https://doi.org/10.69639/arandu.v13i4.2679

Técnicas diagnósticas para diferenciación de especies de *Entamoeba* en muestras fecales humanas

Diagnostic techniques for species differentiation of entamoeba in human fecal samples

Genaro Israel Silva Morocho
gnarosilva00@gmail.com
https://orcid.org/0009-0009-9840-6386
Universidad Nacional de Chimborazo
Ecuador – Riobamba

Alberto Dario Díaz Parra
adiaz@unach.edu.ec
https://orcid.org/0000-0001-8327-6018
Universidad Nacional de Chimborazo
Ecuador – Riobamba

Artículo recibido: 10 septiembre 2026- Aceptado para publicación:16 octubre 2026
Conflictos de intereses: Ninguno que declarar.

.

RESUMEN

La diferenciación exacta de especies del género *Entamoeba* representa un reto diagnóstico clínico debido a que no resulta posible la distinción microscópica de la especie patógena *Entamoeba histolytica* de especies comensales como *Entamoeba dispar, E. moshkovskii y E. bangladeshi.* El objetivo principal de este estudio fue recopilar y analizar la evidencia científica existente sobre las técnicas diagnósticas que se emplean para identificar y diferenciar especies de *Entamoeba* en muestras fecales humanas. Se efectuo una revisión sistemática cualitativa y descriptiva conforme a las pautas PRISMA 2020 mediante la búsqueda en bases como Scopus, PubMed, Web of Science, SciELO y LILACS entre 2020 y 2026, evaluando la calidad con QUADAS-2, 9 estudios primarios. Los resultados mostraron que la microscopía óptica directa y los métodos de concentración tienen baja sensibilidad y nula especificidad para la tipificación de especies, lo que contribuye a la sobreestimación de la prevalencia de amebiasis invasiva. Las pruebas de coproantígenos por ELISA e inmunocromatografía ofrecen rapidez pero presentan desempeño heterogéneo dependiente del estadio parasitario. En contraposición, las técnicas moleculares, fundamentalmente la PCR anidada, la PCR en tiempo real y la secuenciación del gen 18S ARNr, presentaron la mayor sensibilidad y especificidad analítica para discriminar taxones y detectar coinfecciones. Se concluyo que el diagnóstico de forma rutinaria deberá transitar a una complementación de esquemas que contemple el uso de técnicas de concentración como un tamizaje inicial y el uso de plataformas moleculares para la confirmación de especies que evite tratamientos antiparasitarios innecesarios y optimice el manejo clínico.

*Palabras clave***:** amebiasis, diagnóstico diferencial, *Entamoeba*, heces, reacción en cadena de la polimerasa

ABSTRACT

Accurately differentiating species within the *Entamoeba* genus poses a clinical diagnostic challenge because it is impossible to microscopically distinguish the pathogenic species *Entamoeba histolytica* from commensal species such as *Entamoeba dispar, E. moshkovskii, and E. bangladeshi*. The primary objective of this study was to compile and analyze existing scientific evidence regarding diagnostic techniques used to identify and differentiate *Entamoeba* species in human fecal samples. A qualitative, descriptive systematic review was conducted following PRISMA 2020 guidelines; searches were performed in databases including Scopus, PubMed, Web of Science, SciELO, and LILACS (covering the period 2020–2026), and the quality of nine primary studies was evaluated using the QUADAS-2 tool. The results showed that direct light microscopy and concentration methods exhibit low sensitivity and zero specificity for species typing, contributing to an overestimation of the prevalence of invasive amoebiasis. Coproantigen tests based on ELISA and immunochromatography offer rapid results but show variable performance depending on the parasite's life-cycle stage. In contrast, molecular techniques specifically nested PCR, real-time PCR, and 18S rRNA gene sequencing demonstrated the highest analytical sensitivity and specificity for discriminating taxa and detecting coinfections. It is concluded that routine diagnosis should shift toward a complementary approach that utilizes concentration techniques for initial screening and molecular platforms for species confirmation, thereby avoiding unnecessary antiparasitic treatments and optimizing clinical management.

Keywords: amoebiasis, differential diagnosis, *Entamoeba*, feces, polymerase chain reaction

Todo el contenido de la Revista Científica Internacional Arandu UTIC publicado en este sitio está disponible bajo licencia Creative Commons Atribution 4.0 International.

INTRODUCCIÓN

Las infecciones intestinales ocasionadas por protozoarios continúan catalogándose como un problema de salud pública sobre todo en países en vías de desarrollo donde las deficiencias en saneamiento básico, acceso limitado a agua potable y condiciones higiénico-sanitarias inadecuadas favorecen la transmisión de parásitos por vía fecal-oral. Entre estos microorganismos, las especies pertenecientes al género *Entamoeba* poseen una relevancia clínica y epidemiológica significativa debido a su amplia distribución mundial y a la capacidad patógena de algunas de ellas para producir amebiasis intestinal y extraintestinal, enfermedad que continúa asociándose con elevada morbilidad y miles de muertes cada año. No obstante, únicamente *Entamoeba histolytica* constituye una especie claramente patógena, mientras que otras especies como *Entamoeba dispar*, *Entamoeba moshkovskii* y *Entamoeba bangladeshi* presentan características morfológicas prácticamente idénticas durante el examen microscópico, dificultando considerablemente el diagnóstico diferencial y favoreciendo errores diagnósticos que pueden conducir tanto a tratamientos innecesarios como al subdiagnóstico de casos verdaderamente invasivos (Ali & Roy, 2021).

Durante varias décadas la microscopía convencional mediante examen coproparasitario directo y técnicas de concentración ha constituido el método diagnóstico más utilizado en laboratorios clínicos debido a su bajo costo, rapidez y disponibilidad (Basmaciyan et al., 2021). Sin embargo, la sensibilidad de esta metodología depende en gran medida de la experiencia del observador, de la calidad de la muestra y de la carga parasitaria, además de presentar una limitación crítica: la imposibilidad de distinguir morfológicamente las especies patógenas de aquellas consideradas comensales o de baja patogenicidad. Esta limitación posee importantes implicaciones clínicas, epidemiológicas y terapéuticas, ya que el hallazgo microscópico de quistes o trofozoítos compatibles con el complejo *Entamoeba histolytica/dispar* no permite establecer con certeza si el paciente requiere tratamiento antiparasitario específico (Das et al., 2022).

