

Nº 171
2EV



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

**"AMIBIASIS: SEROEPIDEMIOLOGIA EN LA
REGION NORTE/CENTRO DE MEXICO"**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

QUÍMICO FARMACEUTICO BIÓLOGO

P R E S E N T A :

MONICA VIVEROS ROGEL



MEXICO, D. F.

1992

FALLA DE ORIGEN



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

	pág.
I) Introducción	1
A) Datos epidemiológicos de la Amibiasis	1
B) Generalidades del parásito	6
b.1) Clasificación de <u>E. histolytica</u>	6
b.2) Morfología de <u>E. histolytica</u>	6
b.3) Ciclo biológico	8
b.4) Patogenicidad	9
b.5) Cuadro clínico	11
b.6) Morbilidad y mortalidad en México	14
C) Inmunología de la Amibiasis	15
c.1) Antígenos amibianos	15
c.2) Respuesta inmune celular	16
c.3) Respuesta inmune humoral	17
D) Métodos de diagnóstico de la Amibiasis	19
d.1) Técnicas directas	20
d.2) Técnicas indirectas	20
II) Hipótesis	24
III) Objetivos	25
IV) Material y métodos	26
V) Resultados	38
VI) Discusión	53
VII) Conclusiones	56
VIII) Bibliografía	58
Anexo	65

1) INTRODUCCION

A) DATOS EPIDEMIOLOGICOS DE LA AMIBIASIS

La amibiasis es una infección parasitaria causada por el protozooario Entamoeba histolytica y que generalmente se asocia a países en vías de desarrollo que presentan condiciones socioeconómicas deficientes, malos hábitos de higiene y desnutrición; sin embargo, es importante señalar que la amibiasis es un padecimiento cosmopolita que también está presente en los países desarrollados, aunque con menor frecuencia.

De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud, la amibiasis está presente en alrededor de 500 millones de personas en todo el mundo (sin incluir la República de China), con un índice de morbilidad (personas con infección amibiana) anual del 10% (Tabla I).

Desde el punto de vista epidemiológico, hay cuatro países que presentan el mayor porcentaje de amibiasis: Egipto, India, Turquía y México (1).

La importancia que representa este problema de salud es que el índice de mortalidad anual, a causa de las complicaciones de la enfermedad, es de 50,000 a 100,000 personas (2). Se sabe que de las enfermedades causadas por parásitos, la amibiasis ocupa el tercer lugar de mortalidad

T A B L A I

PREVALENCIA GLOBAL E INDICE DE LA AMIBIASIS

CONTINENTE	INDIVIDUOS INFECTADOS	INDIVIDUOS ENFERMOS (AHA* y colitis)	DEFUNCIONES
Norte y Sudamérica	95×10^6	10×10^6	$10-30 \times 10^3$
Asia	300×10^6	$20-30 \times 10^6$	$20-50 \times 10^3$
África	85×10^6	10×10^6	$10-30 \times 10^3$
Europa	20×10^6	1×10^6	-----
TOTAL	500×10^6	50×10^6	$40-110 \times 10^3$

*AHA, absceso hepático amibiano

Ref: Walsh. J. Amebiasis in the world. Arch. Invest. Méd. (Méx.), 1986;
17 (Supl): 385

a nivel mundial, después de la malaria y la esquistosomiasis.

Las revisiones epidemiológicas realizadas por Walsh (3) indican que el número de personas infectadas con la amiba aumenta paralelamente al índice de natalidad a nivel mundial.

Las investigaciones más completas sobre la epidemiología de esta enfermedad se han realizado recientemente, y la gran mayoría de ellas pertenece a las últimas dos décadas. La frecuencia actual del padecimiento ha sido difícil de establecer, ya que en áreas endémicas hay una tendencia a sobreestimarlos, debido a que un gran número de casos de disentería o diarrea con sangre, fácilmente son confundidos con amibiasis, por la similitud del cuadro clínico. Por otra parte, en áreas donde la enfermedad es poco frecuente el diagnóstico es subestimado y las amibas se pasan por alto o bien no son debidamente identificadas en los exámenes coproparasitológicos; esto es frecuente en pacientes que provienen de áreas endémicas, así como en individuos considerados de alto riesgo, como homosexuales o pacientes mentalmente incapacitados.

En los últimos años, los métodos inmunológicos han sido de gran ayuda tanto en el diagnóstico de la amibiasis invasora o extraintestinal, como en estudios seroepidemiológicos para evaluar el alcance que tiene este padecimiento en diversas poblaciones.

En los países desarrollados social, médica y económicamente, las enfermedades parasitarias han sido erradicadas casi totalmente y por lo mismo tienen muy poca significación.

Es importante establecer la diferencia que existe entre infección y enfermedad amibiana; es decir, entre personas que tienen el parásito sin presentar síntomas, que se conocen como portadores asintomáticos y aquellos con sintomatología definida. Esto es necesario, ya que en un mismo país se presentan tasas muy variables de infección.

En México, a partir de 1972 se han efectuado varias encuestas seroepidemiológicas. Así, Landa y col. (4) estudiaron 7,532 sueros de pacientes de hospitales del Distrito Federal y Yucatán, por medio de la técnica de contraímmunoelectroforesis (CIEF) y utilizando antígeno obtenido de cultivos axénicos de E. histolytica, encontrando una frecuencia que osciló entre el 5 y 6%. En ese mismo año, Gutiérrez y col. (5) realizaron una encuesta serológica en 766 niños del Distrito Federal, usando la misma metodología, obteniendo una seropositividad del 3.9%, que varió de acuerdo con la edad, ya que después del primer año de edad el porcentaje de positividad aumentó progresivamente.

La encuesta seroepidemiológica más amplia que se ha realizado es la practicada por Gutiérrez y col. (6) en 1974, quienes utilizaron la prueba de CIEF en una población

de 19,442 individuos de 46 localidades urbanas de la República Mexicana, consideradas como representativas de todas las áreas geoeconómicas y geomórficas del país. El estudio mostró que el 5.95% de los habitantes era portador de anticuerpos contra E. histolytica, aunque la frecuencia variaba entre el 9.95% en la región centrooccidental y 2.53% en la nororiental. También se observó un incremento de la frecuencia de seropositividad a partir del primer quinquenio de vida, con un máximo entre los 5 y 10 años de edad, con excepción de la región centrooccidental, donde el porcentaje de seropositividad más elevado se encontró en menores de 5 años. No obstante la magnitud de la encuesta, la población estudiada pertenecía a derechohabientes del IMSS, presentando en consecuencia un rasgo definido, por lo que el análisis de las diferentes poblaciones no era, en general el apropiado.

Crevenna y col. (7) estudiaron una población reducida de 519 adultos del Distrito Federal utilizando la CIEF, y encontraron un 6.6% de seropositividad.

B) GENERALIDADES DEL PARASITO

b.1) Clasificación de E. histolytica (8)

Reino:	Animalia
Phylum:	Protozoa
Subphylum:	Sarcodina
Superclase:	Rhizopoda
Clase:	Lobosea
Orden:	Amoebida
Familia:	Entamoebidae
Género:	Entamoeba
Especie:	histolytica

b.2) Morfología de E. histolytica

E. histolytica presenta tres estadios morfológicos: trofozoito, prequiste y quiste; el primero forma móvil o vegetativa y los dos últimos inmóviles (9).

El trofozoito presenta dimensiones variables, que fluctúan entre 15 y 60 micras de diámetro, con forma variable y movimiento característico, debido a la emisión de pseudópodos digitiformes, largos, anchos y rápidos. Su núcleo no se observa fácilmente, ya que ocupa el 20% del

volumen de la célula y es de forma esférica. Los trofozoitos no se enquistan cuando invaden tejido, sólo cuando se establecen en la luz intestinal.

Cuando las condiciones ambientales en que se desenvuelve el trofozoito en el intestino grueso no son las óptimas para su supervivencia, comienza a inmovilizarse, pierde su material intracitoplásmico, se redondea y reviste de una membrana doble y gruesa que le dá resistencia para soportar las condiciones externas con las que se enfrenta cuando es expulsado con las heces. También se observa que el parásito presenta en su citoplasma un núcleo y barras cromatoidales, estadio que se conoce como prequiste y que presenta una pared quística, que lo diferencia del trofozoito.

