

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

**FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA
Y ZOOTECNIA**

**ESTUDIO SOBRE AMIBIASIS INTESTINAL
EXPERIMENTAL EN GATOS.**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA**

S U S T E N T A

SERGIO ROSAS MACEDO

1973



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 esta 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.

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

**FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA
Y ZOOTECNIA**



**ESTUDIO SOBRE AMIBIASIS INTestinal
EXPERIMENTAL EN GATOS.**

TESIS PROFESIONAL

SERGIO ROSAS MACEDO

1973

Rosas Macedo Sergio 1973

Este trabajo se realizó en la División de
Cirugía Experimental del Departamento
de Investigación Científica del Instituto
Mexicano del Seguro Social, 1973, bajo -
la dirección del M.V. Z. Alfredo Cortés
Arcos y la colaboración del M.V. Z. -
Pablo Hernández Jáuregui.

A mis padres

A Patty

A mis hermanos

Al Dr. Fernando Trujillo S.

Al M. V. Z. Alfredo Cortés Arcos

A mis maestros

**A todos aquellos que me -
brindaron apoyo y confianza**

INDICE

	Pág.
INTRODUCCION	1
MATERIAL Y METODO	6
RESULTADOS Y DISCUSION	8
CONCLUSION	11
BIBLIOGRAFIA	12

INTRODUCCION.

La medicina experimental desde hace muchos años, se ha considerado como base para tratar de encontrar las causas y posibles soluciones de muchas enfermedades que afectan al hombre y a los animales.

Varias especies de animales han sido utilizadas con el objeto de reproducir la amibiasis invasora por Entamoeba histolytica, entre ellas el cobayo, la rata, el conejo, el gato y otros.

Kartulis en 1891 (16), H'lava en 1887 (13), Kruse y Pascale en 1894 (17), reprodujeron disentería amibiana en el gato por medio de la inoculación intrarrectal, otros autores que repitieron el experimento con algunas modificaciones en lo que respecta a material y método de inoculación reportan resultados favorables.

Los trabajos de Cleveland y Sanders en 1930 (5), de Meleney y Frye en 1932 (18) y de Deschiens en 1935-38 (8), exponen una técnica de inoculación por vía intestinal practicando una laparatomía abdominal en el gato, se describen resultados satisfactorios que exponen un porcentaje de 79% comparado con un porcentaje de 5.9% obtenido con inoculaciones por vía rectal; otros autores en 1945 y 1958, repiten las experiencias de los investigadores referidos anteriormente, obteniendo resultados similares.

Chang en 1945 (24), habla del descenso de la virulencia y patogenicidad de los cultivos de E. histolytica en relación al gato.

Deschiens en 1938 (8), confirma la disminución de la infecciosidad de la amiba en relación al gato de un 75% a 5%, en un período de 2 a 3 meses, pero manteniendo la cepa en enquistamiento periódico y some

tiéndola a almacenamiento en frío a intervalos de 42 días; la infectividad se fijó en un 65% durante seis años.

A partir de 1965 se han descrito primero en Australia (3), y después en Estados Unidos casos de meningoencefalitis mortal causada por la amiba que vive libremente Naegleria gruberi (4).

En un caso reciente se aisló no solo del sistema nervioso central sino del hígado, bazo y pulmones lo que indica la diseminación hematógena del mismo. Estos descubrimientos muestran que amibas no parásitas pueden ser patógenos para el hombre y algunas especies animales, Cerva, E. U. 1968.

En la actualidad se cuenta con una nomenclatura para designar los procesos patológicos y los tipos de amibas que las causen, Sepúlveda 1970 (22).

AMIBIASIS INVASORA designa a E. histolytica, cuando es patógena y se nutre por histólisis, así mismo abarca todos los procesos patológicos causados por amibas que penetran en los tejidos.

PORTADOR SANO, es aquel individuo que alberga E. histolytica en su intestino, pero no presenta signos, síntomas o lesiones atribuibles al parásito.

Los conceptos anteriormente expuestos, han sido motivo de controversia por largo tiempo; Craig y Faust en 1951 (6), afirmaron que E. histolytica era un parásito obligatorio del hombre y que su presencia en el intestino significaba necesariamente un estado patológico, esta idea parece persistir en un gran número de médicos, más recientemente se ha modificado

este criterio, aceptándose que E. histolytica vive en calidad de comensal en el intestino bajo la forma denominada "minuta" llamada también "prequística" o "tetragena" (14) (11) (25), es la forma pequeña de E. histolytica que no es invasora y forma quistes alimentándose de bacterias y sustancias del contenido intestinal, por un mecanismo desconocido la forma "minuta" aumenta de tamaño, fagocita glóbulos rojos y penetra a los tejidos dando la forma "invasora" de E. histolytica incapaz de formar quistes, por lo cual el parásito tiene dos ciclos vitales :

Ciclo no patógeno.

