

DIENTAMOEBOISIS: ¿UNA PROTOZOOSIS INTESTINAL OLVIDADA?

Bárbara Gomila¹, Leticia Amselem¹ y J. Guillermo Esteban²

Servicio de Microbiología¹, Hospital General de Castellón, Castellón;
Departamento de Parasitología², Facultat de Farmàcia, Universitat de
València, Valencia

La dientamoebosis o dientamoebiasis es la parasitación por el protozoo *Dientamoeba fragilis* (Jepps et Dobell, 1918). Detectado inicialmente en 1909, no se describió hasta unos años después. Durante tiempo fue considerado como una pequeña ameba por su movilidad mediante pseudópodos. Posteriormente se observó que algunas de sus características morfológicas eran más propias de un flagelado, a pesar de no presentar flagelo alguno, mostrando similitudes con *Histomonas meleagridis*, ameboflagelado responsable de la enterohepatitis infecciosa aviar o “cabeza negra” que afecta en particular a los pavos. Posteriores estudios inmunológicos corroboraron la citada similitud, mientras que la microscopía electrónica permitió clasificarlo como flagelado perteneciente a la Clase *Zoomastigophorea*, Orden *Trichomonadida*, Familia *Monocercomonadidae*. Recientes estudios moleculares de la secuencia del ARN de la subunidad menor ribosomal (ssARNr) de los Parabasálidos han venido a demostrar la estrecha relación filogenética entre *D. fragilis* e *H. meleagridis* y han evidenciado que ambos son Tricomonádidos que comparten un reciente ancestro común con flagelados típicos.

Prácticamente un siglo después de su primera observación, y aunque ha sido identificado en todas las regiones del mundo en que se le ha prestado atención diagnóstica, *D. fragilis* continua presentando importantes lagunas científicas sobre su ciclo biológico, su prevalencia o su condición de patógeno primario.

MORFOLOGÍA Y BIOLOGÍA

En el ciclo biológico de esta especie sólo se conoce la existencia de una fase trofozoica, la cual habita en la luz del ciego y la porción superior del colon. Se trata de un organismo pleomórfico de tamaño relativamente pequeño, entre 5 y 15 μm (habitualmente entre 9 y 12 μm), aunque se ha observado tamaños de hasta 40 μm en muestras procedentes de cultivo. En las heces frescas presenta un movimiento muy activo, con clara diferenciación endo-ectoplasmática y emisión de pseudópodos hialinos lobulares, triangulares o de bordes dentados. Suele encontrarse en acumulaciones de moco y, a veces, se observa en gran número incluso en las heces semiformes. En los frotis bien realizados y teñidos se detecta un mayor porcentaje de trofozoítos con dos núcleos (telofase mitótica detenida) que de formas mononucleadas, aunque también se han detectado ejemplares tetranucleados. La membrana nuclear carece de cromatina periférica y el cariosoma está constituido habitualmente por cuatro gránulos (configuración en tétrada), aunque se han observado hasta ocho granulaciones bien delimitadas. En las formas binucleadas la microscopía electrónica permite evidenciar un huso extranuclear compuesto de microtúbulos que se extiende entre los dos núcleos, lo que no se observa en las mononucleadas.

En preparaciones húmedas, el citoplasma presenta un aspecto finamente granulado, y en frotis teñidos cabe observar inclusiones alimenticias de naturaleza diversa. En las formas binucleadas destaca la presencia de numerosas vacuolas digestivas, mientras que la presencia de endosimbiontes bacterianos en las formas mononucleadas es relativamente frecuente. La vacuolización excesiva se observa con más frecuencia en los frotis realizados

a partir de materia fecal que en los precedentes de cultivo y puede estar relacionada, probablemente, con una condición degenerativa. A pesar de la descripción de estructuras a modo de quistes observadas en frotis fecales teñidos, o de una posible forma de resistencia, existe un total consenso, al menos hasta la fecha, sobre la total ausencia de forma quística.

