



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán

ESTUDIO COMPARATIVO DE LA EFECTIVIDAD ENTRE ETOFAMIDA Y METRONIDAZOL EN EL TRATAMIENTO DE SERPIENTES CON AMIBIASIS INTESTINAL

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

P R E S E N T A :

JOSÉ ERIC ROMERO GONZÁLEZ

Asesor: M en C. Gerardo López Islas



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central

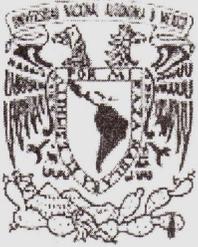


UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN
 UNIDAD DE ADMINISTRACION ESCOLAR
 DEPARTAMENTO DE EXAMENES PROFESIONALES

U. N. A. M.
 FACULTAD DE ESTUDIOS
 SUPERIORES-CUAUTITLAN

ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS



DRA. SUEMI RODRIGUEZ ROMO
 DIRECTORA DE LA FES CUAUTITLAN
 PRESENTE

ATN:L.A. ARACELI HERRERA HERNANDEZ
 Jefa del Departamento de Exámenes
 Profesionales de la FES Cuautitlán.

Con base en el Art. 28 del Reglamento General de Exámenes, nos permitimos comunicar a usted que revisamos la Tesis:

Estudio Comparativo de la efectividad entre etofamida y
metronidazol en el tratamiento de serpientes con amibiasis
intestinal

Que presenta el pasante José Eric Romero González

Con número de cuenta: 405097481 para obtener el título de:
Médico Veterinario Zootecnista

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

ATENTAMENTE
 "POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"
 Cuautitlan Izcalli, Mex. a 10 de Enero de 2011.

PRESIDENTE	Dr. Fernando Alba Hurtado	
VOCAL	MVZ. Rodolfo Córdoba Ponce	
SECRETARIO	MVZ. Gerardo López Islas	
1er SUPLENTE	MC. Tiziano Santos Morín	
2º SUPLENTE	MC. Ismael Hernández Ávalos	

“With every mistake we must surely be learning”

George Harrison (1943-2001)

DEDICATORIAS

No soy bueno con las palabras, pero deseo corresponder de alguna manera a todo lo que me han dado las personas más importantes en mi vida, es decir mis padres, por eso quiero dedicar esta tesis a mi padre por su buen ejemplo, su inmejorable disposición para apoyarme en cualquier momento y por su esfuerzo que fue el combustible que me impulsó a obtener este logro, y a mi madre por su apoyo, cariño, interés, dedicación y por estar conmigo invariablemente.

A la memoria de mi tío Arturo y mi tía Chole, que fueron grandes ejemplos de nobleza en mi vida.

A todos los animalitos con los que he compartido mi vida desde niño, ya que me incitaron a seguir una vocación por la Medicina Veterinaria.

AGRADECIMIENTOS

A la UNAM, por la gran oportunidad de estudiar lo que me agrada.

Al personal del Laboratorio de Herpetología de la Facultad de Estudios Superiores Iztacala, mejor conocido como "Vivario", por posibilitar la materialización de este proyecto, así como a mis compañeros del servicio, veterinarios y biólogos con los que tuve varias anécdotas en común y una cordial relación.

Al MVZ. Eduardo Cid Méndez, por su asesoría y colaboración con este trabajo, pero sobre todo por sus útiles enseñanzas en el interesante mundo de la Herpetología Veterinaria.

Al MC. Gerardo López Islas, por su amable apoyo para poder hacer esta Tesis y a los miembros del jurado, por emitir sus opiniones y observaciones, que condujeron a mejorar el contenido de mi trabajo.

Al Laboratorio de Parasitología Veterinaria de La Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, por las facilidades otorgadas para realizar este trabajo.

A mi familia, a mis padres por el amor y apoyo que nos han dado y a mis hermanas por la memorable infancia que compartimos.

A mis amigos, Ricardo "Pineda", Ariadna "Poli", Abraham, Jazmín "La señora", Orion "Mumín", Jorge "Chapitas", Sandra "Guizmo" y Karen "Condesa" por su genuina amistad y por todas las risas, enojos, tristezas y buenos momentos que he vivido a su lado. También a mi amiga Adriana por su buen sentido del humor, que me ayudo a alejar el estrés en muchas ocasiones.

A los compañeros y profesores con los que conviví a lo largo de cinco años, cuya influencia hoy forma parte de lo que soy.

A la persona que me dijo: "Las cosas no siempre salen como las planeamos".

A las serpientes que participaron en este estudio y a todos los bichos que han contribuido en mi formación profesional.

ÍNDICE

	Página
Resumen	1
I. Introducción	2
1. Amibiasis intestinal en reptiles	3
1.1. Agente etiológico	3
1.1.1. Clasificación Taxonómica	4
1.1.2. Características Morfológicas	7
1.1.2.1. Trofozoíto	7
1.1.2.2. Quiste	8
1.1.3. Ciclo de vida	8
1.1.3.1. Desenquistamiento	10
1.1.3.2. Desarrollo metaquístico	10
1.1.3.3. Enquistamiento	12
1.2. Especies afectadas	12
1.2.1. Incidencia de la enfermedad en los distintos ordenes de reptiles	13
1.3. Epizootiología	15
1.3.1. Transmisión	16
1.3.2. Factores predisponentes	17
1.4. Patogenia	18
1.5. Cuadro clínico	19
1.6. Lesiones	20
1.6.1. Lesiones macroscópicas	21
1.6.2. Lesiones microscópicas	23
1.7. Diagnóstico	26
1.7.1. Diagnóstico parasitológico	26
1.7.2. Diagnóstico serológico	28
1.7.3. Diagnóstico molecular	29
1.7.4. Técnicas Histológicas	30
1.7.5. Diagnóstico Post-mortem	30
1.7.6. Diagnóstico Diferencial	31
1.7.7. Diagnóstico Definitivo	31

1.8. Prevención y Control	32
1.9. Tratamiento	35
1.9.1. Tratamiento antiamebiano	35
1.9.2. Terapia de sostén	40
1.9.3. Elevación de la temperatura	40
1.10. Salud Pública	41
2. Propiedades farmacológicas del metronidazol y la etofamida	
2.1. Metronidazol	42
2.2. Etofamida	44
II. Justificación	46
III. Objetivos	47
IV. Hipótesis	47
V. Materiales y Métodos	48
VI. Resultados	52
VII. Discusión	59
VIII. Conclusiones	62
IX. Bibliografía	63
APÉNDICE A. Dosificación de fármacos en reptiles por ajuste alométrico.	68
APÉNDICE B. Fármacos antiamebianos usados en reptiles para el tratamiento de amibiasis intestinal	74

“ESTUDIO COMPARATIVO DE LA EFECTIVIDAD ENTRE ETOFAMIDA Y METRONIDAZOL EN EL TRATAMIENTO DE SERPIENTES CON AMIBIASIS INTESTINAL”

RESUMEN

La amibiasis intestinal es la enfermedad infecciosa más común dentro de las colecciones de reptiles, teniendo mayor incidencia en serpientes. El tratamiento de elección es con metronidazol, sin embargo a dosis altas causa hepatotoxicidad y signos neurológicos, además en el Laboratorio de Herpetología de la Facultad de Estudios Superiores Iztacala (FES-I), UNAM, se ha observado una reducción de su eficacia. Por otra parte, la etofamida es un amebicida luminal usado para tratar la amibiasis intestinal en humanos, en los que es eficaz y segura. Para comparar la efectividad de ambos fármacos en el tratamiento de serpientes con amibiasis intestinal, se evaluaron un total de 30 serpientes diagnosticadas con amibiasis por microscopía directa, de las cuales, diez se incluyeron en un grupo testigo, diez recibieron dos dosis de metronidazol a 250 mg/kg PO con intervalo de 15 días, y diez recibieron etofamida a una dosis de entre 7.15 y 18.67 mg totales PO, cada 61-89 horas por tres tratamientos, datos que se calcularon ajustando alométricamente la dosis pediátrica en humanos. La eficacia se comparó de acuerdo a la disminución de quistes amebianos contabilizados con la técnica de McMaster, partiendo de una revisión parasitológica pre-tratamiento y otras tres revisiones semanales, iniciadas a los 7 días de concluir el tratamiento. Al concluir las observaciones, el grupo medicado con etofamida tuvo una disminución de quistes del 81 % y el grupo tratado con metronidazol del 17 %, en el grupo testigo prácticamente no hubo cambios. El análisis estadístico de los resultados de la última revisión parasitológica con las pruebas de ANOVA y Tukey, reveló una diferencia estadística significativa ($p < 0.05$) entre el grupo tratado con etofamida y los otros grupos, por el contrario no hubo diferencia entre el grupo tratado con metronidazol y el grupo testigo. Se concluye que la etofamida es más eficaz que el metronidazol para el tratamiento de amibiasis intestinal en serpientes.

INTRODUCCIÓN.

En términos simples, el parasitismo es una asociación interespecífica, entre individuos de diferente especie, en la que uno de los participantes (parásito) obligadamente depende metabólicamente del otro (hospedador), que por lo general es de mayor tamaño y resulta perjudicado en grado variable, pudiendo incluso morir ⁽¹⁻⁵⁾. Por lo general, el parásito puede habitar dentro del hospedador (endoparásito) o sobre de este (ectoparásito) ^(1,3-5). La intensidad del daño producido depende de un grado de equilibrio determinado por causas complejas entre el hospedador y el parásito ⁽¹⁾. En el caso de reptiles, puede suponerse que en vida libre durante una larga relación evolutiva entre hospedador y parásito se fue dando una adaptación hasta alcanzar un equilibrio aparente, donde el daño que el parásito produce al hospedador es mínimo ⁽²⁾. No obstante, la manipulación de reptiles por el ser humano en cautiverio, ha provocado la alteración de este equilibrio, que al asociarse con condiciones de estrés, hacinamiento, mala higiene y mala alimentación resulta nocivo para el hospedador ^(2,6,7), esto posiblemente explica porqué las enfermedades parasitarias se mantienen como la tercera causa de muerte en reptiles cautivos, precedida únicamente por desórdenes nutricionales e infecciones bacterianas (primero y segundo lugar respectivamente) ⁽⁷⁾. Asimismo, en reptiles cautivos los parásitos con ciclos de vida directos son los más difíciles de controlar por lo que suelen incrementarse desproporcionadamente, volviéndose más patógenos. Mientras que los parásitos con ciclos de vida indirectos tienen menor probabilidad de incrementarse o transmitirse por la falta de un hospedador intermediario, así que su eliminación es más fácil ^(2,7-9).

Por otro lado, el uso indiscriminado de antiparasitarios ha generado resistencia en muchos casos, por lo que el médico veterinario debe manejarlos estratégicamente, fundamentando su prescripción principalmente en análisis coproparasitoscópicos y en un amplio conocimiento de sus propiedades farmacológicas ⁽¹⁰⁾.

La amibiasis es una enfermedad del tracto digestivo ocasionada por la invasión de la mucosa gastrointestinal por protozoarios endoparásitos conocidos como amibas o amebas, que son capaces de producir problemas intestinales y extraintestinales ^(11,12). Las amibas son organismos caracterizados por presentar pseudópodos ^(13,14), con los que se mueven y alimentan, cambiando de forma para producir un característico “movimiento ameboideo”, en

el cual la célula se fija a un sustrato físico para poder desplazarse ^(2,11). Las amibas, por lo general se transmiten por fases quísticas resistentes eliminadas en el medio ambiente, por lo tanto su farmacoterapia se basa en destruir los trofozoítos del intestino para impedir el surgimiento de quistes a partir de estos ^(12,15).

Existen pocas amibas de importancia veterinaria y la enfermedad clínica rara vez se relaciona con estos organismos ⁽¹⁵⁾. Sin embargo, la amibiasis intestinal en reptiles es la enfermedad infecciosa más común y una causa frecuente de epizootias fatales en reptiles bajo cautiverio ^(2,14,16-21).

1. Amibiasis intestinal en reptiles.

Se trata de una enfermedad cosmopolita particularmente en reptiles cautivos ^(14,19-23), su estudio cobró interés a partir de que se presentaron epizootias en distintas regiones del mundo ^(19,22,24), en las que quedó manifestada la peligrosidad que el agente representa para las especies susceptibles, debido a su capacidad para infectar entre órdenes taxonómicos y a su ciclo de vida directo, por estas mismas razones, se propaga fácilmente a través de las colecciones y es difícil de erradicar ^(2,16,18,25).

1.1. Agente Etiológico

Se conocen tres géneros de amiba como patógenos en reptiles. Dos de ellos, *Acanthamoeba spp.* y *Naegleria spp.*, se han encontrado en serpientes con meningoencefalitis ^(7,9,13,25).

También se ha identificado la infección con especies del género *Entamoeba spp.* en el tracto gastrointestinal de reptiles como se presenta a continuación:

- *E. invadens*, en prácticamente todos los reptiles ^(5,14,18,19,24,26).
- *E. barretti*, en tortugas lagarto (*Chelydra serpentina*) y tortugas pintadas (*Chrysemys sp.*) ^(5,13,14,19,24).
- *E. insolita*, en tortugas galápagos (*Chelonoidis nigra*) ^(13,19).
- *E. knowlesi*, en tortugas caja (*Terrapene carolina*) y en la tortuga cabezona (*Platysternon megacephalum*) ^(5,13,19).
- *E. terrapinae*, en la tortuga de orejas rojas (*Trachemys scripta elegans*) ^(5,13,19,22,24).

- *E. testudinis*, en tortugas caja (*Terrapene carolina*), tortugas terrestres de América y Europa (*Testudo graeca*, *Chelonoidis chilensis*, *Geochelone sulcata*). Así como en la tortuga negra de la india (*Melanochelys trijuga*) y la tortuga pintada (*Chrysemys picta*)^(13,14,19,22).

Experimentalmente, se ha conseguido infectar serpientes con *E. barretti* y *E. terrapinae*^(22,24), esta última es indistinguible morfológicamente de *E. invadens* e infecta brevemente a las serpientes sin causarles enfermedad o lesiones^(22,24), por lo cual algunos autores creen que puede tratarse de una cepa avirulenta de *Entamoeba invadens*⁽²⁴⁾. Sin embargo, la única etiología formal para los casos de amibiasis intestinal reptiliana con invasión de tejidos y muerte del hospedador es *Entamoeba invadens*^(2,7,8,14,16,18,22,23).

El patógeno fue identificado por primera vez en 1934, cuando Rodhain lo aisló a partir de áreas necróticas del intestino de un pitón de roca africano (*Python sebae*), nombrándolo *Entamoeba invadens* por la capacidad invasiva de las formas vegetativas en el tejido intestinal⁽¹⁹⁾. Desde entonces, el parásito ha sido relevante como la principal causa de epizootias fatales en las colecciones de reptiles^(18,20,22,24).

En cuanto a aspectos morfológicos y de relación parásito–huésped, existe una amplia similitud entre *Entamoeba invadens* y *Entamoeba histolytica*, que afecta al ser humano, ya que prácticamente sólo difieren por su tolerancia a la temperatura y especificidad por su hospedador^(5,18,19,22-24,26). Esa semejanza ha sido el principal motivo de que el parásito de reptiles sea modelo experimental para investigar la amibiasis intestinal en humanos^(8,16).

1.1.1. Clasificación Taxonómica.

En el Cuadro 1 se proporciona una revisión de la taxonomía de *Entamoeba invadens*.

Cuadro 1. Clasificación Taxónomica de *Entamoeba invadens*.

Reino	Protista	Organismos eucariontes unicelulares ⁽²³⁾ .
Phylum	Sarcomastigophora	Núcleo simple, cuando hay reproducción sexual es de tipo singámica, locomoción por flagelos o pseudópodos ^(3,5,23) .
Subphylum	Sarcodina	Presentan pseudópodos o flujo protoplasmático locomotor, en caso de tener flagelos generalmente se restringen a una fase del desarrollo ⁽⁵⁾ .
Superclase	Rhizopoda	La locomoción y alimentación es por pseudópodos temporales: lobopodios, filopodios, reticulopodios o flujo protoplasmático ^(3,5,21) .
Clase	Lobosea	Usualmente uninucleados, el desplazamiento y captura de alimento es mediante filópodos o lobopodios ^(1,3,5) .
Orden	Amoebida	Protoplasma desnudo en la fase de trofozoíto, pseudópodos lobulados, no tienen flagelos, presentan un sólo núcleo con la cromatina situada dentro de un endosoma (cariosoma) que se divide por procesos mitóticos ^(1,11) . Constantemente presentan formaciones quísticas uni o plurinucleadas ⁽¹⁾ .
Familia	Entamoebidae	Especies estrictamente parasitarias, generalmente del tracto digestivo, son anaerobios, los trofozoítos tienen vacuolas alimenticias y generalmente carecen de

Continúa

Continúa

		<p>vacuolas contráctiles, se multiplican por división nuclear seguida de fisión binaria ^(1,11,24,27).</p> <p>Algunas especies carecen de mitocondrias, la locomoción es por pseudópodos hialinos individuales, la mayoría forman quistes esféricos u ovoides uni o plurinucleados ^(1,27).</p>
Género	<i>Entamoeba</i>	<p>Amibas endoparasitarias con un núcleo vesiculoso que encierra un pequeño cariosoma ubicado en posición central o subcentral, también muestra una corona de gránulos cromáticos finos dispuestos periféricamente y adyacentes a la membrana nuclear ^(1,11). La mayoría de especies se clasifican en tres grupos según el número de núcleos presentes en el quiste maduro ^(11,24,27).</p>
Especie	<p><i>Entamoeba invadens</i>, Rodhain, 1934 ^(8,19,22).</p> <p>Sinónimos: <i>E. serpentis</i> y <i>E. varani</i> ^(13,19,23).</p>	<p>Pertenece al grupo de especies con cuatro núcleos en el quiste maduro (tetranucleadas), también llamadas amibas invasoras de tejidos o amibas afines a <i>E. histolytica</i> ^(24,27).</p>

1.1.2. Características Morfológicas.

Durante su ciclo de vida, *E. invadens*, muestra dos fases bien diferenciadas, el trofozoíto, forma vegetativa (invasiva) que se encuentra en el hospedador; y el quiste, la forma de resistencia que es eliminada en el ambiente constituye la fase infectante ^(19,23,24).

1.1.2.1. Trofozoíto.

Los trofozoítos por lo general son esféricos ⁽²⁸⁾ que al formar pseudópodos digitiformes adquieren una forma ameboide ^(2,5,13,23,28). Su tamaño va de 9 a 38.6 micras ^(5,8,13,17,19,23,29), en promedio unas 16 micras de largo ^(8,9) y entre 18 y 30 micras de ancho, en promedio 13.29 micras ^(8,13,29). Tienen un endoplasma denso con vacuolas alimenticias que contienen detritus celulares, leucocitos o bacterias ^(23,28), carecen de mitocondrias y tienen un núcleo esférico con un diámetro de entre 3.5 y 10 micras, con una media de 4.57 micras ^(5,8,14,19) (Figura1). Dentro de la membrana nuclear hay inclusiones de cromatina dispersas que son positivas a la reacción de Feulgen ^(19,28); así mismo, presentan endosoma granular o cariosoma en posición central o excéntrica ^(5,13,19,24,28).

La relación Núcleo – Trofozoíto es de 0.28: 0.34 ⁽⁸⁾. Cabe señalar que en los ejemplares aislados de hígado el tamaño es de 38.6 x 27.6 micras ^(8,14).

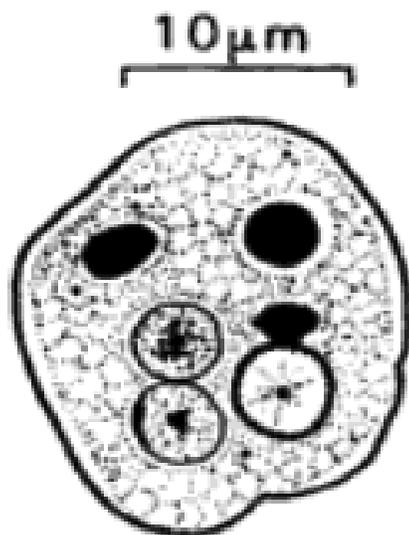


Figura 1. Esquema general de la morfología del trofozoíto de *E. invadens*. Tomado de Smyth, 1994 ⁽⁵⁾.

1.1.2.2. Quiste

El quiste es la fase infectante ^(2,14,19), se considera una fase latente de resistencia que se forma cuando el trofozoíto produce una pared para protegerse del medio abiótico (pared quística) ⁽²⁾. El quiste de *E. invadens*, es morfológicamente indistinguible del de *E. histolytica* ^(8,13,23). Tiene un diámetro de entre 11 y 20 micras ^(5,8,9,13,19), con un promedio de 13.88 micras ⁽⁸⁾. Presenta de uno a cuatro núcleos vesiculares, según el estado de maduración ^(13,23), el quiste maduro tiene cuatro núcleos ^(8,9,19) (Figura 2). Los endosomas nucleares miden hasta un tercio del diámetro de los núcleos ⁽⁹⁾. También posee vacuolas de glucógeno y cuerpos cromatóides ^(19,23).



Figura 2. Morfología del quiste maduro de *E. invadens*. Tomado de Smyth, 1994 ⁽⁵⁾.

1.1.3. Ciclo de vida

E. invadens tiene un ciclo de vida directo ^(2,13,16,18,19,25), la fase infectante son los quistes maduros eliminados en el medio ambiente con las excretas de los reptiles infectados ^(7,8,14,17-19,23,25), que al ser ingeridos por un hospedador pasan por su estómago sin cambios perceptibles, para llegar al yeyuno, lugar en el que la amiba metaquística tetranucleada emerge del quiste, a este proceso se le llama desenquistamiento ^(14,17-19,23). Posteriormente, las amibas metaquísticas arriban al colon, donde pasan por una serie de divisiones que originan ocho amibas uninucleadas ^(17,23,24), que por último se desarrollan en trofozoítos móviles maduros (desarrollo metaquístico) ^(2,7,8,23,24), mismos que se establecen dentro del contenido intestinal del colon, fagocitando partículas y reproduciéndose por fisión binaria ^(2,8,18,23). Por razones aún no conocidas, mientras algunos trofozoítos entran en proceso

de enquistamiento, para finalmente ser eliminados con las excretas en forma de quistes infectantes y completar el ciclo de vida al ser ingeridos ⁽²⁾, otros invaden el colon destruyendo los tejidos de la mucosa y submucosa, llegando a los vasos sanguíneos donde la circulación los lleva a otros órganos, principalmente al hígado ^(7,8,17-19) (Figura 3), tal como ocurre con *E. histolytica* en humanos (entamoebiasis extraintestinal) ⁽¹¹⁾.

