

3 302827



UNIVERSIDAD MOTOLINIA A.C.

Escuela incorporada a la
Universidad Nacional Autónoma de México

"DIFERENCIAS ANTIGENICAS DE TRES CEPAS DE E.histolytica
Y DOS CEPAS DE E.chattoni EN EL HAMSTER"

T E S I S

Que para obtener el título de:
Químico Farmacéutico Biólogo

presenta

María de Jesús Bernal Rojas

TESIS CON
FALSA FE ORIGEN

México, D. F.

1986



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.

I N D I C E

CAPITULO I

1.- INTRODUCCION.

CAPITULO II

2.- GENERALIDADES.

CAPITULO III

3.- ABREVIATURAS.

CAPITULO IV

4.- MATERIAL.

4.1.- APARATOS Y MATERIAL DE CRISTALERIA..

4.2.- INSTRUMENTAL QUIRURGICO.

4.3.- MATERIAL BIOLOGICO.

4.3.1.- Animales de experimentación.

4.3.2.- Cepas de E. histolytica y E. chattoni utilizadas.

CAPITULO V

5.- METODO.

5.1.- CULTIVO AXENICO DE E. histolytica.

5.1.1.- Caldo nutritivo TY.

5.1.2.- Solución de vitaminas y tween 80.

5.1.3.- Preparación del medio de cultivo TYI-S-33

5.1.4.- Pruebas de esterilidad.

- 5.1.5.- Inoculación de los trofozoitos al medio de cultivo TYI-S-33.
 - 5.1.6.- Recolección, lavado y determinación de la viabilidad de los trofozoitos mediante la técnica de exclusión con azul tripano
- 5.2.- INVESTIGACION DE LA SEMEJANZA ANTIGENICA Y ACTIVIDAD PROTECTORA DE TRES CEPAS DE E. histolytica Y DOS CEPAS DE E. chattoni:
- 5.2.1.- Inmunización de los animales.
 - 5.2.1.1.- Inoculación intradérmica.
 - 5.2.1.2.- Inoculación intraperitoneal.
 - 5.2.2.- Desafío de los animales con las diferentes cepas en estudio.
 - 5.2.2.1.- Inoculación intrahepática
 - 5.2.3.- Sacrificio de los animales.
 - 5.2.3.1.- Laparotomía.
 - 5.2.3.2.- Punción cardiaca.
 - 5.2.3.3.- Extracción del hígado.
- 5.3.- ESTUDIO HISTOPATOLOGICO DEL HIGADO DE LOS HAMSTER INMUNIZADOS Y POSTERIORMENTE DESAFIADOS.
- 5.3.1.- Conservación del tejido hepático.

5.3.1.1.- Solución de formol neutro al 10%.

5.3.2.- Preparación del tejido

5.3.3.- Procesado del tejido.

5.3.3.1.- Deshidratación, aclaramiento e -
inclusion.

5.3.3.2.- Corte.

5.3.4.- Tinción con hematoxilina eosina.

5.3.5.- Tinción con PAS.

5.3.6.- Observación al microscopio de luz.

5.4.- ESTUDIO EN MICROSCOPIA ELECTRONICA DE LAS MUESTRAS
DEL HIGADO EN LAS QUE SE OBSERVO LA PRESENCIA DE --
ABSCESO.

5.4.1.- Solución fijadora.

5.4.1.1.- Solución de glutaraldehído al 2%.

5.4.1.2.- Solución amortiguadora de fosfa--
tos salinos 0.1 M.

5.4.1.2.1.- Solución de fosfato -
de sodio monobásico -
0.1 M.

5.4.1.2.2.- Solución de fosfato -
de sodio dibásico 0.1M

5.4.1.3.- Solución de cloruro de calcio al

1%.

5.4.2.- Solución lavadora.

5.4.2.1.- Solución amortiguadora de fosfa-
tos salinos al 0.1 M.

5.4.2.1.1.- Solución de fosfato-
de sodio monobásico-
al 0.1 M.

5.4.2.1.2.- Solución de fosfato-
de sodio dibásico al
0.1 M.

5.4.2.2.- Solución de cloruro de calcio al
1%.

5.4.3.- Post fijación del tejido.

5.4.4.- Deshidratación e inclusión.

5.4.5.- Polimerización del tejido.

5.4.6.- Corte del tejido.

5.4.7.- Montaje del tejido.

5.4.8.- Observación al microscopio electrónico.

5.5.- INVESTIGACION DE LA PRODUCCION DE ANTICUERPOS EN -
LOS HAMSTERS INMUNIZADOS Y DESAFIADOS CON LAS CEPAS
EN ESTUDIO POR MEDIO DE HEMAGLUTINACION PASIVA.

5.5.1.- Solución de alsevers.

5.5.2.- Suspensión de globulos rojos de carnero.

5.5.3.- Preparación del antígeno.

5.5.4.- Solución amortiguadora de fosfatos salinos-
de pH 7.2 .

5.5.4.1.- Solución de fosfato de potasio --
monobásico al 0.15 M.

5.5.4.2.- Solución de fosfato de potasio --
dibásico al 0.15 M.

5.5.5.- Solución amortiguadora de fosfatos salinos-
de pH 6.4.

5.5.5.1.- Solución de fosfato de potasio -
monobásico al 0.15 M.

5.5.5.2.- Solución de fosfato de potasio -
dibásico al 0.15 M.

5.5.6.- Solución de ácido tánico.

5.5.7.- Suero normal de conejo inactivado a 56°C.

5.5.8.- Adsorción de los globulos rojos de carnero.

CAPITULO VI

6.- RESULTADOS.

CAPITULO VII

7.- COMENTARIOS.

CAPITULO VIII

8.- RESUMEN.

CAPITULO IX

9.-BIBLIOGRAFIA.

CAPITULO I

I N T R O D U C C I O N

Las diferencias en el curso de la infección por E. histolytica se ha relacionado con diversos factores, entre ellos la región-geográfica(15), el diferente tipo de alimentación del huésped - (18), así como la relación huésped parásito en donde el estado-nutricional juega un papel muy importante(6). Sin llegar hasta-ahora a una explicación plausible a este problema.

Por otro lado, la existencia de cepas virulentas y no virulentas donde la capacidad invasora de este parásito se demuestra por la determinación de anticuerpos serológicos, es significativa de la inmunogenicidad de E. histolytica, la cual fué estudiada por - - Krupp (12), en ella se determinaron la presencia de por lo menos más de diez tipos de antígenos. Así mismo Masood (14), al fraccio- nar las proteínas obtenidas de E. histolytica, mediante Sephadex G-200, demostró la capacidad antigénica de este protozooario.

Conjuntamente el estudio de separación antigénica en diferentes-cepas de E. histolytica, realizado por Ishaq y Kasprzak (8,10), -mostró que fué posible diferenciar antígenos específicos y comu- nes entre tres cepas de E. histolytica. Esta posibilidad de simi- litud antigénica fue posteriormente analizada por Ahued (1), en- cepas de portadores asintomáticos y en cepas virulentas.

En relación a la antigenicidad de las amibas que parasitan a - - otras especies, los estudios se refieren a E. invadens (2), ésta parasita reptiles y en relación a amibas que se obtuvieron de las materias fecales de primates, estas fueron inicialmente investi- gadas por Levin y Burrows (13,3), quienes demostraron que E. cha-

ttoni, puede parasitar el intestino grueso del primate aparentemente sin producir sintomatología. Sin embargo a este protozoo, se le ha podido aislar del intestino del hombre, lo que nos indicó su capacidad de adaptación y la hizo importante para su estudio.

E. chattoni, es capaz de producir experimentalmente absceso hepático amibiano en el hígado del hámster, al igual que E. histolytica, haciendo a estas dos amibas semejantes desde el punto de vista experimental. Siendo ésta una diferencia importante con las cepas de amibas aisladas de portadores asintomáticos que no son capaces de desarrollar absceso hepático amibiano experimental (25).

Los estudios de Tanimoto(26), demostraron la capacidad protectora de E. histolytica, en el hámster, mediante la inmunización de diferentes fracciones obtenidas de ella, posteriormente el desafío intrahepático con amibas vivas.

El objetivo de este trabajo fue investigar, si se podía inducir inmunidad protectora indistintamente en el hámster, mediante la inoculación de tres cepas diferentes de E. histolytica y dos de E. chattoni, lo cual nos hablaría de una semejanza entre los diferentes tipos de antígenos presentes en las cinco cepas estudiadas. Manifestándose por la presencia o ausencia de absceso hepático amibiano y por alteraciones histopatológicas del hígado.

CAPITULO II

GENERALIDADES

La amibiasis es una enfermedad cosmopolita (22), aunque su mayor frecuencia se presenta en climas tropicales y subtropicales en forma endémica (10). Este protozooario puede no dar manifestaciones clínicas cuando se localiza solamente en la mucosa intestinal --nal, esta entidad se ha descrito como amibiasis intestinal crónica asintomática, y a los pacientes se les ha llamado "portadores asintomáticos".

Por otro lado, puede producir lesiones en el intestino, así como tener capacidad invasora a otros órganos, manifestándose clínicamente en la formación de "abscesos". (6).

La invasividad generalmente se encuentra acompañada por la aparición de anticuerpos específicos (16), los cuales comunmente son utilizados para determinar la presencia de este parásito en el organismo por diferentes técnicas, entre ellas; la contrainmuno-electroforesis (23), la conglutinación (4), la radioinmuno-precipitación (17), ELISA (7), la precipitación en gel de acetato de celulosa (24), y la hemaglutinación pasiva (11).

Sin embargo el título de anticuerpos no es indicativo de presencia o ausencia de amibas, ya que como se ha mencionado no todas poseen la capacidad invasora a pesar de que existen anticuerpos-específicos y comunes en las amibas invasoras y las que no lo son (1,5,8,).

Asimismo, si consideramos la importancia de la relación huésped parásito (10), ésto da la posibilidad de que amibas no patógenas en un momento dado puedan revertirse iniciándose tardíamente la-

formación de anticuerpos indicativos de un padecimiento que va a ser tratado en forma retrasada.

Por otro lado, los estudios de Sargeant, Jiménez y Kumate (20,9) han demostrado la actividad enzimática de E.histolytica, determinada por su patrón electroforético con tres enzimas (PGM, PGI, - y EM), que dieron como resultado que el patrón electroforético o zimodemo II, correspondió a amibas invasoras y los zimodemos I, III y IV, se relacionaban a amibas no invasoras, basándose con la correlación clínica del paciente.

Es por ello que al estudio de especificidad antigénica en diferentes cepas de E. histolytica, tiene importancia porque nos ayuda a conocer si las amibas poseen antígenos comunes que en un momento dado puedan estar en relación con su virulencia, lo que nos indicaría su capacidad invasora latente.

Estas investigaciones pueden ser complementadas con el estudio de amibas que parasitan a otras especies, tal es el caso de E.Chattani, la cual se hizo interesante para su estudio por habersele aislado de las heces de un humano, demostrándose capacidad de adaptación, aunque por el momento no se ha descrito su cuadro clínico, teniendo como antecedente que puede ser confundida con E. histolytica, ya que morfológica y enzimáticamente son semejantes (20).

C A P I T U L O I I I

A B R E V I A T U R A S

- PM 4 - Cepa de E. chattoni de primate mexicano 4.
- PM 5 - Cepa de E. chattoni de primate mexicano 5.
- HM 531 - Cepa de E. histolytica de humano mexicano 531.
- AHA 1 - Cepa de E. histolytica de absceso hepático amibiano uno de humano.
- AHA 1 ady - Cepa de E. histolytica de absceso hepático amibiano uno con adyuvante completo de Freund.
- HM 1 - Cepa de E. histolytica de humano mexicano uno.
- G - gravedad.
- g - gramos.
- Kg - kilogramos.
- mg - miligramos.
- N - concentración normal.
- M - concentración molar.
- mM - concentración milimolar.
- ml - mililitro.
- lb - libras.
- nm - nanómetros.
- H+E - hematoxilina- eosina.
- PAS - PA-Schiff.
- PGM - enzima fosfoglucomutasa.

PGI - enzima fosfoglucoisomerasa.

EM - enzima málica

SAMI - sin alteraciones macroscópicas de importancia.

SAHI - sin alteraciones histopatológicas de importancia.

D.O. - densidad optica.

D.E. - desviación estandar.

E.E. - error estandar.

N.S. - no significativo.

P - probabilidad.

\bar{x} - media promedio.

t - prueba de t student.

r - indice de correlación.

*L - grados de libertad.

AHA - absceso hepático amibiano.

Ab - anticuerpos.

cm.- centrimetros

mm - milimetros.

C A P I T U L O I V

4.- MATERIAL.

4.1.- APARATOS Y MATERIAL DE CRISTALERIA

Autoclave Presto.

Agitador magnetico.

Balanza analítica Bosch.

Baño de hielo.

Bomba de vacio.

Centrifuga clínica internacional mod CLM-4-148.

Flujo laminar Veco.

Gradilla para tubos.

Homogenizador Potter-Elvehjem.

Incubadora medi-lab mod EH-201.

Mechero.

Microscopio de luz Zeiss.

Membrana de 0.22 mm Milipore.

Papel filtro Whatman No. 1 cualitativo.

Potenciometro Corning Medical mod 5 pH meter.

Refrigerador Whirlpool.

Micropipetas de 10, 20, 50, y 100 lamdas.

Microscopio electrónico Zeiss EM9S-2.

Ultramicrotomo Porter Blum MT-2.

Ultramicrotomo American Optical mod 820.

Procesador de tejidos American Optical # 8000

Baño de flotación Voekel.

Espectrofotómetro Beckman.

Estufa mod HDT-27.

Agujas Yale de calibre 18 x 30 mm desechables.

Asa bacteriológica.

MATERIAL DE CRISTALERIA.

Cámara de Neubauer (cuenta glóbulos).

Cajas petri de vidrio de 60 x 15 mm.

Embudo de vidrio de tallo largo.

Embudo de porcelana de 10 cm de diámetro.

Matraz kitasato de 500 ml.

Frascos ambar de 200 ml .

Matraces Erlenmeyer pyrex de 125 y 250 ml.

Matraces aforados pyrex de 100, 500, y 1000 ml.

Pipetas para glóbulos blancos.

Pipetas pasteur de 20 cm de largo.

Pipetas serológicas de 0.1, 0.5, 1.0, 5.0, y 10 ml.

Probetas de vidrio pyrex de 100, 500, y 1000 ml.

Termómetro hasta 100°C.

Tubos para centrifugar con tapón de rosca de 50 ml.

Tubos de ensaye pyrex de 15x125 mm con tapón de --
rosca.

Tubos de ensaye de 13x100 mm.

Vasos de precipitado pyrex de 100, 250, y 500 ml.

Jeringas esteriles de 1 ml.

Placas para hemaglutinación limbro de 96 orificios,

4.2.- INSTRUMENTAL QUIRURGICO.

Se utilizo como intrumental :

Tijeras mayo.

Pinzas de disección con dientes.

Pinzas de disección sin dientes.

Bisturí.

4.3.- MATERIAL BIOLOGICO.

4.3.1.- Animales de experimentación.

Se utilizaron 240 hámsters machos dorados - de Siria, de aproximadamente 2 meses de edad y un peso promedio de 70 g.

4.3.2.- Cepas de E. histolytica y E. chattoni utilizadas.

Se emplearon las cepas :

E. chattoni cepa PM 4.

E. chattoni cepa PM 5.

E. histolytica cepa HM 531.

E. histolytica cepa AHA 1.

E. histolytica cepa AHA 1 ady.

E. histolytica cepa HM 1.

CAPITULO V

5.- METODO.

5.1.- CULTIVO AXENICO DE E. histolytica.

Para cultivar axénicamente a E. histolytica se utilizó el medio de cultivo TYI-S-33, el cual está -- constituido por las siguientes soluciones :

5.1.1.- Caldo nutritivo TY.

