

**UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON
FACULTAD DE MEDICINA
SUBDIRECCION DE ESTUDIOS SUPERIORES
MAESTRIA EN MICROBIOLOGIA MEDICA**



**DETERMINACION DE INHIBICION DE MIGRACION
DE MACROFAGOS EN PACIENTES CON
AMIBIASIS EXTRAINTESTINAL Y SU CORRELACION
CON AMIBIASIS INTESTINAL**

**TESIS
QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRO EN CIENCIAS
PRESENTA
BLANCA ELBA GIL TAMEZ**

MONTERREY, N. L. 1981

TM

Z6658

FM

1981

G5



1020071125

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON
FACULTAD DE MEDICINA
SUBDIRECCION DE ESTUDIOS SUPERIORES
MAESTRIA EN MICROBIOLOGIA MEDICA

"DETERMINACION DE INHIBICION DE MIGRACIONES DE MACROFAGOS
EN PACIENTES CON AMIBIASIS EXTRAINTESTINAL Y SU CORRELA-
CION CON AMIBIASIS INTESTINAL"

TESIS
QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRO EN CIENCIAS
PRESENTA
BLANCA ELBA GIL TAMEZ



ACERVO GENERAL

57842

MONTERREY, N.L., 1981.

Z 6658

FM

1981

75

A la memoria de mis amados Padres:

SR. LUIS F. GIL RENDON
SRA. MA. DE LA LUZ TAMEZ DE GIL

Quienes me dieron la oportunidad de ser.

A mis Hermanos:

MA. ESPERANZA
LUIS EMILIO
OVIDIO HUMBERTO

Por su constante apoyo y confianza en mí.

A mis Maestros:

Por la enseñanza y orientación impartidas.

Agradecimientos

A mi maestro asesor:

DR. JOSE W. BUSTOS ALDANA

Por su constante apoyo y orientación

Al Jefe del Departamento de Microbiología,
Facultad de Medicina, U.A.N.L.

DR. MANUEL A. RODRIGUEZ QUINTANILLA

Por sus consejos y orientación profesional
para la buena realización de mi Tesis.

Al Jefe de Laboratorio de Amibiasis.
Departamento de Farmacología
Unidad de Investigaciones Biomédicas, IMSS.

DR. J. JUAN SEGURA LUNA

Por su valiosa y desinteresada
colaboración profesional para la
realización del presente trabajo.

El presente trabajo se llevó a cabo en el
Departamento de Microbiología de la Facultad
de Medicina, U.A.N.L.

Bajo la Dirección del:
DR. JOSE WILFRIDO BUSTOS ALDANA

INDICE

	PAG.
I.- INTRODUCCION	1
II.- MATERIAL Y METODOS.	8
III.- RESULTADOS.	11
IV.- DISCUSION.	23
V.- CONCLUSIONES.	27
VI.- RESUMEN.	28
VII.- BIBLIOGRAFIA.	31

I. INTRODUCCION

La amibiasis es una de las parasitosis más frecuentes en nuestro medio, que puede presentarse desde la edad temprana hasta la ancianidad y es, en consecuencia, una de las múltiples enfermedades transmisibles que nos acosan y hacia la cual se ha enfocado el interés de investigación en los últimos años debido a la gran cantidad de población afectada.

Se sabe bien que, de acuerdo a múltiples factores en la relación huésped-parásito, esta enfermedad puede causar estragos en nuestra población, sobre todo en aquella de nivel socioeconómico bajo, en quienes puede cursar como una parasitosis intestinal asintomática, y al diseminarse por vía hematógena puede desembocar en un problema de mayor magnitud, como es la amibiasis extraintestinal.

En el diagnóstico coproparasitoscópico rutinario es posible detectar la amibiasis cuando se encuentra aún a nivel intestinal, pero escapan a esta posibilidad aquellas personas que habiendo cursado la infección asintomática, pueden presentar absceso hepático amibiano de evolución y diseminación rápida con pronóstico fatal; razón por la cual debe considerarse de gran estimación y utilidad un diagnóstico precoz y acertado del absceso hepático amibiano en su fase inicial, utilizando como la mejor arma de ataque las pruebas serológicas que nos indiquen oportunamente la magnitud del proceso por medio de las diferentes alteraciones en la respuesta inmune presentada por el paciente.

Bajo estas circunstancias, cabría preguntarnos lo siguiente: ¿Qué estudios se han hecho para la solución de este problema? ¿Existe verdaderamente una base para el diagnóstico serológico diferencial de dicha enfermedad en sus fases intestinal y extraintestinal?, -- ¿Cuáles son los factores inmunológicos que intervienen en la resolución de este proceso por parte del huésped?

Tratando de responder a nuestras preguntas y muchas otras que nos inquietan, retrocedamos en el tiempo para corroborar que es en la década de 1970 a 1980 cuando toma mayor auge la investigación acerca de este problema que nos ocupa.

Revisando los trabajos realizados por diversos investigadores y que son por demás valiosísimos para nuestra investigación, vemos que en su gran mayoría han sido realizados a nivel de laboratorio ("in vitro") o con animales de experimentación: así tenemos que en lo referente a la inmunidad celular, David (8) y cols en 1964, estudiaron la inhibición de la migración celular por antígenos en células de exudado peritoneal de cobayo con hipersensibilidad tardía a PPD, ovoalbúmina y toxoide diftérico, en un intento por descorrer el velo de lo que sucede inmunológicamente en un huésped afectado, lo que más tarde se enfocará directamente a la amibiasis.

Hacia 1970, que es cuando ya empieza en sí la inquietud por la inmunología de la amibiasis, Kretschmer y cols. (12) efectuaron un estudio sobre inmunidad celular en la amibiasis invasora con antígenos de Entamoeba histolytica y lograron demostrar una hipersensibilidad de tipo tardío en los individuos con esta afección.

Existe aparentemente un intervalo de tiempo entre 1970 hasta 1973 en que se continuúa con estos estudios sobre el tipo de respuesta inmune del huésped y es en este año que Ortíz y cols. (16, 17), deciden investigar la participación de la hipersensibilidad celular en hamsters inoculados con trofozoitos de Entamoeba histolytica, con el objeto de conocer la dinámica de esta respuesta, así, para la respuesta celular, investigan la liberación del factor inhibidor de la migración de células peritoneales en hamster y para la respuesta humoral, llevan a cabo la determinación de anticuerpos circulantes en sangre por técnicas electroforéticas. En este mismo año, 1975, Ortíz y cols. (14) realizan estudios sobre inmunidad mediada por células en pacientes con absceso hepático amibiano utilizando pruebas de liberación del factor inhibidor de la migración de macrófagos y reacción cutánea con las que determinan que estos pacientes presentan inmunidad mediada por células.

