

Evaluación clínica, imaginológica e inmunológica del absceso hepático

Análida E. Pinilla, Myriam C. López, Blanca Castillo de Moreno, Martha I. Murcia · Bogotá D.C.
Rubén Santiago Nicholls, Sofía Duque, Luis Carlos Orozco · Bucaramanga

Introducción: *Entamoeba histolytica* es un parásito de distribución mundial. Se estima que el parásito infecta alrededor de 500 millones de personas anualmente y que de ellos 110.000 mueren por complicaciones causadas por *E. histolytica*. Las personas infectadas por el parásito se pueden dividir en dos poblaciones diferentes de acuerdo a sus manifestaciones clínicas. En la primera son asintomáticos y está conformada por un 90% y en la segunda son los sintomáticos representada con un 10% que manifiestan la enfermedad principalmente como disentería amebiana y como amebiasis extra-intestinal.

Objetivo: establecer la capacidad discriminadora de la clínica, de laboratorio e imagenología en la etiología del absceso hepático.

Metodología: estudio prospectivo, descriptivo, abierto, de evaluación clínica y de tecnologías diagnósticas para diferenciar etiología.

Resultados: se evaluaron 61 pacientes (durante 46 meses), y se excluyeron 12. Se encontraron 29 casos de AHA (59%), 16 casos de AHNA (33%) y 4 mixtos (8%). Promedio de edad para AHA fue 36 y 45 para AHNA, la relación hombre:mujer fue 24/5 y 11/5 respectivamente. No se diferencia la etiología por cuadro clínico, examen físico, imagenología o laboratorios (CH, VSG, función hepática) excepto por la mayor prolongación del PT en caso de AHNA.

En caso de AHA las pruebas de ELISA fueron positivas en 100%, las de ID en 93% y en el Inmunoblot el orden de frecuencia de las bandas fue: 38 kDa (93%), 42 kDa (90%), 80 kDa (86%), 116 kDa (76%), 50 kDa (24%), 97 kDa (17%), 22.5 kDa (14%), 45 kDa (10%), 31 kDa (3%). Las pruebas de ELISA e ID fueron positivas en todos los pacientes con absceso hepático mixto y en el Inmunoblot el orden de frecuencia de las bandas fue: 80 y 38 kDa (100%), 42 kDa (75%), 11 kDa (50%), 50 y 22.5 kDa (25%). Los gérmenes aislados en orden de frecuencia: *Peptococcus sp*, *Streptococcus sp*, *Enterococcus sp*, *Staphylococcus aureus*, *Propionibacterium sp*, *Fusobacterium sp*, *Bacteroides sp* y *Klebsiella sp*.

La complicación más frecuente el compromiso de cavidad pleural derecha, para las dos etiologías. Cualquier absceso puede cursar con respuesta inflamatoria sistémica. Los pacientes con AHA recibieron metronidazol oral 1.5 gr/día/10 días complementado con antiamebiano intraluminal. En AH piógeno se empleó principalmente gentamicina, metronidazol, ampicilina-sulbactam. El modelo final de regresión binomial encontró que ser menor de 40 años, tener un hematocrito de más de 35 y una elevación del TP menor de 1.5 segundos tiene suficiente capacidad discriminadora para el diagnóstico de AHA.

Conclusiones: el cuadro clínico es similar en AHA, AHNA o mixto. El diagnóstico de AHA es confirmado con el inmunodiagnóstico (Elisa Ig G refleja infección activa o no activa, por lo cual se debe correlacionar con la historia clínica). Las principales indicación de drenaje son: el resultado negativo para anticuerpos contra *E. histolytica*, por alta sospecha de AHNA (siempre hacer frotis y cultivos) o la falta de respuesta al metronidazol luego de \pm 72 horas. El drenaje del absceso piógeno es terapéutico y diagnóstico, pero la confirmación bacteriológica debe hacerse en cultivos del drenaje y hemocultivos, además se recomienda realizar el frotis directo y tinciones de (Gram, Zielh-Neelsen) en búsqueda de posibles etiologías.

La ecografía hepática es primera elección ante sospecha de absceso hepático, puesto que es de fácil acceso, no invasivo y económico, pero la etiología siempre tiene que ser determinada. El análisis de 3 variables de fácil consecución en la mayoría de instituciones de salud: edad, hematocrito y la diferencia

Dra. Análida Elizabeth Pinilla: Profesora Asociada, Medicina Interna; Lic. Myriam Consuelo López: Profesora Asociada, Especialista en Microbiología Médica; Lic. Blanca Castillo de Moreno: Bacterióloga, Profesora Asistente; Lic. Martha Isabel Murcia: Especialista en Microbiología Médica, Departamentos de Medicina Interna, de Salud Pública y Tropical y Microbiología. Facultad de Medicina, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, D. C. Dr. Rubén Santiago Nicholls: Coordinador de Investigación; Lic. Sofía Duque: Bióloga, Laboratorio de Parasitología y Dr. Luis Carlos Orozco: MSc. Epidemiología, Facultad de Salud, Universidad Industrial de Santander. Bucaramanga.

Esta investigación se realizó en la Línea de Profundización de absceso hepático, con código de la División de Investigación Bogotá 709150.

del PTpaciente-PTcontrol, tiene suficiente capacidad discriminadora para establecer el diagnóstico etiológico y tomar una decisión terapéutica. Dados los avances en el inmunodiagnóstico para el AHA y este modelo de variables clínicas para discriminar el diagnóstico etiológico se pueden disminuir la morbilidad, la mortalidad, los procedimientos innecesarios y la estancia hospitalaria al agilizar el diagnóstico y el tratamiento específico. (*Acta Médica Colombiana* 2002;27:15-24)

Palabras clave: absceso hepático, *E. histolytica*, amebiasis, ecografía hepática, ELISA IgG, Inmunodifusión, Western Blot, inmunodiagnóstico, hemocultivos, nitroimidazoles, metronidazol, capacidad discriminadora.

Introducción

La Entamoeba histolytica es un parásito de distribución mundial. Se estima que el parásito infecta alrededor de 500 millones de personas anualmente y que de ellos 110.000 mueren por complicaciones causadas por *E. histolytica* (1). Las personas infectadas por el parásito se pueden dividir en dos poblaciones diferentes de acuerdo con sus manifestaciones clínicas. En la primera son asintomáticos y está conformada por un 90% y en la segunda son los sintomáticos representada con un 10%, que manifiestan la enfermedad principalmente como disentería amebiana y como amebiasis extraintestinal (1,2).

Sin embargo, el 1% de las personas infectadas pueden desarrollar patologías potencialmente fatales como la colitis amebiana fulminante o el absceso hepático amebiano (AHA) (1). El AHA es resultado de la invasión al hígado por *E. histolytica* desde un foco intestinal y en la mayoría de los casos existe solo un absceso localizado generalmente en el lóbulo hepático derecho, el cual recibe la mayor parte de la circulación portal. La frecuencia de AHA es tres veces mayor en hombres que en mujeres (3).

El AHA constituye un serio problema de salud pública con una proporción del 2% al 10% de mortalidad en algunas áreas endémicas tales como Birmania, China, India, Sur África, Colombia, México y Venezuela (1). En Colombia, si se aplican las tasas de prevalencia de amebiasis de la Encuesta Nacional de Morbilidad de 1980, se encuentra que aproximadamente 3'025.000 colombianos son portadores asintomáticos de *E. histolytica* y 1'075.000 han sufrido algún tipo de enfermedad amebiana intestinal o extraintestinal (4). La localización extraintestinal más frecuente de la amebiasis es el AHA; la invasión a otras vísceras es menos frecuente.

No obstante, para el diagnóstico de absceso hepático (AH) se debe tener en cuenta que puede ser de origen amebiano o no amebiano. Si se sospecha clínicamente, se requiere de exámenes imaginológicos, inmunológicos y microbiológicos para su confirmación y precisar su etiología. El estudio imaginológico más utilizado es el ultrasonido; otros métodos menos utilizados son la tomografía computarizada (TAC) y la resonancia magnética (RM). Sin embargo, lo ideal es la demostración del agente etiológico, que en el caso del AHA es de riesgo para el paciente ya que requiere de métodos invasivos, como punción hepática, que en muchos casos no logra encontrar el parásito, llevando a utilizar terapia empírica con metronidazol y otros

antibióticos sin poder diferenciar el AHA del no amebiano o el absceso hepático piógeno (AHNA).

