



140
Lg.

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO**

FACULTAD DE CIENCIAS

**" PREVALENCIA DE ZIMODEMOS PATOGENOS Y NO PATOGENOS
DE Entamoeba histolytica EN UNA COMUNIDAD RURAL DE
MEXICO "**

T E S I S

Que para obtener el Título de:

B I O L O G O

presenta

MARIO ALBERTO MERCADO PADILLA

México, D. F.

1988



Universidad Nacional
Autónoma de México



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 está 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.

INDICE

RESUMEN	1
INTRODUCCION.	3
SINONIMOS	6
CLASIFICACION TAXONOMICA.	6
CARACTERISTICAS	7
CICLO DE VIDA	8
ANTECEDENTES.	13
HIPOTESIS	19
OBJETIVOS	19
MATERIAL Y METODOS.	21
RESULTADOS.	35
DISCUSION	50
CONCLUSIONES.	53
BIBLIOGRAFIA.	54

RESUMEN

La amibiasis intestinal es una enfermedad causada por Entamoeba histolytica, las características de este protozooario sirven para reconocerlo fácilmente, sin embargo, al aplicar este criterio se puede encontrar tanto en pacientes con síntomas de amibiasis invasora como en personas - aparentemente sanas. De aquí la necesidad de establecer una metodología que permita la adecuada ubicación de las especies de Entamoeba.

En 1968, Robinson (47) describió un método de cultivo monoxénico de amibas que permitió transformar quistes de Entamoeba histolytica en trofozoítos.

En 1978, Sargeant y Williams (51) (52) y en 1980, Farri y Sargeant (18) lograron por primera vez, encontrar diferencias entre cepas patógenas y no patógenas de Entamoeba histolytica, de acuerdo al corrimiento -- electroforético en gel de almidón de 4 isoenzimas (fosfoglucomutasa PGM, glucosa fosfo-isomerasa GPI, malato deshidrogenasa ME y hexoquinasa HK). Encontrando que la marca de patogenicidad de amiba estaba dada por el corrimiento electroforético de beta en fosfoglucomutasa acompañada de corrimiento rápido de hexoquinasa.

En 1982 aparece el término de ZIMODEMO (55), el cual se define como "una población de amibas que se diferencia de poblaciones similares por - la movilidad electroforética de una o más isoenzimas específicas".

En 1974 en una encuesta serológica nacional realizada por Gutiérrez y col., utilizando la técnica de contraelectroforesis (CIE), demostraron la endemicidad del padecimiento en la República Mexicana, encontrando que el mayor título de anticuerpos anti-amiba se hallaba en la región centro-occidental (9.95%) (25).

En 1986, Martínez y col. (41), publican los resultados que obtuvieron en el estudio de una comunidad rural de México (Cadereyta de Montes, Querétaro), encontrando que la prevalencia de portadores de quistes de amibas era mayor en la periferia de la población (8.95%). El análisis de portadores de quistes lo hicieron por la técnica de Faust, encontrando que el coproanálisis no era útil para identificar cepas patógenas y no patógenas de E. histolytica.

En este trabajo se estudio dicha población para conocer la prevalencia de individuos portadores de quistes de amibas, por medio del cultivo de Robinson, y de éstos portadores de quistes cuántos albergaban a E. histolytica con zimodemo patógeno y cuántos con zimodemo no patógeno.

En 1775, Rosel Van Rosenhof, observó al microscopio un microorganismo que se movía constantemente y cambiaba de forma, a este le denominó "el pequeño proteo" y posteriormente Linneo lo llamó Chaos proteus. En 1839, Ehrenberg creó el género Amoeba y, diez años más tarde, Gross describió la primera ameba que parasitaba al hombre la cual llamó Amoeba gingivalis y actualmente se le conoce como Entamoeba gingivalis (28).

Antes de la llegada de los españoles a México, los aztecas llamaban "tlacoaciuztli" a la disenteria que evolucionaba con pujo y evacuaciones sanguinolentas. Estos pacientes recibían como tratamiento algunos medicamentos preparados con diversas raíces (38). En una monografía publicada en México en 1856, el doctor Jiménez describió la sintomatología causada por el absceso hepático, sin embargo, no pudo aclarar la etiología de estas lesiones. Durante esa época, y en los años siguientes, existió la creencia de que la causa del absceso hepático era la falta de moderación al beber el "pulque" que utilizaba materia fecal humana para su fermentación. Estas primeras observaciones que relacionaban el absceso hepático con bebidas de dudosa limpieza, permanecieron en el olvido durante mucho tiempo (19).

En el número 65 de los "Archivos de Anatomía y Fisiología Patológicas y Medicina Interna" en 1875, Fedor Aleksandrovich Lesch (Lösch) (1840-1903) publicó los resultados de las observaciones y de la experimentación que realizó en un caso de disenteria que padeció un campesino de la región de Arcangel, Leningrado. En este artículo, "Desa-

rollo masivo de amibas en el intestino grueso" (8), Lösch describió el parásito con detalle, incluyendo las características de su núcleo, citoplasma y vacuolas, así como los eritrocitos dentro de él; además realizó dibujos comparativos de las características morfológicas de estos parásitos con otras especies ya conocidas llegando a la conclusión de que era una nueva, por lo cual la denominó Amoeba coli. Por otro lado, las heces sanguinolentas conteniendo trofozoítos de estas amibas las inoculó en el recto de un perro produciéndole disentería. A pesar de lo anterior Lösch no pudo establecer la relación fisiopatológica entre la amiba y la colitis humana (10, 11, 28, 69).

Investigaciones posteriores -Stephanos Kartulis, en el Cairo, - 1886; Hlava, en Praga, 1887; Councilman y Laflour, en Baltimore, - 1891- demostraron con pruebas clínicas y anatomopatológicas que la amiba era la causa de la disentería y del absceso hepático. En el año 1893, Quinke y Roos descubrieron los quistes, Schaudinn, en el año 1903, dió a la especie el nombre de Entamoeba histolytica diferenciándola de la Entamoeba coli. En 1904, Musgrave y Clegg introdujeron el término "amibiasis" para designar a las infecciones amibianas, independientemente de que fueran acompañadas con síntomas o lesiones. No fue sino hasta 1913, que Walker y Sellards hicieron la diferenciación entre la función de comensal en el intestino grueso de la Entamoeba coli y la patogenicidad de Entamoeba histolytica (10, 11, 28, - 39, 69).

La tendencia general de los seres vivos es establecer asociaciones o comunidades, ya sea entre individuos de una misma especie (intraespecífica), género o familia, o entre individuos pertenecientes a grupos taxonómicos diferentes (interespecífica). Independientemente de los móviles de tales asociaciones, existe en todas ellas un factor común, la obtención de beneficio ya sea individual o mutuo. Esta "asociación biológica", puede existir como: parasitismo, que es una de las más estrecha de las modalidades de asociación, en la cual uno de los asociados disfruta de las máximas ventajas (parásito) mientras el otro sufre las desventajas (hospedero) (6, 7, 34, 37).

Bajo el nombre genérico de amibiasis intestinal, se consideran todos los casos de parasitosis del colon por Entamoeba histolytica; sin que esto implique que la totalidad de los individuos parasitados sufran enfermedad amibiana del colon, ya que Entamoeba histolytica -- puede vivir en calidad de comensal en el intestino, de tal forma que muchas personas son portadoras asintomáticas del parásito. En determinadas circunstancias la amiba tiene poder patógeno y es capaz de invadir tejidos, por tanto, hay que distinguir dentro del grupo de individuos que albergan el parásito en el colon, dos categorías diferentes: los que sufren la amibiasis invasora de la pared intestinal y los que son portadores asintomáticos de Entamoeba histolytica (28, -- 48, 65).

SINONIMOS

Amoeba coli Lösch, 1875.

A. dysenterie Councilman y Lafleur, 1891.

Entamoeba tetragena Hartman, 1903.

E. histolytica Schaudinn, 1903.

E. dysenterie Craig, 1905.

E. histolytica Hickson, 1909.

E. hartmanni Von Prowazek, 1912.

E. dysenterie Kfoid, 1920.

E. dispar Brumpt, 1921.

CLASIFICACIÓN TAXONOMICA

Subreino Protozoa

Phylum Sarcomastigophora

Subphylum Sarcodina

Superclase Rizopoda

Clase Lobosea

Subclase Gymnamoebida

Orden Amoebida

Suborden Tubulina

Familia Endamoebidae

Genero Entamoeba

Especie Entamoeba histolytica Schaudinn, 1903.

Los sarcodinos son organismos unicelulares que poseen membrana exterior delgada, por lo cual son capaces de formar pseudópodos, que sirven tanto para su locomoción como para la captura de alimento. El citoplasma está diferenciado en ectoplasma y endoplasma, en éste se encuentran las vacuolas alimenticias, varios gránulos y el núcleo o núcleos; son típicamente holozoicos. La reproducción solo es asexual y puede ser por fisión binaria (o múltiple), por gemación o por plasmotomía. El enquistamiento es común en la mayoría de los sarcodinos.

En los representantes de la clase Lobosea el ectoplasma es hialino, homogéneo y, en apariencia, más viscoso que el endoplasma, este es granuloso vacuolado, con uno o más núcleos, varias vacuolas alimenticias, cristales y otras inclusiones. En las formas de vida libre hay por lo menos una vacuola contráctil notablemente visible. Los pseudópodos son lobópodos los cuales se forman por el movimiento del flujo o de fuente del citoplasma. En algunos miembros de este orden, la formación de pseudópodos es eruptiva o explosiva. Las gymnamoebas (amibas desnudas) habitan en todas clases de agua dulce, salobre y salada; en el suelo húmedo y muchos son habitantes del tubo digestivo de varios animales.

Las amibas pertenecientes a la familia Endamoebidae son asociadas (comensales o parásitas); los trofozoitos son relativamente pequeños, y viven en el canal alimenticio de varios animales hospederos, la diferenciación genérica está basada en las características nucleares.

Los organismos del género Entamoeba tienen el núcleo vesicular -- con un endosoma comparativamente pequeño localizado en o cerca del -- centro y con un número variable de gránulos no cromáticos periféricos adheridos a la membrana nuclear, poseen cromatina en el endosoma y en la región perienosomal.

CICLO DE VIDA

El trofozoito de Entamoeba histolytica (fig. A) mide aproximadamente 30 micras de diámetro, su habitat normal en forma madura son -- las criptas del intestino grueso del hombre. Cuando aún no ha invadido los tejidos, obtiene su alimento de ciertas bacterias intestinales, por procesos anaerobios de simbiosis, así mismo, utiliza también la -- secreción de la mucosa intestinal como alimento. Durante algún tiempo los trofozoitos pueden vivir y multiplicarse (por fisión binaria) en las criptas antes de invadir los tejidos, cuando esto ocurre, ya -- no dependen de las bacterias, sino que se alimentan del citoplasma -- predigerido de las células invadidas, lo cual constituye su nutriente fundamental.