Tripticasa.....	2.0 g
Extracto de levadura.....	1.0 g
Glucosa.....	1.0 g
Cloruro de sodio.....	0.200 g
Fosfato de potasio monobásico.	0.050 g
Fosfato de potasio dibásico....	0.100 g
Acido L- ascorbico.....	0.020 g
Clorhidrato de L-cisteina.	
monohidratada.....	0.100 g
Citrato de amonio férrico	0.228 g
Llevar con agua bidestilada a,	82.0 ml

PROCEDIMIENTO.-

Se disolvieron los reactivos en el orden -- presentado con aproximadamente 50 ml de -- agua bidestilada, se ajustó a un pH de 6.8 -- 6.9 con hidróxido de sodio al 0.1 M y -- después se llevó a un volumen de 82 ml con -- agua bidestilada, El medio TY fué clarifi-

cado mediante filtración a través de papel-filtro Whatman #1 y se esterilizó en autoclave a 121°C. Debido a la gran cantidad de trofozoítos que se requerían se prepararon 820 ml de medio, que corresponden a 10 partes del medio TYI-S-33 y enseguida se depositaron en matraces Erlenmeyer de 125-ml, 75 ml de medio para cada matraz. Este paso se hizo en condiciones estériles con la ayuda del flujo laminar VECO y un mechero.

El caldo se dejó en una incubadora a 37°C durante 24 horas sin observación de desarrollo de germen.

5.1.2.- Solución de Vitaminas y Tween 80.

a) Solución de vitaminas Diamond TPS-1-40X+

b) Solución de vitamina B₁₂.

Se pesaron 40 mg de vitamina B₁₂ y se disolvieron en 100 ml de agua destilada, esta solución se almacenó en un frasco ámbar a 4°C.

c) Ácido tióctico 1 mg/ml.

Se pesaron 100 mg de ácido tióctico y se disolvieron en 100 ml de alcohol absoluto.

d) Solución de Tween 80.

Se pesaron 50 mg de Tween 80 y se disolvieron en 10 ml de alcohol absoluto.

PROCEDIMIENTO.-

A 100 ml de la solución (a), se le adicionaron 12 ml de la solución (b), 40 ml de la solución (c), 4 ml de la solución (d), y 180 ml de agua destilada. Esta solución se esterilizó mediante filtro Milipore, con una membrana de 0.22 μ m y se guardó en alícuotas en frascos ámbar a 4 °C.

5.1.3.- Preparación del medio de cultivo TYI-S-33.

A cada 75 ml de caldo TY, se le adicionaron 4 ml de la mezcla vitamínica y 20 ml de suero bovino inactivado.

El suero bovino una vez ya descongelado se inactiva en baño maría a 56°C por 30 minutos, se deja enfriar y se guarda en congelación.

5.1.4.- Pruebas de esterilidad.

Estas pruebas se llevaron a cabo para determinar la existencia de una posible contaminación con bacterias y éstas son:

La primera es incubar el medio TYI-S-33 durante 24 horas a 37 °C, habiendo transcurrido el tiempo, se procedió a incubar el medio TYI-S-33 a medio enriquecidos para - anaerobios y aerobios, con la ayuda de una asa bacteriológica. Estos medio se incubaron durante 24 y 48 horas a 37 °C.

La segunda prueba fue inocular el medio TYI-S-33 a un tubo con medio de Sabouraud y - se incubó por 72 horas a 37 °C.

En ambas pruebas no se observó el crecimiento de microorganismos.

5.1.5.- Inoculación de los trofozoitos al medio de cultivo TYI-S-33.

La cepa de E. histolytica que se cultivó en el laboratorio fué la HM 1 (proporcionada - por Ramírez, Centro Médico Nacional. IMSS).

Se usaron tubos de ensayo de 15x125 mm con tapón de rosca, por lo general cada tubo - contenía aproximadamente 1×10^6 trofozoitos por 10 ml. El tubo se utilizó para inocular cada matraz, se colocó el tubo en un baño - de hielo por 5 minutos para desprender las

celulas de la pared del tubo que contenia -
10 ml medio de cultivo con 3×10^5 trofozoí -
tos/3 ml, esta cantidad fue usada para ino -
cular los matraces de 125 ml que contenia -
75 ml de caldo TYI-S-33, Después de incuba -
ron a 37 °C por 72 horas.

5.1.6.- Recolección, lavado y determinación de la -
viabilidad de los trofozoítos mediante la -
técnica de exclusión con azul tripano.

Después de haber obtenido un buen desarro -
llo de celulas a la 72 horas, los matraces -
fueron colocados a un baño de hielo por 5 -
minutos para ayudar al desprendimiento de -
las celulas y se pasaron a tubos para cen -
trifugar de 50 ml con tapon de rosca, se --
centrifugaron a 500 G por 10 minutos y se -
lavaron con solución de fosfatos salinos -
a un pH 7.0 . Este procedimiento se repitio
7 veces con un volumen total de 80 ml.

Al terminar con el lavado de las celulas se
comprobo la viabilidad de los trofozoítos -
con azul tripano al 0.2 % y se observo un -
97% de viabilidad.

5.1.7.- Cálculo del número de trofozoítos.

Los trofozoítos se ajustaron a una concentración de 2×10^8 células/ml. El número total de células se contó mediante una cámara de Neubauer y una pipeta para glóbulos blancos, con los siguientes cálculos.

$$\frac{a \cdot b \cdot c}{d} = e$$

- a.- suma de los 4 cuadros grandes de la -- cámara de Neubauer.
- b.- dilución de la pipeta (1:20).
- c.- factor para determinar el valor por - mm^3 (10).
- d.- número de cuadros (4).
- e.- factor para determinar el valor por ml (1000).

5.2.- INVESTIGACION DE LA SEMEJANZA ANTIGENICA Y ACTIVIDAD PROTECTORA DE TRES CEPAS DE E. histolytica Y DOS CEPAS DE E. chattoni.

5.2.1.- Inmunización de los animales.

Se utilizaron 240 hámster machos dorados - de Siria, los cuales fueron pesados y agru

pados en 6 lotes siguiendo la técnica de -
números aleatorios.

5.2.1.1.- Inoculación intradérmica.

Un lote de 40 hámsters con un pe
so promedio de 70 g. fueron inmu
nizados con un homogenado de - -
 2×10^6 amibas de E. histolytica -
cepa AHA 1, fueron mezcladas con
adyuvante completo de Freund, y
se inoculó 0.1 ml. por vía intra
dérmica 3 veces a la semana du -
rante 4 semanas .

5.2.1.2.- Inoculación intraperitoneal.

Aproximadamente 2×10^6 amibas de
E. chattoni PM 4, E. chattoni --
PM 5, E. histolytica HM 531, - -
E. histolytica AHA 1, E. histoly
tica HM 1, cada una por separado
congeladas y homogeneizadas fue-
ron inoculadas por vía intraperi
toneal a cada lote de 40 anima--
les, 3 veces a la semana durante
4 semanas.

Los esquemas de inmunización con las diferentes cepas en estudio se presentan en las tablas de la 1 a la 7.

TABLA 1 .- ESQUEMA DE INMUNIZACION CON E. chattoni CEPA PM 4 .

No. DE HAMSTERS	PESO EN g.	INOCULO CON UN HOMOGENEADO DE 2×10^6 AMIBAS.	TIEMPO DE INMUNIZACION EN SEMANAS.
1	60	0.1 ml	4
2	63	0.1 ml	4
3	53	0.1 ml	4
4	66	0.1 ml	4
5	68	0.1 ml	4
6	67	0.1 ml	4
7	66	0.1 ml	4
8	67	0.1 ml	4
9	84	0.1 ml	4
10	92	0.1 ml	4
11	80	0.1 ml	4
12	94	0.1 ml	4
13	86	0.1 ml	4
14	94	0.1 ml	4
15	77	0.1 ml	4
16	97	0.1 ml	4
17	69	0.1 ml	4

TABLA 2 .- ESQUEMA DE INMUNIZACION CON E.chattoni CEPA PM 5

No. DE HAMSTER	PESO EN g.	INOCULO CON UN HOMOGENADO DE 2×10^6 AMIBAS.	TIEMPO DE INMUNIZACION EN SEMANAS.
1	99	0.1 ml	4
2	95	0.1 ml	4
3	76	0.1 ml	4
4	86	0.1 ml	4
5	82	0.1 ml	4
6	80	0.1 ml	4
7	87	0.1 ml	4
8	81	0.1 ml	4
9	65	0.1 ml	4
10	86	0.1 ml	4
11	70	0.1 ml	4
12	81	0.1 ml	4
13	88	0.1 ml	4
14	84	0.1 ml	4
15	94	0.1 ml	4
16	86	0.1 ml	4
17	87	0.1 ml	4
18	83	0.1 ml	4

TABLA 3 .- ESQUEMA DE INMUNIZACION CON E. histolytica CEPA HM 531

No. DE HAMSTER	PESO EN g.	INOCULO CON UN HOMOGENADO DE 2×10^8 AMIBAS	TIEMPO DE INMUNIZACION EN SEMANAS.
1	50	0.1 ml	4
2	46	0.1 ml	4
3	41	0.1 ml	4
4	34	0.1 ml	4
5	39	0.1 ml	4
6	49	0.1 ml	4
7	43	0.1 ml	4
8	39	0.1 ml	4
9	40	0.1 ml	4
10	45	0.1 ml	4
11	56	0.1 ml	4
12	46	0.1 ml	4
13	42	0.1 ml	4
14	53	0.1 ml	4
15	34	0.1 ml	4
16	36	0.1 ml	4
17	41	0.1 ml	4
18	50	0.1 ml	4
19	59	0.1 ml	4
20	46	0.1 ml	4

TABLA 4.- ESQUEMA DE INMUNIZACION CON E. histolytica CEPA AHA 1.

No. DE HAMSTER	PESO EN g.	INOCULO CON UN HOMOGENADO DE 2×10^6 AMIBAS	TIEMPO DE INMUNIZACION EN SEMANAS.
1	52	0.1 ml	4
2	43	0.1 ml	4
3	43	0.1 ml	4
4	39	0.1 ml	4
5	36	0.1 ml	4
6	49	0.1 ml	4
7	43	0.1 ml	4
8	49	0.1 ml	4
9	37	0.1 ml	4
10	40	0.1 ml	4
11	37	0.1 ml	4
12	54	0.1 ml	4
13	38	0.1 ml	4
14	45	0.1 ml	4
15	53	0.1 ml	4
16	35	0.1 ml	4
17	43	0.1 ml	4
18	42	0.1 ml	4
19	39	0.1 ml	4
20	41	0.1 ml	4
21	43	0.1 ml	4
22	41	0.1 ml	4
23	35	0.1 ml	4
24	43	0.1 ml	4
25	47	0.1 ml	4

TABLA 5 .- ESQUEMA DE INMUNIZACION CON E. histolytica CEPA AH1
ady.

No . DE HAMSTER	PESO EN g.	INOCULO CON UN HOMOGENADO CON 2X10 ⁶ AMIBAS	TIEMPO DE INMUNIZACION EN SEMANAS
1	78	0.1 ml	4
2	73	0.1 ml	4
3	89	0.1 ml	4
4	69	0.1 ml	4
5	83	0.1 ml	4
6	64	0.1 ml	4
7	48	0.1 ml	4
8	43	0.1 ml	4
9	50	0.1 ml	4
10	48	0.1 ml	4
11	94	0.1 ml	4
12	82	0.1 ml	4
13	88	0.1 ml	4
14	83	0.1 ml	4
15	75	0.1 ml	4
16	86	0.1 ml	4
17	75	0.1 ml	4
18	79	0.1 ml	4

TABLA 6.- ESQUEMA DE INMUNIZACION CON E.histolytica CEPA HM 1.

No. DE HAMSTER.	PESO EN g.	INOCULO CON UN HOMOGENADO DE 2×10^6 AMIBAS	TIEMPO DE INMUNIZACION EN SEMANAS
1	74	0.1 ml	4
2	80	0.1 ml	4
3	77	0.1 ml	4
4	94	0.1 ml	4
5	71	0.1 ml	4
6	73	0.1 ml	4
7	77	0.1 ml	4
8	74	0.1 ml	4
9	85	0.1 ml	4
10	80	0.1 ml	4
11	76	0.1 ml	4
12	71	0.1 ml	4
13	54	0.1 ml	4
14	84	0.1 ml	4
15	64	0.1 ml	4
16	85	0.1 ml	4
17	67	0.1 ml	4
18	84	0.1 ml	4
19	80	0.1 ml	4
20	98	0.1 ml	4
21	83	0.1 ml	4
22	95	0.1 ml	4
23	69	0.1 ml	4
24	84	0.1 ml	4
25	66	0.1 ml	4

TABLA 7. _ ESQUEMA DE INMUNIZACION CON E. histolytica CEPA HM 1

No. DE HAMSTER	PESO EN g.	INOCULO CON UN HOMOGENADO DE 2×10^6 AMIBAS	TIEMPO DE INMUNIZACION EN SEMANAS
26	80	0.1 ml	4
27	72	0.1 ml	4
28	79	0.1 ml	4
29	74	0.1 ml	4
30	81	0.1 ml	4
31	75	0.1 ml	4
32	74	0.1 ml	4
33	73	0.1 ml	4
34	76	0.1 ml	4
35	93	0.1 ml	4
36	94	0.1 ml	4
37	70	0.1 ml	4
38	69	0.1 ml	4
39	90	0.1 ml	4
40	82	0.1 ml	4
41	97	0.1 ml	4
42	79	0.1 ml	4
43	77	0.1 ml	4
44	83	0.1 ml	4
45	66	0.1 ml	4

5.2.2.- Desafío de los animales con las diferentes-
cepas en estudio.

Los cultivos de las cinco cepas utilizadas-
fueron centrifugadas a 1500 revoluciones --
por 10 minutos, se decantó el sobrenadante-
y los paquetes se resuspendieron con solu -
ción de fosfatos salinos.

5.2.2.1.- Inoculación intrahepática.

A todos los animales inmunizados-
se les desafió con 0.5 ml que con-
tenían 5×10^5 trofozoitos vivos de
cada una de las cepas por vía --
intrahepática y se les dejó 1 se-
mana de incubación.

El esquema de desafío con las diferentes ce-
pas en estudio se presenta en la tabla B.

TABLA 8 .- ESQUEMA DE DESAFIO DE LOS 6 LOTES DE ANIMALES INMUNIZADOS CON LAS CINCO CEPAS EN ESTUDIO.

LOTE I *		LOTE II *		LOTE III *		LOTE IV *		LOTE V *		LOTE VI *	
INMUNIZADO CON <u>E. chattoni</u> PM 4		INMUNIZADO CON <u>E. chattoni</u> PM 5		INMUNIZADO CON <u>E. histolytica</u> HM 531		INMUNIZADO CON <u>E. histolytica</u> AHA 1		INMUNIZADO CON <u>E. histolytica</u> AHA 1 ady.		INMUNIZADO CON <u>E. histolytica</u> HM 1	
No. de A **	Cepa D ***	No. de A **	Cepa L ***	No. de A **	Cepa D ***	No. de A **	Cepa D ***	No. de A **	Cepa D ***	No. de A **	Cepa D ***
4	PM 4	5	PM 4	5	PM 4	5	PM 4	2	PM 4	8	PM 4
4	PM 5	4	PM 5	5	PM 5	5	PM 5	4	PM 5	9	PM 5
5	HM 531	5	HM 531	3	HM 531	5	HM 531	4	HM 531	9	HM 531
2	AHA 1	2	AHA 1	5	AHA 1	5	AHA 1	5	AHA 1	10	AHA 1
2	HM 1	2	HM 1	4	HM 1	5	HM 1	3	HM 1	9	HM 1

* Animales inmunizados con un homogenado de 2×10^6 amibas intradérmicamente durante 4 semanas.

** Numero de animales vivos al finalizar el estudio.

*** Cepa de amiba que se utilizó en el desafío con 5×10^5 amibas vivas inoculadas intrahepáticamente.

5.2.3.- Sacrificio de los animales.

5.2.3.1.- Laparotomia.

Después de anestesiar a los animales con éter etílico anhidro se rasuró el abdomen y se llevó a cabo una incisión en la parte media utilizando tijeras mayo y bisturí. Las cavidades abdominal y torácica fueron abiertas y se observó al hígado para investigar la existencia de lesiones hepáticas.

5.2.3.2.- Función cardíaca.

Directamente del corazón fueron extraídos de 2 a 3 ml de sangre y se colocó en tubos de ensayo evitando la hemólisis. Se dejó reposar durante 10 minutos, se despegó el coágulo y se centrifugó a 1500 revoluciones durante 10 minutos para separar el suero el cual fue utilizado para determinar el título de anticuerpos.

