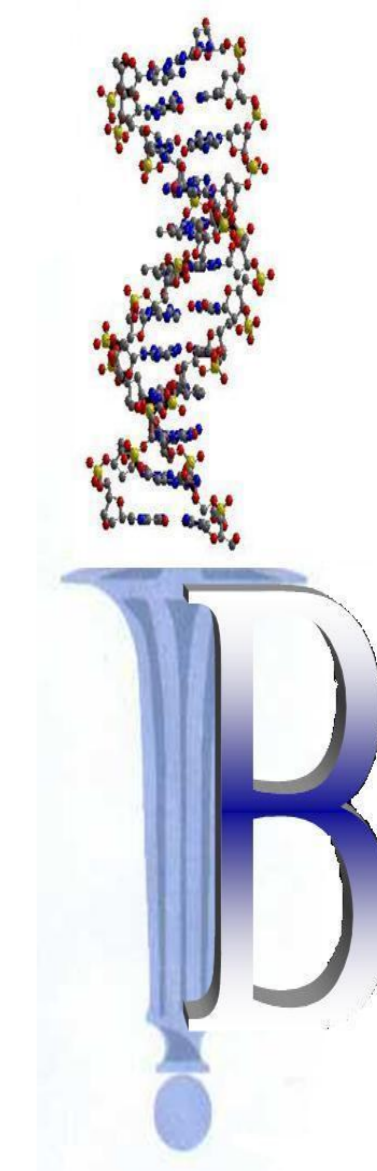




BIOTECNOLOGÍA APLICADA AL INMUNODIAGNÓSTICO DE AMIBIASIS INVASIVA



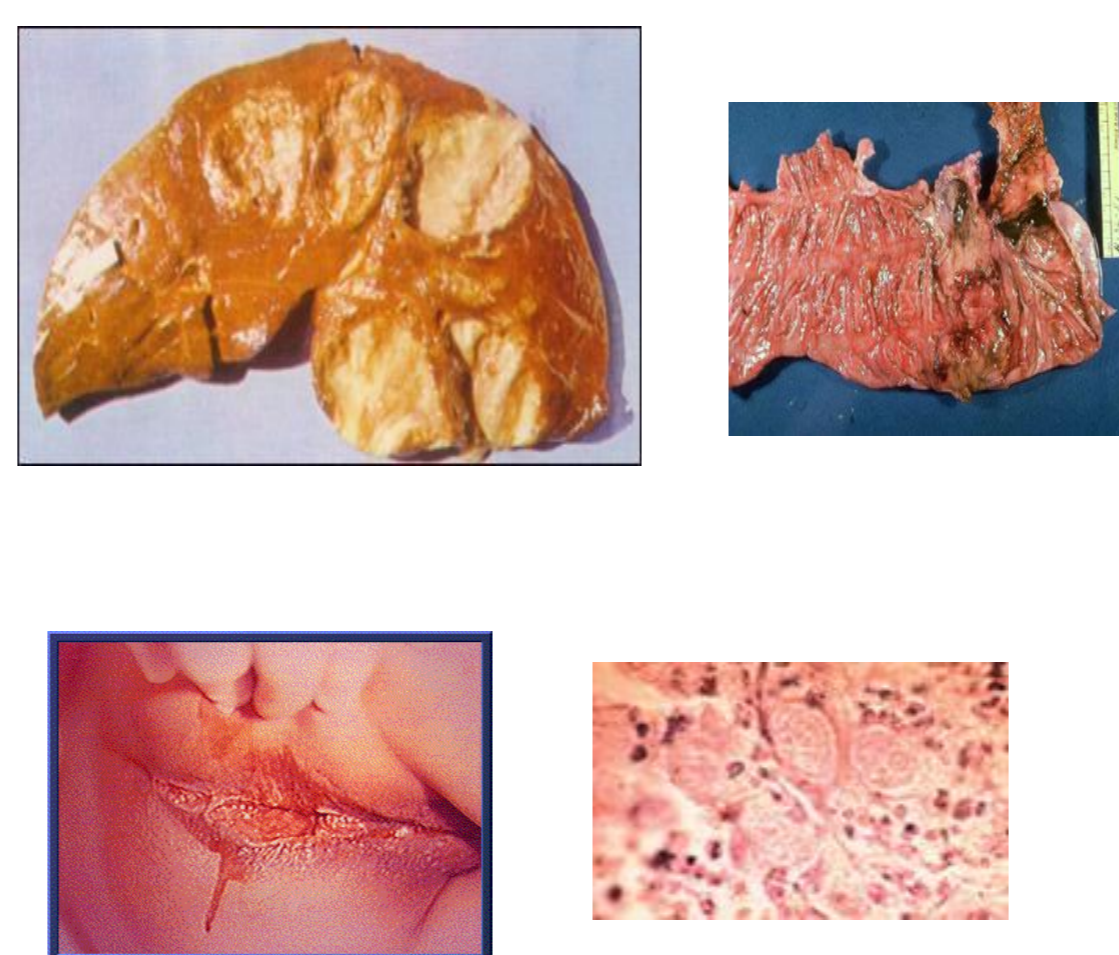
Flores González María del Socorro^{1*}, Tamez Treviño Eva², Rincón Saucedo Zuleyma¹, Obregó Cárdenas Adriana¹, Arévalo Niño Katiushka¹, Quintero Zapata Isela¹, Bosques Padilla Francisco², Galán Wong Luis¹.