El citoplasma de los trofozoitos contiene diferentes organoides: cuerpos densos, ribosomas y polisomas, cuerpos helicoidales y cuerpos tubulares; numerosas vacuolas alimenticias grandes y vesículas pequeñas, cuyas membranas poseen la misma estructura que la membrana plasmática, presenta también lisosomas activos especializados de superficie. La amiba carece de mitocondrias y aparato de Golgi, su retículo endoplásmico consiste de vesículas finas rodeadas de algunos ribosomas. El núcleo es ovalado, central y con cromatina periférica.

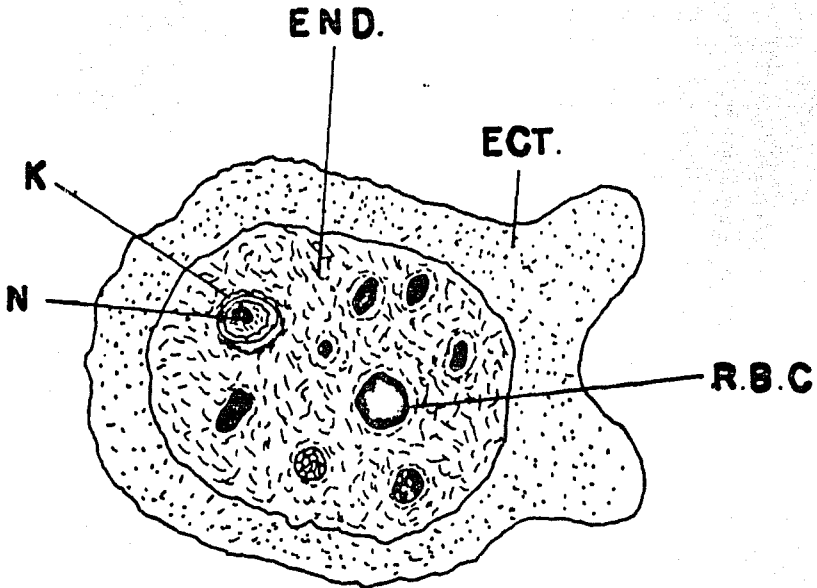


Fig.A.- Dibujo de un trofozoito de Entamoeba histolytica

(N) núcleo

(ECT) ectoplasma

(K) cariosoma

(RBC) células rojas ingeridas

(END) endoplasma

Durante la deshidratación de la materia fecal, antes de ser expulsada, cuando aún contiene trofozoítos, éstos eliminan el contenido de las vacuolas digestivas y empiezan a tomar forma redondeada, con una pared gruesa y resistente, ésta es la forma denominada prequiste. En seguida, la membrana secretada por el prequiste se hace más gruesa y pasa a la fase madura por varias mitosis hasta tener 4 núcleos, el contenido del endoplasma se condensa en forma de barras cromatoídales.

Los quistes maduros de forma esférica u oval, tienen un diámetro de 8 a 20 micras y una pared de 125 a 150 micrómetros de grosor (fig. B), la membrana plasmática frecuentemente presenta profundas invaginaciones y en su citoplasma se observan polirribosomas, vacuolas y depósitos de glucógeno. En el núcleo existen: un cariosoma, que puede ser central, cuerpos cromatoídales y cromatina periférica adherida a la envoltura nuclear.

Los quistes maduros son expulsados con las heces pastosas, constituyendo "el estado de transmisión de un hospedero a otro". En los portadores asintomáticos los quistes se eliminan cíclicamente a intervalos de 7 días como máximo y pueden expulsar alrededor de 45 millones de quistes por día. Los quistes son sensibles a la putrefacción, desecación y a temperaturas superiores a 40°C e inferiores a 5°C.

Una vez ingerido el quiste, el exquistamiento se lleva a cabo en el intestino delgado ya que para que esto ocurra el quiste debe estar en medio neutro o ligeramente alcalino, en donde el quiste eclosiona, saliendo una ameba multinucleada o metaquiste, que por regla general da origen a cuatro trofozoítos metaquisticos activos. Si las condiciones

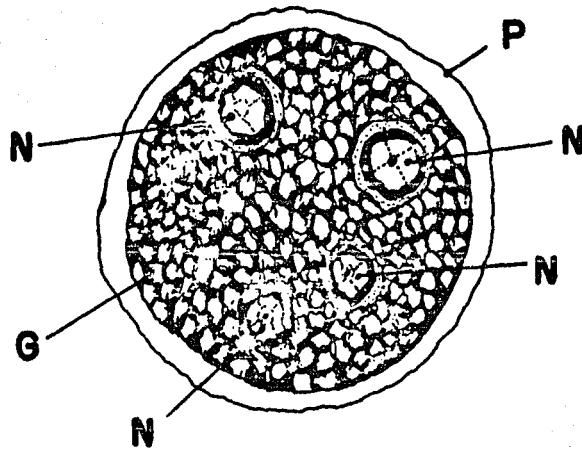


Fig. B.- Dibujo de un quiste de Entamoeba histolytica

(N) Núcleos (P) Pared quística

(G) Depósitos de glucógeno

nes del intestino delgado no son favorables para esta eclosión, el --
quiste pasa al intestino grueso, de donde es expulsado al exterior ya
que en el intestino grueso no se ha demostrado que ocurra eclosión --
(69).

ANTECEDENTES

La frecuencia de amibiasis intestinal en niños y de absceso hepático en adultos, es alta en regiones donde se conjugan las condiciones sanitarias deficientes, la pobreza, la ignorancia y la prevalencia de cepas altamente patógenas de Entamoeba histolytica. Aproximadamente existen 500 millones de seres humanos infectados con este organismo -- (sin considerar a China). Los lugares con el mayor número de casos de infección producida por este parásito, se localizan en Asia y Latinoamérica. La mortalidad anual causada por amibiasis es de 75,000, por lo que este protozooario ocupa el tercer lugar como agente causal de mortalidad por parásitos a escala global (70).

Las características del protozooario, incluyendo el tamaño y la -- disposición de la cromatina en el núcleo sirven para reconocerlo fácil mente; sin embargo, al aplicar únicamente el criterio morfológico se -- puede encontrar que este parásito proviene tanto de pacientes con pato logía de amibiasis invasora como de personas aparentemente sanas. Los estudios bioquímicos y fisiológicos realizados hasta la fecha no han -- permitido diferenciar claramente las especies de Entamoeba y los méto- dos serológicos, por otro lado, tampoco han aportado datos suficientes para la diferenciación e identificación de las amibas, de aquí la nece sidad de establecer una metodología confiable que permita la adecuada ubicación de las especies de Entamoeba.

En 1968, Robinson (47) describió un método de cultivo monoxénico de amibas que permitió transformar los quistes de Entamoeba histolyti ca en trofozoitos, lo cual ayudó a mejorar el diagnóstico parasitoscó-

pico de la amiba gracias a la obtención de grandes cantidades de trofozoitos. Reeves y Bischoff, en ese mismo año, gracias al cultivo de Robinson, pudieron hacer corrimientos electroforéticos en acetato de celulosa de 5 isoenzimas de Entamoeba histolytica. Por este medio lograron clasificar 10 cepas de Entamoeba, divididas en 2 grupos, sin embargo, no encontraron relación de patogenicidad o no patogenicidad entre ellas (46).

En 1978, Sargeant y Williams (51) (52) lograron, por primera vez, encontrar diferencias entre cepas patógenas y no patógenas de Entamoeba histolytica de acuerdo al corrimiento electroforético de 3 isoenzimas, la malato-deshidrogenasa (ME), glucosa fosfato-isomerasa (GPI) y la fosfo-glucomutasa (PGM). El patrón de corrimiento (1979) de las mismas isoenzimas fue totalmente diferente al de otras amibas: Entamoeba hartmanni, Entamoeba coli, Iodamoeba buetschlii, Dientamoeba fragilis, Endolimax nana (53). Posteriormente los mismos autores (18) en compañía de Fari (1980), agregan a su estudio el comportamiento de la hexoquinasa (HK) y encuentran que el corrimiento electroforético rápido de la misma va acompañado con corrimiento beta de la fosfo-glucomutasa. En 1982 aparece el término de ZIMODEMO (55) el cual se define como "una población de amibas que se diferencia de poblaciones similares por la movilidad electroforética de una o más isoenzimas específicas.

Otros estudios hechos en diferentes regiones, incluyendo México - en 1980 (55) y 1982 (56), permitieron encontrar hasta 20 o más zimodemos (fig. C). De estos zimodemos se encontró que la marca de patogenicidad de amiba estaba dada por el corrimiento electroforético de beta



Fig. C.- Mopa mostrando la distribución geográfica de los zimodemos de Entamoeba histolytica encontrados por Sargeant y col. (1978, 1980, 1987)

- 1.- Canada II
- 2.- E.U.A I, II, III, IV
- 3.- Mexico I, II, III, IV, V, VI, VII, IX, X, XII, XIII
- 4.- El Salvador I, II, III
- 5.- Inglaterra I, II, III, IV, V, VI, VII, VIII, IX, X, XI, XII, XIII, XIV, XV, XVI, XVII, XVIII
- 6.- Finlandia I
- 7.- Kuwait I
- 8.- India I, III, IV, XIV
- 9.- Africa del Sur I, II, III, VI, IX, XI, XIII, XVI, XVIII

GRUPO 1

Zimodemos Patogenos II, VI, VII, XI, XII, XIII, XIV, XIX, XX

GRUPO 2

Zimodemos no Patogenos I, III, IV, V, VIII, IX, X, XV, XVI, XVII,

Patogenos XVIII

en fosfo-glucosidasa acompañada de corrimiento rápido de hexoquinasa, con excepción del zimodemo XIII (fig. D) (56). Por otro lado, se aclara que aparentemente los zimodemos no patógenos pueden presentarse mezclados (1985) (63) mientras que los patógenos no. Finalmente en el último trabajo reportado por Sargeant (1987) (64) asevera que: las infecciones por Entamoeba histolytica pueden ser asintomáticas o sintomáticas; las infecciones sintomáticas pueden, en ocasiones, manifestarse por lesiones viscerales como secuelas mientras que las infecciones - - asintomáticas suelen conservarse ocultas hasta que se revelan de manera fortuita. De estos dos tipos de infección solo las infecciones sintomáticas originan anticuerpos sanguíneos demostrables en títulos crecientes. Utilizando sistemas de cultivo polixénico y monoxénico, y modificando la flora bacterial concomitante, las características de los zimodemos no cambian.

La amibiasis generalmente se mide por la frecuencia de absceso hepático (AHA). En un estudio realizado en los hospitales del IHSS de la República Mexicana (1971), se encontró que la frecuencia de AHA era del 0.7%. El padecimiento fue más frecuente en adultos de 20 a 49 años y se encontró que atacaba sobre todo a personas de escasos recursos económicos (1) (26) (32) (36).

