

nuevos estudios acerca de la acción de sueros humanos normales e inmunes sobre el trofozoito de *e. histolytica*

LIBRADO ORTIZ-ORTIZ
BERNARDO SEPÚLVEDA
AGUSTÍN CHÉVEZ

Librado Ortiz-Ortiz. Departamento de Ecología Humana, Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México.

Bernardo Sepúlveda. Servicio de Gastroenterología, Hospital General, Centro Médico Nacional Instituto Mexicano del Seguro Social.

Agustín Chévez. Laboratorio de Patología Experimental y Cultivo de Tejidos, Departamento de Anatomía Patológica, Instituto Nacional de Cardiología.

Solicitud de sobretiros (Requests for reprints): *Dr. Librado Ortiz-Ortiz.* Departamento de Ecología Humana, Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México, México 20, D. F.

Se estudió el efecto citopatogénico sobre trofozoitos de *E. histolytica* de sueros de individuos sanos sin antecedentes de amibiasis, que no contenían anticuerpos contra *E. histolytica* y el de sueros de individuos convallescentes de amibiasis invasora o el de aquellos que no tenían antecedentes clínicos de amibiasis pero que presentaban anticuerpo anti-amibiano. Los resultados obtenidos indican que el efecto citopatogénico es mayor en los sueros de individuos con anticuerpo anti-amibiano cuando se comparan con el observado en los sueros de sujetos sanos que no contienen anticuerpo contra *E. histolytica*. Sin embargo, el suero de los sujetos sanos presenta un efecto citopatogénico sobre los trofozoitos de *E. histolytica* cuando se utiliza en concentraciones elevadas. Este efecto citopatogénico sobre *E. histolytica* no se observa en el suero obtenido de cordón umbilical de recién nacidos o en el de reclutas norteamericanos sanos. Los hallazgos sugieren la participación de algunas substancias presentes en el suero con efecto anti-amibiano o bien el de una inmunoglobulina no determinada por la prueba de contrainmuno-electroforesis. [Arch. Invest. Méd. (Méx.) 5, Supl. 2: 337, 1974].

En el V Seminario de Amibiasis, se presentaron resultados sobre el efecto citopatogénico del suero y gamma globulina inmunes sobre los trofozoitos de *Entamoeba histolytica*.¹⁻³ Sin embargo, quedaban por resolver varias incógnitas entre ellas la del efecto citopatogénico observado en los sueros de individuos sanos con valores serológicos negativos para la amibiasis.

El objeto del presente trabajo fue tratar de resolver estas preguntas utilizando para el ca-

so diversos procedimientos, específicamente, 1) Valorar por diluciones de los sueros normales, el efecto citopatogénico en individuos mexicanos, en quienes la frecuencia de la amibiasis es elevada y en reclutas norteamericanos que exhiben una incidencia mucho menor de la enfermedad. 2) Valorar en la misma forma el efecto observado en los sueros con anticuerpos contra *E. histolytica*. 3) Estudiar la capacidad citopatogénica contra *E. histolytica* del suero obtenido de cordón umbilical de recién nacidos con pruebas de contrainmuno-electroforésis positiva; las madres de estos sujetos presentaban también anticuerpos contra amibas y se compararon los resultados con el de sueros de cordón umbilical que no contenían anticuerpos anti-amibianos.

Material y métodos

E. histolytica. Se usaron amibas desarrolladas en cultivos monoxénicos de resiembra de 48 horas HM2-IMSS con *B. symbiosus*. Las amibas se utilizaron a una concentración de 37 000 trofozoítos por ml de medio de cultivo.

Sueros. Se obtuvieron sueros de sujetos sanos sin antecedentes conocidos de amibiasis que tenían una prueba de contrainmuno-electroforésis negativa. En esta parte del estudio se utilizaron tanto sueros de individuos mexicanos como de reclutas norteamericanos.

También se investigó el efecto citopatogénico de los sueros inmunes obtenidos de individuos convalescientes como de aquellos que no tenían evidencia clínica de amibiasis.

Con el objeto de investigar el efecto de la IgG anti-amibiana materna sobre los trofozoítos de *E. histolytica*, se usaron sueros de cordón umbilical de recién nacidos provenientes de madres con sueros positivos para la

amibiasis. Al mismo tiempo, el efecto de estos sueros fue comparado con el obtenido de cordón umbilical pero de madres con sueros negativos.

