

DR. GUILLERMO CALDERÓN RODRÍGUEZ R. *
DR. ROEOLFO MARTÍNEZ MURRAY**

LA REACCIÓN DE INMOVILIZACIÓN PARA EL DIAGNÓSTICO DE LA AMIBIASIS

INTRODUCCIÓN

EL DIAGNÓSTICO DE LA AMIBIASIS intestinal o extraintestinal ofrece al clínico en ocasiones problemas de diagnóstico diferencial con otros padecimientos. Se ha probado que la reacción de inmovilización (R.I.) de *entamoeba histolytica* es de utilidad para precisar la etiología del proceso que se sospecha.

En el presente estudio se efectuó la R.I en sueros de pacientes en los que clínicamente se tenía la sospecha de amibiiasis intestinal o extraintestinal, y en un grupo control.

Los estudios inmunológicos han aportado conocimientos de vital importancia en el estudio de enfermedades infecciosas, lo que ha propiciado el interés por aplicar las técnicas serológicas para el mejor entendimiento de las enfermedades producidas por parásitos animales. La aplicación de estas técnicas en las infec-

ciones por protozoarios parásitos se efectúa aún en muy poca escala. El problema principal consiste en la obtención de antígenos purificados para el trabajo serológico a partir de los cultivos de organismos libres de contaminación.⁹

Además se ha demostrado⁷ que los protozoarios tienen poca capacidad antigénica, lo que se traduce en una escasa producción de anticuerpos como respuesta al estímulo antigénico por estos organismos, lo que pudiera estar determinado por su bajo contenido de lipoides en su constitución.⁶

ENTAMOEBAS HISTOLYTICAS

Ha sido particularmente difícil de mantener en cultivo monoxénico o axénico, por lo que los antígenos obtenidos a partir de trofozoitos en cultivo, hasta la fecha, no han sido lo suficientemente puros para su utilización rutinaria con resultados satisfactorios en técnicas finas como la hemaglutinación, precipitación o fijación del complemento.¹

Se ha demostrado que el suero inmune específico, determina una parálisis (inmovilización) más o menos intensa de los trofozoitos, que puede acompañarse de

* Médico Adscrito Div. Médica Interna. Centro Hospitalario "20 de Noviembre", ISSSTE.

** Jefe del Lab. Parasitología Laboratorio de Pruebas especiales, ISSSTE.

aglutinación y/o lisis, efectos que desaparecen al inactivar los sueros a 56°C.^{7, 8} En base a este hecho se han realizado diversos estudios, fundamentalmente encaminados a la diferenciación de especies de protozoarios de vida libre⁸ y de las especies no patógenas (*entamoeba coli*).⁹

Cole y Kent,⁴ aplicaron inicialmente estas técnicas al mejor entendimiento de las infecciones por *entamoeba histolytica*, habiendo demostrado que el suero inmune de conejos, producía "in vitro", inmovilización de trofozoitos de cultivo. Estas técnicas, que utilizan como antígeno a los organismos individuales vivos y que permiten observar el fenómeno de inmovilización como traducción de reacción entre antígeno y anticuerpo, independientemente de la presencia o ausencia de bacterias, se aplicaron al diagnóstico de la amibiasis habiendo brindado buenos resultados en los diferentes tipos de amibiasis clínica.^{2, 5}

MATERIAL Y MÉTODOS

Se realizó estudio a 73 pacientes adultos hospitalizados en el Centro Hospitalario "20 de Noviembre" ISSSTE, en los que se sospechaba amibiasis intestinal o extraintestinal y en un grupo control. Los pacientes control fueron seleccionados teniendo en cuenta como datos fundamentales la ausencia de antecedentes de amibiasis intestinal o extraintestinal, en ellos o en familiares cercanos y en los que no tuviesen o hubieran tenido manifestaciones clínicas de amibiasis.