Debido a las dificultades mencionadas, las pruebas inmunodiagnósticas para detectar anticuerpos contra *E. histolytica* han sido de gran utilidad, en caso de amebiasis extraintestinal. Se han descrito las técnicas de hemoaglutinación indirecta (5), inmunodifusión (ID) (6), fijación de complemento (7), contraelectroforesis (8), inmunofluorescencia indirecta (9) y ELISA (10). Ésta última permite procesar un gran número de muestras, es fácil de realizar y ofrece una sensibilidad del 95.7% y una especificidad del 100%. De otra parte, el Western-Blot (WB), permite la detección de antígenos específicos de *E. histolytica*, los cuales se reconocen por sueros de individuos sintomáticos y asintomáticos, para evitar las reacciones cruzadas con otros parásitos intestinales (11,12). Igualmente, se puede evaluar la respuesta inmune al cuantificar las subclases de Ig G (IgG₁, -IgG₄), se ha reportado que la subclase Ig G₄ es la más importante en el caso de amebiasis extraintestinal (13).

En caso de AHNA, se ha encontrado que la fiebre es un hallazgo típico y se ha aislado con mayor frecuencia *Klebsiella pneumoniae* y *Escherichia coli*. Algunos autores han reportado un 55% de hemocultivos positivos y hasta un 73% de cultivos positivos del pus drenado del absceso (14). También se han reportado casos de *Mycobacterium tuberculosis* y de *Enterococcus faecalis* (15, 16).

En la investigación retrospectiva realizada por Pinilla y colaboradores se encontraron hemocultivos positivos para *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*, y cultivos del drenaje del AH positivos para diversos gérmenes como *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus sp*, *Peptostreptococcus sp* y *Citrobacter sp*, entre otros; los hemocultivos solicitados fueron positivos sólo en el 15% y los cultivos del drenaje del absceso fueron positivos en el 58% de los casos. Se informó sobre la ocurrencia del AH, el diagnóstico - clínico y del laboratorio -, el tratamiento y las complicaciones de esta entidad en nuestro medio. La investigación demostró que el principal elemento diagnóstico era el ultrasonido y dejó al descubierto la ausencia del diagnóstico etiológico del AH. Asimismo, el estudio demostró cómo el manejo de la entidad es básicamente empírico, usando en muchos casos terapia antiamebiana y antibiótica simultánea (17).

Los resultados obtenidos de la investigación retrospectiva revelaron la necesidad de promover la utilización del

inmunodiagnóstico, en el paciente en quien se sospeche amebiasis extraintestinal, como la ID, el ELISA, y la adaptación en el país de nuevas técnicas como el WB. Igualmente, solicitar hemocultivos y cultivos del drenaje del absceso para aerobios y anaerobios, en caso de AHNA, para lograr el diagnóstico etiológico y dar el tratamiento específico a los pacientes (17, 18).

Por las conclusiones de este primer trabajo se planteó un estudio prospectivo en equipo interdisciplinario que se propuso establecer la capacidad discriminadora de los hallazgos clínicos, de laboratorio (ID, ELISA, WB, cultivos) e imaginológicos con la etiología del AH; establecer la concordancia entre las pruebas inmunodiagnósticas en AHA; establecer las pautas para el diagnóstico del AHA y su diagnóstico diferencial con el AHNA. Además, promover la utilización de métodos serológicos para el diagnóstico y hacer el análisis a fondo del estado actual de esta enfermedad, para así definir las mejores opciones diagnósticas y terapéuticas aplicables en nuestro medio.

Metodología

Tipo y diseño del estudio

Tipo de estudio: evaluación de tecnologías diagnósticas.

Prueba de referencia: ELISA para el diagnóstico de *E. histolytica* con punto de corte 0.34 (19).

Población y muestra

Se tomó como población una cohorte de sujetos con AH hospitalizados en el Hospital San Juan de Dios de Bogotá, analizados desde marzo de 1996 hasta diciembre de 1999. Se recolectaron 61 pacientes con diagnóstico inicial de AH.

Criterios de inclusión y de exclusión. Ingresaron todos aquellos pacientes hospitalizados, que presentaron un cuadro clínico e imaginológico de AH y que respondieron negativamente a cualquiera de los criterios de exclusión. Se excluyeron todos aquellos pacientes con cuadro clínico sugestivo de AH que presentaron cualquiera de las siguientes condiciones: serología positiva para VIH al ingreso, diagnóstico de cualquier tipo de cáncer con tratamiento inmunosupresor, ingesta de algún tipo de corticoide durante el último mes, terapia antibiótica por más de 72 horas antes de la hospitalización y la no aceptación a ingresar en el estudio.

Aspectos éticos. Teniendo en cuenta que se recolectó material biológico de los pacientes participantes en el estudio, se les solicitó consentimiento informado por escrito previa explicación detallada de los objetivos del estudio y del procedimiento para la toma de muestras.

Recolección de la información

Una vez realizada la encuesta y con la sospecha clínica de AH, se procedió a la toma de exámenes de laboratorio: cuadro hemático, pruebas de función hepática (transaminasas, fosfatasa alcalina, bilirrubinas, tiempo de protrombina), coprológico, hemocultivos, radiografía del

tórax y ecografía hepática para confirmar el diagnóstico de AH. Se continuó con la toma de muestras de suero para anticuerpos contra *E. histolytica* con el fin de determinar si el AH era o no de origen amebiano, en caso de tener pruebas serológicas negativas para *E. histolytica* se consideró el diagnóstico de AHNA y se procedió a la punción percutánea dirigida por ecografía. Al confirmar la etiología del AH, se procedió a iniciar el tratamiento específico.

Variables y unidades de medida

Se consideraron los siguientes grupos de variables:

Sociodemográficas, con el fin de describir las características generales de los pacientes y simultáneamente antecedentes de disentería y condición de enfermedad actual del paciente. **Examen físico:** signos vitales, función respiratoria, función cardíaca, examen de abdomen. **Exámenes de laboratorio:** cuadro hemático, pruebas hepáticas e inmunodiagnósticas y los resultados de los exámenes microbiológicos. **Imaginología:** radiografía de tórax y ecografía hepática. Adicionalmente se registraron las complicaciones, el tratamiento y la condición final del paciente.

Esquema de manejo de pacientes

A todo paciente con sospecha clínica de absceso hepático se le diligenció el formulario preliminar para la selección y el formulario para la investigación. Una vez establecido el diagnóstico del paciente se siguieron los protocolos terapéuticos, es decir, el tratamiento médico dado por metronidazol oral en el caso de AHA y antibióticos para el AHNA; se realizó punción hepática cuando fue necesario.

Procedimientos de laboratorio

Diagnóstico parasitológico. Muestra de materia fecal: se recolectaron las heces de los pacientes hospitalizados con sospecha diagnóstica de AH, antes de comenzar el tratamiento.

Examen directo en solución salina fisiológica y coloración con lugol: se adicionó alrededor de 1 o 2 mg de materia fecal tanto en una gota de solución salina fisiológica (20) como en una de lugol (21). Se cubrieron las preparaciones con una laminilla 22 x 22 mm y se examinó toda el área bajo la laminilla, sistemáticamente, en aumento de 10X y 40X.

Concentración de formol-éter. Se adicionaron 10 ml de formol 10% a 1g de materia fecal y se homogeneizó la muestra. Se filtró el homogeneizado, a través de una gasa, y a éste se le agregó 1 ml de éter etílico. Se agitó la mezcla vigorosamente durante 1-2 minutos y se centrifugó a 850 g. Luego se procedió a examinar al microscopio el sedimento en una gota de lugol (22).

Inmunodiagnóstico. Muestras de sangre: se tomaron 2 ml de sangre y se centrifugaron a 250 g durante cinco minutos. Se separó el suero de la muestra, se distribuyó en alícuotas y se almacenó a -20° C.

Inmuno difusión: se utilizó un gel de agarosa al 1.3%. Se realizaron siete perforaciones en el gel con la finalidad de

colocar el antígeno *E. histolytica* cepa HM1 en la perforación central y las muestras de suero en las perforaciones restantes. Se incubó a 37°C y se realizaron lecturas a las 24, 48 y 72 horas. Se eliminaron bandas inespecíficas colocando el agar en citrato de sodio al 5% durante una hora. Se consideró como reacción positiva (unión antígeno-anticuerpo) la presencia de una banda de precipitación (23).

Detección de anti-IgG humana contra *E. histolytica* mediante ELISA: se adicionaron 100 ml de antígeno *E. histolytica* de cepa HM1, 1.25 mg/ml por triplicado en los pozos de una microplaca "Dynatech Immulon I". Se incubaron durante tres horas en cámara húmeda a temperatura ambiente. Se lavaron los pozos con solución reguladora de fosfatos (PBS). Se agregaron 100 ml de suero, por triplicado en la microplaca, en una dilución 1:400 y se incubaron durante dos horas. Se lavaron los pozos con PBS. Se adicionaron 100 ml de conjugado (anti-IgG humana unido a fosfatasa alcalina) en la microplaca y se incubaron durante 18 horas en cámara húmeda a 4°C. Se lavaron con PBS. Se adicionaron 100 ml de sustrato (p-nitro-fenil-fosfato) para desarrollar la reacción y se incubaron durante 30 minutos en cámara húmeda a temperatura ambiente. Se detuvo la reacción adicionando 25 ml de NaOH 3N. Se determinó la presencia de anticuerpos leyendo la intensidad de coloración a 405 nm en un espectrofotómetro "Uniskan II" (10).