Determinación del efecto citopatogénico de los sueros en estudio. Para determinar el efecto citopatogénico se realizaron diluciones de los sueros. Las diferentes diluciones preparadas fueron ensayadas por mezcla con los trofozoítos de *E. histolytica* en una relación 1:1. es decir, un volumen de la dilución del suero en estudio y un volumen de la suspensión de amibas a una concentración de 37 000 trofozoítos/ml. Las diluciones finales de los sueros que se ensayaron en la mayoría de los experimentos fueron 1:2, 1:10, 1:20, 1:40 y 1:80. La mezcla de amibas más suero fue incubada durante 60 minutos a 37°C y observada entre porta y cubreobjetos al microscopio. En estas preparaciones se determinó la proporción de amibas muertas bajo el efecto de los sueros en estudio. En cada experimento se incluyeron controles de amibas solas, las cuales se han manipulado en las mismas condiciones.

Resultados

Los sueros obtenidos de individuos sanos sin antecedentes de amibiasis y con una prueba de anticuerpos negativa para la amibiasis, presentan efecto citopatogénico sobre las amibas cuando se les utiliza concentrados (1:2). A diluciones crecientes del suero de estos sujetos, el efecto citopatogénico disminuye hasta llegar al que se observa de una manera constante en los controles de cultivos de amibas que no contienen suero. Tal hecho generalmente ocurre a una dilución 1:10.

Cuando se comparan los resultados obtenidos con los sueros de los individuos mexica-