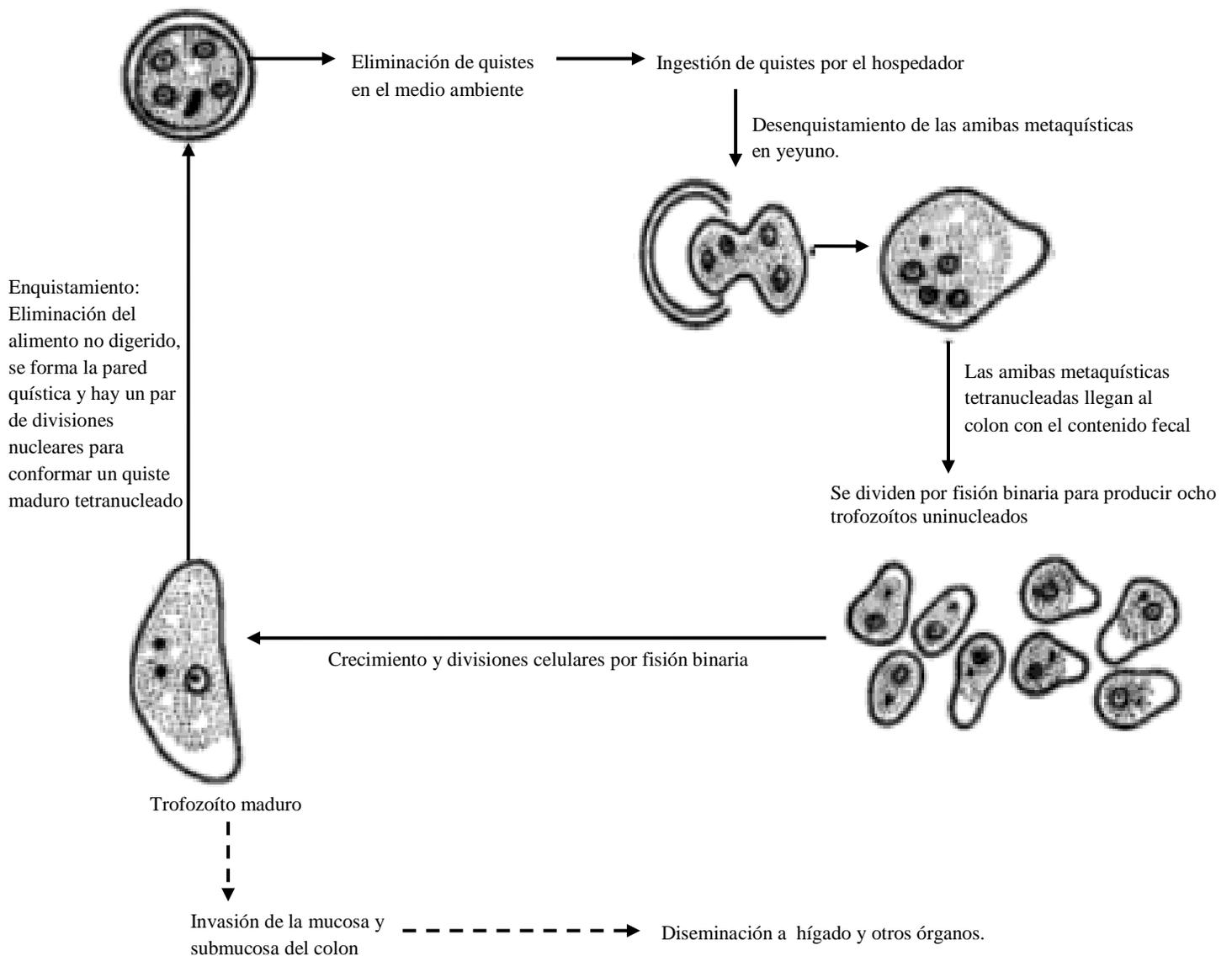


Figura. 3. Ciclo de vida de *Entamoeba invadens*. Modificado de Smyth, 1994 ⁽⁵⁾ y Neal, 1966 ⁽²⁴⁾.

1.1.3.1. Desenquistamiento.

Una vez que el quiste es deglutido, pasa por el estómago para llegar al yeyuno, donde el pH es neutro o ligeramente alcalino, lo cual propicia que la amiba dentro del quiste adquiera gran actividad, que aunada al debilitamiento de la pared quística por los jugos gástricos ^(11,19), da lugar al desenquistamiento de cuatro amibas metaquísticas tetranucleadas o metaquistes ^(11,24), que eventualmente llegan al colon como parte del contenido fecal ⁽¹¹⁾. Este proceso en serpientes infectadas experimentalmente ocurre de 5 a 7 días después de la ingestión de los quistes ⁽²⁴⁾.

Estudios *in vitro* con el grupo de amibas afines a *E. histolytica*, permitieron observar cómo es que la amiba se mueve al interior del quiste hasta romper la gruesa pared quística, al respecto se sabe que mientras emerge, se desarrolla un orificio parcial en el quiste, lo que provoca un flujo de citoplasma dentro y fuera del quiste hasta que la amiba finalmente eclosiona ⁽²⁴⁾.

1.1.3.1. Desarrollo Metaquístico.

Una vez que la amiba tetranucleada eclosionó, pasa por un período de desarrollo antes del producto final (una serie de amibas tróficas uninucleadas). El desarrollo metaquístico de *E. invadens*, es virtualmente idéntico, al de *E. histolytica* ⁽²⁴⁾, que se explica continuación.

Después de que la amiba tetranucleada emergió, comienza a alimentarse y pasa por una serie de complejas divisiones citoplasmáticas y nucleares, cada núcleo quístico se divide una vez, seguido de una división del citoplasma, los núcleos quísticos remanentes se dividen y la amiba hija se forma. Se ha observado que la amiba metaquística tetranucleada original, puede desarrollarse en cinco formas alternativas, pero el resultado final siempre es el mismo, ocho amibas uninucleadas ^(13,23,24). La forma de desarrollo metaquístico más común, se muestra en la figura 4. El tiempo que le lleva a la amiba completar su desarrollo metaquístico es de 24 horas ⁽²⁴⁾.

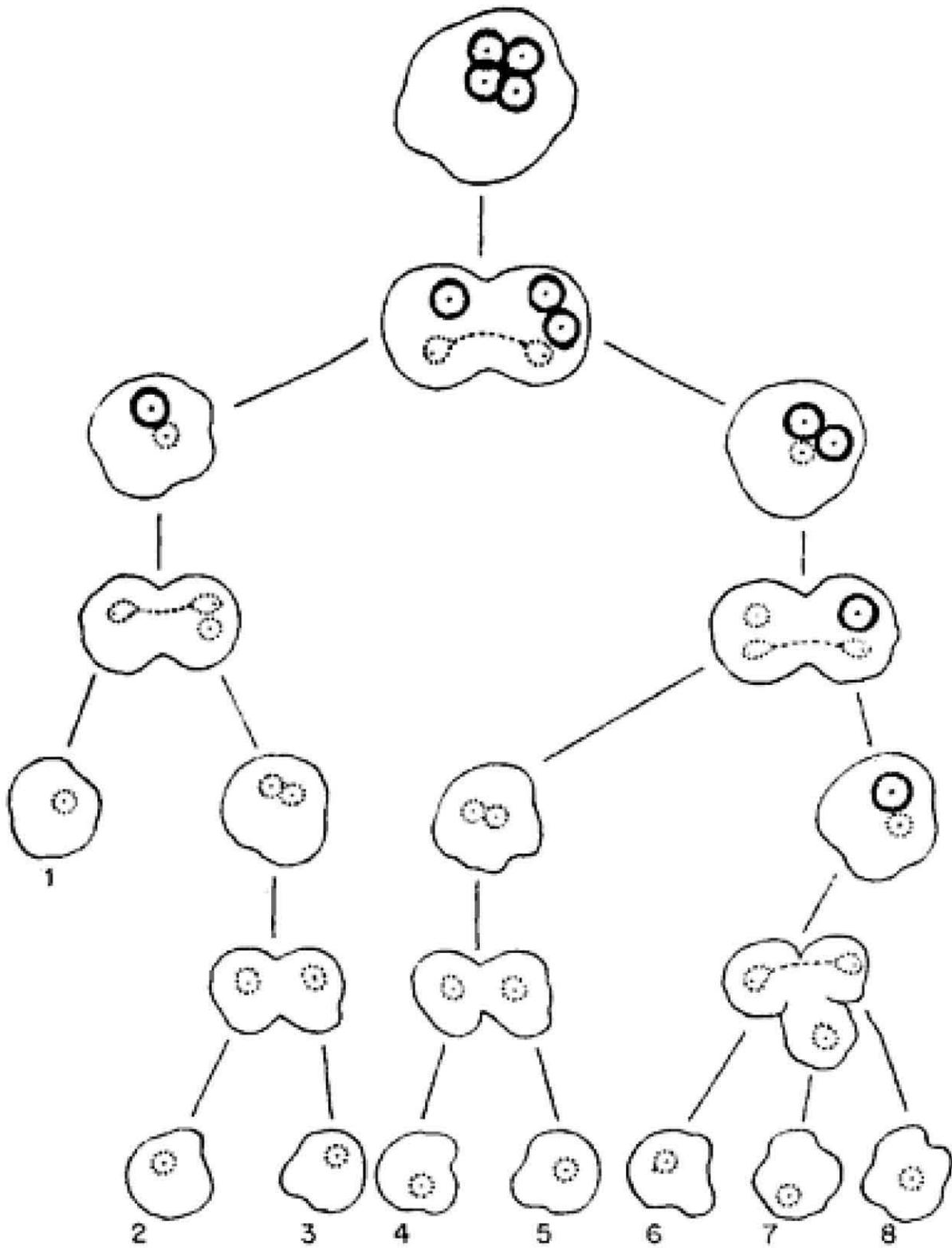


Figura 4. Forma de desarrollo metaquístico más frecuente, que es común a las especies de *Entamoeba* sp. afines a *E. histolytica*, y cuyo producto final son ocho amibas uninucleadas. Tomado de Neal, 1966⁽²⁴⁾.

1.1.3.3. Enquistamiento

Este proceso tiene lugar en la luz del colon, cuando bajo condiciones desconocidas, el trofozoíto comienza a eliminar el alimento sin digerir para adquirir una forma pequeña y redondeada llamada prequiste. Posteriormente, secreta una cubierta resistente conocida como pared quística, y pasa por dos divisiones nucleares consecutivas que dan lugar a cuatro núcleos pequeños que finalmente conforman al quiste maduro ^(11,13,23) (Figura 5).

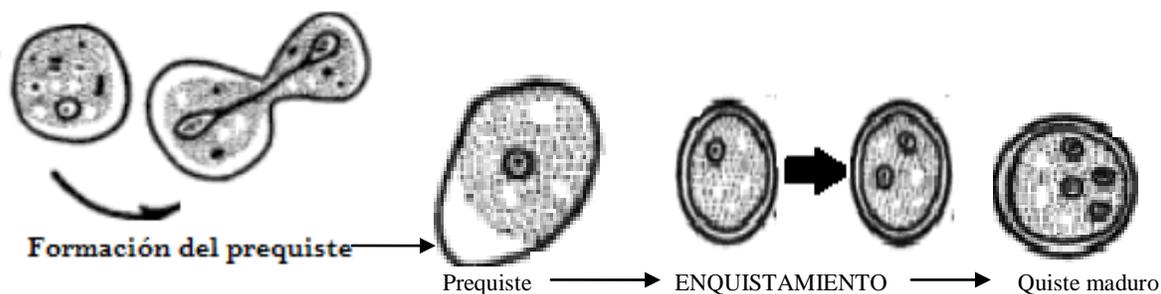


Figura 5. Enquistamiento de las especies de *Entamoeba* spp. con quistes maduros tetranucleados. Modificado de Smyth, 1994 ⁽⁵⁾.

1.2. Especies afectadas.

La infección por *E. invadens* prácticamente está presente en todos los reptiles ^(13,19). No obstante, prevalece la idea de que en quelonios y algunos cocodrilos la infección carece de efectos patogénicos, es decir son portadores asintomáticos ^(9,14,17,19,24,26), por lo tanto se les considera un peligro dentro de los herpetarios, por eliminar quistes de amiba y servir como reservorios de la enfermedad ^(8,9,23,26). Por otro lado en serpientes y ciertos lagartos carnívoros (*Varanidae*) se ha observado una susceptibilidad extrema a la infección, ya que desarrollan la enfermedad fatal, por lo que se les considera especies susceptibles ^(7,19,23,24,26,30).

La explicación más difundida sobre este fenómeno es que en tortugas y reptiles herbívoros o parcialmente herbívoros, la amiba y el reptil coexisten en un alto balance adaptativo conocido como comensalismo ^(22,26,31); en el cual, la alta proporción de polisacáridos de origen vegetal en la dieta del reptil es la fuente de carbohidratos que la amiba necesita para acumular glucógeno en su citoplasma y enquistarse, completando así su ciclo de vida ^(8,17,19,22). Por el contrario, en serpientes y lagartos con dieta estrictamente carnívora, la ausencia de materia vegetal, obliga a la amiba a alimentarse de la mucosa y recubrimiento intestinal como fuente alternativa de polisacáridos, por lo tanto invade el tejido y la enfermedad clínica

se presenta ^(2,8,17). Lo anterior se ha comprobado alimentando reptiles herbívoros como la iguana verde (*Iguana iguana*) con dietas altas en proteína, por lo que desarrollan amibiasis clínica ⁽¹⁹⁾.

Sin embargo, la explicación tiene algunas limitantes, principalmente el hecho de que las tortugas terrestres son propensas a desarrollar la enfermedad clínica severa a pesar de ser herbívoras, en especial las tortugas gigantes ^(6,7,14,23,25,31,32). Asimismo las tortugas acuáticas y semiacuáticas no están libres de presentar la enfermedad clínica ^(14,19,25); y por último, algunas serpientes y reptiles carnívoros infectados no presentan la enfermedad ^(7,18,32).

Por lo anterior, lo mejor es afirmar que en realidad todas las especies de reptiles son propensas a adquirir la infección ^(13,19) y desarrollar la enfermedad clínica bajo ciertas circunstancias ⁽¹⁹⁾, lo que entonces varía es la incidencia de una especie a otra ^(19,31). Quizá el estado inmune del hospedador determina sí el parásito invade la mucosa o sí la infección prevalece en el lumen intestinal ⁽²⁾.

1.2.1. Incidencia de la enfermedad en los distintos órdenes de reptiles.

Squamata.

Aparentemente en las serpientes no existe equilibrio entre el hospedador y el parásito, por lo tanto desarrollan la enfermedad fatal ⁽²²⁾. Las familias de ofidios con mayor susceptibilidad a desarrollar la enfermedad clínica incluyen: *Boidae*, *Pythonidae* ^(7,22), *Crotalidae*, *Viperidae* ⁽⁷⁾. Los portadores asintomáticos son la culebra corredora negra (*Coluber constrictor*) y la culebra rayada (*Thamnophis spp.*) ⁽³²⁾, y se conoce la resistencia de la serpiente rey (*Lampropeltis getula*) y la cobra real (*Ophiophagus hannah*) ^(7,31), fenómeno atribuible a una adaptación que les permite alimentarse de serpientes ⁽⁷⁾.

Dentro de los lagartos, hay menos reportes de la enfermedad ⁽¹⁴⁾, sin embargo se sabe de una mayor susceptibilidad en la familia *Varanidae* ^(7,14,19). Como ya se mencionó, los lagartos herbívoros son menos susceptibles a la amibiasis, por lo cual son reservorios, aunque hay reportes de amibiasis sistémica en iguanas verdes ^(14,19,23). En este sentido, Jacobson ⁽¹⁴⁾ presenta con mayor detalle las especies de lagartos en los que la evidencia experimental y documental ha contribuido a conocer si son o no susceptibles a padecer la enfermedad.

Chelonia

Los autores consideran a este grupo de reptiles como portadores asintomáticos del parásito y por consiguiente reservorios de la enfermedad dentro de las colecciones ^(8,9,19,26). Aunque se puede decir que en quelonios, la incidencia de la enfermedad es relativamente más baja, una notable excepción la constituyen las tortugas terrestres (*Testudinidae*), en particular tortugas gigantes (*Geochelone spp.*) en las que existe una alta susceptibilidad a contraer amibiasis fatal ^(7,14,25,29,31).

Por lo anterior, algunos autores, sólo mencionan como portadores asintomáticos a las tortugas caja (*Terrapene spp.*), tortugas semiacuáticas y tortugas puramente acuáticas (cuya resistencia puede ser más alta) ^(7,31,32). Sin embargo, la enfermedad clínica se ha documentado en tales especies ^(14,19); aunque los casos se asocian a un conjunto de factores que alteran el equilibrio hospedador–parásito, como condiciones de traslado en las que la higiene y alimentación son malas y la temperatura favorece el desarrollo amebiano ^(14,19).

En resumen, aunque la susceptibilidad es variable, todos los quelonios citados anteriormente son vulnerables a presentar la enfermedad sí están inmunocomprometidos o si son animales muy jóvenes, muy viejos o debilitados y con altas cargas parasitarias ^(2,31). Por lo tanto, animales recién importados o capturados que normalmente son portadores de *E. invadens*, al ser sometidos a condiciones poco favorables, se vuelven susceptibles a padecer una infección activa ⁽³¹⁾.

Jacobson ⁽¹⁴⁾ y Barnett ⁽³¹⁾ presentan a detalle las especies de quelonios en los que se ha reportado la enfermedad clínica.

La amibiasis intestinal también se ha observado en tortugas marinas ⁽¹⁴⁾, particularmente en la tortuga caguama (*Caretta caretta*) y la tortuga verde (*Chelonia mydas*) ^(14,19,31), pero la enfermedad se presentó bajo condiciones no naturales, cuando los animales estuvieron en agua dulce por un corto período ^(19,31). De otra manera, la infección no hubiese sido posible ya que *E. invadens* no sobrevive en agua salada ⁽³¹⁾.

Crocodylia.

Este grupo de animales representa un fenómeno aparte dentro de la epizootiología de la enfermedad, ya que no es posible infectarlos experimentalmente ^(14,22), por lo que se considera que presentan una fuerte resistencia natural al parásito ⁽²²⁾. Los reportes de amibiasis intestinal

clínica en cocodrilos se limitan a un par de casos ⁽¹⁴⁾, uno de ellos en un cocodrilo marino (*Crocodylus porosus*), ocurrió durante una epizootia con serpientes y otros reptiles dentro de una colección ^(19,33). No obstante, hay autores que consideran que este grupo de reptiles son portadores del parásito ^(22,26,32).

Rhynchocephalia.

Solamente hay un reporte de amibiasis en un tuatara (*Sphenodon punctatus*), que estuvo en cautiverio por ocho años ⁽¹⁴⁾, la enfermedad se relacionó con el alojamiento del reptil a temperaturas muy bajas ⁽¹⁹⁾.

1.3. Epizootiología.

Al parecer, *Entamoeba invadens* tiene una distribución mundial ^(18,19,23), principalmente en reptiles cautivos bajo condiciones desfavorables ⁽¹⁹⁾.

Las tasas de morbilidad y mortalidad varían según las condiciones higiénicas y la precisión del diagnóstico ^(18,19). Aunque no se conocen cifras exactas, se ha observado que la morbilidad suele ser alta, por la facilidad del parásito para propagarse dentro la colección, ya que su ciclo de vida es directo ^(2,8,19,23). La mortalidad aproximada, principalmente en serpientes es del 100 % en aquellas colecciones donde las condiciones son extremadamente malas o no se da un manejo adecuado de los animales ^(8,19,22,23,31).

Otro aspecto que cabe señalar, es el hecho de que no se conoce nada concreto para explicar el porqué dentro de una colección, un espécimen presenta amibiasis en el sentido más estricto, mientras que otro permanece sano a pesar de eliminar quistes en sus excretas, situación paralela a lo que ocurre en la amibiasis intestinal humana ^(8,11,19).

Se sabe poco sobre la prevalencia de la enfermedad en la naturaleza, ya que raramente se ha estudiado ⁽¹⁹⁾. La evidencia indica que las tortugas de agua dulce son los hospedadores naturales del parásito ^(19,22,31). El primer reporte de *Entamoeba invadens* en animales en libertad proviene de un estudio con tortugas galápagos leproso (*Mauremys leprosa*) capturadas en Túnez ⁽¹⁹⁾.

En el caso de serpientes no hay consenso al respecto, ya que algunos autores concluyen que las serpientes no son hospedadores del parásito en la naturaleza, basándose en que no se

conocen amibas como parásitos naturales de animales carnívoros, lo cual explica la fuerte susceptibilidad de estos, como la que se observa en serpientes infectadas con *E. invadens*. Además, señalan que los niveles de temperatura en los que las serpientes habitan, principalmente en zonas tropicales o durante veranos calurosos, la temperatura corporal se eleva lo suficiente como para mantener una infección amebiana, ya que la amiba requiere entre 13 y 33 °C para establecer una infección ⁽³⁰⁾. Mientras que en invierno, las serpientes al hibernar no tienen posibilidad de adquirir la infección ^(22,30). Entonces, la idea de que la infección se adquiere en cautiverio cuando las serpientes entran en contacto con reservorios bajo condiciones de manejo inapropiadas resulta convincente ^(9,19,22,30).