5.2.3.3.- Extracción del hígado.

Los tres lóbulos del hígado fueron extraídos, detallándose en ellos la presencia de algunas alteraciones tales como necrosis, zonas blanquecinas, necrosis coagulativa, así como la presencia o ausencia de absceso hepático amibiano.

5.3.- ESTUDIO HISTOPATOLOGICO DEL HIGADO DE LOS HAMSTERS- INMUNIZADOS Y POSTERIORMENTE DESAFIADOS.

5.3.1.- Conservación del tejido hepático.

El tejido hepático extraído fue sumergido en 100 ml de formol neutro al 10%.

5.3.1.1.- Solución de formol neutro al 10%.

Se tomo la densidad del formol y de acuerdo a esta se calculo las cantidades requeridas de formol y agua para tener una solución al 10%, se tomaron 100 ml de ella y se le adicionaron 4 g de fosfato de sodio monobásico y 6.5 g de fosfato de sodio dibásico y se llevo a un volumen total de 1000-

ml con agua destilada.

5.3.2.- Preparación del tejido.

Se hicieron cortes seleccionados del hígado con la ayuda de un bisturí, estos fueron encapsulados y lavados con agua corriente durante 24 horas.

5.3.3.- Procesado del tejido.

Las porciones de tejido seleccionadas fueron sometidas a deshidratación en un procesador de tejidos American Optical No 8000.

5.3.3.1.- Deshidratación, aclaramiento e inclusión.

Los cortes de tejido fueron deshidratados con tres alcoholes etílicos al 96% y con tres alcoholes absolutos, el aclaramiento se llevó a cabo con una mezcla de xilol xileno y se incluyeron con tres parafinas utilizando una más fina para hacer la inclusión del tejido y formar el cubo para realizar los cortes.

5.3.3.2.- Corte.

Los cortes se realizaron en un ultramicrotomo American Optical- Mod. 820, con un espesor de 3 micras. Posteriormente se colocaron los cortes en un baño de fijación marca Voekel, a una temperatura de 46 °C, de ahí se pasaron los cortes a un portaobjetos y se llevaron a una estufa Mod HDT-27, a una temperatura de 50° C.

5.3.4.- Tinción con hematoxilina eosina.

Después de realizar el proceso de desparafinización y de hidratación, se tiñó con hematoxilina eosina, que consiste en:

a) lavar con agua destilada.

b) meter en solución de hematoxilina de Ferrer por 15 minutos.

c) pasar por agua destilada.

d) pasar por una solución alcohol-acido 1:1

e) lavar con agua destilada.

f) pasar por agua amoniacal.

g) lavar con agua destilada.

- h) pasar por una solución de eosina por 1 - minuto.
- i) pasar por alcohol al 96%.
- j) pasar por alcohol absoluto.
- k) pasar por alcohol absoluto
- l) pasar por xilol.
- m) pasar por xilol.
- n) se realizó el montaje con resina sintética, se le colocó un cubreobjetos de 24x40 mm y se efectuó su estudio al microscopio de luz.

5.3.5.- Tinción de PAS.

Después de que se realizó el proceso de desparafinización y de hidratación, se tiñó con PAS que consiste en:

- a) pasar por solución de ácido peryódico por 5 minutos.
- b) lavar con agua destilada.
- c) Pasar por fuscina básica por 5 minutos.
- d) Lavar con agua destilada durante 10 minutos.
- e) pasar por hematoxilina por 6 minutos.
- f) lavar con agua destilada.
- g) pasar por una solución de alcohol - ácido 1: 1.

- h) lavar con agua destilada.
- i) pasar por agua amoniacal.
- j) lavar con agua destilada por 10 minutos.
- k) pasar por alcohol 96%.
- l) pasar por alcohol absoluto.
- m) pasar por alcohol absoluto.
- n) pasar por xilol.
- ñ) pasar por xilol.
- o) se realizó el montaje con recina sintética, se le colocó un cubreobjetos de 24x40 mm y se efectuó su estudio al microscopio de luz.

5.3.6.- Observación al microscopio de luz.

Después de haber teñido los cortes del tejido, fueron observados al microscopio de luz para buscar la presencia de:

Absceso, amibas, necrosis, inflamación, linfocitos, polimorfonucleares, células plasmáticas, células epiteloides, células binucleadas, fibroblastos, microorganismos, esferulas, macrófagos y granulomas..

5.4.- ESTUDIO EN MICROSCOPIA ELECTRONICA DE LAS MUESTRAS DE HIGADO EN LAS QUE SE OBSERVO LA PRESENCIA DE -- ABSCESO.

Un fragmento pequeño de absceso hepático de aproximadamente 0.2 cm, fué colocado en 5 ml de una solución fijadora por un lapso de 2 horas.

5.4.1.- Solución fijadora.

5.4.1.1.- Solución de glutaraldehído al 2%

Se tomaron 2 ml de glutaraldehído y se le adicionaron 98 ml de agua destilada.

5.4.1.2.- Solución amortiguadora de fosfatos salinos al 0.1 M .

5.4.1.2.1.- Solución de fosfato de sodio monobásico al 0.1 M ,

Se pesaron 2.84 g de fosfato de sodio monobásico y se disolvieron en 100 ml de agua destilada.

5.4.1.2.2.- Solución de fosfato de sodio dibásico al 0.1 M.

Se pesaron 2.76 g de fosfato de sodio dibásico y se disolvieron en 100 ml de agua destilada.

PROCEDIMIENTO.-

Se mezclaron 40.5 ml de la solución preparada en el inciso 5:4.1.2.1. y 9.5 ml de la solución preparada en el inciso 5.4.1.2.2 y se llevo a un volumen de 100 ml con agua destilada.

5.4.1.3.- Solución de cloruro de calcio al 1%.

Se peso 1 g de cloruro de calcio y se le adicionaron 99 ml de agua destilada.

PROCEDIMIENTO.-

Se tomaron 12 ml de la solución de glutaraldehído al 2% y se le adicionaron 88 ml-

de la solución amortiguadora de fosfatos salinos al 0.1 M., más 10 gotas de la solución de cloruro de calcio al 1%.

Después de haberse cumplido el tiempo en la solución fijadora el fragmento de tejido fué pasado a una solución lavadora, en la cual puede estar hasta una semana.

5.4.2.- Solución lavadora.

5.4.2.1.- Solución amortiguadora de fosfatos salinos al 0.1 M.

Esta solución fué preparada de acuerdo con el inciso 5.4.1.2.

5.4.2.2.- Solución de cloruro de calcio al 1%.

Esta solución se preparo de acuerdo con el inciso 5.4.1.3.

PROCEDIMIENTO.-

Se mezclaron 100 ml de la solución amortiguadora de fosfatos salinos 0.1 M., con 10 g de sacarosa y 10 gotas de cloruro de calcio al 1%.

5.4.3.- Postfijación del tejido.

Una vez que el tejido estuvo en solución -

lavadora se procede a una postfijación con tetraóxido de osmio a un pH 7.4 .

5.4.4.- Deshidratación e inclusión.

La deshidratación del tejido se realizó -- con alcoholes a diferentes porcentajes de dilución desde 50% hasta 100%.

La inclusión se hizo en capsulas de gelatina mezcladas con DMP-30; anhídrido dode -- cenil succínico; anhídrido metil náxico.

5.4.5.- Polimerización del tejido.

Esta se realizó en una estufa a 70 °C cons tantes por un lapso de 5 a 10 días.

5.4.6.- Corte del tejido.

Inicialmente se hacen unos cortes semifin - nos en el ultramicrotomo y se tiñen con -- azul de toluidina, esto se hace para ele - gir el mejor corte y se paso nuevamente al ultramicrotomo para hacer los cortes más - finos. Para esto se talla una piramide de la capsula por el polo donde se encontra - ba el tejido, se prepararon las cuchillas de vidrio esmerilado y se pasaron al ultra microtomo.

ESTA TESIS
SALIR DE LA
NO DEBE
BIBLIOTECA

5.4.7.- Montaje del tejido.

En rejillas de cobre, las cuales llevaban una sustancia de contraste, generalmente - metales pesados, tales como citrato de plomo y acetato de uranilo, que es para cuando se toman placas, pues en microscopía -- electrónica no hay color.

5.4.8.- Observación al microscopio electrónico.

Las estructuras del hígado fueron observadas en un microscopio electrónico Carl - - Zeiss EM9S-2 y éstas fueron :

Absceso, amibas, necrosis, inflamación, -- linfocitos, polimorfonucleares, células -- plasmáticas, células epiteloides, células binucleadas, fibroblastos, microorganismos- macrofagos y granulomas.

5.5.- INVESTIGACION DE LA PRODUCCION DE ANTICUERPOS EN -
LOS HAMSTERS INMUNIZADOS Y DESAFIADOS CON LAS CEPAS
EN ESTUDIO POR MEDIO DE HEMAGLUTINACION PASIVA.

5.5.1.- Solución de alsevers.

Se pesaron 2.05 g de glucosa, 0.8.g de citrato de sodio, 0.085 g de ácido cítrico y

0.42 g de cloruro de sodio, los cuales fueron disueltos y se llevaron a un volumen de 100 ml con agua - destilada. Se esterilizo durante 10 minutos a 121°C

5.5.2.- Suspensión de globulos rojos de carnero.

Se tomo un volumen igual de globulos rojos de carnero y la solución de alsevers ya preparada y se - - guardo en refrigeración a 4°C durante 10 días para su maduración.

5.5.3.- Preparación del antígeno.

Se tomo 1 ml de todas y cada una de las cepas de -- amibas, se homogeneizaron y se les determinó la can tidad de proteínas, leyendo en el espectrofotómetro a 280 nm y en todos los casos se encontro más de 2- mg de proteínas.

5.5.4.- Solución amortiguadora de fosfatos salinos pH 7.2.

5.5.4.1.- Solución de fosfato de potasio monobásico al 0.15 M.

Se pesaron 10.20 g de fosfato de potasio-monobásico y se disolvieron en 500 ml de agua destilada.

5.5.4.2.- Solución de fosfato de sodio dibásico al 0.15 M.

Se pesaron 20.15 g de fosfato de sodio -

dibásico y se disolvieron en 500 ml de -
agua destilada.

PROCEDIMIENTO.-

Se mezclaron 24 ml de la solución de fosfato de potasio monobásico con 76 ml de la solución de fosfato de sodio dibásico y 100 ml de solución salina -- isotónica al 0.85%.

5.5.5.- Solución amortiguadora de fosfatos salinos pH 6.4

5.5.5.1.- Solución de fosfato de potasio monobásico al 0.15 M.

Esta solución fué preparada de acuerdo al inciso 5.5.4.1..

5.5.5.2.- Solución de fosfato de sodio dibásico al 0.15 M.

Esta solución fué preparada de acuerdo al inciso 5.5.4.2.

PROCEDIMIENTO.-

Se mezclaron 67.8 ml de la solución de fosfato de potasio monobásico, con 32.2 ml de la solución de fosfato de sodio dibásico y 100 ml de solución salina isotónica al 0.85 %.

5.5.6.- Solución de ácido tánico al 1 %.

Se peso 1 g de ácido tánico y se adicionaron 99 ml-

de solución salina isotónica al 0.85%, se guardó - en refrigeración a 4°C. De esta solución se hizo -- una dilución 1:200; para tener la solución de trabajo de ácido tánico a una dilución 1:20 000.

5.5.7.- Suero normal de conejo inactivado a 56°C.

Por punción cardiaca se extrajo sangre de conejo de la raza Nueva Zelanda con un peso promedio de 3 Kg, y se centrifugó a 500 x G durante 15 minutos y se - separó el suero almacenándolo en un frasco para ser inactivado a 56°C durante 30 minutos.

5.5.8.- Adsorción de los glóbulos rojos de carnero.

Se tomaron 3 ml de los glóbulos rojos de carnero - almacenados en la solución de alsevers en condicio- nes estériles, se lavaron 3 veces con solución salina isotónica y se preparó una suspensión al 2% de - glóbulos rojos de carnero.

Después se les añadió 3 ml de suero normal de cone- jo inactivado y se le dejó reposar durante toda la- noche en refrigeración a 4°C. Al día siguiente se - centrifugó a 500 x G durante 15 minutos y se separó el suero de conejo absorbido y se hizo una dilución 1:100.

Se tomó el paquete de glóbulos rojos de carnero y se le añadió 3 ml de ácido tánico diluido 1:20 000 y se

incubó a 37 °C en la estufa durante 10 minutos. - -
 Posteriormente se centrifugó a 500 x G por 15 minutos y se decantó el sobrenadante, se resuspendió en solución amortiguadora de fosfatos salinos pH 7.2, y se centrifugó a 500 x G por minutos, se decantó el sobrenadante y se resuspendió en solución amortiguadora de fosfatos salinos pH 6.4, se centrifugó a 500 x G por 15 minutos, se decantó el sobrenadante.

Los glóbulos rojos de carnero tamizados se les adicionó 4 ml de la solución amortiguadora de fosfatos salinos pH 6.4, más 1 ml del antígeno, se centrifugó y se decantó el sobrenadante y se le añadió 2 ml de suero normal de conejo absorbido en una dilución de 1:100.

Se centrifugó a 500 x G y al sedimento se le adicionó nuevamente suero normal de conejo adsorbido 1:100.

Se preparó el control positivo con 1 ml de glóbulos rojos de carnero tamizados al 2% con 4 ml de la solución amortiguadora de fosfatos salinos de pH 6.4 más 1 ml de homogeneizado de la cepa HM 1 y el suero de un paciente con absceso hepático amibiano y/o colitis amibiana. El control negativo fue preparado con 1 ml de glóbulos rojos de carnero tamizados al 2% y 4 ml -

de la solución amortiguadora de fosfatos salinos -
pH 6.4, en ausencia de antígeno amibiano.

PROCEDIMIENTO.-

Utilizando placas de limbro se llevaron a cabo diluciones de los sueros obtenidos de los hámsters - en proporción logarítmica, es decir 1:2, 1:4, 1:8, 1:16, 1:32, 1:64, etc. teniendo como diluyente el suero normal de conejo adsorbido y diluido 1:100. Posteriormente se le añadió 50 lamdas de glóbulos rojos de carnero tamizados al 2 %, forrados con - los diferentes antígenos de las diferentes cepas amibianas y se les dejó reposar por 24 horas, después se procedió a realizar las lecturas de los - títulos de anticuerpos presentes en el suero de -- los hámsters.

C A P I T U L O VI

R E S U L T A D O S

Los títulos de anticuerpos obtenidos después de la inmunización de los animales, así como los determinados posteriormente a su desafío se presentan en las tablas de la 9 a la 12 estas corresponden a, E. chattoni cepa PM 4, E. chattoni cepa PM 5, E. histolytica cepa HM 531, E. histolytica cepa AHA 1, E. histolytica cepa AHA 1 ady (con adyuvante completo de Freund), y E. histolytica cepa HM 1, respectivamente.

TABLA 9 .- DETERMINACION DEL TITULO DE ANTICUERPOS ANTES Y DESPUES DEL DESAFIO CON E. chattoni cepa PM 4 (I), E. chattoni cepa PM 5 (II)

I			
CEPA I *	TITULO DE Ab **	CEPA D ***	TITULO DE Ab **
PM 4	1:4	PM 4	1:4
PM 4	1:8	PM 4	1:8
PM 4	1:8	PM 4	1:8
PM 4	1:4	PM 4	1:4
PM 4	1:4	PM 5	neg
PM 4	1:8	PM 5	1:4
PM 4	1:8	PM 5	1:8
PM 4	1:8	PM 5	1:8
PM 4	1:8	HM 531	1:8
PM 4	1:4	HM 531	1:32
PM 4	1:8	HM 531	1:16
PM 4	1:8	HM 531	1:16
PM 4	1:4	HA 1	1:16
PM 4	1:8	HA 1	neg
PM 4	1:8	HM 1	1:128
PM 4	1:4	HM 1	neg

II			
CEPA I *	TITULO DE Ab **	CEPA D ***	TITULO DE Ab **
PM 5	neg	PM 4	1:8
PM 5	neg	PM 4	1:8
PM 5	neg	PM 4	neg
PM 5	neg	PM 4	neg
PM 5	neg	PM 4	neg
PM 5	neg	PM 5	neg
PM 5	1:8	PM 5	1:8
PM 5	neg	PM 5	neg
PM 5	neg	PM 5	neg
PM 5	1:16	HM 531	1:16
PM 5	neg	HM 531	1:16
PM 5	neg	HM 531	1:32
PM 5	neg	HM 531	neg
PM 5	neg	HM 531	1:4096
PM 5	1:8	HA 1	1:8
PM 5	neg	HA 1	1:16
PM 5	1:8	HM 1	1:8
PM 5	1:8	HM 1	1:8

*Cepa inmunizada.