Harris y cols. (10) en 1976 estudian la sensibilidad celular en la amibiasis tratando de relacionar los factores del huésped con la transformación linfocítica y la respuesta específica al antígeno y los parámetros inmunes en todos los estados de amibiasis que puedan dar información del porque Entamoeba histolytica es o no es invasora.

En 1977 Bray y Harris (3) estudiaron la respuesta inmune celular al absceso hepático en cobayos, especialmente la inhibición de migración de macrófagos.

En este mismo año, Landa y cols. (13) y Sepúlveda y cols. (19) realizan estudios sobre la inmunología de la amibiasis, en sus aspectos tanto humoral como celular y encontraron que la inmunidad

✓ celular se demuestra en pacientes con absceso hepático amibiano por la positividad de las pruebas de intradermorreacción, MIF y agresividad de linfocitos sensibilizados sobre trofozoitos de Entamoeba histolytica. Además establecieron que en animales de laboratorio tratados con inmunosupresores, éstos son más susceptibles al efecto patógeno de Entamoeba histolytica.

En una recopilación de datos (11) acerca de la respuesta inmune en la amibiasis, se mencionan los trabajos de Swartswelder en perros, con una hipótesis sobre los efectos protectores de anticuerpos séricos y su transferencia pasiva, la cual no fué efectiva. Se resumen también los trabajos realizados por Miller sobre la prueba cutánea - en grupos de pacientes con disentería amibiana aguda y absceso hepático, el tipo de hipersensibilidad presentada y algunos otros aspectos de la inmunidad mediada por células.

✓ En lo referente a la inmunidad humoral, Kagari (11), nos habla de la respuesta humoral (inmunoglobulinas) y los métodos más acertados en este tiempo para detectarlas: hemaglutinación indirecta (HI), doble fusión en gel (DDG), contrainmunolectroforesis (CIEF), inmunofluorescencia (IF), latex (LA), inmunolectroforesis (IEF) e intradermorreacción.

Por su parte, Vinayak y cols. (23), en 1971 evaluaron la prueba de inmunolectroforesis como un método inmunodiagnóstico - usual para la amibiasis tanto intestinal como extraintestinal y encontró que este es mucho más sensible que otros y mucho más coincidente con las investigaciones clínicas.

Fué en el año de 1978 en que se vió incrementada - la investigación acerca de la función del complemento en la amibiasis in testi al y vemos que los trabajos de Cap n y cols. (5, 6 y 7) estudian la determinación de complemento y vía alterna del complemento por Entamo eba histolytica, para lo cual utilizaron en el primer caso, suero de pa-
cientes con absceso hepático amibiano y de los cuales pocos fueron los que tuvieron capacidad de alterar la vía alterna y los demás presentaron niveles disminuidos de complemento hemolítico al 50% en comparación con los testigos. Para el segundo estudio utilizaron cepas ax nicas de Enta moeba histolytica y demostraron la activación de la vía alterna por su efecto citopatog nico sobre los trofozoitos, concluyendo que esta activa-
ción no est  en relación con hamsters para detectar la depleción de complemento sobre la inducción de absceso hepático amibiano.

Así mismo, Ganguly y cols. (9), en un trabajo simi-
lar encuentran que los niveles de complemento hemolítico al 50% son sig-
nificativa mente más altos en la amibiasis extraintestinal que en la inte-
tinal y los testigos normales.

En otros estudios inmunológicos realizados por Ra-
vi y cols. (18), sobre niveles de complemento, encontraron que éste pre-
sentaba elevación en suero en la mayoría de los pacientes y trataron de
correlacionarlo con la prueba de inhibición de la hemoaglutinación para
aquellos casos en que la amibiasis es patente y esta prueba resulta nega-
tiva.

En trabajos realizados por Anderson y cols. (2), -
midieron niveles de complemento en diversas parasitosis comparadas a una
extensa variedad de factores clínicos, de laboratorio y epidemiológicos

y no encontraron significancia real entre parasitosis y consumo de complemento en caso de Paludismo, aunque en población infantil con helmintiasis, sí encontraron niveles aumentados de complemento.

Siguiendo la misma línea de investigación, Ortíz y cols. (15) encuentran que el efecto citopatogénico del suero de pacientes con absceso hepático amibiano sobre E. histolytica es complemento dependiente, activan la vía alterna del sistema de complemento humano.

En estudios realizados por Serafín y cols. (21), valoraron diversas técnicas diagnósticas para la amibiasis intestinal, utilizando sueros en unas y antígenos en heces en otras, para efectuar ELISA.

Así mismo, en 1980 realizaron estudios de evaluación diagnóstica y terapéutica en amibiasis intestinal (20), en los que vuelve a incluir a ELISA como la más sensible.

Stamm y cols. (22) reportaron el uso de una prueba de aglutinación de latex (LA) en el diagnóstico de amibiasis invasora, realizada por Morris y cols. (22) quienes concluyen que la especificidad y sensibilidad de dicha prueba es similar a la de difusión en gel y que podría ser utilizada como reemplazo de ésta.

En trabajos que incluyen tanto inmunidad humoral como celular, Canto y cols. (4), realizaron una encuesta en 1975 sobre el estado inmunológico en pacientes con absceso hepático amibiano, evaluándolo con diversas pruebas electroforéticas de proteínas, pruebas de difusión radial y pruebas de roseta para linfocitos T y B, de las cuales concluyen que existen alteraciones tanto en la inmunidad humoral como -

✓ celular y que estas deficiencias inmunológicas son más notorias en la fase aguda del padecimiento y mucho más significativas en la inmunidad celular.

Todos estos estudios han sido encaminados a la detección del papel que desempeña la respuesta inmune en la amibiasis y como se desenvuelve durante el proceso; así se han obtenido resultados satisfactorios para la detección de la misma por pruebas serológicas muy sensibles en su gran mayoría tanto en sueros de pacientes con amibiasis extraintestinal como en amibiasis intestinal y pruebas que nos dan una clara evidencia de la participación de la inmunidad celular, específicamente MIF, también en dicha enfermedad, habiendo sido llevada a cabo ésta última en animales de experimentación solamente y no en humanos, a pesar de los buenos resultados obtenidos con ella.

De aquí que nuestro interés por realizar este trabajo haya sido el de conocer la diferente respuesta inmune celular de la amibiasis intestinal y extraintestinal para su aplicación en el diagnóstico diferencial de la extraintestinal.

II.- MATERIAL Y METODOS.

Para llevar a cabo este trabajo, se realizó muestreo en tres grupos de personas seleccionadas de la siguiente manera:

- 1) Grupo I: 15 Pacientes con absceso hepático amibiano comprobado clínicamente y por hepatogammagrama.
- 2) Grupo II: 15 Pacientes con amibiasis intestinal, para los cuales nos apoyamos en el diagnóstico clínico solamente, debido a que no tuvimos otros antecedentes en su historial clínico que nos sirvieran de punto de partida.
- 3) Grupo III: 15 Personas sanas utilizadas como testigos negativos.