¹ Universidad Autónoma de Nuevo León. Facultad de Ciencias Biológicas, Instituto de Biotecnología. ² Universidad Autónoma de Nuevo León. Facultad de Medicina y Hospital Universitario "Dr. José E. González". Monterrey. N.L., México. E-mail: maria.floresqz@uanl.edu.mx; floresqms@yahoo.com

* U.S.A. Patents 5,459,042 and 5,861,263, Patentes Mexicanas 209646 y 209648.

EPIDEMIOLOGÍA

La epidemiología real de la infección con *E. histolytica* es desconocida, porque muchos de los datos publicados, no tomaban en cuenta la existencia de las cepas consideradas no patógenas *E. dispar* y *E. moshkovskii* que son morfológicamente iguales a la cepa patógena *E. histolytica*. *Entamoeba histolytica*, causante de la disentería y la colitis amibiana, así como del absceso hepático amibiano causa de 40 000-110 000 muertes por año, solo precedida por la malaria y la esquistosomiasis. Estos datos demuestran la importancia que tiene la amibiasis en la salud pública.



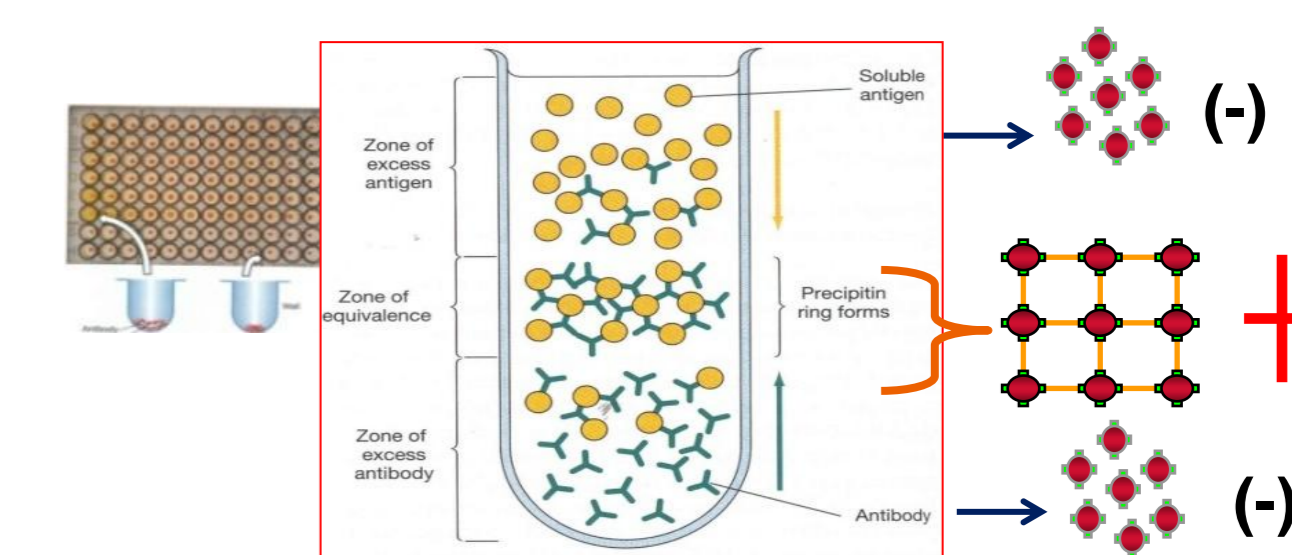
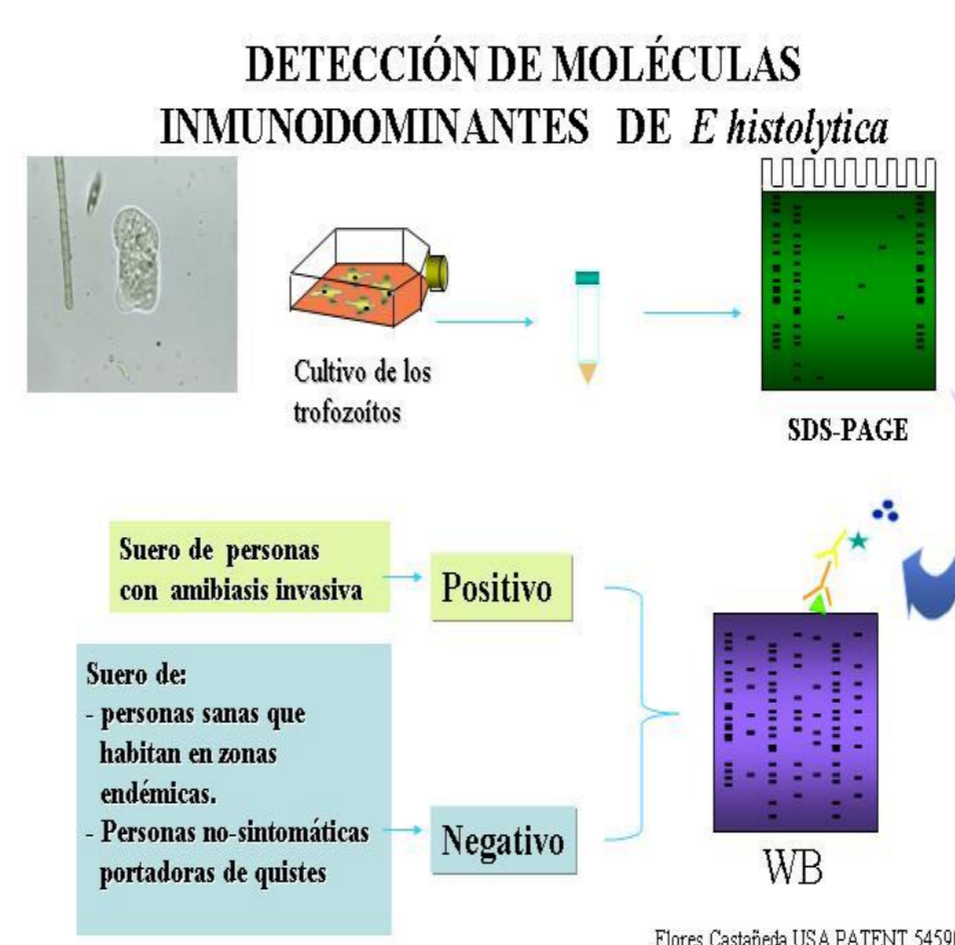
DIAGNÓSTICO

Las técnicas comerciales de inmunodiagnóstico de amibiasis invasiva, tienen baja sensibilidad, sobre todo si son empleados en zonas de alta endemicidad como México. La técnica de hemaglutinación indirecta (IHA) usada frecuentemente en nuestro