Por el contrario, Marcus hace referencia a “los reportes de Telford, quien encontró al protozoo viviendo como comensal en el tracto digestivo de serpientes al sureste de Estados Unidos” ⁽⁸⁾. Entonces, explica que en cautiverio es permitida la infección con cepas de regiones diferentes a la de origen, por lo que la enfermedad clínica se presenta ^(2,8), a pesar de resultar un argumento lógico para explicar los brotes agudos, esto no se ha comprobado ⁽²⁾.

Pese a los planteamientos anteriores, Jacobson da testimonio de “haber encontrado en libertad a una serpiente rey (*Lampropeltis getula*) con amibiasis clínica” ⁽¹⁴⁾. Por lo tanto, no hay una explicación lo suficientemente sólida sobre la prevalencia de la enfermedad en serpientes silvestres.

1.3.1. Transmisión

Debido a su ciclo de vida directo es un parásito muy fácil de transmitir por la ingestión de quistes infectantes eliminados con las excretas de los animales infectados ^(2,8,13,16,18,19), que contaminan el agua, substrato y alimento ^(7,19,31). No hay muchos datos sobre la sobrevivencia de los quistes en el ambiente pero se sabe que viven por 7 semanas a 4 °C ^(14, 19), 15 días a 8 °C ^(13,29) y por períodos menos prolongados a 37 °C ^(7,13).

Los quistes suelen llevarse de un encierro a otro con las manos contaminadas de los cuidadores y fómites como utensilios de limpieza (cepillos, esponjas, etc.) y otro tipo de artículos (ganchos herpetológicos, tubos de acrílico, pinzas de alimentación y bebederos, entre otros) ^(18,19).

También se considera la intervención de vectores mecánicos como cucarachas, moscas, entre otros artrópodos ^(13,19); ya sea que al ingerir excretas contaminadas, los quistes pasan intactos por su tracto digestivo y permanecen infectantes en sus heces ⁽¹⁹⁾, o por la transferencia mecánica de quistes en sus patas y aparatos bucales sucios ^(18,31).

1.3.2. Factores Predisponentes.

La presencia de la enfermedad dentro de la colección se favorece por los siguientes factores:

- Manejo y alojamiento mixto de reptiles reservorios y reptiles susceptibles ^(19,22,23).
- Mala higiene de instalaciones, encierros, bebederos, etc. ^(19,22).
- Malos hábitos higiénicos en los cuidadores, es decir, el no lavarse las manos entre el manejo de reptiles y/o no lavar y desinfectar su equipo de trabajo ^(8,19,22), practicas que provocan la contaminación de agua, encierros y alimento ^(19,30).
- Sometimiento de los animales a condiciones desfavorables y factores estresantes como: hacinamiento, suciedad, mal manejo y alimentación ^(2,19), hechos que derivan en animales debilitados e inmunodeprimidos ⁽³¹⁾.
- Animales muy jóvenes o geriátricos ^(14,31).
- Cambios bruscos de temperatura, así como mantener a los animales a temperaturas bajas ^(19,22), al respecto se ha percibido que la enteritis amebiana se puede desarrollar como consecuencia de un substrato muy frío y/o por un decremento excesivo de la temperatura local ⁽²²⁾. En el trabajo de Meerovitch, se demostró que la amiba se activa bajo el rango de temperatura óptimo para su crecimiento, es decir de 15 a 35°C, y es a esa temperatura que se desencadena el proceso patológico en serpientes ⁽³⁰⁾.
- Introducción de animales nuevos a la colección ^(8,18).
- Presencia de plagas que funcionan como vectores: moscas, grillos, cucarachas y hormigas, entre otros. ^(18,19,31).

1.4. Patogenia.

La infección tiene lugar principalmente en el intestino grueso ^(14,19,21,23), una vez que los trofozoítos se encuentran en desarrollo debido a la ausencia de los azúcares necesarios para su enquistamiento y con una temperatura de entre 15 y 35 °C ^(24,30). Estos se adhieren a la mucosa intestinal mediante proteínas específicas llamadas lecitinas Gal/GalNAc, que reconocen residuos de carbohidratos específicamente Galactosa terminal y N-acetil D galactosamina que están presentes en la membrana de las células diana ^(34,35). Posteriormente secretan polipéptidos llamados amebaporos y enzimas proteolíticas que ocasionan la disrupción de la mucina y barrera epitelial, facilitando la invasión de tejido por la destrucción de la mucosa y submucosa de la parte anterior del colon ^(19,22,34,35), asimismo este proceso estimula una severa respuesta inflamatoria mediada principalmente por heterófilos, misma que contribuye al daño en el colon ⁽¹⁸⁾. En algunos casos, el daño puede extenderse hacia el intestino medio o incluso hasta el estómago ^(7,8,18,19,21,23), resultando en la erosión, ulceración y finalmente la perforación, que trae consigo una celomitis aguda ^(21,22,26,31).

Por otro lado, la respuesta inflamatoria provoca el engrosamiento y obstrucción del tracto gastrointestinal, que impide la propulsión del contenido intestinal ^(8,18,19,22).

La invasión del tejido, proporciona un medio ideal para el desarrollo de infecciones bacterianas secundarias y demás patógenos oportunistas ⁽²⁾, que complican notablemente el curso de la enfermedad ^(8,18,19). Conforme progresa la invasión del tejido hacia las capas más profundas, los trofozoítos llegan a los vasos sanguíneos y linfáticos ^(19,21), lo que les permite alcanzar otros órganos ⁽¹⁴⁾, principalmente al hígado por circulación portal ^(11,19,21,23), aunque también pueden llegar por el ducto biliar ^(7,9,14). Además colonizan riñón, bazo, pulmones ^(13,16,18,19), incluso cerebro ^(19,25) y músculo esquelético, ya que se sabe de un caso de miositis en un varano acuático (*Varanus salvator*), en el que la infección tuvo origen por la migración parasitaria y la contaminación de heridas cutáneas ⁽³⁵⁾.

Durante su migración, las amibas llevan consigo bacterias propias del tracto gastrointestinal como *Pseudomonas spp.*, *Aeromonas spp.*, *Arizona spp.* y *Salmonella spp.* ^(17,19), que ocasionan septicemia y que al establecerse en los órganos, generan una respuesta inflamatoria, formación de abscesos y necrosis, entre otros signos de amibiasis extraintestinal ^(2,14,16,18). La migración parasitaria, induce la formación de trombos que agravan

la necrosis tisular mediante infartos, principalmente en hígado y tracto gastrointestinal^(8,14,19,21), dando lugar al término descriptivo de “enterohepatitis necrosante”^(9,16).

El curso de la enfermedad generalmente tiene un desenlace fatal y su duración depende de factores como la cantidad de quistes ingeridos⁽⁸⁾, tamaño y estado de salud del hospedador⁽¹⁹⁾, nivel de madurez del sistema inmunológico y la especie animal en cuestión^(19,31).

En serpientes infectadas experimentalmente, la muerte ocurre de 13 a 77 días después de la ingestión de quistes infectantes^(8,13,23,26,32). Al respecto, Frye y col. mencionan que “las serpientes gigantes presentan los cursos de mayor duración”⁽¹⁹⁾.

1.5. Cuadro Clínico.

Es posible que los reptiles afectados no muestren ninguna signología hasta 24 horas antes de morir, se encuentren muertos repentinamente, o su condición deteriore lentamente durante 2 a 10 semanas hasta que mueren^(7,13,14,17,23,29).

Al comenzar la enfermedad, los signos son inespecíficos, variados y difieren entre los grupos de hospedadores^(7,19,23,26,31).

Las serpientes que enferman, exhiben una variedad de signos más o menos específicos. En infecciones experimentales, los signos se presentan generalmente de los 12 a 32 días posteriores a la inoculación oral^(19,21,26). Los primeros signos son anorexia, letargo y apatía^(17,23,26,36); después, emaciación progresiva y deshidratación^(2,7,13,16-19,21,22,25,26), puede haber polidipsia^(17,19,36), vómito^(13,17,26) y regurgitación^(20,26). En ocasiones, llegan a presentar convulsiones u otros signos neurológicos debido a la formación de abscesos intracerebrales^(17,19,25).

En etapas posteriores, se manifiestan signos de gastritis y colitis ulcerativa, como evacuaciones acuosas con o sin moco y/o sangre, teñidas de bilis, y con remanentes de la mucosa intestinal (Disentería amebiana)^(2,8,13,16-18,22,25,26,29).

Conforme la enfermedad progresa, la formación de membranas fibrinonecróticas en el colon, da lugar a una evidente cloacitis⁽³⁶⁾, que puede palparse ventralmente en la región pre-anal, junto con una masa notablemente firme al tacto, que representa el sitio de las principales lesiones, y llega a medir hasta 30 cm en las serpientes más grandes^(7,17,19,22). En esta etapa, el

animal tiene intentos de defecación poco exitosos y se encuentra postrado en una posición completamente anormal ⁽¹⁹⁾. Ocasionalmente ocurre prolapso rectal o cloacal ⁽²⁶⁾.

La enfermedad culmina con la muerte ^(19,23), que por lo general ocurre 3 semanas después de los primeros signos en las serpientes más pequeñas y varias semanas en las grandes ⁽¹⁹⁾. Frye y col., establecen que “las serpientes mejor nutridas, con buena condición corporal y en mejores condiciones, tienden a sufrir la forma más súbita de la enfermedad” ⁽¹⁹⁾.

En lagartos, los signos más comunes son: anorexia, letargo y polidipsia, en casos avanzados, se puede palpar el hígado agrandado y endurecido ^(19,36). En los lagartos de menor tamaño, la enfermedad dura entre una y dos semanas ⁽¹⁹⁾.

En tortugas principalmente terrestres, los signos son variables e inespecíficos, suelen limitarse a una disminución leve de peso o retraso en el crecimiento, así como anorexia o hiporexia ^(2,9,14,31), puede que estos signos continúen por meses o progresen rápidamente hasta la muerte, además puede haber diarrea hemorrágica con moco, vómito, adelgazamiento, depresión y signos de deshidratación como ojos hundidos y engrosamiento de la mucosa oral ^(2,6,14,31), los cuales comúnmente se presentan 24 horas antes de la muerte ⁽³¹⁾.

En infecciones crónicas, puede haber afección pulmonar, provocando disnea, estornudos, descarga oral y nasal ⁽³¹⁾. No obstante, no hay estudios publicados sobre la duración de la enfermedad en quelonios ⁽³¹⁾.

1.6. Lesiones.

El proceso primario en el curso de la amibiasis consiste en severas alteraciones típicas provocadas por el protozooario en la parte anterior del colon y el hígado, de manera secundaria, se desarrollan lesiones en el intestino delgado, estómago y otros órganos ^(8,19,21-23). Las primeras lesiones son focos muy pequeños de necrosis que representan el sitio de entrada de los trofozoítos amebianos, y que al confluir dan lugar a un proceso erosivo más evidente en una gran porción del intestino ^(8,19,21). La extensión del daño, con frecuencia concluye con la ulceración y perforación de la mucosa ^(21,26,31), lo que conlleva a que las capas subyacentes reaccionen engrosando la pared ⁽¹⁹⁾. Las lesiones en intestino delgado y estómago parecen ser extensiones de las del intestino grueso ⁽²¹⁾.

1.6.1. Lesiones macroscópicas.

Las lesiones compatibles con la enfermedad, son similares en las distintas especies de reptiles, donde los hallazgos más comunes a la necropsia, consisten en una enteritis hemorrágica masiva ⁽²²⁾. El colon es el principal órgano afectado, mostrando una colitis necrótica ulcerativa severa (Figura 6). En las fases tempranas presenta innumerables úlceras irregulares que miden entre 1 y 5 mm de ancho, y que gradualmente confluyen entre sí para abarcar una superficie mayor ^(18,21,35). La pared del intestino grueso presenta una hemorragia extensa, congestión severa, edema, laxitud y un engrosamiento que puede ocluir la luz del órgano ^(8,18-22). Hay necrosis caseosa de la mucosa y submucosa que progresa hacía las capas más profundas ^(8,21). La mucosa engrosada exhibe una enteritis pseudomembranosa que se vuelve evidente al seccionar transversalmente el colon, observándose unos anillos concéntricos de membranas fibrinonecróticas color rojo oscuro, originadas por la actividad regenerativa de la pared intestinal, están formadas por tejido necrótico y exudado fibrinoso (Figura 7) ^(14,18-20). La serosa se ve cianótica, los vasos sanguíneos de la muscular y serosa presentan congestión, trombosis y necrosis de la pared vascular ^(8,21,31).

La parte posterior del intestino delgado está distendida con gas y el lumen tiene un contenido de semilíquido a mucoso de color café sanguinolento, que al observarse bajo el microscopio contiene gran cantidad de trofozoítos ^(19,21,35).

En intestino delgado, las lesiones son menos intensas ⁽³⁵⁾; sin embargo, hay ileítis ulcerativa de moderada a severa, como extensión del daño a colon ^(8,21-24,29), se aprecian úlceras color rojo oscuro de tamaño variable con una depresión central hemorrágica ⁽³⁵⁾. A diferencia del colon, la necrosis sólo involucra la mucosa y submucosa superficial ^(14,21-23).

En la pared del duodeno se observa un engrosamiento granulomatoso con hiperemia ^(14,19,22,35), mientras que el estómago desarrolla en forma secundaria una gastritis ulcerativa hemorrágica de menor intensidad ⁽²¹⁻²³⁾. Las úlceras inicialmente son cónicas y miden aproximadamente 2 mm de diámetro y 1mm de profundidad, posteriormente llegan hasta la submucosa, y se llenan con un exudado friable y detritus teñidos con sangre, que aunque las úlceras aumenten en cantidad y tamaño, es raro que confluyan ⁽²³⁾.

El hígado presenta hepatomegalia ⁽³⁵⁾, con el parénquima fragmentado ⁽¹⁹⁾, friable ^(8,23,35) y áreas de infarto que se observan como zonas moteadas de color café pálido a rojo oscuro a través de grandes porciones de tejido ^(8,20,22,23), comúnmente la hepatitis es

difusa ^(8,22,23), y en caso de haber necrosis multifocal ^(14,21,22,31,35), los focos miden de 1 a 3mm hasta 3 ó 4 cm ⁽²³⁾ y son color blanco amarillento ⁽³⁵⁾. Puede haber necrosis difusa por trombosis de las ramas de la vena portal ^(7,8,16,21,23,31,35). También se observan los característicos abscesos amebianos ^(8,16,18,19,22,31), que miden algunos mm de diámetro, aunque en lagartos grandes pueden alcanzar el tamaño de una naranja ⁽¹⁹⁾.

Otros hallazgos en el examen post-mortem pueden incluir inflamación y necrosis renal ^(8,16,21), ruptura intestinal, celomitis ^(22,31), bazo y pulmón con un grado variable de necrosis con o sin abscesos ⁽³¹⁾; en el caso de pulmón, los abscesos se asocian a infecciones de tipo crónico ^(26,31). En algunos casos puede haber necrosis y abscesos cerebrales ^(19,20,25) y se tiene el reporte de un caso de amibiasis muscular en un varano acuático común (*Varanus salvator*), donde se describen múltiples focos de necrosis caseosa color amarillo grisáceo de distribución aleatoria, superficial y profundamente en los músculos intercostales, epiaxiales, del muslo y la cola ⁽³⁵⁾.



Figura 6. Colitis necrótica difusa en una serpiente de rata (*Elaphe spp.*), se identificó a *E. invadens* en la mucosa y submucosa. Tomado de Jacobson, 2007 ⁽¹⁴⁾

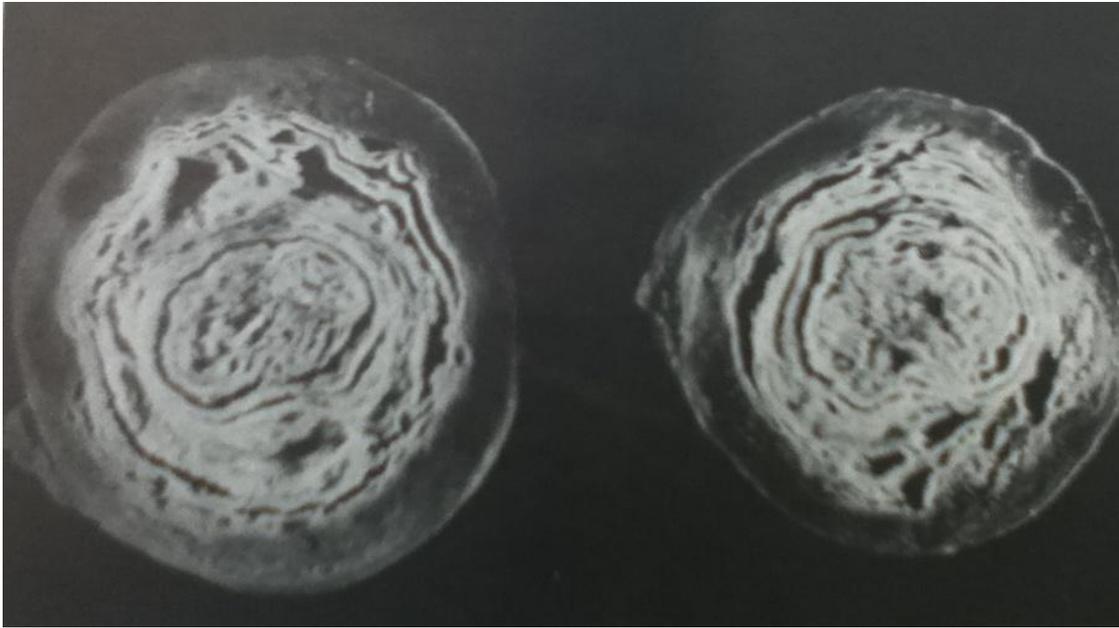


Figura 7. Corte transversal del colon de un Lagarto escorpión (*Heloderma horridum*) con la típica apariencia de “Enteritis pseudomembranosa” ocasionada por *E. invadens*. Tomado de Frye, 1984 ⁽¹⁹⁾.

1.6.2. Lesiones microscópicas.

Los cambios más severos se observan en colon, íleon e hígado ^(22,26). Al respecto, en el lumen intestinal se observan estructuras esferoides multinucleadas con una gruesa pared celular (Quistes amebianos) que se tiñen intensamente con la tinción de Ácido Peryódico de Shiff (PAS) ⁽²⁰⁾.

Se observa colitis necrótica en la mucosa y submucosa del colon, hay erosión o úlceras que ocasionalmente se extienden dentro de la muscular ^(22,26). Los trofozoítos amebianos suelen observarse en los espacios extracelulares cerca de las úlceras o dentro de porciones necróticas de tejido (Figura 8) ^(2,22). La mucosa presenta necrosis hemorrágica multifocal severa que resulta en la formación de pseudomembranas fibrinonecróticas ^(20,26). En la submucosa hay varios grados de hemorragia difusa y edema, así como una infiltración moderada de heterófilos, linfocitos e histiocitos ⁽²⁰⁾. La pared del colon se encuentra hiperémica y muy engrosada ^(22,26), incluso ulcerada y con necrosis focal ⁽²⁰⁾. En las lesiones, se observa una gran cantidad de protozoarios junto a colonias bacterianas ⁽²⁰⁾.

El hígado presenta congestión severa y hepatitis necrótica multifocal severa que se extiende a partir de las radículas portales ^(7,9,14,22,26). Las áreas de necrosis hepática involucran a los hepatocitos y cordones hepáticos, donde el citoplasma vacuolar indica degeneración grasa ^(20,22,26). El parénquima es discontinuo en muchas zonas y sólo se conserva el estroma ⁽²²⁾. La reacción inflamatoria leucocitaria puede ser mínima o masiva ⁽²⁶⁾. Se observa una infiltración moderada de multifocal a difusa de heterófilos que rodean a los protozoarios intralesionales ^(2,8,20). También se observan numerosos trofozoítos en los sinusoides hepáticos (Figura 9) ^(9,14).

Los riñones presentan cambios marcados pero inespecíficos ⁽²²⁾, donde existe principalmente nefritis intersticial y pielonefritis ^(20,26). Los glomérulos y vasos intersticiales se encuentran hiperémicos y las células de los túbulos renales presentan vacuolización citoplasmática ⁽²²⁾, además se advierte la presencia de trofozoítos amebianos ^(2,14).

Otro tipo de lesiones histopatológicas incluyen neumonía supurativa con presencia de trofozoítos, peritonitis de leve a moderada, gastritis, encefalitis necrótica focal con protozoarios intralesionales ⁽²⁰⁾, miositis necrótica y granulomatosa acompañada por una cantidad variable de amibas intralesionales, y ocasionalmente se detecta la presencia de trofozoítos amebianos en la luz de vasos sanguíneos a la periferia de las regiones afectadas ⁽³⁵⁾.

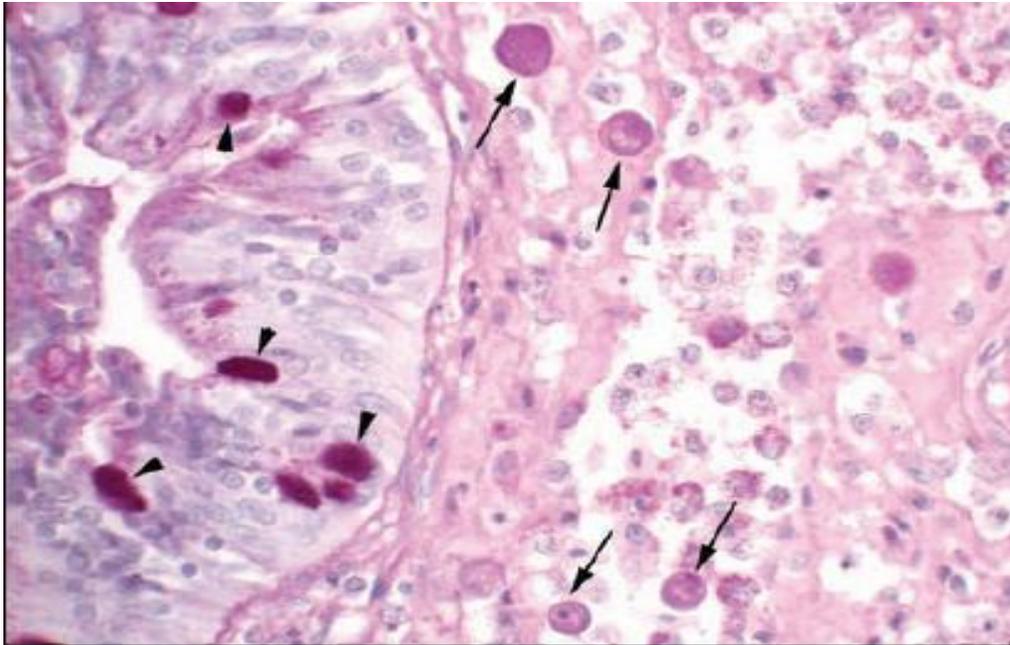


Figura 8. Micrografía de trofozoítos de *E. invadens* (flechas) en la submucosa del intestino de una víbora de Russell (*Daboia russelli*). El moco de las células epiteliales (cabezas de flecha) se tiñen con mayor intensidad que los trofozoítos. Tinción de PAS. Tomado de Jacobson, 2007⁽¹⁴⁾.

