

Prevalencia de *Entamoeba histolytica* en asentamientos temporales post-terremoto de la ciudad de Armenia

Martha Lucía Gallego Bact, Esp. Microbiología¹

Jorge Enrique Gómez Marín, MD, PhD¹

Elizabeth Torres, Bact.¹

Fabiana Lora Biol.¹

Resumen

Objetivo: determinar la prevalencia de parásitos intestinales y de *Entamoeba histolytica* mediante la prueba ELISA de adhesina en heces en asentamientos temporales post-terremoto. **Diseño:** estudio de prevalencia de punto. **Lugar:** ocho asentamientos temporales post-terremoto de la ciudad de Armenia. **Población:** muestra representativa de la población entre 4 y 65 años de edad de asentamientos, en total 169 personas. **Mediciones:** Coproscópico y prueba ELISA para adhesina de *Entamoeba histolytica* en heces. **Resultados:** *Endolimax nana* fue el parásito comensal más prevalente con 66%, seguido por *Entamoeba coli* 26% y *Iodamoeba buschtlii* 10%. *Giardia lamblia* fue la especie patógena más prevalente con 38%, seguida de *Ascaris lumbricoides* 10%, *Strongyloides stercoralis* 2%, *Trichuris trichura*

1,7%, *Hymenolepis nana* 0,6% (1/169). Los quistes de *Entamoeba histolytica/dispar* fueron detectados por microscopía en 17,5% y la prueba de adhesina fue positiva en sólo una de las 169 muestras estudiadas (0,6%). **Conclusiones:** este estudio señala que *E. histolytica* es poco frecuente en asentamientos temporales post-terremoto y la necesidad en Colombia de realizar pruebas específicas, con el fin de determinar la instauración de un tratamiento antimibiano, el cual no se puede basar en el resultado de la microscopía óptica dada la alta frecuencia de amibas no patógenas. **Palabras claves:** *Entamoeba histolytica*, *Entamoeba dispar*, prueba de adhesina, parasitosis intestinal, epidemiología asentamientos postdesastre. ☉

Infectio 2003; 7(4): 190-194

Introducción

En Colombia el 25 de enero de 1999 dos eventos sísmicos significativos afectaron los departamentos del eje cafetero, siendo el Quindío la región que sufrió con mayor rigor los efectos directos del terremoto. Las consecuencias de la catástrofe fueron devastadoras principalmente por la pérdida de viviendas: el 70% de las casas de Armenia fueron destruidas. Se estima que murieron 1.184 personas y que 5.000 tuvieron heridas (1). Los efectos devastadores sobre las casas de Armenia indujeron la organización de "asentamientos" (espacios multifamiliares), que causaron dificultades en la provisión de servicios sanitarios básicos, suministro

de agua y alimentos. Los asentamientos temporales permanecieron hasta dos años después del desastre, lo cual originó preocupación sobre los efectos a nivel de salud pública en estas personas. La Universidad del Quindío llevó a cabo estudios epidemiológicos sobre los efectos en la salud. Uno de los aspectos estudiados fue la prevalencia de parásitos intestinales. En un estudio publicado previamente (2) se encontró una alta prevalencia de *Giardia* en los niños de estos asentamientos y esto fue relacionado con el tipo de fuente de agua y los servicios sanitarios utilizados (individuales o comunitarios). También en otro estudio (3) se encontró diferencia en la morbilidad de varias

Recibido para evaluación : 31/08/ 2003 - Aprobado para publicación: 11/11/2003

¹ Grupo de Parasitología Molecular -GEPAMOL-Centro de Investigaciones Biomédicas, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad del Quindío.

Correspondencia: Jorge E. Gómez Marín, Grupo Estudio en Parasitología Molecular (GEPAMOL), Centro de Investigaciones Biomédicas Universidad del Quindío Armenia (Q) Telefax: +57-67-460168. E mail: gepamol@uniquindio.edu.co



enfermedades infectocontagiosas entre los asentamientos inducidos y espontáneos.