La forma infectante de E. histolytica es el quiste, que tiene forma esférica o subsférica, con un diámetro de 5 a 20 micras. Durante la maduración del prequiste se observa que el núcleo se divide en 2 y después en 4, originando finalmente el quiste maduro, que está rodeado de una membrana doble que le confiere resistencia a la acidez gástrica. A diferencia de los trofozoitos, los quistes nunca invaden tejido. La presencia de los quistes en muestras frescas de heces establece el diagnóstico de la amebiasis y puede ser un indicador de la magnitud de la infección en una población.

b.3) Ciclo biológico

El ser humano es la fuente de infección y diseminación de E. histolytica. Los mecanismos de transmisión son: a) de persona a persona, principalmente por comida o bebida contaminadas con heces que contienen quistes de la amiba; b) por el fecalismo al aire libre, y c) la coprofa-gia humana. En la mayoría de los casos la transmisión es debida a portadores asintomáticos o con poca sintomatología. La vía de entrada en el organismo es la digestiva, por medio de algún vehículo contaminado con quistes como alimentos, agua y aire; la vía de salida es con la materia fecal, donde el quiste puede perdurar durante largo tiempo en el medio ambiente.

Cuando se adquiere la infección al ingerir los quistes de E. histolytica, éstos pasan al estómago en donde los jugos gástricos comienzan a actuar sobre ellos; después pasan al intestino delgado y en el ileon terminal los quistes se abren para dejar salir a un trofozoito octanucleado, que se divide para originar 8 trofozoitos metaquisticos pequeños, los cuales son transportados por el contenido intestinal al intestino grueso (ciego), en donde pueden seguir dos caminos: establecerse, dependiendo del número de trofozoitos, del tránsito intestinal y de una dieta rica en azúcares, o bien ser excretados con la materia fecal. Si la amiba se establece en el hospedero, el

periodo de incubación biológico es de 1 a 5 días, pero el tiempo en que se presenta la sintomatología puede variar entre 4 días a un año, con un promedio aproximado de 4 meses (Fig. 1).

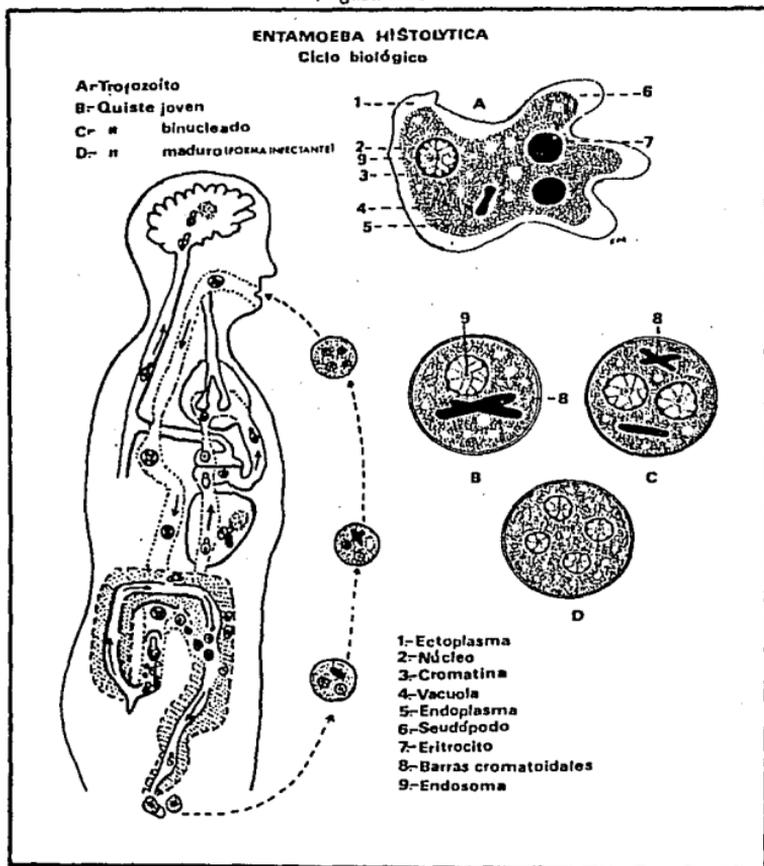
b.4) Patogenicidad

La amibiasis invasora se lleva a cabo a través de los siguientes eventos: 1) adherencia a la mucosa, 2) alteración de las barreras intestinales mediante la secreción de enzimas proteolíticas y toxinas, 3) lisis de células epiteliales intestinales e inflamatorias del hospedero, ocasionando una ulceración del colon e invasión del hígado y 4) resistencia a los mecanismos de defensa del hospedero (10).

Cuando las amibas se establecen en el epitelio intestinal, se dividen por fisión binaria y permanecen en ese tejido sin causar daño a la mucosa intestinal, ya que se requiere de una serie de "factores de patogenicidad" específicos de cada cepa, para producir una lesión. Entre estos factores se cuentan la presencia de enzimas (mucina-sa, gelatinasa, ribonucleasa, desoxirribonucleasa, hialuronidasa, etc.), y la poderosa acción mecánica que ejercen los trofozoitos sobre la mucosa intestinal.

La gran cantidad de vasos sanguíneos que se encuentra en la mucosa, favorece la diseminación de los

Figura 1



trofozoitos hacia otras regiones del organismo, produciendo la amibiasis extraintestinal, que requiere de la presencia de lesiones en el intestino grueso.

De acuerdo con lo mencionado se desprende que la virulencia de una cepa de E. histolytica depende de dos características : la infectividad o capacidad de colonización intestinal, y la invasividad o capacidad de diseminarse y de causar daño tisular.

Por otra parte, también debe tomarse en cuenta la relación hospedero-parásito, en la que destacan los siguientes factores: situación geográfica, raza, sexo (el AHA afecta en especial al varón en una proporción de 4:1), edad (existe mayor frecuencia de AHA entre los 30 y 50 años), estado nutricional, dieta, respuesta inmune del hospedero, clima local y hábitos sexuales. Otros autores señalan también flora bacteriana intestinal, niveles séricos de colesterol y hormonas sexuales (11).

b.5) Cuadro clinico

Desde del punto de vista clínico y considerando los mecanismos de transmisión de la enfermedad, así como la migración de los trofozoitos en el del hospedero, se ha clasificado a la amibiasis de la siguiente manera:

- I) Amibiasis Intestinal: a) Aguda
 b) Crónica

- II) Amibiasis Extraintestinal: a) Hepática
 b) Pulmonar
 c) Cerebral
 d) Mucocutánea
 e) Otras

Amibiasis intestinal aguda: es una de las formas clínicas que se observa con mayor frecuencia. Se caracteriza por diarrea, que puede evolucionar dependiendo de la localización y extensión de las lesiones, a síndrome disentérico, caracterizado por evacuaciones mucosanguinolentas, acompañadas de pujo, tenesmo y dolor abdominal, o disentería fulminante con pérdida de peso, fiebres esporádicas, etc. Se considera que el caso es agudo cuando la sintomatología tiene una evolución de alrededor de 15 días y se pueden identificar amibas en el estadio de trofozoito (9).

Amibiasis intestinal crónica: se presenta cuando los síntomas anteriores persisten por más de un mes y se alternan periodos de sintomatología leve con reactivación de periodos agudos, eliminándose quistes en la materia fecal (9).

Amibiasis extraintestinal: se evidencia cuando los trofozoitos que están en el colon invaden y se establecen en otros órganos. El hígado es el segundo sitio de preferencia de las amibas, produciéndose así la amibiasis hepática, que se caracteriza por microabscesos y abscesos agudos que evolucionan a la formación del absceso crónico. Los síntomas que se presentan son: fiebre elevada, dolor en el hipocondrio derecho, hepatomegalia, abscesos, a menudo leucocitosis con neutrofilia y presencia de anticuerpos séricos contra la amiba. El cuadro suele agravarse cuando el AHA se rompe y vacía su contenido en la cavidad peritoneal, permitiendo la invasión a otros órganos y cavidades vecinas, donde el trofozoito se establece. Los sitios más afectados son el tórax, peritoneo, pleura y pulmón.

El pronóstico de los diferentes tipos de amibiasis dependerá de varios factores, como el tipo de cepa de E. histolytica, localización de las lesiones, condiciones generales del paciente como edad, estatus socioeconómico y nutricional, evolución previa al diagnóstico, y posibles complicaciones (9).

b.6) Morbilidad y mortalidad en México

El índice de morbilidad de la amibiasis aumentó a partir de 1970 , aunque muchos casos pudieron ser sobreestimados; opuestamente el índice de mortalidad disminuyó sensiblemente (12).