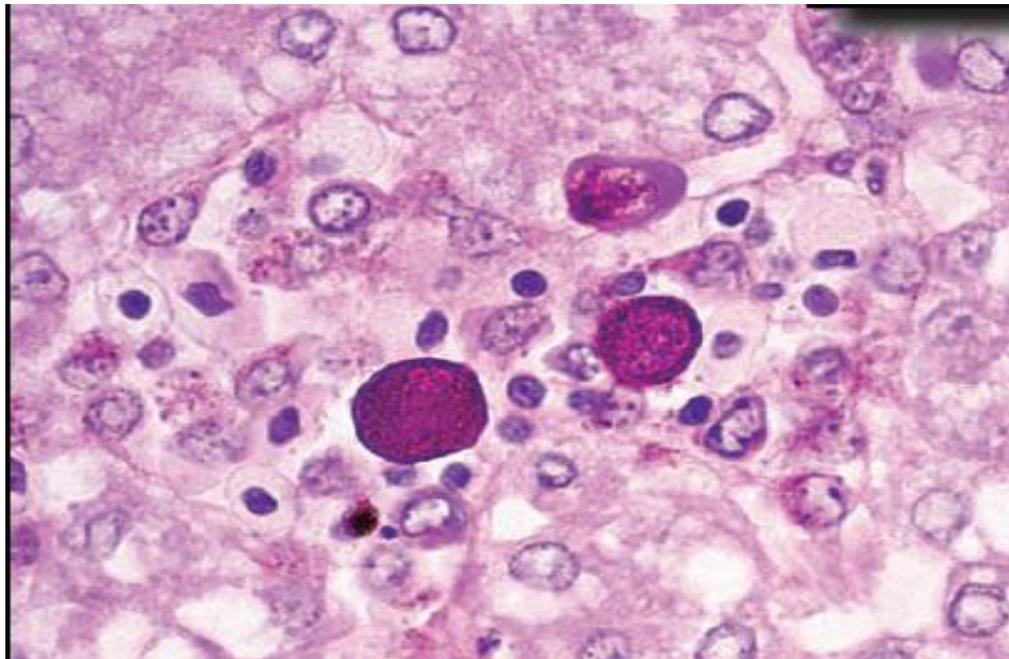


Figura 9. Micrografía de trofozoítos de *E. invadens* en el hígado de una tortuga de madera (*Clemmys insculpta*). Tinción de PAS. Tomado de Jacobson, 2007⁽¹⁴⁾.

1.7. Diagnóstico.

Se han probado diferentes métodos para diagnosticar la infección por *E. invadens* en fases tempranas con el reptil vivo. El diagnóstico positivo, debe abrir la posibilidad para la terapia y prevención de la enfermedad ⁽¹⁹⁾.

1.7.1. Diagnóstico parasitológico.

Conservación de muestras

Lo ideal al realizar un examen parasitológico, es analizar las muestras inmediatamente después de ser obtenidas, pero esto no siempre es posible, por lo cual pueden fijarse con una solución de merthiolate, yodo y formalina (MIF, por sus siglas en inglés), con la que se ha encontrado que los quistes amebianos se pueden reconocer semanas o incluso meses después de haber fijado las muestras ⁽¹⁹⁾. Asimismo, se puede usar un fijador con acetato de sodio-ácido acético-formalina (SAF, por sus siglas en inglés) ⁽⁶⁾ o alcohol polivinílico para prevenir la descomposición de los trofozoítos ^(2,31).

Observación microscópica directa

En la actualidad, el método más difundido para diagnosticar la amibiasis intestinal en reptiles es la observación microscópica directa de una porción fresca de excretas o un raspado de mucosa intestinal ^(2,36), en donde la presencia de estructuras amebianas como quistes o trofozoítos son indicadores de la infección, aunque los trofozoítos mueren de 20 a 30 minutos después de que son eliminados por el hospedador ⁽¹⁸⁾, por lo que es más probable detectar los quistes ^(7-9,13,14,17,23,25,26). Para una mayor certeza en el diagnóstico, es recomendable examinar las porciones de excretas que contienen sangre y moco ^(8,13,25).

De no haber muestras frescas disponibles, pueden tomarse directamente introduciendo un hisopo de algodón humedecido en la cloaca o colon ^(2,17,19), o realizar un enema con solución salina introduciendo cuidadosamente en la cloaca un catéter conectado a una jeringa para introducir el líquido y después succionarlo de vuelta para centrifugarlo y revisar el sedimento microscópicamente ^(7,13,21,23,25). Esta técnica es útil para observar el movimiento ameboideo con pseudópodos. Sin embargo, se reporta que los enemas cloacales son inconsistentes para diagnosticar la entamoebiasis y que se debe realizar más de un muestreo

antes de descartar por completo la presencia del parásito, lo cual involucra un mayor manejo de los animales ⁽⁷⁾.

La observación microscópica de los quistes y trofozoítos móviles, se realiza diluyendo una porción de la muestra con solución salina fisiológica o solución de Locke sobre un portaobjetos y revisándola a un aumento de 300x ⁽¹⁹⁾. Sin embargo, la detección es más fácil si la muestra se mezcla con solución de lugol ^(17-19,32) o solución de eosina acuosa al 1 % ^(19,36). El lugol vuelve a los quistes más visibles, confiriéndoles un color café y tiñendo los núcleos, lo cual con una amplia magnificación (400x), puede ayudar a determinar si se trata de *E. invadens*, tomando como criterio la estructura y número de núcleos presentes en el quiste ⁽¹⁷⁾.

Con este método, es necesario observar por lo menos de dos a tres muestras y repetir el procedimiento uno o dos días después para corroborar la infección ⁽¹⁹⁾.

Desafortunadamente, la detección de portadores es difícil empleando la técnica anterior, debido al bajo número de quistes que eliminan ^(18,37) y a que hay animales que eliminan el parásito intermitentemente ⁽⁹⁾. Por otro lado, la prevalente dificultad para diferenciar a *E. invadens* de amibas no patógenas del género *Entamoeba spp.* por su morfología tan similar hacen de esta técnica una herramienta poco útil para la obtención de un diagnóstico definitivo ⁽³⁷⁾.

De la misma manera, en el caso de quelonios, la técnica no arroja resultados confiables, ya que la infección sólo se puede detectar cuando la cantidad de trofozoítos es muy alta en la muestra fresca, además de que estos se desecan rápidamente después de ser eliminados ^(18,31), por lo tanto el diagnóstico prácticamente depende de la detección e identificación de la fase quística ⁽³¹⁾. Asimismo, la eliminación intermitente del organismo reduce significativamente la probabilidad de que el animal se encuentre eliminando el parásito al momento de colectar la muestra, ya que incluso animales con casos severos de amibiasis pueden haber dado negativo en exámenes coproparasitológicos repetidos ⁽³¹⁾.

Un diagnóstico más preciso en quelonios, se obtiene evaluando el líquido recolectado de un enema cloacal como se explicó en los párrafos anteriores ⁽³¹⁾.

Cultivo

Los resultados negativos en el examen microscópico directo, posibilitan la realización de técnicas de cultivo ^(9,18,19,31). Sin embargo, las técnicas de cultivo son extremadamente tediosas y tienen mayor utilidad en el campo de la investigación que en el diagnóstico de rutina ⁽¹⁹⁾.

Se ha demostrado que el examen microscópico de cultivos *in vitro* es más eficiente para detectar la infección en animales portadores y en aquellos que eliminan al parásito intermitentemente en comparación con el examen microscópico directo ^(8,9,31,38).

Para cultivar al parásito, se puede usar el sedimento obtenido de centrifugar el líquido recuperado del enema cloacal ^(7,31) o tomar una muestra de excretas ⁽¹⁹⁾. Se conocen diferentes medios de cultivo, lo más frecuentes son los medios difásicos usados en el cultivo de *E. histolytica*. Un medio difásico consiste en una preparación especial de agua, yema de huevo coagulada o suero cubierta con una fase líquida. Las amibas crecen sobre la superficie de la fase sólida ⁽¹⁹⁾. Todos los medios modificados para el cultivo de *E. invadens*, están basados en los medios descritos por Boeck y Drbholav así como por Dobell y Laindlow. Por otro lado, los medios monofásicos, se basan en las preparaciones de Balamauth o Nelson ⁽¹⁹⁾.

Los cultivos se incuban a 24 °C por 1 a 3 días ^(7,38), ya que al transcurrir ese período, las muestras se deterioran ⁽³⁸⁾. El crecimiento de amibas se revisa dentro de 2 a 3 días y 1 semana después ⁽¹⁹⁾; para esto, los tubos de cultivo se centrifugan antes de remover la muestra para observarla al microscopio; así aumenta la probabilidad de detectar los quistes amebianos ⁽³⁸⁾. Los resultados positivos, se observan cómo un crecimiento amebiano masivo ^(16,19), los cultivos negativos se deben subcultivar al menos dos veces antes de descartar la presencia del parásito ⁽¹⁹⁾.

1.7.2. Diagnóstico serológico

En medicina humana se dispone de pruebas serológicas como las herramientas más útiles para diagnosticar la amibiasis ^(11,18). Aunque dichas pruebas no existen comercialmente para su uso en reptiles, algunas se han adaptado con este fin ⁽¹⁸⁾, como se describe a continuación.

Ensayo por Inmunoabsorción Ligado a Enzima (ELISA).

Los antígenos basados en ELISA, son sensibles, específicos y fáciles de usar por personal de laboratorio con poca experiencia ⁽¹⁸⁾, se cree que esta prueba puede incrementar la sensibilidad en la detección de la amibiasis ^(9,25). No obstante, en un estudio efectuado en el Zoológico de Maryland se demostró que *E. invadens* no es detectable mediante la prueba de ELISA ⁽³⁷⁾.

Inmunofluorescencia.

Es utilizada en cierto tipo de investigaciones y no como parte de un diagnóstico de rutina ^(18,19,36), ya que es posible marcar el suero de reptiles para desarrollar la prueba. Al parecer, un título de 1:16 resulta positivo ⁽¹⁹⁾. También puede realizarse la prueba de Inmunofluorescencia indirecta ^(18,19,36).

Electroforesis.

Se emplea en la investigación de laboratorio, los resultados revelan cambios típicos de disproteinemia cuando el hígado está afectado ⁽¹⁹⁾.

Es posible adaptar más pruebas para el diagnóstico de amibiasis intestinal en reptiles, por ejemplo: Prueba de inmunodifusión amebiana en gel (IAG), Fijación del Complemento (FC), Inmunolectroforesis (IEF), Hemaglutinación Indirecta (HI) y Aglutinación con látex (AL). Aunque se debe investigar más a fondo para conocer cuál de estas pruebas funciona mejor para detectar *E. invadens*, y sí son capaces de diferenciar entre amibas patógenas y apatógenas de reptil ⁽¹⁸⁾.

1.7.3. Diagnóstico molecular.

En la actualidad, el único método que existe para distinguir entre las diferentes especies del género *Entamoeba spp.*, es la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) ⁽¹⁴⁾. Se ha conseguido desarrollar exitosamente los iniciadores para las diferentes especies de *Entamoeba sp.* ⁽³⁷⁾. Asimismo, la técnica se ha comenzado a emplear para el diagnóstico definitivo de la entamoebiasis reptiliana ⁽³⁵⁾, lo cual la vuelve una herramienta prometedora en el diagnóstico definitivo de la enfermedad.

1.7.4. Técnicas histológicas.

Histología.

Es posible aunque costoso realizar un diagnóstico histológico examinando microscópicamente pequeñas muestras de colon, intestino o hígado (órganos con mayor probabilidad de afectación) ^(19,26,31). El tejido puede recolectarse usando un endoscopio, en caso de muestra intestinal o un laparoscopio para otros órganos ⁽³¹⁾. Los trofozoítos y fases prequisticas se detectan en las muestras teñidas por diversas técnicas, aunque se requiere de cierta experiencia para diferenciar la amiba del tejido circundante ⁽¹⁹⁾.

Inmunohistoquímica.

Se ha desarrollado la inmunohistoquímica usando un anticuerpo policlonal contra *E. invadens* para usarse en serpientes ⁽¹⁴⁾. La técnica es útil para diferenciar amibiasis de monocercomoniasis ^(14,18).

1.7.5. Diagnóstico Post-mortem

Durante los brotes de amibiasis, resulta vital realizar la necropsia de los animales recién muertos, los hallazgos postmortem son útiles para emitir el diagnóstico ^(18,23). Asimismo, el examen de cortes histológicos a la necropsia resulta el mejor método para obtener un buen diagnóstico ^(2,9,19,25,26). Los cortes fijados de intestino e hígado pueden teñirse con hematoxilina férrica para demostrar de una manera más consistente los núcleos vesiculares en los trofozoítos, en comparación con la tinción de Hematoxilina – Eosina estándar ^(2,28).

Así por ejemplo, en una epizootia de amibiasis en tortugas de patas rojas (*Geochelone carbonaria*) ⁽¹⁴⁾, la histopatología de duodeno e hígado fue definitiva para diagnosticar la infección; ya que durante el examen microscópico de excretas, no se encontraron trofozoítos ni quistes.

1.7.6. Diagnóstico diferencial.

El diagnóstico diferencial incluye Salmonelosis, Shigelosis y verminosis entéricas, sin embargo ninguna de estas etiologías, provoca morbilidad y mortalidad tan alta, y se descartan haciendo un examen coproparasitológico adecuado y técnicas de cultivo ^(8,22).

En un estudio en el que las lesiones sugerían amibiasis intestinal por *E. invadens*, al realizar inmunohistoquímica se observó que en la mitad de los casos en realidad se trataba de monocercomoniasis ^(18,19).

La estomatitis ulcerativa también se ha asociado con enteritis necrótica ⁽⁸⁾.

1.7.7. Diagnóstico Definitivo

El diagnóstico definitivo de *E. invadens* es complicado debido a sus características morfológicas en común con amibas no patógenas del género *Entamoeba spp.* El hecho de encontrar formas amebianas sugerentes de la infección por *E. invadens* durante exámenes coproparasitológicos en reptiles asintomáticos, no implica necesariamente que se trate de este parásito. Por tanto, las amibas comensales encontradas en reptiles deben identificarse en el laboratorio ⁽⁷⁾. La determinación definitiva resulta importante para no fallar en el diagnóstico y evitar el tratamiento de protozoarios no patógenos, así como para conseguir un diagnóstico temprano de la amibiasis patogénica provocada por *E. invadens* ⁽³⁷⁾.

Bradford, en un estudio llevado a cabo principalmente con tortugas y lagartos, demostró por PCR que numerosas muestras con diagnóstico negativo de amibiasis por observación microscópica de excretas, en realidad fueron positivas al género *Entamoeba spp.*, por lo que manifiesta que “el género *Entamoeba spp.* es más común en el tracto gastrointestinal de reptiles de lo que se cree”. Además, sólo encontró *E. invadens* en una de las muestras estudiadas, hecho que permite suponer que en las especies de reptil que se estudiaron, la mayoría de hallazgos de *Entamoeba spp.* no son patógenas, aunque debe investigarse más al respecto ⁽³⁷⁾.

1.8. Prevención y control

La prevención de la enfermedad se basa en el conocimiento de la forma en que la infección se transmite y de los factores que favorecen su presentación. Las medidas profilácticas se vuelven la condición más importante para evitar que la enfermedad se presente dentro de la colección ya que el tratamiento de amibas patógenas usualmente fracasa ^(13,19).

En primera instancia hay que evitar por completo el manejo mixto de los reptiles que se consideran más susceptibles (serpientes, lagartos carnívoros y tortugas terrestres) con aquellos considerados reservorios (tortugas acuáticas, semiacuáticas y cocodrilos) ^(18,29,32). Si la colección es mixta, lo más prudente es alojar las especies susceptibles lo más lejos posible de los reservorios, evitando así cualquier tipo de contacto entre estos ^(18,23,29,31). Además, aunque los exhibidores mixtos pueden parecer más vistosos y educativos ⁽¹⁸⁾, se deben evitar por obvias razones ^(18,22). En el caso de colecciones mixtas, la higiene tiene que ser más estricta, llevando un orden que impida la transmisión de quistes de los reptiles reservorios a los susceptibles ⁽²⁹⁾, cada grupo de reptiles debe tener sus propios utensilios de alimentación y limpieza para prevenir la contaminación cruzada ⁽²³⁾. Sí bien, el tratamiento médico de los reptiles reservorios es complicado ^(18,22), puede ser una medida que reduzca significativamente el peligro de infección a partir de estos animales ⁽²²⁾.

Debe crearse un estricto programa sanitario de rutina para la limpieza y mantenimiento de encierros y terrarios ^(9,22,25,31), que incluya:

- La desinfección constante de encierros y terrarios, dejándolos vacíos por un período, permitiendo la desecación de cualquier microorganismo ^(18,29,31). Los procedimientos de desinfección se mencionan más adelante.
- El uso individual de herramientas para la limpieza de exhibidores, cajas y otros artículos que tienen contacto con deposiciones, mudas de piel, agua y sustrato ^(8,18,19,26). De no ser posible, entonces estas herramientas deben limpiarse y desinfectarse concienzudamente ^(8,22,26,31), al igual que la vestimenta de los cuidadores ⁽²²⁾.
- La desinfección del equipo como perchas (troncos), bebederos y material de ambientación antes de cambiarlos de exhibidor o encierro ⁽¹⁸⁾.

- La capacitación de los cuidadores en cuanto a los procedimientos higiénicos adecuados, prestando especial atención al lavado de manos o cambio de guantes entre el aseo de encierros ^(18,26).

Todos los animales recién ingresados deben cuarentenarse en una habitación lo más lejana posible y en total aislamiento del resto de la colección para reducir la probabilidad de contaminar los alojamientos y de que los vectores propaguen las posibles infecciones ^(8,9,18,25,26,3). El período de cuarentena debe durar por lo menos de seis a ocho semanas ⁽¹⁹⁾, durante las que se debe supervisar el estado de salud, y se deben realizar evaluaciones parasitológicas repetidas para reducir la posibilidad de introducir animales enfermos a la colección ^(8,9,18,19), pero como ya se estableció, en los casos de amibiasis intestinal, los portadores asintomáticos son muy difíciles de detectar ⁽¹⁸⁾.

Durante el período de cuarentena se puede dar un tratamiento profiláctico a las serpientes, particularmente a las que se sospecha que tuvieron contacto con tortugas u otro reservorio ⁽²²⁾.

Algunos autores sugieren el uso de ciertos fármacos bajo distintos regímenes con fines profilácticos ^(19,22,23), por ejemplo, Mitchell establece que “pueden darse de 400 a 800 mg de tetraciclina por metro de longitud corporal PO, ya sea de forma directa o dentro del alimento”, también menciona “la diloxanida a 0.5 g/kg PO y el clorhidrato de emetina a 40 mg/kg” ⁽²³⁾. Donaldson y col. (1975), administraron metronidazol a 275 mg/kg con fines profilácticos y terapéuticos ⁽²²⁾. Frye y col., mencionan que “Contant, utilizó aureomicina mensual a 1 g por cada 40 ó 50 kg” ⁽¹⁹⁾.

Es muy importante reducir al máximo el estrés, ya que los reptiles se perturban fácilmente, los cuidadores deben procurar el bienestar de los reptiles, y minimizar los factores que les provocan estrés ⁽¹⁹⁾. También deben evitarse cambios bruscos de temperatura, ya que al ser animales ectotérmicos son sensibles a estos ⁽²²⁾.

Un suministro de agua confiable es fundamental, así como sistemas de drenaje y purificación eficientes, en especial sí el agua se recicla desde un reservorio central que va a los exhibidores, y más aún si en este cuerpo de agua hay tortugas y/o cocodrilos como en la epizootia descrita por Donaldson ⁽²²⁾. Otra epizootia mencionada por Denver ⁽¹⁸⁾, tuvo lugar por un inadecuado sistema de drenaje en los exhibidores. Por lo tanto, los suministros de agua y sistemas de drenaje deben ser limpiados rutinariamente ⁽²⁶⁾.

Por otro lado, es primordial que el alimento provenga de fuentes confiables, ya que puede venir contaminado con quistes de amiba y otros patógenos ^(7,26,31); además, no deben darse las presas que una serpiente o lagarto no quiso comer a otro reptil susceptible ⁽²⁶⁾.

Una estrategia preventiva adecuada, sería alojar por separado a los reptiles provenientes de regiones geográficas diferentes a la de la colección, ya que según Marcus “la susceptibilidad a desarrollar la enfermedad en estos aumenta” ⁽⁸⁾.

Quizá, la medida más importante para prevenir la amibiasis y cualquier otra enfermedad dentro de la colección, es la capacitación de los manejadores, concientizándoles del peligro que el patógeno representa para la colección y exhortándoles a realizar un buen trabajo, ya sea con respecto a las medidas higiénicas pertinentes o manteniendo una constante vigilancia de los animales para reportar inmediatamente cualquier anomalía ^(20,22,35).