En respuesta a estas limitaciones, durante los últimos años se ha observado un notable desarrollo de técnicas diagnósticas complementarias basadas en la detección de antígenos específicos, anticuerpos, isoenzimas y, especialmente, métodos moleculares dirigidos al reconocimiento de secuencias específicas del ADN parasitario. Estas metodologías han incrementado considerablemente la sensibilidad y especificidad diagnóstica, permitiendo la diferenciación simultánea de especies morfológicamente indistinguibles y proporcionando información de mayor utilidad para la vigilancia epidemiológica, la investigación clínica y la toma de decisiones terapéuticas. Entre ellas, la PCR (reacción en cadena de la polimerasa), la PCR múltiple, la PCR en tiempo real (qPCR) y las técnicas isotérmicas como Loop-Mediated Isothermal Amplification (LAMP) constituyen herramientas diagnósticas que permiten mejorar la diferenciación de especies morfológicamente similares, cada una con diferentes niveles de

sensibilidad, especificidad, disponibilidad y aplicabilidad en el laboratorio clínico (Ali & Roy, 2021; Foo et al., 2020).

La implementación de métodos moleculares ha permitido reconocer además que la epidemiología de la amebiasis es más compleja de lo que tradicionalmente se consideraba. Diversos estudios han evidenciado que una proporción importante de muestras previamente identificadas como *E. histolytica* mediante microscopía corresponden realmente a *E. dispar* o *E. moshkovskii*, especies generalmente no invasivas. En consecuencia, el uso exclusivo de métodos microscópicos puede sobreestimar la prevalencia de amebiasis invasiva y generar un uso innecesario de medicamentos antiparasitarios, con implicaciones tanto económicas como relacionadas con la resistencia farmacológica y la farmacovigilancia (Aghazadeh et al., 2023; Fitri et al., 2022).

Adicionalmente, el desarrollo reciente de ensayos de PCR en tiempo real de tipo tetraplex ha permitido detectar y diferenciar simultáneamente *E. histolytica*, *E. dispar*, *E. moshkovskii* y *E. bangladeshi* en una única reacción, disminuyendo tiempos de procesamiento, riesgo de contaminación y costos operativos, aunque su implementación depende de factores como disponibilidad tecnológica, costos y capacidad instalada de cada laboratorio. Del mismo modo, técnicas como LAMP representan una alternativa prometedora para laboratorios con recursos limitados debido a su elevada sensibilidad, rapidez y menor requerimiento de infraestructura especializada, constituyendo una herramienta potencialmente útil para regiones endémicas donde las pruebas moleculares convencionales aún presentan limitaciones de implementación (Hutagalung et al., 2024).

Por tanto, resulta indispensable realizar una revisión actualizada de la evidencia científica disponible sobre las técnicas diagnósticas empleadas para la identificación y diferenciación de especies del género *Entamoeba* en muestras fecales humanas. La recopilación y análisis de esta información permitirá conocer los principios metodológicos, la utilidad diagnóstica, así como las principales ventajas y limitaciones de cada técnica, proporcionando una visión integral que contribuya al fortalecimiento del diagnóstico en el laboratorio clínico.

Por ello, el presente artículo tiene como objetivo general recopilar información sobre las técnicas diagnósticas para la diferenciación de especies de *Entamoeba* en muestras fecales humanas mediante la revisión de la evidencia científica disponible. Como objetivos específicos se plantea identificar las principales técnicas diagnósticas utilizadas para la detección y diferenciación de las especies del género *Entamoeba*; analizar la importancia del diagnóstico diferencial para evitar falsos positivos y tratamientos innecesarios y examinar las ventajas y desventajas de las técnicas diagnósticas empleadas en el laboratorio clínico para la diferenciación de especies del género *Entamoeba*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se efectuó una revisión sistemática de la literatura científica, del tipo cualitativo, con alcance descriptivo y diseño documental, apoyado en la guía técnica de la declaración Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses (PRISMA 2020). Según lo indicado en la especificación 24 del presente documento, se precisa que la presente revisión no contó con registro formal en PROSPERO ni con un protocolo previo publicado; no obstante, los autores establecieron a priori criterios explícitos para mitigar el sesgo de reporte y garantizar la trazabilidad, el rigor metodológico y la reproducibilidad del proceso (definición de objetivos, criterios de elegibilidad, estrategias de búsqueda y procedimientos de extracción de datos). El recurso de esta metodología permitió establecer un procedimiento estructurado, transparente y reproducible para la identificación, selección, evaluación e inclusión de la evidencia científica referida a las técnicas diagnósticas utilizadas para la diferenciación de especies del género *Entamoeba* a partir de muestras fecales humanas.

La revisión tuvo como objetivo analizar la evidencia científica disponible sobre los métodos convencionales, inmunológicos y moleculares utilizados para la identificación de *Entamoeba histolytica*, *Entamoeba dispar*, *Entamoeba moshkovskii* y *Entamoeba bangladeshi*, considerando su fundamento diagnóstico, sensibilidad, especificidad, ventajas, limitaciones y utilidad clínica en el diagnóstico diferencial de la amebiasis.

Criterios de inclusión

Se incluyeron los estudios que cumplieron los siguientes criterios.

- Artículos de origen, metaanálisis, revisiones sistemáticas y publicaciones en revistas científicas indexadas.
- Artículos de 2020 a 2026. Publicaciones en lengua inglesa y española.
- Estudios de identificación y diferenciación de especies del género *Entamoeba* en muestras fecales de humanos.
- Investigaciones que aborden el diagnóstico de la amebiasis mediante técnicas microscópicas, inmunológicas, moleculares o emergentes.

Criterios de exclusión

Se excluyeron:

- Cartas editoriales, resúmenes de congresos y opiniones de expertos.
- Estudios realizados únicamente en modelos experimentales o animales sin aplicación diagnóstica en humanos.
- Artículos duplicados.
- Estudios sin acceso al texto completo o que no respondieran al objetivo de la revisión.