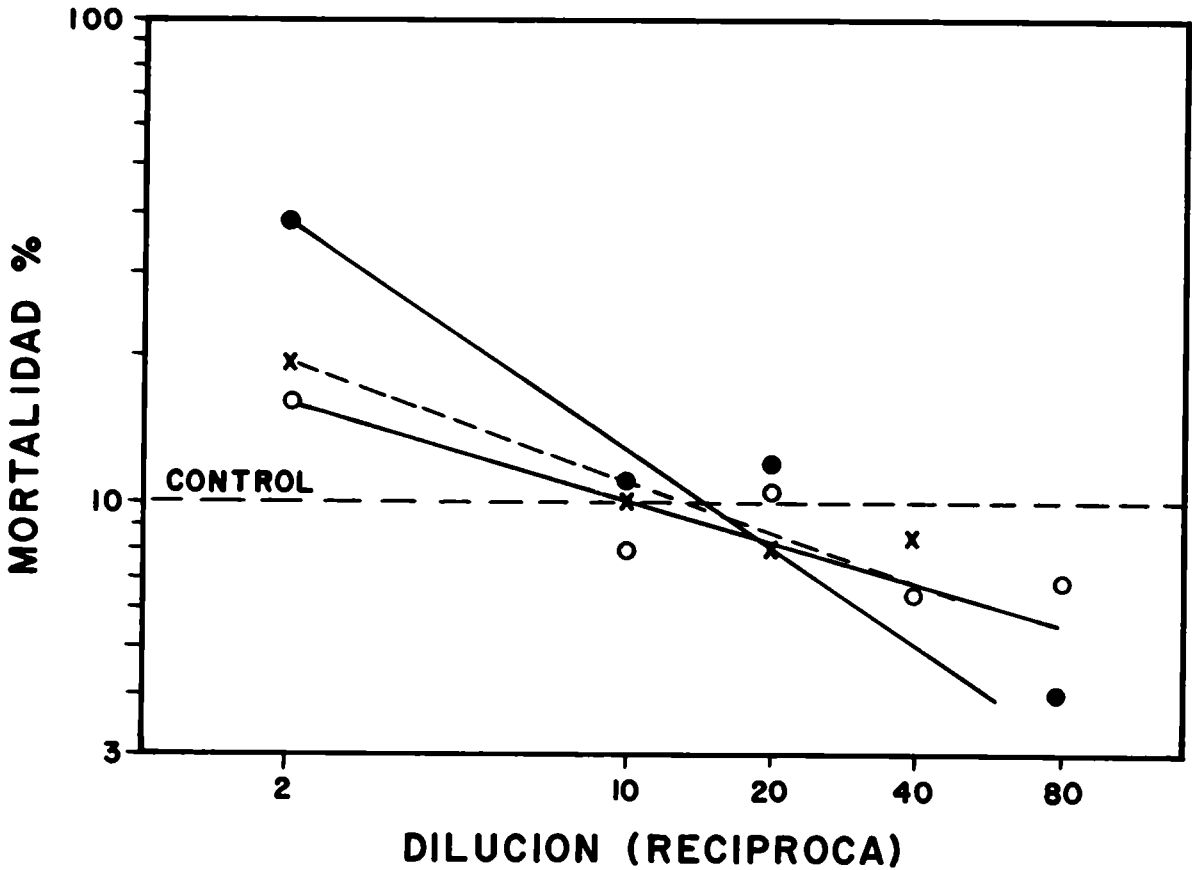


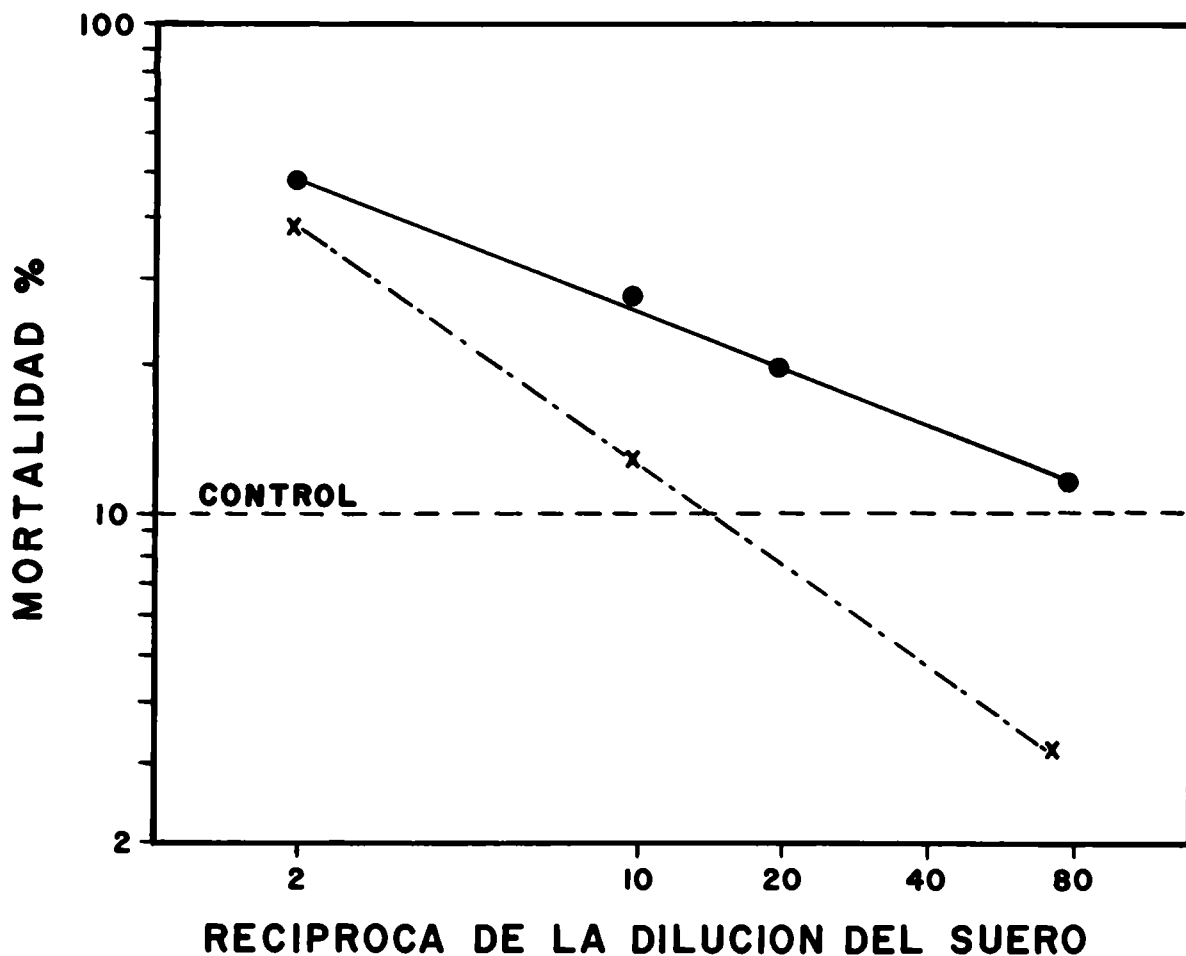
FIG. 1. Efecto citopatogénico sobre *E. histolytica* del suero normal obtenido de individuos sin antecedentes clínicos de amibiasis y que no contenían anticuerpos anti-amibianos. Individuos mexicanos (●); individuos norteamericanos (○); mexicanos recién nacidos (x—x).

nos con los observados con el suero de reclutas norteamericanos sanos, se aprecia que estos últimos presentan menor efecto citopatogénico sobre los trofozoítos de *E. histolytica*. El ligero efecto citopatogénico observado con los sueros de reclutas norteamericanos se aprecia

solamente cuando se ensayan a concentraciones de 1:2, pero no a diluciones 1:10.