país, en muchas ocasiones da resultados negativos en el curso de una enfermedad aguda, cuando los pacientes ingresan al hospital con un cuadro presumible de amibiasis invasiva, por lo que hay que repetir la prueba 5 a 7 días después. El examen coproparasitoscópico (CP) es el método más ampliamente utilizado para hacer el diagnóstico de amibiasis intestinal aunque no diferencie las cepas patógenas de las no patógenas, sin embargo no es útil para diagnosticar amibiasis invasiva extraintestinal. La consulta de expertos de WHO/Pan American Health Organization/UNESCO que se llevó a cabo en México D.F. in 1997, determinó las necesidades prioritarias en este campo. Una prioridad fue el desarrollo de métodos de diagnóstico específicos para amibiasis invasiva que usaran tecnología aplicable a los países en desarrollo.

OBJETIVOS

Nuestro equipo patentó un procedimiento para preservar las moléculas amibianas sin usar inhibidores enzimáticos y con dichas moléculas diseñó una técnica de inmunodiagnóstico para amibiasis invasiva que también fue patentada. Este trabajo tuvo como objetivo determinar la utilidad clínica del western blot para diagnosticar amibiasis invasiva y confrontarla, con sueros de pacientes con los que hay que hacer un diagnóstico diferencial y frente a la prueba de IHA comercial.