Vive en la luz del intestino en la superficie de la mucosa y forma quistes detectables en las heces.

Ciclo patógeno.

Vive en el espesor de los tejidos, se nutre de productos de la histólisis, adopta la forma de trofozoito, se multiplica por división pero sin producir quistes.

Esta teoría es aceptada y tiene por base una serie de hechos clínicos, epidemiológicos y experimentales. Deschiens en 1938 (8); Wilmot en 1962 (25); Beaver en 1956 (1).

La historia del cultivo in vitro de E. histolytica - está representada por tres etapas :

- a) Los cultivos del paciente en asociación con flora bacteriana compleja o cultivos mixtos iniciados en 1925 (2).
- b) Los cultivos en asociación con una sola bacteria como el Bacteroides symbiosus (23), o con otro protozoario como Trypanosoma cruzi (2), cultivos llamados monoxénicos y

realizados entre 1948 y 1950.

- c) El cultivo de E. histolytica sin asociación alguna con otros microorganismos, denominado axénico. Diamond en 1961 (9), Diamond en 1968 (10).

En el estudio de E. histolytica se cuenta con la determinación de las siguientes enzimas. Por métodos bioquímicos se han identificado :

Proteolíticas	Tripsina
	amilasa
	maltasa
	glutaminasa
	estearasa
	deshidrogenasa succínica
	fosfoglucomutasa
	deshidrogenasa málica
	y las llamadas diaforasas

y por métodos histoquímicos se ha demostrado la presencia de fosfatasa alcalina y ácida, en el protozooario hialuronidasa ha sido motivo de discusión, pero es probable que cuando menos algunas cepas de E. histolytica contengan la enzima. Jurumilita en 1968 (15).

En la cepa H M 2 se confirmó la presencia de fosfatasa ácida y alcalina, ribonucleasa y deshidrogenasa glutámica, esto puede relacionarse con su poder histolítico. Estos descubrimientos demuestran una intensa actividad metabólica del parásito y seguramente permitirá conocer el mecanismo de E. histolytica para invadir los tejidos.

En las cepas de E. histolytica productoras de disentería amibiana en el gato, la patogenicidad se aumenta considerablemente con la asociación de bacilos tíficos (7).

Como consecuencia se ha formulado la teoría de que la amibiasis invasora es causada por un complejo etiológico que comprende - por una parte E. histolytica y por la otra las bacterias intestinales, actuando - sinérgicamente (19), (7).

Técnicas de inoculación que han sido utilizadas por diversos investigadores, Kartulis en 1886 (16), H'lava en 1887 (13), Kruse y Pascal en 1894 (17), practicaron la inyección intracecal de evacuaciones disentericas amibianas, por medio de una sonda intrarrectal.

Galliard y Brupt en 1912 (12) inyectaron intrarrectalmente con sonda depositando 10 ml. de mucosidades ricas en amibas retirando la sonda al animal en posición vertical con la cabeza hacia abajo y obturando el ano con un tapón de algodón con colodión, manteniéndolo ocluido por dos o tres días, para impedir la evacuación prematura.

Cleveland y Sanders en 1930 (5), Meleney y Frye en 1932 (18), Deschiens en 1936-38 (8), desarrollaron una técnica de inoculación - intestinal en la vía alta en el área prececal practicando laparotomía.

El objetivo del presente trabajo es establecer la - utilidad del gato como modelo experimental de amibiasis intestinal.

MATERIAL Y METODOS.

Se utilizaron treinta gatos de ambos sexos, con peso de 400-1,500 gramos, vacunados contra moquillo felino y estandarizados tanto al cautiverio como a la alimentación, estuvieron alojados en jaulas colectivas en grupos de diez, desde diez días antes del experimento, se dió un número - progresivo a cada uno de ellos y se anotó su peso.

Cultivo de amibas E. histolytica cepa H M 2, IMSS monoxénica, por tener asociado a la amiba el B. sinbiosus, 10 ml. conteniendo 50^6 trofozoitos en solución Ringer, proporcionados por el servicio de gastroenterología del Hospital General, C.M.N.

Aparato Gelman para inmunoelectroforesis.

Antígeno amibiano (E. histolytica, H K 9 antigen, laboratorio I. C. N. *).