En 1974 en una encuesta serológica nacional (25), se estudiaron 19,442 sujetos que vivían en 46 localidades urbanas de la República Mexicana, consideradas como representativas de todas las áreas geoeconómicas y geomórficas del país. Para este estudio se utilizó la técnica de contraelectroforesis (CIE). La frecuencia de individuos con anticuerpos séricos anti-amiba fue de 5.95% variando entre 9.95% para

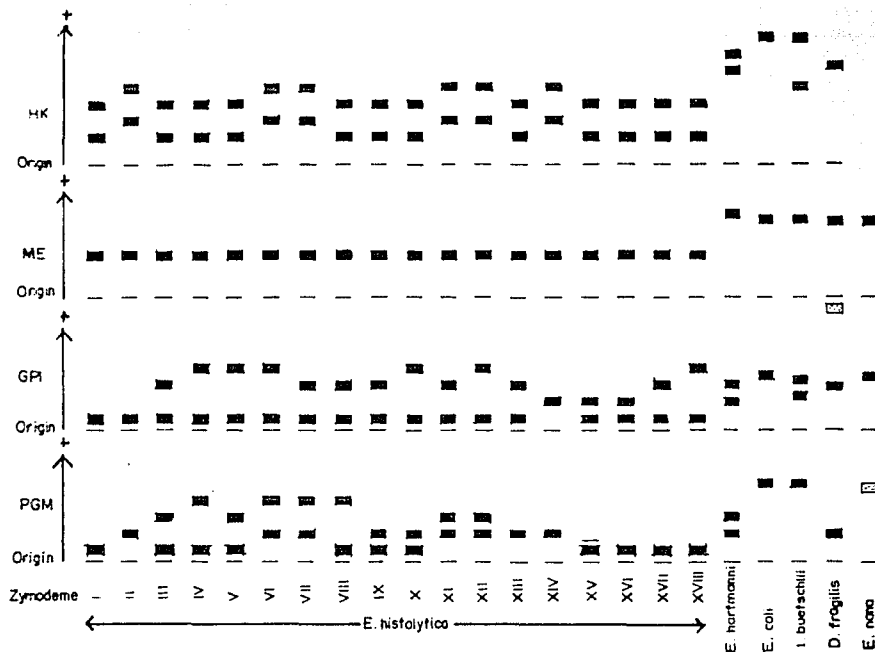


Fig. D.- Zimograma donde se representa la posición de las bandas de los corrimientos electroforéticos encontrados por Sargeant usando E.C. 5319 glucosa fosfato isomerasa (GPI); E.C 11140 enzima mállica (ME); E.C 2751 fosfoglucomatasa (PGM) y E.C. 2711 hexoquinasa (HK).

La banda γ en la enzima mállica es específica de especie, la marca de patogenicidad esta dada por las bandas β en PGM y rápida en HK, con excepción del zimodemo XIII.

la región centro-occidental y de 2.53% en la región nor-oriental. Con esta técnica es posible detectar anticuerpos anti-amiba en individuos que han padecido invasión tisular por el parásito, por lo que se descartan de este modo a los portadores sanos. En todas las poblaciones estudiadas se reportaron casos positivos, lo que demuestra la endemicidad del padecimiento en la República Mexicana. La variabilidad en las frecuencias probablemente está en relación con diversos factores, uno de ellos podría ser la virulencia de las cepas amibianas.

En 1984-85 se realizó un estudio en el hospital de Cadereyta de Montes, Qro., para conocer la frecuencia de AHA (41) y se encontró que el 1.2% de los pacientes hospitalizados sufrían de este padecimiento, siendo más frecuente en el grupo de edad de 25 a 34 años.

En 1986 Martínez y col., (40) publican los resultados que obtuvieron en el estudio de una comunidad rural de México (Cadereyta de Montes, Qro.); en este trabajo se investigó, por un lado, la prevalencia de portadores de quistes así como individuos seropositivos. Se estudiaron dos tipos de población, urbana y rural, y se encontró que el porcentaje de portadores de quistes en la zona urbana fue de 3.25% - mientras que en la zona rural fue de 8.95%; el porcentaje de individuos seropositivos en la zona urbana fue de 5.76% y de 7.22% en la zona rural. El análisis de portadores de quistes se hizo por la técnica de Faust y la seropositividad por CIE.

Por último se encontró que el coproanálisis no era útil para identificar cepas patógenas y no patógenas de Entamoeba histolytica.

HIPOTESIS

En los estudios coproparasitosc6picos es posible distinguir cualitativamente los huevos, quistes o larvas de los diferentes par6sitos intestinales, pero con este estudio no es posible identificar cepas pat6genas y no pat6genas de Entamoeba histolytica. Utilizando el medio de cultivo monox6nico de Robinson, se obtienen grandes cantidades de trofozoitos los cuales se pueden analizar a trav6s del comportamiento electrofor6tico de 4 de sus isoenzimas. Con este an6lisis es posible identificar cepas pat6genas y no pat6genas de amibas.

OBJETIVOS

La poblaci6n de Cadereyta de Montes, Quer6taro, forma parte de la regi6n centro-occidental de la Rep6blica Mexicana, que seg6n el estudio realizado por Guti6rrez y col., (1974), es la zona con el mayor t6tulo de anticuerpos anti-amiba. Esta poblaci6n result6, seg6n el estudio realizado por Mart6nez y col. en 1986, con un alto porcentaje de individuos portadores de quistes de amibas (8.95%). Por tales razones se decidi6 realizar el estudio en dicha poblaci6n.

1.- Recolecci6n de muestras de materia fecal, para su cultivo en medio monox6nico de Robinson.

2.- Cosecha de trofozoitos de Entamoeba histolytica, crecidos en el medio de Robinson y obtenci6n de su lisado correspondiente.

3.- Análisis electroforético en geles de almidón, del patrón isoenzimático de los lisados (zimodemos).

4.- Cultivo axénico de Entamoeba histolytica HM-1 IMSS.

5.- Cosecha de Entamoeba histolytica crecida axénicamente y obtención de su lisado.

6.- Análisis electroforético en geles de almidón, del patrón isoenzimático del lisado de trofozoítos de la cepa HM-1 IMSS.

7.- Determinación de la prevalencia de zimodemos patógenos y determinación de la prevalencia de zimodemos no patógenos.

MATERIAL Y METODOS

1. - MUESTREO

Se estudiaron los habitantes de la periferia de la comunidad de Caderejita de Montes, Querétaro; en esta pocas casas tenían agua potable, la mayoría defecaba al aire libre y se incluyó en el estudio toda la familia, seleccionándose dos casas por calle. La población estudiada consistió de 62 familias, obteniéndose un total de 200 muestras de materia fecal. El estudio comenzó en abril de 1987 y finalizó en agosto del mismo año. Como testigo se utilizó la cepa HM-1 IMSS axénica proveniente del laboratorio de inmunquímica de la Unidad de Investigación Biomédica del C.M.N. IMSS.

Todas las muestras se sembraron en medio de cultivo monoxénico de Robinson, durante 5 días; las muestras positivas se subcultivaron hasta obtener una cantidad aproximada de 5×10^4 trofozoitos/ml. Los trofozoitos cosechados fueron lisados para, posteriormente, observar su comportamiento electroforético; las bandas así obtenidas fueron reveladas usando los sustratos específicos, lo que permitió identificar los zimodemos correspondientes y su comparación con el esquema propuesto por Sargeant (1978, 1979, 1987).

2.- REACTIVOS

2.1. Frascos de Robinson

- agar noble. 1.5 g.
- cloruro de sodio. 0.7 g.

- agua desionizada. 100.0 ml.
- mezclar bien la solución y calentar en el mechero, hasta que se observe transparente.
- depositar en cada frasco aprox. 4 ml. de la solución.
- depositar los frascos en una canasta metálica y esterilizar a 121°C, durante 15 min.
- sacar la canasta y ponerla en posición inclinada en el refrigerador.

2.2 Eritromicina al 1%

- eritromicina base (pureza 90%). . . 1.0 g.
- etanol. 10.0 ml.
- dejar reposar 2 horas, en un matraz de 125 ml. estéril.
- agua estéril fría 80.0 ml.
- etiquetar y guardar en el refrigerador.
- nota: el material utilizado debe estar estéril.

2.3 Talato de potasio

- biftalato de potasio. 25.5 g.
- agua destilada. 230.0 ml.
- ajustar el pH a 6.3
- aforar a 250 ml. con agua destilada.
- esterilizar a 121°C, durante 15 min.
- depositar en frascos estériles 20 ml. de la solución.
- en un matraz con 180 ml. de agua estéril, depositar lo que corresponde a un frasco con 20 ml. de talato de potasio pH 6.3
- etiquetar y guardar a temperatura ambiente.

2.4 Peptona al 20%

- bactopectona 20.0 g.
- agua desionizada 100.0 ml.
- disolver calentando suavemente.
- esterilizar a 121°C, durante 15 min.
- depositar en frascos estériles, 5 ml. de la solución.
- etiquetar y guardar en el refrigerador.

2.5 Medio "R" concentrado

- cloruro de sodio 25.0 g.
- ácido cítrico 10.0 g.
- fosfato de potasio dibásico 2.5 g.
- sulfato de amonio. 5.0 g.
- sulfato de magnesio. 0.250 g.
- ácido láctico 20.0 ml.
- agua destilada. 500.0 ml.

2.6 Medio "R"

- medio "R" concentrado. 50.0 ml.
- azul de bromotimol al 0.04%. 1.25 ml.
- agua desionizada. 450.0 ml.
- ajustar el pH a 7.0
- depositar en frascos 20 ml. de la solución preparada.
- esterilizar a 121°C, durante 15 min.
- este medio dura 1 mes, a temperatura ambiente.

2.7 Medio "BR"

- a un frasco con medio "R", agregar una azada de Escherichia coli no patógena del grupo B.
- incubar a 37°C, durante 48 horas.
- etiquetar y guardar a temperatura ambiente.

2.8 Medio "BRS"

- agregar a un frasco con medio "BR", suero bovino inactivado, a partes iguales.
- incubar a 37°C, durante 24 a 48 horas.
- etiquetar y guardar a temperatura ambiente.
- el suero bovino se inactiva a 56°C, durante 30 min.

2.9 Solución para lisado de trofozoitos

- ditiotreitol 0.031 g.
- ácido amino-caproico 0.026 g.
- EDTA 200 mM pH 7.0 1.0 ml.
- diluir con 9 ml. de agua desionizada, al momento de usarse.
Dura 7 días en el refrigerador.

2.10 Amortiguador de fosfatos 0.2 M pH 7.0

- fosfato de sodio dibásico 87.0 g.
- fosfato de sodio monobásico 53.75 g.
- agua desionizada 4.0 lts.
- ajustar el pH a 7.0
- aforar a 5 litros con agua desionizada.
- etiquetar y guardar a -4°C.

2.11 Tris-Maleato + EDTA + cloruro de magnesio 0.1 M pH 7.4

- trisma base 45.56 g.
- ácido maleico 16.14 g.
- cloruro de magnesio 8.12 g.
- EDTA 14.88 g.
- agua desionizada 3.0 lts.
- ajustar el pH a 7.4
- aforar a 4 litros con agua desionizada.
- etiquetar y guardar a -4°C .

2.12 Tris-HCl 0.3 M pH 8.0

- trisma base 9.08 g.
- agua desionizada 100.0 ml.
- ajustar el pH a 8.0
- aforar a 250 ml. con agua desionizada.
- etiquetar y guardar a -4°C .

2.13 Tris-HCl 0.3 M pH 7.4

- trisma base 9.08 g.
- agua desionizada 100.0 ml.
- ajustar el pH a 7.4
- aforar a 250 ml. con agua desionizada.
- etiquetar y guardar a -4°C .