Western Blot: la electroforesis en gel de poliacrilamida y el Inmunoblot se realizaron siguiendo la metodología de Magnaval y col. (24). El gel de poliacrilamida se preparó en una concentración del 10% con persulfato al 2% y Temed. Las muestras se depositaron en el gel de stacking y se utilizó un patrón de peso molecular de amplio rango (14 kDa - 200 kDa). El antígeno de *E. histolytica* de la cepa HM1 fue combinado en partes iguales con buffer Laemmli 2X (TRIS 0.125 M, glicina 0.125 M, SDS 5.1%, glicerol 20%, EDTA 0.01M, B-mercaptoetanol 10%, bromofenol 0.04%) y finalmente reducido por cinco minutos. Las condiciones de corrido de la muestra fueron 75 Voltios (V) por 15 minutos y a continuación 125 V por 80 minutos, en buffer (TRIS, glicina 0.192 M) pH 8.3, suplementado con SDS 0.1 %. La transferencia del papel de nitrocelulosa se realizó a 250 mA por dos horas y 30 minutos en buffer de transferencia (TRIS 0.025 M, glicina 0.192 M, metanol 2%). Finalmente, la membrana de nitrocelulosa se coloreó con rojo Ponceau y se lavó con agua destilada. La membrana de nitrocelulosa se trató con solución bloqueadora de sitios inespecíficos de unión (SBSI), (TRIS 0.020 M pH 7.4, NaCl 0.5 M, Tween 20 0.1%, leche descremada 5%) a 4°C toda la noche. La dilución de los sueros fue de 1:100 en SBSI e incubados con las tiras de nitrocelulosa por una hora a temperatura ambiente, las tiras fueron lavadas cinco veces con PBS - Tween 0.1%. El conjugado anti IgG humana unida a fosfatasa alcalina fue diluido en 1:10.000 en SBSI e incubado a temperatura ambiente por dos horas. Se realizaron cinco lavados con PBS - Tween 0.1%, el último lavado con solución TRIS MgCl₂ pH 9.8, 10 minu-

tos. La solución de sustrato NBT - BCIP (Nitro Blue Tetrazolium 0.3 mg/ml, Bromo - 4 Cloro - 3 indol phosphate 0.15mg/ml, en MgCl₂ pH 9.8), se adicionó a las tiras y se observó la aparición de bandas. La reacción se detuvo con agua destilada (11).

Diagnóstico microbiológico. Hemocultivos: se recolectaron tres hemocultivos a los pacientes con diagnóstico de absceso hepático, para investigar gérmenes aerobios y anaerobios (Sistema BacT/Alert FAN Aerobic y Anaerobic). Las botellas se incubaron siete días a 37°C, haciendo pases ciegos en agares para gérmenes comunes: agar sangre, agar chocolate, agar Mackonkey y para gérmenes anaerobios: caldo tioglicolato, agar sangre anaeróbico, agar sangre kanamicina, vancomicina, incubándose en aerobiosis y en campanas de Gaspak respectivamente. Los gérmenes comunes se identificaron mediante pruebas bioquímicas tradicionales y los anaeróbicos mediante el sistema Minitek (25).

Cultivo del aspirado del absceso hepático: se recolectó asepticamente pus del absceso por aspiración dirigida por ecografía, la cual se sembró en los mismos medios de cultivo contemplados en el número anterior, para proceder luego a la respectiva identificación.

Análisis

Debido a la alta prevalencia del absceso hepático amebiano (AHA) 0.67 IC95% (0.52-0.80), se utilizó la regresión binomial (26) y se predijeron las probabilidades de las diferentes variables. Con éstas se realizaron análisis del área bajo la curva del receptor operador (AROC) (27) y se seleccionaron los puntos de corte de las variables continuas que dieran una mayor discriminación y cuyo límite inferior del AROC fuera 0.5. Para el análisis solamente se incluyeron las variables que en la tabla tetracórica presentaran marginales 10 (28). Después de lo anterior se realizó análisis multivariado, de nuevo con la regresión binomial, para obtener AROC de las diferentes combinaciones de las variables. Se utilizaron intervalos de confianza del 95% (IC 95%) en todos los análisis, para los IC 95% de las AROC se utilizó la binomial exacta. Para comparar las AROC se utilizó el algoritmo sugerido por DeLong (29). El análisis se realizó con Stata Release 6.0 (30).

Resultados

En este estudio se recolectaron 61 casos, durante un período de 46 meses, de los cuales se excluyeron 12; a los 49 casos incluidos se les diligenció el formulario y se les realizaron los respectivos estudios de laboratorio. Los pacientes excluidos fueron cuatro casos por terapia antibiótica previa, un caso por cada una de las siguientes causas: terapia con corticoïdes de larga data, falso positivo por diagnóstico inicial de la ecografía hepática, tuberculosis, VIH y un caso con diagnóstico inicial de quiste hepático a quien por estudio histopatológico final se le diagnosticó AH en formación y tres casos por no aceptación al estudio.

El tipo de estudio contempló la evaluación de tecnologías diagnósticas y se hizo un corte transversal (31) para la recolección de las variables.

Los 49 casos se distribuyeron así: 29 (59%) fueron por AHA, 16 (33%) AHNA y mixtos 4 (8%). El promedio de edad para los casos de AHA fue de 36 años y para AHNA 45 años. En cuanto al género para el AHA la relación hombre - mujer fue de 24/5 y en AHNA fue 11/5. Los pacientes procedían de diversas zonas del país con predominio de la ciudad de Bogotá.

En la presentación clínica de la población estudiada, el AH ya fuera AHA o AHNA no mostró diferencias significativas en la sintomatología: fiebre, astenia, pérdida de peso, anorexia, vómito, náusea, tos, dolor abdominal y su localización, excepto en la presencia de dolor pleurítico en la base del hemitórax derecho para el AHA. Igualmente, en el examen físico, la alteración de los signos vitales con respuesta sistémica inflamatoria y la ubicación del dolor abdominal en -hipocondrio derecho, epigastrio, flanco derecho-, se distribuyeron homogéneamente sin importar la etiología, pero la hepatomegalia fue más prevalente en el AHNA.

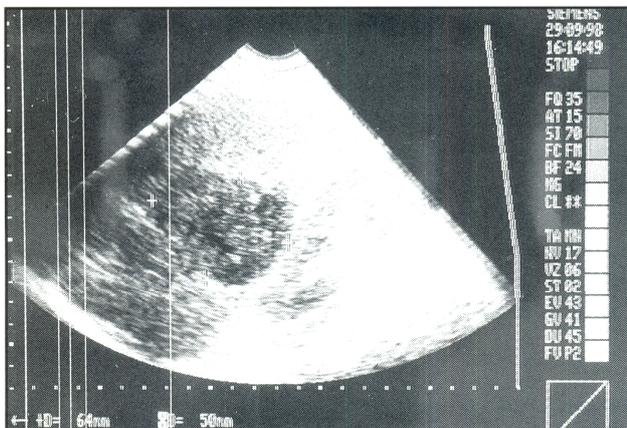


Figura 1. Ecografía hepática que muestra abscesos.

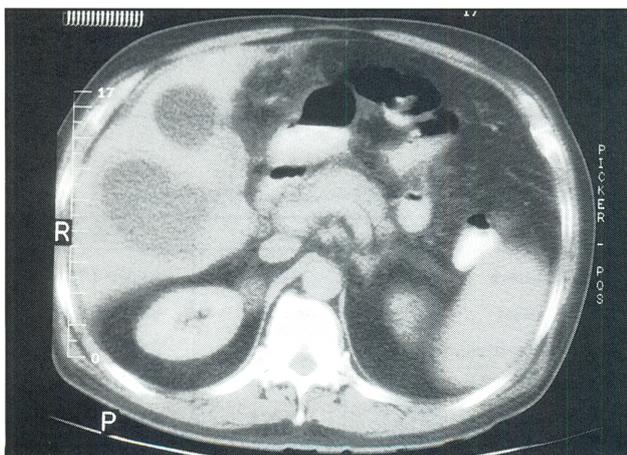


Figura 2. TAC con dos abscesos.