MATERIAL Y MÉTODOS: Se estudió en forma prospectiva, a pacientes hospitalizados en los servicios de Medicina Interna, en quienes se sospechó el diagnóstico de amibiasis invasiva u otras hepatopatías, durante un periodo de 3.5 años. A todos se les realizó evaluación clínica, de laboratorio e imagen (ultrasonido/tomografía) y la prueba de Western blot. Los resultados de la prueba de Western blot se interpretaron de manera cegada. Los sueros de los pacientes también se analizaron utilizando un kit comercial de diagnóstico de amibiasis de hemaglutinación indirecta IHA. Se incluyeron un total de 228 pacientes. De éstos, 124 tuvieron amibiasis invasiva y 104 otras hepatopatías de etiología diversa como neoplasia hepática, cirrosis, abscesos piógenos etc.,



PREMISA PARA LA IDENTIFICACIÓN DE ANTÍGENOS INMUNODOMINANTES

Identificamos un patrón de Western-Blot reconocido exclusivamente por pacientes con amibiasis invasiva. Negativo con sueros de sujetos de zonas endémicas de amibiasis.

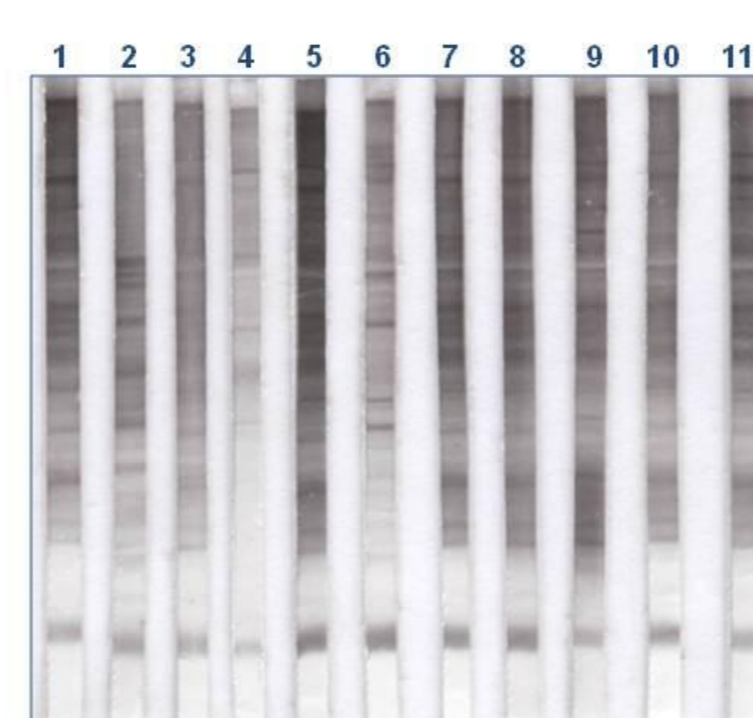
La prueba de IHA solamente da positiva en la zona de equivalencia entre los glóbulos rojos y los anticuerpos. Si hay pocos anticuerpos o muchos anticuerpos, no se forma la red de aglutinación y se obtienen falsos negativos.

RESULTADOS



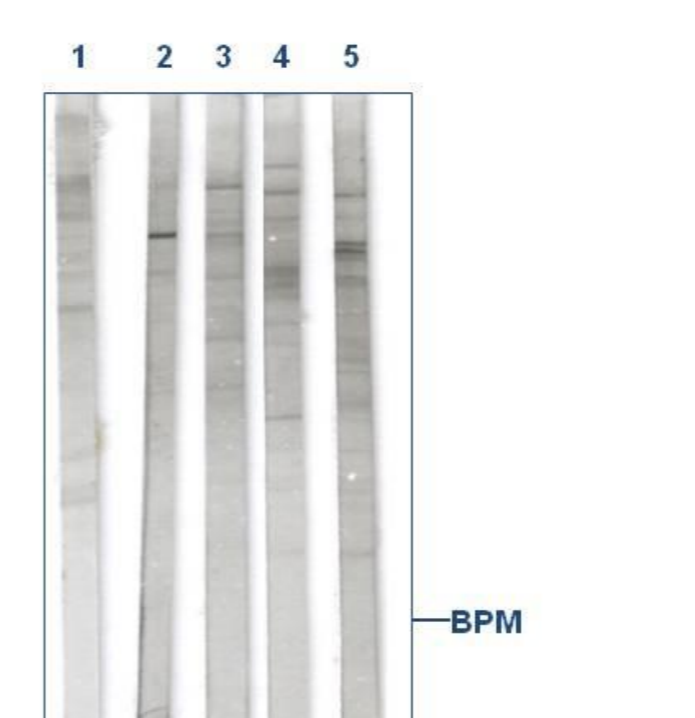
Se incluyeron un total de 228 pacientes. De éstos, 124 tuvieron amibiasis invasiva y 104 otras hepatopatías de etiología diversa como neoplasia hepática, cirrosis, abscesos piógenos

