

CONTRIBUCIONES ORIGINALES

**ESTUDIO DE LA INVASION DE LA MUCOSA DEL COLON POR  
ENTAMOEBIA HISTOLYTICA**

**OBSERVACIONES RECIENTES**

NORBERTO TREVIÑO-GARCÍA MANZO †

*La amibiasis invasora por Entamoeba histolytica es una enfermedad que se presenta con gran frecuencia en nuestro país.*

*En el presente trabajo se mencionan algunos conceptos en relación con el cultivo y la patogenicidad de este parásito y sobre todo se señalan los mecanismos que algunos autores han mencionado, según sus modelos experimentales, para explicar la manera de actuar del protozoario cuando se encuentra en presencia del tejido huésped. Se proporciona información reciente a este respecto y en ella se hace énfasis en que es muy factible que la lesión amibiana inicial en el colon del animal experimental se instale por la acción de varios trofozoítos sobre las células epiteliales. Al lesionarse, las células pierden su membrana plasmática, expulsan contenido citoplásmico, abandonan la glándula y a través de las subsecuentes soluciones de continuidad, los parásitos alcanzan la lámina propia.*

La gran frecuencia con que se presentan en nuestro medio pacientes con sintomatología de amibiasis invasora aguda y grave por *Entamoeba histolytica*,<sup>1-3</sup> ya sea amibiasis del colon, del hígado o de otros órganos como el cerebro<sup>4</sup> y la piel,<sup>5</sup> hacen particularmente interesantes y necesarias las investigaciones que se realicen sobre el parásito, sobre el ambiente, sobre el huésped o sobre la enfermedad que resulta de la pérdida del equilibrio existente entre los elementos de la llamada triada epidemiológica.

En este trabajo se revisan, en forma sucinta, conceptos que tratan de explicar la capacidad de agresión

de este protozoario. Más adelante, se dan a conocer observaciones recientes del autor, realizadas con el microscopio óptico y con el microscopio electrónico, enfocando la atención en la interrelación que existe entre el parásito y la mucosa del colon del animal experimental y en especial en el modo de acción del trofozoíto sobre la célula huésped del intestino.

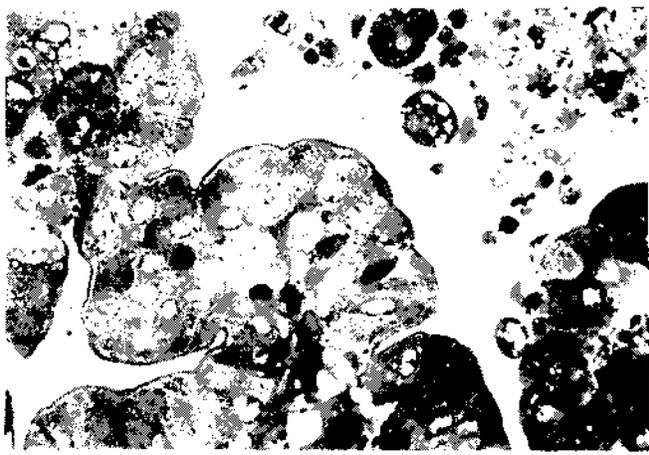
¿Cuáles son los mecanismos de que se vale el trofozoíto de *Entamoeba histolytica* para lesionar y penetrar el epitelio intestinal?

Esta es una pregunta que desde hace muchos años se han hecho los investigadores<sup>6-8</sup> y aunque los esfuerzos realizados la han contestado en forma parcial, hasta el momento actual se desconoce la respuesta.

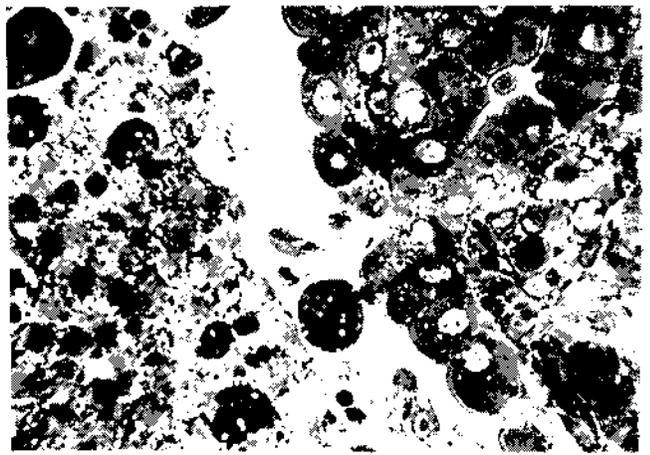
Enseguida se hará mención de los descubrimientos y los resultados de algunos autores, que aunque se

\* Trabajo de ingreso a la Academia Nacional de Medicina, presentado en la sesión ordinaria del 21 de septiembre de 1977.