Uno de los parásitos intestinales a los cuales se le ha dado mayor importancia como productor de disentería es *Entamoeba histolytica*. Sin embargo su real impacto sobre la salud pública no ha sido establecida (4). Recientemente se ha encontrado que existen dos parásitos intestinales genéticamente distintos pero morfológicamente idénticos: uno patógeno y otro no patógeno. El nombre *E. histolytica* ha sido asignado al parásito protozoario que causa la amibiasis invasiva intestinal y extraintestinal y el nombre de *Entamoeba dispar* ha sido restablecido para referirse al organismo comensal intestinal no patógeno (5). La microscopía no permite diferenciar *E. histolytica* de *E. dispar*. La sensibilidad de la microscopía se sitúa en un rango que va desde 25% hasta máximo 60% y su especificidad de sólo 10% hasta máximo 50% (6). El análisis por sistemas enzimáticos o zimodemas permite diferenciar entre *E. histolytica* y *E. dispar*, pero requiere cultivos que pueden tardar una semana para obtener resultados. La técnica ELISA para detección de la adhesina y que utiliza anticuerpos monoclonales dirigidos contra epítopes especie -específicos de la *E. histolytica*, ha demostrado muy buena sensibilidad y especificidad así como rapidez y sencillez en su realización (6). Haque y colaboradores (7) en 202 muestras de heces de pacientes con diarrea demostraron que la detección de la adhesina específica de *E. histolytica* tuvo una sensibilidad de 95% y una especificidad de 93%, utilizando como prueba de oro el análisis por zimodemas. Los estudios empleando esta técnica de detección de adhesina específica de *E. histolytica*, han permitido determinar la real prevalencia de esta parasitosis intestinal. Haque et al (8) en un estudio en 2.000 niños en Bangladesh, encontró que los niños con diarrea en la zona urbana tuvieron una prevalencia de 4,2% de infección por *E. histolytica* y 6,5% de infección por *E. dispar*. Los niños asintomáticos de la zona rural presentaron una prevalencia de 1,0 % de infección por *E. histolytica* y una prevalencia de 7,0% de infección por *E. dispar*. Existen reportes previos de disentería ambiana en alojamientos post desastre (9). En el presente estudio se buscó determinar la real frecuencia de *E. histolytica* mediante la prueba de detección de la adhesina en heces de 169 personas de ocho asentamientos temporales post -terremoto de la ciudad de Armenia y su relación con la enfermedad diarreica en esta población.

Materiales y Métodos

Población y aspectos éticos

El registro de alojamientos temporales en Armenia, entre inducidos y espontáneos, como consecuencia del sismo del 25 de Enero de 1999, fue de 100, con 25.618 albergados en ellos. Se seleccionaron para el estudio ocho asentamientos que albergaban 3.560 personas. Los asentamientos fueron numerados y seleccionados de manera aleatoria sobre el total. Se recolectó una muestra de heces a un total de 169 personas, es decir el 4,7% de los habitantes entre los 4 y 65 años de edad, de estos asentamientos de Armenia. La muestra se seleccionó aleatoriamente, entre aquellos miembros de núcleos familiares que aceptaron participar voluntariamente en el estudio y permite estimaciones de confiabilidad sobre la prevalencia de parásitos de 99%, esperando una frecuencia de parásitos intestinales entre 30% y 20% para el total de la población de los asentamientos (calculado en Epiinfo 2002, CDC, Atlanta). Consecutivo a la realización de una encuesta, donde se preguntaba presencia de síntomas gastrointestinales o ingestión de medicamentos antiparasitarios, se obtuvieron las muestras en los ocho asentamientos programados, durante los meses de enero a julio de 2001. Se obtuvo consentimiento informado de los adultos o de los representantes legales de los menores, cumpliendo con lo prescrito por el artículo 13 del decreto 2737 de 1989. Con el fin de cumplir con la resolución 8430 del Ministerio de Salud, relacionada con trabajos en la comunidad, cuando una muestra resultó con patógenos intestinales, el grupo de investigación proporcionó el tratamiento indicado. A todos los participantes se les entregó el resultado de su examen parasitológico.