Western-Blot de sueros de pacientes con Amibiasis Invasiva

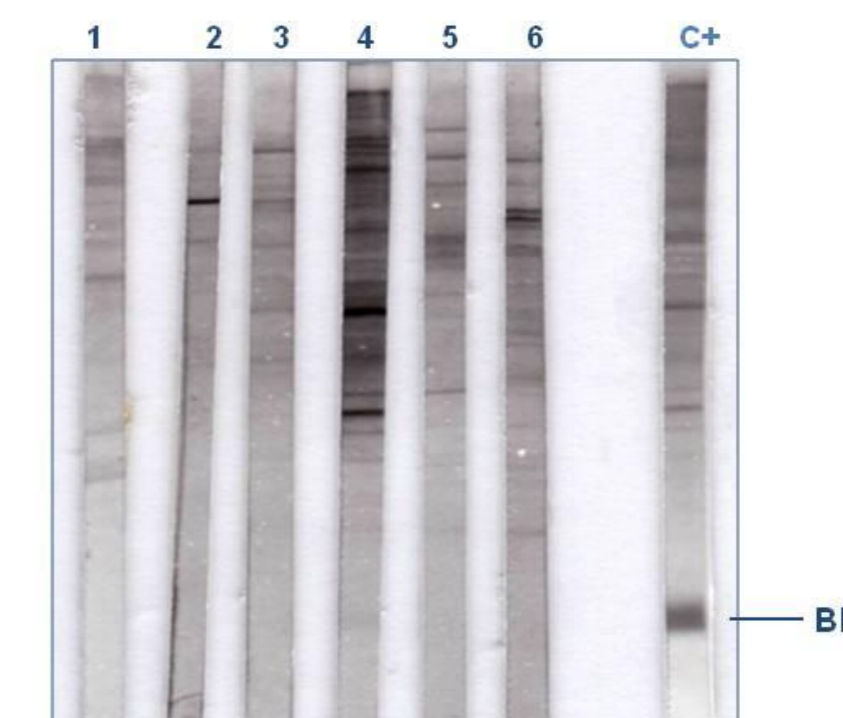


Antígeno: *E. histolytica* HM-1:IMSS (TY1-S-33)

Western-Blot de Sueros de Sujetos con CPS negativo habitantes de zonas endémicas de Amibiasis