TRANSMISION

El mecanismo de transmisión de la dientamoebosis continúa siendo hoy en día objeto de debate. De cualquier forma, la ausencia de una forma quística y el hecho de que el trofozoito sobreviva muy poco tiempo fuera del hospedador, hace poco probable la transmisión fecal-oral. Por las similitudes ya aludidas con *H. meleagridis*, el cual es transmitido a través de los huevos del nematodo *Heterakis gallinae*, se piensa que la transmisión humana de *D. fragilis* pueda realizarse a través de algún nematodo intestinal. Estudios epidemiológicos con pacientes coinfectados con *D. fragilis* y *Enterobius vermicularis* han permitido evidenciar que la incidencia de coinfección por ambas especies es 20 veces superior a la incidencia que cabría esperar por simple azar. Además, el hallazgo de pequeñas estructuras ameboides en el interior de huevos de oxiuros presentes en apéndices, que por estudios de punto isoelectrico han resultado ser formas mono y binucleadas de *D. fragilis*, y que no son observadas en ausencia de este protozoo, así como las exitosas autoinfecciones experimentales realizadas a partir de huevos de oxiuros, aportan evidencias que hacen pensar que *E. vermicularis* pueda actuar de transportador de *D. fragilis*. Ello podría explicar la mayor prevalencia en determinados grupos poblacionales, el que pueda sobrevivir en un medio externo hostil, sin la existencia de forma quística, o los fallidos intentos de transmisión humana y animal a partir directamente de formas trofozoicas. Incluso no se descarta la posibilidad de que puedan actuar como transportadoras de esta protozosis otras especies de nematodos intestinales, como *Ascaris lumbricoides* en el interior de cuyos huevos también se ha observado pequeñas estructuras mononucleares compatibles con *D. fragilis*. De cualquier forma, este aspecto no está definitivamente aclarado y todavía se plantean serias dudas sobre la implicación de *E. vermicularis* en la transmisión de la dientamoebiasis, sobre todo si se tiene en cuenta que la coexistencia de las dos especies en un mismo paciente puede pasar inadvertida, ya que mientras la oxiuriasis puede remitir espontáneamente, la infección por *D. fragilis* puede persistir durante años.

PREVALENCIA

Dientamoeba fragilis debe ser considerado como un parásito de distribución cosmopolita. Sin embargo, la prevalencia real no es conocida. Los estudios actuales provienen de países concretos, y aún dentro de ellos, la variabilidad es muy importante, con cifras que oscilan entre el 1,5% y el 52%. Estas grandes diferencias pueden ser debidas al distinto diseño de los estudios, incluyendo las técnicas diagnósticas aplicadas, pero también la población objeto de estudio, de manera que las tasas de infección más altas se observan en condiciones de hacinamiento o de higiene personal deficiente. En algunas ocasiones, *D. fragilis* resulta ser el enteropatógeno más frecuente.

En nuestro país, la situación no deja de ser sorprendente ya que en los diferentes estudios coproparasitológicos realizados en los últimos 50 años no existe referencia alguna de *D. fragilis*, excepción hecha de Cataluña. Concretamente, un estudio realizado en 1978-79 en pacientes que acuden al Servicio de Microbiología del Hospital de la Santa Creu i Sant Pau y otro estudio realizado en guarderías en 1981-82 detectan frecuencias del 7,8% y del 12,3%, respectivamente, apareciendo *D. fragilis* como la segunda especie más prevalente después de *Giardia intestinalis*. Asimismo, en el segundo de estos estudios se destaca la mayor incidencia de *D. fragilis* frente a los demás protozoos intestinales detectados en aquellos casos con positividad a la oxiuriasis.

Aunque no se dispone de datos concluyentes, las cifras de prevalencia más altas han sido descritas en el sexo femenino y en población infantil que en el sexo masculino y la población adulta. No parece existir estacionalidad, aunque suele diagnosticarse con menor frecuencia en primavera y verano, y tampoco se ha observado diferencias entre pacientes infectados y no infectados por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH).

PATOGENIA

Dientamoeba fragilis ha sido considerado por diferentes autores como un organismo meramente comensal, basándose fundamentalmente en la existencia de portadores asintomáticos y en el hecho de que los síntomas atribuibles a *D. fragilis* podrían obedecer a otra etiología. Hoy en día, y aunque existe evidencias circunstanciales que incriminan a este organismo como patógeno, el debate continúa abierto por la poca información disponible, al no resultar factible el cultivo axénico y carecer de un modelo adecuado de experimentación animal.

En el curso de la infección por *D. fragilis* se ha descrito una marcada fibrosis de la mucosa intestinal, así como diferentes cambios histopatológicos en el apéndice, entre los que se incluye hiperplasia linfoide, apendicitis catarral, periapendicitis aguda y apendicitis supurada. Aunque no existen evidencias experimentales que demuestren que *D. fragilis* es capaz de penetrar la pared intestinal, bajo ciertas condiciones podría tener este potencial. Se conoce un caso de colitis ulcerada, al parecer causada por la invasión de la pared intestinal por *D. fragilis*, siendo éste el único agente etiológico observado.