† Subjefatura de Enseñanza. Jefatura de Enseñanza e Investigación. Subdirección General Médica. Instituto Mexicano del Seguro Social.



1. *Izquierda.* En la porción derecha y superior se observan dos trofozoitos de *Entamoeba histolytica* muy cerca de la superficie epitelial de la mucosa del colon. No hay adhesividad entre ambos elementos en la porción apical de las vellosidades.



2. *Derecha.* Trofozoito de *E. histolytica* en contacto estrecho con dos o tres células epiteliales: dañadas.

acepta *a priori* no son ni con mucho los únicos, significan importantes aportaciones, tanto al conocimiento de la biología de *Entamoeba histolytica*, como a la comprensión de su capacidad invasiva.

Es necesario anotar entonces el importante descubrimiento hecho por Diamond,<sup>9</sup> del cultivo del trofozoito de *Entamoeba histolytica* en condiciones axénicas. A partir de tal perfeccionamiento, las investigaciones en relación a la biología, la patogenia, la inmunología y la amebiasis experimental, se desarrollaron en forma importante.

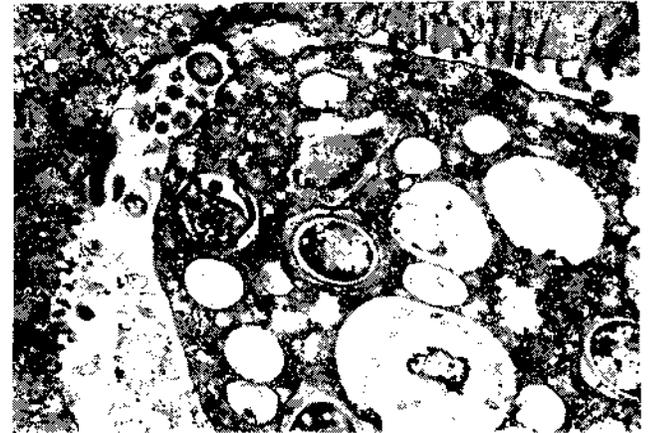
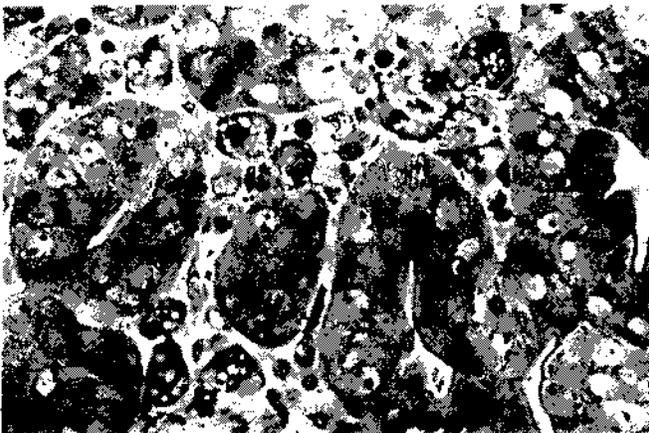
Hasta los trabajos de Tanimoto y col.,<sup>10</sup> se aceptaba por la comunidad científica que para que el proto-