Evaluación de la calidad metodológica y riesgo de sesgo

La herramienta QUADAS-2 examinó el riesgo de sesgo y aplicabilidad en cuatro dominios clave:

- **Selección de pacientes:** Evalúa si el muestreo fue consecutivo o aleatorio y si se evitaron exclusiones inapropiadas de participantes o muestras.
- **Prueba índice:** Determina si las pruebas valoradas (microscopía, ELISA de coproantígenos, PCR convencional/múltiple/qPCR o LAMP) se realizaron e interpretaron de forma enmascarada (ciega) respecto al estándar de referencia.
- **Estándar de referencia:** Se debe analizar si la referencia utilizada permite una correcta e indiscutible clasificación de la condición diana (especie de *Entamoeba*) y su lectura se hizo a ciegas con respecto a la prueba índice.
- **Flujo y tiempos:** Evalúa el intervalo transcurrido entre la recolección de las muestras y la ejecución de las distintas pruebas, así como la inclusión de la totalidad de las muestras en el análisis final.

Asimismo, se evaluó la aplicabilidad de los primeros tres dominios en relación a la primera de las dos preguntas de investigación. Los dominios fueron clasificados en bajo, alto y riesgo no claro (unclear). El proceso de valoración fue hecho de manera independiente por dos evaluadores, y las diferencias que surgieron se resolvieron por discusión y consentimiento mutuo.

Búsqueda bibliográfica

La búsqueda bibliográfica sistemática fue llevada a cabo en las bases de datos Scopus, PubMed, Web of Science, SciELO y LILACS debido a su gran cobertura de publicación biomédica y de ciencias de la salud. La estrategia de la búsqueda se llevó a cabo entre las publicaciones desde enero de 2020 y julio de 2026, durante el periodo de mayo a julio de 2026. Se emplearon los descriptores controlados Medical Subject Headings (MeSH) y Descriptores en Ciencias de la Salud (DeCS) junto con palabras claves relativas al tema.

Los principales términos utilizados fueron:

- *Entamoeba*
- *Entamoeba histolytica*
- *Entamoeba dispar*
- *Entamoeba moshkovskii*
- *Entamoeba bangladeshi*
- Diagnosis
- Microscopy
- Coproantigen detection
- Polymerase Chain Reaction (PCR)
- Real-time PCR
- Multiplex PCR

- Loop-mediated Isothermal Amplification (LAMP)

Los diversos descriptores se combinaron conjuntamente con operadores booleanos (AND y OR), adaptándose a la sintaxis específica de cada base de datos para optimizar la sensibilidad y especificidad de la búsqueda.

Tabla 1

Estrategias de búsqueda empleadas y estudios recuperados

Base de datos	Cadena de búsqueda	Estudios recuperados*
Scopus	TITLE-ABS-KEY ("*Entamoeba*" AND ("diagnosis" OR microscopy OR PCR OR "real-time PCR" OR LAMP))	124
PubMed	("*Entamoeba*"[MeSH] OR "*Entamoeba histolytica*") AND (Diagnosis OR PCR OR Microscopy OR LAMP)	102
Web of Science	TS=("*Entamoeba*" AND (diagnosis OR PCR OR microscopy OR LAMP))	86
SciELO	*Entamoeba* AND (diagnóstico OR PCR OR microscopía)	32
LILACS	(*Entamoeba*) AND (Diagnóstico OR PCR OR Microscopía)	18
Total		**362**

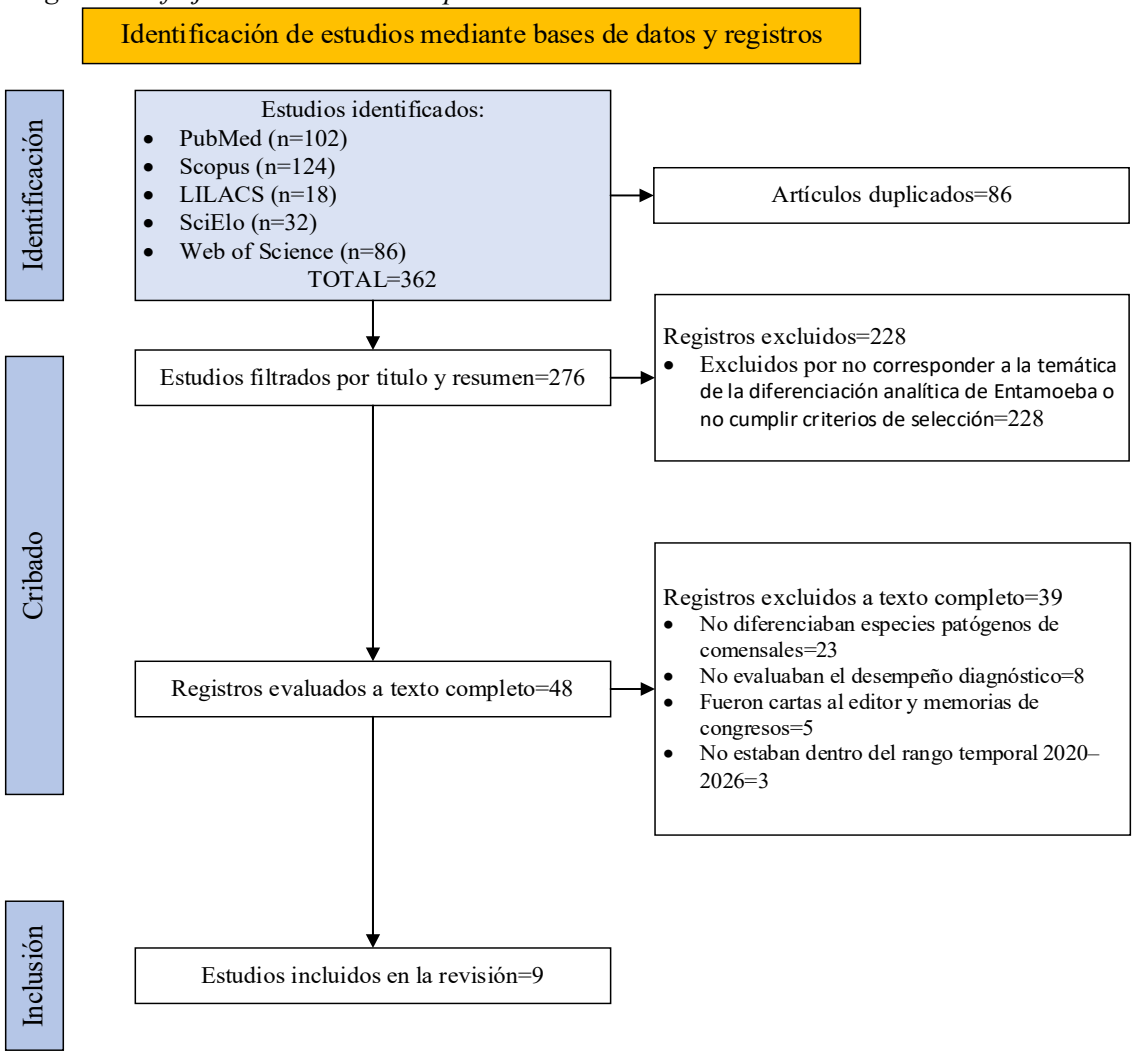
Nota. Elaboración propia a partir de los datos analizados.