** Título de anticuerpos.

***Cepa desafiada.

TABLA 10.- DETERMINACION DE LOS TITULOS DE ANTI-
 CUERPOS ANTES Y DESPUES DEL DESAFIO -
 CON E. histolytica CEPA HM 531.

CEPA I *	TITULO DE Ab **	CEPA D ***	TITULO DE Ab **
HM 531	1:32	PM 4	1:2048
HM 531	1:256	PM 4	1:4096
HM 531	1:64	PM 4	1:2048
HM 531	1:32	PM 4	1:16
HM 531	1:16	PM 4	1:32
HM 531	1:16	PM 5	1:32
HM 531	1:32	PM 5	1:16
HM 531	1:32	PM 5	1:32
HM 531	1:128	HM 531	1:128
HM 531	1:256	HM 531	1:128
HM 531	1:256	HM 531	1:256
HM 531	1:128	AHA 1	1:32
HM 531	1:4	AHA 1	1:8
HM 531	1:16	AHA 1	1:4
HM 531	1:16	AHA 1	1:16
HM 531	1:64	AHA 1	1:16
HM 531	1:8	HM 1	1:4
HM 531	1:64	HM 1	1:32
HM 531	1:64	HM 1	1:64
HM 531	1:16	HM 1	1:4

* Cepa inmunizada.

** Titulo de anticuerpos

*** Cepa desafiada.

TABLA 12.- Determinación de los títulos de anticuerpos antes y después del desafío con *E. histolytica* cepa HM 1.

Cepa I +	Título de Ab ++	Cepa D +++	Título de Ab ++
HM 1	1:256	PM 4	1:4
HM 1	1:512	PM 4	1:4
HM 1	1:512	PM 4	1:16
HM 1	1:256	PM 4	1:16
HM 1	1:32	PM 4	1:4
HM 1	1:256	PM 4	1:4
HM 1	1:32	PM 4	1:4
HM 1	1:128	PM 4	1:4
HM 1	1:256	PM 5	1:4
HM 1	1:512	PM 5	1:4
HM 1	1:256	PM 5	1:4
HM 1	1:512	PM 5	1:8
HM 1	1:128	PM 5	1:16
HM 1	1:256	PM 5	1:4
HM 1	1:1024	PM 5	1:4
HM 1	1:512	PM 5	1:4
HM 1	1:256	PM 5	1:8
HM 1	1:1024	HM 531	1:64
HM 1	1:512	HM 531	1:16
HM 1	1:256	HM 531	1:128
HM 1	1:512	HM 531	1:512
HM 1	1:64	HM 531	1:4
HM 1	1:8	HM 531	1:8

Cepa I +	Título de Ab ++	Cepa D +++	Título de Ab ++
HM 1	1:512	HM 531	1:64
HM 1	1:4096	HM 531	1:128
HM 1	1:2048	HM 531	1:16
HM 1	1:2048	HM 531	1:16
HM 1	1:1024	AHA 1	1:8
HM 1	1:512	AHA 1	1:32
HM 1	1:256	AHA 1	1:32
HM 1	1:512	AHA 1	1:16
HM 1	1:1024	AHA 1	1:32
HM 1	1:8	AHA 1	1:16
HM 1	1:512	AHA 1	1:8
HM 1	1:4096	AHA 1	1:4
HM 1	1:2048	AHA 1	1:4
HM 1	1:2048	HM 1	1:512
HM 1	1:1024	HM 1	1:4096
HM 1	1:512	HM 1	1:2048
HM 1	1:256	HM 1	1:2048
HM 1	1:512	HM 1	1:1024
HM 1	1:1024	HM 1	1:512
HM 1	1:512	HM 1	1:512
HM 1	1:256	HM 1	1:256
HM 1	1:512	HM 1	1:512

I + Cepa inmunizada
 Ab ++ Título de anticuerpos
 D +++ Cepa desafiada

El análisis estadístico de estos resultados con las diferentes cepas en estudio antes del desafío, así como cuando los animales fueron desafiados con las cepas homologas y heterólogas, se presentan en las tablas 13 y 14.

TABLA 13 .- Correlación de los títulos de anticuerpos en los diferentes grupos de animales inmunizados - inmunizados, y desafiados - desafiados, con las cinco cepas en estudio.

INMUNIZADOS - INMUNIZADOS

	PM 4	PM 5	HM 531	AHA 1	AHA 1 ady	HM 1
PM 4		$\bar{x} = 2.363$ DE = 2,693 EE = 0.812	$\bar{x} = -49.45$ DE = 81.21 EE = 24.48	$\bar{x} = -69.09$ DE = 83.50 EE = 25.17	$\bar{x} = -6.181$ DE = 7.454 EE = 2.247	$\bar{x} = -648.7$ DE = 540.9 EE = 163.0
PM 5	$\bar{x} = -2.36$ DE = 2.69 EE = 0.812		$\bar{x} = -51.81$ DE = 83.46 EE = 25.16	$\bar{x} = -71.45$ DE = 85.82 EE = 25.87	$\bar{x} = -8.545$ DE = 9.730 EE = 2.934	$\bar{x} = -651.0$ DE = 541.3 EE = 161.2
HM 531	$\bar{x} = 49.45$ DE = 81.21 EE = 24.48	$\bar{x} = 51.81$ DE = 83.46 EE = 25.16		$\bar{x} = -19.63$ DE = 65.71 EE = 19.81	$\bar{x} = 43.27$ DE = 75.57 EE = 22.78	$\bar{x} = -599.2$ DE = 516.7 EE = 155.8
AHA 1	$\bar{x} = 69.09$ DE = 83.50 EE = 25.17	$\bar{x} = 71.45$ DE = 85.82 EE = 25.87	$\bar{x} = 19.63$ DE = 65.71 EE = 19.81		$\bar{x} = 62.90$ DE = 76.65 EE = 23.11	$\bar{x} = -579.6$ DE = 569.4 EE = 171.7
AHA 1 ady	$\bar{x} = 6.181$ DE = 7.45 EE = 2.247	$\bar{x} = 8.545$ DE = 9.73 EE = 2.934	$\bar{x} = -43.27$ DE = 75.57 EE = 22.78	$\bar{x} = -62.90$ DE = 76.65 EE = 23.11		$\bar{x} = -642.5$ DE = 542.1 EE = 163.4
HM 1	$\bar{x} = 648.7$ DE = 540.9 EE = 163.0	$\bar{x} = 651.0$ DE = 541.3 EE = 163.2	$\bar{x} = 599.2$ DE = 516.7 EE = 155.8	$\bar{x} = 579.6$ DE = 569.4 EE = 171.7	$\bar{x} = 642.5$ DE = 542.1 EE = 163.4	

\bar{x} - media promedio.
DE - desviación estandar.
EE - error estandar.

TABLA 14 .- Correlación de los títulos de anticuerpos de los diferentes grupos de animales inmunizados - inmunizados, y desafiados - desafiados, con las cinco copas en estudio.

INMUNIZADOS - INMUNIZADOS

D
E
S
A
F
I
A
D
O
S
-
D
E
S
A
F
I
A
D
O
S

	PM 4	PM 5	HM 531	AHA 1	AHA 1 ady	HM 1
PM 4		r = 0.886 t = 2.91 P = 0.001 *L = 10	r = 0.821 t = -2.02 P = 0.002 *L = 10	r = 0.873 t = -2.75 P = 0.0001 *L = 10	r = 0.895 t = -2.74 P = 0.0001 *L = 10	r = 0.159 t = -3.98 P = 0.641 *L = 10
PM 5	r = 0.886 t = -2.91 P = 0.001 *L = 10		r = 0.588 t = -2.06 P = 0.052 *L = 10	r = 0.782 t = -2.76 P = 0.004 *L = 10	r = 0.783 t = -2.91 P = 0.004 *L = 10	r = 0.156 t = -3.99 P = 0.646 *L = 10
HM 531	r = 0.821 t = 2.02 P = 0.002 *L = 10	r = 0.598 t = 2.06 P = 0.052 *L = 10		r = 0.702 t = -0.99 P = 0.016 *L = 10	r = 0.831 t = 1.90 P = 0.001 *L = 10	r = 0.364 t = -3.85 P = 0.270 *L = 10
AHA 1	r = 0.873 t = 2.74 P = 0.001 *L = 10	r = 0.782 t = 2.76 P = 0.004 *L = 10	r = 0.702 t = 0.99 P = 0.016 *L = 10		r = 0.952 t = 2.75 P = 0.001 *L = 10	r = -0.254 t = -3.85 P = 0.450 *L = 10
AHA 1 ady	r = 0.895 t = 2.75 P = 0.001 *L = 10	r = 0.783 t = 2.91 P = 0.004 *L = 10	r = 0.831 t = -1.90 P = 0.002 *L = 10	r = 0.952 t = -2.72 P = 0.001 *L = 10		r = -0.068 t = -3.92 P = 0.843 *L = 10
HM 1	r = 0.152 t = 3.98 P = 0.641 *L = 10	r = 0.156 t = 3.99 P = 0.646 *L = 10	r = 0.364 t = 3.85 P = 0.270 *L = 10	r = -0.254 t = 3.38 P = 0.450 *L = 10	r = -0.068 t = 3.93 P = 0.843 *L = 10	

r = índice de correlación
t = prueba "t" de student
P = probabilidad
*L = grados de libertad

Con el objeto de saber si hubo incremento entre el título de anticuerpos encontrado en los animales inmunizados y posteriormente desafiados, el tratamiento estadístico se presenta en las tablas 15 y 16.

TABLA 15 .- Correlación de los títulos de anticuerpos en los diferentes grupos de animales inmunizados - desafiados con las cinco cepas en estudio

DESAFIADOS

	PM 4	PM 5	HM 531	AHA 1	AHA 1 ady	HM 1
PM 4	\bar{x} = 7.342 DE = 5.063 EE = 1.474	\bar{x} = 9.139 DE = 5.345 EE = 1.615	\bar{x} = 13.142 DE = 8.291 EE = 2.856	\bar{x} = 8.592 DE = 9.212 EE = 4.647	\bar{x} = 6.951 DE = 7.604 EE = 2.464	\bar{x} = 41.161 DE = 48.810 EE = 32.647
PM 5	\bar{x} = 3.475 DE = 3.996 EE = 1.322	\bar{x} = 2.950 DE = 3.829 EE = 1.322	\bar{x} = 20.875 DE = 27.661 EE = 11.905	\bar{x} = 7.575 DE = 4.907 EE = 2.465	\bar{x} = 3.579 DE = 3.829 EE = 0.851	\bar{x} = 5.575 DE = 2.079 EE = 0.465
HM 531	\bar{x} = 856.3 DE = 887.2 EE = 388.3	\bar{x} = 45.967 DE = 40.869 EE = 10.395	\bar{x} = 117.9 DE = 36.70 EE = 29.06	\bar{x} = 40.23 DE = 41.61 EE = 10.12	\bar{x} = 42.93 DE = 43.16 EE = 12.21	\bar{x} = 45.63 DE = 50.53 EE = 14.87
AHA 1	\bar{x} = 58.770 DE = 67.255 EE = 13.171	\bar{x} = 63.170 DE = 71.946 EE = 15.269	\bar{x} = 75.970 DE = 79.041 EE = 18.442	\bar{x} = 200.3 DE = 176.05 EE = 61.820	\bar{x} = 96.17 DE = 83.96 EE = 16.48	\bar{x} = 60.070 DE = 69.180 EE = 14.032
AHA 1 ady	\bar{x} = 4.825 DE = 3.805 EE = 0.851	\bar{x} = 4.826 DE = 3.805 EE = 0.851	\bar{x} = 7.325 DE = 4.695 EE = 1.428	\bar{x} = 11.125 DE = 9.391 EE = 3.349	\bar{x} = 7.538 DE = 3.805 EE = 2.583	\bar{x} = 6.325 DE = 5.089 EE = 0.851
HM 1	\bar{x} = 720.0 DE = 687.9 EE = 246.3	\bar{x} = 734.0 DE = 668.0 EE = 433.6	\bar{x} = 581.7 DE = 436.4 EE = 321.7	\bar{x} = 704.0 DE = 636.0 EE = 406.9	\bar{x} = 680.5 DE = 496.7 EE = 265.5	\bar{x} = 796.0 DE = 746.3 EE = 296.3

I
N
M
U
N
I
Z
A
D
O
S

\bar{x} - media promedio
DE - desviación estandar
EE - error estandar

TABLA 16 .- Correlación de los títulos de anticuerpos en los diferentes grupos de animales inmunizados - desafiados con las cinco cepas en estudio.

DESAFIADOS

	PM 4	PM 5	HM 531	AHA 1	AHA 1 ady	HM 1
PM 4	t = 1.26 p = 0.068 *L = 21	t = 1.93 p = 0.124 *L = 21	t = 1.56 p = 0.646 *L = 20	t = 1.81 p = 0.383 *L = 20	t = 1.96 p = 0.324 *L = 21	t = 1.39 p = 0.001 *L = 21
PM 5	t = 0.33 p = 0.978 *L = 23	t = 0.20 p = 0.882 *L = 22	t = 1.55 p = 0.001 *L = 23	t = 2.16 p = 0.379 *L = 20	t = 4.33 p = 0.787 *L = 22	t = 5.22 p = 1.000 *L = 20
HM 531	t = 2.08 p = 0.001 *L = 25	t = 2.36 p = 0.032 *L = 23	t = 2.32 p = 0.743 *L = 23	t = 3.09 p = 0.002 *L = 25	t = 2.03 p = 0.073 *L = 23	t = 1.87 p = 0.150 *L = 24
AHA 1	t = 4.22 p = 0.001 *L = 30	t = 3.81 p = 0.001 *L = 30	t = 2.63 p = 0.005 *L = 30	t = 1.73 p = 0.101 *L = 30	t = 3.48 p = 0.001 *L = 30	t = 4.10 p = 0.001 *L = 30
AHA 1 ady	t = 4.50 p = 1.000 *L = 20	t = 4.50 p = 1.000 *L = 22	t = 1.29 p = 0.073 *L = 22	t = 0.94 p = 0.227 *L = 23	t = 2.03 p = 0.273 *L = 21	t = 2.73 p = 1.000 *L = 22
HM 1	t = 4.56 p = 0.010 *L = 33	t = 3.98 p = 0.001 *L = 34	t = 4.03 p = 0.011 *L = 33	t = 1.99 p = 0.101 *L = 33	t = 3.46 p = 0.001 *L = 33	t = 2.99 p = 0.001 *L = 33

t - prueba "t" de student.

p - probabilidad.

*L - grados de libertad.

I
N
M
U
N
I
Z
A
D
O
S

La presencia de absceso en los animales inmunizados y posteriormente desafiados se señalan en la tabla 17, cuando se trabajo con E. chattoni cepa - PM 4 (A), v E. chattoni cepa PM 5 (B).

Tabla 17 .- Número de abscesos presentes en el hígado de los animales inmunizados con E. chattoni cepa PM 4, y E. chattoni cepa PM 5 y -- desafiados con las cepas heterologas.

A

CEPA INMUNIZADA	CEPA DESAFIADA	PRESENCIA DE ABSCESOS.
PM 4	PM 4	0/4
PM 4	PM 5	3/4
PM 4	HM 531	1/5
PM 4	AHA 1	2/2
PM 4	HM 1	0/2

B

CEPA INMUNIZADA	CEPA DESAFIADA	PRESENCIA DE ABSCESOS.
PM 5	PM 4	0/5
PM 5	PM 5	0/6
PM 5	HM 531	0/5
PM 5	AHA 1	0/2
PM 5	HM 1	0/2

Así como la tabla 18 presenta los resultados obtenidos al utilizar a E. histolytica cepa HM 531 (C) y a E. histolytica cepa HM 1 (D).