En 1988, la amibiasis ocupó el tercer lugar entre las 20 causas de enfermedades más frecuentes en México, presentándose 1,090,361 casos y una tasa de incidencia de 1,318.12 por 100,000 habitantes (13), mientras que la mortalidad por infecciones intestinales fué de 7.4% (14). Por otra parte, el padecimiento se encuentra entre las 10 primeras causas de muerte originadas por parásitos y se estima que la proporción de la población infectada con la amiba y portadora de quistes, probablemente sea del 25%. De esta manera, la amibiasis podría causar de 10,000 a 30,000 muertes por año (2). En 1991, se reportaron 3,134 casos de amibiasis hepática y 2,856,890 de infecciones intestinales (15).

En la encuesta seroepidemiológica realizada por Gutiérrez y col. (6), los resultados revelaron que la infección está extendida en todo el país, independientemente del clima, y predomina en los medios mal saneados y de bajo nivel socioeconómico. Una gran mayoría de los individuos infectados son portadores sanos, y sólo una minoría manifiesta la enfermedad.

La ubicación más frecuente de la enfermedad es la intestinal, que se presenta con mayor frecuencia en niños de ambos sexos, a diferencia del AHA, que predomina en el adulto de sexo masculino entre los 20 y 40 años de edad.

C) INMUNOLOGIA DE LA AMIBIASIS

c.1) Antígenos amibianos

La complejidad antigénica de E. histolytica ha sido demostrada por ensayos como inmunolectroforesis, inmunofluorescencia y radioinmunoanálisis. Los antígenos presentes en la membrana de superficie de los trofozoitos son los primeros en ser reconocidos por el sistema inmune del hospedero, y han sido identificados y purificados utilizando anticuerpos monoclonales (16). De esta manera se han determinado como antígenos de superficie: proteínas, carbohidratos y lípidos, que juegan un papel importante en el reconocimiento y adhesión de la amiba. Además se han caracterizado antígenos citoplásmicos, que se originan tanto de organelos citoplásmicos como de fracciones lisosomales y ribosomales, así como exoantígenos, que son sustancias como enterotoxinas o exotoxinas.

Los homogenados y extractos crudos de amibas completas son las preparaciones que se utilizan con mayor frecuencia para serodiagnóstico de amibiasis; sin embargo, no se ha logrado estandarizar ninguno de ellos para su uso en todas las pruebas.

E. histolytica se ha cultivado in vitro en varios medios de cultivo complejos. Inicialmente se utilizaron medios monoxénicos que contienen una bacteria u otro protozooario; posteriormente se desarrolló un medio axénico libre de otros microorganismos, del que se obtienen grandes cantidades de amibas, y que facilitó los estudios bioquímicos e inmunológicos del antígeno.

c.2) Respuesta inmune celular

En la amibiasis participan fenómenos de inmunidad celular, humoral y mecanismos inespecíficos de resistencia a la infección. A pesar de que E. histolytica induce, tanto una respuesta inmune celular como humoral, hasta ahora no se ha establecido cual de ellas protege contra una reinfección (17).

La respuesta inmune contra E. histolytica parece ocurrir sólo cuando el parásito invade el tejido. Una vez que los trofozoítos han invadido la mucosa intestinal,

ocurre una respuesta temprana que probablemente involucra a células inflamatorias presentes en el sitio de la invasión, especialmente en el borde de la úlcera amibiana. Cuando las amibas de las úlceras intestinales penetran al hígado, inicialmente no inducen una respuesta inmune celular. No obstante una fase de anergia inicial y transitoria, los individuos que se recuperan de amibiasis invasiva manifiestan una respuesta inmune celular competente, que se expresa aferente y eferentemente y que puede representar un mecanismo de defensa del hospedero contra la amiba.

En la respuesta inmune celular participan linfocitos T y macrófagos. Los estudios de inmunidad celular sugieren la presencia de antígenos específicos que pudieran estar involucrados en la inducción de protección; sin embargo, antígenos con actividad biológica inespecífica, como la mitogénica, aparentemente se expresan en cantidades suficientes en la superficie del parásito, lo cual podría contribuir a la evasión de la respuesta inmune específica, como se ha descrito en algunas enfermedades virales (18).

c.3) Respuesta inmune humoral

La respuesta humoral contra E. histolytica se observa tanto a nivel local como sistémico y su estudio puede emplearse como marcador en la infección invasiva, ya que la presencia simultánea de IgM e IgG específica indica

una infección reciente y activa, mientras que títulos elevados de IgG específica sugieren la presencia de una infección pasada e inactiva.

La amibiasis invasiva siempre induce una respuesta humoral sistémica, que se caracteriza por la aparición de anticuerpos circulantes específicos, predominantemente de la clase IgG (IgG 2), que son detectados generalmente una semana después de la aparición de los primeros síntomas, en aproximadamente el 81% de los casos de amibiasis intestinal y en casi el 100% de los pacientes con amibiasis hepática (19).

En la amibiasis intestinal invasiva hay un aumento de los niveles globales de inmunoglobulinas séricas, principalmente IgG y en menor proporción los de IgM, IgA e IgE, que puede deberse a una activación policlonal de las células productoras de anticuerpos, lo que provocaría una mayor producción de diferentes familias de anticuerpos específicos contra la amiba (17,20). La inmunoglobulina secretora, presente en la membrana de las mucosas, constituye la primera defensa contra organismos invasores.

Una respuesta serológica positiva a E. histolytica indica una invasión tisular del parásito, y títulos elevados de anticuerpos indican que el paciente se encuentra en las etapas iniciales de la enfermedad.

Tanto el suero normal como el inmune poseen

propiedades amebicidas, aparentemente por la activación de las vías clásica y alterna del complemento por trofozoitos intactos o fracciones subcelulares de E. histolytica (21).

Estudios realizados in vitro han mostrado que el parásito es capaz de agregar, incorporar y/o esparcir a los anticuerpos anti-amiba que atacan su superficie (22), lo que puede constituir un mecanismo de evasión de la respuesta inmune del hospedero. Además, la amiba puede causar una reinfección a nivel intestinal, en individuos con títulos elevados de anticuerpos específicos. Lo anterior sugiere que la presencia de anticuerpos anti-amiba es sólo un indicador de la invasión de E. histolytica a los tejidos, y no constituye una protección efectiva para el hospedero.

D) METODOS DE DIAGNOSTICO DE LA AMIBIASIS

El diagnóstico de la amibiasis puede ser sencillo y directo, cuando se identifica a la amiba en heces y se asocia a la sintomatología de la disentería amibiana; o bien indirecto, cuando se identifica al anticuerpo en suero o algún otro fluido biológico.

d.1) Técnicas directas

Las técnicas directas se llevan a cabo mediante un examen, de al menos 3 muestras de materia fecal fresca, en donde se buscan los trofozoitos de E. histolytica sin teñir, que presentan movimientos característicos. A este método se le llama "observación directa en fresco".

Aunque el diagnóstico definitivo de la amibiasis sigue siendo la identificación microscópica de los trofozoitos o de los quistes de la amiba, este método es lento y se requiere de personal calificado para no confundir a la amiba con otros parásitos.

d.2) Técnicas indirectas

A este grupo pertenecen las técnicas serológicas usadas para el diagnóstico de la amibiasis, las cuales son de ayuda en el diagnóstico clínico, en estudios epidemiológicos y terapéuticos en amibiasis extraintestinal, específicamente en el AHA, y para confirmar la infección amibiana cuando la sintomatología que se presenta se confunde con otras enfermedades intestinales. Estos métodos determinan diferentes clases y niveles de anticuerpos, y su sensibilidad y especificidad varía substancialmente.

Las técnicas indirectas más empleadas en diagnóstico de la amibiasis invasora son:

1) Prueba de doble difusión en gel o inmunodifusión de Ouchterlony.

2) CIEF: esta técnica comenzó a utilizarse desde 1971, por Sepúlveda y col. (23), que fueron los primeros en reportar una buena sensibilidad y especificidad del método en el diagnóstico de la amibiasis invasora donde se producen anticuerpos en concentraciones elevadas (1).