Resulta relevante el caso de una niña de cuatro años de edad, sometida a colonoscopia para evaluar un historial de diarrea crónica con presencia de moco y leucocitos en heces. El colon aparecía hiperémico y edematoso. Las biopsias identificaron zonas focales con infiltración de eosinófilos, y una biopsia del colon descendente demostró la presencia de más de 50 eosinófilos por campo. Se aisló *D. fragilis* y tras el tratamiento, los recuentos de eosinófilos se resolvieron y la paciente permaneció asintomática durante todo un año largo de seguimiento.

El grado de cambios patológicos inducidos por *D. fragilis* puede estar relacionado con el tiempo, la duración y la gravedad de la infección. En cualquier caso, cabría reseñar que este flagelado intestinal debería formar parte del diagnóstico diferencial de protozoos patógenos, teniendo en cuenta su capacidad de inducir fibrosis, ingerir hematíes y producir, bajo ciertas condiciones, lesiones ulcerosas. En esta línea cabe enmarcar el reciente estudio de los genes ssARNr de 12 aislados de *D. fragilis* mediante análisis del polimorfismo del tamaño de los fragmentos de restricción (RFLP). Los resultados han demostrado la existencia de dos ribodemas, con una divergencia comparable a la existente entre *Entamoeba histolytica* y *Entamoeba dispar*, y aunque resulta prematuro intentar explicar el diferente potencial patógeno de *D. fragilis* por la detección de esta divergencia, ya que se requiere de estudios con un mayor número de aislados de origen geográficamente diferente, sí al menos evidencia que los organismos que en la práctica rutinaria de laboratorio están siendo identificados como *D. fragilis* representan, como mínimo, dos entidades genéticas significativamente diferentes.

MANIFESTACIONES CLINICAS

Ya desde antiguo se cita el hallazgo de este protozoo en las heces de un paciente, asociado al inicio de un dolor cólico en la zona abdominal alta, con anorexia, deposiciones blandas con moco e irritación rectal. La variación sintomatológica se correlacionó con variaciones en el número de organismos identificados en las heces y, tras resolverse la infección gracias al tratamiento, el paciente experimentó una recuperación completa.

Posteriores observaciones han demostrado que los tratamientos que logran eliminar el parásito llevan consigo la remisión total o parcial de la sintomatología.

Diferentes estudios clínicos en pacientes infectados únicamente por *D. fragilis*, señalan con mayor frecuencia las siguientes manifestaciones clínicas: dolor abdominal, diarrea persistente, anorexia, heces anómalas (sanguinolentas, con moco, blandas), fatiga o astenia, náuseas, vómitos, pérdida de peso, flatulencia, eructos y tenesmo. En población pediátrica, la diarrea es el signo más frecuente en fase aguda (menos de siete días), mientras que el dolor abdominal lo es en la infección crónica (más de 60 días). La duración del cuadro clínico, que oscila entre una semana y dos años, ha resultado ser mayor en el sexo masculino y, sobre todo, en los menores de 10 años.

En los pacientes con dientamoebosis también se han descrito infecciones biliares, fibrosis del apéndice, fagocitosis eritrocitaria y edematización de la mucosa intestinal. La eosinofilia, aunque es considerada generalmente un signo de infección helmintiana, también ha sido descrita, si bien parece estar más asociada con infecciones crónicas y con población infantil. *Dientamoeba fragilis* también se ha relacionado con colitis eosinofílica y colitis ulcerosa en los pacientes pediátricos. Significativo resulta el caso de una paciente que refería calambres abdominales, con diarrea de color verde-amarillento y estrías sanguinolentas ocasionales. Una biopsia intestinal confirmó la presencia de múltiples ulceraciones puntiformes y una muestra por aspiración de la ulceración evidenció abundantes trofozoítos de *D. fragilis* que resultaron ser la causa de la colitis ulcerosa invasora. Algunos pacientes pueden presentar urticaria y prurito anal, lo cual puede estar relacionado con reacciones alérgicas frente al parásito o a su supuesto transportador, *E. vermicularis*.