Una vez que se detectó la presencia de amibiasis en la colección, es necesario tomar las medidas pertinentes para controlarla, sin embargo es complicado ya que el agente se propaga fácilmente por dos razones, por ser un patógeno inespecífico y debido a su ciclo de vida directo y ^(2,16,18,23,25).

Cualquier caso de amibiasis se debe aislar de la colección y recibir tratamiento médico de inmediato ^(7,18,22,29), lo anterior es vital ya que las muertes ocurren rápidamente, además así se controla la propagación del agente ^(18,22). Asimismo, se debe desparasitar a los reptiles que tuvieron contacto con los animales afectados ⁽¹⁷⁾.

Desafortunadamente, el tratamiento no siempre es la respuesta como se verá más adelante, particularmente en quelonios asintomáticos, en los que la eliminación de la infección intestinal es problemática, por lo que continúan eliminando quistes, y el riesgo permanece latente dentro de la colección ⁽⁹⁾. Por lo tanto la limpieza y desinfección de los encierros se vuelve la medida de control más importante para disminuir el riesgo de transmisión, principalmente en los animales alojados en encierros donde hubo casos de amibiasis ^(7,9,22).

Para asegurar que la infección fue eliminada, es importante llevar a cabo muestreos coproparasitoscópicos después que concluir el tratamiento ^(9,25).

Se puede descontaminar las superficies sospechosas lavándolas con agua muy caliente o vapor ^(7,31), ya que se sabe que el protozooario *Entamoeba histolytica* (filogenéticamente cercano a *E. invadens*) se elimina en menos de un minuto exponiéndolo a temperaturas de

52 °C o más ⁽³¹⁾. Asimismo, se puede incrementar la temperatura ambiental en los encierros (desalojando previamente a los reptiles), ya que se sabe que los quistes de *E. histolytica* sobreviven uno o dos días a 37 °C ⁽³¹⁾.

Los alojamientos exteriores se desinfectan en forma natural ya que quedan expuestos a temperaturas altas durante los meses calurosos (a menos que se recontaminen) ⁽³¹⁾.

Si se sospecha del abastecimiento de agua como fuente de infección, se debe someter a procedimientos de filtración física, radiación ultravioleta o adición de agentes químicos ^(26,31).

No hay estudios disponibles sobre la susceptibilidad y resistencia de los quistes de *E. invadens* a desinfectantes; no obstante, se sabe que los quistes de *E. histolytica* resisten 30 minutos en una solución de dicloruro de mercurio al 1:2500 y en una solución de formalina al 5%, también se sabe que los quistes son destruidos en 15 minutos con una solución de cresol 1:20, en 30 minutos en una solución de ácido carbónico al 1 % y después de 15 minutos en ácido acético al 5 % ⁽¹¹⁾, así que estos desinfectantes se pueden considerar para usarse contra *E. invadens*. Por otro lado se sabe que los quistes de *E. histolytica* son muy resistentes al cloro ⁽¹¹⁾.

Finalmente, para restringir la diseminación de la enfermedad, es indispensable controlar las plagas vectores del parásito ⁽¹⁸⁾.

1.9. Tratamiento.

La terapia de la amibiasis intestinal en reptiles, particularmente en los casos de disentería amebiana debe enfocarse en tres aspectos principales: la medicación con un amebicida eficaz, terapia de sostén; que incluya antibióticos de amplio espectro y la elevación de la temperatura ambiental ^(16,26).

1.9.1. Tratamiento antiamebiano.

El tratamiento de amibiasis intestinal en reptiles, se ha basado invariablemente en la prescripción de amebicidas de uso humano ^(8,18). En la mayoría de los casos, la dosificación de estos fármacos se basa en la experiencia empírica, extrapolación y estudios limitados ^(18,39).

A grandes rasgos, el criterio a seguir para la medicación contra la amibiasis intestinal en humanos depende de la localización del parásito; intra o extraintestinal, y de la severidad de

la infección ^(9,40,41). En casos en los que la localización es intestinal y la infección asintomática o leve se usan antiamebianos clasificados como agentes lumbinales, que tienen como características su absorción intestinal baja y una buena actividad antiqúística (ej. diyodohidroxiquinoleina, paromomicina, furoato de diloxanida, entre otros), sí la infección intestinal es de moderada a intensa, se opta por combinar el agente luminal con fármacos clasificados como amebicidas tisulares, es decir que tienen buena absorción intestinal y actividad contra trofozoítos (ej. metronidazol, dimetridazol y otros nitroimidazoles), y en amibiasis severa de localización extraintestinal o sistémica, el tratamiento es con amebicidas tisulares solos o combinados, administrados oral y/o parenteralmente, acompañados por terapia de sostén ^(12,40,41). No obstante, en medicina de reptiles, la bibliografía menciona tales principios.

Una de las primeras recomendaciones para tratar la amibiasis principalmente en serpientes fue el uso de tetraciclina oral a una dosis de 400 a 800 mg/kg ⁽²³⁾; aunque, posteriormente se comprobó su ineficacia para aminorar los efectos de la enfermedad ⁽²²⁾.

Asimismo, el Clorhidrato de emetina tuvo un uso histórico para tratar la amibiasis invasiva en humanos y reptiles ^(8,11,18,19,23). La dosis recomendada en reptiles fue de 40 a 88 mg/kg administrada intramuscularmente por siete días. Antes de comenzar el tratamiento, se recomendaba hacer un enema con 650 g de hidroxiquinoleina diluidos en 150 ml de solución salina al 0.9%, diariamente por 14 días ^(8,23). Aunque la terapia curó en apariencia la infección en un dragón de Komodo (*Varanus komodoensis*) ⁽⁸⁾, la dosis recomendada de Clorhidrato de emetina excede por 40 veces la dosis máxima de seguridad en humanos ⁽²²⁾, además es un compuesto cardiotóxico ^(18,22), y ocasiona toxicidad neuromuscular, razones por las que prácticamente ya no se utiliza ⁽¹⁸⁾.

En la actualidad, el metronidazol se mantiene como el fármaco de elección para la profilaxis y tratamiento de la amibiasis intestinal en reptiles bajo una amplia variedad de dosis y esquemas terapéuticos ^(7-9,13,17,18,23,25,26,39). Su uso en reptiles fue introducido por Donaldson y col. hacía 1975 durante una epizootia en serpientes constrictoras. En su reporte atribuyen al fármaco excelentes propiedades como profiláctico y terapéutico, así como un efecto orexigénico marcado ⁽²²⁾.

Hoy en día se sabe de la toxicidad del metronidazol en reptiles, que se relaciona principalmente con el uso de dosis mayores a 200 mg/kg y a la susceptibilidad de ciertas

especies principalmente de serpientes ^(7,9,18,42), los efectos adversos incluyen hepatotoxicidad, alteraciones neurológicas ^(7,9,18,42) e incluso la muerte ⁽⁴²⁾. Por tal motivo, el fármaco está contraindicado en pacientes grávidos, débiles y con disfunción hepática ^(7,9).

Las especies de serpiente en las que se reporta susceptibilidad al compuesto incluyen: serpientes del género *Lampropeltis spp.*, serpientes índigo (*Drymarchon corais.*), serpientes cascabel de Uraoa (*Crotalus durissus vegrandis*) ^(7,25,42) y serpientes piloto (*Elaphe obsoleta*) ⁽¹⁸⁾. La toxicidad del metronidazol, ha llevado a algunos autores a recomendar el uso de los rangos terapéuticos inferiores para favorecer la seguridad del paciente ^(7,25,42).

Por otra parte, aunque en términos generales el metronidazol es un buen amebicida intra y extraintestinal, su principal actividad es contra trofozoítos, careciendo de efecto alguno ante las formas quísticas del parásito ^(9,18,31).

Asociado a lo anterior, recientemente se ha identificado una efectividad irregular en el tratamiento con metronidazol, ya que en las evaluaciones coproparasitoscópicas posteriores al tratamiento no se observa disminución de las formas parasitarias*, por lo tanto es comprensible que el uso tan difundido del metronidazol como amebicida ⁽³⁹⁾, aunado a la tendencia de dosificar con los “rangos terapéuticos inferiores” ^(7,25,42), probablemente llevaron a la generación de resistencia farmacológica ⁽⁴²⁾; de modo similar, en medicina humana se habla de una inefectividad del metronidazol contra *Entamoeba histolytica* ⁽⁴³⁻⁴⁵⁾, debida a una posible resistencia ⁽⁴⁴⁾, en este tenor, a nivel de laboratorio se han desarrollado cepas de *E. histolytica* resistentes al metronidazol ⁽⁴³⁾, por lo cual dicha posibilidad no puede descartarse.

Para enfrentar la problemática ligada a los inconvenientes que representa el uso del metronidazol como agente terapéutico en la amibiasis intestinal reptiliana, se ha comenzado a considerar su remplazo o uso concurrente con otros amebicidas ^(9,18,31), para esto nuevamente se ha recurrido a los fármacos usados en medicina humana ^(9,18). Sin embargo algunas fuentes, indican que ningún fármaco sólo o en combinación ha erradicado por completo la infección por *E. invadens*, señalando que en el mejor de los casos la infección puede controlarse para reducir o desaparecer los signos clínicos ⁽³¹⁾.

* Cid, M.E.: Comunicación personal, 2010.

A continuación se presentan algunos de los amebicidas de uso humano reportados en la literatura de reptiles, no obstante, en el Apéndice B se detallan sus dosis y esquemas terapéuticos.

Diyodohidroxiquinoleina (yodoquinol)

Se considera un amebicida que tiene actividad contra quistes y trofozoítos solamente en la luz intestinal ^(9,18,41), se cree que destruye las formas parasitarias, al bloquear sistemas enzimáticos esenciales ⁽¹²⁾. Su utilización en reptiles ha sido reportada por McArthur, quien dió tratamiento a varios ejemplares de diferentes especies de quelonios. Sus reportes indican que “al administrar el fármaco, cesó la eliminación de quistes, más no fue erradicada” ⁽⁹⁾.

Asimismo Denver y col. (1999), evaluaron su toxicidad en serpientes piloto juveniles (*Elaphe obsoleta*) a tres dosis diferentes por catorce días, y encontraron lesiones de hepatitis, pancreatitis y esplenitis a la necropsia ^(9,38).

Actualmente, autores como Klingenberg y Frye ^(7,9,26) recomiendan el tratamiento con una preparación comercial de uso humano llamada Flagenase ®, cuya fórmula contiene diyodohidroxiquinoleina y metronidazol; sin embargo, la administración de este producto en serpientes ha llegado a ocasionar la muerte †.

Paromomicina

Es un antibiótico que pertenece al grupo de los aminoglucósidos, por lo cual su mecanismo de acción se relaciona con la inhibición de la síntesis de proteínas, posiblemente debido a su unión irreversible con las subunidades ribosomales ⁽⁴⁶⁾. Al no ser una sustancia absorbible en el tracto gastrointestinal, en medicina humana se usa para erradicar los quistes de la luz intestinal ^(9,18,40,41). Existen reportes anecdóticos sobre su uso en reptiles ^(8,9,18,25,47), conociéndose entre sus efectos secundarios leve irritación gástrica y sobrecrecimiento de hongos ⁽¹⁸⁾. Sin embargo, McArthur menciona casos en donde “el tratamiento con paromomicina provocó falla renal aguda en felinos, lo cual pudo deberse a una absorción sistémica del compuesto, derivada de una erosión de la mucosa intestinal” ⁽⁹⁾. De modo que sí se sospecha de compromiso de la mucosa intestinal en los casos

† Cid, M.E.: Comunicación personal, 2010.

de amibiasis intestinal reptiliana, debe tenerse precaución antes de implementar un tratamiento con paromomicina.

Furoato de diloxanida.

Es un amebicida de acción directa, que actúa principalmente contra los trofozoítos del intestino ^(12,40); sin embargo, su mecanismo de acción es desconocido ⁽⁴¹⁾.

En comparación con otros amebicidas, su uso en reptiles se ha reportado poco, ^(8,9,18,23) no obstante en humanos se conocen pocos efectos colaterales ^(9,41). En reptiles, su toxicidad fue estudiada por Denver y col. (1999), quienes no encontraron signos ni lesiones asociados con su uso ⁽³⁸⁾; sin embargo, los resultados que presentan no son concluyentes. Su efectividad contra *E. invadens* sigue sin ser determinada por estudios clínicos ⁽⁹⁾.

En la actualidad, el furoato de diloxanida no está disponible comercialmente en muchos países, incluido México. ^(18,48).

Cloroquina.

Su presentación comercial es oral o inyectable por vía intramuscular. En medicina humana, principalmente está indicado para tratar la malaria ^(9,41). Como amebicida su acción es sobre los trofozoítos localizados en hígado (absceso hepático amebiano), careciendo de actividad frente a los organismos en intestino, por lo tanto en medicina humana sólo se usa para tratar la amibiasis extraintestinal ^(12,41). Su mecanismo de acción no se conoce con exactitud, aunque parece estar relacionado con la elevación del pH intracitoplasmático, lo cual eventualmente implica la eliminación del parásito ⁽⁴⁰⁾

En reptiles, McArthur inyectó cloroquina por vía intramuscular a tres quelonios, aplicando una dosis de 50 mg/kg, observó que uno de los pacientes desarrolló ataxia en el miembro de aplicación; sin embargo no relacionó el evento con la administración del compuesto. Concluyó que “todos los animales tratados continuaron eliminando quistes después de finalizar el tratamiento” ^(9,25).

Dimetridazol.

Al igual que el metronidazol, pertenece al grupo de los nitroimidazoles, por lo tanto posee una farmacodinamia similar al de este compuesto, que se explica más adelante. Su actividad es contra protozoarios y bacterias anaerobias y tiene un buen efecto en la penetración de abscesos, por lo cual es efectivo en la amibiasis extraintestinal ^(9,18). La disponibilidad comercial del dimetridazol es baja ^(18,47).

1.9.2. Terapia de sostén.

Simultáneamente al tratamiento con el amebicida de elección, se debe hacer un examen profundo del paciente con la finalidad de controlar posibles desórdenes concurrentes y proporcionar un cuidado intensivo ^(7,9,16).

Es recomendable dar terapia con antibióticos de amplio espectro para controlar las infecciones por bacterias oportunistas gramnegativas que agravan significativamente el cuadro clínico de la enfermedad ^(7,9,16,18,25,31). La bibliografía recomienda cloranfenicol a 50 mg/kg cada 12 horas por 14 días y gentamicina de 2.2-4.4 mg/kg cada 72 horas por 5 aplicaciones ^(23,31).

La terapia de sostén también puede requerir la medicación con antimicóticos ⁽²⁵⁾, terapia de fluidos y complejos multivitamínicos ^(7,26), así como soporte nutricional (alimentación forzada) ⁽²⁵⁾.

1.9.3. Elevación de la temperatura.

El valor terapéutico de elevar la temperatura en el tratamiento de la amibiasis fue demostrado por Meerovitch, quien inoculó serpientes con *E. invadens* y estableció que la amiba reduce su patogenicidad entre los 35 y 37 °C, y pierde su infectividad debajo de 13 °C ⁽³⁰⁾. Estas conclusiones han llevado a recomendar el incremento de la temperatura ambiental como medida auxiliar al tratamiento farmacológico ^(7-9,16,31,32). En términos generales, la recomendación es tener a las serpientes a temperaturas de entre 35 y 37 °C ^(7,16,25). Para el tratamiento con metronidazol se recomiendan temperaturas de hasta 38 °C ⁽¹⁷⁾. No obstante es peligroso mantener a las serpientes a estas temperaturas, ya que si no se tiene la precaución de vigilar su hidratación, puede haber estrés térmico ^(17,31), que ocasiona daño neurológico e inmunológico ⁽⁷⁾. Además, esta práctica no es posible en

serpientes que no están acostumbradas a temperaturas cálidas, ya que no toleran esas temperaturas, por lo que se deshidratan y mueren ⁽³⁰⁾. Se ha sugerido que elevar la temperatura puede tener el mismo efecto en otros reptiles ^(9,31).

Por el contrario, como medida terapéutica en los reptiles con amibiasis, es imposible disminuir la temperatura por debajo de los 13 °C, ya que puede comprometerse el sistema inmunológico ⁽⁷⁾.

1.10. Salud Pública.

Aunque *Entamoeba invadens* y *Entamoeba histolytica* que afecta al ser humano comparten una importante semejanza morfológica, biológica y clinicopatológica ^(8,23,24,26), los estudios inmunológicos, bioquímicos y fisiológicos han demostrado que *E. invadens* se restringe a reptiles, por eso no representa peligro para la salud pública ^(7,8,22,23,30). Pese a esto, Frye señala la existencia de casos aislados de meningoencefalitis amebiana en humanos ⁽²⁶⁾.

En realidad, la semejanza entre ambas especies, permite a los investigadores usar el parásito de reptiles como modelo experimental para el estudio *E. histolytica* ^(8,18), principalmente en lo relacionado al proceso de diferenciación ^(44,49).

2. Propiedades farmacológicas del metronidazol y la etofamida.

2. 1. Metronidazol.

El metronidazol cuyo nombre químico es 1-metil-2-(metiletil)-5-nitro-1-Himidazol ^(10,12,15), es un fármaco cuya síntesis química y estudio tuvo interés a partir del descubrimiento de la azomicina (2-nitroimidazol), observándose en éste buena actividad *in vitro* contra *Trichomonas vaginalis* y *Entamoeba histolytica* ⁽¹⁵⁾. Se trata de un nitroimidazol sintético que se presenta en forma pura como un polvo cristalino inodoro de color crema, poco soluble en agua y etanol ^(10,15).

Es un fármaco que tiene actividad contra diversos tipos de protozoarios y bacterias anaerobias ^(9,10,15,39,46), se absorbe bien en tracto gastrointestinal después de su administración oral ^(15,39,46), debido a su naturaleza lipofílica, su distribución es rápida y amplia después de que se absorbió, alcanzando concentraciones elevadas en todos los tejidos, incluyendo huesos, abscesos y SNC ^(9,15,39,46), y en fluidos como LCR, saliva, fluido seminal y secreciones vaginales ^(10,46). El 85 % de la dosis se biotransforma en hígado por oxidación y formación de glucoronidos ^(10,15), los metabolitos y la parte del fármaco sin transformar se excretan principalmente en orina y en una baja proporción en heces ^(10,15,46).

Estudios sobre su farmacocinética en reptiles revelaron que su vida media en iguanas verdes (*Iguana iguana*) es de 11.7 hrs., y en serpientes ratoneras amarillas (*Elaphe obsoleta quadrivittata*) es de 14 a 15 horas, en ambos casos resulta mayor que en mamíferos (3 a 8 hrs ⁽⁴⁶⁾); asimismo, se estableció que para la iguana verde, el pico de concentración plasmática es de 7.6 mcg/ml, mismo que se alcanza a las 4 horas de la administración PO, y permanece de 12 a 24 horas después de administrar el fármaco. En las serpientes, el pico de concentración fue de 14 mcg/ml, consiguiéndose a las dos horas de la administración PO. En ambos casos las concentraciones plasmáticas máximas fueron suficientes para alcanzar la concentración mínima inhibitoria (CMI) de las bacterias anaerobias patógenas estudiadas; por lo tanto, para tratar este tipo de infecciones, en iguanas verdes se recomiendan dosis de 20 mg/ml cada 24-48 hrs, y en serpientes ratoneras amarillas, de 20mg/kg cada 48 hrs ^(9,39).

En cuanto a su farmacodinamia, se puede considerar al metronidazol como un profármaco, ya que necesita ser activado por los organismos sensibles ⁽⁴⁰⁾, una vez que se difunde en su interior, el grupo nitro acepta electrones de proteínas transportadoras de

electrones con potenciales redox pequeños como las ferredoxinas, a esto se le conoce como oxidación reductora ^(15,40), la reducción es catalizada por complejos de hierro y azufre. La actividad antimicrobiana puede deberse a los intermediarios reducidos, que al interactuar con el DNA y tal vez con proteínas y membranas provocan daños en su estructura, eliminando a la bacteria o protozoo blanco ^(15,40,42,46). Al finalizar la reacción los intermediarios citotóxicos se descomponen en compuestos atóxicos e inactivos ⁽¹⁵⁾.

Las indicaciones generales del metronidazol incluyen el tratamiento de parásitos protozoarios e infecciones anaeróbicas entéricas y sistémicas ^(10,15,39,46). En reptiles también se usa como estimulante del apetito ^(7,22,39), aun cuando se desconoce el mecanismo de dicho efecto ^(7,26). Su posología en reptiles para el tratamiento de amibiasis intestinal se presenta en el Apéndice B.

En términos generales, los efectos adversos del metronidazol se manifiestan después de dosis altas o dosis moderadas usadas por períodos prolongados, y principalmente incluyen desordenes neurológicos, hepatotoxicidad y en ocasiones signos de enfermedad gastroentérica ^(15,46). En animales de laboratorio se han observado efectos carcinogénicos ⁽¹⁰⁾. Algunos reptiles dosificados a más de 200 mg/kg, presentan ataxia, incapacidad para desplazarse, nistagmos, opistótonos, tremor de músculos lumbares y miembros posteriores, convulsiones y muerte; así como, salivación, diarrea, regurgitación y elevación de la Aspartato amino transferasa (AST) ^(39,42). El metronidazol está contraindicado en reptiles con disfunción hepática, debilidad ^(7,9), y aunque sus efectos teratogénicos son controversiales ⁽⁴⁶⁾, no se recomienda su uso en pacientes grávidos ^(7,9). En serpientes índigo (*Drymarchon corais*) y serpientes del género *Lampropeltis spp.* se contraindican dosis mayores a 100 mg/kg y en la serpiente cascabel de Uracoa (*Crotalus durissus vegrandis*), las dosis mayores a 40 mg/kg ⁽³⁹⁾.

Con respecto a sus interacciones medicamentosas, se sabe que la cimetidina disminuye su absorción, incrementando la posibilidad de efectos secundarios relacionados con la dosis, el fenobarbital y la fenitoína incrementan su metabolismo, disminuyendo sus niveles sanguíneos. El metronidazol puede incrementar el tiempo de protrombina (PT) en pacientes que reciben warfarina, por lo que se debe evitar su uso simultáneo ⁽⁴⁶⁾.