3) Inmunofluorescencia indirecta

4) Ensayo inmunoenzimático (ELISA): esta técnica presenta una alta sensibilidad, pues da un 100% de positividad en casos de AHA y solamente un 3.6% en controles normales (24). Otra ventaja del ELISA es que no presenta reacciones falsas negativas y solo da un bajo porcentaje de falsos positivos. Sin embargo, los títulos de anticuerpos determinados tanto por ELISA como por hemaglutinación indirecta (HAI) pueden ser detectados por más de 3 años en ausencia de la enfermedad recurrente, lo que ofrece ventajas en estudios seroepidemiológicos.

5) HAI: esta técnica tiene una alta sensibilidad y es muy utilizada en estudios seroepidemiológicos de la amibiasis. Los eritrocitos que se utilizan como soporte son tratados con glutaraldehído, que permite la posterior adsorción del antígeno, obteniéndose un material antigénico particulado de E. histolytica, los cuales aglutinarán con el anticuerpo específico (25).

En 1961, Kessel y col. (26) fueron los primeros autores en utilizar la HAI en la determinación de anticuerpos contra E. histolytica.

Sepúlveda (27), en 1970, comparó la HAI y la prueba de precipitación en gel utilizando antígeno ambiano de cultivos axénicos, y encontró que la HAI fué más sensible y que persistía positiva en la mayor parte de los pacientes después de la curación clínica.

En 1971, Crevenna (28) encontró una seropositividad del 28 al 30% en 500 adultos del D.F.

En 1976, Sepúlveda y col. (29) compararon las pruebas de CIEF y HAI, y encontraron que los resultados positivos y negativos coincidían en más del 90% de los casos, por lo que consideró a estas dos pruebas como las más específicas y sensibles para detectar los anticuerpos anti-amiba.

Ortiz-Ortiz y col. en 1978, demostraron que el método de HAI es tan sensible y confiable como la CIEF, considerando como positivos los títulos séricos mayores o iguales que 1:128 (30).

El Centro de Control de Enfermedades de Atlanta, Georgia, ha escogido a la HAI como técnica estándar con fines epidemiológicos con un título de corte de 1:256 (1).

De acuerdo con las ventajas que presenta la prueba de HAI para el diagnóstico de la amibiasis, como son su especificidad, sensibilidad (90-100% en sueros de pa-

cientes con AHA, 75-90% en sueros de pacientes con amibiasis intestinal sintomática) y bajo costo, es considerada como la prueba de elección para estudios seroepidemiológicos (31).

II) HIPOTESIS

En el presente estudio se espera encontrar una asociación entre seroprevalencia, y zona geográfica, edad, sexo, nivel socioeconómico y cultural.

III) OBJETIVOS

1) Determinar por HAI la presencia de anticuerpos contra E. histolytica , en el suero de individuos pertenecientes a diferentes poblaciones de la región Norte/centro de México.

2) Estimar la frecuencia y distribución de amibiasis en la región Norte/centro de México, para conocer el grado de incidencia que presenta esta población.

3) Correlacionar el perfil de anticuerpos anti-amiba, de acuerdo con las siguientes variables: edad, sexo, nivel socioeconómico, escolaridad y hacinamiento.

IV) MATERIAL Y METODOS

Región estudiada:

Los estados de la República Mexicana comprendidos en este estudio seroepidemiológico fueron : Chihuahua, Coahuila, Durango, Nuevo León, San Luis Potosí y Zacatecas, que corresponden a la región Norte/centro del país.

Marco muestral:

En cada estado se seleccionó un número variable de unidades primarias de muestreo (UPM), que comprenden cada una de ellas un mínimo de 640 viviendas. A su vez, cada UPM está constituida por una o más áreas geoestadísticas básicas (AGEB), establecidas por el Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática para el Censo General de Población y Vivienda. La selección del marco muestral se realizó tomando en cuenta la densidad de población. Cada UPM se dividió en pequeñas áreas geográficas llamadas áreas de listado, cuyo número de viviendas varió de 40, en las zonas urbanas, a 80 en las zonas rurales. De acuerdo con el número de habitantes en cada UPM se se-

leccionaron 8 áreas de listado en las zonas urbanas y 4 en las rurales (32).

De esta manera el marco muestral quedó integrado de la siguiente manera:

Entidad Federativa	Municipios	UPM	AGEB	Viviendas en muestra	Número de muestras
Coahuila	17	21	37	679	1985
Chihuahua	16	24	40	745	2141
Durango	16	24	52	676	2051
Nuevo León	19	46	75	1342	3751
San Luis Potosí	23	24	38	747	2131
Zacatecas	29	24	41	725	2188
TOTAL	120	163	283	4914	14247

Las viviendas seleccionadas fueron agrupadas de acuerdo con estratos socioeconómicos, con base en las siguientes variables: promedio de personas por habitación, y la proporción de individuos con educación posprimaria, de viviendas con agua caliente y energía eléctrica, de ingreso per cápita y de individuos que cambiaron de residencia. El número de estratos socioeconómicos de acuerdo con su heterogeneidad geográfica, demográfica y cultural, varía entre 3 y 12 en cada estado. En las zonas urbanas se selecciona-

ron 5 viviendas de cada área de listado, mientras que en las zonas rurales se seccionaron al azar conglomerados de 10 viviendas.

La recolección de datos se realizó por medio de 3 cuestionarios: de localidades, viviendas e individuos (33).

Sueros:

Para la encuesta seroepidemiológica nacional, se obtuvieron sueros mediante punción venosa, y posteriormente se almacenaron a -70 C en el Banco de Sueros de la Dirección General de Epidemiología de la Secretaría de Salud. Los sueros fueron colectados por esta institución desde 1987, año de inicio del levantamiento de la encuesta, y proporcionados por el Sistema Nacional de Encuestas de Salud (SNES), con la ayuda de aquellas efectuadas por los gobiernos de cada estado.

El número de sueros analizados fué de 14,247; abarcó a hombres y mujeres de todas las edades, excepto a menores de un año de edad, debido a la dificultad técnica para extraer la sangre. La cantidad de suero que se obtuvo de cada individuos fué, en promedio, de 4 ml. Es importante mencionar que no se trabajaron muestras hemolizadas, ni ictericas.

Antígeno:

Se trabajó con antígeno total de E. histolytica cepa HM1 IMSS, obtenido de cultivos axénicos, de acuerdo con la técnica de Diamond (34). El antígeno liofilizado se mantuvo en congelación a -20 C y en el momento de uso se resuspendió en una solución amortiguadora de fosfatos (SAF) pH 7.2; la concentración proteica se determinó por el método de Lowry y col. (35). El antígeno liofilizado fue proporcionado por el Instituto de Investigaciones Biomédicas de la UNAM.

Glóbulos rojos de carnero (GRC):

La sangre de carnero se obtuvo por punción venosa (yugular) y posteriormente se recolectó y almacenó en solución de Alsever a pH 6.1, durante dos días antes de usarse, y se mantuvo en refrigeración a 4 C. Los GRC se lavaron 6 o 7 veces con SAF (10 volúmenes de SAF por cada volumen de GRC) y se llevaron a una suspensión al 50% antes de conjugarse con el antígeno.

Determinación de proteínas:

El contenido de proteínas del antígeno total de amiba se determinó por el método de Lowry y col. (35), usando una solución de albúmina como patrón de proteínas, a una concentración de 10 mg/ml.

HAI

Para detectar la presencia de anticuerpos antiE. histolytica en las muestras de suero, se realizó el método de HAI, utilizando GRC sensibilizados con antígeno total de amiba cepa HM1, acoplados vía puentes de glutaraldehído (25).

La conjugación del antígeno con los GRC, comprende primero el tratamiento de los GRC con glutaraldehído, y segundo la sensibilización de los eritrocitos con el antígeno de amiba reconstituido; es decir, la "fijación" del antígeno a los GRC (36).