A los tres grupos se les tomó muestra de plasma, en tanto que a los grupos II y III también se les tomó muestra de materia fecal para comprobar en el primer caso la presencia de E. histolytica y en el segundo caso su ausencia.

Para efectuar la demostración y medición del - - MIF, se utilizaron los siguientes antígenos de: Entamoeba histolytica Cepa HM-9 (Química Hoescht de México), utilizando la técnica de Medición de la Liberación del Factor Inhibidor de Migración de Macrófagos descrita por David (8).

MEDICION DE LA LIBERACION DEL FACTOR INHIBIDOR DE LA MIGRACION
DE MACROFAGOS (MIF).

Se tomó una muestra de 4 ml. de sangre, por paciente, a la cual se le agregó heparina de amonio como anticoagulante, se dejó reposar a temperatura ambiente por una hora y media con el fin de separar el plasma rico en leucocitos. A continuación se extrajo el plasma por medio de una pipeta Pasteur y se depositó en tubos de 13 x 100 mm. - para lavarlos con solución de Alsever; se hizo el lavado por tres veces, centrifugando a 120.7 G durante 15 minutos cada vez después de tirar el sobrenadante y resuspendiendo en solución de Alsever cada muestra; finalmente se resuspendió el paquete celular en un mililitro de solución de Alsever.

Las células obtenidas se distribuyeron en tubos capilares no heparinizados, sellados por su extremo anterior y se centrifugaron a 120.7 G durante 10 minutos para empaquetarlas en forma de microhematocrito.

Una vez que las células quedaron empaquetadas, se tomaron dos capilares y se cortaron a nivel de la capa de glóbulos blancos colocándose cada uno de ellos en un compartimiento de la cámara de migración, las que posteriormente fueron llenadas con un medio de cultivo T-199 para células de la siguiente forma.

- a) Problema: Células, Medio de cultivo, 100 mcgr. de Ag. de E. histolytica.
- b) Testigo de Migración: Células, Medio de Cultivo.

Ambos compartimientos fueron sellados para incubar los en posición horizontal a 37°C. por 24 horas para leer al cabo de las cuales la presencia o ausencia de migración.

Las células tratadas en condiciones estandarizadas de trabajo, correspondieron a cada uno de los grupos en estudio y para cada una de las muestras que integraron cada grupo.

Para realizar la exposición de los leucocitos al antígeno de E. histolytica en el MIF se modificó la técnica descrita por David (8) quien utilizó 11 y 22 mcgr. de antígeno respectivamente. Nosotros utilizamos 100 mcgr.: haciendo que el volumen total en cada compartimiento de la cámara fuera igual para evitar alteraciones de presión interna en la misma.

Igualmente, la técnica fué modificada por nosotros para la lectura de migración e inhibición, la cual fué medida linealmente usando para el efecto un escalímetro graduado en milímetros y midiendo con la ayuda de una lente de aumento.

La modificación de la técnica consistió en la medición en milímetros de diámetro de la migración, en tanto que en la técnica originalmente descrita por David (8), utiliza la diferencia en peso de fotografías tomadas de la migración, amplificadas y recortadas al borde de la misma.

III.- RESULTADOS

Los pacientes integrantes del grupo I (absceso hepático amibiano) presentaron cuadro clínico específico y concluyente el cual fué confirmado por el laboratorio y pruebas de gabinete. Los pacientes del grupo II (amibiasis intestinal) presentaron todas positivas las pruebas de diagnóstico coproparasitológico seriado y la mayoría de ellos - presentaron además sintomatología de amibiasis intestinal. Ambos grupos respondieron al tratamiento con antiambianos.

Los integrantes del grupo III (testigos) fueron personas aparentemente sanas a quienes se les practicó previamente estudio coproparasitológico seriado para E. histolytica, el cual resultó negativo en todos los casos.

VALORACION DE LA PRUEBA DE INHIBICION DE MIGRACION DE MACROFAGOS (MIF).

El grupo con absceso hepático amibiano presentó una - marcada inhibición de la migración de macrófagos ante el antígeno de Entamoeba histolytica como puede apreciarse en la Tabla I en donde se presenta en la primera columna el total de migración para el plasma del paciente sin antígeno y en la segunda columna su correspondiente para el plasma con antígeno, en ambas columnas se reporta la migración en milímetros de diámetro obtenido en el área de migración respectiva. El valor en cada caso se tomó como el 100% de migración en la columna I como se - detalla en la Tabla IV.

TABLA I

Grupo I Absceso hepático amibiano

Diámetro de migración^(a)

Paciente ^(b)	Migración	Inhibición
	Plasma sin Ag.	Plasma con Ag.
1	6.0	4.0
2	5.0	3.0
3	6.0	3.0
4	5.0	0.0
5	7.0	4.5
6	7.0	4.5
7	5.0	3.0
8	5.0	3.0
9	7.0	4.0
10	6.0	4.0
11	6.0	3.0
12	5.5	3.0
13	5.0	3.0
14	5.0	2.0
15	7.0	5.0
Media \pm SE	5.83 \pm 0.83 ^(c)	3.26 \pm 1.2 ^(c)

a) Los valores fueron medidos en milímetros de diámetro del área de migración y redondeados a cifra entera aquellos que dieron una lectura mayor ó menor de las 5 décimas de m.m.

b) El número de pacientes dado es constante en todas las tablas.

c) La diferencia entre grupos de plasma con Ag. y Plasma sin Ag. presentó una $t_{28} = 6.24$ con una $P. < 0.001$ (Prueba de Student).

∴ Resulta altamente significativo.

Estos valores se representan en la Gráfica No. 1 en donde en la ordenada, del 1 al 15 se presenta cada uno de los casos correspondientes y en la abscisa el diámetro de la migración en milímetros.

Analizando individualmente cada caso, se tiene una diferencia promedio de 2.5 mm. entre la migración y la inhibición; con una migración máxima de 7 mm. y mínima de 5 mm. para plasma sin antígeno, y una migración de 5 mm. y mínima de 0 mm. para plasma con antígeno.

En la Tabla II se presentan las lecturas hechas al -- grupo II, también en milímetros de diámetro del área de migración y representados en la Gráfica No. 2 conforme a los parámetros anteriormente citados y en donde se puede apreciar que no hay diferencias entre plasma sin antígeno y plasma con antígeno, ya que en este grupo no hubo inhibición de la migración de macrófagos y las lecturas fueron iguales para ambos; también puede verse que la migración máxima de ambos fué de 7 mm. y la mínima de 4 mm.