La presentación comercial más conocida es el Flagyl ®, ya sea en tabletas de 250 y 500 mg o frasco de 120 ml con suspensión de 250mg/5 ml ⁽⁴²⁾.

2.2. Etofamida.

La información disponible sobre las propiedades farmacológicas de la etofamida es escasa. Para conocimiento del autor, no hay reportes sobre su uso en reptiles; sin embargo, éste aplicó diariamente por tres días una dosis total de 0.136 mg (datos obtenidos por ajuste alométrico), para el tratamiento de amibiasis en una lagartija escorpión, *Barisia imbricata*, en la que se negativizaron los exámenes coproparasitológicos a los 15 días de concluir el tratamiento[‡].

La etofamida o eticlordifene, cuyo nombre químico es 2,2-Dicloro-N-(2-etoxietil)-N [(4-nitrofenoxi) benzil] acetamida, es un amebicida derivado de la dicloroacetamida, de acción luminal e insoluble en agua^(44,45,50-52), fue descrito como amebicida en 1972⁽⁵³⁾.

Es una sustancia que por su insolubilidad en agua, jugo gástrico e intestinal prácticamente no se absorbe^(50,52,53), y se excreta principalmente en heces^(52,53). La permanencia de la etofamida en el organismo es de 3 días a partir de la primera administración⁽⁵²⁾. En estudios de recuperación se ha demostrado que tras 24 horas de su administración oral, el 63 % del fármaco se excreta sin cambio en heces, y después de 72 horas el 77.2 %, mientras que sólo un 0.31 % se excreta en la orina⁽⁵²⁻⁵⁴⁾.

Se considera un fármaco de acción difusible a nivel de colon y tejido (desde lumen intestinal a mesenterio), impregnándose en tales sitios para eliminar al protozooario. Su actividad amebicida continúa teniendo una base empírica⁽⁴⁴⁾, se cree que esta actividad dura más de 48 horas; durante las cuales altera la matriz citoplasmática, provocando la degradación progresiva e irreversible del citoplasma, de modo que ocasiona la desintegración del protozooario⁽⁵²⁾.

La dosis recomendada en humanos es de 500 mg cada 12 horas por tres días^(44,50,54), la dosis pediátrica es de 15-20 mg/kg, divididos en tres tomas cada 8 horas durante 3-5 días (de 9 a 15 tomas totales)^(44,51,55).

Su actividad amebicida es prácticamente exclusiva contra el género *Entamoeba* spp., en estudios *in vitro* la etofamida fue eficaz contra *E. histolytica*, *E. coli* y *E. invadens*. La concentración mínima amebicida *in vitro* para las cepas patógenas de *E. histolytica* es de 0.01 a 0.075 mcg/mg^(53,54). Por otro lado, se ha comprobado su inactividad sobre la flora bacteriana del intestino⁽⁵⁴⁾.

En medicina humana, la etofamida se prescribe principalmente para el tratamiento de infecciones en portadores asintomáticos^(44,50,51), también se ha usado con buenos resultados

[‡] Datos no publicados, 2010.

para tratar la amibiasis aguda y subaguda ^(54,55), incluso hay estudios en los que se ha evaluado como fármaco profiláctico, en los que se consiguió reducir significativamente la incidencia de amibiasis en las poblaciones estudiadas ^(50,53).

Las pruebas clínicas sobre su eficacia en humanos han revelado que la etofamida consigue la cura parasitológica en más del 80 % de los casos ^(50,51,53,55).

No se han observado efectos adversos en humanos ^(50,53,54). Por su baja absorción, se ha demostrado su inocuidad sobre los hepatocitos con pruebas de función hepática antes y después del tratamiento ⁽⁵⁰⁾. No se han observado efectos de carcinogénesis, mutagénesis, teratogénesis ni sobre la fertilidad ^(52,53). En personas sensibles a los derivados de la dicloroacetamida ocasionalmente puede haber náusea, meteorismo o constipación, que generalmente son leves y pasajeras ^(52,54).

En pruebas de laboratorio con ratones, la etofamida fue bien tolerada hasta en dosis mayores a 5000 mg/kg vía oral. En cuanto a su toxicidad crónica, en ratas dosificadas a 1000 mg/kg durante 90 días no hubo efectos adversos ⁽⁵³⁾.

Se desconocen las interacciones medicamentosas de la etofamida, estas carecen de importancia clínica, debido a la insolubilidad de la droga en agua, jugo gástrico, alcohol y a su mínima absorción sistémica ^(50,52).

La presentación comercial se llama Kitnos ®, y se presenta en comprimidos de 200 y 500 mg o frasco de 130 ml con suspensión de 20mg/ml ⁽⁵²⁾, cabe destacar que a nivel nacional, la disponibilidad comercial del producto es buena.

II. JUSTIFICACIÓN

Entamoeba invadens, es el patógeno gastrointestinal más importante en las grandes colecciones de reptiles y puede causar pérdidas importantes en breves períodos de tiempo ^(2,26,38).

El metronidazol es el fármaco de elección para el tratamiento de la enfermedad; sin embargo, su actividad amebicida en la luz intestinal es baja y a dosis altas ocasiona hepatotoxicidad con signos neurológicos en los reptiles susceptibles ⁽³⁸⁾. En la literatura especializada, se han reportado diferentes dosis y frecuencias de administración ^(2,26); no obstante, autores como Klingenberg (1997) han impuesto la tendencia de dosificar con los rangos terapéuticos más bajos, justificándolos con la toxicidad del fármaco ⁽⁷⁾.

Recientemente, en el Laboratorio de Herpetología de la Facultad de Estudios Superiores Iztacala (FES-I) de la UNAM, se ha observado que al tratar la amibiasis intestinal con metronidazol, la efectividad no es la esperada, ya que al concluir el tratamiento, en las revisiones parasitológicas posteriores, se ha detectado la presencia de numerosos quistes amebianos. Este fenómeno ha llevado a sugerir una posible resistencia farmacológica del protozoario, debida probablemente a la tendencia de subdosificar el fármaco con los rangos terapéuticos más bajos.

Por tales motivos, es necesario evaluar alternativas farmacológicas más efectivas para tratar la enfermedad, tomando en cuenta la información existente en reptiles, así como los fármacos y esquemas terapéuticos empleados en la medicina humana.

Los fármacos y esquemas terapéuticos en medicina humana se basan en el uso de nitroimidazoles, agentes lumbinales, y amebicidas tisulares, o su combinación según sea el caso ⁽⁴⁴⁾. En la literatura de reptiles se ha reportado el uso empírico de algunos de estos fármacos ^(2,8,26); sin embargo, no hay estudios clínicos respalden tal uso ^(2,38).

Una alternativa en el tratamiento de la amibiasis intestinal humana la constituye la etofamida, un amebicida cuya eficacia ha sido objeto de estudio en el tratamiento de la amibiasis intestinal aguda y crónica, principalmente en niños. Los resultados han revelado que tiene una eficacia superior al 80% del total de pacientes tratados, y que sus efectos colaterales son mínimos ^(50,51,54,55). Sin embargo, no se han encontrado reportes de su uso en reptiles, por lo que decidió comparar su eficacia con la del metronidazol en el tratamiento de la amibiasis intestinal en serpientes.

III. OBJETIVOS

General.

- Realizar un estudio comparativo de la efectividad terapéutica de la etofamida y el metronidazol en el tratamiento de serpientes con amibiasis intestinal.

Particular.

- Determinar la dosificación de etofamida en serpientes empleando métodos alométricos.

IV. HIPÓTESIS

- La administración oral de etofamida tiene una mayor efectividad farmacológica que el metronidazol en el tratamiento de serpientes con amibiasis intestinal.

V. MATERIALES Y MÉTODOS

El presente trabajo se realizó durante las semanas hábiles del 14 de junio al 8 de septiembre de 2010 en el Laboratorio de Herpetología de la Facultad de Estudios Superiores Iztacala (FES-I) de la UNAM, ubicado en Avenida de los barrios No. 1, Los Reyes Iztacala, Tlalnepantla de Baz, Estado de México, C.P. 54090.

Esta zona se orienta geográficamente a 19° 32' latitud norte y 99° 13' longitud oeste, con una altura sobre el nivel del mar de 2,250 metros. Su clima es templado subhúmedo con lluvias en verano, de menor humedad (83.45%) y templado subhúmedo con lluvias en verano de humedad media (16.55%). La temperatura promedio anual es de 15 °C, siendo 12 °C la mínima y 18 °C la máxima[§].

Los semovientes estudiados fueron los pertenecientes a la colección del laboratorio ya citado, mismos que durante el experimento fueron alimentados una vez a la semana con ratas o ratones provenientes del bioterio de la misma institución y se les proporcionó agua *ad libitum*.

Material:

- Físico: Microscopio óptico de campo claro, equipo de McMaster, portaobjetos, báscula digital, contenedores de plástico, sondas de alimentación infantil calibre 8-12 fr., bolsas de plástico herméticas, materiales de limpieza (cepillos y atomizadores), bebederos de plástico, cinta adhesiva, etiquetas adheribles, marcador indeleble y periódico.
- Químico: Suspensiones de Metronidazol (Flagyl ®) y Etofamida (Kitnos ®), solución de lugol parasitológico, solución salina saturada, jabón neutro, detergente, desinfectante (ácido acético al 5 % ⁽¹¹⁾) y agua de filtro
- Biológico: Un lote de 30 serpientes con un peso promedio de 1,431 g, y con diagnóstico positivo de amibiasis intestinal por microscopia directa, 24 de estas pertenecientes a la especie *Boa constrictor imperator* y 6 a la especie *Python regius*, ninguna mostró signos de amibiasis severa.

[§] Instituto Nacional de Geografía y Estadística (INEGI), 2009.

Metodología.

Inicialmente los modelos experimentales propuestos, fueron serpientes de las especies *Boa constrictor imperator* y *Pitouphis deppei deppei*, sin embargo ante la falta de diagnósticos positivos en esta última, se decidió sustituirla con la especie *P. regius* (más emparentada con las boas).

Durante el período experimental, los animales permanecieron dentro de contenedores de plástico individuales con periódico como substrato, al interior de un área cerrada (Área de cuarentena), en donde la temperatura oscila entre los 26 y 31 °C, los contenedores se limpiaron diariamente con agua caliente y jabón (excepto fines de semana) ^(7,13), y se desinfectaron con una solución de ácido acético al 5 % ⁽¹¹⁾; asimismo, se bañó a las serpientes con agua tibia y jabón neutro cada vez que se encontraron excretas en los encierros.

El diagnóstico de las serpientes fue por la observación microscópica directa de los quistes amebianos en sus excretas, usando solución de lugol parasitológico como contraste ^(7-9,13,14,17,23,25,26) (Figura 10).



Figura 10. Diagnóstico positivo de amibiasis intestinal por observación microscópica directa con solución de lugol parasitológico como contraste, con la que se identificaron los quistes amebianos (flechas). 40x

Una vez que se emitió un diagnóstico positivo, se distribuyó a las serpientes en 3 grupos de diez individuos (grupo testigo, metronidazol y etofamida), que correspondió a un diseño de experimentación completamente aleatorizado ($y_{ij} = \mu + \tau_i + e_{ij}$)⁽⁵⁶⁾. Asimismo, se les asignó una clave de identificación, con la cual se rotuló el contenedor de cada serpiente. Posteriormente, se tomaron muestras de excretas frescas de los tres grupos, que fueron depositadas dentro de bolsas de plástico herméticas, añadiéndoles dos gotas de agua de filtro para evitar su desecación, e inmediatamente procesarlas para una revisión parasitológica pre-tratamiento^(51,57), llevada a cabo en las instalaciones del Laboratorio de Parasitología Veterinaria de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, UNAM. La revisión parasitológica consistió en desarrollar la técnica de McMaster (Figura 11) para contabilizar el número de quistes amebianos por gramo de excretas⁽⁵⁸⁾ Los resultados se presentan en el cuadro 2.

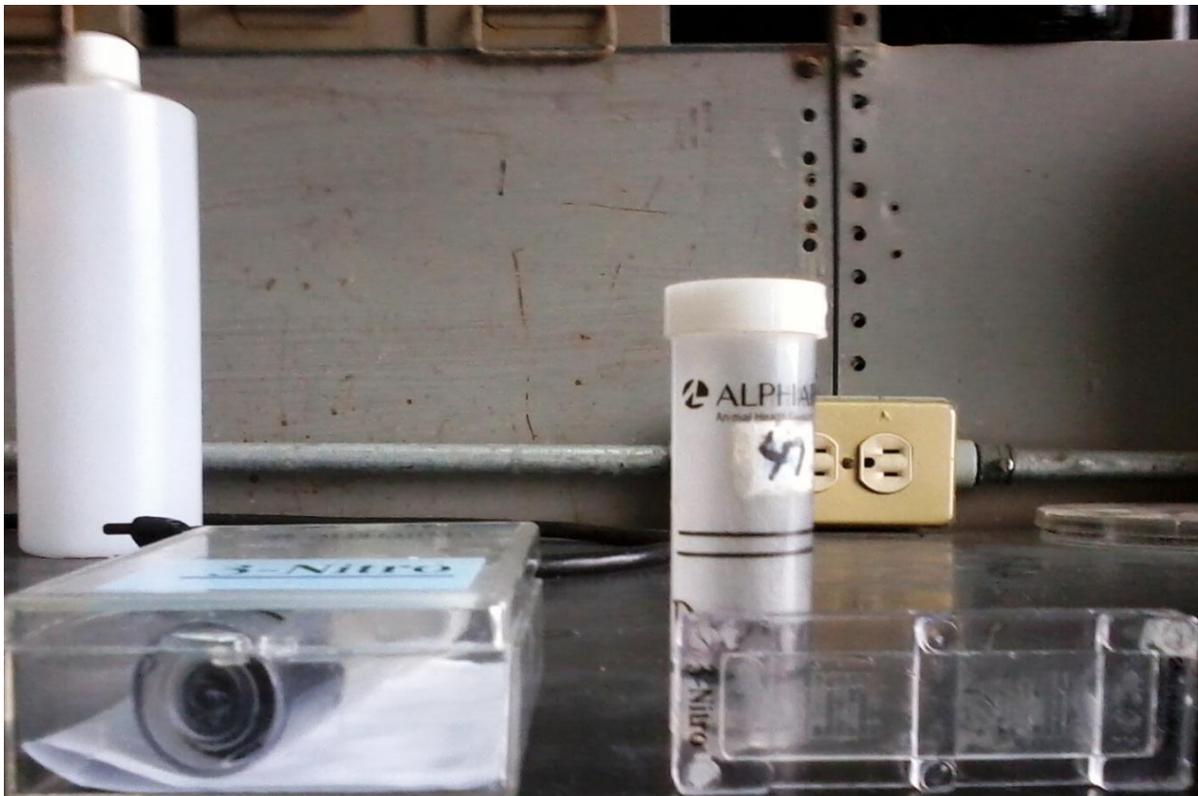


Figura 11. Equipo de McMaster con el que se desarrollaron las revisiones parasitológicas.

Los tratamientos se iniciaron 7 días después de la revisión parasitológica pre-tratamiento, al primer grupo se le administró metronidazol, siguiendo el esquema acostumbrado, es decir dos tomas de 250 mg/kg, con intervalo de 15 días ⁽⁴⁷⁾; al segundo grupo, se le administró etofamida, calculando su dosis y esquema terapéutico por alometría ^(26,59), con lo cual se obtuvo una dosis total de entre 7.15 y 18.67 mg por tres aplicaciones (Apéndice A); ambas medicaciones fueron por sondeo gástrico ⁽³⁹⁾ (Figura 12), por último el tercer grupo no recibió ningún tratamiento (grupo testigo).



Figura 12. Sondeo gástrico para la medicación oral de una boa constrictora mexicana (*Boa constrictor imperator*)

Se volvieron a recolectar excretas a los 7, 14 y 21 días de finalizar los tratamientos, siguiendo el procedimiento descrito, con el fin de efectuar tres revisiones parasitológicas post-tratamiento con la misma técnica ^(51,54). Se obtuvieron los resultados presentados en los cuadros 3, 4 y 5.

VI. RESULTADOS.

Durante las semanas hábiles del 14 de junio al 8 de septiembre de 2010, se realizó un muestreo parasitológico de excretas en los 3 grupos de 30 serpientes con diagnóstico positivo de amibiasis intestinal, tales muestreos se hicieron antes y semanalmente en tres ocasiones al concluir los tratamientos con metronidazol y etofamida.

Tras la revisión parasitológica pre-tratamiento se observó que la carga parasitaria promedio en los tres fue de más de 19,000 quistes por gramo de excretas (Cuadro 1).

Cuadro 2. Cantidad de quistes amebianos por gramo de excretas en la revisión parasitológica pre-tratamiento.

Cantidad de quistes amebianos por gramo de excretas ^A			
	Grupo testigo	Grupo Metronidazol	Grupo Etofamida
	25,250	40,250	48,850
	23,750	21,600	11,950
	24,600 ^B	12,500	15,200 ^B
	18,500	5,800	4,100
	35,600	51,750 ^B	27,750
	8,800	30,750	37,800
	8,250	6,150	28,750
	8,600	14,500	4,150
	38,900	14,950	13,750
	4,106 ^B	2,100 ^B	2,805 ^B
Total	196,356	200,350	195,105
Media	19,636	20,035	19,510.5
DE	12066	16201	15670

^A Determinada por técnica de McMaster.

^B Especie: *Python regius*, el resto de datos corresponden a *Boa constrictor imperator*.

Los Cuadros del 3 al 5 indican los resultados para la técnica de McMaster durante las revisiones parasitológicas post-tratamiento en los tres grupos, a los días 7, 14 y 21 de finalizar los tratamientos.

Cuadro 3. Efecto de los tratamientos con metronidazol y etofamida a los 7 días de su finalización sobre la cantidad de quistes amebianos eliminados en excretas de serpientes.

Cantidad de quistes amebianos por gramo de excretas^A			
	Grupo testigo	Grupo Metronidazol	Grupo Etofamida
	25,600	39,650	29,350
	23,750	17,500	7,800
	25,100 ^B	8,850	10,900 ^B
	18,500	5,750	2,400
	36,250	51,100 ^B	18,350
	11,200	27,000	20,750
	11,400	4,500	15,575
	8,850	10,150	2,950
	39,700	14,600	9,000
	5,250 ^B	1,650 ^B	850 ^B
Total	205,600	180,750	117,925
Media	20,560	18,075	11,792.5
DE	11624	16337	9168

^A Determinada por técnica de McMaster.

^B Especie: *Python regius*, el resto de datos corresponden a *Boa constrictor imperator*.

Cuadro 4. Efecto de los tratamientos con metronidazol y etofamida a los 14 días de su finalización sobre la cantidad de quistes amebianos eliminados en excretas de serpientes.

Cantidad de quistes amebianos por gramo de excretas^A			
	Grupo testigo	Grupo Metronidazol	Grupo Etofamida
	25,250	39,650	16,100
	22,450	16,150	5,800
	25,750 ^B	7,900	5,750 ^B
	21,000	4,860	2,100
	27,500	50,850 ^B	12,800
	11,200	23,100	15,400
	11,950	3,850	5,700
	11,000	9,000	1,800
	40,150	14,100	5,700
	5,250 ^B	1,450 ^B	300 ^B
Total	201,500	170,910	71,450
Media	20,150	17,091	7,145
DE	10384	16378	5668

^A Determinada por técnica de McMaster.

^B Especie: *Python regius*, el resto de datos corresponden a *Boa constrictor imperator*.

Cuadro 5. Efecto de los tratamientos con metronidazol y etofamida a los 21 días de su finalización sobre la cantidad de quistes amebianos eliminados en excretas de serpientes.

Cantidad de quistes amebianos por gramo de excretas ^A			
	Grupo testigo	Grupo Metronidazol	Grupo Etofamida
	28,850	40,050	9,200
	24,250	15,700	1,650
	27,850 ^B	7,600	2,000
	24,000	4,600	1,150 ^B
	27,800	50,300 ^B	6,350
	13,750	20,150	9,150
	13,950	3,600	5,050
	13,700	8,750	650
	40,150	14,150	1,950
	5,600 ^B	1,450 ^B	50 ^B
Total	219,900	166,350	37,200
Media	21,990	16,635	3,720
DE	10132	16296	3465

^A Determinada por técnica de McMaster.

^B Especie: *Python regius*, el resto de datos corresponden a *Boa constrictor imperator*.

La finalidad de realizar tres revisiones parasitológicas post-tratamiento fue medir y comparar la disminución o aumento de la cantidad de quistes amebianos en los tres grupos por tres semanas consecutivas a la finalización del tratamiento. En la Figura 13 se presenta una gráfica donde se compara el total de quistes amebianos por grupo contabilizados con la técnica de McMaster durante las revisiones parasitológicas pre y post-tratamiento.

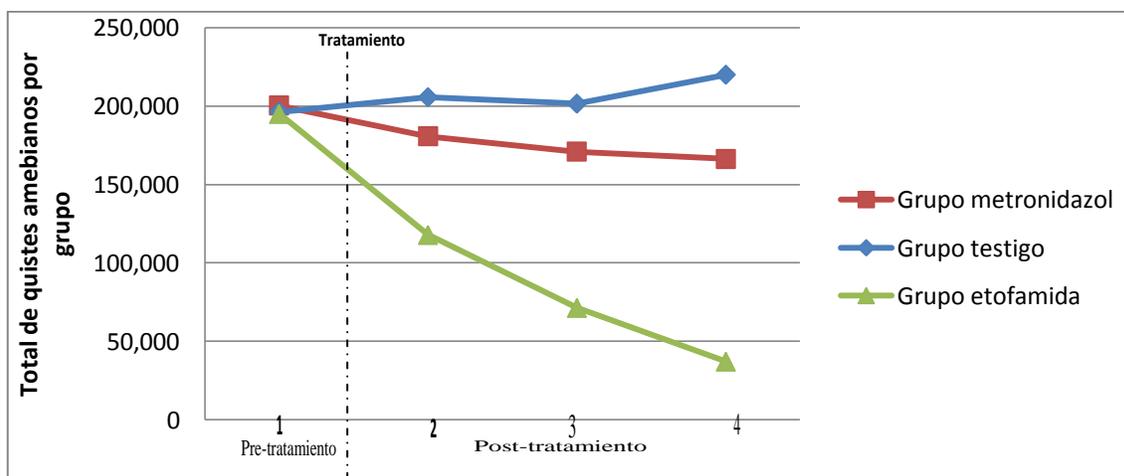


Figura 13. Comparación del total de quistes amebianos en los tres grupos antes y después de la medicación con metronidazol y etofamida.