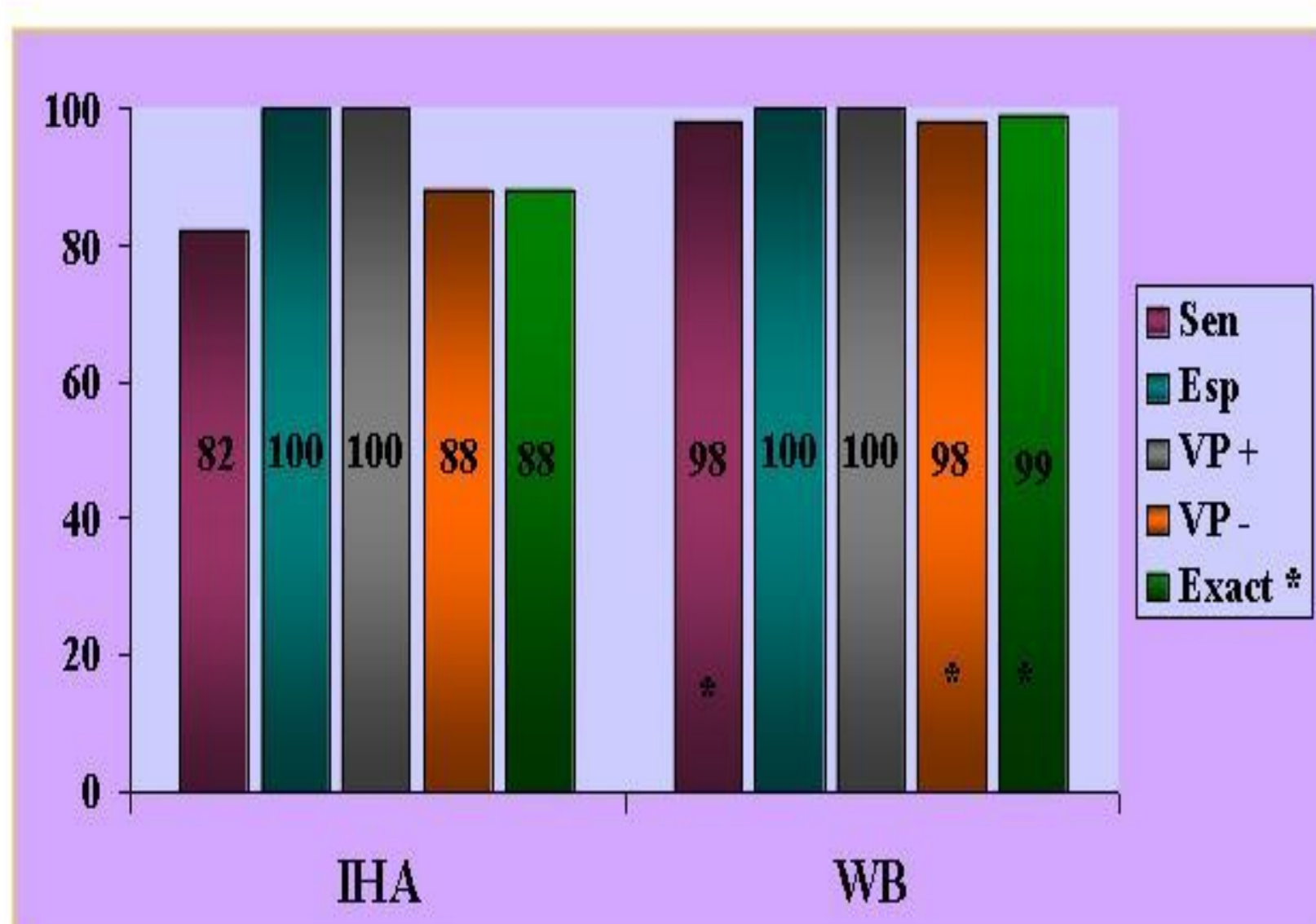
Western-Blot de sueros de pacientes Hepatopatías y control positivo C



DIAGNÓSTICO	NÚMERO DE SUEROS ANALIZADOS
Neoplasia	9
Hepatitis viral	13
Hepatopatía alcohólica	27
Cirrosis	5
Quiste hepático	1
Misceláneos	54

E. histolytica HM-1:IMSS (TY1-S-33)

UTILIDAD DIAGNÓSTICA DEL WB vs IHA



A * = χ^2 (Yates correction) = 8.03 p = 0.005 Poblaciones: AHA y Hepatopatías

Se demostró que la prueba de Western blot tiene una sensibilidad del 99%, especificidad del 100%, con valor positivo y negativo de 100% y 98% respectivamente, y se demostró que esta prueba tiene una utilidad diagnóstica mejor que el IHA, la cual obtuvo una sensibilidad del 82.8%, especificidad del 100%, valor predictivo positivo de 100% y valor predictivo negativo del 88%, y una exactitud del 88%. En zonas endémicas el IHA frecuentemente da resultados falsos negativos. Bajo las mismas condiciones el WB hecho con IC:MC resultó tener mayor utilidad clínica.

CONCLUSIÓN

La prueba de Western-Blot para amibiasis invasiva contribuye en el diagnóstico diferencial del absceso hepático amibiano con respecto a otras patologías con las que puede confundirse clínicamente. Es estadísticamente más confiable que la de IHA y puede diferenciar a los pacientes parasitados con *E. Histolytica* aún en poblaciones multiparasitadas. El Western blot es superior a la prueba comercial IHA. Actualmente, con la prueba de Western blot se ha diagnosticado a más de 300 pacientes con AHA provenientes del noreste del país. (USA patents 5459042 y 5861263 y patentes mexicanas 209646 y 209648)

BIBLIOGRAFIA:

Flores-Castañeda, M.S. USA Patents No. 5459042 y No. 5861263. Flores-Castañeda, M.S. Patentes Mexicanas No. 209646 y 209648.

Ayudado por PAICYT