Existe evidencia respecto de la implicación de *D. fragilis* en el síndrome de intestino irritable, o con síntomas similares a los de este síndrome, de manera que resultaría recomendable descartar esta protozoosis en pacientes con sintomatología gastrointestinal inespecífica. A pesar de no existir al respecto experiencias concluyentes en la literatura, parece razonable considerar la investigación de *D. fragilis* en los pacientes seropositivos para el VIH con un cuadro de diarrea grave.

DIAGNÓSTICO

El diagnóstico de laboratorio de la dientamoebosis es directo, requiriéndose heces frescas, ya que los trofozoítos degeneran a las pocas horas de abandonar el hospedador. En la observación fecal directa, *D. fragilis* suele presentar un aspecto redondeado, pasando inadvertido a menos que el analista sea consciente de la posibilidad de su presencia (Figura 1 A, B). La posterior adición de solución yodada (lugol) confiere el típico color amarillento al citoplasma pero los núcleos no son teñidos. El excesivo tiempo que puede transcurrir entre el momento de la toma de la muestra y el procesado de la misma, así como la emisión intermitente de trofozoítos a lo largo de los días, aconseja la recogida de un mínimo de tres muestras, obtenidas en días alternos, en frascos conteniendo líquido fijador o conservador. Los más adecuados son el alcohol polivinílico (APV), el acetato sódico-ácido acético-formalina (SAF) y el mertiolato-yodo-formol (MIF). Este último fijador tiene la ventaja de que proporciona directamente un buen color rosáceo-rojizo a las estructuras parasitarias, si bien en *D. fragilis* las estructuras nucleares cuestan de discernir y se requiere de una gran experiencia en la observación microscópica (Figura 1 C). Tanto el APV como el SAF son compatibles con la realización de frotis fecales susceptibles de ser teñidos con posterioridad.

La elaboración de los frotis pasa por la absorción previa del exceso de fijador en papel secante y, en el caso del SAF, además, el portaobjetos debe ser impregnado de una finísima capa de clara de huevo para asegurar la adherencia de la materia fecal al mismo. De entre las diferentes tinciones de frotis fecal utilizadas para la detección de *D. fragilis*, la

tricrómica de Gomori modificada o tinción de Wheatley y la hematoxilina férrica son las más usadas (Figura 1 D, E, F). No obstante, la óptima combinación de líquido fijador/tinción del frotis resulta de vital importancia. Así, para heces fijadas con APV, o la variante introducida exenta de mercurio (Para-Pak[®] Zn-PVA), resulta más recomendable la tinción de Wheatley, mientras que para SAF lo es la hematoxilina férrica. En cambio, para el líquido fijador de reciente introducción exento de mercurio y formaldehído (Para-Pak[®] ECOFIX) da mejor resultado la tinción comercializada EcoStain (Meridian Diagnostic) que la tinción de Wheatley. La observación minuciosa del frotis fecal teñido debe realizarse con objetivo de inmersión y especial atención debe prestarse a la presencia de amebas (*E. histolytica*/*E. dispar*, *Entamoeba hartmanni*, *Entamoeba coli*, *Endolimax nana*), formas ameboides de *Blastocystis* o inclusive leucocitos polimorfonucleares degenerados, ya que pueden ser motivo de confusión.