En la Tabla III se representan las lecturas hechas al grupo III también medidas y presentadas en la Gráfica No. 3 conforme a los parámetros previamente especificados y en donde se puede ver que no hay inhibición por lo que no hay diferencia entre plasma sin antígeno y plasma con antígeno, obteniendo una migración máxima de 9 mm. y mínima de 4 mm.

En la Tabla IV se presentan los mismos resultados -- transformados en porcentaje de inhibición y migración, para los cuales -- se representan en las ordenadas el número de pacientes (cada caso) y en

las abscisas la inhibición de la migración en por ciento.

Se representan con triángulo los valores obtenidos para el grupo I (absceso hepático amibiano), en punto los valores para el grupo II (amibiasis intestinal) y por un círculo los del grupo III (testigos). Para el grupo I puede observarse que el valor máximo de inhibición es del 100% y el mínimo es de 40% en tanto que para los grupos II y III, la inhibición es de 0%, como puede apreciarse en la Gráfica 4.

GRAFICA No. 1

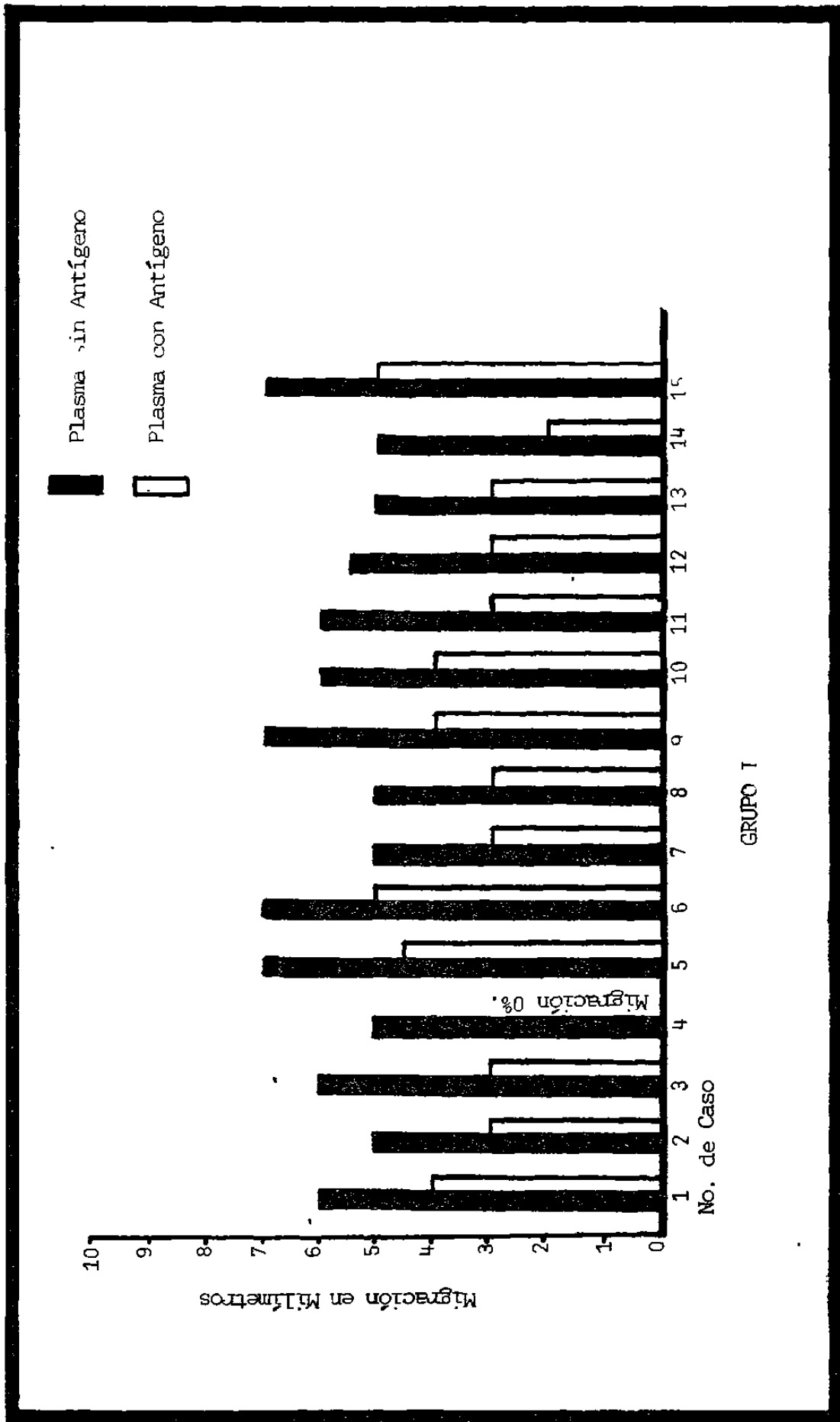


TABLA II

Grupo II: AMIBIASIS INTESTINAL.

Diámetro de Migración^(a)

Paciente ^(b)	Migración	Inhibición
	Plasma sin Ag.	Plasma con Ag.
1	4.0	4.0
2	4.0	4.0
3	6.0	6.0
4	5.0	5.0
5	6.0	6.0
6	6.0	6.0
7	6.0	6.0
8	7.0	7.0
9	7.0	7.0
10	4.0	4.0
11	6.0	6.0
12	6.0	6.0
13	5.0	5.0
14	5.0	5.0
15	6.0	6.0
Media \pm SE.	5.5 \pm 1.007 ^(c)	5.5 \pm 1.007 ^(c)

a) Los valores fueron medidos en milímetros de diámetro del área de migración y redondeados a cifra entera aquellas que dieron lectura mayor ó menor de las 5 décimas de mm.

b) El número de pacientes dado es constante en todas las tablas.

c) La diferencia entre grupos de plasma sin Ag. y Plasma con Ag. presentó una $t_{28} = 0$ con una $p > 0.9$ (Prueba de Student).

∴ Resulta no significativo.

