien visitó América.

Los primeros relatos en México se remontan a 1611, cuando fray García Guerra, Arzobispo de México y Virrey de la Nueva España, falleció al poco tiempo de llegar a México porque presentó un cuadro caracterizado por fiebre y dolor en el área hepática; a su vez, el médico azteca, Martín de la Cruz, la describió y Mateo Alemán planteó la asociación entre disentería y absceso hepático (AH).

Luego en el siglo XVIII fue reconocida como una de las enfermedades más graves y epidémicas. En México, por la presencia de más casos se convocó un concurso de expertos sobre las “obstrucciones inflamatorias del hígado” para celebrar la coronación de Carlos IV Rey de España. La disertación de Joaquín Pío Eguía (1783) describió la epidemia de «fiebres malignas biliosas» que causaba muerte y precisó que era necesaria la intervención quirúrgica además del tratamiento médico. En el siglo XIX, Miguel Jiménez en México puntualizó la indicación de la punción y drenaje del AH como terapia eficaz con reducción de la mortalidad: «ofrecían una gran ventaja las punciones hechas con trocar por los espacios intercostales para dar salida al pus del absceso»<sup>5</sup>.

Luego en el siglo XX, Bernardo Sepúlveda se consagró al estudio de la amebiasis y coordinó la publicación de un número especial dedicado a la amebiasis (1936), y estimuló a la OMS y OPS a estudiarla<sup>6</sup>.

**Colombia.** El científico español José Celestino Mutis (1803) informó del tratamiento para disentería con quina e ipecacuana. José Tomás Henao (1887) escribió sobre el tratamiento quirúrgico por grandes incisiones del AH, igualmente Evaristo García en Cali, Braulio Mejía en Medellín y Eliseo Montaña en Bogotá a finales del siglo XIX.

Kofoid et al (1926) informaron una incidencia de 53% en un estudio realizado en Santa Marta. Otros estudios realizados entre 1937 y 1962 informaron una incidencia que oscilaba entre 20%-67%. Se han realizado dos encuestas nacionales en 1965 y 1980, que revelaron que 24% y 12% de la población colombiana presentaba quistes de *E. histolytica*, respectivamente.

Hasta los años 70 el diagnóstico de AH se sospechaba por los datos clínicos y exámenes de laboratorio inespecíficos y se confirmaba por medio de la punción hepática diagnóstica o la cirugía. La morbilidad y mortalidad han cambiado con el uso de nitroimidazoles, la ecografía desde los años 80 y el inmunodiagnóstico<sup>7,8</sup>.

**Siglo XIX.** A mediados de ese siglo se reconoció un síndrome clínico con manifestación intestinal aunque la etiología no se sabía. Justamente, Lambal en Praga (1850) sospechó la etiología parasitaria al describir el primer caso anecdótico, un niño con disentería en cuya materia fecal demostró la presencia de un protozoo que emitía pseudópodos. Pero sólo hasta 1875, Feder Lösch, en San Petersburgo, encontró amebas en las heces de un agricultor, pero no consideró que éstas fueran la causa de la disentería, sino que mantenían el proceso inflamatorio. Lesh, médico ruso, hizo la descripción microscópica de la ameba patógena obtenida de las heces de un paciente con disentería<sup>3,5,9</sup>.

Luego, Koch (1886) en Egipto, estudio casos de disentería encontrando amebas en las úlceras de la submucosa intestinal y demostró la presencia del parásito en lesiones hepáticas; con estos hallazgos casi simultáneamente Esteban Kartulis en El Cairo (1886) realizó 150 autopsias de

pacientes que habían fallecido por disentería y observó la presencia de úlceras colónicas descritas por Lösch y Koch; además, demostró la presencia de amebas como agente causal de lo que se llamaba AH tropical y de la disentería tropical, por tanto el AH era secuela de la disentería amebiana. Prontamente otros autores como Hlava en Praga (1887), Councilman y Lafleur en Baltimore (1891) demostraron con pruebas clínicas y anatomopatológicas que la ameba es el agente causal de un tipo específico de disentería y de AH. Simultáneamente, Osler *et al* (1890) realizaron la primera descripción del AHA y la colitis, en un médico que falleció; del estudio de este caso Councilman y Lafleur publicaron una monografía sobre patología de la amebiasis en la que introdujeron los términos de *disentería amebiana* y *absceso hepático amebiano*. En 1893, Quincke y Roos describieron los quistes<sup>5,6,9</sup>.

