

LA ENTAMEBA HISTOLYTICA DE PUERTO RICO

COMPARACION DEL VALOR DIAGNOSTICO DE SU CULTIVO Y EXAMEN MICROSCOPICO DIRECTO CON LA PRUEBA PATOGENICA *

Por HILDRUS A. POINDEXTER

Del Departamento de Bacteriología, Medicina Preventiva y Salud Pública de la Escuela de Medicina de la Universidad de Howard, Washington, D. C.

La comunicación que aquí presentamos es el resultado obtenido en 564 exámenes de heces fecales distintas y del estudio patogénico de la *Entameba histolytica* existente en algunas de ellas, que practicamos en Puerto Rico durante el verano de 1932. Con cada una de las muestras se hacía un examen microscópico completo, antes y después de teñirlas con la solución yodada, y, por último, a las 48 horas de siembra y permanencia en la estufa, a la temperatura de 37.5°C.

Utilizamos casi el mismo medio de cultivo que utilizó Poindexter(1) en 1932. El medio básico consistía de agar e infusión de hígado preparado por el método de Cleveland y Sanders(2) y medio inclinado de huevo de Boeck-Drobohlav. La porción líquida del medio estaba formada de una parte de suero fresco inactivado y 9 de la solución de Ringer o de Locke. Utilizamos casi siempre suero de conejo, aunque alguna vez lo sustituimos por suero humano o de mono. Los resultados fueron los mismos con los tres. La solución de Ringer adicionada de suero fué utilizada con más frecuencia que la de Locke, porque con ella lográbamos retardar la rápida reproducción de los contaminantes más vulgares; por ejemplo: alguna levadura común y un hongo, pariente próximo del género *Monilia*, que en los cultivos y en su morfología se parece mucho a la *M. sitophila*. Cuando usábamos la solución de Locke el rápido crecimiento de los contaminantes entorpecía el de la entameba y dificultaba su identificación.

El protozooario encontrado con mas frecuencia fué el *Entamoeba coli*. De 564 muestras examinadas se encontró por el método directo en 215 muestras y por cultivo se demostró

* Esta labor se llevó a cabo merced a una subvención especial de la Junta de Educación General de la Fundación Rockefeller.

Recibido para publicarse abril, 1933.

la presencia del *E. coli* en 45 de las 349 muestras que habían resultado negativas en el examen microscópico directo, lo que hace un total de 260 muestras positivas de *E. coli*. De las 215 muestras examinadas microscópicamente, 52 resultaron positivas en los cultivos.

Demostramos la presencia de *E. histolytica* en 66 de las 564 muestras examinadas directamente, de las cuales 4 de las negativas resultaron después positivas en los cultivos y 53 de las 66 positivas resultaron serlo igualmente en los cultivos.

En una sola de las muestras pudimos observar la forma vegetativa de la amiba en actividad. Se trataba de una excreta fresca que nos envió un médico, procedente de un enfermo con síntomas clínicos agudos de amibiasis, y en ella determinamos la *E. histolytica* típica, con su motilidad característica, conteniendo corpúsculos rojos ya ingeridos. Hicimos cultivos con este espécimen e inyectamos a un perrillo amibas activas.

Alguna que otra vez encontrábamos en las excretas quistes de *Iodameba bütschlii* y *Endolimax nana*, pero no hemos cultivado ninguna de ellas.

Muchas excretas, sobre todo las más recientes, contenían *Trichomonas intestinalis* activas que crecían rápidamente en los cultivos. Unas pocas contenían quistes de *Giardia lamblia*; de ellas, dos escindieron el ectoplasma durante el cultivo y crecieron durante 8 y 10 días respectivamente. La forma vegetativa de la *Giardia* se pudo observar en un espécimen reciente. La especie *Chilomastix mesnili* se la observó ocasionalmente en forma quística; en 3 casos maduraron y crecieron por espacio de 11, 13 y 16 días cada una. Determinamos asimismo dos cultivos con *Embadomonas intestinalis* pero nunca pudimos comprobar su presencia en las preparaciones antes del cultivo.

EXPERIMENTACION

En el año 1931 comunicó Marín(3) sus experiencias llevadas a cabo en Puerto Rico con una familia de entamebas que no se distinguía morfológicamente de la *E. histolytica*. Los resultados por él obtenidos parecen demostrar que las entamebas no ejercían ninguna acción patógena sobre los gatos jóvenes. Para determinar esta acción utilizamos estos animales aceptados por todos como animales de prueba; pero

quisimos también comprobar los resultados recientes obtenidos por Faust(4) en los perritos jóvenes, y empezamos a probar sobre ellos la acción patógena de la forma vegetativa de las entamebas tomadas de diferentes excretas.