GRAFICA No. 2

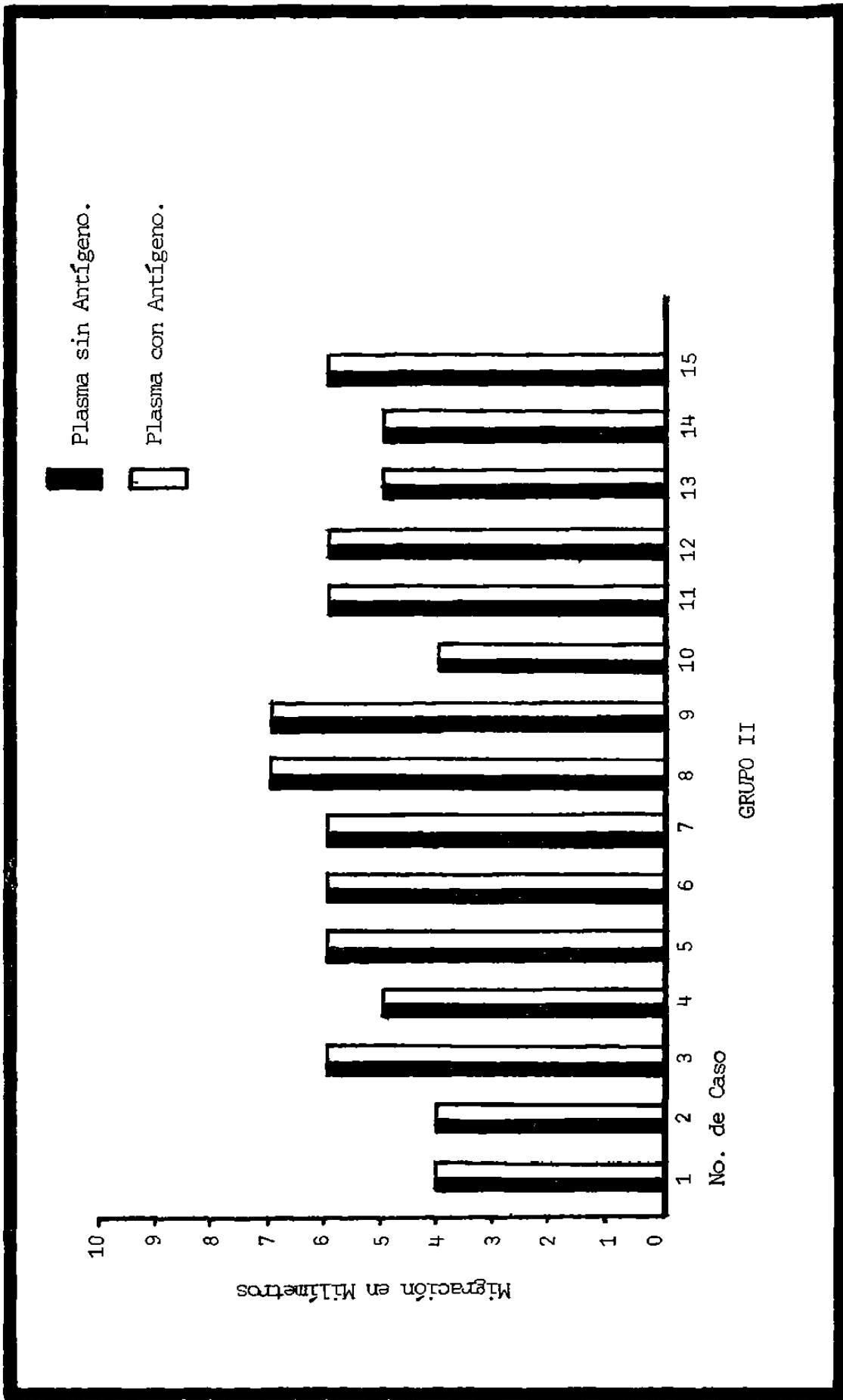


TABLA III

Grupo III: TESTIGOS NEGATIVOS

Diámetro de Migración^(a)

Paciente ^(b)	Migración	
	Plasma sin Ag.	Inhibición Plasma con Ag.
1	4.0	4.0
2	4.0	4.0
3	5.0	5.0
4	5.0	5.0
5	4.0	4.0
6	4.0	4.0
7	4.0	4.0
8	7.0	7.0
9	5.0	5.0
10	6.0	6.0
11	6.0	6.0
12	7.0	7.0
13	5.0	5.0
14	8.0	8.0
15	4.0	4.0
Media \pm SE.	5.4 \pm 1.7 ^(c)	5.4 \pm 1.7 ^(c)

a) Los valores fueron medidos en milímetros de diámetro del área de migración y redondeados a cifra entera aquellos que dieron lectura mayor ó menor de las 5 décimas de mm.

b) El número de pacientes dado es constante en todas las Tablas.

c) La diferencia entre grupos de Plasma sin Ag. y Plasma con Ag. presentó una $t_{28} \neq 0$ con una $P > 0.9$ (Prueba de Student).

∴ Resulta no significativo.

