

Detección de *Entamoeba moshkovskii* en humanos: un nuevo problema diagnóstico en la amibiasis. Revisión

*Detection of Entamoeba moshkovskii in Humans:
A New Problem in Amoebiasis Diagnosis. Review*

Zulbey Rivero de Rodríguez

Docente de Práctica Profesional de Parasitología
de la Escuela de Bioanálisis de LUZ
zulbeyrivero@gmail.com

Resumen

El género *Entamoeba* comprende varias especies, de las cuales, seis pueden habitar en el intestino grueso del hombre: *Entamoeba histolytica*, *Entamoeba dispar*, *Entamoeba moshkovskii*, *Entamoeba polecki*, *Entamoeba coli* y *Entamoeba hartmanni*. Las tres primeras son morfológicamente idénticas, pero solo *E. histolytica* es considerada patógena, produciendo la amibiasis; mientras que *E. dispar* y *E. moshkovskii* son consideradas no patógenas. La diferenciación entre estas amibas no puede efectuarse mediante examen microscópico, que es la técnica más utilizada para el diagnóstico de la amibiasis; se recomiendan para ello, métodos de biología molecular (PCR) o detección de coproantígenos de *E. histolytica* mediante ELISA. Más recientemente, el aumento en el descubrimiento de casos en humanos de parasitismo por *E. moshkovskii*, provoca una complicación mayor, pues entonces debe discriminarse entre las tres amibas para realizar un diagnóstico de laboratorio definitivo. Por otro lado, persisten los problemas técnicos en cuanto a un método rápido, sencillo y poco costoso que permita a los laboratorios de rutina distinguir entre *E. histolytica*, *E. dispar* y *E. moshkovskii*. Por los momentos, se recomienda reportar los trofozoítos y/o quistes morfológicamente compatibles con *E. histolytica*, como complejo *Entamoeba* o como *E. histolytica/dispar/moshkovskii*.

Palabras clave: *Entamoeba histolytica*, *Entamoeba dispar*, *Entamoeba moshkovskii*, diagnóstico.

Recibido: 07-05-13 / Aceptado: 04-06-13

Abstract

The genus *Entamoeba* contains many species, of which six can live in the large intestine of man: *Entamoeba histolytica*, *Entamoeba dispar*, *Entamoeba moshkovskii*, *Entamoeba polecki*, *Entamoeba coli* and *Entamoeba hartmanni*. The first three are morphologically identical, but only *E. histolytica* is considered pathogenic, producing amibiasis, whereas *E. dispar* and *E. moshkovskii* are considered non-pathogenic. Differentiation between these amoebas cannot be made by microscopic examination, which is the most widely used technique for diagnosing amibiasis. To differentiate, molecular biological methods (PCR) or detection of *E. histolytica* coproantigens by ELISA are the recommended methods. More recently, an increase in the discovery of human cases of parasitism by *E. moshkovskii* has provoked a major complication, because laboratory tests should discriminate among the three amoebas for a definitive diagnosis. In addition, technical problems remain regarding a rapid, simple and inexpensive method that allows routine laboratories to distinguish between *E. histolytica*, *E. dispar* and *E. moshkovskii*. At present, the recommendation is to report trophozoites and/or cysts morphologically compatible with *E. histolytica*, as complex *Entamoeba* or as *E. histolytica/dispar/moshkovskii*.

Keywords: *Entamoeba histolytica*, *Entamoeba dispar*, *Entamoeba moshkovskii*, diagnosis.

Introducción

El género *Entamoeba* comprende varias especies de amibas, seis de las cuales pueden habitar en el intestino grueso del hombre: *Entamoeba histolytica*, *Entamoeba dispar*, *Entamoeba moshkovskii*, *Entamoeba polecki*, *Entamoeba coli* y *Entamoeba hartmannii* (1). Las infecciones con especies de *Entamoeba* pueden resultar en una colonización no patógena del intestino o en la invasión de la pared intestinal, dependiendo de la especie implicada. Las tres primeras especies son morfológicamente idénticas, pero presentan diferencias bioquímicas y genéticas. *E. histolytica* es considerada como patógena, mientras que *E. dispar* y *E. moshkovskii* son consideradas no patógenas. En general, las amibas presentan dos formas evolutivas durante su ciclo de vida, los trofozoítos o formas vegetativas y los quistes o formas de resistencia. Las amibas del género *Entamoeba* comparten muchas características morfológicas y biológicas; pero principalmente tienen en común, el hecho de presentar cromatina adosada a la membrana interna nuclear.