**Siglo XX. Décadas 1900-1950.** A través del tiempo este parásito recibió diversos nombres como *Amoeba coli*, Lösch (1885); *Amoeba dysenteria*, Councilman y Lafleur (1891); *Entamoeba dysenteriea* por Councilman y Lafleur (1891) y Craig (1905); *Entamoeba tetrágena* por Hartmann (1908); *E. histolytica* por Schaudinn (1903) y Hickson (1909); *Entamoeba hartmanni* por von Prowazek (1912); *Endamoeba dysenteriae* por Kofoid (1920) y *Entamoeba dispar* por Brumpt (1925)<sup>10</sup>.

El zoólogo alemán Fritz Schaudinn en 1903, diferenció entre *Endamoeba histolytica* y *Endamoeba coli*; murió en el año 1906 a la edad de 35 años de complicaciones secundarias a una amebiasis adquirida por autoinfección. Schaudinn decidió llamar a la ameba *histolytica* por ser productora de lisis tisular<sup>4,5,9</sup>.

La emetina obtenida de la ipecacuana (“raíz del Brasil”) se empleó como amebicida desde 1912 cuando Vedder demostró su eficacia *in vitro*, desde entonces se usó por su eficacia en amebiasis intestinal y extraintestinal<sup>11</sup>.

Diez años después Walker y Sellards en Filipinas obtuvieron pruebas, en personas voluntarias, de que *E. histolytica* es la causa de colitis amebiana y que *E. coli* es un comensal del intestino grueso<sup>3</sup>. Estos autores en 1913 contribuyeron al conocimiento para conocer la patogenicidad de la *E. histolytica* diseñando un estudio para hacer ingerir quistes de amebas en tres grupos de

“voluntarios” de la prisión de Bilibid en Manila concluyendo que *E. histolytica* causa colitis amebiana, que los portadores asintomáticos o “sembradores de amebas”, término propuesto por Martín en 1908, transmiten y pueden desarrollar en cualquier momento la enfermedad amebiana y que *E. coli* es un comensal del intestino grueso. En 1914, Izar desarrolló la técnica de fijación de complemento para determinar la presencia de anticuerpos en pacientes con amebiasis<sup>4,9,10</sup>.

El parasitólogo francés Emile Brumpt (1925), basado en observaciones clínicas y epidemiológicas y estudios experimentales en gatos, señaló la existencia de *E. histolytica* como un complejo de especies morfológicamente iguales a las que denominó *E. dysenteriae* causante de la infección sintomática y *E. dispar* encontrada en asintomáticos, sin embargo este planteamiento fue rechazado inicialmente por la comunidad científica internacional en esa época<sup>5,7,9</sup>. Simultáneamente, Boeck y Drvohlav (1925) describieron el primer medio de cultivo mixto, de preparación bifásica a base de huevo en tubo inclinado con solución salina isotónica, en el cual la *E. histolytica* se multiplicaba con relativa facilidad. Dobell y Laidlaw (1926) introdujeron un medio de cultivo mixto enriquecido con arroz como fuente de carbohidratos. Craig (1928-1931) basado en antígenos obtenidos de trofozoitos en estas condiciones intentó desarrollar pruebas para el inmunodiagnóstico de amebiasis con especificidad baja por no contener antígenos puros<sup>5,8</sup>.

La Comisión Internacional de Nomenclatura Zoológica dictaminó (1928) que *Entamoeba* fuese sinónimo de *Endamoeba*<sup>10</sup>. Dobell describió el ciclo de vida de la *E. histolytica* en el ser humano, mediante cultivos de una cepa amebiana obtenida de un mono, con base en cuatro formas sucesivas: el trofozoíto, el prequiste, el quiste y la ameba metaquística<sup>5</sup>. Faust (1938) desarrolló la técnica de sulfato de zinc y Ritchie (1948) describió la técnica de sedimentación, éstas sirvieron para mejorar la concentración de los quistes de ameba presentes en heces. Posteriormente, se estableció que el examen seriado de al menos 3 muestras permite mejorar la sensibilidad del diagnóstico microscópico dado que la expulsión de quistes es intermitente<sup>5,9</sup>.