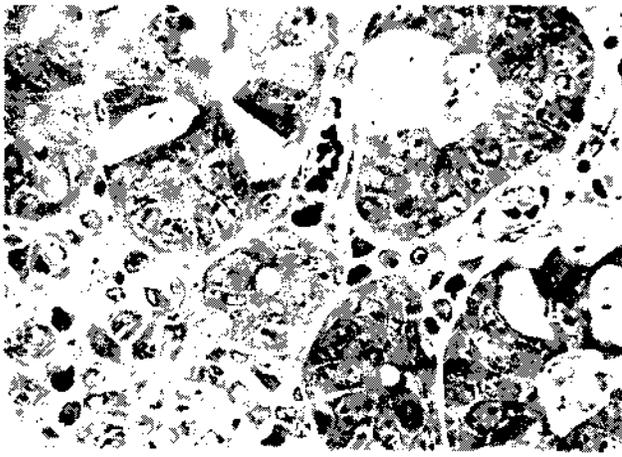
zoario ejerciera su papel patógeno, era necesario que se desarrollara, tanto *in vivo* como *in vitro*, en unión con una o más bacterias.<sup>11</sup> Ya con anterioridad, las observaciones realizadas por otros expertos<sup>12, 13</sup> habían demostrado que del material necrótico extraído de las lesiones amebianas hepáticas del humano y del animal experimental no se lograban aislar otros microorganismos que no fueran las amibas. Desde entonces se empezó a dudar de que para que el trofozoito fuese capaz de producir abscesos hepáticos, era necesario que se uniera con diferentes tipos de gérmenes. Sin embargo, y esto es necesario recalcarlo, otros estudiosos del tema han demostrado que aunque la presencia de bacterias no es indispensable para que el trofozoito de *Entamoeba histolytica* pueda producir lesiones en el hígado del animal experimental, su capacidad invasiva aumenta en forma considerable cuando se desarrolla en unión de otros microorganismos.

En 1969, Eaton y col.<sup>14</sup> descubrieron un elemento citoplásmico y de membrana que denominaron "lisosoma activo de superficie". En base a él emitieron lo que a mi juicio es una hipótesis atractiva que trata de explicar el mecanismo disparador e inicial de la lesión tisular. El "lisosoma activo de superficie" puede

5. *Izquierda.* Nótese la presencia de varios trofozoitos en el seno de la lámina propia. No se observan polimorfonucleares.

6. *Derecha.* Trofozoito de *E. histolytica* en contacto estrecho con las células epiteliales de la glándula colónica. Obsérvese el acortamiento y la desaparición de las microvellosidades.





3 *Izquierda.* Presencia de dos trofozoitos en la luz de dos glándulas colónicas.

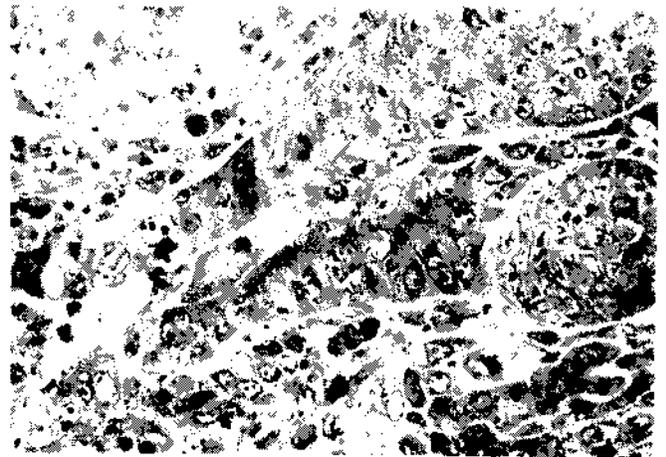
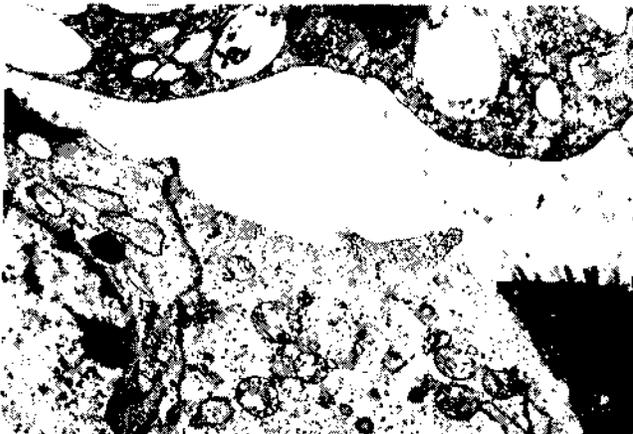
4 *Derecha.* Desplazamiento de un trofozoito de *E. histolytica* a través de la luz glandular.

representar, si no la única, sí una forma más de poner en contacto las enzimas citolíticas del parásito con los tejidos del huésped. La demostración hecha por el autor<sup>11</sup> y por otros acerca de la existencia de enzimas lisosomales, específicamente fosfatasa ácida, en el interior de algunas vacuolas del parásito, dio apoyo a la hipótesis de Eaton.