Los trofozoítos y quistes de *E. histolytica*, *E. dispar*, *E. moshkovskii* presentan esta cromatina en la cara interna distribuida de forma regular; por ésta y otras características son morfológicamente indistinguibles entre sí, por lo que en lo sucesivo las denominaremos complejo *Entamoeba*.

La morfología característica de los trofozoítos del complejo *Entamoeba* incluye: forma irregular, tamaño aproximado de 20 hasta 60 micras, un núcleo con endosoma central pequeño y cromatina periférica fina, distribuida regularmente en la cara interna nuclear. Presentan movilidad direccional, progresiva, mediante emisión de pseudópodos digitiformes explosivos (lobópodos). Solo los trofozoítos de *E. histolytica* pueden presentar hematíes en su citoplasma, característica que distingue a esta especie, del resto de las amibas. Los quistes son esféricos y miden 10 a 15 micras, pueden presentar de 1 a 4 núcleos (con las mismas características del trofozoíto), cuerpos cromatoidales de bordes curvos y una vacuola de glucógeno cuando son inmaduros (2).

La infección por *Entamoeba* ocurre por la ingestión de quistes maduros presentes en alimentos, agua o manos contaminadas con heces. La eclosión ocurre en el intestino delgado liberando a los trofozoítos, que migran al intestino grueso. Los trofozoítos se multiplican por fisión binaria y producen quistes, los cuales son excretados en las heces. Por la protección que confiere la pared del quiste, éste puede sobrevivir días en ambiente externo y ser responsable de la transmisión (los trofozoítos se excretan en las heces diarreicas, pero se destruyen rápidamente fuera del cuerpo y si fueran ingeridos no sobreviven al ser expuestos al ambiente gástrico). En muchos casos, los trofozoítos se mantienen confinados al lumen intestinal de los individuos que se convierten en portadores asintomáticos (infección no invasiva), quienes excretan los quistes en heces. En algunos pacientes los trofozoítos invaden la mucosa intestinal (infección intestinal), o a través del torrente sanguíneo otros órganos, como hígado, cerebro y pulmones (infección extraintestinal). *E. histolytica* puede provocar invasión, mientras *E. moshkovskii* y *E. dispar* no lo hacen. Sin embargo, no todas las personas que están infectadas con *E. histolytica* presentan la infección invasiva. La transmisión se presenta también por contacto sexual, en cuyo caso tanto los quistes como los trofozoítos son infectantes (3).

La amibiasis se define como la infección en humanos producida por *E. histolytica*; según estimaciones de la década de los noventa, el 10% de la población mundial sufría la infección. Su prevalencia puede alcanzar hasta el 50% en zonas de Centro y Sudamérica, África y Asia. Alrededor de 500 millones de infecciones se atribuyen a *E. dispar*. Se consideran 40.000 – 100.000 muertes/año a nivel mundial debidas a la amibiasis (4), particularmente en México, se encuentra entre las

primeras 20 causas de morbilidad (5). Por lo anteriormente expuesto, se hace necesario reevaluar la epidemiología de la amibiasis, ya que las cifras mencionadas probablemente no corresponden a la realidad, si se consideran las infecciones por *E. dispar* y *E. moshkovskii*. Es importante contar con nuevos procedimientos de diagnóstico, principalmente en los países en desarrollo (los más afectados debido a condiciones deficientes de higiene, contaminación fecal y hacinamiento), para reevaluar la morbimortalidad de la amibiasis (2).

Los estudios genéticos, bioquímicos e inmunológicos realizados con *E. dispar*, indican que es un comensal no invasor, aunque existe el reporte de evidencia genética de *E. dispar* en abscesos hepáticos de pacientes (6). La morfología de sus quistes y trofozoítos es idéntica a *E. histolytica*, con mínimas diferencias genómicas. De hecho, se refiere que están tan relacionadas filogenéticamente, que poseen alrededor de un 98% de identidad en sus secuencias de rRNA, *E. moshkovskii* está también genéticamente muy relacionada a ambas (7).