Por cada ml de GRC en suspensión, se agregó 1.5 ml de glutaraldehído al 25%, previamente neutralizado con carbonato de sodio al 10%; 5 ml de solución salina isotónica (0.15 M), y 1 ml de fosfato dibásico de sodio (0.015 M, pH 8.0). Cada uno de los reactivos anteriores se agregó a la suspensión de GRC, gota a gota y agitando suavemente,

cuidando que éstos no se hemolicen. La mezcla se agitó por rotación a 4 C durante 24 h. Posteriormente los GRC se lavaron 5 o 6 veces con 30 volúmenes de SAF y se llevó a una suspensión al 10% en SAF. A cada ml de GRC tratados con glutaraldehído se le agregaron 5 mg de antígeno total de amiba en 50 ml de solución amortiguadora de acetatos (0.1 M, pH 5.0); la mezcla se agitó suavemente durante 24 h a 4 C. Después los GRC se lavaron 5 ó 6 veces con abundante SAF y se centrifugaron a 500 x g por 10 min, para separar el paquete de GRC, el cual se resuspendió en glicina (0.1 M en SAF), para bloquear los grupos aldehídos libres. Los GRC se dejaron en agitación suave en la solución de glicina por 2 h a 4 C. Finalmente se lavaron 5 ó 6 veces con SAF y se mantuvieron a 4 C en esta solución. Para realizar la prueba de hemaglutinación, los GRC se llevaron a una suspensión al 3% en SAF.

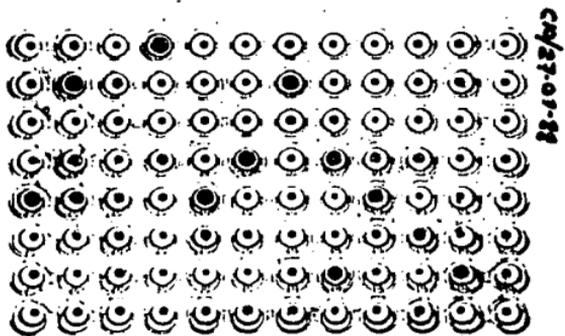
La estandarización de la reacción de hemaglutinación se llevó a cabo utilizando sueros humanos con anticuerpos anti- E. histolytica, provenientes de pacientes con AHA, usando como diluyente SAF con 1% de albúmina sérica bovina (ASB), para minimizar la aglutinación inespecífica. Los sueros usados con este propósito se obtuvieron por punción venosa y se agruparon de acuerdo a la probabilidad de contener anticuerpos anti-amiba en los siguientes grupos: negativos (21 sueros provenientes de personas sanas que habitan áreas endémicas de México) y positivos (21 sueros

provenientes de pacientes con AHA diagnosticado en una institución de salud del país). Todos los sueros se diluyeron con SAF-ASB al 1% y se hicieron diluciones seriadas al doble, desde 1:20 hasta 1:1280. Cada una de las diluciones en volúmenes de 50 ul se adicionaron a placas de hemaglutinación, donde se incubaron con 25 ul de GRC sensibilizados al 3%; la suspensión se agitó suavemente por 1 min y la reacción se dejó reposar durante 2 h a temperatura ambiente, antes de registrar los resultados. Se considera como lectura positiva cuando se observa en el pozo de la placa de hemaglutinación un botón irregular de eritrocitos ; mientras que el suero se considera negativo, cuando se observa un botón bien delimitado de eritrocitos en el fondo del pozo (Fig. 2). El título del suero se toma como el inverso de la máxima dilución positiva.

La prueba de HAI la llevamos a cabo en dos etapas: primero se realizó una prueba tamiz, para separar los sueros positivos; posteriormente se hizo una prueba para obtener el título del suero.

a) Prueba de tamiz:

1) Con una micropipeta se tomaron 49.5 ul de SAF-ASB al 1% y se colocaron en las placas para hemaglutinación.



● POSITIVO
○ NEGATIVO

Figura 2. Prueba tamiz de HAI donde se observa un botón irregular de eritrocitos en aquellos sueros humanos que resultan positivos y un botón bien delimitado en los sueros negativos.

2) Con una micropipeta se tomaron 0.5 ul de suero y se adicionaron al pozo de la placa, procurando una completa homogenización.

3) Se adicionó con una pipeta repetidora, 25 ul de GRC sensibilizados al 3%.

4) Se agitó la placa 1 min, con movimiento rotatorio.

5) Se cubrió la placa con papel aluminio para evitar evaporación y se dejó 2 h a temperatura ambiente.

6) Se tomó lectura de las placas de reacción, observando el fondo de cada pozo con ayuda de un espejo de aumento.

7) Se separaron los sueros positivos.

b) Prueba confirmativa:

1) Para titular los sueros positivos se tomaron con una micropipeta 95 ul de SAF-ASB al 1% y se agregaron en el primer pozo de la placa. En los pozos del 2 al 7 se adicionaron 50 ul de la misma solución.

2) Se tomó con una micropipeta 5 ul de suero y se adicionaron al primer pozo; se homogeneizó bien. De esta forma se obtuvo una dilución 1:20.

3) Se tomó con una micropipeta 50 μ l del suero diluido en el primer pozo y se pasaron al siguiente pozo. Se repitió este procedimiento del pozo 2 al pozo 7, hasta obtener una dilución final de 1:1280. De esta manera tene-

mos que para los pozos del 1 al 7 las diluciones del suero son 1:20, 1:40, 1:80, 1:160, 1:320, 1:640 y 1:1280, respectivamente.

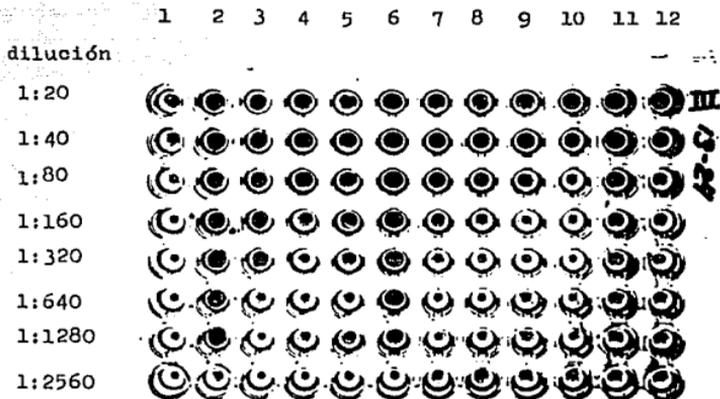
4) Se adicionó con una pipeta repetidora 25 μ l de GRC sensibilizados al 3%.

5) Se agitó la placa 1 min con movimiento rotatorio.

6) Se cubrió la placa para evitar evaporación y se dejó 2 h a temperatura ambiente.

7) Se tomó lectura de las placas de reacción y se registró el título de cada suero (Fig. 3).

El valor del título de corte, donde el suero es considerado como positivo, es 1:160 y el valor máximo que se obtiene de acuerdo a las diluciones realizadas, es 1:1280.



Columna 1 Control negativo
 Columna 2 Control positivo
 Columna 3 a 12 Sueros problema

Figura 3. Curva de titulación de HAI de sueros humanos obtenidos como positivos en la prueba tamiz.

Análisis estadístico

El porcentaje de seropositividad se estimó para cada una de las variables estudiadas y se hizo una correlación entre la seroprevalencia y los factores relacionados a la geografía, edad, sexo, urbanización, nivel socioeconómico, cultural, y hacinamiento, asimismo se utilizó un análisis estadístico mediante la Razón de Momios (RM) con intervalos de confianza (IC) del 95% (37). La Razón de Momios o razón del producto cruzado es un análisis estadístico que describe el grado de asociación entre dos variables, dentro de un determinado intervalo de confianza. Se considera que la diferencia entre las dos variables es significativa, cuando los valores comprendidos en el intervalo de confianza son mayores que 1, mientras que cuando los valores son menores o iguales que 1, la diferencia entre ambas variables no es significativa.

V) RESULTADOS

1) POR ENTIDAD FEDERATIVA Y A NIVEL REGIONAL

De las 14,247 muestras de suero analizadas para determinar la presencia de anticuerpos contra E. histolytica, que se obtuvieron de la población rural y urbana de la región norte/centro de México, 1,037 presentaron anticuerpos contra la amiba, con títulos mayores o iguales a 1:160 (valor del título de corte de la HAI). De esta manera, la seropositividad global de la región fué de 7.27% (Tabla II).

El mapa indica que el nivel más alto de seropositividad de la región, se localiza en el estado de Durango con un valor del 9.02%, mientras que los estados de San Luis Potosí y Coahuila son los menos afectados, con un valor de seropositividad de 6.05% y 4.33% respectivamente (Fig. 4).