En lo referente a los exámenes de laboratorio: cuadro hemático-leucocitosis, neutrofilia-, VSG elevada, pruebas de función hepática -bilirrubina, transaminasas, fosfatasa alcalina-, no permiten discernir la etiología amebiana de la no amebiana, pero se resalta la prolongación del TP en caso del AHNA. La ecografía hepática fue la herramienta imaginológica de mayor utilidad para el diagnóstico de AH (Figura 1); se requirió de la TAC en sólo cuatro casos uno excluido por verificarse neoplasia como etiología de la lesión hepática (Figuras 2 y 3), el segundo por diagnóstico de absceso por *Ascaris lumbricoides* y los otros dos en AHNA (32). La radiografía de tórax reveló diversos grados de compromiso por derrame pleural y elevación del hemidiafragma (Figuras 4 y 5).

Las siguientes variables no se incluyeron en el análisis bivariado, por faltar algunos datos. Se encontró presencia de AHA y de AHNA tanto en el lóbulo derecho como

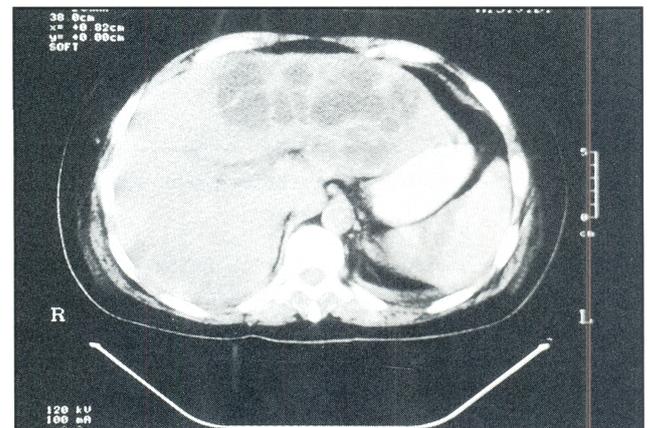


Figura 3. TAC con innumerables abscesos piógenos.

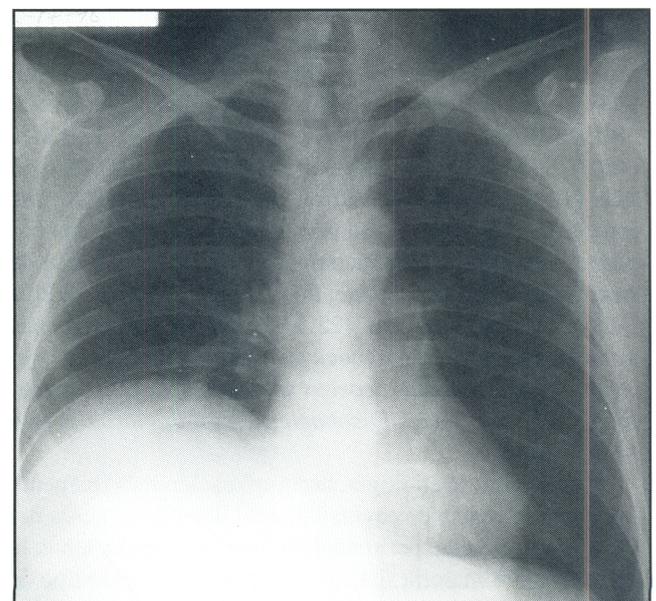


Figura 4. Radiografía del tórax PA con elevación del hemidiafragma derecho.

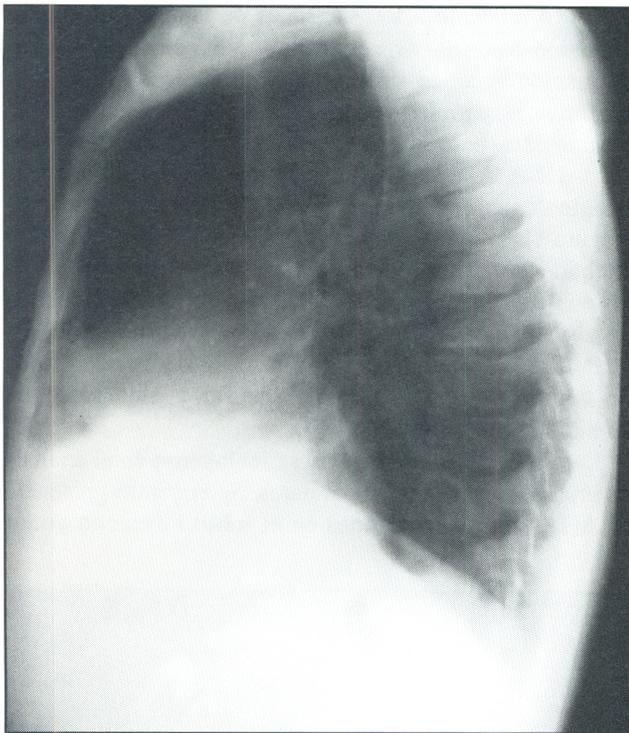


Figura 5. Radiografía del tórax lateral con elevación del hemidiafragma derecho.

izquierdo; los AHA se presentaron desde un absceso único hasta múltiples con un máximo de cuatro, en caso de los AHNA, de igual forma se encontraron desde uno hasta tres, y sólo en dos casos se observaron numerosos abscesos. La radiografía del tórax mostró elevación del hemidiafragma derecho, presencia de derrame pleural de diversa magnitud y no se encontró compromiso de la cavidad pericárdica (33, 34).

Para el diagnóstico de AHA la prueba de referencia fue el ELISA con punto de corte mayor o igual a 0.34 (10). Las pruebas de ELISA fueron positivas en 100%, las de ID en 93% y en el WB el orden de frecuencia de las bandas fue 38 kDa (93%), 42 kDa (90%), 80 kDa (86%), 116 kDa (76%), 50 kDa (24%), 97 kDa (17%), 22.5 kDa (14%), 45 kDa (10%) y 31 kDa (3%) en pacientes con AHA. Las pruebas de ELISA e ID fueron positivas en todos los pacientes con absceso hepático mixto y en el WB el orden de frecuencia de las bandas fue: 80 y 38 kDa (100%), 42 kDa (75%), 11 kDa (50%), 50 y 22.5 kDa (25%). Los gérmenes aislados en orden de frecuencia fueron *Peptococcus sp*, *Streptococcus sp*, *Enterococcus sp*, *Staphylococcus aureus*, *Propionibacterium sp*, *Fusobacterium sp*, *Bacteroides sp* y *Klebsiella sp*.

Sin importar la etiología, la complicación más frecuente fue el compromiso de cavidad pleural derecha, seguida del drenaje a la cavidad peritoneal en dos casos. Igualmente, la respuesta inflamatoria sistémica se presentó en todo tipo de AH; ésta se consideró si se presentaban dos o más de las siguientes manifestaciones clínicas: temperatura > de 38°C

o < de 36°C; taquipnea dada por frecuencia respiratoria > 20 x minuto o hiperventilación indicada por Pa CO₂ < 28 mmHg; taquicardia dada por frecuencia cardíaca > de 90 x minuto; alteración del conteo de los leucocitos > de 12.000 mm³ o < de 4.000 mm³ o la presencia de más del 10% de neutrófilos inmaduros o bandas (35).

Los pacientes con AHA recibieron metronidazol oral 1.5 g/día durante 10 días y se sugirió complementar con antiamebiano luminal al egreso. En caso de AHNA los antibióticos más empleados fueron: gentamicina, metronidazol, ampicilina-sulbactam (17, 36-43). Finalmente, de la población en estudio se presentó una muerte en una paciente con AHNA asociado a colecistitis aguda.

En la Tabla 1 se aprecian los resultados del análisis bivariado, de las variables diligenciadas completamente en la base de datos en todos los casos, donde se observan las cinco variables que resultaron con un intervalo de confianza inferior del 95% de área ROC > 0.5 y en la Tabla 2 se establecen las AROC de cada una de las variables. La Tabla 3 presenta el modelo final en la regresión binomial. La adición de nuevas variables no aportó al modelo ni aumentó al AROC de manera significativa. Al comparar las AROC, como se observa en la Tabla 4, se encontró una p = 0.006. El AROC del modelo final es el de mayor área.

La curva ROC del modelo final se aprecia en la Figura 6 y sus datos se presentan en la Tabla 5, donde se observa que presentar dos variables positivas ofrece una sensibilidad entre 0.55 y 0.81 y una especificidad entre 0.75 y 0.94. También se aprecia que ser menor de 40 años, tener un hematocrito de más de 35 y una elevación del TP menor de 1.5 segundos (TPpaciente - TPcontrol = TPP - TPC) da una sensibilidad de 0.33 y una especificidad de 1.00 para el diagnóstico de AHA.