La mayoría de las infecciones por amibas que microscópicamente se han identificado como *E. histolytica/E. dispar*, son subclínicas. Sin embargo, una proporción de personas infectadas desarrollan la enfermedad invasiva, a nivel intestinal (ej. colitis intestinal) o extraintestinal (ej. absceso hepático), las cuales son atribuibles a *E. histolytica*.

En la literatura, las cifras de prevalencia de *Entamoeba histolytica* varían notablemente a lo largo del tiempo, debido a varios factores; antes del año 1997 no existía consenso sobre la existencia de *E. dispar* y todos los reportes de laboratorio indicaban únicamente a *E. histolytica*, por lo que se enmascaraban allí los casos existentes de *E. dispar*. Posteriormente, las dificultades técnicas para apli-

car métodos que permitieran discriminar entre estas amibas, impedían que muchos laboratorios pudiesen referir una u otra amiba y por tanto el reporte se realizaba como *E. histolytica*/*E. dispar*. Más recientemente, el descubrimiento de casos en humanos de parasitismo por *E. moshkovskii*, implica una complicación mayor, pues entonces debe discriminarse entre tres amibas para realizar un diagnóstico de laboratorio definitivo.

La microscopia óptica sigue siendo la técnica de diagnóstico más utilizada en los laboratorios de rutina. En la preparación con Solución Salina Fisiológica (SSF) se pueden detectar quistes y los trofozoítos móviles de las amibas; también se puede observar la presencia de algunas otras células como leucocitos o glóbulos rojos que refieren infección intestinal. Es en ésta preparación donde pueden detectarse trofozoítos hematófagos, que hasta la fecha son exclusivos de *E. histolytica*. En la preparación con lugol se pueden identificar las estructuras internas típicas de los quistes, que colaboran en su identificación. Se requiere la realización de un método de concentración fecal o tres exámenes de heces negativos (seriado), para indicar que un paciente no presenta infección amibiana. Se ha señalado que la sensibilidad del examen microscópico es menor al 60% y por otro lado, existe la posibilidad de error en el diagnóstico, cuando personal poco entrenado confunde macrófagos con trofozoítos y polimorfonucleares con quistes de amibas (7). Las dificultades diagnósticas aumentan si consideramos la presencia de quistes de otras amibas del género *Entamoeba* (Ej.: *Entamoeba coli*) o de otros géneros como *Iodamoeba* y *Endolimax*. La detección de la lectina de galactosa y N acetil galactosamina (Gal/GalNAc-lectina) en materia fecal mediante ensayo inmunoenzimático (ELISA) y la amplificación por PCR de fragmentos es-

pecíficos de ADN genómico (1, 7), sí permiten identificar las especies, las cuales son técnicas que por su alto costo y/o condiciones de infraestructura especiales, no se realizan en los laboratorios de rutina.

En 1997 se realizó una reunión con expertos en amibiasis donde participaron representantes de la Organización Mundial de la Salud (OMS), Organización Panamericana de Salud (OPS) y la Organización de las Naciones Unidas para la Educación, la Ciencia y la Cultura (UNESCO), donde se señaló la urgencia de emplear métodos que permitan mejorar la calidad del diagnóstico. El mismo debe incluir, demostración de quistes y/o trofozoítos en las heces, ensayo inmunoenzimático (ELISA) para la búsqueda de coproantígenos, presencia de cuadro clínico y anticuerpos séricos en títulos elevados, para concluir que se trata de un caso de infección por *E. histolytica* (8).

Según investigaciones previas, en las cuales se realizaron técnicas especiales para distinguir entre las diferentes amibas, *E. dispar* es 10 veces más frecuente que *E. histolytica* en países desarrollados (9-13); mientras que en los países en vías de desarrollo ambas amibas pueden tener cifras similares de prevalencia (7). En relación a *E. moshkovskii*, son escasas las referencias a nivel mundial en relación a la prevalencia de esta amiba, sin embargo, las cifras han variado desde 5,2% hasta 50% (14).

Actualmente debe considerarse dentro del diagnóstico de especie a *E. moshkovskii*, debido a su morfología, también indistinguible de *E. histolytica*/*E. dispar*, aunque se desconocen en buena medida aspectos relacionados con su epidemiología y patogenicidad (6). Desafortunadamente, las técnicas de laboratorio que se utilizan habitualmente en sujetos sintomáticos y portadores no permiten la identificación de especie.

