

JORGE TAY**
ZLATE RODJKIND
FRANCISCO BIAGI F.

SEPARACION DE
LA FRACCION SERICA
INMOVILIZANTE DE*
ENTAMOEBA HISTOLYTICA

INTRODUCCIÓN

LAS INFECCIONES por *Entamoeba histolytica* en el hombre y particularmente en México, constituyen un problema de gran importancia, como lo señala el hecho de encontrar que la amibiasis ocupa el quinto lugar como causa de muerte en el Hospital General de la ciudad de México¹.

El diagnóstico de certeza de esta parasitosis, se establece principalmente mediante exámenes coproparasitológicos, tanto el directo como el de concentración; dichos métodos requieren del conocimiento amplio del parásito, que frecuentemente es confundido con otras estructuras o pasa inadvertido a las personas encargadas de realizar dichos exámenes. El problema del diagnóstico se complica aún más, cuando la infección no se limita al intestino, sino se propaga y se presenta en otros órganos como el hígado, pulmón, etc.

Ultimamente se han venido desarrollando una serie de reacciones serológicas para el diagnóstico de la amibiasis, tratando de hacer más accesible el diagnóstico, especialmente en los casos en que las amibas no son eliminadas con las heces.

Los estudios serológicos de la amibiasis fueron iniciados por *Izar* en 1914, quien empleó la reacción de fijación del complemento². Posteriormente diversos autores han trabajado con varias reacciones serológicas en la amibiasis, obteniendo resultados variables, generalmente

* Trabajo hecho con los donativos AI-3129 y AI-4452 de los National Institutes of Health.

** Departamento de Parasitología de la Facultad de Medicina UNAM.

poco satisfactorios, por las dificultades surgidas en la preparación de un antígeno adecuado^{3, 4, 5, 6}.

En 1953, *Cole y Kent*, inmunizaron conejos y demostraron que los sueros de estos eran capaces de inmovilizar trofozoítos de *E. histolytica*⁷. Posteriormente *Valentino*⁸, encontró resultados satisfactorios con la reacción de inmovilización (RI); así mismo *Fukuhara*, le concede mayor utilidad a la RI que a otras⁵ *Biagi y Buentello*, son los primeros en hacer una evaluación amplia de la RI como medio diagnóstico en diversos tipos anatomoclínicos de amibiasis⁹.

Continuando con los estudios sobre esta reacción iniciados en el Departamento de Parasitología desde 1960 tratamos de identificar la fracción del suero inmune que contiene la propiedad de inmovilizar a este parásito.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se inyectó un lote de 10 conejos por vía intravenosa con una suspensión de trofozoítos de *Entamoeba histolytica* con 200,000 trofozoítos por ml. Esta inyección se repitió tres veces por semana durante cuatro semanas. Cinco días después de la última inyección se sangraron los animales por punción cardíaca, comprobando en los sueros la positividad para la RI. Antes de haber sido inyectado por primera vez con los trofozoítos de *E. histolytica* el lote de conejos fue sangrado para verificar negatividad a la RI. Todos los conejos inoculados, fueron protegidos con penicilina y estreptomycinina.

Los sueros obtenidos, y previa comprobación de su positividad a la RI, fueron fraccionados mediante electroforesis en gel de almidón de papa¹⁰. No habiendo posibilidad de ensayar cada una de las bandas de concentración desarrolladas por la electroforesis, se decidió separar los bloques en tres fracciones: una positiva I, que incluye fundamentalmente prealbúminas, albúminas y post-albúminas; una segunda II, desde la mitad del campo positivo al sitio de la muestra que incluye la mayoría de las bandas posibles de haptoglobulinas, globulinas alfa 2, y alfa beta globulinas; y una tercera zona III, constituida fundamentalmente por gamma-globulinas. Las fracciones fueron eluidas y liofilizadas. Una vez restituídas a su estado de solución, fueron ensayadas

* Agradecemos al Dr. Félix Córdoba el asesoramiento en la separación de las fracciones.