La selección de estudios se realizó de acuerdo con el diagrama de flujo PRISMA 2020 (figura 1). Como resultado del análisis metódico se extrajo un total de 362 antecedentes en las cinco bases de datos consultadas. Tras la eliminación de 86 artículos duplicados, se procedió al cribado de 276 registros a través de títulos y resúmenes, excluyéndose 228 por no corresponder a la temática de la diferenciación analítica de *Entamoeba* o no cumplir criterios de selección.

Se llevó a cabo la lectura a texto completo de los 48 artículos que pudieron ser relevantes, como resultado se descartaron 39 de ellos. Sería necesario poner de relieve las razones concretas: 23 de ellos no diferenciaban especies patógenas de especies comensales; 8 no realizaban evaluaciones del rendimiento diagnóstico; 5 fueron cartas al editor o memorias de congreso; 3 no se encontraban dentro del rango temporal 2020–2026. Por tanto, 9 trabajos cumplieron adecuadamente todos los criterios y fueron finalmente tenidos en cuenta para la síntesis cualitativa de la revisión.

Figura 1

Diagrama de flujo PRISMA 2020 del proceso de selección de los estudios incluidos



Nota. Elaboración propia a partir de los datos analizados.

La información de los artículos seleccionados fue organizada mediante una matriz de extracción de datos diseñada por los investigadores, en la que se registraron variables como autor, año de publicación, país de origen, diseño metodológico, técnica diagnóstica evaluada, tipo de muestra, sensibilidad, especificidad, principales hallazgos y conclusiones. Posteriormente, la evidencia fue sintetizada mediante un análisis descriptivo y cualitativo, permitiendo comparar el desempeño diagnóstico de la microscopía convencional, las pruebas de detección de antígenos, la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) en sus diferentes modalidades y la amplificación isotérmica mediada por bucles (LAMP), así como identificar las principales tendencias y avances reportados en la literatura científica reciente.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Tabla 2

Características y principales hallazgos de los estudios primarios incluidos sobre diferenciación diagnóstica de Entamoeba

Nº	Autor	Características de la población	Diseño del estudio	Intervención realizada	Resultados	Conclusiones
1	Ceballos et al. (2025)	449 participantes inscritos (390 muestras fecales obtenidas) de Coyaima (Tolima, Colombia), zona rural andina con población mayoritariamente indígena. Se analizaron 113 muestras microscópicamente positivas para el complejo.	Estudio transversal, epidemiológico y de desarrollo/optimización metodológica (muestreo aleatorio simple).	Evaluación de 3 protocolos de extracción de ADN (estándar, lisis térmica y tratamiento con EDTA). Optimización y aplicación de PCR anidada convencional dirigida al gen 18S ARNr frente a PCR múltiple.	El método con EDTA y la PCR anidada lograron la mayor resolución y un límite de detección de 160 pg de ADN de *E. histolytica*. En 383 muestras analizadas: prevalencia de *E. dispar* 24,54% (94), *E. histolytica* 1,04% (4), coinfección mixta 0,78% (3); no se detectó *E. moshkovskii*.	La PCR anidada optimizada supera las reacciones cruzadas de la PCR múltiple y las limitaciones de la microscopía. Confirma el predominio casi absoluto del comensal *E. dispar* sobre *E. histolytica* en la región.
2	Mulinge et al. (2021)	895 pacientes de todas las edades (rango de 2 semanas a 83 años; mayoría de 21 a 30 años) con diarrea o malestar abdominal en el asentamiento informal de Mukuru (Nairobi, Kenia).	Estudio transversal descriptivo en dos centros de salud (Reuben Centre y Medical Missionaries of Mary).	Examen microscópico directo y de concentración formol-éter. En 114 muestras microscópicamente positivas, extracción de ADN y PCR anidada para el gen 18S ARNr de *Entamoeba* spp., *E. histolytica*, *E. dispar*, *E. moshkovskii*, *E. coli* y *E. hartmanni*.	Microscopía detectó *Entamoeba* spp. en 12,7% (114/895). Por PCR anidada: prevalencia de *E. dispar* 8,2% (73), *E. histolytica* 7,5% (67), *E. coli* 55,3% (63/114) y *E. hartmanni* 32,5% (37/114); 0% *E. moshkovskii*. De las muestras negativas para *E. histolytica/E. dispar*, el 18,4% contenía *E. coli* o *E. hartmanni*.	La microscopía sobrestima *E. histolytica* debido al solapamiento morfológico con especies comensales. Se requieren herramientas moleculares para evitar tratamientos antiamebianos