El efecto del suero de cordón umbilical con serología negativa para la amibiasis sobre los trofozoítos de *E. histolytica* es similar al observado en los reclutas norteamericanos; y sólo a concentraciones elevadas de suero (Fig. 1).

Por otra parte, cuando se estudia el suero de sujetos convalecientes de amibiasis invasora o el de aquellos que no mostraban antecedentes clínicos de amibiasis pero que presentaban una reacción serológica positiva para el anticuerpo anti-amibiano se observa un efecto cito-



patogénico que se mantiene aún a diluciones de suero superiores a 1:10 (Figs. 2 y 3).

Resultados preliminares con un suero obtenido de cordón umbilical de un recién nacido, con anticuerpos contra *E. histolytica*, muestra actividad citopatogénica diferente de la observada con un suero de cordón umbilical que no contenía anticuerpos antiambiánicos (Tabla I).

FIG. 2. Efecto citopatogénico sobre *E. histolytica* del suero normal obtenido de individuos sin antecedentes clínicos de amebiasis y que no contenían anticuerpos antiambiánicos (x—x) y del suero inmune obtenido de individuos convalecientes de absceso hepático amebiano o de individuos sin antecedentes clínicos de amebiasis pero que contenían anticuerpos contra *E. histolytica*. (●—●). Promedio de cinco experimentos.

FIG. 3. Valores individuales del efecto citopatogénico sobre *E. histolytica* de cinco sueros que contenían anticuerpo antiambiánico (inmunes).