TABLA 18.- Número de abscesos presentes en el hígado de los animales inmunizados con E. histolytica cepa HM 531 (C), y E. histolytica cepa HM 1 (D) y desafiados con las cepas heterologas.

C

CEPA INMUNIZADA	CEPA DESAFIADA	PRESENCIA DE ABSCESOS
HM 531	PM 4	0/5
HM 531	PM 5	2/3
HM 531	HM 531	0/3
HM 531	AHA 1	2/5
HM 531	HM 1	1/4

D

CEPA INMUNIZADOS	CEPA DESAFIADA	PRESENCIA DE ABSCESOS
HM 1	PM 4	3/8
HM 1	PM 5	1/9
HM 1	HM 531	0/9
HM 1	AHA 1	0/10
HM 1	HM 1	0/9

y en relación con E. histolytica cepa AHA 1 y E. histolytica AHA 1 ady los -- resultados se muestran en la tabla 19.

Tabla 19.- Número de abscesos presentes en el hígado de los animales inmunizados con E. histolytica cepa AHA 1 y (E) -- E. histolytica cepa AHA 1 ady (F) desafiados con las -- cepas heterólogas.

E

CEPA INMUNIZADA	CEPA DESAFIADA	PRESENCIA DE ABSCESOS
AHA 1	PM 4	4/5
AHA 1	PM 5	3/5
AHA 1	HM 531	1/5
AHA 1	AHA 1	0/7
AHA 1	HM 1	0/5

F

CEPA INMUNIZADA	CEPA DESAFIADA	PRESENCIA DE ABSCESOS
AHA 1 ady	PM 4	0/2
AHA 1 ady	PM 5	0/4
AHA 1 ady	HM 531	2/4
AHA 1 ady	AHA 1	0/5
AHA 1 Ady	HM 1	0/3

Respecto a las alteraciones macroscópicas y el diagnóstico obtenido mediante el estudio histopatológico determinado al microscopio de luz y electrónico con los animales protegidos por inmunización con las diferentes cepas en estudio y posteriormente desafiados con su cepa homóloga y las cepas -- restantes, se presentan en las tablas de la 20 a la 26.

Tabla 20 .- Resultados de las observaciones macroscópicas del hígado y los diagnósticos en base a las alteraciones histopatológicas vistas al microscopio de luz y electrónico, cuando los animales fueron inmunizados con E. chattoni cepa PM 4 y desafiados con cepas heterólogas.

CEPA I*	CEPA D**	OBSERVACIONES MACROSCÓPICAS	DIAGNÓSTICO
PM 4	PM 4	PERIHEPATITIS	MICROABSCESO HEPÁTICO AMIBIANO.
PM 4	PM 4	HEMORRAGIA IRREGULAR	HEPATITIS CRÓNICA GRANULOMATOSA
PM 4	PM 4	S A M I	HEPATITIS AGUDA ABSCEDADA.
PM 4	PM 4	S A M I	MICROABSCESO HEPÁTICO AMIBIANO.
PM 4	PM 5	ZONA HEMORRÁGICA	MICROABSCESO HEPÁTICO AMIBIANO.
PM 4	PM 5	PERIHEPATITIS	HEPATITIS AGUDA ABSCEDADA.
PM 4	PM 5	S A M I	ABSCESO HEPÁTICO AMIBIANO.
PM 4	PM 5	MODULO BLANQUECINO AL CORTE	MICROABSCESO HEPÁTICO AMIBIANO.
PM 4	HM 533	S A M I	HEPATITIS LOCAL REACTIVA.
PM 4	HM 533	S A M I	HEPATITIS LOCAL REACTIVA.
PM 4	HM 533	PERIHEPATITIS.	PERIHEPATITIS CRÓNICA LOCAL.
PM 4	PM 533	PEQUEÑO MODULO AL CORTE.	MICROABSCESO HEPÁTICO AMIBIANO.
PM 4	HM 533	HIGADO CON ADERENCIAS.	HEPATITIS CRÓNICA GRANULOMATOSA.
PM 4	ANA 1	MODULO BLANQUECINO DE 0.1 cm	ABSCESSO HEPÁTICO AMIBIANO.
PM 4	ANA 1	MODULO BLANQUECINO DE 0.3 cm	MICROABSCESSO HEPÁTICO AMIBIANO.
PM 4	HM 1	S A M I	PERIHEPATITIS CRÓNICA.
PM 4	HM 1	S A M I	PERIHEPATITIS CRÓNICA LOCAL.

* I inmunizados.

** D desafiados.

TABLA 21.- Resultados de las alteraciones macroscópicas del hígado y los diagnós-
 ticos en base a las a las alteraciones histopatológicas vistas al micros-
 copio de luz y electrónico cuando los animales fueron inmunizados con --
E. chattoni cepa PM 5 y desafiados con cepas heterólogas.

CEPA I*	CEPA D**	OBSERVACIONES MACROSCOPICAS	DIAGNOSTICO
PM 5	PM 4	NODULO BLANQUECINO DE 0.2 cm	PERIHEPATITIS ZONAL.
PM 5	PM 4	S A M I	PERIHEPATITIS AGUDA Y CRONICA
PM 5	PM 4	S A M I	PERIHEPATITIS AGUDA Y CRONICA
PM 5	PM 4	S A M I	PERIHEPATITIS ZONAL.
PM 5	PM 4	S A M I	PERIHEPATITIS ZONAL.
PM 5	PM 5	S A M I	PERIHEPATITIS CRONICA FOCAL - GRANULOMATOSA.
PM 5	PM 5	S A M I	PERIHEPATITIS ZONAL.
PM 5	PM 5	S A M I	PERIHEPATITIS ZONAL .
PM 5	PM 5	NODULO BLANQUECINO DE 0.2 cm	HEPATITIS ZONAL REACTIVA.
PM 5	HM 531	ZONA DE NECROSIS DE 0.5 cm	HEPATITIS ZONAL CON MICROABSCE- SO HEPATICO.
PM 5	HM 531	S A M I	AUTOLISIS.
PM 5	HM 531	S A M I	PERIHEPATITIS AGUDA Y CRONICA.
PM 5	HM 531	ZONA HEMORRAGICA DE 0.2 cm	HEPATITIS Y PERIHEPATITIS GRA- NULOMATOSAS FOCALES.
PM 5	HM 531	S A M I	PERIHEPATITIS ZONAL.
PM 5	AHA 1	NODULO BLANQUECINO DE 0.1 cm	PERIHEPATITIS CRONICA FOCAL
PM 5	AHA 1	ZONAS HEMORRAGICAS.	HEPATITIS FOCAL GRANULOMATOSA
PM 5	HM 1	ZONA DE NECROSIS DE 0.2 cm	INFLAMACIÓN CRONICA.
PM 5	HM 1	ZONA HEMORRAGICA DE 0.1 cm	HEPATITIS FOCAL REACTIVA

TABLA 22 .- Resultados de las alteraciones macroscópicas del hígado y los diagnósticos en base a las alteraciones histopatológicas vistas al microscopio de luz y electrónico, cuando los animales fueron inmunizados con E. histolytica cepa HM 531 y desafiados con cepas heterólogas

CEPA I*	CEPA D**	OBSERVACIONES MACROSCOPICAS	DIAGNOSTICO
HM 531	PM 4	ZONA NECROTICO HEMORRAGICA	INFARTO HEMORRAGICO EXTENSO
HM 531	PM 4	NODULO BLANQUECINO DE 0.5 cm.	PERIHEPATITIS ZONAL.
HM 531	PM 4	S A M I	PERIHEPATITIS CRONICA FOCAL
HM 531	PM 4	S A M I	PERIHEPATITIS ZONAL .
HM 531	PM 4	S A M I	S A H I
HM 531	PM 5	NODULO BLANQUECINO DE 0.5 cm	ABSCESO HEPATICO AMIBIANO
HM 531	PM 5	HIGADO CONGESTIVO.	S A H I
HM 531	PM 5	NODULO BLANQUECINO AL CORTE	ABSCESO HEPATICO AMIBIANO.
HM 531	HM 531	TRAYECTO DE LA PUNCIÓN	PERIHEPATITIS CRONICA
HM 531	HM 531	S A M I	HEPATITIS FOCAL REACTIVA.
HM 531	HM 531	ZONA DE NECROSIS DE 0.2 cm	HEPATITIS FOCAL RACTIVA.
HM 531	AHA 1	NODULO BLANQUECINO DE 0.5 cm	ABSCESO HEPATICO AMIBIANO.
HM 531	AHA 1	NODULO BLANQUECINO DE 0.5 cm	ABSCESO HAPATICO AMIBIANO.
HM 531	AHA 1	S A M I	HEPATITIS FOCAL REACTIVA.
HM 531	AHA 1	TRAYECTO DE LA PUNCIÓN	HEPATITIS FOCAL REACTIVA
HM 531	AHA 1	ZONA DE NECROSIS DE 0.3 cm	HEPATITIS AGUDA ABSCEDADA.
HM 531	HM 1	S A M I	HEPATITIS FOCAL REACTIVA"
HM 531	HM 1	TRAYECTO DE LA PUNCIÓN	PERIHEPATITIS CRONICA .
HM 531	HM 1	ZONA NECROTICA.	PERIHEPATITIS CRONICA FOCAL
HM 531	HM 1	NODULO BLANQUECINO DE 0.5 cm	ABSCESO HEPATICO AMIBIANO.

TABLETA 23.- Resultados de las alteraciones macroscópicas del hígado y los diagnósticos en base a las alteraciones histopatológicas, vistas al microscopio de luz y electrónico, cuando los animales fueron inmunizados con *E. histolytica* cepa AHA 1 y desafiados con cepas heterólogas.

CEPA I*	CEPA D**	OBSERVACIONES MACROSCOPICAS	DIAGNOSTICO
AHA 1	PM 4	S A M I	HEPATITIS FOCAL REACTIVA
AHA 1	PM 4	S A M I	MICROABSCESO HEPATICO AMIBIANO
AHA 1	PM 4	S A M I	MICROABSCESO HEPATICO AMIBIANO
AHA 1	PM 4	S A M I	MICROABSCESO HEPATICO AMIBIANO
AHA 1	PM 4	S A M I	MICROABSCESO HEPATICO AMIBIANO
AHA 1	PM 5	TRAYECTO DE LA PUNCIÓN	HEPATITIS Y PERIHEPATITIS AGUDA ABSCESADA
AHA 1	PM 5	S A M I	MICROABSCESO HEPATICO AMIBIANO
AHA 1	PM 5	NODULO BLANQUECINO DE 0.2 cm.	MICROABSCESO HEPATICO AMIBIANO
AHA 1	PM 5	TRAYECTO DE LA PUNCIÓN	HEPATITIS AGUDA FOCAL CON MICROABSCESO
AHA 1	PM 5	S A M I	PERIHEPATITIS ZONAL
AHA 1	HM 531	NODULO HEMORRAGICO DE 0.2 cm.	HEPATITIS FOCAL REACTIVA
AHA 1	HM 531	NODULO HEMORRAGICO DE 0.5 cm.	HEPATITIS AGUDA ABSCESADA
AHA 1	HM 531	NODULO BLANQUECINO DE 0.2 cm.	HEPATITIS FOCAL REACTIVA
AHA 1	HM 531	S A M I	MICROABSCESO HEPATICO AMIBIANO
AHA 1	HM 531	S A M I	HEPATITIS FOCAL REACTIVA
AHA 1	AHA 1	S A M I	PERIHEPATITIS CRONICA FOCAL
AHA 1	AHA 1	ZONA HEMORRAGICA DE 0.3 cm.	HEPATITIS FOCAL REACTIVA
AHA 1	AHA 1	ZONA HEMORRAGICA DE 0.3 cm.	HEPATITIS FOCAL REACTIVA
AHA 1	AHA 1	TRAYECTO DE LA PUNCIÓN	HEPATITIS FOCAL REACTIVA
AHA 1	AHA 1	S A M I	MICROABSCESO HEPATICO AMIBIANO
AHA 1	HM 1	S A M I	HEPATITIS AGUDA ABSCESADA
AHA 1	HM 1	ZONA DE NECROSIS DE 0.5 cm.	HEPATITIS FOCAL REACTIVA
AHA 1	HM 1	NODULO BLANQUECINO DE 0.2 cm.	HEPATITIS AGUDA ABSCESADA
AHA 1	HM 1	S A M I	HEPATITIS AGUDA ABSCESADA
AHA 1	HM 1	NODULO BLANQUECINO DE 0.2 cm.	HEPATITIS AGUDA ABSCESADA

I* inmunizada
D** desafiada.

TABLA 24 .- Resultados de las observaciones macroscópicas del hígado y los diagnósticos en base a las alteraciones histopatológicas vistas al microscopio de luz y electrónico cuando los animales fueron inmunizados con E. histolytica cepa AHA 1 ady, y desafiados con cepas heterólogas.

CEPA 1*	CEPA D**	OBSERVACIONES MACROSCOPICAS	DIAGNOSTICO
AHA 1 ady	PM 4	ZONA DE PERIHEPATITIS	HEPATITIS AGUDA FOCAL
AHA 1 ady	PM 4	NECROSIS IRREGULAR	HEPATITIS AGUDA FOCAL
AHA 1 ady	PM 5	ZONA NECROTICA IRREGULAR	S A H I
AHA 1 ady	PM 5	ZONA IRREGULAR BLANQUECINA	HEPATITIS CRONICA FOCAL.
AHA 1 ady	PM 5	ZONA IRREGULAR BLANQUECINA	PERIHEPATITIS GRANULOMATOSA
AHA 1 ady	PM 5	PERIHEPATITIS	PERIHEPATITIS CRONICA Y AGUDA
AHA 1 ady	HM 531	ZONA DE PERIHEPATITIS	PERIHEPATITIS AGUDA ABSCEDADA
AHA 1 ady	HM 531	ZONA BLANQUECINA DE 0.3 cm	INFLAMACION CRONICA FOCAL
AHA 1 ady	HM 531	AUTOLISIS	ABSCESOS HEPATICOS AMIBIANOS
AHA 1 ady	HM 531	AUTOLISIS	ABSCESO SUBDIAFRAGMATICO CON AMIBAS.
AHA 1 ady	AHA 1	AUTOLISIS	ABSCESO HEPATICO AMIBIANO.
AHA 1 ady	AHA 1	NECROSIS COAGULATIVA.	ABSCESO HEPATICO AMIBIANO
AHA 1 ady	AHA 1	NECROSIS COAGULATIVA EXTENSA	ABSCESO HEPATICO AMIBIANO.
AHA 1 ady	AHA 1	NECROSIS COAGULATIVA EXTENSA	ABSCESOS HEPATICO AMIBIANO.
AHA 1 ady	AHA 1	AUTOLISIS	ABSCESO HEPATICO AMIBIANO.
AHA 1 ady	HM 1	ZONA DE PERIHEPATITIS	PERIHEPATITIS CRONICA FOCAL.
AHA 1 ady	HM 1	AUTOLISIS	CONGECTON VASCULAR.
AHA 1 ady	HM 1	S A H I	S A H I

TABLA 25.- Resultados de las observaciones macroscópicas del hígado y los diagnósticos en base a las alteraciones histopatológicas, vistas al microscopio de luz y electrónico cuando los animales fueron inmunizados con E. histolytica cepa HM 1, y desafiados con cepas heterólogas.