2.14 Malato de sodio 1 M pH 7.0

- ácido málico 1.66 g.
- agua desionizada 6.0 ml.
- ajustar el pH a 7.0

- llevar a 10 mL con agua desionizada.
- hacer viales de 0.5 mL.
- etiquetar y guardar en el refrigerador.

2.15 Cloruro de magnesio 1 M

- $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 203.32 g.
- agua desionizada 50.0 mL.
- hacer viales de 1.5 mL.
- etiquetar y guardar en el refrigerador.

2.16 NADP (10mg/mL)

- NADP 250.0 mg.
- agua desionizada 25.0 mL.
- hacer viales de 2.5 mL.
- etiquetar y guardar a -4°C .

2.17 Glucosa 1-fosfato (25mg/mL)

- glucosa 1-fosfato 150.0 mg.
- agua desionizada 6.0 mL.
- hacer viales de 0.5 mL.
- etiquetar y guardar a -4°C .

2.18 Glucosa (400 mg/mL)

- glucosa (monohidratada) 2.0 g.
- agua desionizada 5.0 mL.
- hacer viales de 0.5 mL.
- etiquetar y guardar a -4°C .

2.19 Fructosa 6-fosfato (10 mg/ml.)

- fructosa 6-fosfato. 50.0 mg.
- agua desionizada. 5.0 ml.
- hacer viales de 0.2 ml.
- etiquetar y guardar a -4°C.

2.20 Glucosa 6-fosfato deshidrogenasa (100 U/ml.)

- glucosa 6-fosfato deshidrogenasa. . . 2.0 mg.
- citrato de sodio 0.005 M pH 7.5 . . . 3.32 ml.
- depositar en un tubo de 13 x 100
- etiquetar y guardar a -4°C.

2.21 Citrato de sodio 0.005 M pH 7.5

- citrato de sodio. 0.147 g.
- agua desionizada. 60.0 ml.
- ajustar el pH a 7.5
- llevar a 100 ml. con agua desionizada.
- depositar en frascos de 20 ml.
- etiquetar y guardar a -4°C.

3.- PREPARACION DE LA MUESTRA FECAL

3.1 Cultivo primario

- frasco con agar inclinado.
- agregar 4 gotas de eritromicina al 1%
- almidón de arroz, 5 mg.
- medio "BR", 3 ml.

- asada de la muestra,
- poner en la estufa a 37°C, durante 24 horas.

3.2 Cultivo secundario

- frasco con agar inclinado.
- eritromicina al 1%, 2 gotas.
- almidón de arroz, 5 mg.
- talato de potasio diluido, 3.5 ml.
- medio "BRS", 0.5 ml.
- tomar 2 gotas del cultivo primario con una pipeta Pasteur y depositar en el frasco de subcultivo.
- incubar a 37°C, durante 24 horas.
- nota: se debe trabajar en condiciones de esterilidad.

4.- LECTURAS DEL CULTIVO DE ROBINSON.

- primer día, inocular materia fecal.
- segundo día, observar si hay crecimiento de amibas; si existe crecimiento, hacer el subcultivo.
- tercer día, lectura.
- cuarto día, lectura.
- quinto día, lectura, reportar positivo o negativo. Leer con objetivo de 10x.

ARROZ		AMIBAS	
no hay arroz	-	no hay amibas	-
arroz escaso	+	3 amibas por campo	+
arroz en cant. reg.	++	5 a 10 amibas/campo	++
arroz abundante	+++	más de 10/campo	+++

10 amibas por campo, hacer lisado.

5.- FORMA DE PREPARAR EL LISADO DE AMIBAS

- a.- Depositar en tubos cónicos graduados de 15 ml., las amibas tomadas del medio de Robinson, con una pipeta Pasteur, de la parte sedimentada.
- b.- Nivelar los tubos y centrifugar a 1500 rpm., durante 10 -- min.
- c.- Decantar el sobrenadante del tubo y poner a volúmenes iguales con la solución para lisado de trofozoitos.
- d.- Guardar las muestras a -20°C ., durante 12 horas.
- e.- Descongelar las amibas y centrifugar a 1500 rpm., durante 30 min.
- f.- Tomar el sobrenadante con una pipeta Pasteur, no tomando la parte sedimentada.
- g.- En un vaso con 4 compartimientos, depositar el nitrógeno líquido y poner gota a gota el sobrenadante sobre el nitrógeno líquido para formar las perlas del lisado de amibas.
- h.- Depositar las perlas de amibas en los tubos respectivos y etiquetar.
- i.- Colocar los tubos etiquetados en el tanque con nitrógeno líquido a -192°C ..

6.- PREPARACION DE PLACAS EN GEL DE ALMIDÓN PARA ELECTROFORESIS.

- 1.- En dos matraces de bola de 200 ml., colocar 4.5 g. de almidón de papa para electroforesis en cada matraz.
- 2.- En dos probetas de 50 ml., colocar 37 ml. de agua desionizada más 3 ml. de amortiguador de fosfatos 0.2 M pH 7.0 en cada probeta.
- 3.- Pasar el contenido de cada probeta al matraz de bola y mezclar hasta que el almidón este completamente suspendido antes de proceder con el siguiente paso.
- 4.- Calentar cada matraz de bola en el mechero hasta que la -- mezcla quede cristalina y, con la bomba de aire, sacar las burbujas tapando el orificio con un tapón de hule. La solución debe permanecer aún al manejarse sobre 60°C .. -

7.- PREPARACION DE LAS MUESTRAS.

- 1.- Cortar los hilos para las muestras (hilo crochet blanco de algodón número 20), que debe ser del tamaño de la ranura de la placa.
- 2.- Depositar las muestras en cada frasco de 10 ml. con tapón - estéril, con una pinza fina.
- 3.- Depositar 4 hilos en cada frasco con una pinza fina y empápelos en el lisado.
- 4.- El número de frascos depende del número de muestras lisadas. El frasco con las muestras debe estar en hielo.
- 5.- Colocar un hilo de cada frasco en las ranuras de cada placa; evitar la contaminación, limpiando las pinzas entre cada -- muestra.

8.- ORDEN EN QUE DEBEN IR LAS PLACAS.

GPI = glucosa fosfato isomerasa.

ME = enzima mállica.

PGM = fosfoglucomutasa.

HK = hexoquinasa

9.- PREPARACION DE LAS CÁMARAS PARA ELECTROFORESIS.

- 1.- Llenar las cámaras para GPI y ME con amortiguador de fosfatos 0.2 M pH 7.0 en todos los compartimentos hasta que se tapen los electrodos.
- 2.- Poner algodón en los orificios de las cámaras de PGM y HK - para comunicar un amortiguador con otro. Llenar la parte - media de cada cámara con amortiguador de fosfatos 0.2 M pH 7.0 hasta que se tapen los electrodos y llenar las orillas de las cámaras con Trismaleato + EDTA y cloruro de magnesio 0.1 M pH 7.4 hasta que se tapen los electrodos.

Los moldes de la placa se ponen sobre un papel. La solución de almidón caliente se vacía junto al marco de la placa, con flujo abundante hasta que se extienda aproximadamente un tercio de la longitud de la placa. El llenado debe extenderse hacia el borde contrario de la placa con el difusor con un jalón uniforme y queda lista la placa para glucosa fosfato isomerasa (GPI). Enjuagar el matraz inmediatamente con agua de la llave.

- 5.- Hacer el mismo procedimiento con el siguiente matraz, es la placa de la enzima málica (ME).
- 6.- En dos matraces de 200 ml. colocar 4.5 g. de almidón de papa para electroforesis en cada matraz.
- 7.- En 2 probetas de 50 ml. colocar 36 ml. de agua desionizada más 4 ml. de Tris-maleato más EDTA y cloruro de magnesio - 0.1 M pH 7.4 en cada probeta.
- 8.- Pasar el contenido de cada probeta al matraz y mezclar hasta que el almidón este completamente suspendido antes de proceder con el siguiente paso.
- 9.- Calentar cada matraz en el mechero hasta que la mezcla que de cristalina y con la bomba de aire, sacar las burbujas tapando el orificio del matraz con un tapón de hule. La solución debe permanecer aún al manejarse sobre 60°C. Los moldes de las placas se ponen sobre un papel. La solución de almidón caliente se vacía junto al marco de la placa, con flujo abundante hasta que se extienda aproximadamente un tercio de la longitud de la placa. El llenado debe extenderse hacia el borde contrario de la placa con el difusor con un jalón uniforme y queda lista la placa para fosfo-glucomutasa (PGM).
- 10.- Hacer el mismo procedimiento con el siguiente matraz que es para la placa de hexoquinasa (HK). Enjuagar el matraz inmediatamente con agua de la llave.
- 11.- Preparación de los geles.
Con una plantilla de 8 pies (perforador) y con una línea guía en papel original sujeta abajo de la placa de gel, hacer las ranuras para las muestras de cada placa respectiva. Limpiar el exceso de gel del marco.

- 3.- Colocar una hoja de aislante de melinex entre las placas metálicas del refrigerante y la placa del gel de muestras.
- 4.- Colocar las placas con las muestras en el orden respectivo de cada cámara.
- 5.- Colocar en los extremos de cada placa, hule esponja humedecida con el amortiguador, haciendo puente con él mismo.
- 6.- Colocar una placa cuadrada sobre la placa de muestras, oprimiendo las esponjas de los extremos.
- 7.- Colocar una placa rectangular sobre la placa cuadrada. Estas placas evitan la deshidratación del gel y mantienen los hules esponjas en su lugar.
- 8.- Tapar las cámaras y conectar la fuente de poder durante 3 - horas a 200 voltios y 70 miliamperes.

10.- PREPARACION DEL REVELADOR PARA LAS MUESTRAS DE AMIBAS.

- 1.- Preparar faltando una hora del tiempo de corri-miento.
- 2.- Preparar 100 ml. de agar al 1.2%
- 3.- En cuatro frascos de 20 ml. se cubre con papel carbón y se marca con el nombre de cada enzima correspondiente.
- 4.- Poner la cantidad que se indica en cada frasco, según la enzima respectiva.

GPI

7.0 ml. Tris/HCl pH 8.0 0.3 M

0.2 ml. $MgCl_2$ 1.0 M

0.5 ml. NADP (10 mg/ml)

0.5 ml. G-6-P-D (100 U/ml)

0.2 ml. F-6-P (10 mg/ml)

5.0 mg MIT

1.0 mg. PMS

10 ml. de agar al 1.2%

ME

7.0 mL. Tris/HCl pH 7.4 0.3 M
 0.2 mL. $MgCl_2$ 1.0 M
 0.5 mL. NADP (10 mg/mL)
 0.1 mL. Na Maleato 1.0 M
 5.0 mg. MTT
 1.0 mg. PMS
 10 mL. de agar al 1.2%

PGM

7.0 mL. Tris/HCl pH 8.0 0.3 M
 0.2 mL. $MgCl_2$ 1.0 M
 0.5 mL. NADP (10 mg/mL)
 0.7 mL. G-6-P-D (100 UI/mL)
 0.5 mL. G-I-P (25 mg/mL)
 5.0 mg. MTT
 1.0 mg. PMS
 10 mL. de agar al 1.2%

HK

7.0 mL. Tris/HCl pH 7.4 0.3 M
 0.2 mL. $MgCl_2$ 1.0 M
 0.5 mL. NADP (10 mg/mL)
 0.2 mL. G-6-P-D (100 UI/mL)
 0.1 mL. Glucosa (400 mg/mL)
 15 mg. de ATP
 5.0 mg. MTT
 1.0 mg. PMS
 10 mL. de agar al 1.2%

NOTA: Depositar los 10 ml. de agar al 1.2% en el frasco al momento de agregar el contenido del mismo a la placa, mezclando perfectamente el contenido del frasco.