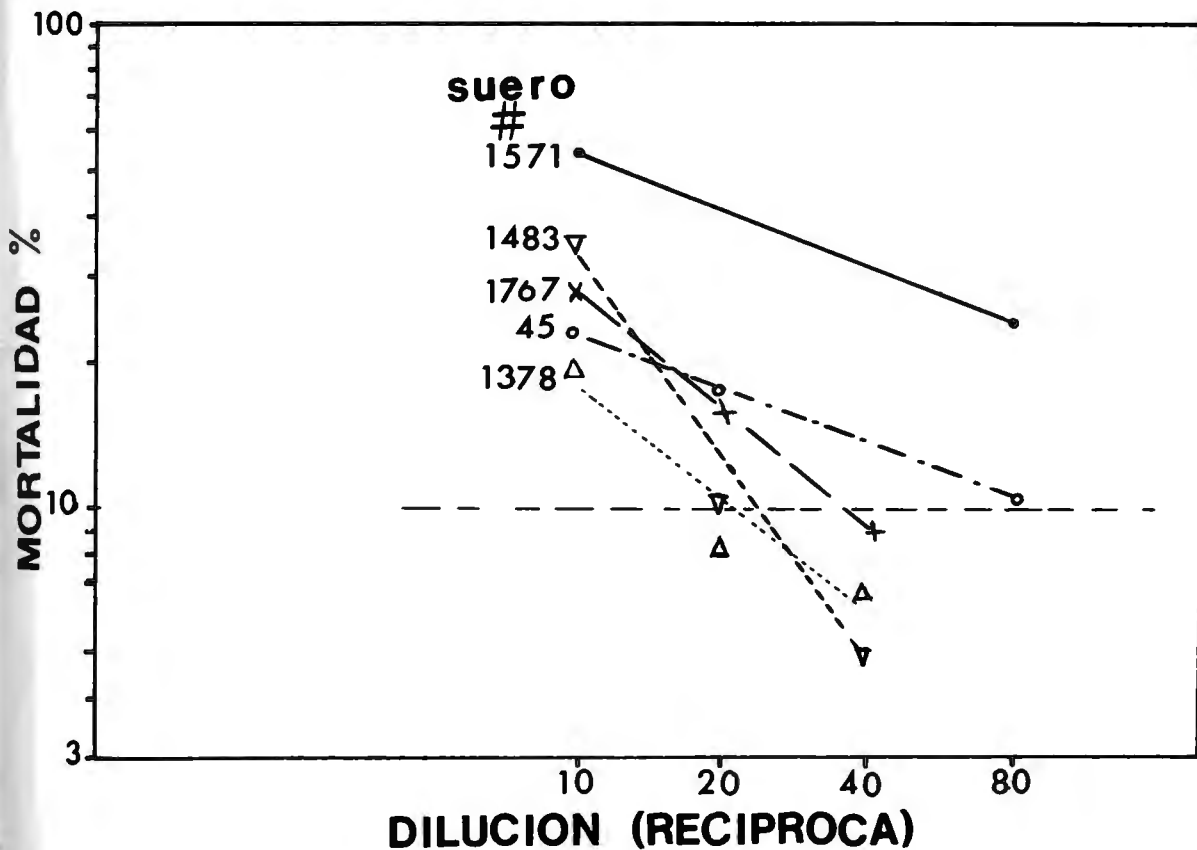


TABLA I. EFECTO DEL SUERO DE CORDON UMBILICAL NORMAL E INMUNE SOBRE EL TROFOZOITO DE *E. HISTOLYTICA*

Anticuerpos antiamibianos	Trofozoítos de <i>E. histolytica</i>	
	Vivos	Muertos
+	79	21
-	97	3

Discusión

Si bien es cierto que el suero de individuos

mexicanos sanos sin antecedentes clínicos de amibiasis ejerce efecto citopatogénico sobre las amibas, éste sólo se pone de manifiesto a concentraciones elevadas del suero. Sueros de reclutas norteamericanos sanos mostraron un menor efecto sobre las amibas a las mismas concentraciones. Ello sugiere la participación de alguna sustancia presente en el suero, con efecto anti-amibiano o bien el de una inmunoglobulina no determinada por la prueba de contra inmunoelectroforesis.

El efecto de los sueros inmunes de individuos sin evidencia clínica de amibiasis o de

convalecientes es similar a y su efecto citopatogénico sobre las amibas es evidente aún a diluciones a las cuales los sueros normales locales o de norteamericanos no presentan ningún efecto sobre *E. histolytica*.

Los resultados obtenidos con sueros de cordón umbilical, aunque preliminares, son alentadores, ya que la diferencia observada entre el efecto con sueros con anticuerpos antiamebianos positivos y el de aquellos con anticuerpos negativos es notable. Es interesante mencionar el hecho de que el suero de cordón umbilical con anticuerpo negativo presenta efecto citopatogénico similar al observado en el suero de los reclutas norteamericanos.

Abstract

NEW STUDIES ON NORMAL AND IMMUNE HUMAN SERUM ACTION ON TROPHOZOITES OF *E. HISTOLYTICA*. The cytopathogenic effect on *E. histolytica* trophozoites of normal serum obtained from healthy individuals with no clinical history of amebiasis and lack of antibodies to *E. histolytica* and of serum obtained from patients with a past history of amebic liver abscess or normal individuals with antibodies to *E. histolytica* was studied. The results show a

greater cytopathogenic effect in those sera containing precipitating antibodies than in those without antibodies. However, a cytopathogenic effect in the normal sera without antibodies was observed when tested at high concentrations. This cytopathogenic effect was not observed in serum obtained from either newborn babies or Northamerican soldiers that did not show the presence of antibodies against *E. histolytica* in their serum. These findings suggest that the serum of healthy individuals could contain a substance or an immunoglobulin not detected by counter immunoelectrophoresis with antiamebic properties.

Referencias

1. DE LA TORRE, M.; ORTIZ-ORTIZ, L.; DE LA HOZ, R. y SEPÚLVEDA, B.: Acción del suero humano inmune y de la gammaglobulina antiamebiana sobre cultivos de *E. histolytica*. Arch. Invest. Méd. (Méx.) 4, Supl. 1: s67, 1973.
2. CHÉVEZ, A.; ITURBE-ALESSIO, I.; SEPÚLVEDA, B.; SEGURA, M. y ORTIZ-ORTIZ, L.: Respuesta morfodinámica de los trofozoitos de *E. histolytica* a la acción del suero humano inmune correspondiente. Arch. Invest. Méd. (Méx.) 4, Supl. 1: s71, 1973.
3. SEPÚLVEDA, B.; CHÉVEZ, A.; ITURBE-ALESSIO, I. y ORTIZ-ORTIZ, L.: Efecto de la gammaglobulina inmune antiamebiana sobre el trofozoito de *E. histolytica*. Arch. Invest. Méd. (Méx.) 4, Supl. 1: s79, 1973.