Entamoeba moshkovskii

E. moshkovskii fue aislada por primera vez en aguas negras de Moscú por Tshalaia en 1941 (15), siendo considerada en esos tiempos como una amiba de vida libre que ocasionalmente infectaba al hombre. Aunque morfológicamente idéntica a *E. histolytica*, en relación a condiciones de crecimiento *in vitro*, *E. histolytica* puede crecer en temperaturas que varían de 27°C a 36,5°C, mientras que *E. moshkovskii* crece en temperaturas que van de 4°C a 41°C, cultivos hipotónicos y con bajas cantidades de nutrientes (14). Posteriormente, diversos investigadores observaron su presencia en aguas de desecho, ríos, manantiales, lagos y diversas colecciones de agua de Canadá, California (EU), Australia, Londres, Italia, Malasia, Pakistán, Polonia, Costa Rica, Ecuador, Uruguay y Brasil (16, 17).

Esta especie se conoció luego como *E. histolytica* variedad Laredo, cuando fue aislada de un norteamericano procedente de esa ciudad, y fue considerada como una variante no patogénica de *E. histolytica*, con su misma morfología; pero capaz de crecer en medios de cultivo a temperatura ambiente (18). En 1991, Clark y Diamond (19) refieren mediante estudios de PCR de la pequeña subunidad ribosomal del ARN, que la tradicionalmente considerada amiba “*E. histolytica* like” cepa Laredo, era en realidad la especie denominada *E. moshkovskii*.

La primera publicación que refiere la presencia de esta amiba en humanos, fue efectuada en 1998 por Haque y cols. (20), el hallazgo se realizó en una niña de 5 años de edad de Bangladesh. Posteriores estudios realizados en Bangladesh (21), en los que se emplearon técnicas moleculares, revelaron una prevalencia de *E. moshkovskii* del 21,1% en niños de 2 a 5 años, sugiriendo que quizá el hombre es un hospedador habitual de esta “ameba de vida libre”. Un estudio efectuado

utilizando PCR de la subunidad pequeña del rARN en pacientes de un hospital en Pondicherry (India) en el año 2005, demostró un 8,8% de prevalencia de *E. dispar*, 2,2% de *E. moshkovskii* y 1,7% de *E. histolytica* (22).

Los métodos de diagnóstico actuales que permiten la identificación de *E. moshkovskii*, requieren varias estrategias de PCR. Hamzah y cols, 2006 (23), refieren el desarrollo de una técnica de PCR de una sola ronda para el diagnóstico diferencial de *E. dispar*, *E. moshkovskii* y *E. histolytica*, donde fue posible detectar cantidades tan pequeñas como 10 a 20 pg de ADN parasitario en las muestras fecales, por lo que se considera un método altamente sensible y útil con fines diagnósticos. Se ha estimulado un interés creciente por detectar la presencia de las amibas del complejo *Entamoeba* en los últimos años. Un trabajo efectuado en Australia por Fotedar y cols. (24), en el que utilizaron una técnica de PCR para la detección de *E. histolytica*, *E. dispar* y *E. moshkovskii* en muestras de heces de pacientes con examen microscópico positivo, encontraron que el 61,8% de los pacientes eran portadores de *E. moshkovskii*. Además, todos los pacientes infectados con *E. moshkovskii* tenían sintomatología, por lo que según los autores hay que reconsiderar su papel patógeno. En los dos trabajos citados, más de la mitad de las muestras con *E. moshkovskii* también contenían *E. histolytica* o *E. dispar*, por lo que esta elevada asociación podría producir errores a la hora de considerar *E. moshkovskii* como una nueva especie patógena.

En la búsqueda de métodos más sensibles y rápidos para la detección de las amibas, Khairnar y Parija (25), desarrollaron una técnica de PCR multiplex anidada dirigida al gen rARN 16S para la detección simultánea de *E. histolytica*, *E. dispar* y *E. moshkovskii*. Los resultados mostraron que solo el 34,6% de las

muestras que fueron positivas al complejo *Entamoeba* mediante microscopía y/o cultivo eran realmente positivas para *E. histolytica*; mientras el resto mayoritariamente contenían *E. dispar* o *E. moshkovskii*. Por otro lado Tanyuksel y cols. en 2007 (26), refieren 2 casos de *E. moshkovskii* en Turquía, detectados mediante PCR, luego de haber estudiado 100 muestras fecales de pacientes con diarrea. Paralelamente Ben Ayed y cols. (27) refieren el primer hallazgo de *E. moshkovskii* en dos pacientes sanos en Tunisia.