100

90

80

70

60

50

40

30

20

10

POR CIENTO . DE INMOVILIZACION DE ANIMAS

Tabla I

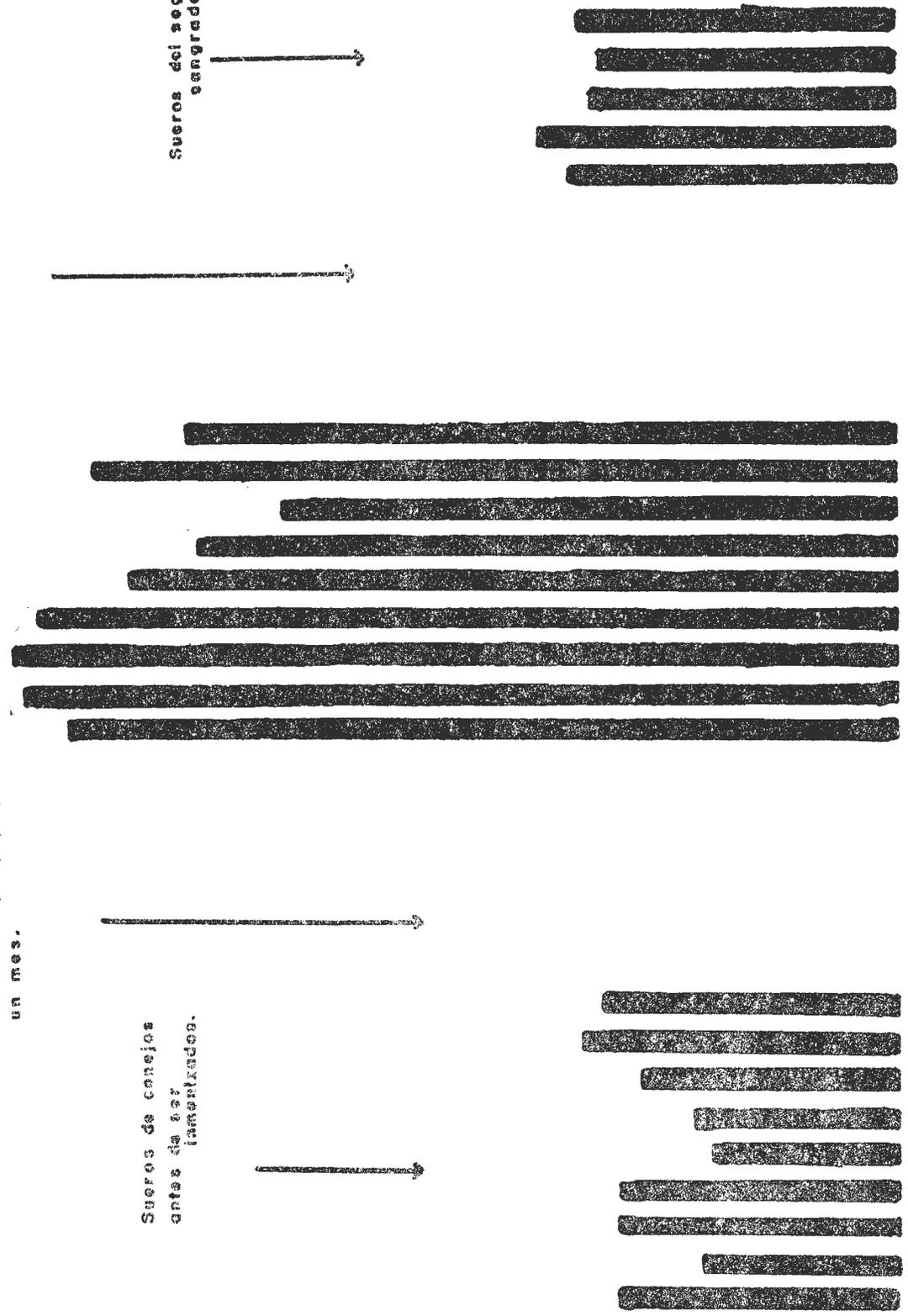
Descanso cien días sin inyección de E. histolytica.

Sueros del primer sangrado a las 4 semanas.

Inyecciones de Entamoeba histolytica cada tercer día durante un mes.

Sueros de conejos antes de ser inmunizados.

Sueros del segundo sangrado



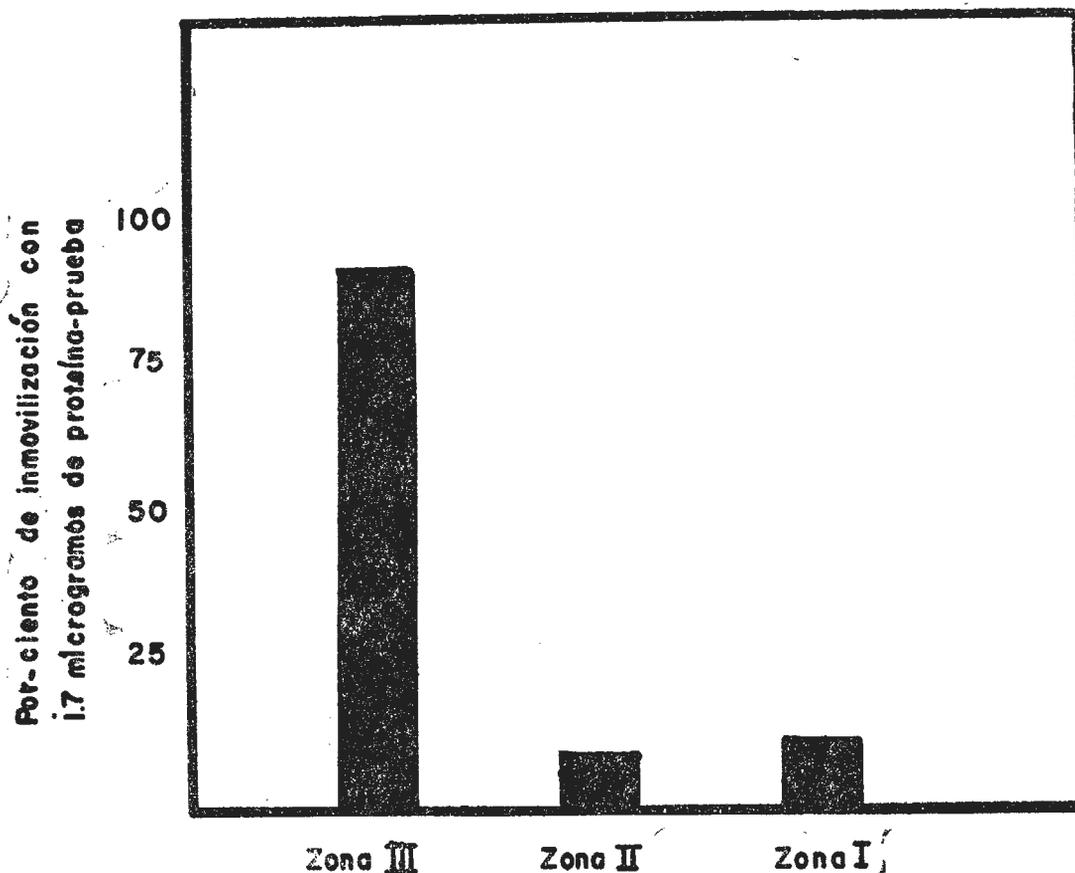
en la RI. Se determinó la concentración de proteínas en los eluidos por el método de *Folin* y se ajustaron a 1.7 microgramos de proteínas por prueba.