Tabla 1. Riesgos relativos del análisis bivariado.

Variable	Riesgo relativo	IC 95%
Dolor pleurítico	1.48	0.97-2.24
Edad <40 años	1.81	1.05-3.13
No presentar hepatomegalia	1.57	1.10-2.23
Hematocrito > 35	1.55	1.00-2.39
TP paciente - TP control <1.5	1.84	1.10-3.07

Tabla 2. Área bajo la curva ROC* de cada una de las variables.

Variable	Área ROC	IC 95%
Dolor pleurítico	0.6468	0.5036-0.7833
Edad <40 años	0.6913	0.5458-0.8175
No presentar hepatomegalia	0.6648	0.5246-0.8005
Hematocrito > 35	0.6619	0.5036-0.7833
TP paciente - TP control <1.5	0.7074	0.5673-0.8342

* ROC: Características operativas del receptor (del inglés receives operator curve).

Tabla 3. Modelo final de la regresión binomial

Variable	Riesgo relativo	IC 95%
TP paciente - TP control <1.5	1.65	1.03-2.65
Edad < 40 años	1.57	0.98-2.51
Hematocrito ≥ 35	1.24	0.91-1.69

Tabla 4. Área bajo la curva ROC a medida que se añaden variables en el modelo final

Modelo	Área ROC	IC 95%
1. TP paciente - TP control <1.5	0.7074	0.5036-0.7833
2. (1) + Edad <40 años	0.8002	0.6566-0.8976
3. (2) + Hematocrito ≥ 35	0.8504	0.7276-0.9406

Ho AROC 1=AROC 2=AROC 3; p=0.0061

Tabla 5. Probabilidades y valor de las variables del modelo final.

p	AHA (n)	AHNA (n)	TPp-TPc <1.5	<40 años	Hcto >35	Sens. **	Espec. **	Variable positiva
≥0.31	1	4	0*	0	0	1.00	0.00	
≥0.39	1	2	0	0	1	0.97	0.25	H***
≥0.49	3	3	0	1	0	0.94	0.38	E
≥0.51	1	3	1	0	0	0.85	0.56	P
≥0.61	4	2	0	1	1	0.81	0.75	E+H
≥0.64	5	1	1	0	1	0.70	0.88	P+H
≥0.81	7	1	1	1	0	0.55	0.94	P+E
=1.00	11	0	1	1	1	0.33	1.00	P+E+H

* 0 = negativo; 1 = Positivo
 ** Sens = Sensibilidad; Espec = Especificidad
 *** P = TPp - TPc <1.5; H = hematocrito >35; E = edad < 40 años

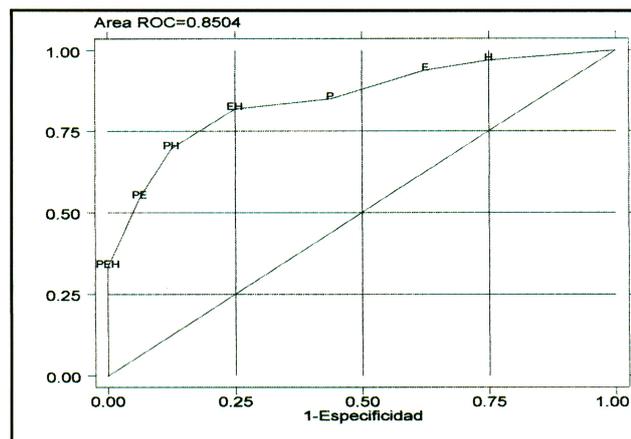


Figura 6. Área bajo la curva ROC del modelo final.

Discusión

Hasta el momento la literatura reportada no ha descrito con precisión cómo diferenciar el AHA del AHNA teniendo en cuenta la incidencia, el cuadro clínico, los hallazgos de laboratorio, la imaginología y el inmunodiagnóstico. En la presente investigación se evaluaron 61 pacientes, y se excluyeron 12 por no cumplir los criterios de inclusión. De los 49 estudiados, 29 casos de AHA (59%), 16 casos de AHNA (33%) y 4 mixtos (8%), es clara la predominancia

del origen amebiano pero a la vez es importante resaltar otras etiologías encontradas como un caso por *Mycobacterium tuberculosis* y un caso por *Ascaris lumbricoides*. Por tanto, es importante plantear que el diagnóstico de AH se sospecha clínicamente, pero requiere de exámenes imaginológicos, de inmunodiagnóstico, microbiológicos y examen directo para confirmar y precisar su etiología (14-17, 32, 40).

El AHA y el AHNA continúan presentándose en individuos, en edad productiva, con predominio en hombres sobre mujeres de 24:5 y 11:5 respectivamente como lo han descrito numerosos autores (17, 38, 44-47).

Según Maitz y colaboradores (38), la duración de la sintomatología en caso de AHA oscila entre dos y 12 semanas; en esta investigación el rango de variación fue de 7-60 días con un promedio de 20 días. Barnes y colaboradores (48) informaron en caso de AHNA una presentación crónica, por lo menos una tercera parte de sus pacientes tenían síntomas de por lo menos dos semanas de duración, explicándolo porque este tipo de pacientes tienen otra enfermedad de base como diabetes mellitus y son de más edad que los pacientes con AHA; en nuestro medio el tiempo de evolución de los síntomas para el AHNA varió de siete a 30 días con un promedio de 14 y no se precisaron patologías asociadas. En cuanto a la presentación clínica, se ha informado que el AHNA piógeno es de presentación aguda de dos semanas o menos en contraste con el AHA que tiende a ser crónico. De otra parte se ha afirmado que los pacientes con AHNA tienen patologías asociadas, son de mayor edad, no presentan diarrea sanguinolenta, tienen alteración mayor en la bilirrubina directa y la AST y leucocitosis con neutrofilia de mayor porcentaje, pero en esta investigación no se encontró diferencia estadística significativa en estas variables para discernir la etiología del AH. Igualmente, como en el estudio de Barnes y colaboradores en el presente trabajo no se encontró diferencia estadística en cuanto a la localización del AHA solitario en el lóbulo derecho (48).

Los hallazgos y limitaciones de las pruebas serológicas en nuestro medio continúan en discusión; sin embargo, existen pruebas ya estandarizadas de fácil consecución, de bajo costo y disponibles en algunas capitales y centros de referencia del país (10, 49). Una prueba sencilla, que no requiere de equipos especiales y la pueden realizar en cualquier laboratorio es la ID, examen cualitativo con resultado a las doce horas con menor sensibilidad que la prueba de ELISA que tiene una sensibilidad del 95.7 % y una especificidad del 100%. (10). Otros autores han publicado la sensibilidad del ELISA en pacientes con AHA del 74,7% al 100% y la especificidad entre el 91% y el 91,7% (50-55).

La prueba de ELISA ha sido usada en áreas endémicas para la determinación de IgG, IgM, IgA y subtipos de IgG en sueros de pacientes infectados con *E. histolytica* (56). Los sueros de pacientes con colitis amebiana y AHA han

mostrado valores altos en todos los subtipos de anticuerpos mayores que en los individuos sanos.

Dada la persistencia de títulos positivos para IgG por ELISA en áreas endémicas por años, en el momento es necesario correlacionar el cuadro clínico con el resultado de esta prueba. La anti IgG contra *E. histolytica* por ELISA no puede diferenciar una infección aguda de una pasada en áreas de alta endemicidad (10, 57). Aún no se cuenta con la prueba serológica que permita diferenciar infección reciente de pasada; es por esto que en esta serie de casos quedaron clasificados cuatro pacientes como AH mixtos por presentar pruebas de ID y ELISA diagnósticas de AHA y a la vez cultivos positivos. Surge la pregunta si algunos de estos pacientes no tenían AH mixto sino AHNA y memoria inmunológica para *E. histolytica*. La ID tendría la ventaja de ser positiva sólo durante seis a 12 meses (57), lo que es comprensible porque esta prueba mide la respuesta humoral global. Se han informado estudios de biología molecular para diferenciar una infección reciente de una pasada por *E. histolytica* (58, 59).

Con la técnica del WB se identificaron las siguientes bandas en orden de frecuencia 38 kDa (93%), 42 kDa (90%), 80 kDa (86%), 116 kDa (76%), 50 kDa (24%), 97 kDa (17%), 22.5 kDa (14%), 45 kDa (10%), 31 kDa (3%) en pacientes con AHA, en contraste con lo encontrado por Ximenez y colaboradores (60) que informaron la presencia de las siguientes bandas: 136, 132, 93, 70 y 62 kDa en pacientes con AHA, y asociada con infección pasada las bandas: 144, 140 y 94 kDa, estos son algunos avances en el uso de la serología para el diagnóstico de la amebiasis extraintestinal en zonas endémicas.