						innecesarios y prevenir resistencias.
3	Agarwal et al. (2025)	110 niños de 6 meses a 5 años con diarrea atendidos en AIIMS, Gorakhpur (Uttar Pradesh, India); 60% mujeres, 77% urbanos.	Estudio transversal hospitalario comparativo de métodos diagnósticos.	Comparación del rendimiento diagnóstico de un examen directo en fresco (solución salina y Lugol) en comparación con dos técnicas de concentración coproparasitológica: formol-éter (FEC) y formol-acetato de etilo (FAC).	FAC detectó parásitos en 75% (82/110), FEC en 62% (68/110) y montaje en fresco en 41% (45/110). Para quistes de *E. histolytica*/*dispar*: FAC detectó 20 casos (24%), FEC 18 casos (26%) y montaje directo 13 casos (31%). Para *E. coli*: FAC 8 (10%), FEC 8 (12%) y montaje directo 6 (14%).	La técnica FAC presenta mayor sensibilidad de recuperación parasitaria frente a FEC y montaje directo, sin alterar la morfología quística. Representa una alternativa más segura, costo-efectiva y factible en entornos de bajos recursos.
4	Al-Dabbagh et al. (2024)	300 pacientes humanos (<10 a >40 años) de tres hospitales y 100 bovinos de diferentes zonas de Bagdad (Irak). Submuestra analizada: 100 humanos y 100 bovinos.	Estudio transversal comparativo analítico y molecular (humano vs. animal).	Diagnóstico microscópico y PCR convencional del gen 18S ARNr (fragmento de 590 pb). Secuenciación y análisis filogenético por alineamiento BLAST y árboles UPGMA en MEGA 6.0.	Tasa de infección por PCR en humanos: 38% (38/100) y en bovinos: 58% (58/100). Secuenciación en humanos: 8 aislados correspondieron a *E. histolytica* (99,09–100% homología) y 2 a *E. dispar* (100% homología). Secuenciación en bovinos: los 10 aislados correspondieron a *E. histolytica* (99,09–100% homología).	Elevada capacidad de susceptible infección de bovinos por E. histolytica, que bien puede sugerir un importante rol zoonótico como reservorio y riesgo de salud pública. Secuenciación muy importante para confirmar especies.
5	Di Pietra et al. (2025)	355 muestras de heces humanas (230 frescas y 125 conservadas en medio Para-Pak) procedentes de 18	Estudio multicéntrico comparativo y de validación diagnóstica.	Comparación de la microscopía tradicional frente a dos ensayos de RT-PCR: panel comercial multiplex tándem (AusDiagnostics) y	Microscopía detectó complejo *E. histolytica/dispar* en 31 muestras. El kit comercial detectó *E. histolytica* en 2 muestras (carece de diana para *E. dispar*). La RT-PCR in-house discriminó *E.*	Las técnicas moleculares de RT-PCR son fundamentales para distinguir E. histolytica de especies

		laboratorios clínicos de Italia.		ensayo RT-PCR in-house dirigido al 18S ARNr. Extracción automatizada con MagNA Pure 96.	*histolytica* en 4 muestras y *E. dispar* en 14 muestras (12 positivas y 2 negativas por microscopía). Las muestras conservadas mostraron mejor rendimiento analítico que las frescas.	no patógenas, así como para superar la deficiencia de la microscopía convencional. El uso de medios de conservación ayuda a prevenir la degradación del ADN del parásito.
6	Al-Zubadi et al. (2021)	100 pacientes con enfermedad diarreica (60 hombres, 40 mujeres; edades de 8 a 55 años) en la provincia de Babilonia (Irak).	Estudio descriptivo, analítico y transversal.	Examen microscópico directo con solución salina y Lugol frente a PCR convencional dirigida al fragmento génico específico *EhP1* (135 pb) para *E. histolytica*.	La microscopía reportó positividad morfológica de *E. histolytica* en el 70% (70/100) de los pacientes. La PCR convencional confirmó la infección en solo 24 de esos 70 casos positivos (34,3% de confirmación molecular).	El diagnóstico morfológico por microscopía sobrestima de forma crítica la prevalencia de la amebiasis al no distinguir especies similares. La PCR dirigida a genes específicos como *EhP1* ofrece una precisión diagnóstica superior.
7	Servián et al. (2024)	493 individuos (edades de 1 a 64 años) en condiciones socioeconómicas vulnerables de Buenos Aires (n=210) y Misiones (n=283), Argentina.	Estudio transversal epidemiológico y de caracterización molecular.	Sedimentación formol-acetato de etilo y flotación de Willis mediante microscopía óptica. PCR diagnóstica para E. histolytica y E. dispar (gen SSU ARNr), secuenciación, máxima verosimilitud y reconstrucción	Prevalencia coproparasitológica global de *Entamoeba* spp.: 12,4% (Buenos Aires 14,8%, Misiones 10,6%). Especies identificadas: *E. coli* 10,7% (53), *E. dispar* 2,2% (11) y *E. histolytica* 0,2% (1 caso en Buenos Aires confirmado molecularmente). Se secuenciaron aislados de *E. coli* (subtipo ST1) y *E. dispar*.	La combinación de microscopía y PCR es la estrategia más costo-efectiva. Se confirmó el predominio de *E. coli* y *E. dispar*, reportando el primer caso molecular de *E. histolytica* en Buenos

				filogenética con Inferencia Bayesiana.		Aires y demostrando concordancia entre morfología y clados filogenéticos.
8	Mohammed & Hamad (2025)	106 niños menores de 6 años hospitalizados con diarrea en el Hospital Baiji (Tikrit, Irak).	Estudio descriptivo, analítico y observacional.	Extracción de ADN fecal; primera PCR genérica para el gen 18S ARNr (~900 pb) de *Entamoeba* spp.; PCR múltiple anidada para *E. histolytica* (439 pb), *E. dispar* (174 pb) y *E. moshkovskii* (553 pb); secuenciación parcial y filogenia con MEGA 6.	La PCR primaria detectó *Entamoeba* spp. en 3,7% (4/106). La PCR múltiple anidada y secuenciación identificaron 1 muestra positiva para *E. histolytica* (0,9%) y 3 muestras con *E. coli* (2,8%); no se detectaron *E. dispar* ni *E. moshkovskii*.	Los niños están expuestos a especies patógenas y no patógenas. Se resalta la necesidad de métodos moleculares avanzados y secuenciación para evitar diagnósticos erróneos y guiar el tratamiento médico oportuno.
9	Fakhruldin et al. (2024)	68 pacientes con diarrea atendidos en tres hospitales de Amán (Jordania).	Estudio transversal comparativo de evaluación diagnóstica.	Comparación de cuatro métodos diagnósticos en heces frescas: microscopía óptica directa (solución salina y Lugol), detección de coproantígenos por ELISA (*TechLab E. histolytica II*), inmunocromatografía rápida (*Operon Simple Entamoeba* en 29 muestras) y PCR anidada dirigida al gen 18S ARNr para *E. histolytica* (amplicón de 439 pb).	La microscopía detectó quistes/trofozoítos en un 76,5% (52/68); la PCR anidada detectó E. histolytica en un 29,4% (20/68); el estudio con kit de ELISA detectó antígenos en un 10,3% (7/68); la inmunocromatografía detectó positividad en un 48,3% (14/29). Se puede constatar diferencias importantes, es decir, 39 muestras consideradas positivas por microscopía fueron negativas por PCR y 7 muestras negativas por microscopía fueron positivas por PCR.	La microscopía carece de especificidad para discriminar especies patógenas de no patógenas y sobrediagnostica la amebiasis. El ELISA comercial mostró baja sensibilidad (poco útil para tamizaje rutinario), mientras que la inmunocromatografía rápida y la PCR resultaron más específicas, recomendándose una

						combinación metodológica estandarizada para el diagnóstico confirmatorio.