RESULTADOS Y COMENTARIOS

Como se puede apreciar en la Tabla I, los sueros de los conejos inyectados con 200,000 trofozoítos de *E. histolytica* tres veces por semana durante cuatro semanas, nos dieron una respuesta inmunológica de más del 80% en la inmovilización de las amibas de los sangrados obtenidos después de un mes. Dejando descansar estos mismos animales durante 100 días sus sueros se negativizaron para la RI; es decir que en 4 semanas se obtiene una producción de anticuerpos inmovilizantes relativamente alta, y ésta respuesta disminuye hasta negativizarse en 100 días.

En la Fig. 1, podemos ver resumida la imagen de la respuesta a

Fig. I



la RI que nos ofrecieron las fracciones I, II y III de los conejos inmunizados y de sus sueros separados por electroforesis en gel de almidón de papa.

En los 10 conejos encontramos que la fracción III, o sea la que contiene las gama-globulinas, ofreció un porcentaje de inmovilización de más del 80% o sea reacción francamente positiva, mientras que las fracciones I y II, en ningún caso pasaron del 15% de inmovilización o sea que dieron reacción negativa.

RESUMEN Y CONCLUSIONES

Se inoculó un lote de conejos con suspensiones de trofozoítos de *Entamoeba histolytica*, tres veces por semana durante cuatro semanas con 200,000 trofozoítos cada vez. El lote fue sangrado 5 días después de la última inoculación, obteniendo 80% de inmovilización de los trofozoítos de *E. histolytica* en promedio, con todos los sueros. Esta respuesta inmunológica desaparece a los 100 días después de dejar en reposo a los animales.

Fraccionando los sueros por medio de electroforesis en gel de almidón de papa, se observó que la fracción sérica responsable de la inmovilización de las amibas es la gama-globulina, pues esta fracción fue la que dio el 80% de inmovilización de los trozoítos, comparativamente con las otras fracciones del suero que dieron reacciones negativas.

SUMMARY

A group of rabbits were inoculated with suspensions of trophozoites of *Entamoeba histolytica*. The inoculations were made three times a week during four weeks, with 200,000 trophozoites per inoculum. The rabbits were bled five days after the last inoculation; this sera produced immobilization of an average of 80% of the trophozoites. This immunologic activity disappeared after 100 dys.

By fractionating the serum by electrophoresis in potato starch gel, the fraction responsible for the immobilization was found to be gamma-globulin. This fraction duplicated the 80% immobilization of the whole serum in contrast to the negative result with other fractions.

REFERENCIAS

1. Flores-Barroeta, F., Nuñez, V. y Biagi-F., F. Prensa Med. Méx. 24 (3-4): 141-146; (1959).
2. Amaral, A. D. Folia Clin. Biol. Paras. 17 (2); 157-164; (1952).
3. Craig y Faust, E. C.; *Laboratory diagnosis of protozoan diseases*. Philadelphia; Lea y Febiger, (1948).
4. Magath, F. and Meleney, D. Am. J. Trop. Med. 20; 211-238; (1940).
5. Fukuhara, F. Japanese J. Parasitol. 9 (2); 145-149; (1960).
6. Moan, C. J. Amer. J. Trop. Med. and Hyg. 6 (3); 499-513; (1957).
7. Cole, B. A. and Kent, J. E. Proc. Soc. Exper. Biol. Med. 83 (4); 811-814; (1953).
8. Valentino, L. Rev. Inst. Sieroterap. Ital. 31 (4); 310-317; (1956).
9. Biagia-F., F. y Buentello, L. Rev. Gastroenterol. Mex. 26 (151); 11-14; (1961).
10. Poulink, M. D. J. Immunol. 82 (6); 502-515; (1959).