GRAFICA No. 3

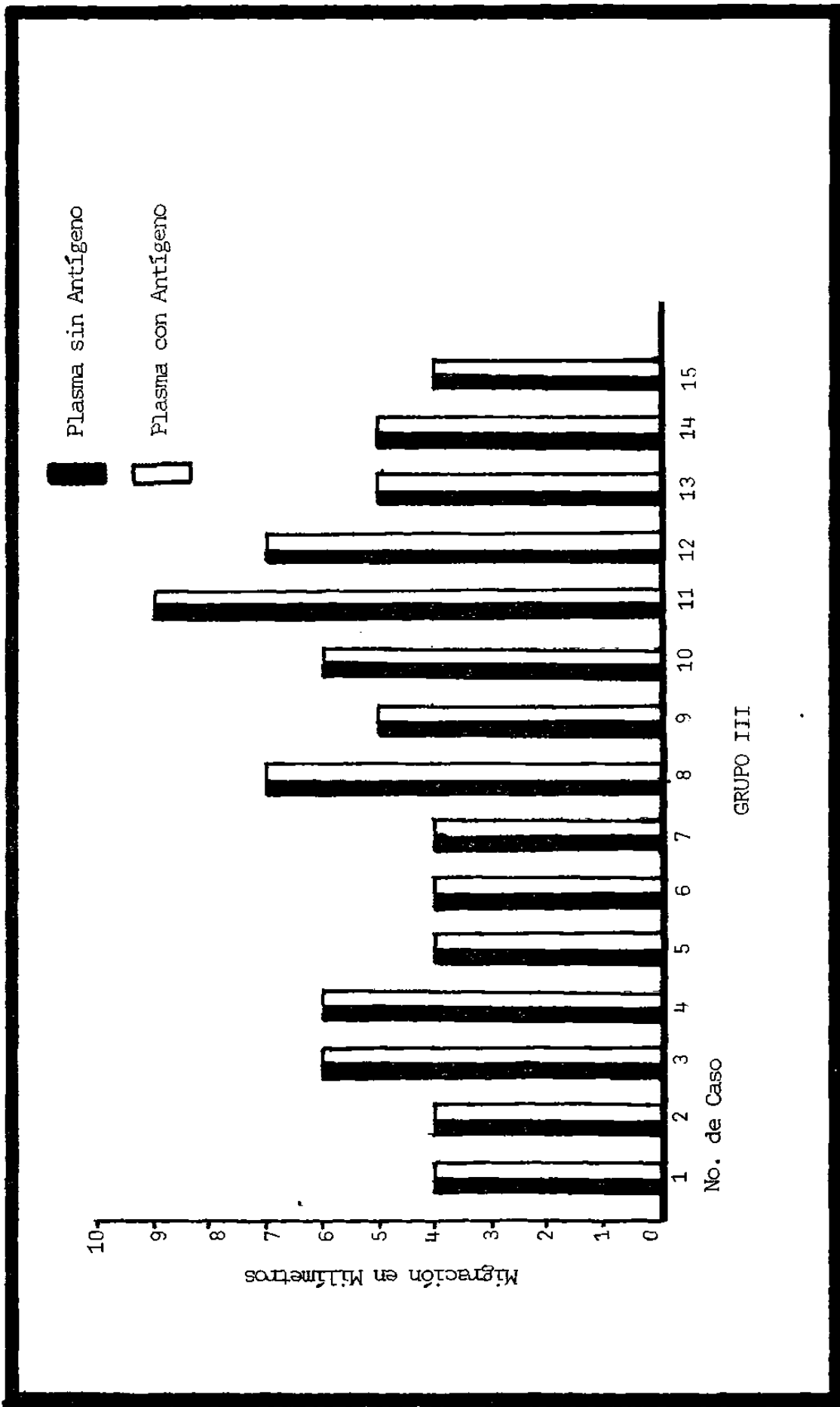


TABLA IV

ABSCESO HEPATICO AMIBIANO

Paciente (a)	Plasma sin Antígeno		Plasma con Antígeno	
	%Inhibición	%Migración	%Inhibición (b)	%Migración (c)
1	0	100	66.6	33.4
2	0	100	60.0	40.0
3	0	100	50.0	50.0
4	0	100	100.0	0.0
5	0	100	64.2	35.8
6	0	100	64.2	35.8
7	0	100	60.0	40.0
8	0	100	60.0	40.0
9	0	100	57.1	42.9
10	0	100	66.6	33.4
11	0	100	50.0	50.0
12	0	100	54.5	45.5
13	0	100	60.0	40.0
14	0	100	40.0(f)	60.0
15	0	100	71.4	28.6
Media ± S.E.	0 ± 5.73 ^(d)	100 ± 5.73 ^(d)	61.64 ± 11.05 ^(e)	38.36±11.05 ^(e)

a) El número de pacientes dado es constante en todas las tablas.

b) El % de Inhibición fué obtenido, a partir de la Tabla I, dando valores de 100% a la lectura de Plasma sin Ag. y relacionandolo al valor del - Plasma con Ag.

c) El % de Migración fué obtenido por **diferencia** del 100% con el % de Inhibición.

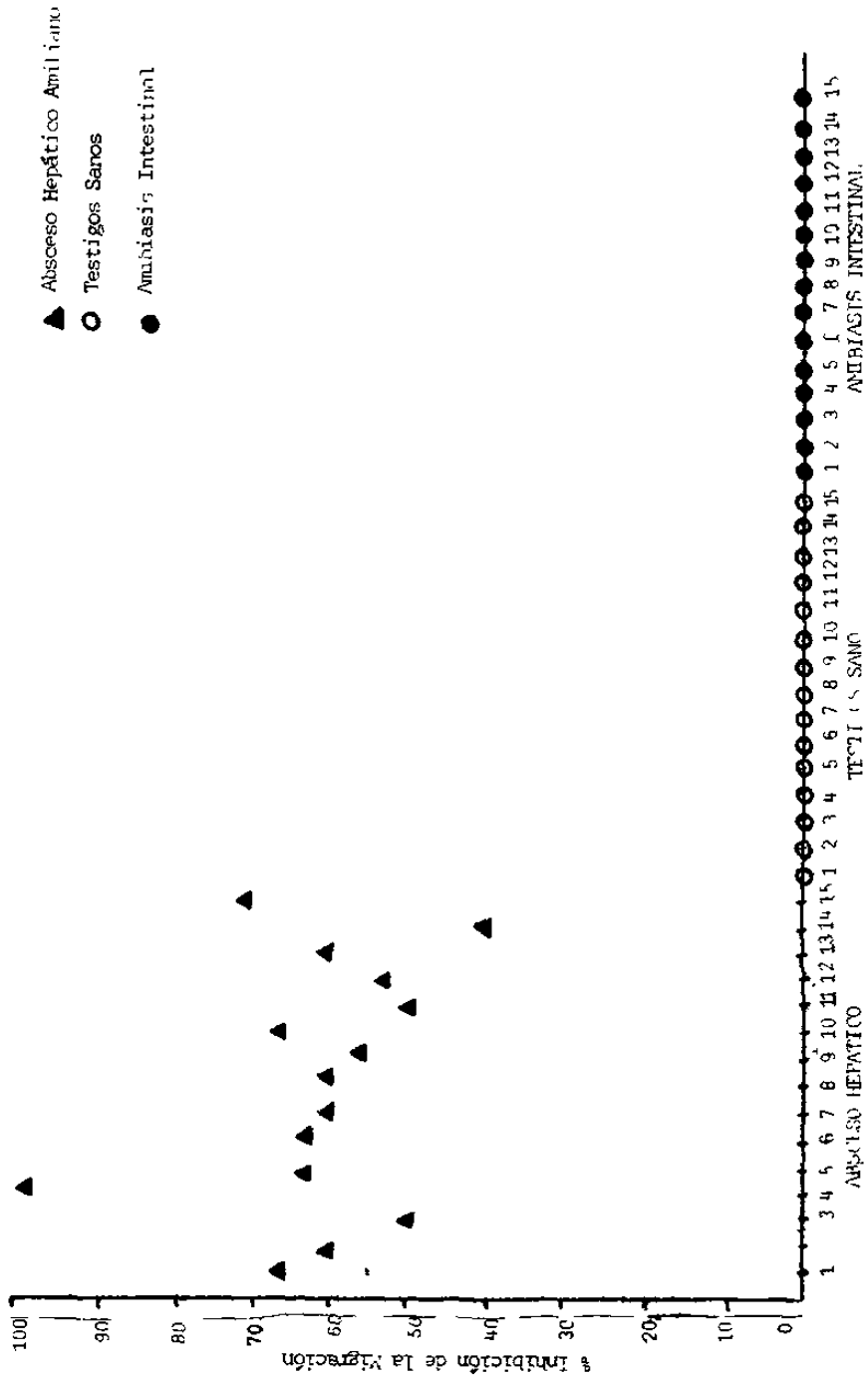
d) La diferencia entre los grupos de % de Inhibición y % de Migración de los valores para Plasma sin Ag. Presentó una $t_{28} = 5.75$ con una ---- $P < 0.001$.

e) La diferencia entre los grupos de % Inhibición y % de Migración de los valores para Plasma con Ag. presentó una $t_{28} = 29.4$ con una $P < 0.001$.

∴ Es altamente significativo.

f) Se tomó como base el 40% de Inhibición para establecer los valores de Inhibición debido a que no existen parámetros internacionales de comparación.