En los hemocultivos se aislaron gérmenes similares a los reportados en diversas series: anaerobios como *Peptococcus sp*, *Propionibacterium sp* y *Fusobacterium sp*, bacilos aerobios gram negativos y gram positivos tipo *Streptococcus sp*, *Enterococcus sp* y *Staphylococcus aureus*. Es importante siempre pensar en la etiología por anaerobios, por lo que deben procesarse en los medios de cultivo específicos. La sensibilidad de los hemocultivos es menor a la encontrada por medio de los cultivos del drenaje del absceso. En este caso no se pudieron realizar estas cuatro variables -hemocultivos y cultivos del drenaje para aerobios y anaerobios- a los 16 pacientes con AHNA y a los cuatro pacientes con AH mixto. Se hace necesario insistir en la utilidad de la punción y drenaje del AH cuando se sospecha etiología diferente a la amebiana, es decir cuando ésta se ha descartado a través de la prueba de ELISA. El frotis directo permite identificar parásitos y las tinciones de gram y Zielh-Neelsen permiten identificar el agente causal. En caso de AH de origen bacteriano el drenaje es parte del tratamiento y sirve para aislar y precisar el tipo de germen para dirigir la terapia antibiótica específica (48).

Los resultados permiten afirmar que ante el diagnóstico de AH realizado por ultrasonido, y en ausencia de pruebas como el ELISA y la ID, el análisis de tres datos fáciles de

obtener como son la edad, el PTP - PTC y el hematocrito, permite establecer un diagnóstico diferencial con una adecuada capacidad discriminadora (AROC=0.85) entre AHA y AHNA que facilita la toma de decisión de iniciar terapia.

El tratamiento del AHA ha cambiado radicalmente. Es así como luego de la década de los cincuenta, el tratamiento se basó en la combinación de emetina, cloroquina y antibióticos -principalmente tetraciclina- asociado a la punción hepática evacuadora (19, 37, 45-47, 61). La cirugía adquirió indicaciones precisas tales como los AH complicados, aquéllos localizados en el lóbulo izquierdo de gran tamaño, la frecuencia de inminencia de ruptura, cuando no cedían a las punciones, o los de difícil evacuación por punción (46, 62-64).

Sólo hasta 1956 se descubrieron los nitroimidazoles por Nakamura y un año después se sintetizó el metronidazol, cuya efectividad para el tratamiento del AHA se conoce desde 1964; los primeros estudios clínicos en Colombia datan de finales de los sesenta y comienzos de los setenta (61). Cuando se alcanzó mayor difusión del uso de los nitroimidazoles en la década de los setenta, se terminó el empleo simultáneo de otros antiamebianos y antibióticos (17, 37, 44, 47, 66, 67). Luego en la década de los ochenta, la ecografía y la TAC permitieron el diagnóstico de absceso y guiar la punción evacuadora, por lo cual se redujo la utilidad de la cirugía, y se limitaron sus indicaciones, pero en muchos casos se continuó su uso excesivo.

Ahora, comenzando un nuevo milenio el tratamiento del AHA es esencialmente médico; el nitroimidazol de más amplio uso es el metronidazol. La punción evacuadora cada vez tiene menos indicaciones, pues el inmunodiagnóstico ayuda a precisar la etiología, por ahora estaría indicada en abscesos localizados en el lóbulo izquierdo y que tengan vecindad al pericardio, serología para *E. histolytica* negativa, evolución tórpida luego de 48-72 horas de haber iniciado el nitroimidazol como terapia específica de AHA o grandes abscesos con peligro de drenaje a otras cavidades. Se pueden realizar procedimientos como toracentesis, toracotomía, pericardiocentesis, ventana pericárdica o laparotomía de acuerdo con las complicaciones (17, 19, 47, 48,65-69).

Conclusiones

El AH en general es una enfermedad grave que justifica su diagnóstico temprano y tratamiento inmediato. El cuadro clínico es similar en AHA, AHNA o mixto y hay una superposición de síntomas y signos. En nuestro medio, el diagnóstico de AH siempre debe contemplarse ante la presencia de síndrome febril de origen desconocido.

El diagnóstico de AHA se basa en la epidemiología y es confirmado con el inmunodiagnóstico. La principal indicación de drenaje es el resultado negativo para anticuerpos contra *E. histolytica*, que indica alta sospecha de AHNA. El drenaje del absceso piógeno es terapéutico y diagnóstico y requiere de confirmación bacteriológica por hemocultivos

o preferiblemente por frotis y cultivos del drenaje. Al descartar la etiología amebiana y proceder a realizar la punción hepática, siempre deben realizarse el frotis directo, las tinciones especiales (Gram, Ziehl Neelsen) y los cultivos para buscar la etiología.

La ecografía hepática es el examen imaginológico de primera elección ante sospecha de absceso hepático por historia clínica. La persistencia de la cavidad en un paciente asintomático tratado no es indicación de procedimientos invasivos, controles ecográficos o terapia recurrente. El estudio imaginológico más utilizado es el ultrasonido; otros menos utilizados son la TAC y la resonancia magnética. Sin embargo, lo ideal es la demostración del agente etiológico.

Puesto que la prueba de ELISA mide IgG, en las zonas endémicas puede ser positiva en pacientes con infección activa o no activa. Por tanto, puede existir el caso en el que el ELISA sea positivo sin que el paciente tenga AHA sino AHNA con memoria inmunológica para *E histolytica*; por este motivo es indispensable correlacionar la enfermedad actual con la serología. Entonces se requiere de nuevos estudios que evalúen fracciones antigénicas de *E histolytica* que permitan diferenciar amebiasis extraintestinal reciente de pasada con el fin de discriminar con certeza la etiología del AHA.

El tratamiento del AHA es esencialmente médico. La respuesta terapéutica al metronidazol oral es rápida, segura y económica y se debe completar el tratamiento con amebicida intraluminal. Igualmente, este nitroimidazol es útil en caso de AHNA asociado a otros antibióticos como terapia empírica de amplio espectro o según los resultados del cultivo, antibiograma y la evolución del paciente. En caso de AHNA se recomienda realizar siempre cultivos seriados para microorganismos aerobios y anaerobios; en este caso se debe buscar sin duda la fuente de infección, comenzando por la vía biliar y el abdomen o en su defecto proceder a analizar fuentes distantes como el endocardio o la cavidad oral.

El análisis de tres variables al alcance de la mayoría de las instituciones de salud que son la edad, el hematocrito y la diferencia del TPP-TPc tiene suficiente capacidad discriminadora y permite la toma de decisión diagnóstica y terapéutica del AH. Dados los avances en el inmunodiagnóstico para el AHA y este modelo de variables clínicas para discriminar el diagnóstico etiológico se pueden disminuir la morbilidad, la mortalidad, los procedimientos innecesarios y la estancia hospitalaria al agilizar el diagnóstico y el tratamiento específico. Queda pendiente validar este modelo clínico en otros grupos de pacientes con diagnóstico de AHA confirmado por el ELISA IgG.

Summary

Introduction. Amebiasis, caused by the protozoan *Entamoeba histolytica*, is an infection of worldwide distribution, affecting nearly 500 million people and causing

110.000 deaths every year due to its clinical complications. People infected by the parasite can be divided in two different populations according to their clinical manifestations: 90% of infected people are asymptomatic and only 10% suffer from disease, mainly amoebic dysentery and extra-intestinal Amebiasis.

Objective. To establish the discriminatory capacity of the clinical, laboratory and imaging parameters for the etiology of the amoebic (ALA), non-amoebic (NALA) and mixed liver abscess.

Methodology. Descriptive and prospective study. Assessment of clinic and diagnostic technologies in order to distinguish etiology.

Results. Sixty-one patients with this diagnosis were analyzed during a period of 46 months, 12 of them were excluded. The 49 cases were distributed as follows: 29 (59%) were classified as ALA, 16 (33%) as NALA and 4 as mixed 4 (8%). The average age of patients was 36 years for the ALA group and 45 years for the NALA group, while the male/female ratio was 24/5 and 11/5 respectively. The clinical manifestations, physical examination, and imaging studies did not allow to distinguish the amoebic from the non-amoebic etiology, except for the higher prolongation of the PT in the NALA.

In ALA cases the ELISA tests for amoebic IgG antibodies were positive in 100%, the ID in 93% and in the WB the frequency order of the bands was: 38 kDa (93%), 42 kDa (90%), 80 kDa (86%), 116 kDa (76%), 50 kDa (24%), 97 kDa (17%), 22.5 kDa (14%), 45 kDa (10%) and 31 kDa (3%) in these patients. The ELISA tests and ID were positive in all patients with mixed liver abscess and in the WB the frequency order of the bands was: 80 y 38 kDa (100%), 42 kDa (75%), 11 kDa (50%), 50 and 22.5 kDa (25%). The germs isolated from NALA patients were, in decreasing order: *Peptococcus sp*, *Streptococcus sp*, *Enterococcus sp*, *Staphylococcus aureus*, *Propionibacterium sp*, *Fusobacterium sp*, *Bacteroides sp* and *Klebsiella sp*.