Nota. Elaboración propia a partir de los datos analizados.

DISCUSIÓN

La presente revisión analizó la eficiencia diagnóstica de los métodos coproparasitológicos tradicionales frente a las herramientas moleculares e inmunológicas en la identificación y diferenciación del complejo *Entamoeba* histolytica/dispar/moshkovskii y otras especies comensales en muestras fecales humanas. Se halló que la utilización exclusiva de microscopía óptica convencional infravalora de manera crítica la prevalencia de amebiasis invasiva, al no lograr diferenciar entre especies que son morfológicamente idénticas o solapadas. Por su parte, las metodologías de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y secuenciación génica son las más sensibles y específicas para la identificación ecológica. Además, esto evitará que se tengan que aplicar tratamientos farmacológicos que no resulten útiles para los grupos en cuestión.

De acuerdo al desempeño de los métodos microscópicos y de concentración, se constató que el montaje húmedo directo convencional en solución salina o en Lugol tiene baja sensibilidad diagnóstica y nula capacidad resolutiva para el patógeno *E. histolytica* de especies comensales como *E. dispar, E. moshkovskii, E. coli o E. hartmanni.* Agarwal et al. (2025) han indicado que las técnicas de concentración fecal aumentan significativamente la tasa de recuperación de quistes en comparación con el examen directo en fresco (75 % con formol-acetato de etilo [FAC] y 62 % con formol-éter [FEC] vs. 41 % en fresco). Los autores sugieren el método FAC como una opción barata y segura para centros con escasa infraestructura. En consonancia, Al-Zubadi et al. (2021) reportaron una evidencia inicial de *Entamoeba* del 70% en microscopía reducida posteriormente a un 34,3% de confirmación por PCR. Fakhruldin et al. (2024) halló un 76,5% de detección microscopica confrontado a solo 29,4% confirmado por PCR anidada.

Sin embargo, Mulinge et al. (2021) han cuestionado estos resultados diagnósticos microscópicos, ya que, de las muestras inicialmente sospechosas de pertenecer al complejo amebiano por microscopía, el 18,4 % de las muestras negativas para *E. histolytica/E. dispar* correspondían en realidad a *E. coli o E. hartmanni*. Se demostró que la microscopía rutinaria no sólo confunde especies gemelas, sino que también se equivoca ante similitudes morfométricas de otros protozoos.

En cuanto a las plataformas moleculares de amplificación de ácidos nucleicos, la PCR dirigida al gen ribosomal (18S/SSU ARNr) o a marcadores diana específicos es el estándar más robusto para la discriminación taxonómica de aislamientos fecales según se determinó en la presente revisión. En el trabajo de Ceballos et al. (2025), se mejoró la PCR anidada que tuvo como limite de detección analítico 160 picogramos y no presentó reactividad cruzada con otros enteroparásitos. Se optimizó para sortear las limitaciones de inespecificidad de PCR múltiple directa. En la misma línea, Al-Zubadi et al (2021) realizaron una confirmación de *E. coli* mediante PCR monoespecífica convencional dirigida al fragmento génico *EhP1. histolytica*, reduciendo drásticamente los falsos positivos microscópicos

Por otro lado, en cuanto a la caracterización genética, la secuenciación y los hallazgos epidemiológicos de las intervenciones diagnósticas, se identificó un claro predominio de la especie comensal *E. dispar* sobre *E. histolytica* en poblaciones humanas. En Colombia, Ceballos et al. (2025) reportaron una prevalencia de *E. dispar* del 24,54% frente a solo 1,04% de *E. histolytica*. De manera similar, Servián et al. (2024) en Argentina corroboraron una presencia preponderante de *E. coli* (10,7%) y *E. dispar* (2,2%), documentando además el primer caso molecular autóctono confirmado de *E. histolytica* (0,2%) en Buenos Aires.

Asimismo, Al-Dabbagh et al. (2024), mediante análisis filogenético con árboles UPGMA, demostraron que el 58 % de las muestras bovinas analizadas en Bagdad contenían aislamientos de *Entamoeba histolytica,* presentando una homología del 99,09 % al 100 % con secuencias humanas de *E. histolytica*, lo que sugiere que el ganado bovino actúa como un reservorio zoonótico relevante. Además, Fakhruldin et al. (2024) evaluaron pruebas inmunoenzimáticas de antígeno fecal. Los autores observaron un rendimiento desigual. Por otro lado, al evaluar el kit ELISA comercial (TechLab E. histolytica II), que reportó una positividad de apenas 10,3 %, se concluye que la falta de sensibilidad de ciertas pruebas antigénicas frente a los métodos moleculares genera marcadas discrepancias en el diagnóstico clínico de rutina.

En el contexto del manejo clínico y la vigilancia epidemiológica de la amebiasis, debe señalarse que, en lugar de depender exclusivamente del informe morfológico, es indispensable implementar algoritmos estandarizados. Los programas de diagnóstico que se implementan en hospitales y centros de atención primaria de la salud deben recomendar que los métodos de concentración (por ejemplo, formol-acetato de etilo) sean utilizados como tamiz inicial; y derivar positivos al complejo amebiano a plataformas moleculares (PCR anidada o RT-PCR) para confirmación de especie. La distinción entre portadores de las especies comensales y de *Entamoeba histolytica* debe evitar la prescripción indiscriminada de amebicidas (metronidazol, sobre todo), pues aunque esta última no es dañina, puede ejercer presión selectiva para la aparición de resistencias a fármacos y del costo innecesario al sistema de salud pública.

A lo largo de la investigación, se observó la variabilidad metodológica de todos los estudios evaluados, desde ensayos de hibridación reversa y RT-PCR automatizada hasta montajes coproparasitológicos convencionales así como la falta de un estándar de referencia. Además, la evaluación de muestras fecales únicas en diferentes estudios limita la precisión de los estimativos de prevalencia, dado que los quistes se excretan de forma intermitente, además, se presentan sustancias inhibidoras de la polimerasa en heces que dificultan una buena extracción del ADN del protozoario.