En la gráfica anterior se aprecia que en el grupo medicado con etofamida la disminución de la cantidad total de quistes amebianos fue más notoria, en comparación con el grupo que recibió metronidazol donde también hubo una disminución gradual, pero menos evidente, en cambio en el grupo testigo, la cantidad de quistes se mantuvo más o menos constante, con un ligero aumento que representó un 11.9% al concluir el experimento. En el Cuadro 7 se hace una comparación de la disminución expresada en porcentaje para los grupos de metronidazol y etofamida..

Cuadro 7. Comparación del porcentaje total de quistes amebianos detectados en el grupo medicado con metronidazol y el medicado con etofamida durante el transcurso de las revisiones parasitológicas.

Grupo	Pre-tratamiento	7 días post-tratamiento	14 días post-tratamiento	21 días post-tratamiento
Porcentaje de quistes amebianos				
Metronidazol	100%	90.21%	85.30%	83.02%
Eofamida	100%	60.44%	36.61%	19.06%

En este cuadro se observa que grupo medicado con etofamida tuvo una mayor disminución en el porcentaje de quistes amebianos en el transcurso del experimento. Los porcentajes de disminución de quistes amebianos en la última revisión parasitológica para los grupos de metronidazol y etofamida, se comparan gráficamente en la figura 14.

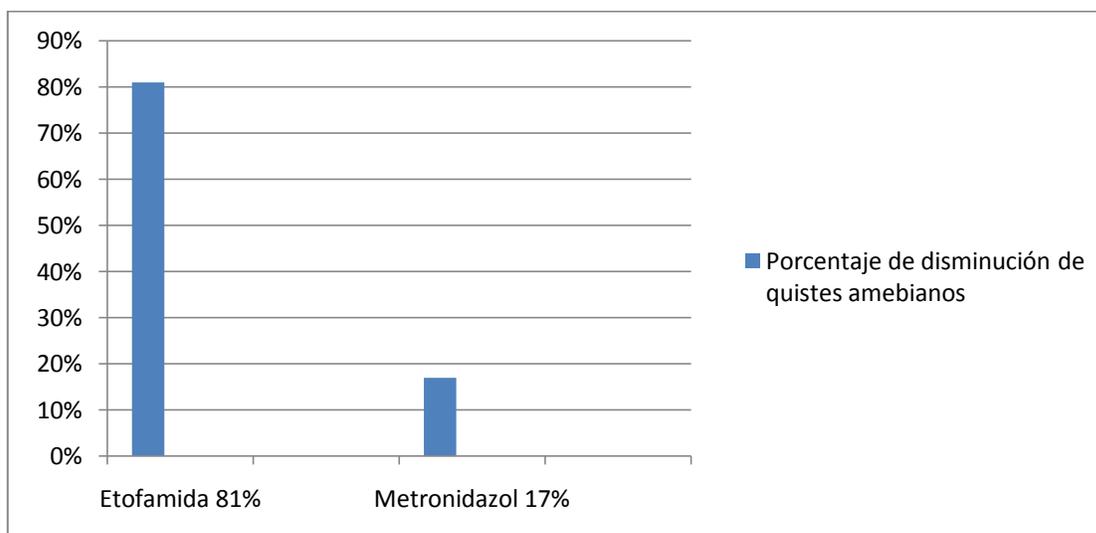


Fig. 14. Comparación del porcentaje de disminución de quistes amebianos en la última revisión parasitológica entre los grupos de metronidazol y etofamida.

Al concluir el experimento, los resultados de las revisiones parasitológicas se analizaron estadísticamente con la prueba de ANOVA empleando el software Excel, y se obtuvo lo siguiente:

Tabla 1. Tabla de ANOVA para los resultados de la revisión parasitológica pre-tratamiento.

Fuente de variación	g.l	SC	CM	R.V.	P	F crítico
Entre grupos	2	1500902	750451	0.003445	0.996562	3.354131
Dentro de grupos	27	5882466035	217869112			
Total	29	5883966937				

Puesto que $R.V. < F$ crítico, no se rechaza la hipótesis nula, es decir probablemente todas las medias poblacionales son iguales ⁽⁵⁶⁾.

Tabla 2. Tabla de ANOVA para los resultados de la primera revisión parasitológica post-tratamiento (7 días después de concluir el tratamiento)

Fuente de variación	g.l	SC	CM	R.V.	P	F crítico
Entre grupos	2	408380292	204190146	1.260277	0.29973	3.354131
Dentro de grupos	27	4374542813	162020104			
Total	29	4782923104				

Puesto que $R.V. < F$ crítico, la hipótesis nula no se rechaza, es decir probablemente todas las medias poblacionales son iguales ⁽⁵⁶⁾.

Tabla 3. Tabla de ANOVA para los resultados de la segunda revisión parasitológica post-tratamiento (14 días después de concluir el tratamiento)

Fuente de variación	g.l	SC	CM	R.V.	P	F crítico
Entre grupos	2	924701407	462350703	3.40	0.048	3.354131
Dentro de grupos	27	3673621540	136060057			
Total	29	4598322947				

Puesto que $R.V. > F$ crítico, se rechaza la hipótesis nula, por lo cual los resultados de los tratamientos son diferentes ⁽⁵⁶⁾.

Para determinar entre que grupos hubo diferencia, se realizó la prueba de Tukey usando el paquete estadístico Minitab®, el cual generó los siguientes resultados:

	N	Media	Agrupación
Testigo	10	20150	A
Metronidazol	10	17091	A B
Etofamida	10	7145	B

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Tabla 4. Tabla de ANOVA para los resultados de la tercera revisión parasitológica post-tratamiento (21 días después de concluir el tratamiento)

Fuente	g.l	SC	CM	R.V.	p	F crítico
Entre grupos	2	1764220500	882110250	6.96	0.004	3.35413082858061
Dentro de grupos	27	3422200250	126748157			
Total	29	5186420750				

Puesto que R.V es mayor que F crítico, se rechaza la hipótesis nula, por lo cual los resultados de los tratamientos son diferentes ⁽⁵⁶⁾.

Nuevamente se efectuó la prueba de Tukey con el paquete estadístico Minitab ®, para determinar entre cuales grupos hubo diferencia significativa, se obtuvieron los siguientes resultados:

	N	Media	Agrupación
Testigo	10	21990	A
Metronidazol	10	16635	A
Etofamida	10	3720	B

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Con los datos anteriores puede notarse que a pesar de que la disminución de quistes amebianos fue más notoria en el grupo tratado con etofamida desde la primera revisión post-tratamiento, esta diferencia tuvo significancia estadística a partir de los 14 días de que concluir el tratamiento con respecto al grupo testigo, y a los 21 días con respecto a ambos grupos. En cambio, entre el grupo medicado con metronidazol y el grupo testigo en ningún momento del experimento hubo diferencia significativa.

Los resultados obtenidos en cuanto a la dosificación de la etofamida por ajuste alométrico, así como los cálculos pertinentes, se presentan en el Apéndice A.

VII. DISCUSIÓN

La amibiasis intestinal por *E. invadens* en reptiles es una de las enfermedades infecciosas con mayor prevalencia en este grupo de animales ^(14,19-23). Lo anterior se pudo comprobar, ya que el diagnóstico de las serpientes estudiadas se obtuvo con relativa facilidad; asimismo, las cargas parasitarias encontradas en los tres grupos fueron notablemente intensas, con una media por grupo que superó los 19,000 quistes por gramo de excretas.

En el presente estudio no se consiguió la supresión total de la infección con la terapia farmacológica, ya que en las revisiones parasitológicas post-tratamiento aunque hubo una mayor disminución en la cantidad de quistes amebianos en el grupo medicado con etofamida, al concluir las observaciones la disminución fue del 81%, es decir, permaneció el 19 % de la población total de quistes detectada al inicio del experimento. Al respecto, es un hecho que la terapia farmacológica de la amibiasis intestinal en reptiles cautivos, representa un problema ya que el parásito tiene un ciclo de vida directo ^(2,13,16,18,19,25), por lo cual cuando los reptiles están en cautiverio, generalmente dentro de espacios reducidos, es muy factible que se reinfecten ^(13,31). Esto puede explicar porque no se consiguió eliminar el parásito, lo cual coincide con los resultados del trabajo de Gracenea y col. (1998), que al estudiar la actividad del secnidazol y la paramomicina contra algunos protozoarios con ciclo de vida directo en primates, en ciertos casos relacionados con la reinfección, no se logró eliminar los parásitos ⁽⁵⁷⁾.

Al analizar estadísticamente los resultados de las revisiones parasitológicas post-tratamiento, se encontró que aunque existió una disminución en la cantidad de quistes amebianos desde los 7 días posteriores al tratamiento (primera revisión post-tratamiento) en los grupos que recibieron tratamiento, no hubo diferencia estadística significativa en los resultados de esta revisión entre los grupos tratados y el grupo testigo, lo cual posiblemente se debió a que ninguno de estos fármacos tiene acción directa sobre las formas quísticas del parásito ^(18,31,44,53), por lo que al momento de realizar el muestreo (7 días post-tratamiento), los quistes formados antes de administrar los fármacos fueron detectados en las muestras de la primera revisión parasitológica. Asimismo, esto explica el hecho de que en los grupos que recibieron tratamiento, la disminución en la cantidad de quistes fue gradual.

El metronidazol, es un fármaco del grupo de los nitroimidazoles ^(12,40,41,44,45), que posee actividad frente a diversos tipos de protozoarios y bacterias anaerobias ^(9,10,15,39,46), y que actualmente en la medicina de reptiles representa la corriente principal en el tratamiento de la amibiasis intestinal ^(7-9,13,17,18,23,25,26,39). En este estudio, los resultados obtenidos con respecto al uso del metronidazol como amebicida en el tratamiento de boas y pitones infectados con amibiasis intestinal nos llevan a concluir que es un fármaco ineficaz, ya que al finalizar las observaciones, la disminución de quistes amebianos fue mínima, representado solamente el 17 %, por lo que permaneció el 83 % de la población inicial de quistes, asimismo el análisis estadístico de los resultados obtenidos en las revisiones parasitológicas post-tratamiento, no mostró diferencia significativa entre el grupo tratado con metronidazol y el grupo testigo. La explicación de esta ineficacia puede ser el hecho de que el metronidazol es incapaz de penetrar la pared de los quistes, por lo que carece de efectividad frente a estos ^(18,31,44), aunque también cabe señalar que en la práctica médica con reptiles prevalece la tendencia de dosificar el fármaco con los rangos terapéuticos inferiores por recomendación de autores como Klingenberg ⁽⁷⁾, debido a que su uso puede resultar peligroso, en especial si se emplean dosis mayores a 200 mg/kg, particularmente en los reptiles más susceptibles (ej. *Lampropeltis spp.*) en los que ocasiona hepatotoxicidad y signos neurológicos, entre otros problemas ^(39,42). Por lo tanto, se puede suponer que la tendencia de administrar indiscriminadamente el metronidazol con los rangos terapéuticos inferiores, junto a su uso tan difundido en la medicina de reptiles, a largo plazo llevaron a incrementar la concentración mínima inhibitoria (CMI) del fármaco o en su caso al desarrollo de resistencia farmacológica por parte del parásito ^(39,44), esta suposición es admisible, ya que en investigaciones realizadas con *E. histolytica*, una amiba estrechamente relacionada con *E. invadens*, a nivel de laboratorio se ha conseguido la inducción de cepas resistentes al metronidazol ⁽⁴⁴⁾. En cuanto a la eficacia clínica del metronidazol en el tratamiento de la amibiasis humana, se han reportado fallas terapéuticas, ya que la infección persiste hasta en un 60 % de los pacientes tratados con metronidazol u otros nitroimidazoles ⁽⁴⁵⁾.

Es así que estos resultados corroboran la ineficacia del metronidazol como agente terapéutico contra la amibiasis intestinal en reptiles, la cual ya se había observado en el Laboratorio de Herpetología de la FES-I.

La etofamida es un amebicida considerado eficaz y seguro en el tratamiento de la amibiasis intestinal en humanos ⁽⁵⁰⁻⁵⁵⁾, razones por las cuales se decidió evaluar su eficacia en el tratamiento de la amibiasis intestinal en serpientes, ya que como ofidios se consideran un grupo con mayor susceptibilidad a desarrollar la enfermedad severa ⁽²²⁾. En este estudio, la dosificación de etofamida se calculó por ajuste alométrico, con lo cual se obtuvieron dosis totales de entre 7.15 y 18.67 mg, con las que se consiguió una disminución del 81 % en la población total de quistes, los únicos datos disponibles para establecer una comparación provienen de un estudio clínico realizado por Padilla y col. (1995), quienes consiguieron un éxito terapéutico del 90 % al tratar la amibiasis intestinal asintomática en niños ⁽⁵¹⁾.

La etofamida fue más eficaz que el metronidazol para tratar la amibiasis intestinal en las poblaciones estudiadas, ya que en la última revisión parasitológica, el grupo tratado con etofamida tuvo una disminución del 81 % en la cantidad total de quistes y el grupo tratado con metronidazol de 17 %, asimismo estadísticamente se pudo demostrar que la etofamida tuvo mayor efectividad, ya que al concluir el experimento (21 días post-tratamiento) existió diferencia estadística significativa entre el grupo tratado con etofamida y el grupo tratado con metronidazol ($p < 0.05$).

Otra ventaja de la etofamida con respecto al metronidazol es el hecho de que es un fármaco que prácticamente no se absorbe en el tracto gastrointestinal, además de que es seguro en humanos ^(50,52,54,55) e incluso en ratones con dosis de hasta 5000 mg/kg ⁽⁵³⁾, por lo cual no es peligroso para evaluar dosis y esquemas terapéuticos menos conservadores, que son necesarios en los casos de infestación más severos, en cambio con el metronidazol, las dosis altas involucran el riesgo de comprometer la seguridad del paciente debido a que puede ocasionar hepatotoxicidad y signos neurológicos, entre otros problemas ^(7,9,18,42). Sin embargo, hay más alternativas farmacológicas que se han usado en serpientes como el dimetridazol ^(9,47,61), la paromomicina ^(8,47,61,63), el furoato de diloxanida ^(8,38) y la diyodohidroquinoleina ^(9,38), aunque su uso se basa más en experiencias empíricas que en estudios clínicos ^(18,39), por lo que su eficacia real es difícil de establecer.

Por otro lado, para comenzar a emplear la etofamida de forma habitual en el tratamiento de reptiles con amibiasis, lo ideal es determinar su dosificación exacta (mg/kg) en las principales especies, tomando como base estudios farmacocinéticos, asimismo deben mejorarse las condiciones higiénicas en las instalaciones de los herpetarios.

VIII. CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos establecen que la efectividad de la etofamida es superior a la del metronidazol en el tratamiento de boas y pitones con amibiasis intestinal sin signos clínicos evidentes de enfermedad severa, sin embargo no se consiguió la cura parasitológica de estos ejemplares, por lo tanto para erradicar la enfermedad es necesario mejorar las condiciones higiénicas de los lugares en los que habitan los reptiles.

Asimismo, mediante el desarrollo de métodos alométricos se consiguió aproximar una dosis de etofamida capaz de disminuir cuantiosamente la densidad de quistes amebianos, con lo cual surge una alternativa que se puede valorar para sustituir al metronidazol como fármaco de elección en el tratamiento de la amibiasis intestinal en reptiles.

IX. BIBLIOGRAFÍA

1. Gállego JB. Manual de parasitología: Morfología y biología de los parásitos de interés sanitario. 2ª ed. España: Edicions Universitat Barcelona, 2007.
2. Greiner CE, Mader DR. Parasitology. In: Mader DR, editor. Reptile medicine and surgery. USA: Saunders, 2006: 343-364.
3. Quíroz HR. Parasitología y enfermedades parasitarias de animales domésticos. México: Limusa, 1984.
4. Ballweber LR. Veterinary Parasitology. USA: Butterworth-Heinemann, 2001.
5. Smyth JD, Wakelin D. Introduction to animal parasitology. 3rd ed. USA: Cambridge University Press, 1994.
6. Hatt JM. Raising Giant Tortoises. In: Fowler ME, editor. Zoo and wild animal medicine. Current Therapy. USA: Saunders, 2008: 144-153.
7. Klingenberg RJ. Understanding Reptile Parasites. 2nd ed. USA: Advanced Vivarium Systems, 2007.
8. Marcus L. Veterinary biology and medicine of captive amphibians and reptiles. USA: Lea & Febiger, 1981.
9. McArthur S, Wilkinson R, Meyer J. Medicine and surgery of tortoises and turtles. United Kingdom: Blackwell, 2004.
10. Sumano HL, Ocampo LC. Farmacología Veterinaria. 3ª ed. México: McGraw-Hill Interamericana, 2006.
11. Beaver PC. Beaver: Parasitología clínica de Craig y Faust. Trad. Jorge Tay Zavala, Manuel Gutiérrez Quiroz, Yolanda García Yáñez. 3ª ed. México: Masson Doyma, 2003.
12. Bevan JA, y otros. Fundamentos de farmacología: Introducción a los principios de acción de los fármacos. Trad. Miguel Lujan Estrada. 2ª ed. México: Harla, 1982.
13. Barnard SM, Uppton SJ. A Veterinary Guide to the parasites of reptiles: Protozoa. USA: Krieger Publishing, 1994.
14. Jacobson, E.R. Infectious Diseases and Pathology of Reptiles, color Atlas and Text. USA: CRC Press, 2007
15. Lindsay DS, Blagburn BL. Antiprotozoan Drugs. In: Adams HR, editor. Veterinary Pharmacology and Therapeutics. USA: Blackwell, 2001: 992-1011.

16. Ballard B, Check R, editors. Exotic Animal Medicine for the Veterinary technician. USA: Blackwell, 2003.
17. Beynon PH, Cooper JE, Lawton M. BSAVA Manual of reptiles. USA: Iowa State University, 1992
18. Denver MC. Reptile Protozoa. In: Fowler ME, editor. Zoo and wild animal medicine. Current Therapy. USA: Saunders, 2008: 154-158.
19. Frye F, Hoff G, Jacobson E. Diseases of amphibians and reptiles. USA: Plenum Press, 1984.
20. Kojimoto A, Uchida K, Horii Y, Okomura S, Yamaguchi R, Tateyama S. Amebiasis in four ball pythons, *Python reginus*. J. Vet Med Sci 2001; 63: 1365-8.
21. Page LA. Diseases and infections of snakes: A Review. Bull wildlife disease Assoc 1966; 2: 111-25.
22. Donaldson M, et al. Epizootic of fatal amebiasis among exhibited snakes: Epidemiologic, Pathologic and Chemotherapeutic Considerations. Am J Vet Res 1979; 36: 807-17.
23. Mitchell MA. Parasites of reptiles. In: Baker DG, editor. Flynn's Parasites of laboratory animals. USA: Blackwell, 2007: 177-216.
24. Neal RA. Experimental Studies on *Entamoeba* with Reference to Speciation. In: Dawes B, editor. Advances in parasitology, vol 4. London: Academic Press, 1966.
25. Girling SJ, Raiti P. BSAVA Manual of reptiles. 2nd ed. United Kingdom: Blackwell, 2004
26. Frye FL. Biomedical and surgical aspects of captive reptile husbandry Vol. II. 2nd ed. USA: Krieger, 1991.
27. Olsen OW. Animal parasites: their life cycles and ecology. 3rd ed. USA: Courier Dover, 1986.
28. Cunha AM da, Fonseca O da. On *Entamoeba serpentis*. Mem Inst Oswaldo Cruz 1918; 10: 75-77.
29. Foreyt WJ. Veterinary parasitology. Reference Manual. 5th ed. USA: Blackwell, 2001.
30. Meerovitch E. Infectivity and pathogenicity of polixenic and monoxenic *Entamoeba invadens* to snakes kept at normal and high temperatures and the natural history of reptile amoebiasis. J parasitol 1961; 47: 791-94.

31. Barnett S. *Entamoeba invadens*: the chelonian connection. Terrapin Tales [serial online] 2003 mar [cited 2010, July 23]; Available from: URL: http://www.matts_turtles.org/docs/e_invadens.pdf
32. Hernández-Divers SJ: Reptile parasites-Summary table. In: Mader DR, editor. Reptile medicine and surgery. USA: Saunders, 2006: 1159-1170.
33. Huchzermeyer. Crocodiles. Biology, husbandry and diseases. United Kingdom: CABI, 2003.
34. Pacheco J, Shibayama M, Campos R, Beck DL, Houpt E, Petri WA Jr, Tsutsumi V. In vitro and in vivo interaction of *Entamoeba histolytica* Gal/GalNAc lectin with various target cells: an immunocytochemical analysis. *Parasitol Int* 2004; 53: 55-47.
35. Chia MY, Jeng CR, Hsiao SH, Lee AH, Chen CY, Pang VF. *Entamoeba invadens* myositis in a Common Water Monitor Lizard (*Varanus salvator*). *Vet Pathol* 2009; 46: 673-76.
36. Fontanillas JP, García CA, De Gaspar S. Los reptiles: biología, comportamiento y patología. España: Mundi Prensa, 1999.
37. Bradford CM, Denver MC. Development of a polymerase chain reaction test for *Entamoeba invadens*. *J Zoo Wildl Med* 2008; 39: 201-7.
38. Denver M, Cranfield MR, Graczyk TK, Blank P, Wisnieski A, Poole V. A review of reptilian amebiasis and current research on the diagnosis and treatment of amebiasis at the Baltimore Zoo, *Proc Am Assoc Zoo Vet* 1999; 11-15.
39. Mitchell MA, Therapeutics In: Mader DR, editor. Reptile medicine and surgery. USA: Saunders, 2006: 631-664.
40. Tracy JW, Webster LT. Fármacos usados en la quimioterapia de parasitosis por protozoarios: tripanosomiasis, leishmaniasis, amibiasis, giardiasis, tricomoniasis y otras infecciones por protozoos. En: Brunton LL, editor. Goodman & Gilman. Las bases farmacológicas del la terapéutica. Trad. José Rafael Blengio Pinto, Bernardo Rivera Muñoz, Santiago Sapiña Renard. 9ª ed. México: McGraw-Hill Interamericana, 1994.
41. Katzung BG, editor. Farmacología básica y clínica. Trad. Ignacio Monteón Batalla. México, D.F.: Manual Moderno, 2007.
42. Fitzgerald KT, Vera R. Reported Toxicities in Reptiles. In: Mader DR, editor. Reptile medicine and surgery. USA: Saunders, 2006: 1068-1080.