A los pacientes en los que clínicamente se sospechaba amibiasis los dividimos en dos grupos: 1) Aquellos en los que se sospechaba amibiasis hepática y 2) En los que se sospechaba amibiasis intestinal. En el primer grupo la comprobación del diagnóstico de amibiasis hepática se basó en los datos clínicos y en la respuesta terapéutica a tratamiento médico o quirúrgico. Este primer grupo se subdividió a su vez: a) en pacientes con absceso hepático amibiano comprobado y b) en aquellos en los que se sospechaba absceso hepático amibiano pero en los que con un tratamiento anti-amibiano de prueba no se obtuvo respuesta, o por laparatomía no se encontraron lesiones correspondientes a absceso hepático amibiano, atribuyéndoseles otra etiología, por lo que el diagnóstico final correspondió a otra entidad nosológica. El criterio de comprobación para la presencia de absceso hepático amibiano fue la desaparición de las manifestaciones clínicas y de las alteraciones en los exámenes de laboratorio (funda-

mentalmente en la normalización de la fórmula blanca, la eritrosedimentación globular y los niveles de la fosfatasa alcalina) con tratamiento médico a base de emetina a dosis del 1 mg. x kg. de peso durante 10 días e hidroxicloroquina a dosis de 4.5 gr. por día durante 14 días. En otros enfermos la comprobación terapéutica se basó en lesiones encontradas al efectuar laparatomía y drenaje del absceso, acompañándose el procedimiento quirúrgico, de tratamiento médico similar al descrito anteriormente con posterior desaparición de sintomatología y normalización en los estudios de laboratorio señalados.

El segundo grupo, el de pacientes en los que se sospecha amibiasis intestinal fue igualmente dividido en dos subgrupos: a) enfermos con amibiasis intestinal comprobada por rectosigmoidoscopia con hallazgo de úlceras típicas en la mucosa intestinal y con presencia de trofozoitos de *entamoeba histolytica* observados por examen directo. En dos casos la amibiasis se localizó a ciego efectuándose la comprobación diagnóstica por laparatomía y hallazgo de lesiones típicas y trofozoitos en la pieza extirpada; y b) enfermos con sospecha de amibiasis intestinal pero en los que la rectosigmoidoscopia mostró una mucosa normal, los coproparasitoscópicos fueron negativos y el coprocultivo demostró la presencia de un agente bacteriano al que se le atribuyó el cuadro clínico. En el cuadro No. 1 se señala la distribución de pacientes en los 5 subgrupos estudiados.

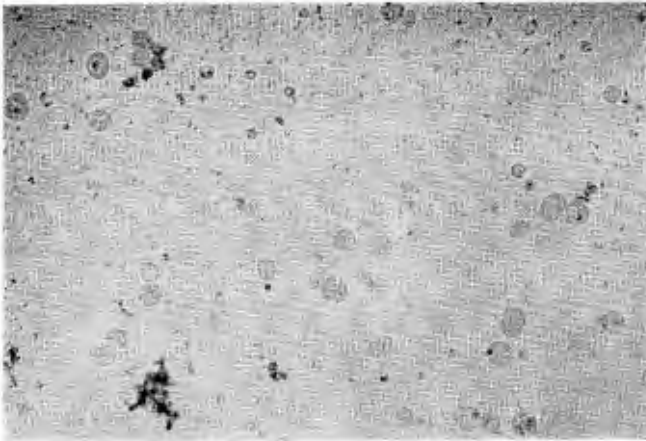
CUADRO I

Pacientes a los que se les efectuó reacción de inmovilización en suero señalando la distribución por sexos

Subgrupos	Sexo		Total
	Masc.	Fem.	
Absceso hepático amibiano	31	5	36
Sospecha de absceso hepático	6	3	9
Amibiasis intestinal	2	5	7
Sospecha de amibiasis intestinal	3	0	3
Pacientes control	4	14	18
Totales:	46	27	73