CONCLUSIONES

En conclusión, tras la revisión sistemática de la evidencia científica disponible, la visualización óptica convencional mediante examen coproparasitario directo y técnicas de

concentración sigue siendo la prueba de tamizaje más accesible y económica que puede realizarse en el laboratorio clínico, aunque tiene la limitación diagnóstica de no poder diferenciar entre otras especies morfológicamente indistinguibles como *Entamoeba histolytica, Entamoeba dispar, Entamoeba moshkovskii* y *Entamoeba bangladeshi* y que suele solaparse muy frecuentemente con comensales como *Entamoeba coli* y *Entamoeba hartmanni.* La carencia de especificidad intrínseca da lugar a una sobreestimación sistemática de la prevalencia de amebiasis invasiva en las poblaciones humanas, así como a la prescripción prácticamente rutinaria e injustificada de fármacos antiparasitarios en individuos infectados por especies inofensivas, lo que incrementa el gasto sanitario e induce el riesgo de resistencias farmacológicas.

A diferencia de las anteriores, las metodologías basadas en la amplificación de ácidos nucleicos (NAAT), más específicamente, la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) en sus modalidades convencional, anidada y en tiempo real (qPCR), así como la secuenciación del gen 18S/SSU ARNr, son consideradas el estándar de mayor sensibilidad, especificidad y poder resolutivo que se puede aplicar a la especie y genotipo específico del género *Entamoeba*. Además, si bien los ensayos ELISA y los tests inmunocromatográficos de coproantígenos presentan rapidez diagnóstica, con frecuencia su desempeño resulta ser heterogéneo y también es susceptible a variaciones en función del estadio evolutivo del parásito o de la concentración del analito. El diagnóstico por el complejo *Entamoeba* se puede realizar por medio de diferentes técnicas. Sin embargo, en esta sección se propone que el diagnóstico ideal en salud pública y en la práctica clínica conste de un esquema escalonado complementario: usar como filtro inicial metodologías microscópicas de concentración (formol-acetato de etilo) y derivar muestras positivas para el complejo a plataformas moleculares confirmatorias, para un diagnóstico certero, un tratamiento clínico oportuno y una vigilancia epidemiológica fidedigna.

REFERENCIAS

Agarwal, K., Mishra, S., Singh, P., & Sharma, R. (2025). Evaluation of different concentration techniques for microscopic diagnosis of protozoa and helminths in stool samples of children. *J Family Med Prim Care , 14*(1), 693-698. https://doi.org/10.4103/jfmpc.jfmpc_1510_24

Aghazadeh, M., Jones, M., Perera, S., Nair, J., Tan, L., Clark, B., & Millar, D. (2023). The application of 3base™ technology to diagnose eight of the most clinically important gastrointestinal protozoan infections. *International Journal of Molecular Sciences, 24*(17), 1-13. https://doi.org/10.3390/ijms241713387

Al-Dabbagh, S., Alseady, H., & Alhadad, E. (2024). Molecular identification of Entamoeba spp. in humans and cattle in Baghdad, Iraq. *Veterinary World, 17*(6), 1348-1355. http://www.veterinaryworld.org/Vol.17/June-2024/20.pdf

Ali, I., & Roy, S. (2021). A real-time PCR assay for simultaneous detection and differentiation of four common Entamoeba species that infect humans. *Journal of Clinical Microbiology, 59*(1), 10-1128. https://doi.org/10.1128/jcm.01986-20

Al-Zubadi, W., Al-Masoudi, H., & Abdul, L. (2021). Molecular detection of Entamoeba histolytica in Iraqi Populations. *Teikyo, 44*(5), 1-9.

Basmaciyan, L., François, A., Vincent, A., Valot, S., Bonnin, A., Costa, D., & Dalle, F. (2021). Commercial simplex and multiplex PCR assays for the detection of intestinal parasites Giardia intestinalis, Entamoeba spp., and Cryptosporidium spp. *Microorganisms, 9*(11), 1-13. https://doi.org/10.3390/microorganisms9112325

Ceballos, J., Jurado, M., Arévalo, A., & Castillo, S. (2025). Molecular differentiation by PCR of the Entamoeba dispar/histolytica/moshkovskii complex in the population of Coyaima, Tolima, Colombia. *medRxiv , 1*(1), 1-16. https://doi.org/10.64898/2025.12.15.25342303

Das, S., Rajkumari, N., Gunalan, A., Rajavelu, D., & Olickal, J. (2022). A comparative analysis of microscopy, coproantigen serology, and nested multiplex PCR in the laboratory diagnosis of Entamoeba histolytica infection. *Journal of Laboratory Physicians, 14*(2), 125-131. https://doi.org/10.1055/s-0041-1732488

Di Pietra, G., Gargiulo, R., & Besutti, V. (2025). Comparative analysis of commercial and "In-House" molecular tests for the detection of intestinal protozoa in stool samples. *Parasites & Vectors, 18*(320), 1-11. https://doi.org/10.1186/s13071-025-06879-9

Fakhruldin, A., Mosleh, I., & Bdour, S. (2024). Detection of Entamoeba Spp. in Jordanian Clinical Samples by Traditional and Molecular Methods. *Iraq Med J, 8*(4), 79-85. https://doi.org/10.22317/imj.v8i4.1296

Fitri, L., Candradikusuma, D., Setia, Y., Wibawa, P., Iskandar, A., Winaris, N., & Pawestri, A. (2022). Diagnostic methods of common intestinal protozoa: current and future

immunological and molecular methods. *Tropical Medicine and Infectious Disease, 7*(10). https://doi.org/10.3390/tropicalmed7100253

Foo, P., Nurul, A., Muhamad, N., Ahamad, M., Mohamed, M., Yean Yean, C., & Lim, B. (2020). Loop-mediated isothermal amplification (LAMP) reaction as viable PCR substitute for diagnostic applications: a comparative analysis study of LAMP, conventional PCR, nested PCR (nPCR) and real-time PCR (qPCR) based on Entamoeba histolytica DNA derived from. *BMC biotechnology, 20*(34), 1-15. https://doi.org/10.1186/s12896-020-00629-8