Balamuth (1946) y Nelson (1947) reportaron los primeros medios líquidos para el cultivo de *E. histolytica* que requerían incluir otros comensales

como bacterias entéricas o flagelados como *Trypanosoma cruzi*, agregando almidón y harina de arroz para que las amebas se multiplicaran y crecieran<sup>5</sup>. Luego, Shaffer *et al* (1949) idearon un medio de cultivo monoxénico, en tubos cerrados con tioglicolato y estreptobacilos vivos, pero las amebas no se multiplicaban<sup>10</sup>.

**Décadas de los años cincuenta y sesenta.** Eddson-Dew y Maddeson en Durvan (1952) establecieron el valor diagnóstico y epidemiológico del test de difusión en gel. Goldman (1953) desarrolló la técnica de anticuerpos fluorescentes para diferenciar *E. histolytica*. Se utilizaron otros métodos como hemoaglutinación indirecta, la precipitación por el acetato y la contraelectroforesis, demostrando que la presencia de anticuerpos puede persistir por meses o años aun cuando los síntomas o signos de la enfermedad hayan pasado. En diciembre de 1954 la Comisión Internacional de Nomenclatura Zoológica revocó el dictamen de 1928 y legalizó el de *Entamoeba* como nombre genérico suprimiendo el de *Endamoeba*<sup>10</sup>.

Shaudinn especificó el nombre de *E. histolytica* teniendo una controversia con Von Prowazek con la *E. hartmanni*. Esta discusión fue dilucidada por varios investigadores entre ellos Faust (1951-1958), Burrows (1957), Hoar (1958) y Freedman y Eddson-Dew (1959). La diferenciación entre las especies de *E. histolytica* y *E. hartmanni* radica en que los quistes de la primera especie son de tamaño mayor de 10  $\mu$  y los de la segunda menores de 10  $\mu$  aunque son morfológicamente idénticas siendo la primera patógena y la segunda no. Neghme en 1959 sugirió que *E. hartmanni* podría ser una mutante de *E. histolytica*<sup>10</sup>.

A partir de los años 60 se desarrollaron nuevos medios de cultivo. Louis Diamond et al (1961) desarrollaron la técnica para el cultivo en medio axénico de *E. histolytica* (sin asociación con bacterias) que permitió realizar estudios *in vivo* e *in vitro*<sup>12</sup>. Luego, en 1968 este autor introdujo el medio monofásico TPS-1, que comenzó a tener amplio uso, pero fue remplazado por el TYI-S-33. Para el aislamiento de cepas de *E. histolytica* en medios de cultivos mixtos, se utilizó el medio de cultivo bifásico descrito por Robinson (1968)<sup>13</sup>.

Es importante resaltar que la obtención del cultivo axénico de *E. histolytica* permitió el desarrollo de las pruebas inmunológicas para el diagnóstico de la amebiasis, entre las que se han

descrito las técnicas de hemoaglutinación indirecta, inmunodifusión, fijación del complemento, contraelectroforesis, inmunofluorescencia indirecta, ELISA y Western Blot<sup>14</sup>. En 1968, Reeves y Bischoff diferenciaron las especies de *Entamoeba*, patógena y no patógena, mediante perfiles isoenzimáticos pero sin llegar a distinguir entre cepas patógenas y no patógenas de *E. histolytica*<sup>15</sup>.

**La renovación desde los años setenta.** En los comienzos de los años setenta se comenzaron a acumular datos que apoyaban la hipótesis de Brumpt de la existencia de dos especies diferentes de *E. histolytica*. Sólo hasta 1978, luego de varios años de investigación, Sargeant y Williams lograron por primera vez, diferenciar por medio de estudios electroforéticos de isoenzimas, cepas de *E. histolytica* aisladas de pacientes con manifestaciones clínicas de amebiasis y portadores asintomáticos, confirmándose que la *E. histolytica* está constituida por cepas patógenas y no patógenas<sup>16</sup>. De esta manera se describieron diferentes zimodemas de *E. histolytica*. Se definió zimodemas como poblaciones de amebas que difieren entre sí en la movilidad electroforética de ciertas enzimas. Así, se estableció un marcador de patogenicidad dado por la presencia de banda  $\beta$  en ausencia de banda  $\alpha$  en la enzima fosfoglucomutasa (PGM). Se han descrito 24 patrones de zimodemas a partir de 6.000 cepas de *E. histolytica*, aislados de diferentes partes del mundo durante un periodo de 10 años, de los cuales se describieron 12 patógenos y 12 no patógenos al correlacionar la presentación clínica, el análisis de zimodemas y la serología<sup>17-20</sup>.