Técnicas parasitológicas

Se recibió un espécimen de heces recién emitidas de cada participante sin preservativos y de inmediato transportadas al laboratorio, en recipientes tipo nevera de icopor con hielo seco y procesado inmediatamente para observación microscópica directa, por concentración. Los especímenes fueron procesados para métodos directos con solución salina, lugol y eosina y métodos de concentración con sulfato de zinc o técnica de Faust y de Kato Katz (10). Se diferenciaron los quistes de *E. hartmanni* de aquellos del complejo *E. histolytica/dispar* por micrometría (10).

ELISA para detección de adhesina de *E. histolytica* en heces

Todas las 169 muestras se procesaron para

detección de lectina Gal-GalNAc para *E. histolytica* utilizando el estuche comercial "*E. histolytica* test" (catalog # T5005-A, TechLab, Inc, Blacksburg VA). Esta prueba utiliza un anticuerpo monoclonal para la detección de adhesina específica o lectina de unión a N-acetyl-D-galactosamina en heces por medio del cual los trofozoítos se adhieren a las superficies de la mucosa (11). Esta prueba se realizó de acuerdo con las instrucciones del proveedor. En resumen, utilizando un hisopo de algodón, se toma muestra de materia fecal que es diluida en solución diluyente disolvente? proporcionada con el estuche. Con este procedimiento se transfieren aproximadamente 0,15 a 0,2 g de espécimen fecal. Se usa una microplaca de 96 pozos cubiertos con anticuerpo monoclonal contra adhesina de *E. histolytica*. A todos los pozos, se añaden 5 ml de conjugado, el cual es un anticuerpo monoclonal de ratón anti-adhesina de *E. histolytica*, marcado con peroxidasa. Luego se transfieren 200 ml de espécimen diluido a cada pozo y se incuban dos horas a temperatura ambiente. Se descarta el contenido y se lava cuatro veces con solución de lavado. Se elimina el exceso de líquido y cada vez se seca fuertemente con papel toalla absorbente hasta remover completamente cualquier residuo en los pozos. Luego se añaden 10 ml de sustrato (tetrametilbencidina y peróxido) a cada pozo y durante cinco minutos se mezcla suavemente. Se incuba luego 10 minutos a temperatura ambiente y se agregan 5 ml de solución de parada (ácido sulfúrico 1M) a cada pozo, el cual convierte la solución de un color azul a amarillo. La reacción es cuantificada utilizando un lector de ELISA Dynatech MR 5000 a 450 nm. Se consideró un resultado como positivo para adhesina de *E. histolytica* si la densidad óptica era mayor a 0,05 después de sustraer el valor de la lectura del control negativo. De acuerdo con los resultados obtenidos con la prueba se calculó la prevalencia de infección de *E. histolytica* en esta población y los intervalos de confianza a 95% de este porcentaje.

Pruebas estadísticas

El análisis de los datos se realizó con el programa Epiinfo 2002 (CDC, Atlanta). Se calcularon la razón de prevalencia (OR) y sus intervalos de confianza a 95% (IC 95%) y se utilizó el estadístico de Fisher de dos colas para probar la significancia estadística entre presencia de patógenos intestinales y diarrea.

Resultados

El rango de edades en la población estudiada fue

entre 4 y 65 años. La distribución por sexo fue de 44,9% (75/169) de sexo masculino y 55,6% (94/169) de sexo femenino. Los resultados de frecuencia de parásitos intestinales, incluyendo *E. histolytica/dispar* se muestran en la Tabla 1. La forma de trofozoíto compatible con *E. histolytica* /*E. dispar* determinada por microscopia fue 6,5% (11/169). No se observaron trofozoítos hematofagos. La frecuencia del complejo *E. histolytica* / *E. dispar* fue de 17,7% y luego de realizar la prueba de adhesina, la prevalencia de *E. histolytica* fue de 0,6% (1/169) con intervalos de confianza a 95% de 0 y 9,6%. La paciente cuyo examen fue positivo para adhesina, era de sexo femenino, tenía 43 años y sin sintomatología manifiesta.