T A B L A I I

PREVALENCIA DE AMIBIASIS POR ENTIDAD FEDERATIVA

ENTIDAD	Positivos	S U E R O S Negativos	TOTALES	Seropositividad (%)
Cochila	86	1899	1985	4.33
Chihuahua	139	2002	2141	6.49
Durango	185	1866	2051	9.02
Nuevo León	312	3439	3751	8.32
San Luis Potosí	129	2002	2131	6.05
Zacatecas	196	2002	2188	8.50
TOTAL	1037	13210	14247	7.27

Título de HAI positivo > 1:160



□ Menor o igual a 5.0%

▨ De 5.1% a 10.0%

Figura 4. Mapa de la República Mexicana donde se observa la seroprevalencia de amebiasis en la región Norte/centro de México.

2) EDAD

Al clasificar los 14,247 sueros por grupos de edad, se encontraron los siguientes resultados: el grupo de 0-9 años de edad presenta la mayor seropositividad, y después se observa, a lo largo de las primeras 5 décadas de vida (0-50 años), un descenso en la seropositividad desde 10.56% a 3.95%. En las siguientes décadas se presentan aumentos y descensos de manera alternada y que son, en la sexta de 4.88%, en la séptima de 3.54%, en la octava y novena de 5.49% y 6.02%, respectivamente y en la última de 3.23% (Tabla III).

3) SEXO

La tasa de seroprevalencia en mujeres (8.14%) es mayor en un 40% que la de hombres (6.05%) (Tabla IV). Esta tendencia se observa en todos los rangos de edades, exceptuando el grupo de los 80-89 años, en donde la seropositividad es ligeramente mayor en hombres (Fig.5).

T A B L A III

PREVALENCIA DE AMIBIASIS POR EDAD

RANGO DE EDADES (años)	Positivos	S U E R O S Negativos	TOTALES	Seropositividad (%)
1 - 9	317	2685	3002	10.56
10 - 19	345	3732	4077	8.46
20 - 29	152	2100	2252	6.75
30 - 39	80	1563	1643	4.87
40 - 49	48	1168	1216	3.95
50 - 59	46	897	943	4.88
60 - 69	22	600	622	3.54
70 - 79	18	310	328	5.49
80 - 89	8	125	133	6.02
90 - 98	1	30	31	3.23
TOTAL	1037	13210	14247	7.27

Título de HAI positivo > 1:160

T A B L A IV

SEXO	PREVALENCIA DE AMIBIASIS POR SEXO			Seropositividad (%) RM (IC _{95%}) [†]
	Positivos	S U E R O S Negativos	TOTALES	
Masculino	357	5539	5896	6.05
Femenino	680	7671	8351	8.14
TOTAL	1037	13210	14247	7.27

†Título de HAI positivo > 1:160

‡Razón de Momios con un intervalo de confianza del 95%

*Significativo

POBLACION TOTAL

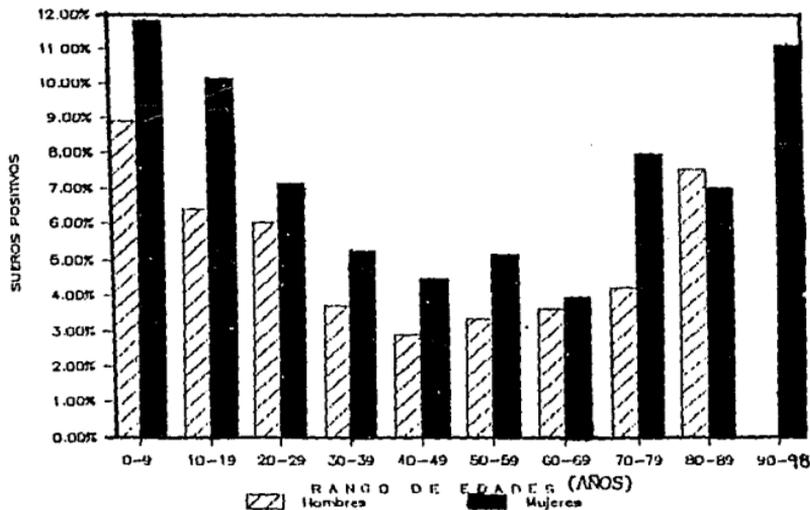


Figura 5. Seropositividad de anticuerpos de acuerdo a edad y sexo

Título de HAI positivo $\geq 1:160$

4) TIPO DE POBLACION

La Tabla V muestra la seropositividad de la amibiasis en la población rural (7.96%) y la urbana (6.82%) estudiada, tomando en consideración si la densidad de la población de procedencia de cada suero era menor (rural) o mayor (urbana) de 2,500 habitantes por localidad. Aunque esta comparación favorece al medio rural, la diferencia entre ambas poblaciones es mínima y de acuerdo al análisis estadístico, no es significativa.

5) NIVEL SOCIOECONOMICO

Se distinguieron tres niveles socioeconómicos: alto, medio y bajo, de acuerdo a las condiciones de la vivienda y al nivel de escolaridad del jefe de familia. De esta manera, el nivel socioeconómico alto, corresponde a quien presenta bien ambos factores; de nivel bajo al que tiene mal ambos factores y nivel medio al resto.

Al analizar los resultados de seropositividad, se obtuvo un 5.31% para el nivel socioeconómico alto, un 7.89% para el medio y un 8.97% para el nivel bajo (Tabla VI); esto indica la tendencia al incremento en la seroprevalencia en los niveles socioeconómicos menos privilegiados, viéndose afectado el nivel socioeconómico medio en un 50% y el nivel bajo en un 80% (Tabla VI).

6) ESCOLARIDAD

La escolaridad se determinó considerando si el jefe de familia del donador del suero había terminado primaria, secundaria o más. Por esta razón, en el análisis de esta variable se excluyó a la población menor de seis años. La Tabla VII muestra que la seroprevalencia es más elevada entre los donadores analfabetas (7.76%) y tiende a disminuir conforme aumenta el grado de escolaridad para estudios de secundaria o más (5.96%), a razón del 10%, por lo que la diferencia es poco significativa.

T A B L A V

PREVALENCIA DE AMIBIASIS SEGUN EL TIPO DE POBLACION

TIPO DE POBLACION	S U E R O S		TOTALES	Seropositividad (%) RM (IC _{95%}) ¹
	Positivos	Negativos		
Rural	456	5273	5729	7.96
Urbana	581	7937	8518	6.82
TOTAL	1037	13210	14247	7.27

Título de HAI positivo > 1:160
¹Razón de Momois con un Intervalo
de Confianza del 95%
²No significativo

T A B L A VI

PREVALENCIA DE AMIBIASIS POR NIVEL SOCIOECONOMICO					
NIVEL SOCIOECONOMICO	S U E R O S			Seropositividad(%)	RM (IC _{95%}) ¹
	Positivos	Negativos	TOTALES		
Alto	288	5134	5422	5.31	
Medio	311	3629	3940	7.89	1.5* (1.3-1.8)
Bajo	438	4447	4885	8.97	1.8* (1.5-2.0)
TOTAL	1037	13210	14247	7.27	

Título de HAI positivo \geq 1:160

¹ Razón de Momios con un Intervalo de
Confianza del 95%

^{2,3} Significativo

T A B L A VII

ESCOLARIDAD	PREVALENCIA DE AMIBIASIS POR ESCOLARIDAD (6 - 98 años)			Sero positividad(%) RM (IC _{95%}) ²
	S U E R O S		TOTALES	
	Positivos	Negativos		
Analfabeta	531	6309	6840	7.76
Primaria	166	2487	2653	6.26 1.3 ³ (1.1-1.6)
Secundaria y más	196	3090	3286	5.96 1.1 ³ (0.9-1.3)
TOTAL	893	11886	12779	6.98

Título de HAI positivo \geq 1:160
¹ Razón de Momios con un Intervalo de
 Confianza del 95%
² Significativo
³ No significativo

7) NIVEL DE HACINAMIENTO

El grado de hacinamiento se midió determinando si el cociente de habitantes por dormitorio es mayor o menor que dos. Los resultados muestran que existe una mayor seroprevalencia en las viviendas hacinadas (8.19%) que en las no hacinadas (5.08%), a razón de un 70% (Tabla VIII).

8) DISTRIBUCION DE TITULOS SEGUN EL SEXO

El título de anticuerpos anti-amiba que se presenta con mayor frecuencia tanto en hombres (53.83%) como en mujeres (57.97%) es de 1:160 (56.51%), por otra parte el título de anticuerpos menos frecuente es de 1:640 (17.36%) (Tabla IX).