Petri *et al* (1987) lograron demostrar, mediante electroforesis con un grupo de sueros inmunes humanos, que la proteína de 170 kDa con mayor antigenicidad correspondía a la GAL/Gal Lectina. Braga et al en 1992, demostraron la similitud entre la lectina de adherencia y la proteína CD59 de las células sanguíneas, por lo que la *E. histolytica* evade la lisis inducida por complemento<sup>21,22</sup>. Kassai *et al* (1988) propusieron unificar la terminología para denominar las enfermedades parasitarias, para dejar el nombre de amebiasis al agregar el sufijo -osis; sin embargo, en la actualidad sólo la aceptan los médicos veterinarios y no los parasitólogos humanos<sup>23,24</sup>.

Petri *et al* (1989), identificaron la estructura de la Gal/GalNAc lectina mediante anticuerpos mo-

noclonales, en modelos experimentales. Ésta es una proteína de la superficie del parásito por la cual se adhiere a las células de la mucosa del colon y otras células blanco<sup>25</sup>. Luego, estudios con técnicas de inmunofluorescencia con anticuerpos monoclonales demostraron la diferencia de los antígenos de superficie entre las dos especies<sup>26,27</sup>. Tannich *et al* identificaron las diferencias genéticas entre las cepas patógenas y no patógenas<sup>28</sup>.

Diamond y Clark (1993), redescubren la hipótesis de Brumpt de 1925, a la luz de estudios bioquímicos, inmunológicos y genéticos para concluir la evidencia de que existen dos especies morfológicamente idénticas, una patógena y otra no patógena, que correspondían a *E. histolytica* y *E. dispar*, respectivamente<sup>29</sup>. Sólo hasta 1997, la OMS aceptó esta hipótesis por comité de expertos, reunidos en Ciudad de México, reglamentando que es un complejo de dos especies, *E. histolytica*/*E. dispar*, morfológicamente idénticas pero sólo diferenciables mediante patrones isoenzimáticos y por determinación de adhesina en materia fecal o técnicas moleculares<sup>30</sup>.

Se concluyó: Informar en exámenes por microscopía la presencia de quistes como complejo *E. histolytica*/*E. dispar* y la presencia de trofozoitos con glóbulos rojos en el citoplasma indican la presencia de *E. histolytica*. En pacientes sintomáticos la presencia de títulos altos de anticuerpos está correlacionada con amebiasis invasiva; el concepto de amebiasis es la infección por *E. histolytica* con o sin manifestaciones clínicas.

Se recomendó: Idealmente la *E. histolytica* debe ser identificada y tratada, si sólo se identifica *E. dispar* el tratamiento no es necesario y si el paciente tiene síntomas gastrointestinales se deben buscar otras causas; por cultivo no se puede excluir la presencia de *E. histolytica*; en individuos asintomáticos no se recomienda tratamiento cuando se identifica el complejo de *E. histolytica*/*E. dispar* a menos que haya sospecha de infección con *E. histolytica*, las razones para sospechar infección incluyen títulos de anticuerpos específicos altos, historia de contacto estrecho con un caso de amebiasis invasiva o un brote; en presencia del complejo, en un paciente sintomático, no se debe asumir que sea *E. histolytica* sino deben ser consideradas otras causas; estas recomendaciones son adecuadas para todos los individuos

incluyendo homosexuales, embarazadas, HIV, áreas endémicas; la enfermedad invasiva debe ser tratada con amebicidas tisulares y lumbales, los tisulares no son adecuados para el tratamiento de individuos asintomáticos y la profilaxis nunca es apropiada.