Con relación a los síntomas de diarrea y presencia de parásitos intestinales patógenos, se hizo un análisis en tabla de 2 x 2. Hubo síntomas en 12 personas que consistieron en dolor abdominal en dos casos, diarrea en ocho y vómito en dos. Aunque *E. histolytica/dispar* y *Giardia* fueron más frecuentes en los pacientes con diarrea, con relación al resto de la población, las diferencias no llegaron a ser estadísticamente significativas (Tabla 2).

Discusión

Luego de un desastre natural una gran preocupación de los servicios de salud es la aparición de epidemias, incluyendo las de disentería. De hecho, la causa de mayor morbilidad en la población de asentamientos temporales post-terremoto de Armenia fue la enfermedad diarreica aguda (EDA), con una frecuencia de 32%, seguida por las infecciones respiratorias agudas con 24% (3). Como en el proceso de análisis de la población de alojamientos temporales post-terremoto se encontró una gran cantidad de pacientes con parásitos de complejo *E. histolytica/dispar* determinado por microscopia, surgió la necesidad de determinar cuales de ellos poseían la especie patógena *E. histolytica*. Los resultados muestran que la gran mayoría de personas eran portadoras de amibas no patógenas y la única persona con presencia de *E. histolytica* era asintomática. Esto apunta a que las causas de EDA fueron diferentes a *E. histolytica*. En el caso de los asentamientos temporales post-terremoto no se estableció la etiología de las EDA, pero es probable que virus y bacterias jugaran algún papel (12). Solo un reporte previo en un asentamiento post-desastre en México reporta disentería amibiana (9). La ecología de las infecciones intestinales puede variar de un sitio a otro y por lo



TABLA 1

Prevalencia de parásitos en heces de población general de asentamientos temporales post-terremoto de Armenia (Colombia), 2001

Parásito	Frecuencia	Porcentaje
<i>Endolimax nana</i>	112/169	66%
<i>Entamoeba hartmanni</i>	52/169	30%
<i>Entamoeba coli</i>	45/169	26,6%
<i>Lodamoeba buschtlii</i>	18/169	10,6%
<i>Blastocystis hominis</i>	71/169	42%
<i>Giardia lamblia</i>	65/169	38,5%
Complejo <i>histolytica/dispar</i>	30/169	17,7%
<i>Ascaris lumbricoides</i>	17/169	10%
<i>Strongyloides stercoralis</i>	4/169	2,3%
<i>Trichuris trichura</i>	3/169	1,8%
<i>Hymenolepis nana</i>	1/169	0,6%

tanto la importancia de un patógeno intestinal dado debería determinarse localmente.

A pesar de que este trabajo se realizó en una población específica como lo es la de los asentamientos temporales post-terremoto, los hallazgos sobre patógenos intestinales dan una luz sobre su frecuencia en la población general. Así, los datos del presente trabajo revelaron por esta técnica una prevalencia de *E. histolytica* menor al 1% (0,6%) en individuos de ocho asentamientos temporales post-terremoto de la ciudad de Armenia, lo cual es un dato cercano a la frecuencia reportada por Guzmán y colaboradores en una población de 140 habitantes de la vereda de La Virgen en Quipile (Cundinamarca), en donde encontraron dos casos de 140 personas estudiadas, es decir el 1,4% (13). La segunda encuesta nacional de morbilidad en 1980 encontró para la zona del eje cafetero una prevalencia *E. histolytica* / *E. dispar* de 10,7% y en todo el país de 12%, diferenciándolas de la *E. hartmanni* mediante micrometría (14). En el presente estudio se encontró una prevalencia muy cercana, de 17,5% de complejo *E. histolytica* / *E. dispar* por microscopía. En Armenia los datos del Instituto Seccional de Salud reportan 793 casos de amibiasis intestinal entre 1 a 68 años, en una población global de 292.899 habitantes. Sin embargo, estos datos fueron obtenidos por observación mediante microscopía directa sin medición por micrometría, que permitiera diferenciar entre *E. hartmanni* y complejo *E. histolytica/dispar* (15). Por lo tanto, es de esperar que hay un sobre diagnóstico de la importancia de la amibiasis en la