The most frequent complication for both etiologies was the involvement of the right pleural cavity. All kinds of abscesses course with a systemic inflammatory response. The patients with ALA received 1,5 gr/day oral metronidazole during 10 days and it was suggested to complemented with a luminal amebicidal. The NALA cases were treatment with: gentamycin, metronidazole, ampicillin - sulbactam.

The final model of binomial regression showed that to an age under 40 years, an hematocrit greater than 35% and an increase in the PT of less than 1.5 seconds together have sufficient discriminatory capacity for the diagnosis of ALA.

Conclusions. Clinical manifestations are similar in ALA, NALA or mixed abscesses; there is an overlapping of symptoms and signs. The ALA diagnosis is confirmed with immunodiagnosis (ELISA Ig G, presence of these antibodies is indicative of current or previous infection, therefore should be correlated with clinical history). The main indi-

cation for surgical drainage of the abscess are: a negative result for antibodies against *Entamoeba histolytica*, which indicates a high suspicion of NALA, or no response to metronidazole therapy after 72 hours. The percutaneous drainage of a pyogenic abscess is both therapeutic and diagnostic, but bacteriological confirmation of both liver aspirates and blood cultures should be done, in addition, the direct smear must be always performed, together with special stains (Gram, Ziehl Neelsen) in order to look for the etiology.

Ultrasound studies are the ideal method for detection of liver abscess, because it is a readily accessible, noninvasive and inexpensive method, but the etiology must always be determined. The analysis of 3 variables which are readily accessible for most of the health institutions: age, hematocrit and PTP-PTC difference, has enough discriminatory capacity and permit the etiological diagnosis of LA, and the therapeutic decision to be taken accordingly. Given the advances in the immunodiagnosis of ALA and this model of clinical variables in order to discriminate the etiological diagnosis, can be diminished morbidity, mortality, unnecessary procedures and hospital stay when an etiological diagnosis is readily made and the specific treatment promptly initiated.

Key words: *liver abscess*, *Entamoeba histolytica*, *amebiasis*, *hepatic ultrasonography*, *ELISA IgG*, *Inmunodifusion*, *Western Blot*, *inmuno diagnostic*, *hemocultures*, *nitroimidazoles*, *metronidazole*, *discriminatory capacity*.

Agradecimientos

A los pacientes por su colaboración y aceptación para la toma de muestras. A la División de Investigación de la Sede Bogotá (DIB) de la Universidad Nacional de Colombia por el soporte financiero de la investigación radicada con los códigos 709150 y 809159. A los estudiantes de pregrado de la Línea de Profundización. A los estudiantes de postgrado por su colaboración en la recolección de datos y seguimiento de algunos de los pacientes del estudio: Guido Lastra González, Jorge Armando Rojas Cuéllar, Iscaj Ronderos Botero y José Manuel Arboleda Vallecilla. A los profesores Héctor Reverend Pacheco, Augusto Corredor Arjona y Vladimir Corredor Espinel por su asesoría. Finalmente a Adriana Arévalo, bacterióloga del Laboratorio de Parasitología, Instituto Nacional de Salud.

Referencias

1. WHO Meeting. Amoebiasis and its control. *Bull WHO* 1985; **63**: 417-26.
2. Walsh JA. Problems in recognition and diagnosis of Amebiasis: estimation of the global magnitude of morbidity and mortality. *Rev InfDis* 1986; **8**: 228-35.
3. Thompson JE, Forlenza S, Verma R. Amebic liver abscess: a therapeutic approach. *Rev InfDis* 1985; **7**: 171-9.
4. Cáceres E, Castaño de Romero L, Estupiñán D, López MC, Páez S, Pinilla CA, Santacruz MM. En : Corredor A, Arciniégas E, Hernández CA eds. Parasitismo Intestinal. Ministerio de Salud, Instituto Nacional de Salud. Santa Fé. de Bogotá: Instituto Nacional de Salud, 2000; 67-68.
5. Kessel JF, Lewis WP, Solomon MA, Kim H. Preliminary report on a hemagglutination test for *Entamoeba*. *Proc Soc Exp Biol Med* 1961; **106**: 409-13.
6. Maddison SE. Characterization of *Entamoeba histolytica* antigen-antibody reaction by gel diffusion. *Exp Parasitol* 1965; **16**: 224-35.
7. Kessel JF, Lewis WP, Molina C, Turner JA. Indirect hemagglutination and complement fixation tests in amebiasis. *Am J Trop Med Hyg* 1965; **14**: 540-9.
8. Samrejongroj P, Tharavanij S. Assesment of validity of counterimmunoelectrophoresis and ELISA in the routine diagnosis of amoebiasis. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 1985; **16**: 365-70.
9. Jeanes AL. Indirect fluorescent antibody test in diagnosis of hepatic amoebiasis. *Br Med J* 1966; **5501**:1464.

10. Nicholls RS, Restrepo MI, Duque S, López MC, Corredor AA. Standardization and evaluation of ELISA for the serodiagnosis of Amoebic Liver Abscess. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 1994; **89**: 53-58.
11. Arguello GR, Sánchez G MC, Garduño G, Valadez-Salazar A, Martínez-García MC, Muñoz O, et al. Evaluation of on Immunoblot methodology for the detection of relevant *Entamoeba histolytica* antigens by antibodies induced in human amebiasis. *Arch Invest Med* 1990; **21**: 3-9.
12. Petri WA, Joyce MP, Broman J, Smith RD, Murphy ChF, Ravdin JI. Recognition of the Galactosa or N-Acetylgalactosamina-Binding Lectin of *Entamoeba histolytica* by Human Immune Sera. *Infect Immun* 1987; **55**: 2327- 31.
13. Kollaritsch H, Stock C, Scheiner O, Stemberger H, Wiedermann G. Immune response in patients with amoebiasis: evaluation of Ig G- subclasses. *Int J Med Microbiol* 1990; **272**: 535-9.
14. Blanco F, Novella B, Sánchez P, Sanz J. Descriptive study of 39 cases of hepatic abscess of pyogenic and amebic origin. *Ann Med Int* 1995; **12**: 477-84.
15. Bandres M, Burstein E, Casa J, Verona R. Absceso hepático tuberculoso: descripción de un caso y discusión de la literatura. *Rev Gastroenterol Perú* 1994; **14**: 233-237.
16. Teitz S, Guidehi SA, Manor H, Halevy A. Pyogenic liver abscess: warning indicator of silent colonic cancer. Report of a case and review of the literature. *Dis Colon Rectum* 1995; **38**: 1220-1223.
17. Pinilla RA, Lastra GG, Camacho MG, Cuevas EM, Díaz CK, Duque MN. Absceso Hepático en el Hospital San Juan de Dios. Bogotá. Absceso Hepático en el Hospital San Juan de Dios. En: Chalem F, Casasbuenas J. Actas XIV Curso Anual Departamento de Medicina Interna Universidad Nacional de Colombia. Bogotá: *Acta Med Colomb* 1996:125 - 141.
18. Georges RN, Deitch EA. Pyogenic Hepatic Abscess. *South Med J* 1993; **86**: 1233-1235.
19. Arguello JM, Gómez VR. Amibiasis Hepática. En: De la *Entamoeba histolytica* a la Enfermedad Amibiana. Bogotá; Laboratorios Synthesis. División Gastrointestinal
20. Manson-Bahr PEC, Bell DR. Manson's tropical diseases 19th ed. London: Bailliere Tindall, 1987.
21. Department of Medical Protozoology. London School of Hygiene and Tropical Medicine. Hand-outs. Parasitology Diagnosis. Public Health Laboratory Services. London: 1989: 8.
22. Ridley DS, Hawgood BC. The value of formal-ether concentration of faecal cysts and ova. *J Clin Pathol* 1956; **9**: 74-6.
23. Ouchterlony O. In vitro method for testing the toxin producing capacity of *Diphtheria bacteria*. *Acta Pathol Microbiol Scand* 1948; **25**: 186.
24. Magnaval JF, Fabre R, Maurieres P, Charlet JP, & de Larrad B. Application of the Western blotting procedure for the immunodiagnosis of the human toxocaríasis. *Parasitol Res* 1991; **77**: 697-702.
25. Master RN. Micobacteriology. In Clinical Microbiology Procedures Hand book. Isenberg HD Editor. ASM Washington D.C. 1992.
26. Walcholder S. Binomial regression in GLIM. Estimating risk ratios and risk differences. *Am J Epidem* 1986; **123**: 174-84.
27. Hanley JA, McNeil BJ. The meaning and use of the area under receiver operating characteristic (ROC) curve. *Radiology* 1982; **143**: 29 - 36.
28. Kraemer HC. Evaluating medical tests. Objective and quantitative guidelines. Newbury Park: Sage Publications; 1992.
29. DeLong ER, DeLong DM, Clarke - Pearson DL. Comparing the areas under two or more correlated receiver operating curves: A nonparametric approach. *Biometrics* 1988; **44**: 837-45.
30. Stata Corp. 1999 Stata Statistical Software: Release 6.0. College Station, TX USA: Stata Corporation.
31. Orozco LC, Camargo D. Evaluación de tecnologías diagnóstica y tipos de muestreos. *Biomédica* 1997; **17**: 321-324.
32. Pinilla AE, López MC, Ricaurte O, Castillo B, Murcia MI, Nicholls RS, Duque S, Orozco LC. Liver abscess caused by *Ascaris lumbricoides*: Case report (en prensa).
33. Cano FA, Restrepo J. Absceso hepático roto a pericardio. *Trib Med* 1977; **55**: 32-34.
34. Gomersall LN, Currie J, Jeffrey R. Amoebiasis: a rare cause of cardiac tamponade. *Br Heart J* 1994; **71**: 368-369.
35. Bone CR, Balk AR, Cerra BF, Dellinger RP. Definitions for Sepsis and Organ Failure and Guidelines for the Use of Innovative Therapies in Sepsis. *Chest* 1992; **101**: 1644-1655.
36. Blanco F, Novella B, Sánchez P, Sanz J. Descriptive study of 39 cases of hepatic abscess of pyogenic and amebic origin. *Ann Med Int* 1995; **12**: 477-484.
37. Rugeles S, Prada G, Patiño JF. Hepatic Abscess. Clinical and Therapeutic Experience. *Act Med Colomb* 1986; **11** (suppl): 172.