T A B L A VIII

PREVALENCIA DE AMIBIASIS POR NIVEL DE HACINAMIENTO

NIVEL DE HACINAMIENTO	S U E R O S			Seropositividad(%)	RM (IC _{95%}) [*]
	Positivos	Negativos	TOTALES		
No hecinado	211	3746	4157	5.08	
Hacinndo	826	9264	10090	8.19	1.7 [*] (1.4-1.2)
TOTAL	1037	13210	14247	7.27	

Título de HAI positivo \gg 1:160

* Razón de Momios con un Intervalo de
Confianza del 95%

*Significativo

T A B L A IX

DISTRIBUCION DE TITULOS SEGUN SEXO						
TITULO	Hombres	Mujeres	TOTAL	Hombres(%)	Mujeres (%)	TOTAL(%)
160	197	380	596	55.83	57.97	56.51
320	97	174	271	26.50	25.93	26.13
640	72	109	190	19.67	16.10	17.36
TOTAL	366	671	1037	100.00	100.00	100.00

Título de HAI positivo \approx 1:160

VI) DISCUSION

En la actualidad un gran número de pruebas serológicas se emplean en estudios seroepidemiológicos; sin embargo, la prueba de HAI que se usó en este trabajo, se recomienda por su sensibilidad, facilidad de realización, rapidez y bajo costo. A pesar de que esta prueba presenta estas ventajas, no se le considera una prueba diagnóstica de la amibiasis, ya que detecta anticuerpos que persisten por algunos años, aún después del tratamiento y de la cura de la enfermedad; estas características la hacen de gran utilidad en estudios seroepidemiológicos.

Debido a que desde 1974 no se había llevado a cabo en México, un estudio seroepidemiológico de amibiasis a nivel regional y nacional, era importante actualizar los datos estadísticos sobre este padecimiento. Es necesario mencionar que los estudios seroepidemiológicos de la amibiasis realizados en nuestro país, sólo han analizado zonas urbanas y poblaciones seleccionadas con métodos no probabilísticos. Por lo tanto, era necesario llevar a cabo un estudio seroepidemiológico que incluyera muestras de poblaciones no sólo urbanas sino también rurales, bien calculadas y seleccionadas, de tal forma que los resultados sean representativos de la prevalencia de la amibiasis en nuestro país.

En este estudio se observó que el porcentaje de anticuerpos anti*amiba* es mayor (7.27%) que el obtenido por Gutiérrez y col.(6) en la Encuesta Nacional realizada en 1974 (3 a 5.9%); aunque es importante mencionar que ambas encuestas son diferentes en relación a la estructura del levantamiento de muestras, población seleccionada y las técnicas serológicas utilizadas.

La seroprevalencia de anticuerpos que presentó la población estudiada es de 7.27%, lo que indica que 7 de cada 100 personas presentan o presentaron invasión tisular causada por *E. histolytica*.

La seroprevalencia de la amibiasis en la región Norte/centro de México muestra que, con excepción del estado de Coahuila (4.33%), los demás estados presentan un porcentaje de seropositividad que fluctúa entre el 6 y el 10%; en consecuencia a nivel regional, el nivel de seroprevalencia de amibiasis es homogéneo, es decir, no existen diferencias significativas entre los porcentajes de seropositividad de cada estado.

Con respecto al sexo, se observa que hay una mayor seroprevalencia en el femenino que en el masculino, lo que podría significar la existencia de algún tipo de relación entre las hormonas sexuales y la producción de anticuerpos anti*amiba* (11).

Cuando se analizaron los resultados de acuerdo a edad, se observó que la seroprevalencia aumenta en las

edades tempranas y tardías. Esto puede deberse a que en los primeros años de vida, los niños están expuestos a un contagio por las precarias condiciones de higiene de las madres, su cercanía con los suelos y medios contaminados y la falta de educación sanitaria; por otra parte, en las últimas décadas de vida, es posible que esté asociado al estado de salud del individuo, y su sistema inmune.

Con respecto a la correlación del perfil de anticuerpos anti-amiba con las variables que se estudiaron en este trabajo, se encontró que la seroprevalencia no es afectada por el tipo de población y por la escolaridad de los donadores, ya que la diferencia entre la población rural y urbana, así como en el grado de escolaridad del individuo, no es significativa. Sin embargo, en cuanto al estrato socioeconómico y al nivel de hacinamiento, la seroprevalencia de la amibiasis claramente identifica como individuos de alto riesgo a todos aquellos relacionados con el subdesarrollo económico y con las viviendas hacinadas.

Lo más importante que se deriva de este estudio, es el saber que el riesgo de contacto con E. histolytica, está en todos los estratos sociales, incluyendo a los más privilegiados, en todas las edades y en ambos sexos, aunque sí es determinante el acceso al agua potable y la educación sanitaria del individuo.

VII) CONCLUSIONES

La región Norte/centro que estudiamos para determinar la prevalencia de amibiasis, muestra un valor del 7.2%, el cual es mayor cuando se compara con estudios realizados con anterioridad. Sin embargo, debemos considerar que éstos analizaron muestras de zonas urbanas o bien de grupos pequeños con un rasgo definido, mientras que las muestras incluidas en la presente encuesta comprenden tanto zonas urbanas como rurales, por lo que es una población más heterogénea y representativa de nuestro país.

Existen diferencias significativas en la población total con respecto al sexo, donde se observa una mayor seroprevalencia en mujeres, y en la edad, ya que la mayor seroprevalencia se presenta en las dos primeras décadas de vida. Con respecto a las demás variables estudiadas, el padecimiento está distribuido tanto en las zonas urbanas como rurales, independientemente del nivel socioeconómico y escolar, aunque la frecuencia se acentúa en la población con recursos económicos escasos, así como en aquella con mala calidad sanitaria y escolaridad nula.

Debido a que los estudios serológicos se utilizan como ayuda para el diagnóstico clínico, epidemiológico y terapéutico, el valor de seroprevalencia obtenido en este estudio, debe tomarse como punto de referencia a partir del cual se puedan establecer nuevos planes de salud, que ayuden a mejorar los hábitos de higiene y las condiciones de vida de la población.

VIII) BIBLIOGRAFIA

- 1) Kretschmer, R. Amebiasis: Infection and Disease by Entamoeba histolytica. CRC Press, Inc., Boca Ratón, 1990 . pp 2-96
- 2) Walsh, J. Problems in recognition and diagnosis of amebiasis: Estimation of the global magnitude of morbidity and mortality. Rev.Infect.Dis. 1986; 8: 228
- 3) Walsh, J. Amebiasis in the world. Arch.Invest. Méd.(Méx) 1986; 17 (Supl):385
- 4) Landa,L., Aubanel,M., Segovia,E., Sepúlveda,B. Seroepidemiología de la amibiasis en adultos. Arch.Invest.Méd.(Méx.), 1972; 3 (Supl 2):377
- 5) Gutiérrez,G., Aubanel,M. Encuesta serológica en niños de la Ciudad de México. VII. Investigación de anticuerpos contra E.histolytica . Arch.Invest.Méd.(Méx.), 1972; 3 (Supl 2):371
- 6) Gutiérrez,G. Epidemiología y control de la amibiasis en México. Arch.Invest.Méd.(Méx.), 1986; 17 (Supl 1):375
- 7) Crevenna, P.B. Epidemiología de la amibiasis. Salud Públ.Méx.1977; 19:411
- 8) Levine,N., Corliss,J., Cox,F.,Deroux,G. A newly revised classification of the protozoa. J. Protozool. 1980; 27:37.