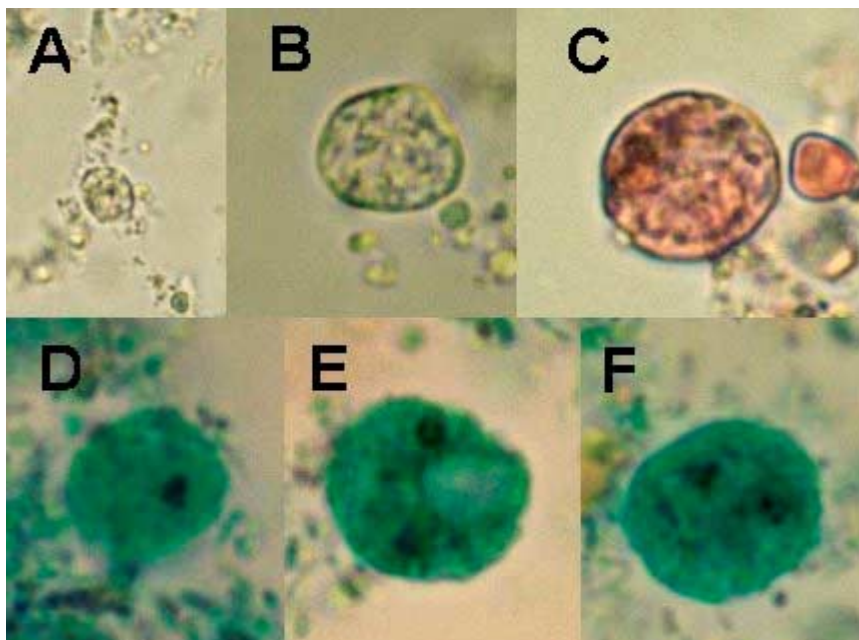


Figura 1. Fotocomposición de imágenes microscópicas de trofozoítos de *Dientamoeba fragilis*. A y B: en visiones directas (A: 400x; B: 1000x); C: teñido con M.I.F. (1000x); D, E y F: teñidos con tricrómica de Gomori modificada o tinción de Wheatley en frotis elaborado a partir de muestra fecal fijada con APV (D: mononuclear, 1250x; E y F: binucleados, 1250x).

Otra opción diagnóstica es el cultivo fecal, el cual es considerado por algunos autores como el método más sensible para la detección de este protozoo, si bien no está exento de dificultades. A diferencia de otros protozoos intestinales patógenos, *D. fragilis* tan solo crece en cultivos xénicos, principalmente difásicos, como el medio de Robinson, en el cual es capaz de desarrollarse muy rápidamente en presencia de flora bacteriana intestinal, adicionada de *Escherichia coli* y almidón de arroz, pero sobrevive a muy pocos subcultivos. En cualquier caso, y siendo, en general, menos laborioso que los procedimientos de tinción, lo cierto es que en la rutina diagnóstica de los laboratorios esta opción no suele contemplarse

Muy poco se conoce hasta la fecha sobre el diagnóstico inmunológico de la dientamoebiasis. Se ha puesto a punto una técnica de inmunofluorescencia indirecta (IFI) para la detección de trofozoítos en muestras fecales preservadas con SAF, cuyos primeros ensayos apuntan a una alta especificidad, sin reacciones cruzadas o falsos negativos, mientras que el diagnóstico serológico mediante técnicas inmunofluorescentes no ha

respondido a las perspectivas marcadas al no ser capaz de diferenciar entre infecciones recientes y pasadas.

TRATAMIENTO

Dejando de un lado la ya aludida controversia sobre su patogenicidad, y teniendo en cuenta el consenso existente sobre lo aconsejable del tratamiento en pacientes sintomáticos, el arsenal terapéutico disponible para el tratamiento de las infecciones por *D. fragilis* cabe abordarlo teniendo en cuenta su disponibilidad o no en nuestro país. No obstante, no existe acuerdo sobre el fármaco a utilizar ya que con todos ellos se ha descrito fallos terapéuticos.

Dentro de los fármacos que deben ser obtenidos como medicamentos extranjeros cabe mencionar:

- Yodoquinol: constituye el fármaco de elección a dosis de 650 mg/8h durante 20 d para adultos, y de 30-40 mg/kg/d (máximo, 2 g) en tres dosis durante 20 d para niños. Actúa intraluminalmente y es poco tóxico al ser escasamente absorbido por vía oral, si bien está contraindicado en los pacientes con intolerancia al yodo o con lesión hepática.
- Secnidazol: derivado imidazólico que en el único estudio en que se ha utilizado ha mostrado una efectividad del 97,1% a dosis única de 2 g para adultos y 30 mg/kg para niños, y del 100% en una segunda dosis.

Los fármacos disponibles en nuestro país utilizados en el tratamiento de esta protozoosis son:

- Clorhidrato de tetraciclina: a pesar de tratarse de un fármaco efectivo a las dosis de 500 mg/6h durante 10 d en adultos y de 40 mg/kg/día (máximo 2 g) en cuatro dosis durante 10 d en niños, no resulta muy recomendable su uso en estos últimos por los efectos perjudiciales sobre el desarrollo dental.
- Metronidazol: este derivado imidazólico es absorbido muy bien por vía oral, no actuando como agente intraluminal. Las dosis recomendadas son de 500-750 mg/8h durante 10 d para adultos, y de 20-40 mg/kg/d en tres dosis durante 10 d para niños. La descripción de fallos terapéuticos y de intolerancia ha motivado el empleo de otros fármacos. Con independencia de los efectos secundarios que presenta, se debe evitar su uso en los primeros meses del embarazo.
- Paramomicina: aminoglucósido utilizado como alternativa a los anteriores, a dosis de 500 mg/8h durante 7 d en adultos, y de 25-35 mg/kg/d en tres dosis durante 7 d en niños. Aunque se puede emplear en el embarazo y la lactancia, debe ser evitado en pacientes con ulceración intestinal.
- En algunos casos puede resultar conveniente aplicar un segundo ciclo de tratamiento, incluso cambiando de fármaco, y si se tiene en cuenta la posible estrecha asociación entre *D. fragilis* y *E. vermicularis*, debiera considerarse el instaurar tratamiento para ambas parasitosis en aquellos pacientes diagnosticados de dientamoebosis.