TABLA 2

Relación con diarrea y parasitosis intestinal en población de asentamientos post-terremoto, Armenia (Colombia), 2001

	Complejo <i>E. histolytica/dispar</i>	<i>Giardia</i>	<i>Blastocystis</i>
Diarrea	3/8 (37,5%)	4/8 (50%)	2/8 (25%)
Población sin síntomas	27/161 (16,7%)	61/161 (37,8%)	69/161 (42,8%)
OR (IC 95%)	2,98 (0,4-16,1)	1,6 (0,3-9,1)	0,4 (0,04-2,5)
P (Prueba de Fisher de 2 colas)	0,5	0,48	0,48

región y sería deseable hacia el futuro que antes de notificar un caso de amibiasis se realizara una prueba de diagnóstico específica que permita diferenciar entre *E. histolytica* y *E. dispar*.

La sintomatología encontrada en algunas personas, tales como dolor abdominal, diarrea y vómito no guardó relación directa con positividad para *E. histolytica/dispar* o *Giardia*. En un estudio en Bangladesh se encontró una prevalencia de 0,5% para *E. histolytica* en 814 niños estudiados y que presentaban diarrea (16). Los resultados que nosotros obtuvimos mostraron a *Giardia lamblia* como el patógeno predominante (38,5%). Los parásitos patógenos que siguieron en frecuencia fueron el *Ascaris lumbricoides* con 10%, similar a lo reportado por Guzmán (13) y seguido en valores menores por *Strongyloides stercoralis*, *Trichuris trichiura* e *Hymenolepis nana*. Estos datos deben llevar a revisar conceptos arraigados popularmente, como el atribuir muchos problemas intestinales a "amibas" y emerger a *Giardia* como el protozoo intestinal de mayor importancia.

En conclusión, los datos de este trabajo permiten deducir la importancia de identificar y caracterizar exactamente la *E. histolytica*, para evitar tratamientos innecesarios y costosos. En poblaciones en riesgo tales como las de asentamientos temporales post-desastres se deben utilizar además de las técnicas de rutina para el diagnóstico, la micrometría y las técnicas de detección de adhesina en heces por el método ELISA con el fin de evitar errores diagnósticos y enfocar el tratamiento adecuadamente. ☼

Agradecimientos

A la empresa TechLab (Blacksburg, VA, USA), por la donación del estuche *E.histolytica* II ELISA monoclonal para la detección de la adhesina de *E.histolytica* en especímenes fecales.

Abstract

Objectives: to determine the prevalence of *Entamoeba histolytica* in temporary settings post-earthquake. **Design:** prevalence study. **Setting:** temporary post earth quake settings in Armenia (Quindío, Colombia) **Population:** a representative sample of the population between 4 and 65 years, altogether 169 people. **Methods:** direct stool examination and confirmation by specific adhesin *Entamoeba histolytica* ELISA assay. **Results:** *Endolimax nana* was the most prevalent non-

pathogenic parasite (66%), followed by *Entamoeba coli* 26% and *Iodamoeba buschtlii* 10%. *Giardia lamblia* was the more frequent pathogenic parasite, with a prevalence of 38%, followed by *Ascaris lumbricoides* 10%, *Strongyloides stercoralis* 2%, *Trichuris trichura* 1,7% and *Hymenolepis nana* 0,6% (1/169). *Entamoeba histolytica/dispar* was detected by microscopy in 17,5% and adhesin assay was positive in only 1 of 169 studied samples (0,6%).