El trofozoito de *Entamoeba histolytica* posee una capacidad hematófaga extraordinaria, mucho más activa que otras amibas no patógenas. Esta característica se conoce desde hace ya varios decenios, pero hasta el advenimiento de la cinematografía aplicada a la

7 *Izquierda.* La presencia por mayor tiempo del trofozoito en la luz glandular, permite que las alteraciones celulares sean mayores. Obsérvese la desaparición total de las microvellosidades y de la membrana plasmática en algunas zonas.

8 *Derecha.* Alteraciones que se producen en las células epiteliales de la glándula y la penetración del epitelio por el trofozoito de *E. histolytica*. Nótese la ausencia de polimorfonucleares.

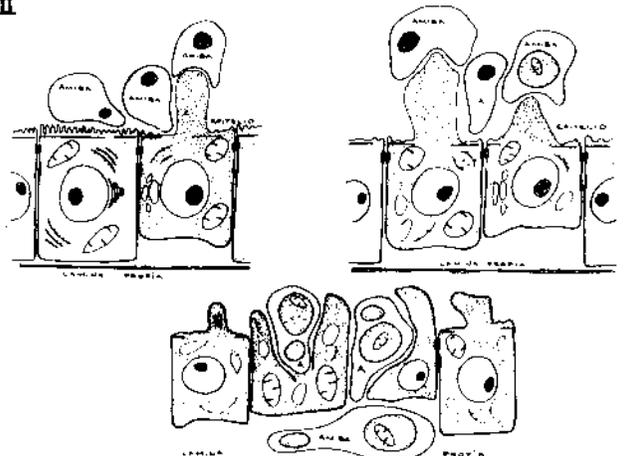


biología y del uso del microscopio electrónico en el estudio de este problema, no se sabía con precisión cómo fagocitaba el parásito a los hematíes y menos aún, cómo los incorporaba a su citoplasma. Chévez y col.<sup>10</sup> y el autor<sup>11</sup> ofrecieron en forma casi simultánea, mayor información al respecto. Pero además, la voracidad del parásito para fagocitar otros elementos figurados de la sangre, además de los glóbulos rojos, es impresionante.<sup>12</sup>

Por otro lado, se ha especulado<sup>13</sup> acerca de los efectos tóxicos que este protozooario puede ejercer a distancia. Se supone que las minúsculas vesículas que se desprenden de su membrana, cargada con enzimas citolíticas pueden, al situarse relativamente lejos del parásito, ejercer su acción nociva inicial; sólo así se explican las alteraciones de las células epiteliales de algunas glándulas colónicas en la cercanía de las cuales no se observan trofozoitos.

Ya en relación con los mecanismos mediante los cuales el trofozoito de *Entamoeba histolytica* penetra el epitelio intestinal, existen a la fecha algunos estudios que ofrecen datos interesantes y desde luego plantean nuevas incógnitas. En realidad, la forma en

## II



que el parásito penetra la mucosa para llegar a la lámina propia y a los vasos de la misma es poco conocida, pero si nos circunscribimos al efecto del protozoo sobre el epitelio, existe mayor información.

Se ha mencionado que el efecto mecánico desempeña papel importante o que la necrosis de la mucosa del colon por las enzimas citolíticas del parásito es la responsable de la penetración y del establecimiento de la infección tisular.<sup>20</sup> Otros,<sup>21, 22</sup> al estudiar este problema en casos de rectocolitis amibiana aguda del humano, pusieron especial atención en la respuesta del huésped a la acción del parásito y a la interrelación entre ambos.