- 5.- Sacar la placa de la cámara y ponerla en un lugar fijo.
- 6.- Colocar la rejilla en la placa y agregar el contenido de cada frasco en su respectiva placa con la rejilla. Mezclar suavemente para que cubra toda la rejilla.
- 7.- Colocar inmediatamente la placa en la estufa durante 15 min.
- 8.- Leer y anotar los resultados.

RESULTADOS

Se obtuvieron 200 frascos de materia fecal de los habitantes de la periferia de la población rural de Cadereyta de Montes, Qro., de las -- cuales 83 pertenecen al sexo masculino (42%) y 117 al femenino (58%) -- (fig. 1). De los 200 individuos de la muestra, 14 se negaron a dar su edad.

La distribución por grupos de edad fue la siguiente:

GRUPOS DE EDAD	No. DE MUESTRAS	PORCIENTO
0-4	41	22.0
5-9	23	12.0
10-14	22	12.0
15-24	34	18.0
25-34	17	9.0
35-44	15	8.0
45-54	17	9.0
55-55	17	9.0
	<u>186</u>	<u>100.0</u>

(ver fig. 2)

De los 200 especímenes de la muestra que se cultivaron en medio de Robinson, 14 (7%) fueron portadoras de quistes (fig. 3), de las cuales 5 (36%) correspondieron al sexo masculino y 9 (64%) al sexo femenino -- (fig. 4).

Distribuidas por grupos de edad quedaron de la siguiente manera:

GPOS. DE EDAD	No. DE MUESTRAS	PORCIENTO
0-4	2	14.28
5-9	1	7.14
10-14	2	14.28
15-24	3	21.42
25-34	2	14.28
35-44	1	7.14
45-54	2	14.28
55≥55	1	7.14
	<u>14</u>	<u>99.96</u>

(ver fig. 5)

De los 14 portadores de quistes, se obtuvo cultivo positivo en 6 - (42.8%), de los cuales 4 (28.57%) correspondieron al sexo femenino y 2 (14.28%) al masculino (fig. 6 y 7).

La distribución de los cultivos positivos por grupos de edad se -- puede observar en la siguiente tabla:

GPOS. DE EDAD	No. DE MUESTRAS	PORCIENTO
0-4	1	7.1
5-9	0	0.0
10-14	1	7.1
15-24	2	14.3
25-34	0	0.0
35-44	1	7.1
45-54	1	7.1
55≥55	0	0.0
	<u>6</u>	<u>42.7</u>

(ver fig. 8)