GRAFICA No. 4



IV.- DISCUSION

Los resultados obtenidos indican que, en las condiciones experimentales ensayadas, la inmunidad mediada por células participa activamente en la amibiasis extraintestinal, como se pudo demostrar a través del presente estudio.

Es interesante mencionar que, mientras que en los casos de amibiasis intestinal y testigos negativos no hay inhibición de la migración de macrófagos, en el absceso hepático amibiano ésta indicación es sumamente marcada, habiéndose presentado un caso en que la inhibición fué de 100% en tanto que la migración fué de 0% y en forma general, se vió que la mínima inhibición fué de un 40%, dato que tomamos -- como parámetro para la medición, debido a que no existen tablas internacionales para comparación de migración o inhibición.

Se han realizado estudios sobre este tópico con anterioridad, teniendo buenos resultados como los obtenidos por Ortíz y cols. (14, 15, 16 y 17), quienes trabajaron con células de exudado peritoneal de cobayo, con hamsters a los que se les indujo el absceso hepático amibiano y células de pacientes con absceso hepático amibiano, realizando la técnica de Rocklin (17). Sin embargo, aunque los resultados obtenidos por ellos nos ayudan en mucho, no son del todo comparativos con los nuestros debido a que su técnica es diferente a la utilizada -- por nosotros (David 8) y sus resultados son más cualitativos que cuantitativos.

Por otra parte, nosotros tuvimos que modificar la técnica de David (8) en cuanto a la forma de medición, ya que la técnica -- original es demasiado complicada, costosa y también sujeta a errores visuales y de precisión; debiéndose realizar la medición por fotografía -- del área de migración, posterior amplificación de las fotografías y tomar la diferencia de peso de las áreas recortadas sobre la placa fotográfica, de lo cual resulta un margen de error demasiado grande por error -- visual y por diferencia de peso de los papeles de impresión.

Si bien, nuestra modificación es un tanto rústica, -- creemos que los resultados son más exactos, dado que al medir la migración en milímetros siempre con los mismos instrumentos y el mismo investigador, el error se estandariza y es igual para todos los casos, por lo tanto, no cabe la posibilidad de diferencias muy marcadas.

Por otra parte, el análisis estadístico de nuestros -- datos es muy significativo, ya que para los casos analizados en el grupo I correspondiente al absceso hepático amibiano, encontramos una $P = 0.001$, lo que significa que un caso en mil se comportaría en forma diferente, -- lo que viene a reforzar nuestra posición de que la técnica MIF es altamente sensible y específica para el absceso hepático amibiano, no presentándose así para los casos de amibiasis intestinal, la cual al igual que los testigos sanos (Grupos II y III respectivamente) dan negativa la -- prueba con un $P = 0.9$, lo que nos indica que existe aproximadamente un -- 90% de posibilidades de que en estos casos el evento se repita.

En nuestro estudio tuvimos que tomar como testigo negativo para cada ensayo, las células del mismo paciente sin tratamiento

con el antígeno, para evaluar el 100% de migración y así poder obtener - por diferencia el porcentaje de inhibición, tomando como positivo el 40% de inhibición de nuestros resultados, dado que no hubo inhibición por debajo de ésta y por las razones anteriormente expuestas de no contar con tablas que nos den parámetros internacionales de evaluación.

Comparativamente con el trabajo realizado por Ortíz y cols. (17), es necesario hacer hincapié en que su estudio es diferente - del nuestro debido a que el de ellos es más cualitativo y a que obtienen solamente cuatro casos positivos para MIF de 13 estudiados, con una inhibición máxima de 43.5% y una mínima de 25.2%, por la técnica de Rocklin (17) modificada, en tanto que por nuestra técnica de David (8) modificada, de 15 casos de absceso hepático amibiano, obtenemos 15 pruebas positivas con un máximo de inhibición de 100% y un mínimo de 40%, por lo tanto podríamos afirmar que ésta última resulta más sensible.

Las diferencias encontradas entre estos resultados -- (Ortíz, 17) y los aquí informados indican la importancia que tiene, además del monto de la evolución clínica que se practica el muestreo; ya -- que este fué realizado al ingreso del paciente al hospital y previa al inicio de la terapéutica antiamebiana; la sensibilidad de la técnica empleada.

En otro análisis de nuestros resultados, se trató de correlacionar el tiempo de evolución del absceso hepático con el porcentaje de inhibición, encontrando que no existe una constante para ello, - ya que hubo pacientes cuya evolución fué corta comparada con el resto y sin embargo, presentaron un alto porcentaje de inhibición, así como pa-

cientes cuya evolución era larga y su porcentaje de migración era bajo y otros cuyo porcentaje de inhibición fué directamente proporcional al -- tiempo de evolución.

Así mismo, se trataron de correlacionar otros factores tales como peso corporal, alcoholismo, nutrición y algunas enfermedades concomitantes con el absceso hepático amibiano y se vió que estos -- factores no guardan relación con la respuesta inmune celular presentada por el paciente para el proceso en estudio.

Conviene mencionar que siendo nuestros resultados satisfactorios para el estudio realizado, queda abierta la posibilidad y despierta nuestra inquietud por continuar esta investigación con miras a un futuro diagnóstico precoz para el paciente y que a la vez nos permita descorrer más los velos que ahora nos ocultan muchas posibles soluciones en este campo de la investigación.

V. CONCLUSIONES

Por los resultados en este trabajo la prueba de medición de la migración de macrófagos indica que puede ser altamente específica y sensible para el diagnóstico de absceso hepático amibiano en una amplia gama de tiempo de evolución y sin interferencia de otros factores como los mencionados anteriormente, lo que hace de esta prueba un método auxiliar ideal para el diagnóstico.

Por otra parte, esta técnica resulta de fácil manejo, corto tiempo de elaboración y bajo costo operacional; de tal manera que, aunando cualidades de sensibilidad, especificidad, tiempo y economía, - sería factible su utilización en el diagnóstico de laboratorio rutinario.

Se trabajó con tres grupos de personas que reunieron las siguientes características:

- 1) GRUPO I: Quince pacientes con absceso hepático amibiano com probado por el diagnóstico clínico.
- 2) GRUPO II: Quince pacientes con amibiasis intestinal comproba da por el laboratorio.
- 3) GRUPO III: Quince personas aparentemente sanas para testigos negativos a quienes previamente se comprobó la - ausencia de E. histolytica por estudios de laboratorio.

A todos los componentes de los tres grupos se les - tomó una muestra de 4 ml. de sangre heparinizada para aislar el plasma con el cual se trabajó para determinar la inhibición de la migración - de macrófagos en la amibiasis extraintestinal y correlacionarla con la amibiasis intestinal.