PROFILAXIS

No es posible hacer recomendaciones claras desde el punto de vista preventivo hasta que no se disponga de una información más específica respecto al mecanismo de transmisión.

BIBLIOGRAFIA

ANÓNIMO. Drugs for parasite infections. The Medical Letter on Drugs and Therapeutics. New York: The Medical Letter 2002; April:1-12.

- APARICIO P, RODRÍGUEZ E, GÁRATE T, MOLINA R, SOTO A, ALVAR J. Terapéutica antiparasitaria. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2003; 21:579-594.
- ASH LR, ORIHIEL TC. *Parasites: a guide to laboratory procedures and identification*. Chicago: American Society of Clinical Pathologists Press, 1991.
- ASH L, ORIHIEL T. *Atlas of human Parasitology* (4^a ed). Chicago: American Society of Clinical Pathologists Press, 1997.
- BEAVER PC, YUNG RC, CUP EW. *Parasitología clínica de Craig y Faust* (3^a ed). Barcelona: Masson, 2003.
- BURROWS RB, SWERDLOW MA. *Enterobius vermicularis* as a probable vector of *Dientamoeba fragilis*. *Am J Trop Med Hyg* 1956; 5:258-265.
- CAMP RR, MATTERN CFT, HONIGBERG BM. Study of *Dientamoeba fragilis* Jepps and Dobell. I. Electron microscopic observations of the binucleate stages. II. Taxonomic position and revision of the genus. *J Protozool* 1974; 21:69-82.
- CHAN FTH, GUAN MX, MACKENZIE AMR. Application of indirect immunofluorescence to detection of *Dientamoeba fragilis* trophozoites in faecal specimens. *J Clin Microbiol* 1993; 31:1710-1714.
- CHAN F, STEWART N, GUAN M *et al*. Prevalence of *Dientamoeba fragilis* antibodies in children and recognition of a 39kDa immunodominant protein antigen of the organism. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1996; 15:950-954.
- CLARK CG, DIAMOND LS. Methods for cultivation of luminal parasitic protists of clinical importance. *Clin Microbiol Rev* 2002; 15:329-341.
- GIRGINKARDESLEK N, COSKUN S, CÜNEYT BALCIOGLU I, ERTAN P, OK UZ. *Dientamoeba fragilis*, a neglected cause of diarrhea, successfully treated with secnidazole. *Clin Microbiol Infect* 2003; 9:110-113.
- JEPPS MW, DOBELL C. *Dientamoeba fragilis* n.g., n. sp.: a new intestinal amoeba from man. *Parasitol* 1918; 10:352-367.
- JOHNSON JA, CLARK CG. Cryptic genetic diversity in *Dientamoeba fragilis*. *J Clin Microbiol* 2000; 38:4653-4654.
- NORBERG A, NORD CE, EVENGARD B. *Dientamoeba fragilis* –a protozoal infection which may cause severe bowel distress. *Clin Microbiol Infect* 2003; 9:65-68.
- SCHWARTZ MD, NELSON ME. *Dientamoeba fragilis* infection presenting to the emergency department as acute appendicitis. *J Emerg Med* 2003; 25:17-21.
- WENRICH DH. Studies on *Dientamoeba fragilis*: (protozoa): I. Observations with special reference to nuclear structure. *J Parasitol* 1936; 22:76-83.
- WINDSOR JJ, JOHNSON EH. *Dientamoeba fragilis*: the unflagellated human flagellate. *Br J Biomed Sci* 1999; 56:293-306.
- WINDSOR JJ, MACFARLANE L, HUGHES-THAPA G, JONES SKA, WHITESIDE TM. Detection of *Dientamoeba fragilis* by culture. *Br J Biomed Sci* 2003; 60:79-83.
- YANG J, SCHOLTEN TH. *Dientamoeba fragilis*: a review with notes on its epidemiology, pathogenicity, mode of transmission, and diagnosis. *Am J Trop Med Hyg* 1977; 26:16-22.