CEPA I*	CEPA D**	OBSERVACIONES MACROSCOPICAS	DIAGNOSTICO
HM 1	PM 4	NODULO BLANQUECINO DE 0.3 cm.	MICROABSCESO HEPATICO AMIBIANO
HM 1	PM 4	S A M I	HEPATITIS FOCAL REACTIVA
HM 1	PM 4	S A M I	PERIHEPATITIS AGUDA Y CRONICA
HM 1	PM 4	S A M I	HEPATITIS REACTIVA
HM 1	PM 4	NODULO BLANQUECINO 1 cm.	ABSCESO HEPATICO AMIBIANO
HM 1	PM 4	TRAYECTO DE LA PUNCIÓN	PERIHEPATITIS CRONICA GRANULOMATOSA
HM 1	PM 4	NODULO BLANQUECINO 0.8 cm.	ABSCESO HEPATICO AMIBIANO
HM 1	PM 4	S A M I	HEPATITIS FOCAL REACTIVA
HM 1	PM 5	ZONAS DE NECROSIS DE 0.1 y 0.3cm	HEPATITIS FOCAL REACTIVA C/NECROSIS COAGULATIVA
HM 1	PM 5	S A M I	ABSCESO HEPATICO AMIBIANO
HM 1	PM 5	ZONA NECROSIS HEMORRAGICA	INFARTO HEMORRAGICO C/POLIMORFONUCLEARES
HM 1	PM 5	ZONA HEMORRAGICA 0.5 cm.	INFARTO HEMORRAGICO EXTENSO
HM 1	PM 5	ZONA NECROSIS 0.3 y 0.1 cm.	NECROSIS HEPATOCELULAR MODERADA
HM 1	PM 5	ZONA NECROSIS 0.1 cm.	PERIHEPATITIS AGUDA Y CRONICA
HM 1	PM 5	ASPECTO HEMORRAGICO CONGESTIVO	S A H I
HM 1	PM 5	TRAYECTO DE LA PUNCIÓN	PERIHEPATITIS CRONICA GRANULOMATOSA
HM 1	PM 5	S A M I	AUTOLISIS
HM 1	HM 531	HIGADO CONGESTIVO	NECROSIS SUBCAPSULAR FOCAL
HM 1	HM 531	ZONA NECROSIS DE 0.6 cm.	ZONA NECROTICA SUBCAPSULAR
HM 1	HM 531	NODULOS BLANQUECINOS 0.1 c/u	AUTOLISIS
HM 1	HM 531	ZONA NECROSIS DE 0.1 cm	HEPATITIS FOCAL REACTIVA
HM 1	HM 531	ZONAS NECROSIS 0.1 y 0.2	HEPATITIS FOCAL REACTIVA
HM 1	HM 531	HIGADO CONGESTIVO HEMORRAGICO	PERIHEPATITIS AGUDA FOCAL
HM 1	HM 531	HIGADO CONGESTIVO AL CORTE	PERIHEPATITIS AGUDA ABSCESADA FOCAL
HM 1	HM 531	ZONA NECROSIS DE 1x0.3 cm.	NECROSIS SUBCAPSULAR EXTENSA

I* inmunizada

D** desafiada

**TABLA 26.- Resultados de las observaciones macrocópicas del hígado y los diagnós-
 ticos en base a las alteraciones histopatológicas, vistas al microscopio
 de luz y electrónico cuando los animales fueron inmunizados con -
E. histolytica cepa HM 1, y desafiados con cepas heterólogas.**

CEPA I*	CEPA D**	OBSERVACIONES MACROSCOPICAS	DIAGNOSTICO
HM 1	HM 531	S A M I	PERIHEPATITIS AGUDA Y CRONICA
HM 1	AHA 1	HIGADO CONGESTIVO HEMORRAGICO	S A H I
HM 1	AHA 1	ZONA NECROSIS 0.4 cm.	PERIHEPATITIS CRONICA FOCAL
HM 1	AHA 1	ZONA NECROTICA HEMORRAGICA 1x1 cm.	HIGADO CON HEMORRAGIA EXTENSA Y NECROSIS BASOFILA FOCAL
HM 1	AHA 1	ZONA DE NECROSIS 0.3 cm.	S A H I
HM 1	AHA 1	HIGADO CONGESTIVO	AUTOLISIS
HM 1	AHA 1	ZONA NECROSIS 0.2 cm.	PERIHEPATITIS AGUDA FOCAL
HM 1	AHA 1	NODULOS HEMORRAGICOS AL CORTE	PERIHEPATITIS AGUDA FOCAL
HM 1	AHA 1	HIGADO CONGESTIVO	S A H I
HM 1	AHA 1	TRAYECTO DE LA PUNCION	PERIHEPATITIS AGUDA ABSCESADA
HM 1	AHA	ZONA DE NECROSIS DE 0.5 cm.	HEPATITIS AGUDA ABSCESADA
HM 1	HM 1	ZONA HEMORRAGICA SUPERFICIAL 0.5 cm.	HEMORRAGIA SUBCAPSULAR FOCAL
HM 1	HM 1	ZONAS HEMORRAGICAS DE 0.3 y 0.5 cm. HIG. CONGESTIVO	HEMORRAGICAS FOCALES AUTOLISIS
HM 1	HM 1	ZONAS HEMORRAGICAS DE 0.3 y 0.5 cm. HIGADO CONGESTIVO	HEMORRAGICAS FOCALES
HM 1	HM 1	ZONA HEMORRAGICA 0.3 cm.	AUTOLISIS
HM 1	HM 1	TRAYECTODE LA PUNCION	S A H I
HM 1	HM 1	NODULO BLANQUECINO DE 0.5 cm.	ABSCESO HEPATICO AMIBIANO
HM 1	HM 1	HEMATOMA 0.5 cm.	PERIHEPATITIS CRONICA GRANULO MATOSA FOCAL
HM 1	HM 1	HIGADO CONGESTIVO	HEPATITIS Y PERIHEPATITIS CRONICA GRANULOMATOSA FOCALES
HM 1	HM 1	S A M I	AUTOLISIS

Las alteraciones encontradas con los diferentes parámetros considerados - - para determinar el diagnóstico clínico están presentes en las tablas de la 27 a la 30.

TABLA 27 .- Investigación de las alteraciones histopatológicas encontradas en el hígado de los hámsters inmunizados con E. chattoni cepa - PM 4 y desafiados con cepas heterólogas.

CEPA I*	CEPA D**	ABSCESO	AMIBAS	INFLAMACION	LINFOCITOS	F N ?	MACROFAGOS	CELULAS PLASMATICAS	FIBROBLASTOS	MICROORGANISMO	ESFERULAS	GRANULOMAS	NECROSIS	CELULAS BINUCLEADAS	CELULAS EPITELOIDES
PM 4	PM 4	3/4	3/4	4/4	4/4	4/4	4/4	4/4	4/4	0/4	0/4	4/4	2/4	2/4	2/4
PM 4	PM 5	4/4	3/4	4/4	4/4	3/4	4/4	2/4	3/4	3/4	1/4	3/4	1/4	1/4	1/4
PM 4	HM 531	1/5	1/5	5/5	5/5	1/5	5/5	2/5	3/5	0/5	0/5	2/5	1/5	1/5	1/5
PM 4	AHA 1	2/2	2/2	2/2	2/2	2/2	2/2	1/2	2/2	0/2	0/2	2/2	2/2	1/2	1/2
PM 4	HM 1	0/2	0/2	2/2	2/2	0/2	1/2	0/2	2/2	0/2	0/2	0/2	0/2	0/2	0/2

I* inmunizada

D** desafiada

TABLA 28 .- Investigación de las alteraciones histopatológicas encontradas en el hígado de los hámsters inmunizados con E. chattoni cepa PM 5 - (I), E. histolytica cepa HM 531(II) y desafiados con cepas heterólogas.

(I)

CEPA I*	CEPA D**	ABSCESO	AMIBAS	INFLAMACION	LINFOCITOS	P M H	MACROFAGOS	CELS. PLASMATICAS	FIBROBLASTOS	MICROGANISMIOS	ESFERULAS	GRANULOMA	NECROSIS	CELS. BI NUCLEADAS	CELS. EPI TELOIDES
PM 5	PM 4	0/5	0/5	4/5	4/5	0/5	0/5	4/5	4/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	4/5
PM 5	PM 5	0/4	2/4	4/4	4/4	3/4	4/4	3/4	2/4	0/4	0/4	3/4	0/4	0/4	0/4
PM 5	HM 531	1/5	2/5	5/5	5/5	4/5	3/5	3/5	2/5	0/5	1/5	3/5	0/5	2/5	2/5
PM 5	AHA 1	0/2	0/2	1/2	1/2	0/2	2/2	1/2	1/2	0/2	1/2	0/2	0/2	0/2	0/2
PM 5	HM 1	0/2	0/2	2/2	2/2	0/2	1/2	0/2	0/2	0/2	0/2	1/2	0/2	0/2	0/2

(II)

CEPA I*	CEPA D**	ABSCESO	AMIBAS	INFLAMACION	LINFOCITOS	P M H	MACROFAGOS	CELS. PLASMATICAS	FIBROBLASTOS	MICROGANISMIOS	ESFERULAS	GRANULOMA	NECROSIS	CELS. BI NUCLEADAS	CELS. EPI TELOIDES
HM 531	PM 4	1/5	1/5	3/5	3/5	4/5	2/5	1/5	2/5	0/5	1/5	2/5	1/5	1/5	1/5
HM 531	PM 5	2/3	2/3	2/3	2/3	2/3	1/3	1/3	2/3	0/3	0/3	2/3	2/3	0/3	1/3
HM 531	HM 531	1/3	0/3	3/3	3/3	3/3	2/3	1/3	1/3	0/3	0/3	1/3	0/3	0/3	0/3
HM 531	AHA 1	3/5	2/5	5/5	5/5	4/5	5/5	3/5	3/5	0/5	0/5	3/5	2/5	0/5	0/5
HM 531	HM 1	3/4	2/4	4/4	4/4	3/4	4/4	4/4	3/4	0/4	0/4	2/4	1/4	0/4	0/4

I* inmunizada

D** desafiada

TABLA 29 .-Investigación de las alteraciones histopatológicas encontradas en el hígado de los hámsters inmunizados con E. histolytica cepa -- AHA 1 y con E. histolytica cepa AHA 1 ady, y desafiados con cepas heterólogas.

CEPA I*	CEPA D**	ABSCESO	AMIBAS	INFLAMACION	LINFOCITOS	P M N	MACROFAGOS	CELULAS PLASMAT.	FIBROBLASTOS	MICROORGANISMOS	ESFERULAS	GRANULOMAS	NECROSIS	CELS. BI-NUCLEADAS	CELS. EPITELOIDES
AHA 1	PM 4	4/5	4/5	5/5	5/5	4/5	4/5	0/5	0/5	0/5	0/5	4/5	4/5	3/5	4/5
AHA 1	PM 5	4/5	2/5	5/5	5/5	3/5	4/5	1/5	0/5	0/5	0/5	2/5	3/5	3/5	3/5
AHA 1	HM 531	2/5	1/5	5/5	5/5	2/5	3/5	2/5	1/5	0/5	0/5	4/5	1/5	1/5	1/5
AHA 2	AHA 1	1/5	1/5	5/5	5/5	2/5	4/5	1/5	2/5	0/5	0/5	2/5	1/5	1/5	1/5
AHA 1	HM 1	4/5	0/5	5/5	5/5	3/5	3/5	0/5	0/5	0/5	0/5	1/5	0/5	0/5	0/5

CEPA I*	CEPA D**	ABSCESO	AMIBAS	INFLAMACION	LINFOCITOS	P M N	MACROFAGOS	CELULAS PLASMAT.	FIBROBLASTOS	MICROORGANISMOS	ESFERULAS	GRANULOMAS	NECROSIS	CELS. BI-NUCLEADAS	CELS. EPITELOIDES
AHA 1ady	PM 4	1/2	0/2	1/2	1/2	1/2	0/2	1/2	0/2	0/2	1/2	0/2	0/2	0/2	0/2
AHA 1ady	PM 5	1/4	1/4	3/4	3/4	2/4	3/4	1/4	0/4	0/4	2/4	2/4	0/4	0/4	0/4
AHA 1ady	HM 531	2/4	2/4	4/4	4/4	3/4	2/4	2/4	0/4	0/4	1/4	1/4	0/4	0/4	0/4
AHA 1ady	AHA 1	5/5	5/5	5/5	5/5	0/5	0/5	0/5	4/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
AHA 1ady	HM 1	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	1/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3

I* inmunizada D** desafiada.

TABLA 10.- Investigación de las alteraciones histopatológicas en el hígado de los hámster inmunizados con E. histolytica cepa HM 1, y desafiados con cepas heterólogas.

CEPA I*	CEPA D**	ABSCESO	AMIBAS	INFLAMACION	LINFOCITOS	P M N	MACROFAGOS	CELULAS PLASMATICAS	FIBROBLASTOS	MICROORGANISMOS	ESFERULAS	GRANULOMA	NECROSIS	CELULAS SINUCLEADAS	CELULAS EPITELOIDES
HM 1	PM 4	3/8	3/8	8/8	8/8	7/8	7/8	2/8	4/8	0/8	2/8	5/8	3/8	1/8	0/8
HM 1	PM 5	1/9	1/9	8/9	8/9	6/9	2/9	1/9	0/9	0/9	2/9	1/9	0/9	0/9	0/9
HM 1	HM 531	1/9	2/9	7/9	7/9	5/9	2/9	0/9	1/9	0/9	0/9	0/9	0/9	1/9	0/9
HM 1	AHA 1	3/10	0/10	3/10	3/10	3/10	1/10	1/10	0/10	0/10	1/10	1/10	0/10	0/10	0/10
HM 1	HM 1	1/9	1/9	1/9	1/9	1/9	3/9	0/9	1/9	0/9	0/9	3/9	1/9	1/9	0/9

I* inmunizada

D** desafiada

Así mismo la Fig. 1 muestra una amiba vista al microscopio electrónico de - -
E. histolytica cepa HM 1.



Fig. 1 .- E. histolytica cepa HM 1 obtenida del hígado abscesado de un ani--
mal no inmunizado en donde no se observan alteraciones citológicas
en ella, vista al microscopio electrónico 5130X.

Con el objeto de ver las alteraciones citológicas producidas en ella cuando - se aislo de un animal protegido se presenta en la Fig. 2, la cual muestra la imagen de esta amiba en un mayor aumento

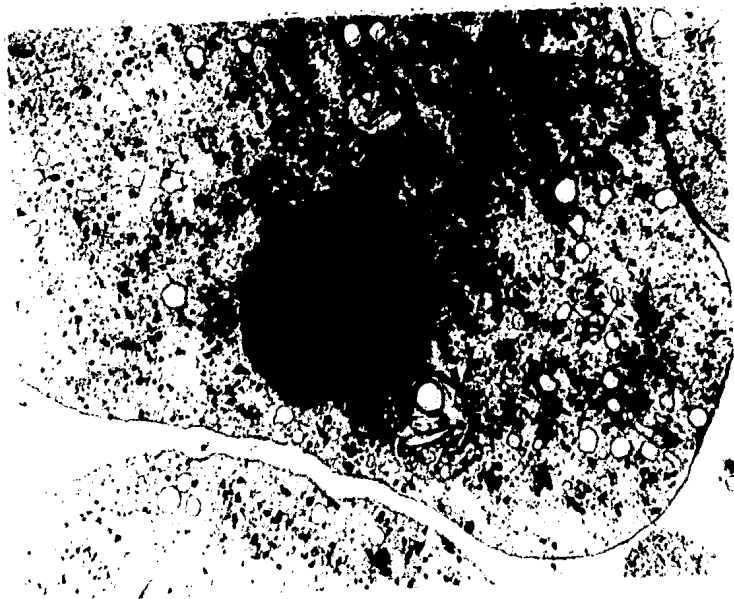


Fig. 2 .- E. histolytica cepa HM 1 obtenida del hígado abscesado de un animal no inmunizado en donde no se observan alteraciones citológicas en - ella, vista al microscopio electrónico 8640X.

La Fig. 3 señala la imagen de un granuloma hepático.

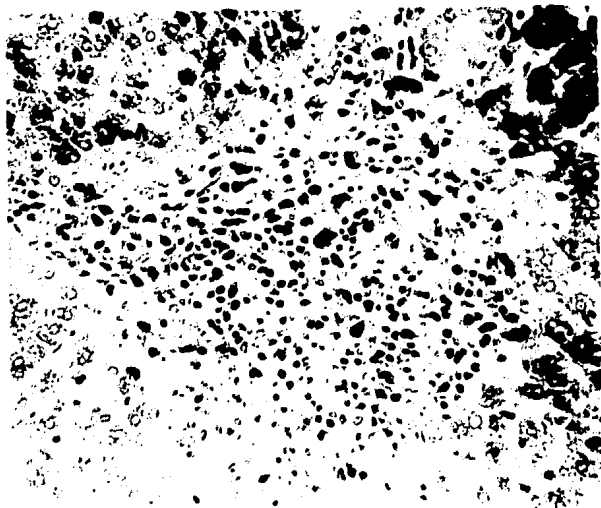


Fig. 3 .- Imagen de un granuloma en el tejido hepático de un animal no protegido en donde no se observan alteraciones citológicas visto al microscópio de luz.