43. Calzado CF, Verde JS, Morales MV, Segura L. Inhibición del proceso de enquistamiento de *Entamoeba invadens* por *Castela texana*. *Ciencia UANL* 2007; 1: 44-48.
44. Fonte LG. Amebiasis: Enfoques actuales sobre su diagnóstico, tratamiento y control. Cuba: Elfos Scientiae, 2000.
45. Dans LF, Gonzales MLM, Martinez EG. Antiamoebic drugs for treating amoebic colitis (Review). *The Cochrane Library* 2009; 2: 1-130.
46. Plumb DC, editor. *Plumb's Veterinary drug handbook*. 6th ed. USA: Blackwell, 2008.
47. Diethelm G, Funk RS. *Reptile Formulary*. In: Mader DR, editor. *Reptile medicine and surgery*. USA: Saunders, 2006: 1119-1139.
48. Romero RC, Benavente H. Síndrome diarreico infeccioso. México: Médica Panamericana, 2002.
49. Turner NA, Eichinger D. *Entamoeba invadens*: The requerimets of galactose ligands during enquisting. *Exp Parasitol* 2007; 116: 467-74.
50. Abramovitch BB, Schumacher NM, Reis PCA, Rocha FLC da, Palma SLM, Geller M. Eficácia e tolerância da etofamida em pacientes com infecção intestinal por *Entamoeba histolytica*. *A Folia médica* 1992; 104: 239-41.
51. Padilla N, Figueroa RF, Rivera MS, Guerrero SG. Estudio comparativo entre quinfamida y etofamida en el tratamiento de la infección amebiana asintomática. *Rev Mex Ped* 1995; 62: 5-7.
52. *Diccionario de Especialidades Farmacéuticas*. México: Thomson PLM, 2004.
53. Von Bruhhausen F, Ebel S, Frahm AW, Hackental E. *Hagers Handbuch der Pharmazeutischen praxis*. Band 8. Deutschland: Springer Verlang, 1993.
54. Gudiño JQ, Martínez JL. Evaluación de la eficacia y tolerancia de la etofamida en el tratamiento de la amibiasis intestinal. *Comp Invest Clin Latinam* 1987; 7: 38-41.
55. Delgado R, Chavez J. Etofamida en el tratamiento de niños con amibiasis intestinal aguda. *Prensa Med Mex* 1971; 36: 358-361.
56. Daniel WW. *Bioestadística: base para el análisis de las ciencias de la salud*. Trad. Francisco León Hernández. 4a ed. México: Limusa, 2002.
57. Gracenea M, Gómez S, Fernández J, Feliu C. Secnidazol vs Paromomycin: Comparative antiprotozoan treatment in captive primates, *J Med Primatol* 1998; 27: 38-43.

58. Alba FH. Parasitología Veterinaria: Manual de laboratorio. México: UNAM, Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, 2007.
59. Kaufman M, Mayer J, Pokras M. Allometric Scaling. In: Mader DR, editor. Reptile medicine and surgery. USA: Saunders, 2006: 419-427.
60. Moreno BE, Tresguerres JAF. Retraso en el crecimiento. 2ª ed. España: Díaz de Santos, 1996.
61. Marx KL, Roston MA. The exotic animal drug compendium, an international formulary. USA: Veterinary learning systems, 1996.
62. Carpenter JW, editor. Exotic Animal Formulary. 3rd ed. USA: Saunders, 2005.
63. Bishop Y, editor. The Veterinary Formulary. 6th ed. United Kingdom: Pharmaceutical Press, 2005.

Otras Referencias:

1. Cid, EM.: Comunicación personal, 2010.
2. Prontuario de información geográfica municipal de los Estados Unidos Mexicanos. Tlalnepantla de Baz, México. INEGI, 2009. <http://www.inegi.org.mx/sistemas/mexicocifras/default.aspx?ent=15>

APÉNDICE A. DOSIFICACIÓN DE FÁRMACOS EN REPTILES POR AJUSTE ALOMÉTRICO.

El propósito del presente apartado es proporcionar una descripción general de la técnica utilizada en este trabajo para calcular la dosis de etofamida en las serpientes tratadas, así como presentar los resultados que se obtuvieron con dicha técnica.

INTRODUCCIÓN

Los estudios sobre farmacocinética en reptiles son escasos, por lo que generalmente las dosis reportadas en estas especies provienen de la extrapolación, experiencia clínica, y estudios limitados ^(18,39). En lo relacionado con la extrapolación, muchas de las dosis que se usan en reptiles provienen de datos obtenidos en investigaciones con mamíferos y aves; sin embargo, para calcular dosis más precisas, se deben tomar en cuenta las amplias diferencias fisiológicas que existen entre estas especies. Debido a las tasas metabólicas más bajas en reptiles, se espera que los fármacos tengan vidas medias más altas ⁽³⁹⁾.

Por otro lado, las dosis obtenidas en reptiles a partir de la investigación sobre la farmacocinética de algunos fármacos no necesariamente aplican para todas las especies de reptiles, en este aspecto, las extrapolaciones matemáticas pueden ser más adecuadas que basar la posología de un fármaco en conjeturas ⁽³⁹⁾.

El ajuste alométrico o metabólico es una técnica basada en una fórmula general: aM^b , donde a es una constante de ajuste, como se verá adelante, M es la masa corporal y b es el exponente de ajuste para tasas fisiológicas, como la tasa metabólica, el exponente más aceptado es 0.75 ^(26,59). Aunque los principios generales de las relaciones alométricas que se derivan de esta ecuación son válidos, se necesita investigar más al respecto para comprender sus limitantes ⁽⁵⁹⁾.

La controversia sobre el origen y validez de las ecuaciones utilizadas en el ajuste alométrico tanto en medicina veterinaria como humana permanece vigente ⁽⁵⁹⁾.

APLICACIONES

Las aplicaciones del ajuste alométrico son amplias dentro de los campos de la fisiología farmacología experimental, y van desde la alometría del riñón en lagartos hasta la aplicación del ajuste en ecosistemas enteros ⁽⁵⁹⁾.

Se estima que los estudios farmacológicos que tratan del ajuste de un fármaco entre especies diferentes pueden utilizarse para ser aplicados clínicamente; por lo tanto, en la medicina de animales de zoológico, existe la tendencia de calcular dosis de fármacos con base en fórmulas derivadas de la fórmula original de ajuste alométrico ^(26,59). De esta manera, el ajuste sirve para calcular la dosis de un fármaco para una nueva especie, con base en una dosis conocida en otra especie ⁽²⁶⁾.

Las necesidades del ajuste alométrico son claras cuando se pretende evaluar un nuevo fármaco en una nueva especie, ya que por un lado se busca obtener una dosis segura y por el otro una dosis eficaz, de esta forma los datos obtenidos por ajuste alométrico dan un mayor nivel de racionalidad que el simple hecho de predecir la dosis requerida. De hecho las dosis obtenidas con el ajuste alométrico pueden ser eficaces y seguras ⁽⁵⁹⁾.

FUNDAMENTOS

En términos simples, el concepto de ajuste alométrico se basa en el hecho de que los animales más grandes tienen tasas metabólicas menores, mientras que los animales más pequeños tienen tasas metabólicas mayores. El ajuste alométrico usa proporciones para extrapolar la dosis de un tipo y tamaño de animal a otro, con base en su peso metabólico, en lugar de su peso corporal ⁽²⁶⁾. El peso metabólico se calcula elevando el peso corporal en kg a la 0.75 potencia ^(26,59).

Para fines del ajuste alométrico, los animales de interés son agrupados en cinco categorías: aves paseriformes, aves no paseriformes, mamíferos placentados, marsupiales y reptiles, a cada grupo se le asigna un valor numérico según la temperatura corporal promedio de cada uno, a este valor numérico se le conoce como “Valor- K” ^(26,59), que viene siendo la constante de ajuste mencionada en la primera fórmula. En la Tabla 1 se presenta el Valor-K para cada grupo de animales.

Grupo	Valor K
Aves paseriformes	129
Aves no paseriformes	78
Mamíferos placentados	70
Mamíferos no placentados	40
Reptiles	10

Tabla 1. Valores- K. Tomada de Frye, 1999⁽²⁶⁾ y Mader, 2006⁽⁵⁹⁾.

PROCEDIMIENTO.

A continuación se demuestra cómo realizar la técnica de ajuste alométrico para calcular dosis, tomando como ejemplo una de las serpientes incluidas en el presente trabajo para el tratamiento con etofamida.

El primer paso es establecer un modelo animal, en este caso, los únicos datos disponibles para la dosificación de etofamida provienen de la medicina humana, entonces se optó por usar como modelo a un niño de 35 kg de peso⁽⁶⁰⁾, en el cual la etofamida se dosifica a razón de 15-20 mg/kg diarios durante tres a cinco días^(44,51,55).

Debido a que el concepto de ajuste alométrico consiste en una comparación basada en el peso metabólico y no en el peso corporal⁽²⁶⁾, el primer cálculo es el del Mínimo Costo Energético (MEC, por sus siglas en inglés), que es una función de gasto energético relacionada con la superficie corporal y no con el peso, y se define como la cantidad de energía que un individuo gasta para cubrir sus funciones digestivas, respiratorias y circulatorias, sus unidades son Kcal/día^(26,59).

La fórmula para calcular el MEC en el modelo, o sea el niño, es la siguiente^(26,59).

$$\text{MEC} = K \times \text{Peso corporal (kg)}^{0.75}$$

$$\text{Entonces, MEC}_{\text{niño}} = 70 \times (35 \text{ kg})^{0.75}$$

$$\text{MEC}_{\text{niño}} = 70 \times 14.38$$

$$\text{MEC}_{\text{niño}} = 1007 \text{ kcal/día}$$

El siguiente paso es calcular la dosis diaria de etofamida para el niño^(26,59), puesto que la dosis pediátrica de etofamida es de 15-20 mg/kg/día^(44,51,55), se obtiene lo siguiente:

$$35 \text{ kg} \times 20 \text{ mg/kg/día} = 875 \text{ mg/día}$$

Después se calcula la dosis basada en el MEC, dividiendo los mg/día entre el MEC (kcal/día), en este caso se obtienen los siguientes resultados:

$$\text{MEC}_{\text{dosis}} = \frac{875 \text{ mg/día}}{1007 \text{ kcal/día}} \quad \text{MEC}_{\text{dosis}} = 0.87 \text{ mg/kcal}$$

El próximo paso es calcular el MEC para el animal cuya dosis se desconoce ⁽²⁶⁾, en este trabajo se trató de una boa constrictora mexicana (*Boa constrictor imperator*) de 2.768 kg, para la cual se calculó lo siguiente:

$$\text{MEC}_{\text{serpiente}} = 10 \times (2.768 \text{ kg})^{0.75}$$

$$\text{MEC}_{\text{serpiente}} = 10 \times 2.146 \quad \text{MEC}_{\text{serpiente}} = 21.46 \text{ kcal/día}$$

Una vez que se conocen estos datos, se puede calcular la dosis de etofamida para la boa, con base en la dosis basada en el MEC que se obtuvo previamente, es decir se multiplica esa dosis por el MEC de la boa en cuestión ⁽²⁶⁾.

$$\begin{aligned} \text{Dosis de la serpiente} &= \text{MEC}_{\text{serpiente}} \times \text{MEC}_{\text{dosis}} \\ &= 21.46 \text{ kcal/día} \times 0.87 \text{ mg/Kcal} \\ &= 18.67 \text{ mg} - \text{dosis administrada de etofamida.} \end{aligned}$$

Para calcular la dosis en mg/kg, se divide la dosis obtenida entre el peso corporal del animal ⁽²⁶⁾, para la boa en cuestión, se obtuvo una dosis de 6.74 mg/kg.

Los cálculos para dosificar un fármaco en una especie para la cual no se conoce una dosis establecida, a partir de una dosis conocida en otra especie, se resumen en la siguiente relación ⁽⁵⁹⁾:

$$\frac{\text{Dosis conocida para el animal modelo}}{\text{MEC animal modelo}} = \frac{\text{Dosis del paciente}}{\text{MEC paciente}}$$

Después de haber calculado la dosis, se debe conocer la frecuencia de administración del fármaco, para esto se utiliza una técnica similar ^(26,59), empleando la Tasa metabólica estándar (SMR, por sus siglas en inglés) tanto para el modelo como para el paciente, esta medida se obtiene dividiendo el MEC entre el peso corporal en kg ^(26,59), continuando con el ejemplo anterior:

$$\text{SMR}_{\text{niño}} = \frac{1007 \text{ kcal/día}}{35 \text{ kg}} = 28.77 \text{ kcal/día/kg}$$

$$\text{SMR}_{\text{serpiente}} = \frac{21.46 \text{ kcal/día}}{2.768 \text{ kg}} = 7.75 \text{ kcal/día/kg}$$

Por último, se calcula el período de tratamiento con la siguiente fórmula ⁽²⁶⁾:

$$\text{Frecuencia}_{\text{paciente}} = \frac{\text{SMR}_{\text{modelo}} \times \text{Frecuencia}_{\text{modelo}}}{\text{SMR}_{\text{paciente}}}$$

$$\text{Frecuencia}_{\text{serpiente}} = \frac{28.77 \text{ kcal/kg/día} \times 24 \text{ horas}}{7.75 \text{ kcal/día/kg}} = 89.09 \text{ hrs}$$

Por lo tanto el fármaco se administró cada 89 horas de acuerdo al esquema de tres aplicaciones ^(44,51). En conclusión, para esta boa en particular se uso una dosis total de 18.67 mg cada 89 horas en tres ocasiones.

En el cuadro 8, se presentan las dosis y esquemas terapéuticos de etofamida obtenidos con la técnica anterior para cada una las serpientes involucradas en el estudio.

Cuadro 8. Dosis y esquemas terapéuticos de etofamida en las serpientes estudiadas obtenidos por ajuste alométrico.

Especie*	Peso (kg)	Dosis Total (mg)	Dosis (mg/kg)	Dosis (ml)	Esquema terapéutico**
<i>B.c.i.</i>	2.768	18.67	6.74	0.93	c/89 hrs.
<i>B.c.i.</i>	2.022	14.75	7.29	0.73	c/82 hrs.
<i>P.r.</i>	0.618	6.06	9.81	0.30	c/61 hrs
<i>B.c.i.</i>	1.414	11.28	7.97	0.56	c/75 hrs.
<i>B.c.i.</i>	1.636	12.58	7.68	0.63	c/78 hrs.
<i>B.c.i.</i>	1.299	10.58	8.14	0.53	c/74 hrs.
<i>B.c.i.</i>	1.858	13.84	7.44	0.69	c/81 hrs
<i>B.c.i.</i>	2.508	17.33	6.90	0.86	c/87 hrs
<i>B.c.i.</i>	1.560	12.14	7.78	0.60	c/77 hrs
<i>P.r.</i>	0.770	7.15	9.28	0.35	c/65 hrs.

* *B.c.i.*, *Boa constrictor imperator*. *P.r.*, *Python regius*

** Tres aplicaciones en total.

CONSIDERACIONES

Con el ajuste alométrico, es importante tomar en cuenta que las ecuaciones son meramente descriptivas en la naturaleza y no deben considerarse como leyes biológicas⁽⁵⁹⁾.

La técnica descrita solo representa un método auxiliar para cuando se requiere aproximar una dosis racional de un fármaco y que en su caso no existe posología establecida en determinada especie, y aunque tiene una base científica seria, de ninguna manera puede remplazar la investigación farmacológica para la dosificación precisa de fármacos. De hecho la técnica solamente depende de la tasa metabólica y no considera las diferencias metabólicas que pueden afectar la absorción, distribución, biotransformación y excreción de un fármaco en un individuo en particular⁽⁵⁹⁾.

Para obtener datos más precisos en el ajuste alométrico, se puede intentar reducir las diferencias entre el animal cuya dosis se conoce y el animal en el que se ajustará la dosis, seleccionando como modelo a una especie emparentada; sin embargo, muchas veces no existen los datos necesarios en especies emparentadas, entonces los cálculos deben basarse en otro modelo, pero incluso en especies muy distantes, es posible aproximar una dosis razonable⁽⁵⁹⁾.

APÉNDICE B. FÁRMACOS ANTIAMEBIANOS USADOS EN REPTILES PARA EL TRATAMIENTO DE AMIBIASIS INTESTINAL ^a.

Fármaco	Especie	Dosis (mg/kg)	Esquema terapéutico	Referencia
Metronidazol ^b	La mayoría de reptiles	40-125	Cada 72 hrs durante 5 a 7 d	29 47
		125-250 ^{c, d}	Repetir a los 10 ó 14 d	47
		25-40	SID por 3 d Repetir a los 15 d	47
		20-50	Una dosis SID/BID ^e	7
			Dos aplicaciones cada 3-4d	61
		40-200	Una dosis	61
		100	Repetir a los 15 d	9
		160 260	SID por 3 d Una dosis	
		40-100 200 ^f	Repetir en 15 d	26
		La mayoría de ofidios	125	Repetir de 72 a 96 hrs.
	50-100		Repetir cada 2 semanas hasta completar 8 ó 12 sem. ^g	25
	100		Cada 3 d por 2-3 sem.	47
			Repetir a los 15 d	62

	100-275	Repetir a los 15 d	61
	275 125-250 ⁱ	Una dosis ^h SID por 3 d	22
Serpiente del maíz (<i>Elaphe guttata</i>)	50	Cada 48 hrs. ^j	47
Boídos	125	ND	61
Cascabel de Uraoa (<i>C. d vegrandis</i>), Serpientes del género <i>Lampropeltis spp.</i> , Serpientes índigo (<i>Drymarchon corais</i>)	40	Repetir a los 15 d	7 25 43 61
Lagartos y serpientes	160	Repetir a los 15 d	
Lagartos	10	Semanalmente por 1 ó 2 meses	61
Gecónidos	30-200	Repetir a los 15 d	
Escinco de cola prensil (<i>Corucia zebrata</i>)	100	Una dosis	
Camaleónidos	40-60	De dos a 3 aplicaciones cada 7 ó 14 días	47 61
		SID por 15d	61

		50 ^k	SID por 3 a 5 d	47
		100	Repetir a los 15 d ND	47
	Quelonios	125-250	Una dosis	9
		260 150-250	Repetir a los 15 d	61
	Tortugas terrestres (<i>Testudinidae</i>)	50	SID por 3 a 5 d ^l	47
		100	SID por 3 a 5 d, repetir a los 14	6 47
			Repetir a los 14 ó 21 d	6 47
		50-250 250	Una dosis. Repetir a los 15 d	61
Dimetridazol	La mayoría de reptiles	40	SID por 5 d	61
	La mayoría de ofidios	100	Repetir a los 15 d	47
		40	SID por 5-8d	47 61
	Serpientes <i>Lampropeltis spp.</i> y <i>Drymarchon corais</i>	40	Repetir a los 15 días	47
	Quelonios	40	SID por 7-8 d	9 61
Cloroquina^m	Quelonios	50	1 v/sem. por 3 aplicaciones	9

Paromomicina	La mayoría de reptiles	33-100	SID por 4 semanas	47 61
		35-60	Repetir a los 15 d	8 63
	Quelonios	250 ⁿ	SID por 4 d	61
Furuato de diloxanida	Serpientes piloto (<i>E. obsoleta</i>)	20-60 ^ñ	SID por 14 d	38
	ND	500	ND	8
Diyodohidroxiquinoleina	Quelonios	50	SID por 21 d	9
	Serpientes piloto (<i>E. obsoleta</i>)	30-120 ^ñ	SID por 14 d	38

^a Todos son administrados vía oral, excepto donde se indique. Se recomienda la medicación por sondeo gástrico ⁽³⁹⁾.

^b Usar suspensión formulada para una dosificación más exacta ⁽⁷⁾.

^c Usar el rango inferior ⁽⁴⁶⁾.

^d No exceder los 400mg totales ⁽²⁹⁾.

^e El número de aplicaciones es a criterio del Médico Veterinario, típicamente son de dos a tres. En disentería amebiana, usar el rango superior y un mayor número de aplicaciones ⁽⁷⁾.

^f Flagenase 400 ® ⁽²⁶⁾.

^g O hasta que se negativicen los exámenes coproparásitoscópicos ⁽²⁵⁾.

^h Se usa en serpientes muy agresivas o difíciles de manejar como serpientes venenosas, si es necesario se puede repetir la dosis de 7 a 10 días después ^(13,17).

ⁱ No exceder los 400 mg diarios ⁽¹³⁾.

^{j,k} No se especifica la frecuencia.

^l Cuando hay signos avanzados de enfermedad gastrointestinal severa ⁽⁴⁶⁾.

^m Vía de administración, intramuscular ⁽⁹⁾.

ⁿ Dosis total en miligramos ⁽⁶¹⁾.

^ñ Dosis evaluadas con propósitos de toxicidad; con el furuato de diloxanida no se encontraron signos o lesiones indicativos de toxicidad, mientras que la diyodohidroxiquinoleina provocó lesiones de hepatitis, esplenitis y pancreatitis ^(9,38).