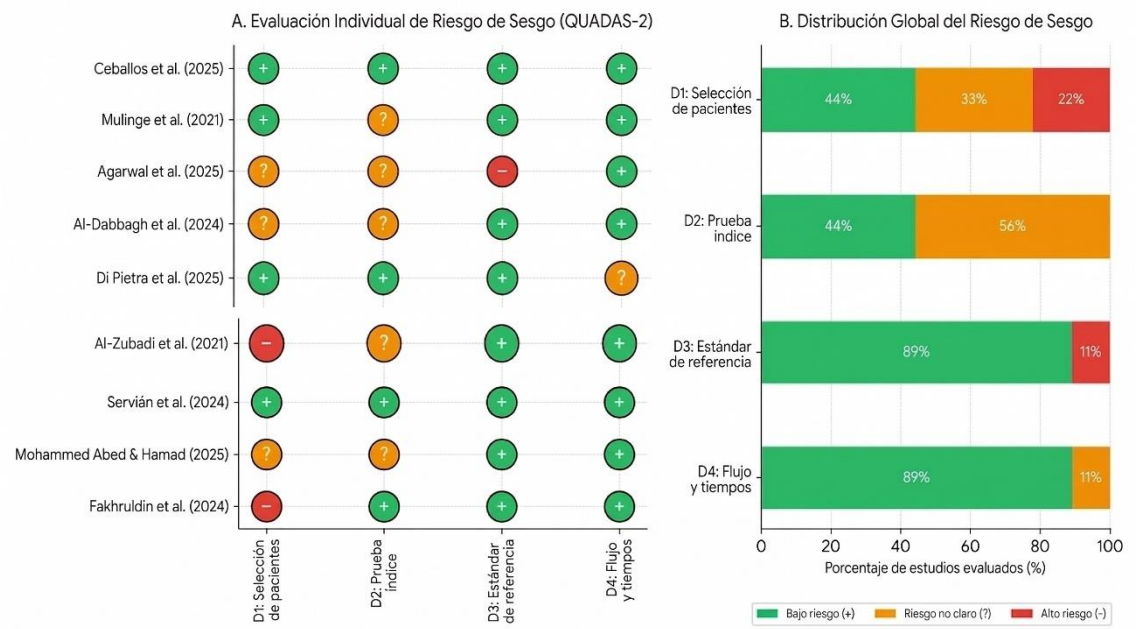
Hutagalung, S., Rattaprasert, P., Promptmas, C., Moonsom, S., Yongkiettrakul, S., Thima, K., & Chavalitshewinkoon, P. (2024). Development of nucleic acid lateral flow immunoassay for molecular detection of Entamoeba moshkovskii and Entamoeba dispar in stool samples. *Scientific Reports, 14*(1), 1-12. https://doi.org/10.1038/s41598-024-57332-3

Mohammed, Z., & Hamad, R. (2025). Identification of Entamoeba Species in Diarrheal Samples Using Sequence Analysis and Nested Multiplex PCR. *Iran J Parasitol, 20*(2), 253-260. https://doi.org/10.18502/ijpa.v20i2.19032

Mulinge, E., Mbae, C., Ngugi, B., Irungu, T., Matey, E., & Kariuki, S. (2021). Entamoeba species infection in patients seeking treatment for diarrhea and abdominal discomfort in Mukuru informalsettlement in Nairobi, Kenya. *Food and Waterborne Parasitology, 23*(1), 1-9. https://doi.org/10.1016/j.fawpar.2021.e00122

Servián, A., Zonta, M., & Navone, G. (2024). Differential diagnosis of human Entamoeba infections: Morphological and molecular characterization of new isolates in Argentina. *Revista Argentina de Microbiología , 56*(1), 16-24. https://doi.org/10.1016/j.ram.2023.05.003

ANEXOS



La calidad metodológica de los 9 estudios primarios incluidos fue evaluada mediante la herramienta QUADAS-2 a través de cuatro dominios clave:

- **Selección de pacientes (D1):** El 44% (n=4) de las investigaciones (Ceballos et al., 2025; Mulinge et al., 2021; Di Pietra et al., 2025; Servián et al., 2024) presentó un bajo riesgo de sesgo al emplear muestreos probabilísticos aleatorios o reclutamiento consecutivo de pacientes sintomáticos sin exclusiones arbitrarias. El 33% (n=3) exhibió riesgo no claro por reclutamiento por conveniencia hospitalaria o muestras de desarrollo preliminar (Agarwal et al., 2025; Al-Dabbagh et al., 2024; Mohammed & Hamad, 2025). Por su parte, el 22% (n=2) (Al-Zubadi et al., 2021; Fakhruldin et al., 2024) fue calificado con alto riesgo de sesgo, debido a diseños tipo caso-control que preseleccionaron únicamente muestras con microscopía previa positiva o diarrea manifiesta, lo que sobrestima la sensibilidad analítica de las pruebas índice.
- **Prueba índice (D2):** El 44% (n=4) de los estudios presentó bajo riesgo, al describir protocolos estandarizados e interpretación independiente (ciega) respecto al estándar de referencia (Ceballos et al., 2025; Di Pietra et al., 2025; Servián et al., 2024; Fakhruldin et al., 2024). En el 56% restante (n=5), el riesgo fue catalogado como no claro debido a la falta de reporte explícito sobre el cegamiento del operador al evaluar los frotis microscópicos o ampliaciones frente a las pruebas confirmatorias.
- **Estándar de referencia (D3):** El 89% (n=8) de los estudios presentó un bajo riesgo de sesgo, ya que emplearon métodos moleculares robustos (PCR anidada, qPCR de blancos específicos o secuenciación y filogenia del gen 18S/SSU ARNr) como estándar de clasificación inequívoca de especies. Únicamente el 11% (n=1), correspondiente al estudio de Agarwal et al. (2025), evidenció un alto riesgo de sesgo para el objetivo de

diferenciación específica, dado que contrastó técnicas de concentración fecal (FAC y FEC) contra frotis directo sin utilizar confirmación molecular, resultando incapaz de clasificar de forma certera la condición diana (*E. histolytica* vs. *E. dispar*).

- **Flujo y tiempos (D4):** El 89% (n=8) demostró bajo riesgo de sesgo, confirmando que la totalidad de las muestras recolectadas recibieron la prueba de referencia y fueron incluidas en el análisis cuantitativo final sin pérdidas significativas ni intervalos prolongados que degradaran el ADN. El 11% (n=1), representado por el estudio de Di Pietra et al. (2025), se clasificó como riesgo no claro debido a la heterogeneidad de preservación entre muestras frescas y conservadas en medio Para-Pak procedentes de 18 centros clínicos diferentes.