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

9) Tay, J., Lara, R., Velasco, O., Gutiérrez, M. Parasitología Médica. 1a. ed. Ed. Francisco Méndez Cervantes. México, 1990. pp.50-58

10) Ravdin, J. Entamoeba histolytica : From adherence to enteropathy. J. Infect. Dis. 1989; 159:420

11) Kagan, I. The immunology of amebiasis. Arch. Invest. Méd. (Méx.), 1973; 4 (Supl 1):169

12) Informe epidemiológico anual de 1979. Boletín Mensual de Epidemiología SSA. México 1983; 2:9

13) Lezana, M. Velázquez, O., Alvarez, C., Hernández, J. Información epidemiológica para la elaboración del diagnóstico de salud en México 1988. Boletín Mensual de Epidemiología SSA. México. 1990; 5:17

14) Lezana, M., Velázquez, O., Alvarez, C., Fernández, R., Rodríguez, F. Información epidemiológica para la elaboración del diagnóstico de salud en México 1988. La mortalidad. Algunos factores condicionantes y determinantes. Boletín Mensual de Epidemiología SSA. México. 1990; 5:70

15) Boletín Mensual de Epidemiología SSA. México. 1992; 7:49

16) López, J., Jensen, F., Mendoza, F., Ortiz-Ortiz, L. Anticuerpos monoclonales contra E. histolytica. Arch. Invest. Méd. (Méx.), 1982; 13 (Supl 3):291

17) Trissl, D. Immunology of E. histolytica human and animal host. Rev. Infect. Dis. 1982; 4:1154

- 18) Said-Fernández, S. Factores de virulencia de E. histolytica. Arch.Invest.Méd.(Méx.), 1990; 21:253
- 19) Salata,R., Ravdin,J. Review of the human immune mechanisms directed against E.histolytica. Rev.Infect.Dis. 1986; 8 :261
- 20) Perches,A., Kretschmer,R., Lee,E., Sepúlveda,B. Determinación de inmunoglobulinas del suero en pacientes con amibiasis invasora. Arch.Invest.Méd.(Méx.), 1970; 1 (Supl):97
- 21) Reed,S., Curd,J., Braude, A. Activation of complement by pathogenic and nonpathogenic E.histolytica J.Immunol. 1986; 136:2265
- 22) Calderón,J., Muñoz,M., Acosta,M. Surface redistribution and release of antibody-induced caps in E.histolytica. J.Exp.Med. 1980; 151:184.
- 23) Sepúlveda,B., Lee,E., De la Torre, M., Landa, L. El diagnóstico serológico de la amibiasis invasora con la técnica de inmunolectroforesis cruzada. Arch.Invest.Méd.(Méx.), 1971; 2 (Supl 1):263
- 24) Yang,J., Kennedy,M. Evaluation of enzyme-linked immunosorbent assay for the serodiagnosis of amebiasis. J.Clin.Microbiol. 1979; 10:778

25) Lemieux,S., Avrameas,S., Bussard,A. Local hemolysis plaque assay using a new method of coupling antigens on sheep erythrocytes by glutaraldehyde. Immunology. 1974; 11:261

26) Kessel,J., Lewis,W., Kim,H. Preliminary report on a hemagglutination test for Entamoeba. Proc.Soc.Exp.Biol.Med. 1961; 106:409

27) Sepúlveda,B. Reacciones de hemaglutinación y precipitación con antígeno amibiano axénico en amibiasis invasora. Arch. Invest.Méd.(Méx.), 1970; 1 (Supl):111

28) Crevenna,P. Pruebas inmunológicas de amibiasis en un grupo de población de la Ciudad de México. Rev. Gastroenterol. Méx. 1971; 36:100.

29) Sepúlveda,B. Immunology of amebiasis. Proceeding of the International Conference on Amebiasis. IMSS. Mexico City,1976. pp 686.

30) Ortiz-Ortiz,L., Capin,N., Capin,R., Zamacona,G. Un nuevo método de hemaglutinación para determinar anticuerpos contra Entamoeba histolytica. Arch. Invest. Méd.(Méx.),1978; 9 (Supl 1):351

31) Healy, G. Serology. En : Amebiasis: Human infection by Entamoeba histolytica. J. Ravdin, Ed. Wiley & Sons. USA, 1988. pp 650-704

32) Gutiérrez, G., Sepúlveda-Amor, J., Tapia-Conyer, R., Pérez-Heredia, R., Solache-Alcaraz, G., Valdespino, J. Encuesta Nacional Seroepidemiológica. I. Diseño conceptual y metodología. Salud.Públ. Méx. 1988; 30:836

33) Tapia-Conyer, R., Sepúlveda-Amor, J., Solache-Alcaraz, G., Gutiérrez, G. Encuesta Nacional Seroepidemiológica. II. Diseño Operativo. Salud.Públ.Méx. 1988; 30:843

34) Diamond, L. Axenic cultivation of E.histolytica: problems and progress. Arch.Invest.Méd. (Méx.), 1980; 11 (Supl 1) :47

35) Lowry, O., Rosebrough, N., Farr, A., Randall, R. Protein measurement with the folin phenol reagent. J. Biol. Chem. 1951; 193:265

36) Larralde, C., Lacleste, J., Owen, C., Madrazo, I., Bojalil, R., Sciutto, E., Govezensky, T., Goodsaid, F. Reliable serology of Taenia solium cysticercosis with antigens from cyst vesicular fluid: ELISA and Hemagglutination tests. Am.J.Trop.Med.Hyg. 1986; 35:965

37) Agresti, A. Analysis of ordinal categorical data. Ed. Wiley & Sons. USA, 1984. pp 15-23

ANEXO

SOLUCIONES Y MEDIOS

1) Solución de Alsever:

Dextrosa	20.5 g
Acido citrico•H ₂ O	8.0 g
Cloruro de sodio	0.55 g

Ajustar a pH 6.1

Agua bidestilada cbp 1000 ml

Esterilizar en autoclave a 121 C y 15 Lb de presión durante 15 min.

2) Solución amortiguadora de fosfatos (SAF) 10X:

Fosfato dibásico de sodio	1.022 g
Fosfato monobásico de sodio•H ₂ O	0.386 g
Cloruro de sodio	7.4 g
Azida de sodio	0.2 g

Ajustar a pH 7.2

Agua bidestilada cbp 1000 ml

3) Solución de glutaraldehído neutralizada:

Preparar al momento de usarse. Ajustar el glutaraldehído a pH 7.0 con una solución de carbonato al 10%.

4) Solución de carbonato de sodio al 10%:

Carbonato de sodio	10.0 g
Agua bidestilada	cbp 100 ml

5) Solución salina isotónica 0.15 M:

Cloruro de sodio	0.876 g
Agua bidestilada	cbp 100 ml

6) Solución de fosfato monobásico de sodio 0.015 M:

Fosfato monobásico de sodio•H ₂ O	0.2069 g
Agua bidestilada	cbp 100 ml

7) Solución de fosfato dibásico de sodio 0.015 M:

Pesar 0.2129 g de fosfato dibásico de sodio, ajustar a pH 8.0 con solución de fosfato monobásico de sodio 0.015 M y aforar a 100 ml con agua bidestilada.

8) Solución amortiguadora de acetatos 0.1 M:

Acetato de sodio $\cdot 3 \text{H}_2\text{O}$ 1.3608 g
Ajustar a pH 5.0
Agua bidestilada cbp 100 ml

9) Solución de glicina 0.1 M en SAF 1X:

Glicina 0.7507 g
Ajustar a pH 7.2
SAF 1X (pH 7.2) cbp 100 ml

10) Solución de SAF-ASB al 1%:

Albumina sérica bovina (ASB) 1.0 g
Ajustar a pH 7.2
SAF 1X (pH 7.2) cbp 100 ml

Determinación de la concentración de proteínas por el método de Lowry:

11) Solución estándar de albúmina (100 ug/ml):

Para preparar una solución concentrada de ASB 10X, pesar 0.1 g de ASB y disolver en 10 ml de agua bidestilada. Tomar 0.1 ml de la solución concentrada 10X y aforar a 10 ml con agua bidestilada.

12) Solución de hidróxido de sodio 0.1 N:

Hidróxido de sodio 0.4 g
Agua bidestilada cbp 100 ml

13) Solución de carbonato de sodio al 2% en hidróxido de sodio 0.1 N:

Carbonato de sodio 2.0 g
Solución de hidróxido de sodio 0.1 N . . . cbp 100 ml

14) Solución de tartrato de sodio y potasio al 2%:

Tartrato de sodio y potasio $\cdot 4 \text{H}_2\text{O}$ 2.0 g
Agua bidestilada cbp 100 ml

15) Solución de sulfato de cobre al 1%:

Sulfato de cobre•5 H₂O 1.0 g
Agua bidestilada cbp 100 ml

16) Reactivo de Folin-Ciocalteu (1:1) :

Preparar al momento de usarse. El reactivo de Folin-Ciocalteu (Merck, México) se diluye 1:1 con agua bidestilada y se agita.