En 1975, Takeuchi y Phillips<sup>23</sup> agregaron nuevos conocimientos al demostrar, según su modelo experimental, la manera en que el parásito penetra al epitelio del colon del cobayo entre dos células vecinas, ayudado para ello por los leucocitos polimorfonucleares, los que supuestamente contribuyen a una mayor separación celular y a una descamación celular anormal. Según sus observaciones, la amiba se pone en contacto con la superficie vellosa de la célula epitelial produciendo acortamiento y disminución de las microvellosidades, desaparición del glicocáliz y alteraciones citoplásmicas manifestadas por cambios en las mitocondrias, en el retículo endoplásmico rugoso y por presencia de vacuolas autofágicas. Además observaron que antes de que suceda la penetración del parásito, se presenta una reacción inflamatoria aguda local de la lámina propia cercana, que contribuye a la separación de la célula epitelial de la membrana basal.

En 1977, el autor, mediante su modelo experimental, obtuvo evidencias de que muy probablemente la lesión inicial producida en la mucosa del ciego del cobayo por el trofozoito de *Entamoeba histolytica* se debía fundamentalmente a la acción nociva directa y única del parásito,<sup>24</sup> ya que no fue posible identificar, en ninguna de las muestras estudiadas, la presencia temprana de los leucocitos polimorfonucleares, que sí fueron encontrados por Takeuchi y Phillips.

A continuación se presentarán las observaciones recientes del autor en este mismo problema.

A cuatro cobayos de una semana de nacidos se les inocularon en el ciego, millón y medio de trofozoítos de *Entamoeba histolytica* cepa HM-1, desarrollada en condiciones monoxénicas. Cinco días después de la inoculación, los animales fueron sacrificados y al abrir el órgano se observaron, en tres de ellos, lesiones típicas amibianas en extensas zonas de la mucosa colónica. Después del lavado suave de la pieza con suero fisiológico, se aislaron las porciones más representativas y

se estudiaron con el microscopio óptico y el microscopio electrónico.

Con el microscopio óptico se observaron numerosas lesiones de diversos tamaños y en estadios de evolución diferentes, en el seno de las cuales se encontraban muchas amibas, detritos celulares, necrosis y escasa reacción inflamatoria. Fue muy rara la presencia de trofozoítos en la cercanía de las células del epitelio que aún estaban intactas y sanas, lo que refleja muy escasa adhesividad entre ambos elementos (fig. 1). En cambio, en las zonas límite o en el microabsceso propiamente dicho, los trofozoítos se encontraron en plena actividad histolítica y citolítica, lo cual se manifestó por datos histológicos de lesión de células epiteliales, con solución de continuidad en algunas de ellas y probable paso de las amibas hacia la porción basal del epitelio (fig. 2).

Fue bastante frecuente que se localizara a los parásitos en la luz de una o varias criptas glandulares del epitelio (fig. 3), observándose en otras ocasiones el desplazamiento del parásito a través de la luz de la glándula, para situarse finalmente en el fondo de la cripta (fig. 4). El mayor número de las amibas se localizó en el seno de la lámina propia. Es conveniente hacer énfasis en el hallazgo de una mínima reacción inflamatoria, aun en los momentos de mayor lesión amibiana (fig. 5).

Con el microscopio electrónico, los trofozoítos mostraron una gran actividad fagocítica, incorporando a su citoplasma restos celulares, bacterias, glóbulos rojos y otros elementos celulares. Además, cuando se encontró en contacto directo con la célula epitelial de la glándula, se comprobó el acortamiento y la disminución en el número de las microvellosidades, que en algunos casos llegó a su total desaparición (fig. 6). Se demostró la lesión de la membrana plasmática, la salida del material citoplásmico, la conservación de los complejos de unión intercelular (fig. 7), la penetración del parásito a través de la membrana lesionada, la alteración de la glándula y por último su presencia en la lámina propia (fig. 8).

Aun cuando se les buscó con mucho interés, tampoco en esta ocasión se encontraron leucocitos polimorfonucleares en las zonas cercanas a la membrana basal, en donde además se encontraron muchas amibas.

Tales hallazgos hacen poco probable que el trofozoito únicamente penetre hacia la lámina propia por entre dos células epiteliales. Sin desconocer que éste es uno de los mecanismos, es más factible, y sobre todo más frecuente, que varios trofozoítos lesionen algunas células epiteliales, éstas abandonen la glándula y a través de las subsecuentes soluciones de

continuidad que resultan del efecto de los trofozoítos, los parásitos alcanzan la lámina propia.