Bajo anestesia general obtenida con una combinación de Diazepan y Ketamina a la dosis de 20 mg/K. y 5 mg/K. se sangraron los animales de la yugular obteniendo un mililitro de sangre para la primera prueba de contrainmunoelectroforesis que se realiza enfrentando el suero problema - con el antígeno en una placa de inmunodifusión; de ser positivo el suero busca al antígeno y se aglutina en líneas dadas por la unión antígeno anticuerpo, después de sangrados se les practicó una laparotomía paramedia del lado derecho postero umbilical a través de la cual se expuso el intestino en la porción denominada ileon, 4 ó 5 centímetros antes del ciego en el segundo grupo de diez -

* Int. Chem. Corp. Lab. Radioisotope.

animales y en el ciego en el primer grupo de diez se inyectó a ocho gatos con 0.30 ml. de cultivo de E. histolytica, correspondiente a 1.875,000 trofozoitos y a dos gatos de cada grupo de diez, se inyectó 1.0 ml. de E. histolytica correspondiendo a 5.000,000 de trofozoitos, se suturó el peritoneo y aponeurosis con surgete y la piel con puntos de Sarnoff.

El tercer grupo de diez animales, fué testigo sin inóculo.

Se observó a los animales durante diez días, al término de los cuales se sangraron de la yugular, la totalidad de gatos de los tres grupos, para practicar la segunda prueba de contrainmuno-electroforesis para determinar si hubo aumento en los anticuerpos anti-amibianos.

Se sacrificó a la totalidad de animales, enviándose una muestra de intestino del área posterior al sitio de inoculación para su examen histopatológico.

RESULTADOS Y DISCUSION.

Los datos siguientes fueron obtenidos de las pruebas de inmunolectroforesis e histopatología.

La primera prueba de inmunolectroforesis fué negativa en la totalidad de animales, lo cual nos indica que los animales no tuvieron contacto previo con el antígeno, a la segunda prueba de inmunolectroforesis la totalidad de gatos fué negativa, lo cual nos indica que después de la inoculación el aparato inmunocompetente no tuvo contacto con el antígeno.

Los animales presentaron diarrea durante dos días, lo cual indica que el inóculo irritó la mucosa intestinal, posiblemente debido a la gran cantidad de trofozoitos inoculados.

En las muestras de intestino, enviados para examen histopatológico, para determinación de lesiones, se observa, la ausencia total de cambios morfológicos intestinales, como los que describe la patología (25).

La cual describe que el efecto patógeno es ejercido por los trofozoitos formados a partir de quistes, que son la forma infectante, para producir sus efectos patógenos, la amiba debe localizarse en los tejidos o producir potentes exotoxinas o fenómenos de tipo mecánico, ambos hechos no demostrados. La penetración al epitelio es el factor primario en la invasión y se lleva a cabo por enzimas histolíticas. Es necesario que la amiba vaya acompañada de bacterias para que muestre su actividad patogénica, pero se desconoce la manera como se establece esta asociación sinérgica.

El intestino presenta lesiones que por lo general son superficiales, al principio son pequeñas áreas de necrosis producidas en

el sitio donde penetró el parásito y también pueden aparecer de aspecto nodular con una pequeña abertura en el centro, abundantes amibas, células destruidas y moco en el interior. Cuando el contenido es expulsado al exterior se forman las úlceras que aumentan tanto hacia los lados como en profundidad, formándose un aspecto de red, pues junto a las úlceras, se encuentra tejido sano. En casos graves, la amiba puede alcanzar la serosa y perforar el intestino (21).

El método utilizado en el presente estudio trató de no modificar las condiciones experimentales, usamos la cepa monoxénica de E. histolytica en la cual B. simbiosus que está en asociación con la amiba, es apatógeno por sí solo, lo cual no podía dar respuesta ambigua. Se usó una cantidad grande de amibas lo cual puede causar que el intestino se irrite y expulse las mismas. Se debe pensar en utilizar diferentes dosis de amibas y también en la asociación con Bacterias para establecer el modelo experimental, como lo hicieron Meleney y Frye en 1932-1933 (18) que reportaron 54.8% casos de amibiasis intestinal usando un cultivo que contenía una gama desconocida de bacterias, pero no mencionan la cantidad de amibas utilizadas, en estos trabajos no se encuentran datos de examen histopatológico, con lo cual se puede comprobar la Enteritis amibiana.

GRUPO	PESO*	D. E. h.	1a. C.I.E.	2a. C.I.E.	E. H.
I	1,270**	5.000,000	Negativo	Negativo	Negativo
	700***	1.875,000	Negativo	Negativo	Negativo
II	1,300**	5.000,000	Negativo	Negativo	Negativo
	700***	1.875,000	Negativo	Negativo	Negativo
III	750gr.*	Sin inóculo	Negativo	Negativo	Negativo

*	Peso promedio	D. E. h.	Dosis <u>E. histolytica</u>
**	2 animales	C. I. E.	Prueba contrainmuno-electroforesis
***	8 animales	E. H.	Examen histopatológico

CONCLUSION.

Bajo las condiciones experimentales de inoculación intestinal cecal y prececal, utilizando dos dosis diferentes de trofozoitos de E. histolytica no se logró reproducir la enteritis amibiana en gatos.