Algunos otros estudios han señalado la posibilidad de que *E. moshkovskii* sea patógena. Fotedar y cols. (24) en 2008 estudiaron 110 muestras fecales de pacientes con diarrea y microscópicamente positivas para el complejo *Entamoeba*, donde el 50% (55/110) fueron positivas para *E. moshkovskii* mediante técnicas de PCR. Algunas investigaciones se han dirigido a pacientes inmunocomprometidos, en virtud de la posibilidad señalada anteriormente. Beck y cols. (28) en 2008, estudiaron pacientes VIH positivos de Tanzania, encontrando 13% de prevalencia de *E. moshkovskii*, donde la infección no estuvo estadísticamente asociada al estatus VIH, conteo de CD4 ni la presencia de diarrea.

Nazemalhosseini y cols. (29) desarrollaron una PCR de una sola ronda para determinar la prevalencia de *E. histolytica*, *E. dispar* y *E. moshkovskii* en muestras de pacientes con desórdenes gastrointestinales de Irán, detectaron 2 casos con *E. histolytica* (3,45%), 53 con *E. dispar* (91,37%) y 2 con *E. moshkovskii* (3,45%); así mismo, una infección mixta por *E. dispar* y *E. moshkovskii*. Hamzah y cols. (30), describen una múltiple PCR en tiempo real para detectar las tres amibas, logrando detectar cantidades tan pequeñas como 0,2 pg de *E. histolytica* y 2pg de *E. dispar* o *E. moshkovskii*; en el mismo estudio analizaron 35 muestras fecales sospechosas

de *E. histolytica* por microscopía y detectaron con ésta técnica de PCR, 4 muestras con *E. histolytica* y 28 con *E. dispar*, de las cuales, una también tenía *E. moshkovskii*. Un trabajo reciente realizado en los Emiratos Arabes (31) utilizando nested PCR, señala un 13,3% de prevalencia de *E. histolytica*, 6,6% de *E. dispar* y 3,3% de *E. moshkovskii*.

El papel patógeno de *E. moshkovskii* todavía está en discusión, pues los resultados de múltiples investigaciones no son concluyentes al respecto (18,22,24,29,32). En relación al tratamiento, en las primeras descripciones de *E. moshkovskii* se destacó la resistencia del parásito in vivo e in vitro a las drogas amebicidas usadas para la época (15); sin embargo Yakoob y cols. (32), refieren un tratamiento exitoso contra *E. moshkovskii* en pacientes tratados con metronidazole y dioxanida.

La revisión de la literatura nos permite sugerir que la infección por *E. moshkovskii* no es una infección atípica en humanos y que es común especialmente en aquellos pacientes que tienen factores de riesgo para la amibiasis (individuos con pobres condiciones socioeconómicas y sanitarias, personas desnutridas y en extremas condiciones de vida). Por todas estas consideraciones, no es sorprendente que en muchas ocasiones *E. moshkovskii* se encuentre en coinfección con *E. dispar* y/o *E. histolytica*.

Conclusiones

A partir del reporte en humanos de *E. moshkovskii*, otro agente morfológicamente indistinguible de *E. histolytica* debe ser tomado en consideración. Esto es altamente importante porque el principal método diagnóstico utilizado para la identificación de especies es la microscopía óptica, un método que fácilmente genera falsos positivos. La

evidencia científica sobre la presencia de *E. moshkovskii* en humanos, implica un cambio en el reporte de laboratorio, en aquellos sitios donde el diagnóstico se realiza a expensas del examen microscópico exclusivamente, situación que se presenta en nuestro país. En este caso el reporte debe efectuarse como Complejo *Entamoeba* o como *Entamoeba histolytica/dispar/moshkovskii*.