El doctor Norberto Treviño García Manzo sustentó en 1961 su examen profesional como médico cirujano, con mención honorífica. Cursó su internado en el Hospital General de la Secretaría de Salubridad y Asistencia y su residencia en el Hospital General del Centro Médico Nacional del Instituto Mexicano del Seguro Social. Fue después *research fellow* en el Departamento de Patología y Microscopía Electrónica del Hospital Mount Sinai de Nueva York. Recibió también capacitación en docencia e investigación, por parte de la Jefatura de Enseñanza e Investigación del I.M.S.S.

Después de ser profesor ayudante en gastroenterología de pre y postgrado, fungió como profesor de asignatura dentro del Plan de Medicina Integral de la Facultad de Medicina. A la vez que gastroenterólogo en el Hospital General del Centro Médico Nacional, perteneció al Departamento de Microscopía Electrónica de la Unidad de Investigación Científica del I.M.S.S. Fue después jefe de Enseñanza e Investigación de la Clínica-Hospital número 8 y es en la actualidad jefe de la Oficina de Evaluación del Personal Médico de la Jefatura de Enseñanza e Investigación del propio instituto.

Después de dirigir sus investigaciones a padecimientos del hígado, su línea actual de trabajo se centra en la ultraestructura de la ameba histolítica y en su relación con el huésped. En este campo ha logrado el doctor Treviño contribuciones de elevada trascendencia.

La Academia Nacional de Medicina lo recibió como socio numerario de su Departamento de Biología Médica, el 16 de mayo de 1977.

## REFERENCIAS

1. Flores-Barroeta, F.; Saavedra-Shimidzu, R., y Velasco-Avilés, F.: *Invasión de Entamoeba histolytica a diversos órganos y tejidos en sujetos humanos*. Arch. Invest. Méd. (Méx.) 1(Supl. 1):129, 1970.
2. Guarner, V.; Jurado, J.; Baz-Díaz Lombardo, G., y Martínez Toro, N.: *Tifloepididimitis amibiana*. Arch. Invest. Méd. (Méx.) 1(Supl. 1):217, 1970.
3. Villegas-González, J.; Portillo-Aguilar, J., y Angulo-Hernández, O.: *Localización de la amibiasis invasora en niños*. Arch. Invest. Méd. (Méx.) 2(Supl. 1):295, 1971.
4. Lombardo, L., y Flores-Barroeta, F.: *Amibiasis invasora cerebral*. Arch. Invest. Méd. (Méx.) 2(Supl. 1):361, 1971.
5. Macotela-Ruiz, E.: *Amibiasis invasora cutánea*. Arch. Invest. Méd. (Méx.) 2(Supl. 1):373, 1971.
6. Griffin, J. L., y Juniper, K., Jr.: *Ultrastructure of Entamoeba histolytica from human amebic dysentery*. Arch. Pathol. 21:271, 1971.
7. Griffin, J. L.: *Human amebic dysentery. Electron microscopy of Entamoeba histolytica contacting; ingesting and digesting inflammatory cells*. Amer. J. Trop. Med. Hyg. 21:895, 1972.
8. Pittman, F. E.; El-Hashimi, W. K., y Pittman, J. C.: *Studies of human amebiasis. II. Light and electron-microscopic observations of colonic mucosa and exudate in acute amebic colitis*. Gastroenterology 65:588, 1973.
9. Diamond, L. S.: *Technique of axenic cultivation of Entamoeba histolytica Schaudinn 1903 and E. histolytica-like amebae*. J. Parasit. 54:1047, 1968.
10. Tanimoto, M.; Sepúlveda, B.; Vázquez-Saavedra, J. A., y Landa, L.: *Lesiones producidas en el hígado del hámster por inoculación de Entamoeba histolytica cultivada en medio axénico*. Arch. Invest. Méd. (Méx.) 2(Supl. 1):275, 1971.
11. Wittner, M., y Rosenbaum, R. M.: *Role of bacteria in modifying virulence of Entamoeba histolytica*. J. Trop. Med. Hyg. 19:755, 1970.