38. **Maitz G, Knauer CM.** Amebic Liver Abscess: A 15 - Year Experience. *Am J Gastroenterology* 1991; **86**: 704-709.
39. **Branum G, Tyson G, Branum M, Meyers W.** Hepatic Abscess. Changes in etiology, diagnosis and Management. *Ann Surg* 1990; **212**: 655-662.
40. **Huang CJ, Pett HA, Lipsett PA, Osterman FA, Lillemoe KD, Cameron JL, Zuidema GD.** Pyogenic Hepatic Abscess. Changing Trends Over 42 years. *Ann Surg* 1996; **223**: 600 -09.
41. **Stain S, Yellin A, Donovan A, Brien H.** Pyogenic Liver Abscess. Modern Treatment. *Arch Surg* 1991; **126**: 991-96.
42. **Mishinger H, Hauser H, Rabl H, Quehenberger F.** Pyogenic Liver Abscess: Studies of Therapy and analysis of Risk Factors. *Worl J Surg* 1994; **18**: 852-58.
43. **Matijasevic E.** Amibiasis Espectro clínico y tratamiento. *Tribuna Médica* 1995; **91**: 290-304.
44. **Arguello M, Cortes E, Ahumada JS.** Amibiasis cólica y hepática. Medios de diagnóstico, tratamiento y evolución. *Rev Fac Med UN* 1972; **38**: 238-61.
45. **Ruttgi A, Ritcheher J.** Abscesos hepáticos piógenos y amebianos. En *Clinicas Medicas de Traducción por Folch A Clin Med North Am.* México. Interamericana S. A. 1989: 921-935.
46. **Pineda A.** Absceso Hepático. Análisis de 84 casos del Hospital Universitario San Vicente de Medellín. *Antioquia Médica* 1961; **11**: 88-116.
47. **Martínez O, López E.** Absceso Hepático Amibiano en el Hospital San Juan de Dios de Armenia. *Acta Med Colomb* 1995; **20**: 176-80.
48. **Barnes PT, De Cock KM, Reynolds TN, Ralls PW.** A Comparison of Amebic and Pyogenic Abscess of the Liver. *Medicine* 1987; **66**: 472-483.
49. **Restrepo MI, Restrepo Z, López C, Villareal E, Aguirre A, Restrepo M.** Diagnostic tests for amoebic liver abscess: comparison of enzyme - linked immunosorbent assay (ELISA) and Counterimmuno-electrophoresis (CIE). *Rev Soc Bras Med Trop* 1996; **29**: 27-32.
50. **Samrejrongroj P, Tharavanij S.** Assesment of validity of Counterimmuno-electrophoresis and ELISA in the routine diagnosis of amoebiasis. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 1985; **16**:365-70.
51. **Gandhi BM, Irshad M, Chawla TC, Tandon BN.** Enzyme linked protein - A: an ELISA for detection of amoebic antibody. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1987; **81**: 183-85.
52. **Sathar MA, Simjee AE, NEL JD, Bredenkamp BL, Gathiram V, Jackson TF.** Evaluation of an enzyme - linked immunosorbent assay in the serodiagnosis of amoebic liver abscess. *S Afr Med J* 1988; **74**: 625-28.
53. **Sathar MA, Bredenkamp BL, Gathiram V, Simjee AE, Jackson TF.** Detection of *Entamoeba histolytica* inmunoglobulins G and M to plasma membrane antigen by enzyme - linked immunosorbent assay. *J Clin Microbiol* 1990; **28**: 332-35.
54. **Hock GM, Foon KL, Chuen HL, Choo NG, Singh M.** determination on antiamebic IgG, IgM, IgA and IgG subclasses in sera from patients with amoebiasis by enzyme - linked immunosorbent assay . *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 1989; **20**: 407-14.
55. **Nagano I, Ohtomo H, Masuda G, Tokoro M, Noda N, Goto K.** Fundamental studies on serological diagnosis of amoebiasis. 1. Application of amoebic antigen for CF test to ELISA. *Kansenshogaku - Zasshi* 1990; **64**: 699-703.
56. **Shetty N, Nagpal S, Rao PV, Schroder H.** Detection of IgG, IgA, IgM and IgE antibodies in invasive amoebiasis in endemic areas. *Scand J Infect Dis* 1990; **22**:485-91.
57. **Ravdin JL** State of The Art Clinical Article. *Clin Infection Dis* 1995; **20**:1453-66.
58. **Abd-Alla M, El-Hawey Am, Ravdin JI.** Use of an enzyme - linked immunosorbent assay to detect anti - adherence protein antibodies in sera of patients with invasive amebiasis in Cairo. *Egypt. Am J Trop Med Hyg* 1992; **47**: 800-4.
59. **Soong C - JG, Kain KC, Abd - Alla M, Jackson TFHG, Ravdin JI.** A recombinant cysteine - rich section of the *Entamoeba histolytica* galactose - inhibitible lectin is efficacious as a subunit vaccine in the gerbil model of amebic liver abscess. *J Infect Dis* 1995; **171**: 645-51.
60. **Ximenez C, Leyva O, Moran P, Ramos F, Melendro EI, Ramiro M, Martínez MC, Muñoz O, Kreetzschmer R, Arellano J.** *Entamoeba histolytica* antibody response to recent and past invasive events. *Ann Trop Med Parasitol* 1993; **87**: 31-9.
61. **Bravo C, Botero R.** Absceso hepático amebiano. Presentación de 20 casos tratados con Metronidazol. *Antioquia Medica* 1971 ; **21**: 103-8.
62. **Escobar J.** 164 casos de absceso hepático amibiano. *Trib Med* 1961; **1**: 1-10.
63. **Escobar J, Aponte L.** Aspectos quirúrgicos del absceso hepático amibiano. Temas escogidos gastroent Bogotá 1966; X: 153-58.
64. **Escobar J.** Absceso Hepático amibiano. En: Escobar J, Aristizabal G, Murcia A, eds. Urgencias en Cirugía. Bogotá: Editorial Stella; 1977: 405.
65. **Varela E, Hurtado M, Fassler S.** Absceso hepático amebiano y piógeno: pautas de comportamiento diagnóstico y terapéutica. *Acta Med Colomb* 1990; **15**: 264.
66. **Álvarez W, Cuello J, Trout G, González F, Acosta A, Cotes E.** Absceso Hepático Amibiano. *Acta Med Colomb* 1992; **17**: 110.
67. **Pinilla AE.** Absceso hepático. *Trib Med* 1998; **98**: 151-61.
68. **Petri WA, Singh U.** State of the Art Clinical Article. Diagnosis and Management of Amebiasis. *CID* 1999; **29**:1117-24.
69. **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.