La técnica que se siguió fué la de MIF descrita por David (8) en donde se utilizaron 100 mcgr. de antígeno de E. histolytica cepa HK-9 axénica, modificando la original en que se usan 11 mcgr. y 22 mcgr. del antígeno.

Los resultados obtenidos fueron óptimos, ya que se constató que no hay correlación entre los dos procesos, debido a que en el caso de amibiasis extraintestinal se obtuvo una inhibición máxima de 100% y mínima de 40%, en tanto que en la amibiasis intestinal la inhibi ción fué de 0% y una migración total de 100% en todos los casos, todo -

ello en relación a los testigos negativos.

Por otra parte, se encontró que la técnica, además de ser altamente sensible y específica para el absceso hepático amibiano, es de fácil manejo, rápida realización y de bajo costo, comparando el costo que implican otras técnicas.

RECONOCIMIENTOS

Al Hospital Universitario "Dr. José Eleuterio González" de la U.A.N.L., secciones de Infectología y Medicina Interna, por su valiosa y activa cooperación para proporcionarme los casos de Absceso Hepático Amibiano.

A los Centros de Salud Nos. 4 y 5 de los Servicios Coordinados de Salud Pública en el Estado de Nuevo León; así como al Laboratorio de Análisis Clínicos Especializados por su gentileza al proporcionarme pacientes con Amibiasis Intestinal.

Así mismo, mi reconocimiento a la amable cooperación del Centro de Investigaciones Biomédicas del I.M.S.S., al haberme proporcionado antígeno de Entamoeba histolytica cepa HM-1 para realizar los estudios preliminares.

VII. BIBLIOGRAFIA

- 1.- Aley, S.B., Scott, W.A., and Colm, Z.A. Plasma membrane of Entamoeba histolytica, J. Exp. Med. 152: 391-404, 1980.
- 2.- Anderson, R.I., Back, A.A. Complement (C) levels in Residents of a Rural African Village. Z. Trop. Parasit. 24: 447-456, 1973.
- 3.- Bray, R.S. & Harris, W.G. Cellular Immune Responses to Amoebic Liver Abscess in the Guinea Pig. Clin. Exp. Immunol. 29: 147-151, 1977.
- 4.- Canto Solís, A., Miranda Feria, A.J. et al. Estado Inmunológico en Pacientes con Absceso Hepático Amibiano. Prensa Med. - Mex. 9-10: 275-281, 1975.
- 5.- Capín, R., Capín, N.R., Carmona, M., Ortíz-Ortíz, L. Effect of complement depletion on the induction of amoebic liver - - abscess in the hamster. Arch. Invest. Med. (Mex.). 11(supl. 1): 173-180, 1980.
- 6.- Capín, N.R., Jiménez, M., Zamacona, G., Ortíz-Ortíz, L. Activación de la Vía Alternativa del Complemento por varias Cepas Axénicas de E. histolytica.
- 7.- Capín, N.R., Jiménez, M., Zamacona, G., Ortíz-Ortíz, L. Determinación de Complemento y Vía Alternativa del Complemento en - Pacientes con Absceso Hepático Amibiano. Arch. Invest. Med. (Mex.). 9(Supl. 1): 297-302, 1978.
- 8.- David, J.R., Al-Askai, S., Lawrence, H.S. and Thomas, L. Delayed - hypersensibility in vitro. I: The Specificity of Inhibition of Cell Migration by Antigens. J. Immunol. 93: 264-273, 1964.

- 9.- Ganguly, N.K., Mahajan, R.C., Datta, D.V., et al. Immunoglobulin - and complement levels in cases of invasive amoebiasis. Indian J. Med. es. 67: 221-226, 1978.
- 10.- Harris, W.G., Bray, R.S. Cellular sensibility in amoebiasis-preliminary results of lymphocytic transformation in response - to specific antigen and to mitogen in carrier and disease states. Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg. 70(4): 340-343, 1976.
- 11.- Kagan, I.G. Seroepidemiología de la Amibiasis. Arch. Invest. Med. (Mex.). 4(Supl. 1): 574-587.
- 12.- Kretchmer, R., Sepúlveda, B., Almazán, et al. Inmunidad celular en la amibiasis invasora. Arch. Invest. Med. 1(Supl.): s117-s120, 1970.
- 13.- Landa, L., Capín, R. y Guerrero, M. Estudios sobre inmunidad celular en la amibiasis invasora. Sin referencia bibliográfica.
- 14.- Ortíz-Ortíz, L., Zamacona, G., Sepúlveda, B., Capín, R.N. Cell-Mediated Immunity in Patients with Amoebic Abscess of the liver. Clin. Immunol. and Immunopath. 4: 127-134, 1975.
- 15.- Ortíz-Ortíz, L., Capín, R., Capín, N.R., Sepúlveda, B. & Zamacona, G. Activation of the alternative pathway of complement by Entamoeba histolytica. Clin. Exp. Immunol. 34:10-18, 1978.
- 16.- Ortíz-Ortíz, L., Garmilla, C., et al Hipersensibilidad celular en amibiasis. I: Reacciones en Hamsters inoculados con E. histolytica. Arch. Invest. Med. 4(Supl. 1): s141-s146, 1973.
- 17.- Ortíz-Ortíz, L., Garmilla, C., Zamacona, G., Sepúlveda, B. Hipersensibilidad celular en amibiasis. II: Estudio en pacientes con absceso hepático amibiano agudo. Arch. Invest. Med. 4(Supl. 1): s141-s146, 1973.
- 18.- Ravi, V.V., Mithal, S., Maloviya, A.N. and Tandon, B. Immunologic studies in amoebic liver abscess. Indian J. Med. Res. 63(12): 1732-1736, 1975.

- 19.- Sepúlveda, B. *Inmunología de la Amibiasis*. Sin referencia bibliográfica.
- 20.- Serafín, F., Castañeda, E., Díaz, S., Palacios, O., Gutiérrez Trujillo, G. Evaluación diagnóstica y terapéutica en la amibiasis intestinal invasora del niño. *Arch. Invest. Med. (Mex.)*. 11(Supl. 1): 291-298, 1980.
- 21.- Serafín Anaya, F., Castañeda, E., Díaz, S., Palacios Trujillo, Gutiérrez, G. Amibiasis intestinal en niños. II: Evaluación de diversas técnicas diagnósticas y distintos esquemas terapéuticos. *Arch. Invest. Med. (Mex.)*. 9(Supl.1): 371-374, 1978.
- 22.- Stramm, W.P., Ashely, M.J. and Parelkar, S.N. Evaluation of a latex agglutination test for amoebiasis. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.* 67(2): 211-213, 1973.
- 23.- Vinayak, V.K., Tandon, B.N., Talwar, G.P., Mohapatra, Z.N., and Om Parkash. Immuno-electrophoresis Test in Amoebiasis. *Indian J. Med. Res.* 64(5): 172-352, 1976.