DISTRIBUCION DE LOS 200 FRASCOS DE MATERIA FECAL POR SEXO

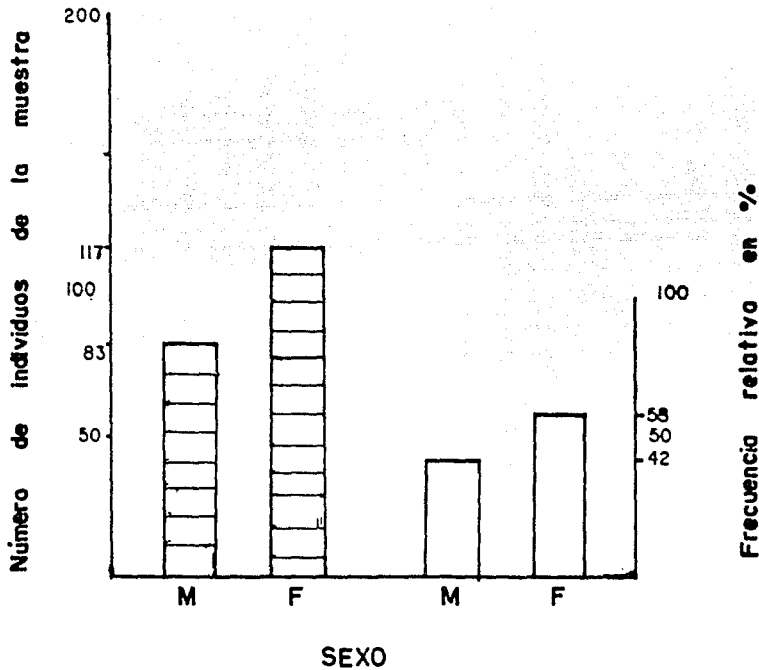




Fig. 1.- Distribución de los 200 frascos de materia fecal por sexo

-  Frecuencia absoluta
-  Frecuencia relativa en %
- M masculino
- F femenino

DISTRIBUCION POR GRUPOS DE EDAD

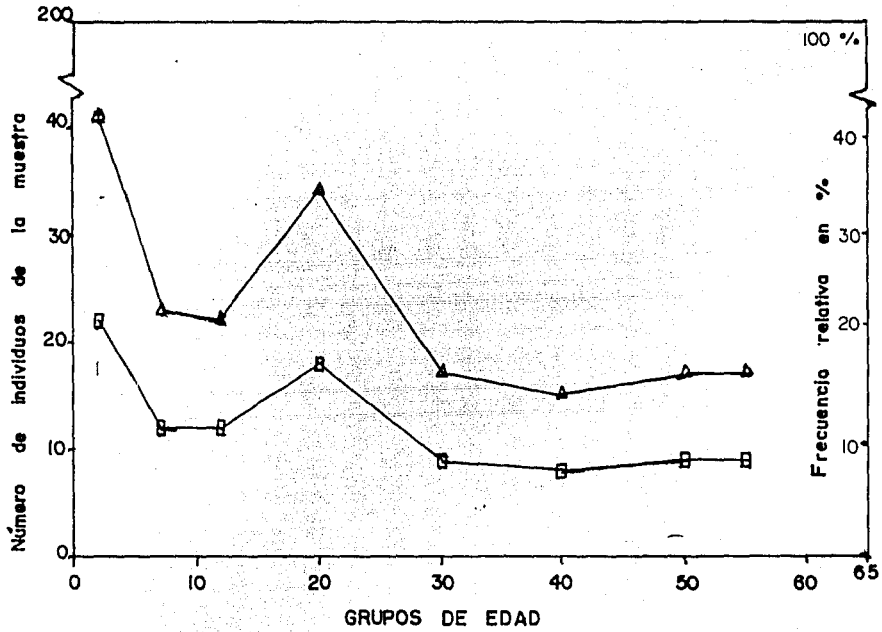


Fig. 2.- Distribución de los 200 frascos de materia fecal por grupos de edad

- Δ Frecuencia absoluta
- Frecuencia relativa en %

DISTRIBUCION DE PORTADORES

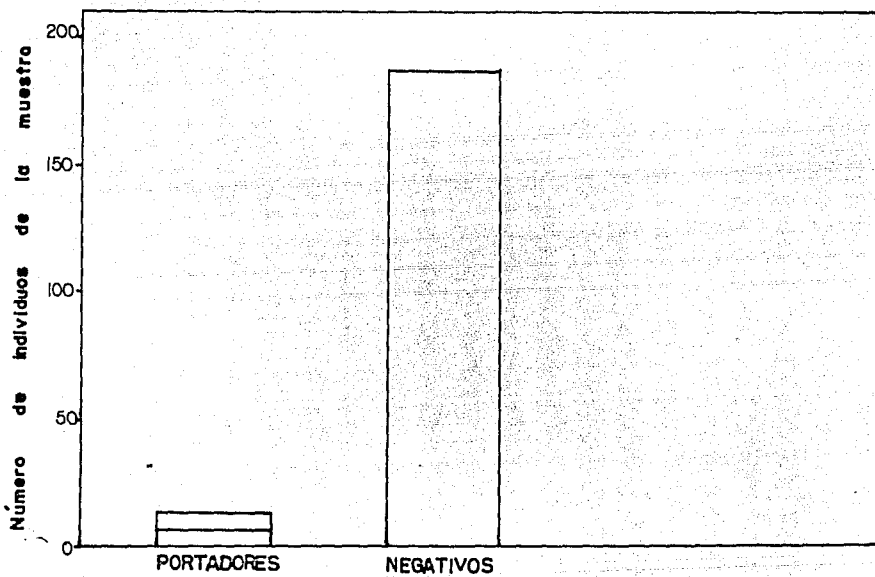


Fig. 3.- Distribución de individuos portadores de quistes de omibas



Portadores de quistes



Negativos

DISTRIBUCION DE PORTADORES DE QUISTES POR SEXO

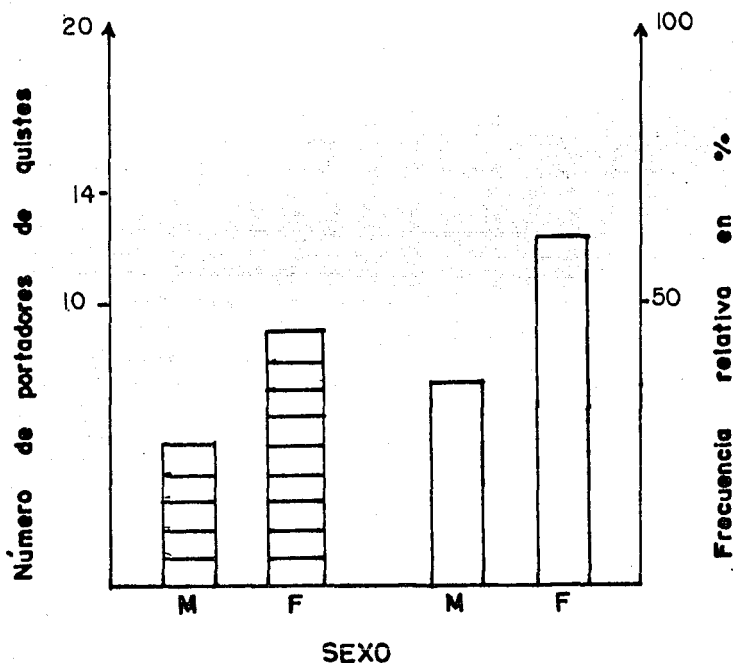




Fig. 4.- Distribución de portadores de quistes de ambos por sexo

-  Frecuencia absoluta
-  Frecuencia relativa en %
- M masculino
- F femenino

DISTRIBUCION DE PORTADORES POR GRUPOS DE EDAD

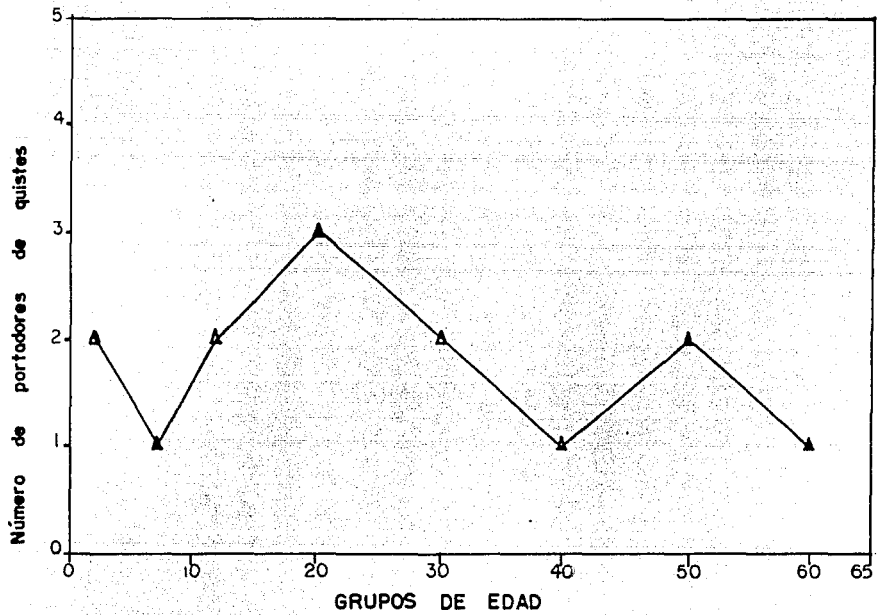


Fig. 5.- Distribución de portadores de quistes
de amibas por grupos de edad

Δ Frecuencia absoluta

DISTRIBUCION DE CULTIVOS POSITIVOS

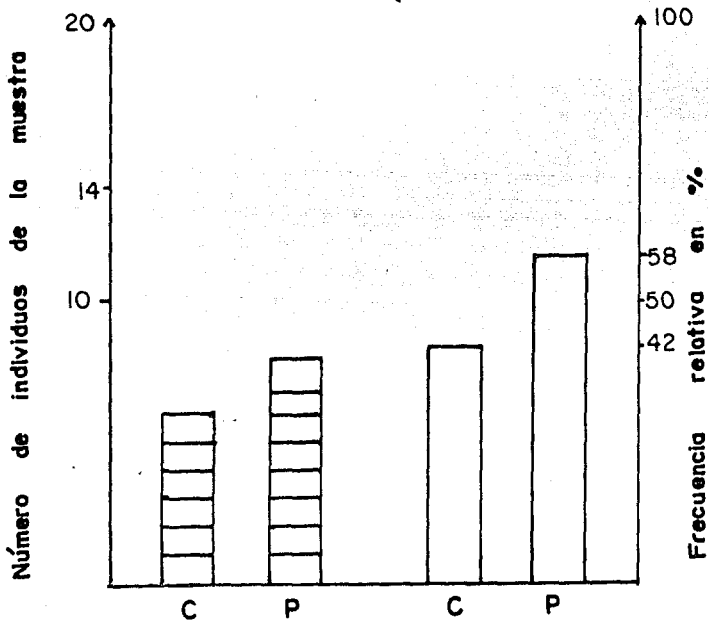


Fig. 6.- Distribución de cultivos positivos con E. histolytica y distribución de portadores de quistes de amibas

C cultivos positivos con E.h

P portadores de quistes de amibas

▨ Frecuencia absoluta

□ Frecuencia relativa en %

DISTRIBUCION DE CULTIVOS POSITIVOS

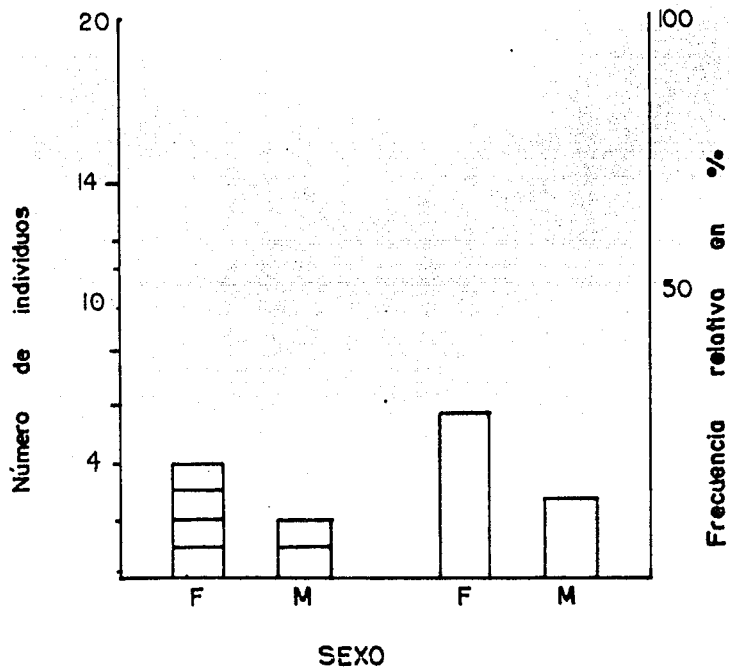


Fig. 7.- Distribución de los cultivos positivos

con Entamoeba histolytica por sexo



frecuencia absoluto



frecuencia relativa en %

F femenino

M masculino

DISTRIBUCION DE CULTIVOS POSITIVOS
POR GRUPOS DE EDAD

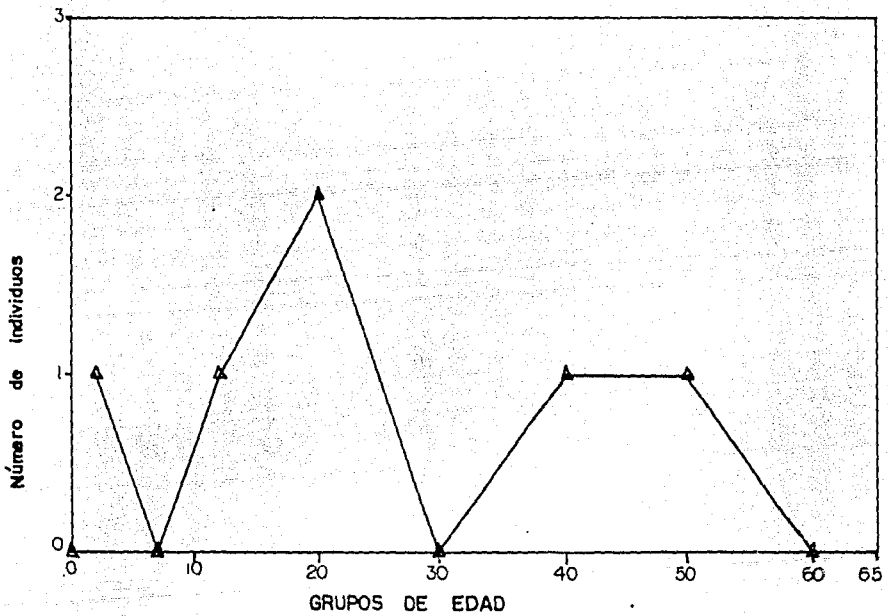


Fig. 8.- Distribución de cultivos positivos con Entamoeba
histolytica por grupos de edad

△ Frecuencia absoluta

Lectura de los corrimientos electroforéticos obtenidos:

CARRIL	PGM	GPI	HK	ME
1	beta	alfa	rápida	gamma
2	beta, gamma	alfa, delta	rápida	gamma
3	alfa, delta	alfa, delta	lenta	gamma
4	alfa, gamma	alfa, delta	lenta	gamma
5	beta, delta	alfa, delta	rápida	gamma
6	alfa, delta	alfa, delta	lenta	gamma
7	alfa, gamma	alfa, delta	lenta	gamma
8	-----			

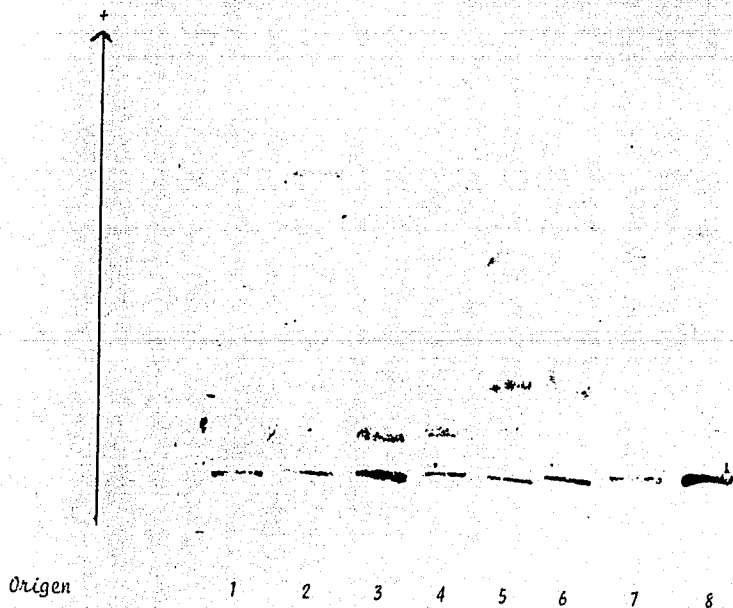
El carril 1 corresponde a la cepa axénica utilizada como testigo, - HM-1 IMSS, del carril 2 al 7 corresponden a pacientes muestreados y el carril 8 pertenece al control de bacterias sin amibas.

ZIMODEMO

carril 1 = HM-1 IMSS.	I I
carril 2 = Masc. 53 años	X I I
carril 3 = Fem. 12 años	I V
carril 4 = Masc. 2 años	V
carril 5 = Fem. 41 años	V I
carril 6 = Fem. 15 años	I V
carril 7 = Fem. 18 años	V
carril 8 = Bacteria sin amiba	

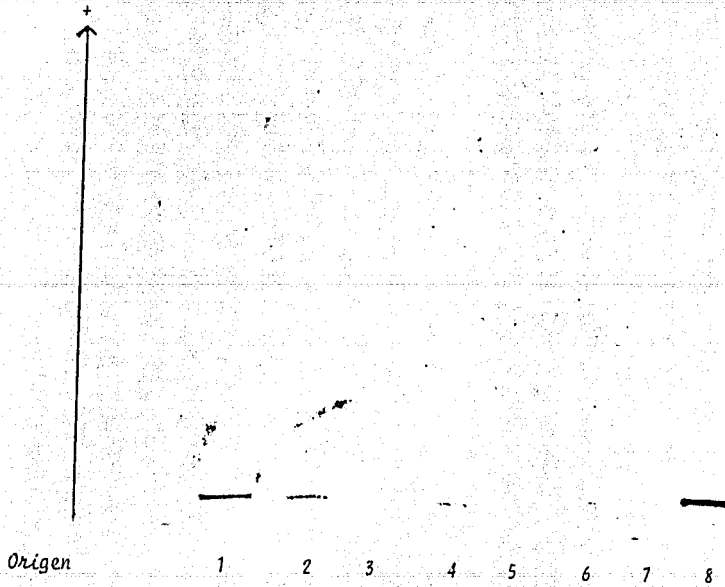
FOSFO - GLUCOMUTASA

carril	corrimiento	carril	corrimiento
1	beta	5	beta, delta
2	beta, gamma	6	alfa, delta
3	alfa, delta	7	alfa, gamma
4	alfa, gamma	8	-----