Por otro lado, el clínico debe estar consciente de este inconveniente técnico y tratar de manejar terapéuticamente de la manera más efectiva, a una persona infectada con el complejo *Entamoeba*, tomando en consideración aspectos importantes como, contexto epidemiológico del paciente, presencia o no de síntomas y descarte de otros enteropatógenos, para la aplicación del tratamiento. El personal que labora en la sección de Parasitología debe mantenerse informado sobre las técnicas emergentes que permiten la diferenciación entre estas tres amibas y procurar la aplicación de alguna metodología que permita, al menos, identificar específicamente a *E. histolytica* (la amiba patógena); por ejemplo la detección de antígenos de *E. histolytica* en heces mediante ELISA, entre otros. Lamentablemente hasta la fecha, persisten los problemas técnicos en cuanto al hallazgo de un método rápido, sencillo y poco costoso que permita a los laboratorios de rutina distinguir entre *E. histolytica*, *E. dispar* y *E. moshkovskii*.

Referencias Bibliográficas

- (1) Fotedar R, Stark D, Beebe N, Marriot D, Ellis J, Harkness J. PCR detection of *E. histolytica*, *E. dispar* and *E. moshkovskii* DNA in stool samples from Sydney, Australia. *J Clin Microbiol.* 2007;45:1035-1037.
- (2) Urribarren T. Entamoebiosis o Amibiasis. Departamento de Microbiología y Parasitología, Facultad de Medicina de la UNAM. <http://www.facmed.unam.mx/deptos/microbiologia/parasitologia/entamoebiosis.html>
- (3) Center for Disease Control and Prevention. Parasites-Amebiasis (also known as *Entamoeba histolytica* infection). Disponible en: <http://www.cdc.gov/parasites/amebiasis/biology.html>
- (4) World Health Organization (WHO). 1986. First International Conference on Health Promotion, Ottawa. Disponible en: <http://www.who.int/healthpromotion/conferences/previous/ottawa/en/>
- (5) Ximénez C, Morán P, Rojas L, Valadez A, Gómez A. Reassessment of the epidemiology of amebiasis: State of the art. *Infect Genet Evol.* 2009; 9:1023-1032.
- (6) Ximénez C, Cerritos R, Rojas L, Dolabella S, Morán P, Shibayama M et al. 2010. Human amebiasis: Breaking the paradigm? *Int J Environ Res Public Health.* 2010; 7:1105-1120.
- (7) Singh A., Houpt E., Petri W. Rapid diagnosis of intestinal parasitic protozoa, with focus on *Entamoeba histolytica*. *Interdisciplinary Perspective on Infectious Diseases.* Vol. 2009, Article ID 547090, 8 pages, 2009. Doi:10.1155/2009/547090
- (8) Cedeño B, García A, Alfonzo N, Urdaneta H. Seroprevalencia de *Entamoeba histolytica* y diagnóstico de amebiasis en Cumana, Estado Sucre, Venezuela. *Saber.* 2008; 20:318-328.
- (9) Gathiram V, Jackson T. A longitudinal study of asymptomatic carriers of pathogenic zymodemes of *Entamoeba histolytica*. *South African Medical Journal.* 1987; 72:669-672.
- (10) Blessmann J, Ali I, Ton Nu P, Dinh B, Ngo T, Le Van A, et al. Longitudinal study of intestinal *Entamoeba histolytica* infections in asymptomatic adult carriers. *J Clin Microbiol.* 2003;41:4745-4750.
- (11) Haque R, Mondal D, Duggal P, Kabir M, Roy S, Farr B, et al. *Entamoeba histolytica* infection in children and protection from subsequent amebiasis. *Infect Immun.* 2006; 74: 904-909.
- (12) Pillai D, Keystone J, Sheppard D, MacLean J, MacPherson D, and Kain K. *Entamoeba*