A todos los enfermos se les tomó 10 ml. de sangre periférica por punción venosa depositándola en un tubo de ensaye estéril que se trasladaba al laboratorio de pruebas especiales del ISSSTE donde se realizaba

Figura 1



Trofozoitos móviles de *Entamoeba histolytica*
(Observados con objetivo 10 X)

el proceso que a continuación se describe: se mantenía la sangre a temperatura ambiente hasta la formación del coágulo. Se centrifugaba para obtención del suero, y el suero separado se colocaba en otro tubo de ensaye estéril, el cual se llevaba a baño maría a 56°C. durante 30 minutos para inactivación. Después se conservaba el suero a -5°C. hasta el momento de realizar la reacción de inmovilización. Dicha reacción se llevó a cabo en portaobjetos de acuerdo con la siguiente técnica.

1) Sobre un portaobjetos limpio y desengrasado, se colocó una gota (0.2 ml.) del sedimento de un tubo de cultivo rico en trofozoitos móviles (++++ y 90% de movilidad) (figura 1).

2) Se agregó una gota del suero problema mezclando ambas gotas.

3) Como testigo, a fin de controlar la inmovilización espontánea, en otro portaobjetos se colocó una gota de la suspensión de trofozoitos y una gota de solución salina a 37°C.

4) Cada una de las preparaciones fue cubierta con una laminilla sellando los bordes con parafina, para evitar la desecación.

5) Las laminillas se incubaron a 37°C., durante 30 minutos.

6) Transcurridos los 30 minutos de incubación, se observaron al microscopio con objetivo 40X, tanto la preparación problema como la testigo (figura 2),

la primera en ser leída debe ser la testigo. Se revisan 100 elementos anotando si estaban inmóviles, esto es, cuando adquirirían la forma redondeada, con sus elementos protoplásmicos bien definidos.¹⁵ Las formas raras o parcialmente destruidas no se tomaron en cuenta.

7) Si en la observación del testigo había una cifra importante de inmovilización, 20 o más por ciento, la prueba se desechaba.

8) La reacción se consideraba positiva cuando había más del 50% de inmovilización, de los trofozoitos en la preparación problema.

9) Cuando los valores en cuanto al porcentaje de movilidad o inmovilidad se encontraban en los límites, la reacción se repetía hasta encontrar un resultado definitivo y reproducible.

Para la realización de la reacción de inmovilización se usaron trofozoitos de *entamoeba histolytica* mantenidos en medio de cultivo huevo, sangre con solución de ringer y polvo de arroz a temperatura de 37°C.; los cultivos se revisaban cada 48 horas y los que mostraban abundantes trofozoitos móviles se usaban para la reacción de inmovilización.

RESULTADOS

En el cuadro No. 2 se señalan los resultados obtenidos al efectuar la reacción de inmovilización en los 5 subgrupos de pacientes estudiados. Se señala tanto el número de pacientes como el porcentaje de positividad o negatividad.

Figura 2



Trofozoitos móviles e inmóviles de *Entamoeba histolytica*
(Observados con objetivo 40 X)

CUADRO II

Resultados obtenidos con la Reacción de Inmovilización (R. I.)

	Absc. hep.		Sosp. abs. hep.		Amib. int.		Sosp. amib. Int.		Pac. Control	
	No.	%	No.	%	No.	%	No.	%	No.	%
R.I. +	27	75	1	11.1	5	71.4	0	0	7	38.9
R.I. —	9	25	8	88.9	2	28.6	3	100	11	61.1

En el cuadro 3 se señala la respuesta terapéutica obtenida en pacientes con amibiasis hepática y en los de amibiasis intestinal.

CONCLUSIONES

1) La reacción de inmovilización tiene un alto porcentaje de reacciones positivas (39.9%) en pacientes con ausencia de antecedentes o cuadro sintomático de amibiasis. Quizá este alto porcentaje de reacción positiva sea debido al gran número de "portadores asintomáticos" que hay en nuestro medio o bien a reacción "falsas positivas".