A partir de la década de los años noventa se desarrollaron pruebas para detectar antígenos de *E. histolytica* en heces y suero de pacientes sintomáticos o asintomáticos, mediante ELISA o coagulación. Estas pruebas pueden diferenciar *E. histolytica* de *E. dispar* al utilizar anticuerpos monoclonales específicos contra Gal/GalNAc lectina, con sensibilidad y especificidad mayores a 90%, además no requieren de personal especializado para su realización y en áreas endémicas permiten diferenciar infección reciente de pasada<sup>31-35</sup>.

Tachibana *et al* (1991) utilizaron la PCR para diferenciar *E. histolytica* patógena y no patógena<sup>36</sup> y usaron la PCR (1992), en el líquido del AHA, para confirmar el diagnóstico<sup>37</sup>. Acuña-Soto *et al* (1993) aplicaron PCR en muestras de materia fecal para diferenciar *E. histolytica* patógena de no patógena en una población rural de México<sup>38</sup>. En 1997 se utilizó este método para diferenciar los quistes de *E. histolytica* y *E. dispar*<sup>3,39</sup>. Con relación a la estructura molecular, Ghosh *et al* (2003) identificaron la estructura del ADN ribosomal de la *E. histolytica*<sup>40</sup>.

A partir de 1988, se empezaron a reportar estudios en modelos animales de inoculación de antígenos amebianos para inducir inmunidad protectora, demostrando claramente que los antígenos son capaces de generar respuesta, humoral y celular, que podría ser explorada para el desarrollo de vacunas<sup>41</sup>. En la actualización más reciente del desarrollo de la vacuna realizado por Stauffer y Ravdin (2003) informan el desarrollo de estudios experimentales utilizando subunidad de Gal/GalNAc lectina recombinante para estimular la respuesta inmune celular y humoral. En el momento hay investigaciones en curso para una vacuna oral<sup>42</sup>.

En resumen, la redescubierta de la *E. histolytica* con respecto a *E. dispar* reconociéndola como patógena y comensal, respectivamente, ha cambiado claramente la visión en el enfoque del cuadro clínico, el diagnóstico y el tratamiento; se visualiza que la *E. dispar* es más común en la

población mundial, lo que ya ha sido informado en algunos países, por lo tanto la infección por *E. histolytica* debe ser realmente menos frecuente. A pesar de todos los avances, actualmente el diagnóstico de laboratorio de uso cotidiano es el

examen de materia fecal al microscopio, el que requiere de personal experto dedicado. Por ende, se requieren métodos más precisos, rápidos y económicos asequibles para el clínico alrededor del orbe.