BIBLIOGRAFIA

1. - Beaver (P.C.) Experimental *Entamoeba histolytica* infection in man. Am J. Trop. Med. & Hyg. : 5, 1000. 1956.
2. - Boeck (W.C.) Drbohlár (J) The cultivation of Entamoeba histolytica. Proc. Nat. Acad. Sci: 11, 236, 1925.
3. - Butt (C.G.) Primary Amebic Meningoencephalitis fatalities New. Eng. J. Med. : 274, 1473, 1966. Citado por Sepúlveda (22).
4. - Cerva (L) & Novak (K) Amoebic Meningoencephalitis fatalities Science 160: 92, 1968. Citado por Sepúlveda (22).
5. - Cleveland (L.R.) Sanders (E.P.) The virulence of a pure line and several strains of E. histolytica for liver of cats - and the relation of bacteria cultivation and the liver passage to virulence. Amer. J. Hyg. 1930, 12, 569-605.
6. - Craig (C.F.) & Faust (E.G.) Clinical Parasitology 5a. Ed. - Philadelphia, Lea & Febiger. 1951.
7. - Deschiens (R) La Amibiase et l'amibe dysenterique: Paris - Manson et Cie. 1965. p. 131.
8. - Deschiens (R) Le Role de la Flore bacterienne associe a l'amibe dysenterique dans l'amibiase. Ann. Inst. Pasteur, 1938 61, 5-28.
9. - Diamond (L.S.) Axenic cultivation of Entamoeba histolytica. Science : 134, 336, 1961. Citado por Sepúlveda (22).
10. - Diamond (L.S.) Techniques of axenic cultivation of Entamoeba histolytica. Schaudinn 1903 & E. histolytica like amebae J. Parasit. 54, 1047, 1968.
11. - Elsdon-Dew (R) The Epidemiology of amebiasis in advance in parasitology. B. Dawes (Ed) New York Academic Press. 1968. p. 1. Citado por Sepúlveda (22).
12. - Gaillard (L) et Brumpt (E) Un cas de dysenterie autochtone Bull. Soc. Med. Hop. Pariz 1902, 34, 736-741.

13. - H'lava (J) Predbenze sdeleni casopis lekaruv eeskych z. der bonischen aerzte in Prag. 1887. T. 26, No. 5 Résumé Par Kartulis in Central Blatt f Bakt. 1887, T.I. No. 18, 537 a 539. Citado por Sepúlveda (22).
14. - Hoare (C.A.) Consideration sur la Etiologie de l'amibiase d'apres le rapport hote-parasite. Bull. Soc. Path. Exot. : 54: 429, 1961. Citado por Sepúlveda (22).
15. - Jarumilinta (R) Maegraith (B.G.) Enzymes of Entamoeba histolytica. World Heath Org. Expert Committee of Amebiasis. Teheran: 1968.
16. - Kartulis (S) Einiges über die Pathogenese der dysenteria - amöben. Zbl. Bakt. 1891, 9, 365-372. Cit. por Sepúlveda (22).
17. - Kruse (W) Pascale (A) Untersuchungen über dysenterie und leber Abscess. Z. Hyg. Infktr. 1894, 16, 1, 148. Citado por Sepúlveda (22).
18. - Meleney (F.L.) et Frye (W. W.) Infection of kittens with Entamoeba histolytica by direct injections of cultures into ileum. Proc. Soc. Exp. Biol. (N.Y.) 1932-1933, 30, 277-279.
19. - Philips (.B.P.) & Wolfe (R.A.) Studies on the ameba-bacteria Relationship in Amebiasis. Am. J. Trop. Med. & Hyg. 7: 392, 1958.
20. - Philips (B.P.) Cultivation of Entamoeba histolytica with - Tripanosoma cruzi. Science : 111, 8, 1950. Citado por Sepúlveda. (22).
21. - Ruy Pérez Tamayo. Principios de Patología. Segunda Edición. pág. 262.
22. - Sepúlveda (B) La amibiiasis invasora por Entamoeba histolytica. Gaceta Médica de México. 100, 201, 1970.
23. - Shaffer (J.G.) & Frye (W.W.) Studies on the growth requirements of Entamoeba histolytica. Am.J. Hyg. 56, 119, 1948. Citado por Sepúlveda (22).

24. - Shih Lu Chang. Studies on Entamoeba histolytica on the decrease in infectivity & pathogenicity for kittens of E. histolytica during prolonged in vitro cultivation & restoration of these characters following encystment & direct animal - passage. J. Infect. Dis 76, 126, 1945.
25. - Wilmot (A.J.) Clinical Amoebiasis Philadelphia. F.A. - Davis 1962. p. 11, Citado por Sepúlveda (22).