CUADRO III

Respuesta terapéutica en pacientes con amibiasis hepática y en enfermos con amibiasis intestinal

Tipo de respuesta	Enfermos amib. hep.	Enfermos amib. int.
Excelente	89%	100%
Buena	5.5 ..	— ..
Fallecidos	5.5 ..	— ..

2) La reacción de inmovilización demostró ser de utilidad como guía en el diagnóstico de amibiasis; encontrando 75% de positividad en pacientes con absceso hepático y 71.4% de positividad en enfermos con amibiasis intestinal. Dichas cifras nos indican que aproximadamente en las 3/4 partes de los pacientes con manifestaciones clínicas atribuibles a amibiasis, la R.I. nos será de utilidad como una prueba orientadora para integrar el diagnóstico de amibiasis.

3) Es probable que la aplicación de métodos cuan-

titativos en el desarrollo de la R.I. nos ayude a diferenciar plenamente los casos de amibiasis actual de los casos de: portadores asintomáticos; de aquellos que tuvieron la infección, curaron y sólo conservan en el suero niveles bajos de anticuerpos y de los pacientes con reacciones falsas positivas. En comunicación posterior de este mismo grupo de enfermos, señalaremos si nuestras observaciones corroboran esta hipótesis.

RESUMEN

1. Efectuamos reacción de inmovilización para el diagnóstico de amibiasis en 73 pacientes adultos hospitalizados.

2. En pacientes con diagnóstico comprobado de amibiasis se obtuvo aproximadamente el 75% de R.I. positiva.

3. La prueba fue también positiva en 7 pacientes (38.9%) usados como control, atribuyendo este hallazgo al gran número de portadores asintomáticos que hay en nuestro medio o bien a falsas positivas.

4. Sugerimos la elaboración de técnicas cuantitativas para mejor correlación de la R.I. con los diferentes estadios clínicos de la amibiasis.

SUMMARY

1. We did I.R. in 73 hospitalized adult patients.

2. In patients with proven diagnosis of amibiasis the I.R. was positive approximately in 75 % of cases.

3. The test was also positive in 7 of the patients (38.9%) used as control, we attributed this, to the fact that there are a large number of asymptomatic carrier in our medium or to a false positive reaction.

4. We suggest the use of quantitative techniques of I.R. in order to obtain a better correlation of the titles of positivity with the different stadium of the amebiasis.

REFERENCIAS

1. BELTRAN, H. F. y BIAGI, F. F.: Anticuerpos contra *Entamoeba histolytica* a distintas edades. Bol. Med. Hosp. Inf. Mex. XIX (4); 441-446, 1962.
2. BIAGI, F. F. and BUENTELLO, L.: Immobilization Reaction for the Diagnosis of amebiasis Exp. Parasitology, 11, 188-190, 1961.
3. COCCA, A. F.: The separation of protozoan species by means of immunity reactions Zeit F. Immunität ff. Arig., 12, 127, 1912.
4. COLE, B. A. and KENT, J. F.: Immobilization of *Entamoeba histolytica* in vitro by antiserum produced in the rabbit. Proc. Soc. Exp. Biol. N. Y. 83 (4): 811-4, 1953.
5. FUKUHARA, F.: Immunological studies on *Entamoeba histolytica*. 2. On Complement fixation test, Precipitation test and Immobilization test. Japanese J. Parasit. 9 (2); 145-49, 1960.
6. KLIGLER, I. J. and OLITZKI, L.: The antigenic composition of *Trypanosoma evansi*. Am. Trop. Med. and Parasit., 30, 1936.
7. ROSSELE, R.: Spezifische sera gegen infusorien. Arch. F. Hyg. 54, 1, 1905.
8. TANZER, C. J.: Serological studies with free-living Protista. J. Immunol 42; 291-312, 1941.
9. ZAMAN, V.: An immobilization reaction against *Balantidium coli*. Nature. 194 (4826); 404-405, 1962.