#### REFERENCIAS

1. WALSH JA, WARREN KS. Selective primary health care: an interim strategy for disease control in developing countries. *N Eng J Med* 1979; 301: 967-74.
2. Who Meeting. Amoebiasis and its control. *Bull Who* 1985; 63: 417-26.
3. TANYUKSELM M, PETRI WA JR. Laboratory Diagnosis of Amebiasis. *Clin Microbiol Rev* 2003; 16: 713-29.
4. ARGUELLO M, GÓMEZ RD. *De la Entamoeba histolytica a la enfermedad amibiana*. Bogotá: Laboratorios Syntesis, pp. 13-28.
5. La ciencia para todos. Instituto Latinoamericano de la Comunicación Educativa [http://omega.ilce.edu.mx:3000/sites/ciencia/volumen1/ciencia2/47/html/sec\\_7.html](http://omega.ilce.edu.mx:3000/sites/ciencia/volumen1/ciencia2/47/html/sec_7.html). (Consultado el 16 de junio de 2006).
6. 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.
7. MARÍN E, PINILLA AE, LÓPEZ MC. Absceso hepático amebiano. Revisión de 100 años de esta patología en Colombia. *Acta Med Colomb* 2000; 25: 218-26.
8. NICHOLLS RS, RESTREPO MI, DUQUE S, LÓPEZ MC, CORREDOR A. Standardization and evaluation of ELISA for the serodiagnosis of Amoebic Liver Abscess. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 1994; 89: 53-8.
9. REYES L, LEÓN R. Diferenciación de *Entamoeba histolytica/Entamoeba dispar* y los nuevos hallazgos en la patogénesis de la amibiasis intestinal. *Rev Costarric Cienc Med*; 2002; 23:161-73. <http://www.scielo.sa.cr/scielo>. (Consultado el 27 de noviembre de 2006).
10. FAUST EC, RUSSELL PF, JUNG RD. *Craig y Faust Parasitología Clínica*. México DF. Primera Edición: Salvat Editores. 1974; 135-70.
11. EBSTER LT. *Drogas empleadas en la quimioterapia de las infecciones por protozoarios*. En: Goodman A, Goodman LS, Rall TW, Murad F, editores. Segunda reimpresión. Séptima edición en inglés. Buenos Aires: Editorial Panamericana S.A.; 1986; pp. 1005-18.
12. DIAMOND LS. Axenic cultivation of *Entamoeba histolytica*. *Science* 1961; 134: 336-7.
13. ROBINSON GL. The Laboratory Diagnosis of Human Parasitic Amoebae. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1968; 62: 285-94.
14. PINILLA AE, LÓPEZ MC, CASTILLO B, MURCIA MI, NICHOLLS RS, DUQUE S ET AL. Enfoque clínico y diagnóstico del absceso hepático. *Rev Méd Chile* 2003; 131: 1411-20.
15. REEVES RE, BISCHOFF JM. Classification of *entamoeba* species by means of eletrophoretic properties of amebal enzymes. *J Parasitol* 1968; 54: 594-600.
16. SARGEAUNT PG, WILLIAMS JE, GRENE JD. The differentiation of invasive and non-invasive *Entamoeba histolytica* by isoenzyme electrophoresis. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1978; 72: 519-21.
17. 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 R Soc Trop Med Hyg* 1984; 78: 96-101.
18. SARGEAUNT PG. Zymodemes expressing possible genetic exchange in *Entamoeba histolytica*. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1985; 79: 86-9.
19. SARGEAUNT PG, JACKSON TF, WIFFEN S, BHOJNANI R, WILLIAMS JE, FELMINGHAM D ET AL. The reliability of *Entamoeba histolytica* zymodemes in clinical laboratory diagnosis. *Arch Invest Med* 1987; 18: 69-75.
20. NOZAKI T, ACA IDA S, OKUZAWA E, MAGALHAES M, TATENO S, TAKEUCHI T. Zymodemes of *Entamoeba histolytica* isolated in the Amazon and the north-east of Brazil. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1990; 84: 387-8.
21. PETRI WA JR., JOYCE MP, BROMAN J, SMITH RD, MURPHY CF, RAVDIN JI. Recognition of the galactose- or N-acetylgalactosamine-binding lectin of *Entamoeba histolytica* by human immune sera. *Infect Immun* 1987; 55: 2327-31.
22. BRAGA LL, NINOMIYA H, MCCOY JJ, EACKER S, WIEDMER T, PHAM C ET AL. Inhibition of the complement membrane attack complex by the galactose-specific adhesion of *Entamoeba histolytica*. *J Clin Invest* 1992; 90: 1131-7.