Conclusions: this study shows that in temporal settings post earthquake, *E. histolytica* is not common and indicate that in Colombia it is necessary to confirm the microscopic result of *Entamoeba* parasites in stools with specific adhesin assay in order to determine the need of treatment for pathogenic *Entamoeba*. **Key words:** *Entamoeba histolytica*, adhesin assay, epidemiology postdisaster setting, intestinal parasites.

Referencias

1. Restrepo HE. Earthquake in Colombia: the tragedy of the coffee growing region. Health impact and lessons for the health sector. J Epidemiol Community Health. 2000; 54: 761-765
2. Lora-Suárez F, Marín-Vásquez C, Loango N, Gallego M, Torres E, González M, Castaño-Osorio J, Gómez-Marín J. Giardiasis in children living in post-earthquake camps from Armenia (Colombia). BMC Public Health. 2002; 2: 5.
3. González MM, Jiménez IH, Serna J, Colonia O, Gómez JE. Morbilidad en Asentamientos Post-Terremoto en Armenia, Colombia. Revista de Salud Pública. 2002; 4: 286-293.
4. Petri WA, Haque R, Lyerly D, Vines RR. Estimating the impact of amebiasis in health. Parasitol Today. 2000; 16: 320-321.
5. Diamond LS, Clark CG. A redescription of *Entamoeba histolytica* Shaudin 1903 (amended Walker 1911) separating it from *Entamoeba histolytica dispar* (Brumpt 1925). J Euk Microbiol. 1993; 40: 340-344.
6. Huston CD, Haque R, Petri WA Jr. Molecular-based diagnosis of *Entamoeba histolytica* infection. Expert Rev Mol Med. 1999; 1-11.
7. Haque R, Neville LM, 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: 2558-2561.
8. Haque R, Faruque G, Hahn P, Lyerly DM, Petri WA Jr. *Entamoeba histolytica* and *Entamoeba dispar* Infection in Children in Bangladesh. J Infect Dis. 1997; 175: 734-736.
9. González-Galnares M, García-Pérez M, Guicafre-Gallardo H, Muñoz O. Report of an outbreak of invasive amebiasis in children at a camp for victims of the Chichonal volcano. Arch Invest Med (Mex). 1986; 17 Suppl 1: 365-368.
10. Wery M. Protozoologie Medicale. Bruselas: Editorial de Boeck; 1995
11. González - Ruiz A, Haque R, Rehman T, Aguirre A, Hall A, Guhl F, Warhurst DC, Miles AC. Diagnosis of amebic dysentery by detection of *Entamoeba histolytica* fecal antigen by an invasive strain-specific, monoclonal antibody-based enzyme-linked immunosorbent assay. J Clin Microbiol. 1994; 32: 964-970.
12. Toole JM. Emergencias complejas: refugiados y otras poblaciones. En: Noji EK (eds.) Impacto de los desastres en la salud pública. Washington, D.C.: Organización Panamericana de la Salud. 2000; p 79 - 99.
13. Guzmán C, López MC, Reyes P, Gómez JE, Corredor A, Agudelo C. Diferenciación de *E. histolytica* y *Entamoeba dispar* en muestras de materia fecal por detección de adhesina de *E. histolytica* mediante ELISA. Biomédica. 2001; 21: 167-171
14. Corredor A, Arciniegas E, Hernández C, Cáceres E, Castaño L. Parasitismo intestinal. Ministerio de Salud. Instituto Nacional de Salud: Santafé de Bogotá, D.C. 2000. pp 67-69.
15. Jiménez IE, Londoño N, Gallego J. Perfil epidemiológico del Quindío. Instituto Seccional de Salud del Quindío. 2000. pp 128.
16. Haque R, Kress K, Wood S, Jackson TFHG, Byerly DM, Wilkeins T, Petri Jr WA. Diagnosis of pathogenic *Entamoeba histolytica* infection using a stool ELISA based on monoclonal antibodies to the galactose-specific adhesins. J Infect Dis. 1993; 167: 247-249.