- histolytica* and *Entamoeba dispar*: epidemiology and comparison of diagnostic methods in a setting of nonendemicity. *Clin Infect Dis*. 1999; 29:1315-1318.
- (13) Petri Jr W, Haque R, Lyerly D, and Vines R. Estimating the impact of amebiasis on health. *Parasitology Today*. 2000; 16: 320-321.
- (14) Heredia R, Fonseca J, López M. *Entamoeba moshkovskii* prespectives of a new agent to be considered in the diagnosis of amebiasis. *Acta Trop*. 2012; 123:139-145.
- (15) Tshalaia L. On a species of *Entamoeba* detected in sewage effluents. *Med Parazit*. 1941; 10:244-252.
- (16) Lachance P. A Canadian strain of *Entamoeba moshkovskii*, Chalaia. *Can J Zool*. 1959; 37:415-417.
- (17) Felix-Silva E, Mayrink W. Estudos sobre *Entamoeba moshkovskii*. II-Novos focos em diversos tipos de colecoes hídricas no Brasil e no Uruguay. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*. 1974; 16:203-221.
- (18) Dreyer D. Growth of a strain of *Entamoeba histolytica* at room temperature. *Texas Reports on Biology Medicine*. 1961; 19:393-396.
- (19) Clark G, Diamond L. The Laredo strain and other “*Entamoeba histolytica*-like” amoebae are *Entamoeba moshkovskii*. *Mol Biochem Parasitol*. 1991; 46:11-18.
- (20) Haque R, Ali I, Clark C, Petri W. A case Report of *Entamoeba moshkovskii* infection in a Bangladesh child. *Parasitol Inter*. 1998; 47:201-202.
- (21) Ali IKM, Hossain MB, Roy S, Ayeh-Kumi PF, Petri Jr W, Haque R, et al. *Entamoeba moshkovskii* infections in children, Bangladesh. *Emerg Infect Dis*. 2003; 9:580-584
- (22) Parija S, Khairnar K. *Entamoeba moshkovskii* and *Entamoeba dispar*-associated infections in Pondicherry, India. *J Health Popul Nutr*. 2005; 23: 292-295.
- (23) Hamzah Z, Petmitr S, Mungthin M, Leelayoova S, Chavalitshewinkoon-Petmitr P. Differential detection of *Entamoeba histolytica*, *Entamoeba dispar* and *Entamoeba moshkovskii* by a single round PCR assay. *J Clin Microbiol*. 2006; 44:3196-3200.
- (24) Fotedar R, Stark D, Marriot D, Ellis J, Hakeness J. *Entamoeba moshkovskii* infections in Sydney, Australia. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2008; 27:133-137.
- (25) Khairnar K, Parija S. A novel nested multiplex polymerase Chain Reaction (PCR) assay for differential detection of *E. histolytica*, *E. dispar* and *E. moshkovskii* DNA in stool samples. *BMC Microbiology*. 2007; 7:47.
- (26) Tanyuksel M, Ulukanligil M, Guclu Z, Araz E, Koru O, Petri W. Two cases of rarely recognized infection with *Entamoeba moshkovskii*. *Am J Trop Med Hyg*. 2007; 76:723-724.
- (27) Ben Ayed S, Aoun K, Maamouri N, Ben Abdallah R, Bouratbine A. Short Report: First molecular identification of *Entamoeba moshkovskii* in human stool samples in Tunisia. *Am J Trop Med Hyg*. 2008; 79:706-707.
- (28) Beck D, Dodan N, Maro V, Sam N, Shao J, Houtp E. High prevalence of *Entamoeba moshkovskii* in a Tanzanian HIV population. *Acta Trop*. 2008; 107:40-49.
- (29) Nazemalhosseini M, Nochi Z, Sahebekhtiari N, Rostami M, Dabiri H, Zali M, K. Discrimination of *Entamoeba moshkovskii* in patients with gastrointestinal disorders by single-round PCR. *Jpn J Infect Dis*. 2010; 63:136-138.
- (30) Hamzah Z, Petmitr S, Mungthin M, Leelayoova S, Chavalitshewinkoon-Petmitr P. Development of multiplex real-time polymerase chain reaction for detection of *Entamoeba histolytica*, *Entamoeba dispar* and *Entamoeba moshkovskii* in clinical specimens. *Am J Trop Med Hyg*. 2010; 83:909-913.
- (31) Elbakri A, Samie A, Ezzedine S, Odeh R. Differential detection of *Entamoeba histolytica*, *Entamoeba dispar* and *Entamoeba moshkovskii* in fecal samples by nested PCR in the United Arab Emirates (UAE). *Acta Parasitol*. 2013; 58:185-190.
- (32) Yakoob J, Abbas Z, Beg M, Naz Z, Khan R, Jafri W. *Entamoeba* species associated with chronic diarrhoea in Pakistan. *Epidemiology and Infection*. 2012; 140:323-328.