En las Figs. 4 y 5 se observan los diferentes grados de perihepatitis

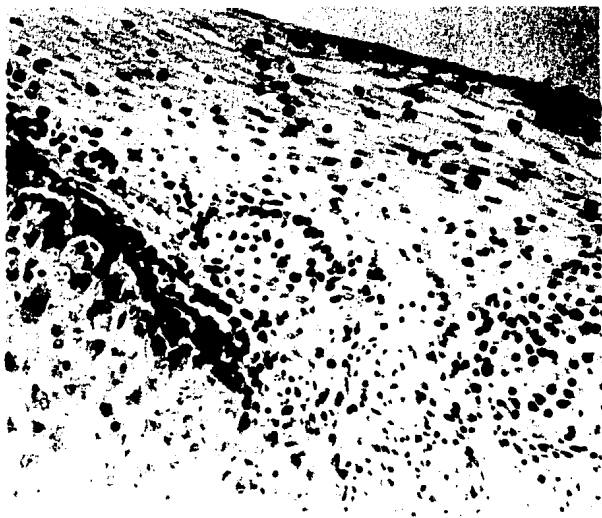


Fig. 4 .- Imagen de una perihepatitis crónica en un tejido hepático de un ani
mal no protegido donde no se observan alteraciones citológicas, vis
ta al microscopio de luz.

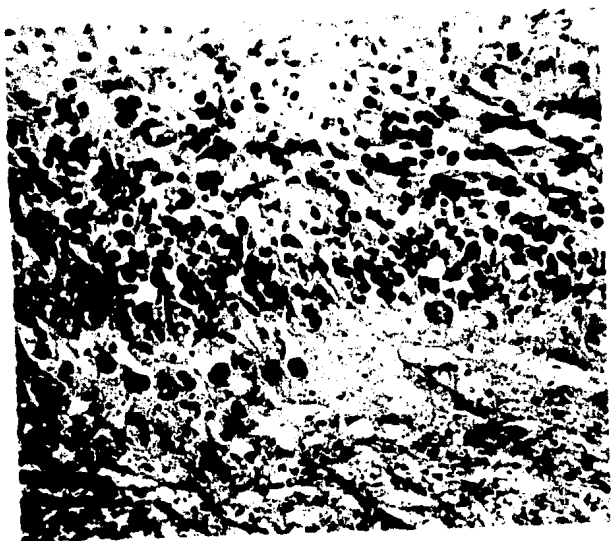


Fig. 5 .- Muestra una perihepatitis aguda en un tejido hepático de un animal no protegido donde no se observan alteraciones citológicas, vista al microscopio de luz.

Así mismo se muestran dos imágenes de E. Chattoni cepa PM 4 representadas en las Figs. 6 y 7 encontradas en animales protegidos y no protegidos.

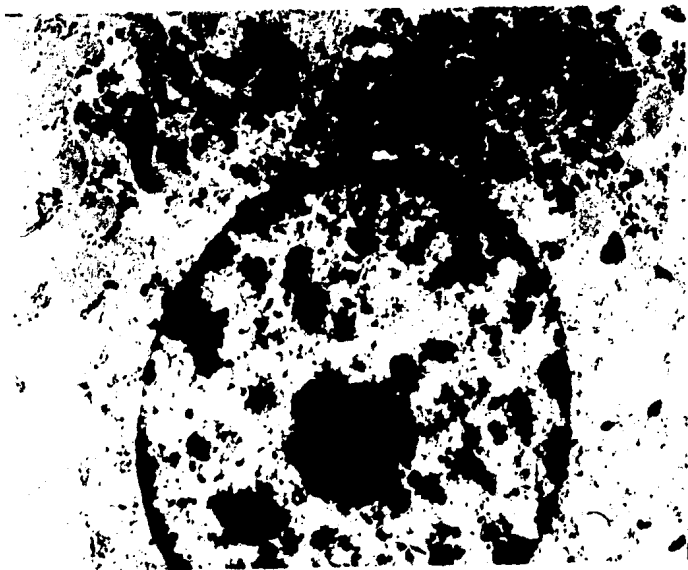


Fig. 6 .- E. chattoni cepa PM 4 en el tejido hepático de un animal no protegido, vista al microscopio electrónico 4600X.

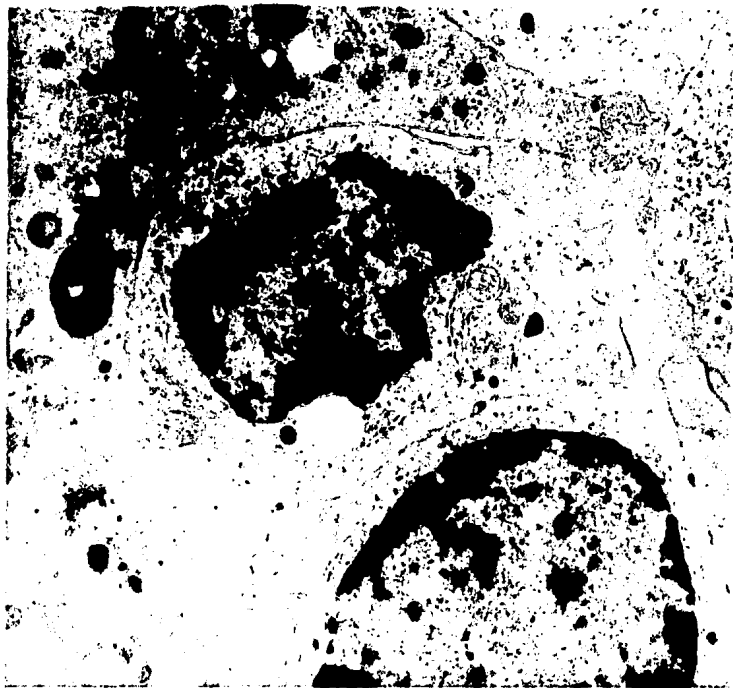


Fig. 7 .- E. Chattoni cepa PM 4 en el tejido hepático de un animal protegido,
vista al microscopio electrónico 4600X.

Con respecto a E. chattoni cepa PM 5, la Fig. 8 muestra a las amibas con menor destrucción celular.

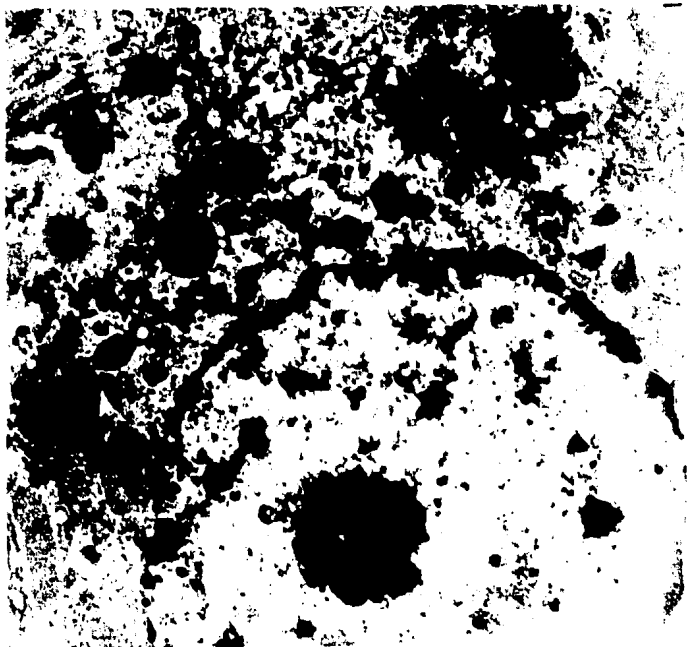


Fig. 8 .- E. chattoni cepa PM 5 dentro del tejido hepático de un animal no -
inmunizado, vista al microscopio electrónico 4600X.

La Fig. 9 presenta las alteraciones producidas durante el proceso de destrucción celular localizadas en los hígados de animales protegidos.

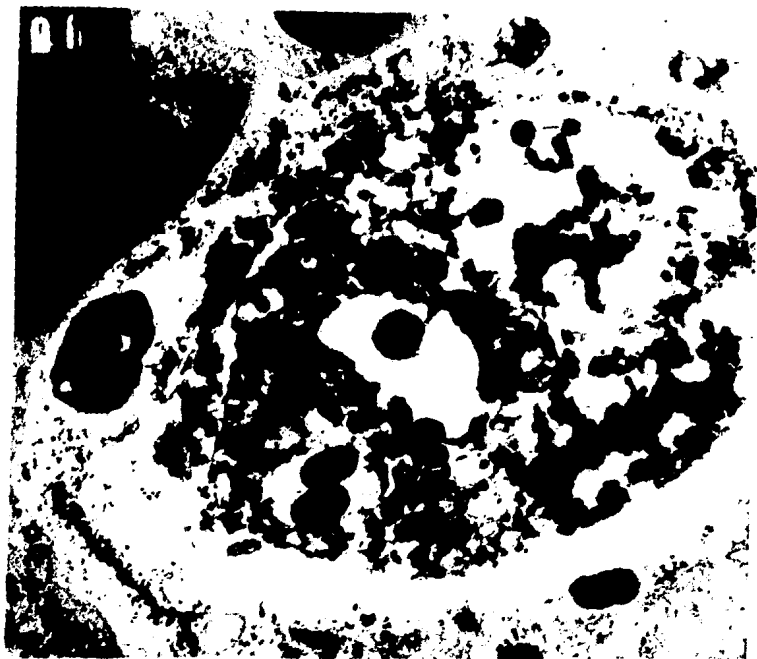


Fig. 9.- E. chattoni cepa PM 5 dentro del tejido hepático de un animal inmunizado, vista al microscopio electrónico 4600X.

La Fig. 10 presenta los resultados observados con las amibas de E. histolytica cepa AHA 1 que muestra el proceso de destrucción celular presentes en el absceso hepático amibiano de un animal inmunizado.

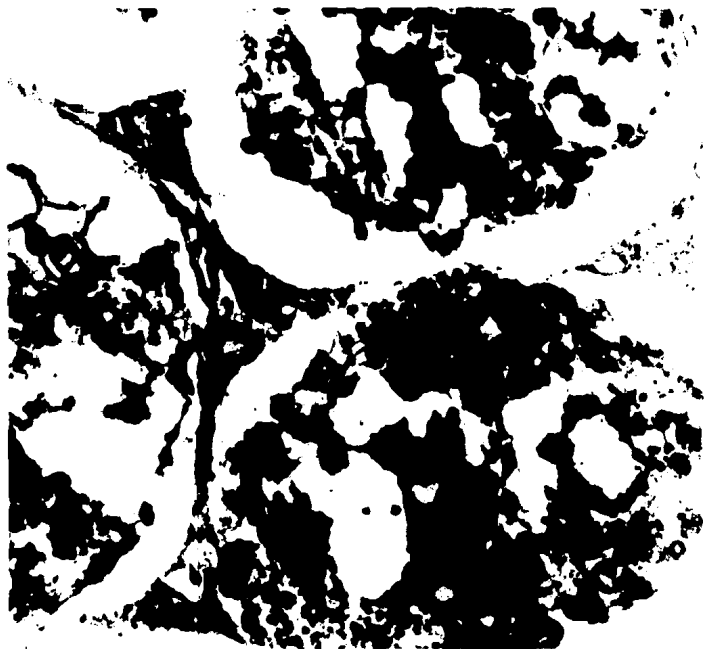


Fig. 10.- E. histolytica cepa AHA 1 presentes en un absceso hepático amibiano de un animal inmunizado, vista al microscopio electrónico 4600X.

La Fig. 11 muestra a una amiba obtenida del hígado de los animales con absceso hepático amibiano, vistas al microscopio de luz.

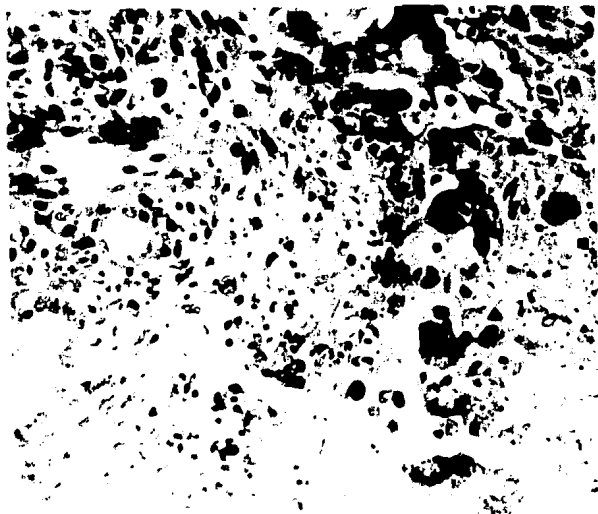


Fig. 11.- Absceso hepático amibiano formado en un animal no protegido y desafiado intrahepáticamente con 500×10^3 trofozoitos, de E. histolytica cepa HM 1, visto al microscopio de luz.

En relación a E. histolytica cepa HM 531, se presenta la Fig 12 cuando las amibas se localizan en el tejido hepático de un animal protegido, durante el proceso de destrucción celular.

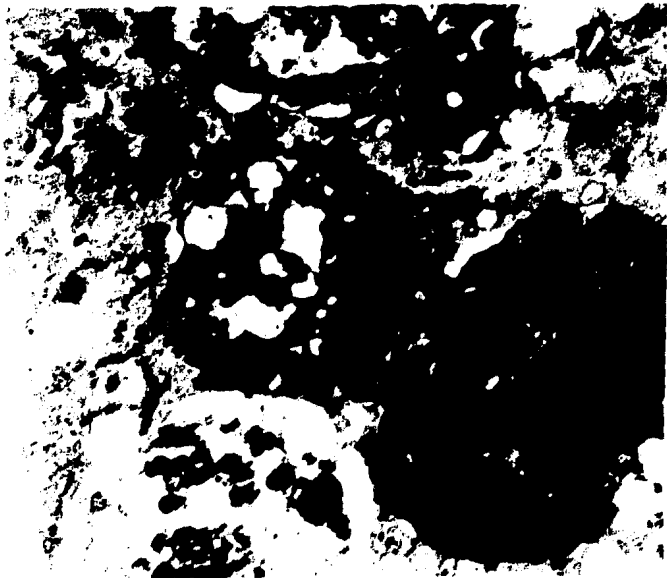


Fig 12.- E. histolytica cepa HM 531 durante el proceso de destrucción celular en el hígado de un animal protegido vista al microscopio electrónico 4600X.

C A P I T U L O V I I

C O M E N T A R I O S

El aislamiento de antígenos de E. histolytica, tiene importancia por la posibilidad que representa al poder inducir inmunidad protectora en el huésped que interfiriera con el desarrollo de la enfermedad producida por este parásito, así como de su invasividad al instalarse en el hígado causando absceso hepático amibiano.

Los trabajos de Krupp (12), mostraron que es posible inmunizar con amibas completas así como con sus fracciones antigénicas - mostrando los títulos de anticuerpos por hemaglutinación indirecta. Igualmente Sepulveda y Vinayak (21, 27), al inmunizar con antígenos completos en cobayos, mostraron la protección al desarrollo de AHA en estos animales cuando fueron desafiados con trofozoitos de amibas.

Estos trabajos nos motivaron para llevar a cabo un estudio investigando la posibilidad en donde mediante la inducción de inmunidad protectora en el hámster con una cepa, ésta fuese capaz de proteger contra la invasión de otras cepas de E. histolytica, así como de las cepas de amibas pertenecientes a especies biológicas diferentes como es E. chattoni, lo cual nos hablaría de semejanzas antigénicas entre cepas cuando estas fueran utilizadas en el desafío intrahepático manifestandose por la falta de alteraciones histológicas hepáticas, así como ausencia de AHA, todos estos observando al microscopio de luz y electrónico.