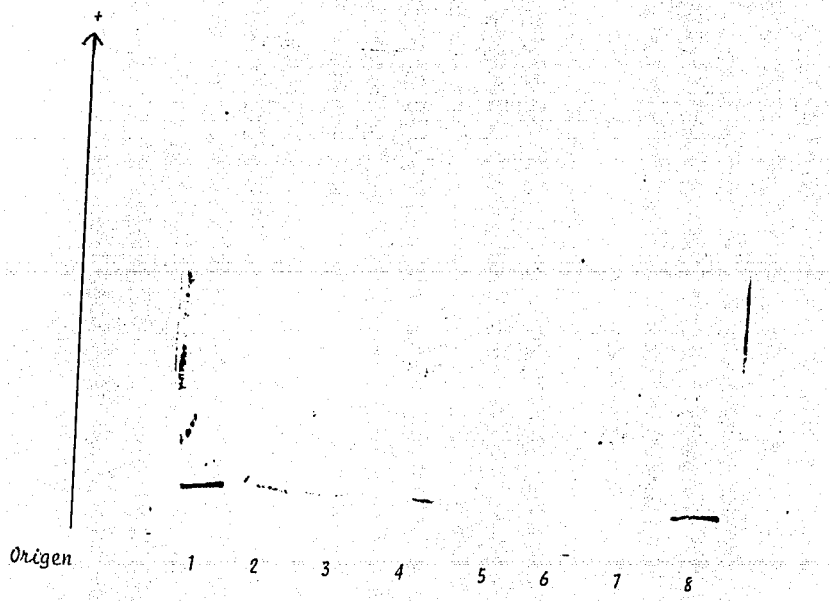
GLUCOSA FOSFATO ISOMERASA

carril	corrimiento	carril	corrimiento
1	alfa	5	alfa, delta
2	alfa, delta	6	alfa, delta
3	alfa, delta	7	alfa, delta
4	alfa, delta	8	-----



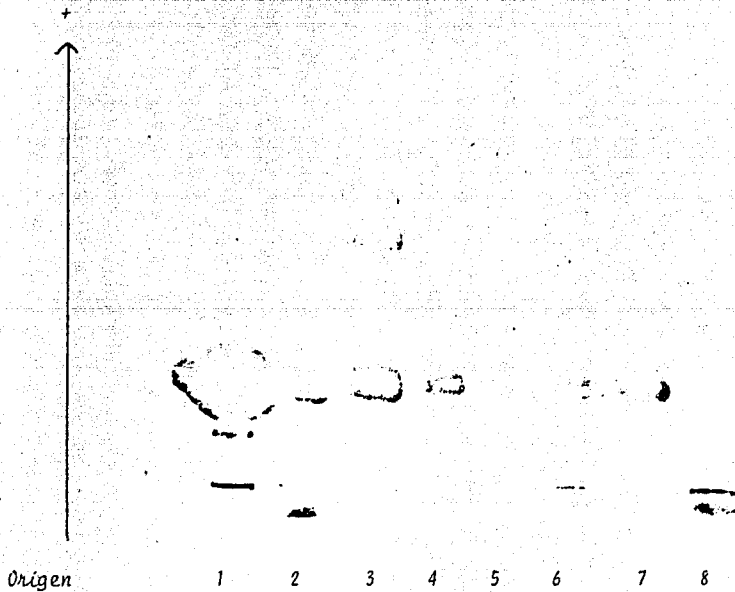
HEXOQUINASA

carril	corrimiento	carril	corrimiento
1	rápida	5	rápida
2	rápida	6	lenta
3	lenta	7	lenta
4	lenta	8	---



ENZIMA MALICA

<i>carril</i>	<i>corrimento</i>	<i>carril</i>	<i>corrimento</i>
1	gamma	5	gamma
2	gamma	6	gamma
3	gamma	7	gamma
4	gamma	8	- - -



DISCUSION

Este trabajo se realizó con el fin de medir la prevalencia de zimo-
demos patógenos y no patógenos de Entamoeba histolytica en habitantes de
la periferia de Cadereyta de Montes, Querétaro. Esta zona forma parte -
de la región centro-occidental de la República Mexicana, la cual resultó,
en el estudio realizado por Gutiérrez y col. (25), con el mayor título -
de anticuerpos anti-amiba. El estudio estaba encaminado a realizarse en
familias completas, sin embargo, en algunos casos esto no fue posible ya
que tanto el jefe de familia como los jóvenes, generalmente, no se encon-
traban en casa. Lo anterior hizo que en el estudio hubiera un mayor por-
centaje de niños y mujeres.

Se encontró que el 46% eran menores de 15 años, el 58% del sexo fe-
menino y el 7% de la muestra estudiada era portadora de quistes. Esto -
puede deberse a que la mayor parte de los sujetos de la muestra estaban
en esos grupos de edad y sexo.

Al revisar los trabajos previos hechos con esta localidad (40), se
encontró que el 45% de la población era menor de 15 años, lo cual con-
cuerda con los resultados obtenidos.

En trabajos previos se había reportado un 8.95% de portadores de -
quistes con el método de Faust; la diferencia no es significativa, lo -
cual nos sugiere que tanto la técnica de Faust como el cultivo monoxéni-
co de Robinson son útiles para descubrir quistes de amibas.

**ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA**

De los portadores de quistes, el 64% pertenecen al sexo femenino y el 35.7% a menores de 15 años. Este último dato nos sugiere que el primer contacto con el parásito ocurre en los primeros años de vida; anteriormente se había reportado que aproximadamente el 37% de los portadores de quistes eran menores de 15 años. En cuanto a los portadores de quistes por sexo, se encontró que la proporción hombre-mujer es de 1:1 (1.27:1.00).

De los individuos portadores de quistes se obtuvo cultivo positivo en el 42.8% (3% del total de la muestra estudiada), esto nos revela que las amibas que no se desarrollaron en el cultivo monoxénico de Robinson no eran Entamoeba histolytica; por lo tanto si el diagnóstico de amibiasis se hace utilizando tan solo la técnica de Faust se sobrestima el número de portadores de Entamoeba histolytica.

De estas el 67% (2% del total de la muestra estudiada) correspondieron sexo femenino y el 66% (2% del total de la muestra estudiada) -- eran menores de 25 años.

Existe bastante literatura con respecto a estudios hechos en zonas urbanas (31), con pacientes que no son representativos de la población ya que se trata de pacientes hospitalizados (26) (41), de clientela particular (32), de pacientes internados en hospitales psiquiátricos (57), de trabajos donde se comparan los modelos isoenzimáticos en geles de poliacrilamida (44), de grupos de homosexuales (23) (43); en donde los resultados varían de acuerdo a la población estudiada y al nivel socioeconómico de la misma. Pero en zonas rurales se han hecho pocos estudios,

uno de estos (22), realizado en Sudáfrica, reporta que el 1% de la población estudiada tenía zimodemos patógenos.

Al analizar los resultados de los corrimientos electroforéticos tenemos que el 67% (2% del total de la muestra estudiada) corresponden a zimodemos no patógenos y el 33% (1% del total de la muestra) a zimodemos patógenos; los zimodemos no patógenos corresponden al grupo de edad de menores de 25 años, y cuando se compararon las proporciones hombre: mujer se encontró una razón de 1:2:2.5; en el estudio realizado por Gathiram y col., (22) en una zona rural, encontraron que los zimodemos no patógenos fueron más frecuentes en mujeres y la prevalencia de zimodemos patógenos fue de 1%, datos que concuerdan con los obtenidos en el presente trabajo.

Una de las formas de medir la amibiasis es conociendo la frecuencia de absceso hepático amibiano, si por un lado tenemos: que el 0.7% de los derechohabientes del IMSS (1) presentan AHA, el 1.2% de los pacientes internados en el hospital de la población sufrían de este padecimiento -- (41); y por otro lado sabemos que al encontrar zimodemos patógenos es posible, si los pacientes no reciben tratamiento alguno, que las amibas -- causen absceso hepático. Y tenemos que el 1% de la población estudiada presentó zimodemo patógeno, entonces podemos suponer que este porcentaje de la muestra esta en riesgo de desarrollar AHA.

CONCLUSIONES

Uno de los objetivos de este trabajo fue implementar una técnica -- que nos diferenciara muestras de materia fecal con quistes de amibas de las que no tenían, para esto se utilizó el medio de cultivo monoxénico -- de Robinson el cual es el más indicado, obteniéndose el 7% de portadores de quistes.

Al tener definido el grupo de portadores, otro objetivo fue conocer cuales de éstos tenían Entamoeba histolytica, en este caso se obtuvo el 3% de portadores de Entamoeba histolytica, lo que nos dice que no todos los portadores de quistes albergan a E. histolytica, y que con la técnica de Faust se sobrestima el número de portadores.

Otro objetivo fue conocer; de la muestra estudiada, qué porcentaje albergaba a Entamoeba histolytica con zimodemo patógeno y qué porcentaje con zimodemo no patógeno. En este caso se obtuvo el 1% con zimodemo patógeno y el 2% con zimodemo no patógeno, se observó que los zimodemos no patógenos son más frecuentes en mujeres, en tanto que los zimodemos patógenos se presentan por igual en hombres y en mujeres mayores de 25 años.

Por lo anterior se sugiere que se realicen estudios para determinar la duración natural del estado de portador y la posibilidad de convertirse en enfermo; también se debe estudiar el riesgo que representa para -- sus contactos intrafamiliares y para la comunidad, así como, la necesidad o no de administrar fármacos para su tratamiento.

BIBLIOGRAFIA

1.- Alvarez-Alva, R., y A. De La Loza-Saldívar, 1971. Frecuencia del absceso hepático amibiano en hospitales del IMSS de la República Mexicana. Arch. Invest. Méd. (Méx.) 2 (Supl. 1):327.

2.- Alvarez, R., y R. Lara, 1975. Quimioterapia actual de las parasitosis más frecuentes en México. Rev. Méx. Ped. 44.

3.- Barnes, R.D. 1977. Zoología de los invertebrados. Nva. Interamericana. 3ra. edición, México.

4.- Beck, J. W., y J.E. Davies, 1983. Parasitología médica. Interamericana. 3ra. edición. México.

5.- Beltrán, E. 1948. Los protozoarios parásitos del hombre. ECLIALSA. México.

6.- Bérgi, F. Diagnóstico y tratamiento de las parasitosis intestinales, Editado por Pfizer. México.

7.- Bérgi, F. 1976. Enfermedades parasitarias. La Prensa Médica Mexicana. 2da. edición. México.

8.- Brandt, H., y R. Pérez, 1970. Amibiasis. La Prensa Médica Mexicana, México.

9.- Brown, H. W. 1975. Basic Clinical Parasitology. Appleton-Century-Crofts, New York, USA. 4ta. edición.

10.- Brumpt, L., y col. 1969. Parasitología práctica. Toray-Masson, S. A. Barcelona, España.

11.- Ciencia y Desarrollo. 1979. Amibas y amibiasis. CONACYT, II.

12.- Cruz, A. 1963 Amibiasis hepática. Bol. Méd. IMSS: IV (12): 331-344.