23. KASSAI T, CORDERO DEL CAMPILLO M, EUZEBY J, GAAFAR S, HIEPE T, HIMONAS CA. Standardized nomenclature of animal parasitic diseases (SNOAPAD). *Vet Parasitol* 1988; 29: 299-326.
24. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?CMD=search&DB=mesh> (Consultado el 26-11-2006).
25. PETRI WA JR, CHAPMAN MD, SNODGRASS T, MANN BJ, BROMAN J, RAVDIN JI. Subunit structure of the galactose and N-acetyl-D-galactosamine-inhibitable adherence lectin of *Entamoeba histolytica*. *J Biol Chem* 1989; 264: 3007-12.
26. PETRI WA JR, JACKSON TF, GATHIRAM V, KRESS K, SAFFER LD, SNODGRASS TL ET AL. Pathogenic and nonpathogenic strains of *Entamoeba histolytica* can be differentiated by monoclonal antibodies to the galactose-specific adherence lectin. *Infect Immun* 1990; 58: 1802-6.
27. HAQUE R, KRESS K, WOOD S, JACKSON TF, LYERLY D, WILKINS T ET AL. Diagnosis of pathogenic *Entamoeba histolytica* infection using 24. a stool ELISA based on monoclonal antibodies to the galactose-specific adhesin. *J Infect Dis* 1993; 167: 247-9.
28. TANNICH E, HORSTMANN RD, KNOBLOCH J, ARNOLD HH. Genomic DNA differences between pathogenic and nonpathogenic *Entamoeba histolytica*. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989; 86: 5118-22.
29. DIAMOND LS, CLARK CG. A redescription of *Entamoeba histolytica* Schaudinn, 1903 (Emended Walker, 1911) separating it from *Entamoeba dispar* Brumpt, 1925. *J Eukaryot Microbiol* 1993; 40: 340-4.
30. Who/Paho/Unesco Report. A consultation with experts on amoebiasis. Mexico City, Mexico 28-29 January 1997. *Epidemiol Bull.* 1997 18:13-4. Disponible en: [http://www.paho.org/english/sha/epibul\\_95-98/be971amo.htm](http://www.paho.org/english/sha/epibul_95-98/be971amo.htm) [Consultado el 7 de abril de 2005].
31. ABD-ALLA MD, JACKSON TF, GATHIRAM V, EL-HAWEY AM, RAVDIN JI. Differentiation of pathogenic *Entamoeba histolytica* infections from non-pathogenic infections by detection of galactose-inhibitable adherence protein antigen in sera and feces. *J Clin Microbiol* 1993; 31: 2845-50.
32. HAQUE R, KRESS K, WOOD S, JACKSON T, LYERLY D, WILKINS T ET AL. Diagnosis of pathogenic *Entamoeba histolytica* infection using a stool ELISA based on monoclonal antibodies to the galactose specific adhesin. *J Infect Dis* 1993; 167: 247-9.
33. HAQUE R, NEVILLE L, HAHN P, PETRI WA JR. Rapid diagnosis of *Entamoeba* infection by using *Entamoeba* and *Entamoeba histolytica* stool antigen detection kits. *J Clin Microbiol* 1995; 33: 2558-61.
34. KARAKI BM, PARIJA SC. Co-agglutination test for the detection of circulating antigen in amebic liver abscess. *Am J Trop Med Hyg* 1999; 60: 498-501.
35. HAQUE R, MOLLAH NU, ALI IK, ALAM K, EUBANKS A, LYERLY D ET AL. Diagnosis of amebic liver abscess and intestinal infection with the TechLab *Entamoeba histolytica* II antigen detection and antibody tests. *J Clin Microbiol* 2000; 38: 3235-9.
36. TACHIBANA H, KOBAYASHI S, TAKEKOSHI M, IHARA S. Distinguishing pathogenic isolates of *Entamoeba histolytica* by polymerase chain reaction. *J Infect Dis* 1991; 164: 825-6.
37. TACHIBANA H, KOBAYASHI S, OKUZAWA E, MASUDA G. Detection of pathogenic *Entamoeba histolytica* DNA in liver abscess fluid by polymerase chain reaction. *Int J Parasitol* 1992; 22: 1193-6.
38. ACUÑA-SOTO R, SAMUELSON J, DE GIROLAMI P, ZARATE L, MILLAN-VELASCO F, SCHOOLNICK G ET AL. application of the polymerase chain reaction to the epidemiology of pathogenic and nonpathogenic *Entamoeba histolytica*. *Am J Trop Med Hyg* 1993; 48: 58-70.
39. SANUKI J, ASAI T, OKUZAWA E, KOBAYASHI S, TAKEUCHI T. Identification of *Entamoeba histolytica* and *E. dispar* cysts in stool by polymerase chain reaction. *Parasitol Res* 1997; 83: 96-8.
40. GHOSH S, SATISH S, TYAGI S, BHATTACHARYA A, BHATTACHARYA S. Differential use of multiple replication origins in the ribosomal DNA episome of the protozoan parasite *Entamoeba histolytica*. *Nucleic Acids Research* 2003; 31: 2035-44.
41. AHMAD S, KHAN HM, MAHDI AA, KUMAR H, KHAN N. *Entamoeba histolytica* antigens as possible vaccino-gens? A short review. *J Chromatogr* 1988; 440: 467-72.
42. STAUFFER W, RAVDIN JI. *Entamoeba histolytica*: an update. *Curr Opin Infect Dis* 2003; 16: 479-85.