12. Wiles, H. L.; Maddison, S. E.; Powell, S. J., y Elsdon-Dew, R.: *The passage of bacteriologically sterile Entamoeba histolytica in hamster livers*. Exp. Parasit. 57:71, 1963.
13. López-Mora, G.; Escobedo-Salinas, A.; Ochoa-Benavides, E., y Bautista-O'Farrill, J.: *Estudio bacteriológico en el absceso hepático en pacientes y en hámsters*. Arch. Invest. Méd. (Méx.) 1(Supl. 1):21, 1970.
14. Eaton, R. D. P.; Meerovitch, E., y Costerton, J. W.: *A surface active lysosome in Entamoeba histolytica*. Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg. 63:678, 1969.
15. Treviño-García Manzo, N.; Feria-Velasco, A.; Ruiz de Chávez, I., y De la Torre, M.: *Lisomas en Entamoeba histolytica*. Arch. Invest. Méd. (Méx.) 2(Supl. 1):179, 1971.
16. Chévez, A.; Iturbe-Alessio, I.; Segura, M., y Corona, D.: *Fagocitosis de eritrocitos humanos por E. histolytica*. Arch. Invest. Méd. (Méx.) 3(Supl. 2):275, 1972.
17. Treviño-García Manzo, N.; Feria-Velasco, A., y Ruiz de Chávez, I.: *Eritrofagocitosis por E. histolytica*. Arch. Invest. Méd. (Méx.) 3(Supl. 2):295, 1972.
18. Treviño García-Manzo, N.; Castañeda, M.; Magdaleno, V. M., y Feria-Velasco, A.: *Eritrofagia y leucofagia por trofozoítos de E. histolytica con cubierta exterior y sin ella. Estudio con microscopio electrónico y citotómica de alta resolución*. Arch. Invest. Méd. (Méx.) 4(Supl. 1):39, 1973.
19. Treviño-García Manzo, N.; Tanimoto, M., y Feria-Velasco, A.: *Papel de vesículas fosfatacidas positivas en la patogenia del absceso hepático por E. histolytica en el hámster*. Res. V Cong. Mundial Gastroent. 1974, p. 440.
20. Cit. por.<sup>23</sup>
21. El-Hashimi, W., y Pittman, F.: *Ultrastructure of Entamoeba histolytica trophozoites obtained from the colon and from in vitro cultures*. Amer. J. Trop. Med. Hyg. 19:215, 1970.
22. González-Licea, A.; Landa, L.; Segovia, E., y Velasco, E.: *Estudio de la amibiasis invasora del recto con microscopio de luz y electrónico*. Arch. Invest. Méd. (Méx.) 4:557, 1972.
23. Takeuchi, A., y Phillips, B. P.: *Electron microscope studies of experimental Entamoeba histolytica infection in the guinea pig. I. Penetration of the intestinal epithelium by trophozoites*. Amer. J. Trop. Med. Hyg. 24:34, 1975.
24. Treviño-García Manzo, N.; Cruz de Lavín, E., y Tanimoto, M.: *Estudio ultramicroscópico de la invasión de la mucosa del colon por E. histolytica*. Arch. Invest. Méd. (Méx.) 8: 71, 1977.

## COMENTARIO OFICIAL

AMADOR GONZÁLEZ-ANGULO \*

Me complace mucho la tarea que se me ha encomendado de hacer el comentario oficial al trabajo de ingreso del doctor Norberto Treviño a nuestra Academia. En primer lugar, porque Norberto Treviño ha formado parte de nuestro grupo de trabajo en microscopía electrónica, al principio en el Hospital General del Centro Médico Nacional y posteriormente, como investigador asociado en la División de Patología de la Unidad de Investigación Científica del propio C.M.N. del Instituto Mexicano del Seguro Social. En segundo lugar, porque nos muestra un ejemplo en el que un médico especialista, ocupado en sus tareas clínicas, ha podido dedicar una parte de su tiempo al aprendizaje y empleo de una metodología relativamente nueva en nuestro medio, aplicada a problemas de investigación básica en su área de trabajo. En la línea de investigación del doctor Tre-

\* Académico numerario. Unidad de Investigación Científica. Centro Médico Nacional. Subjefatura de Investigación Básica. Jefatura de Enseñanza e Investigación. Instituto Mexicano del Seguro Social.

viño salta a la vista su interés por el estudio de padecimientos del tubo gastrointestinal, y en los últimos años destaca su preocupación por conocer la biología de *E. histolytica* y de la relación huésped-parásito en amibiasis humana y en amibiasis experimental. Ello lo atestiguan 28 de sus 46 trabajos científicos sobre aspectos ultramicroscópicos de *E. histolytica*, dos de ellos pioneros en nuestro medio, publicados en 1965 y en 1966<sup>1, 2</sup> y los otros 26, resultantes de su participación en el grupo multidisciplinario del Centro de Estudios sobre Amibiasis.