La manifestación de la capacidad antigénica en las 5 cepas en estudio se determinó por el título de anticuerpos presentes durante la inmunización y el tratamiento estadísticos de los resultados obtenidos. Con el objeto de saber si éstas eran semejantes o diferentes entre ellas. La tabla 13 mostró claras diferencias con respecto a E. chattoni, cepa PM4 cuando ésta fue comparada con las otras cepas del estudio con excepción de E. histolytica, cepa HM1, ya que su análisis de correlación no presentó una diferencia estadísticamente significativa, lo que nos habló de diferencias antigénicas entre ellas y con E. histolytica, cepa HM 1 .

Con respecto a E. chattoni, cepa PM 5, ésta presentó diferencias estadísticamente significativas con E. histolytica, cepa AHA 1 y E. histolytica, cepa AHA 1 ady, por lo que inferimos que poseen antígenos diferentes. En relación con el análisis del título de anticuerpos de E. histolytica, cepa HM 531, se observaron diferencias estadísticamente significativas con respecto a E. histolytica, cepa AHA 1, hablandonos también de diferencias antigénicas y por lo que respecta a E. histolytica cepa AHA 1, cuando ésta fue comparada al ser inmunizada en presencia de adyuvante y sin adyuvante, lo cual nos habla de la diferente respuesta del animal cuando un mismo antígeno se presenta en forma diferente.

Por lo que inferimos que las capacidades antigénicas de las 5 .

cepas en estudio son diferentes.

El análisis estadístico relacionado con los títulos de anticuerpos cuando estos animales fueron desafiados, mostró que E. chattoni, cepa PM 5 presentó diferencias estadísticamente significativas con respecto a E. chattoni, cepa AHA 1 ady, lo cual nos habla de alguna semejanza antigénica, sin embargo no presentó diferencias estadísticamente significativas con E. histolytica, cepa HM 1, lo que interpretamos como una diferencia antigénica.

En relación a E. histolytica, cepa HM 531, esta presentó diferencias estadísticamente significativas con E. histolytica, cepa AHA 1, E. histolytica, cepa AHA 1 ady, E. chattoni, cepa PM 4, y E. histolytica, cepa HM 1, lo que nos habla de semejanza antigénica respecto al estudio estadístico de E. histolytica cepa AHA 1, presentó diferencias estadísticamente significativas con E. chattoni, cepa PM 4, y E. histolytica, cepa HM 1, infiriendo también semejanza antigénica.

En relación al tratamiento estadístico llevado a cabo con los títulos de anticuerpos obtenidos con E. histolytica, cepa AHA 1 ady, se observaron diferencias entre los títulos de anticuerpos presentes en la inmunización y después del desafío, lo que dio lugar a diferencias estadísticamente significativas con E. histolytica, cepa HM 1, y E. histolytica, cepa HM 531, hablandonos de semejanza antigénica. En el estudio estadístico -

referente a este mismo parámetro con E. histolytica, cepa HM 1 se observó que no presentó diferencias estadísticamente significativas con E. chattoni, cepa PM 4, E. chattoni, PM 5, E. histolytica, cepa HM 531, E. histolytica, cepa AHA 1, y con E. histolytica, cepa AHA 1 ady, lo que interpretamos como diferencias antigénicas entre ellas.

Con el objeto de saber si los títulos de anticuerpos fueron incrementados después del desafío, el análisis estadístico de la probabilidad mostrado en la tabla 15, presento que con E. chattoni, cepa PM 4, no hubo diferencias estadísticamente significativas entre los títulos de anticuerpos observados después del desafío, es decir todas las cepas de alguna forma presentaron antígenos no comunes a E. chattoni, cepa PM 4, lo cual se observa en la tabla 13, esto se correlaciona con el resultado de la diferencia estadísticamente significativa con respecto a las otras cepas del estudio.

En lo que se refiere a E. chattoni, cepa PM 5, como ya habíamos observado las diferencias fueron solamente con E. histolytica cepa HM 531, lo que nos indicó que presentó diferencias estadísticamente significativas con las 4 cepas restantes cuando estas fueron utilizadas al desafío, lo cual interpretamos como semejanzas antigénicas que se manifestó por el incremento en el título de anticuerpos.

Con respecto a E. histolytica, cepa AHA 1 ady, las correlacio-

nes nos mostraron diferencias estadísticamente significativas con las cepas inmunizadas en los animales por que inferimos - que los títulos de anticuerpos aparentemente se incrementaron, ya que los índices no presentaron diferencias estadísticamente significativas.

En relación con E. histolytica, cepa AHA 1, como ya se había visto los títulos de anticuerpos después del desafío no presentaron diferencias estadísticamente significativas a juzgar por los datos de probabilidad presentados con E. chattoni, cepa PM 4, y E. chattoni, cepa PM 5, lo que nos hablo de diferen -- cias antigénicas entre ellas al no dar como resultado diferencias estadísticamente significativas no hubo semejanza antigénica con E. histolytica, cepa AHA 1.

Por lo que respecta a E. histolytica, cepa HM 531, los títulos de anticuerpos fueron diferentes posteriores al desafío y esta -- dísticamente significativos con E. chattoni, cepa PM 4, y -- E. histolytica, cepa HM 531, y E. histolytica, cepa AHA 1, no hubo diferencias estadísticamente significativas, es decir que nos hablo de semejanzas antigénicas con E. histolytica, cepa -- AHA 1 ady, y E. chattoni, cepa PM 5, los títulos de anticuer -- pos incrementados con respecto a E. chattoni, cepa PM 5, E. -- histolytica, cepa AHA 1, y E. histolytica, cepa AHA 1 ady, nos hace pensar que los determinantes antigénicos de estas cepas -- son semejantes.

C A P I T U L O V I I I

R E S U M E N

Entamoeba chattoni cepa PM 4.-

- Esta cepa de amiba fue capaz de producir experimentalmente abscesos hepáticos amibianos en el hámster por si sola.
- Cuando se inmunizó con ella fue poco antigénica, pero protegió al hámster del desafío intrahepático con amibas vivas de su propia cepa.
- La inmunización con el antígeno obtenido de esta cepa y el desafío intrahepático con E. chattoni, PM 5, no protegió ya que se produjo el 75% de abscesos hepáticos amibianos.
- Inferimos que este antígeno fue semejante al de E. histolytica, cepa HM 531, porque al desafío con esta cepa protegió en el 80% de los casos al desarrollo del absceso hepático amibiano.
- Pensamos que este antígeno fue diferente al de E. histolytica, cepa AHA 1, ya que en el 100% de los casos se observó la formación de abscesos hepáticos amibianos.
- De este antígeno se piensa que tiene semejanzas al antígeno de E. histolytica, cepa HM 1, ya que no observó la presencia de abscesos hepáticos amibianos en el 100% cuando se desafió con esta cepa.

Entamoeba chattoni cepa PM 5.-

- Esta cepa fue capaz de producir experimentalmente abscesos hepáticos amibianos por si sola.

- Cuando se inmunizó y se desafió intrahepáticamente con ella misma, no produjo absceso hepático amibiano.
- Se pensó que hay una semejanza entre E. chattoni, PM 5, y el antígeno de E. chattoni, PM 4, ya que en el 100% de los casos protegió de la formación de absceso hepático amibiano.
- La inmunización de este antígeno y el desafío experimental con E. histolytica, HM 531, no produjo absceso hepático amibiano, lo que nos indica parcial semejanza antigénica.
- Al inmunizar con el antígeno y desafiar con E. histolytica, AHA 1, protegió del desafío con esta cepa ya que no produjo absceso hepático amibiano en el 100%.
- La presencia de este antígeno en el animal fué capaz de proteger contra el desafío con E. histolytica - HM 1, pues no produjo absceso hepático amibiano en el 100%.

Entamoeba histolytica cepa HM 531.-

- Esta cepa por sí sola fué capaz de producir experimentalmente abscesos hepáticos amibianos.
- Cuando se inmunizó y se desafió intrahepáticamente con su propia cepa no se observó la formación de absceso hepático amibiano.
- La inmunización de este antígeno y el desafío con E. chatto-

ni PM 4, pensamos que produjo anticuerpos protectores, ya que en el 100% de los casos, no hubo absceso hepático amibiano.

- La presencia de este antígeno en el animal de experimentación no lo protegió del desafío con E. chattoni PM 5, pues se observó que solo en el 20 % no se produjo absceso hepático amibiano.
- Al inmunizar con esta cepa y desafiar con E. histolytica, AHA 1, los resultados se interpretaron con una relativa semejanza antigénica, ya que los anticuerpos que se produjeron no fueron los protectores.
- Respecto a esta cepa inmunizada y al desafío intrahepático con E. histolytica, HM 1, dió la impresión que los anticuerpos que se formaron después de la inmunización fueron diferentes pues produjeron en el 25 % absceso hepático amibiano posiblemente los anticuerpos no fueron los protectores.

Entamoeba histolytica cepa AHA 1.-

- Esta cepa fué capaz de producir absceso hepático amibiano por sí sola.
- Cuando se inmunizó y se desafió con ella misma protegió en el 80% de los casos.
- Al inmunizar con el antígeno de esta cepa y al desafiar con E. chattoni PM 4, no protegió ya que solo en el 20 % no se observaron absceso hepático amibiano.

- La inmunización con este antígeno y el desafío con E. chattoni PM 5, aparentemente protegió parcialmente ya que solo en el 60 % se observó la formación de absceso hepático amibiano y los anticuerpos presentes no fueron los protectores.
- Cuando se inmunizó con este antígeno y se desafió con E. histolytica HM 531, protegió en el 80 % por lo que pensamos que los anticuerpos con protectores y antigenicamente semejantes.
- Este antígeno inmunizado y desafiado con E. histolytica HM 1 protegió en el 100 % de los casos, por lo que pensamos en que estos anticuerpos fueron protectores.

Entamoeba histolytica cepa HM 1.-

- Esta cepa por sí sola fué capaz de producir absceso hepático amibiano en el hámster.
- Esta cepa fué protectora cuando se inmunizó y se desafió intrahepáticamente con ella misma, ya que no se observó la formación de absceso hepático amibiano.
- La inmunización con este antígeno y el desafío con E. chattoni PM 4, fueron parcialmente semejantes, ya que no hubo desarrollo de absceso hepático en el 75 %, lo que nos habló de semejanza antigénica.
- Al inmunizar con este antígeno y al desafiar con E. chattoni PM 5, protegió en el 89 %, por lo que parece indicar que -- existe una semejanza antigénica y que los anticuerpos fueron protectores.

- Cuando se inmunizó con este antígeno y se desafió con E. histolytica HM 531, protegió en el 100%, de lo que podríamos -- pensar, que los determinantes antigénicos son semejantes y - que los anticuerpos formados fueron protectores.

- Al inmunizar con este antígeno y desafiar con E. histolytica AHA 1, protegió en el 100%, por lo que pensamos en semejanza antigénica y en anticuerpos protectores.

C A P I T U L O I X

B I B L I O G R A F I A

- 1.- Ahued R.M. "Purificación parcial de antígenos de superficie de diferentes cepas de E. histolytica, y obtención de algunos anticuerpos específicos." Tesis Profesional. Universidad Motolinía A.C. 1982.
- 2.- Arroyo A.B. y cols. "Alteración del enquistamiento de E. invadens por calcofluor m2r." Arch. Invest. Med. (Mex) 1982, 13 (Sulp 3); 13.
- 3.- Burrows R.B. y cols. "E. polecki infection in man." Am. J. Hyg. 62 : 156 - 157. 1955.
- 4.- Culbertson C.G. and Harper K. "Surface coagglutination with formalinized, strained protein a staphylococci in the immunologic study of three pathogenic amebae". Am.J. Trop. Hyg. 29 (5), 1980, 785-794.
- 5.- Estrada L.L. "Purificación Parcial e Investigación de la actividad protectora de las fracciones proteicas obtenidas de tres cepas de E. histolytica, y dos de E. chattoni." Tesis Profesional. Universidad Motolinía. 1985.
- 6.- Gutiérrez T.G. "Características principales de la amibiasis invasora en el niño. Actualización de algunos conceptos clínicos y epidemiología." Arch. Invest. Med. (Mex). Vol. II Supl 1. 1980.
- 7.- Hartmann D.P. y cols. "Enzyme linked immunosorbent assay (ELISA), test in the serodiagnosis of experimental hepatic amebiasis." J. Parasitol. 66(2), 1980 344-345.

- 8.- Ishaq M. and Padma M.C. "Antigenic variations among strains of E. histolytica." *Animals of Tropical Medicine and Parasitology*. Vol. 74. No. 3 1980.
- 9.- Jiménez C.E., Kumate J. "Correlación clínica de zimodemos de E. histolytica". *Arch. Invest. Med. (Mex)* Vol. 13 -- Supl 3. 1982.
10. Kasprzak W. "Biological characteristics of the strains of E. histolytica from the carries in Poznan Palatinate". - *Acta parasitologica Polonica*. Warszawa 31. VIII 1961. -- Vol IX Fasc 17.
11. Koffler D. and cols. "Antibodies to polynucleotide in -- human sera. Antigenic specificity and relation to disease." *J. Exp. Med.* 134-294 1971.
12. Krupp I. "protective immunity to amebic infection de monstrated in guinea pigs." *Am.J. Trop. Med. Hyg.* No. 3 Vol 23 1973.
13. Levin N.D. "Protozoa parasitos of domestic animals and -- men." Burgess Publishing Minnesota 1961.
14. Masood A. and Sohail A. "Immunogenicity of Entamoeba histolytica antigen fractions". *Trans. Roy. Soc. Trop. Med.* -- Hyg. Vol 68. No. 5 1974.
15. Myjak Przemyskeaw. "Comparative studies of the antigenic - proprieties of indigenous and imported strains of E. his-

- tolytica." Biuletyn of the Institute of Marine Medicine in Gdansk. No. 3/4. Vol XXI. 1970.
- 16.- Osisanya J.O.S. and cols. "Specific antiamebic immunoglobulins and the cellulose acetate precipitin, test in - - - E. histolytica, infection." Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg Vol 74. No.5, 1980.
- 17.- Pillai S. and cols. "A radioimmunoprecipitation polyethylene glycol assay for circulating E. histolytica antigens"- J.of Immunological Methods 55 (1980). 273-276.
- 18.- Sadun E. and cols. "The effect of ascorbic acid deficiency on the resistance of guinea pigs to infection with - - - E. histolytica of human origin." Am. J. Trop. Med. 31, 1951.
- 19.- Sargeant P.G., Williams J.E., Kumate J., Jiménez C.E. "The epidemiology of the E. histolytica in Mexico city. A pilot survey." J. Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg. 74; 5, 1980.
- 20.- Sargeant P.G. and Williams J.E. "Electrophoretic isoenzyme patterns of E. histolytica and E. chattoni in a primate - - survey." J. Protozoo 2,1. 136-139. 1982.
- 21.- Sepulveda B. y cols. "Inducción de inmunidad antiamebiana en el hámster con antígenos obtenidos de cultivos axénicos de E. histolytica." Arch. Invest. Med. (Mex). Vol 2. Supl 1 -- 1971.
- 22.- Sepulveda B. "La amebiasis invasora por E. histolytica." - - Gaceta Medica de México. 100;101-253. 1970.

- 23.- Sepulveda B. and cols. "Avances en la técnica de contrainmu
noelectroforesis para el estudio serológico de la amebiasis.
Arch. Invest. Med. (Mex). Vol 3. Supl 2. 1972.
- 24.- Stamm W.P. and Phillips E.A. "Acetate membrane -
precipitin (CAP), test in the amebiasis." Trans. Roy. Soc.
Trop. Med. Hyg. Vol 71. No.6, 1977.
- 25.- Tanimoto M., Weki., and cols. "Resultados de la inoculación
al hámster de los trofozoítos obtenidos de portadores asin-
tomáticos de E. histolytica." Arch. Invest. Med. Vol 4. --
Supl. 1. 1973.
- 26.- Tanimoto M. "Inducción de inmunidad protectora antiamebiana
con nuevos antígenos en el hámster lactante. Técnicas mi-
croscópicas." Arch Invest. Med. Vol 9, Supl 11. 1978.
- 27.- Vinayak V.K. and cols. "Protective effect of crude and -
chromatographic fractions of axenic E. histolytica in gui-
nea pigs." Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg. Vol 74. No. 4
1980.