- 13.- Dávila, M. 1964. Estudio de parasitosis intestinal producida - por *Entamoeba histolytica* en la zona urbana de Cd. Reynosa Tamps. Tesis Profesional. Fac. Químicas. UNAM. México.
- 14.- De la Torre, M., y B. Sepúlveda, 1970. Avances en los métodos - para el cultivo de *Entamoeba histolytica*. Arch. Invest. Méd. (Méx.) suplemento.
- 15.- Diamond, L. 1968. Techniques of axenic cultivation of *Entamoeba histolytica* Schaudinn 1903 and *Entamoeba histolytica*-like amebae. J. Parasitol., 54 (5): 1047-1056.
- 16.- Diamond, L. 1962. A new liquid medium for axenic cultivation of - *Entamoeba histolytica* and other lumen-dwelling Protozoa. J. Parasitol., 68 (5): 958-959.
- 17.- Fernández, M. 1975. Epidemiología de las parasitosis intestina- les en la clínica San Rafael del ISSSTE. Tesis Profesional. Fac. Ciencias. UNAM. México.
- 18.- Farri, T. A. y col. 1980. Electrophoretic studies of the hexoki- nase of *Entamoeba histolytica* groups I to IV. Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg. 74 (5): 672-673.
- 19.- Flores y Troncoso, F. 1982. Historia de la Medicina en México -- (desde la época de los indios hasta la presente). Tomo III. Editado por el IMSS. México: 417-420.
- 20.- Fonseca, G. 1960. Incidencia general de parasitosis intestinal - en la zona del aeropuerto. Tesis Profesional. Fac. Ciencias, UNAM. México.
- 21.- García, R. 1961. Absceso hepático amibiano. Bol. Méd. IMSS. 3(2).
- 22.- Gathiram, V., y T.F. Jackson, 1985. Frequency distribution of *En- amoeba histolytica* zymodemes in a rural South African population. The Lancet, i:719-721.
- 23.- Goldmeier, D., y col. 1986. Is *Entamoeba histolytica* in homose- xual men a pathogen?. The Lancet, i:641-644.

24.- González, N., y col. 1984. Infectología clínica. Trillas, México. primera edición.

25.- Gutiérrez, G., y col. 1976. Encuesta serológica nacional. II investigación de anticuerpos contra *Entamoeba histolytica* en la República Mexicana.

En: B. Sepúlveda, B. y L.S. Diamond (eds). Memorias de la conferencia internacional sobre amebiasis, organizada por el Centro de Estudios sobre Amebiasis. Publicadas por el IMSS. México.

26.- Gutiérrez, G., y M. Aubanel, 1972. Encuesta serológica en niños de la Cd. de México. VII Investigación de anticuerpos contra *Entamoeba histolytica*.

Arch. Invest. Méd. (Méx.) 3 [Supl. 2]:371.

27.- Hernández, R. 1987. Obtención y caracterización de mutantes de Entamoeba histolytica con ICR-170. Tesis Profesional. Fac. Ciencias, UNAM. México.

28.- Historia natural de la amebiasis. 1975. Mesa redonda. Coordinador: B. Sepúlveda. Rev. Fac. Med. México, 18(1): 5-31.

29.- Historia de la amebiasis. 1976. En: Sepúlveda, B. y L.S. Diamond. Memorias de la Conferencia Internacional sobre Amebiasis. Publicadas por el IMSS, México.

30.- Jerezano, O. 1976. Estudio epidemiológico de las parasitosis intestinales en población adscrita a los cuarteles 1, 2 y 4 de la clínica A. núm. 4 del IMSS.

Bol. Méd. IMSS, 18 (1): 23-37.

31.- Jiménez, E., y J. Kumate, 1982. Correlación clínica de zimodermos de Entamoeba histolytica.

Arch. Invest. Méd. (Méx.) 13 [Supl. 3]:77.

32.- Jínich, H., y F. Schnaas, 1971. Frecuencia del absceso hepático amebiano en clientela particular (comunicación preliminar).

Arch. Invest. Méd. (Méx.) 2 [Supl. 1]:333.

33.- Kazuko-Kawashima, P. y col. 1973. Estudio comparativo de cepas patógenas y no patógenas de Entamoeba histolytica con microscopía de luz y reacciones de inmunofluorescencia.

Arch. Invest. Méd. (Méx.) 4 [Supl. 1]: 811.

- 34.- Kudo, R. 1985. Protozoología. CECSA, México, octava impresión.
- 35.- Kumate, J., y G. Gutiérrez, 1977. Manual de Infectología. 5a. edición. Ediciones Médicas del Hospital Infantil de México.
- 36.- Landa, L., y col. 1972. Seroepidemiología de la amebiasis en adultos. Arch. Invest. Méd. (Méx.) 3 (Supl. 2):377.
- 37.- Las parasitosis en México. 1978. Mesa redonda, coordinador: - Tay Zavala, J. Rev. Fac. Med. Méx. 21(6): 6-19.
- 38.- López, A. 1975. Textos de Medicina Nahuatl. Editado por el - Ins. de Invest. Históricas de la UNAM. México.
- 39.- Martínez-Palomo, A. 1982. Biología de Entamoeba histolytica. Wiley, Chichester.
- 40.- Martínez, M., y col. 1986. Epidemiology of amebiasis in a rural community of Mexico: Serologic and coproparasitoscopic survey. Arch. Invest. Méd. (Méx.) 17 (Supl.): 369-374.
- 41.- Martínez, M., y col. 1986. Características del absceso hepático amebiano en un hospital rural del altiplano mexicano. Arch. Invest. Méd. (Méx.) 17 (Supl.): 335-339.
- 42.- Martuscelli, A. 1974. Los parásitos intestinales como causa de enfermedad diarreica en el niño. Rev. Mex. de Ped. 43.
- 43.- Mathews, H. M., y col. 1986. Isoenzyme analysis of *Entamoeba histolytica* isolated from homosexual men. J. Inf. Dis. 153 (4): 793-795.
- 44.- Moraz, M. 1986. Análisis comparativo de zimodemos de *Entamoeba histolytica* y del género *Entamoeba* en geles de poliacrilamida. Arch. Invest. Méd. (Méx.) 17 (Supl.): 43-49.

45.- Ramírez, M. 1986. Aislamiento, purificación parcial y caracterización de antígenos de complejos solubles de Entamoeba histolytica (HM-1, IMSS).
Tesis Profesional. Fac. Ciencias, UNAM. México.

46.- Reeves, R. E., y J.M. Bischoffs, 1968. Classification of Entamoeba species by means of electrophoretic properties of amoebal enzymes.
J. Parasitology, 54 (3): 594.

47.- Robinson, G. L. 1968. The laboratory diagnosis of human parasitic amoebae.
Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg. 62 (2): 285-294.

48.- Rodríguez, M. 1975. Relación huésped-parásito, mecanismos de patogenicidad de los microorganismos.
Monografía núm: 14. Serie de Biología. OEA.

49.- Rodríguez, M. 1985. Estudio cuantitativo del crecimiento de Entamoeba histolytica cepas HM-1 y HM-3 del IMSS.
Tesis Profesional. Univer. Motolinía. Esc. Química. México.

50.- Ruiloba, J. 1960. Enfermedades infecciosas y parasitarias.
Bol. Méd. IMSS, 2 (Supl. 1).

51.- Sargeant, P. G., y J. E. Williams, 1978. Electrophoretic isoenzyme patterns of Entamoeba histolytica and Entamoeba coli.
Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg. 72 (2): 164-166.

52.- Sargeant, P. G. y col. 1978. The differentiation of invasive and non-invasive Entamoeba histolytica by isoenzyme electrophoresis.
Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg. 72 (5): 591-528.

53.- Sargeant, P. G., y col. 1979. Electrophoretic isoenzyme patterns of the pathogenic and non-pathogenic intestinal amoebae of man.
Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg. 73 (2): 225-227.

54.- Sargeant, P. G. y col. 1980. A comparative study of Entamoeba histolytica (NH:200, HK9, etc.) 'Entamoeba histolytica-like' and other morphologically identical amoebae using isoenzyme electrophoresis.
Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg. 74 (4): 469-474.

55.- Sargeant, P. G. y col. 1980. The epidemiology of *Entamoeba histolytica* in Mexico city. A pilot survey I. Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg. 74 (5): 653-656.

56.- Sargeant, P. G. y col. 1982. The epidemiology of *Entamoeba histolytica* in a rural and an urban area of Mexico. A pilot survey II. Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg. 76 (2): 208-210.

57.- Sargeant, P. G. y col. 1982. A study of intestinal protozoa including non-pathogenic *Entamoeba histolytica* from patients in a group of mental hospitals. Am. J. Public Health; 72 (2):178-180.

58.- Sargeant, P. G. y col. 1982. Biochemical homogeneity of *Entamoeba histolytica* isolates, specially those from liver abscess. The Lancet, I:1386-1388.

59.- Sargeant, P. G. y col. 1982. The morphology in culture of the intestinal amoebae of men. Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg. 76 (4): 465-472.

60.- Sargeant, P. G. 1982. A review of isoenzyme characterization of *Entamoeba histolytica* with particular reference to pathogenic and non-pathogenic stocks isolated in Mexico. Arch. Invest. Méd. (Méx.) 13 (Supl. 3):89-94.

61.- Sargeant, P. G. y col. 1982. A zymodeme study of *Entamoeba histolytica* in a group of South African schoolchildren. Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg. 76 (3): 401-402.

62.- Sargeant, P. G. y col. 1984. Influence of geographical factors in the distribution of pathogenic zymodemes of *Entamoeba histolytica*: - - identification of zymodeme XIV in India. Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg. 78: 96-101.

63.- Sargeant, P. G. y col. 1985. Zymodemes expressing possible genetic exchange in *Entamoeba histolytica*. Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg. 79: 86-89.

64.- Sargeant, P. G. y col. 1987. The reliability of *Entamoeba histolytica* zymodemes in clinical laboratory diagnosis. Arch. Inves. Méd. (Méx.): 18:69.

- 65.- Sepúlveda, B., y R. Álvarez. 1973. Amibiasis intestinal.
Bol. Méd. IMSS, 15 (7): 248-255.
- 66.- Soto, M. 1983. Incidencia de la amibiasis en San Juanico, Baja California Sur y causas que la provocan.
Tesis Profesional. Fac. Ciencias, UNAM. México.
- 67.- Tajonar, L. 1985. Respuesta de anticuerpos y reacción inflamatoria local en ratas inyectadas con Entamoeba histolytica HK-9 por vía subcutánea.
Tesis Profesional. Fac. Química. UNAM. México.
- 68.- Treviño-García, N., y col. 1973. Comparación entre los trofozoitos de Entamoeba histolytica procedentes de portadores con lesiones amebianas.
Arch. Inves. Méd. (Méx.) 4 (Supl. 1): 17.
- 69.- Vides, M. 1974. El problema de la amibiasis en México y su control.
Bol. Méd. IMSS, 16 (3): 117-131.
- 70.- Walsh, J. A. 1986. Problems in recognition and diagnosis of amebiasis: estimation of the global magnitude of morbidity and mortality.
Rev. Infect. Dis. 8 (2): 228-238.