En el trabajo que ahora presenta el nuevo académico, hace un análisis de las características observadas con microscopio electrónico de transmisión en trofozoítos de *E. histolytica* y de la forma en que este microorganismo produce la lesión inicial en la mucosa del ciego en cobayos recién nacidos. Los dos aspectos más sobresalientes de esta comunicación, y que deseo subrayar, son que *E. histolytica* no requiere de la participación de enzimas lisosomales de leucocitos polimorfonucleares para producir la lesión, dato ya señalado en su trabajo previo dentro de su misma línea, por el cual fue distinguido con el Premio Anual en Investigación Básica otorgado en 1976 por el IMSS; además, que el parásito ejerce su acción citolítica más intensa en el fondo de las criptas de las glándulas del colon y en la lámina propia, muy probablemente por su secuestro en este sitio, que hacen más difícil la movilización del protozooario. Estos resultados son diferentes de los obtenidos por otros investigadores en lesiones amibianas producidas en cobayos libres de gérmenes y difieren también de las que ocurren en la amibiasis natural en el humano. En esta última, de acuerdo con Pittman y su grupo, se ha postulado una lesión previa en el colon que facilitaría la penetración del parásito hasta la lámina propia y vasos sanguíneos.<sup>3</sup> González Licea y colaboradores encontraron en lesiones incipientes de pacientes con amibiasis la presencia de alteraciones principalmente de tipo inflamatorio, en las que predominaban leucocitos polimorfonucleares eosinófilos y alteraciones epiteliales inespecíficas y postularon dos posibles mecanismos de acción;

uno directo producido por enzimas lisosomales de *E. histolytica* y el otro a distancia, mediado por un mecanismo inmunológico, el cual explicaría la presencia de eosinófilos en la lámina propia.<sup>4</sup> Sin embargo, los hallazgos de Treviño pueden estar condicionados por diferencias de especie o del estado inmunológico del huésped, o bien por factores propios de los medios de cultivo de donde se han obtenido las amibas. La elaboración técnicamente impecable de su trabajo, con la utilización de cepas de *E. histolytica* rigurosamente mantenidas, hace pensar que *E. histolytica* es un protozooario dotado del sistema enzimático adecuado para producir daño tisular directo o a distancia, sin la participación de leucocitos polimorfonucleares neutrófilos o eosinófilos o puede producir daño sin que exista una lesión previa en la mucosa del colon.

Destacado investigador en nuestro país y autor de numerosos trabajos científicos de una gran calidad, el doctor Norberto Treviño ingresa a la Academia Nacional de Medicina. A nombre de la Corporación tengo el honor de darle la más cordial bienvenida, y hago votos porque su fructífera labor se desarrolle en igual forma en el seno de nuestra agrupación.

#### REFERENCIAS

1. González Angulo, A.; Treviño-García Manzo, N.; Zavala, B. J., y Yabur, E.: *Morfología de los trofozoítos de E. histolytica. Estudio con microscopio electrónico*. Bol. Inst. Est. Med. y Biol. 23:169, 1965.
2. González Angulo, A.; Treviño-García Manzo, N., y Zavala, B. J.: *Observaciones con el microscopio electrónico en E. histolytica*. Rev. Gastroenterol. Mex. 31:557, 1966.
3. Pittman, F. E.; Pittman, J. C., y Al-Hashimi, W. K.: *Human amebiasis; light and electron microscopic findings in colonic mucosal biopsies from patients with acute amebic colitis*. En: *Conferencia Internacional sobre Amibiasis*. Sepúlveda, B., y Diamond, L. S. (Eds.). México, Centro de Estudios sobre Amibiasis. IMSS, 1976, p. 398.
4. González Licea, A.; Landa, L.; Segovia, E., y Velasco, E.: *Estudio de la amibiasis invasora del recto con microscopio de luz y electrónico*. Arch. Invest. Med. (Méx.) 4:557, 1972.