Para infectar los animales de experimentación empleamos cultivos de *E. histolytica*, ya desenquistada en los tubos de cultivos y en plena motilidad. Esperábamos a que el crecimiento fuera suficientemente rápido que nos permitiese observar en un segundo cultivo, al cabo de 24 horas, 8 ó 10 trofozoos activos por campo, bajo gran aumento. Mezclábamos entonces varios tubos y tomábamos 20 cc. de la suspensión líquida a 37.5°C y la inyectábamos en la parte baja del colon y en la porción distante del íleo. Procedimos a anestesiarnos primeramente al gatito con éter y le introducíamos un catéter blando de goma hasta unas 6 pulgadas y media, que consideramos lo suficiente para llegar hasta el ciego. Conectamos al extremo del catéter una pipeta ligeramente tibia, con 20 cc. de la suspensión de trofozoos activos, que dejábamos caer por gravedad mientras el animal colgaba de las patas traseras. En ningún momento tratamos de forzar su introducción en el colon. La anestesia del animal y la gran cantidad del líquido empleado nos hacen suponer que algo de él debió pasar más allá de la válvula ileocecal y llegar al íleo. Después que todo el contenido de la pipeta había penetrado retirábamos el catéter y taponábamos el recto con algodón, estando todavía el animal bajo la acción del éter. Al día siguiente (24 horas después) sacábamos el tapón, tirando del hilo que habíamos dejado fuera.

Con este mismo procedimiento infectamos 11 gatitos; cada uno de ellos con cultivos de trofozoos procedentes de quistes de un sujeto diferente.

Resultado:

Muertos -----3 { 9 días después de infectados
 { 18 días después de infectados
 { 21 días después de infectados

Diez de los 11 animales tuvieron trofozoos activos hasta los 7 días de la infección; 5 de éstos durante todo el período de observación (29 días después de haberles inyectado). En los 3 gatitos muertos encontramos la forma vegetativa de la entameba desde el mismo día de la inyección hasta el de la

muerte. Después de ocurrida ésta hallamos la amiba en las escarificaciones practicadas en el colon. Los tres gatos tuvieron diarrea, pero sólo alguna vez deposiciones disentéricas. Solamente 2 presentaron las ulceraciones típicas, macroscópicas, que se observan en los gatos que mueren de amibiasis experimental. Las lesiones se parecían a las que describe Rees(5) en los gatos infectados si se les sacrifica en el comienzo del período diarreico, antes de que se establezca la disentería. Los cortes microscópicos del colon, ciego y recto presentaban zonas hiperhémicas, pero en uno solamente de los animales la entameba ocasionó una invasión evidente de la mucosa. Las lesiones tuvieron lugar en el ciego.

De la misma manera inyectamos también cinco perrillos, pero sin anestesiarlos, introduciendo con suavidad el catéter en el recto, mientras los aguantaba un ayudante, dejándolos taponados 24 horas.

Aparecieron los trofozoos activos en las deposiciones en 3 animales (Nos. 1, 2 y 5), al cabo de los 7, 8 y 13 días respectivamente después de haberlos inyectados. La infección duró espacios distintos de tiempo y desapareció finalmente en todos sin ocasionar ninguna muerte. Sólo uno de los perros pareció estar realmente enfermo.

INTERPRETACION

Hemos visto que el examen microscópico completo de 564 excretas nos da un 12.4 por ciento positivo de *E. histolytica* y 46 por ciento de *E. coli*. Tenemos razones para suponer que el porcentaje de casos positivos habría aumentado considerablemente si con las mismas excretas se hubieran practicado exámenes microscópicos repetidos a cortos intervalos.

Si bien es verdad que el porcentaje de los resultados positivos en el examen directo solamente, y después de la siembra, fué casi el mismo, no es menos cierto que combinando ambos métodos se obtuvieron porcentajes más altos. Cuando sólo hay quistes amíbcos en el excremento es mucho más fácil para el parasitólogo poco experimentado hacer el diagnóstico diferencial de la *E. histolytica* en un cultivo—con amibas desenquistadas—que en un solo examen directo de la preparación. Por eso creemos que debería generalizarse más el

empleo de los métodos de cultivo, sin desechar el examen directo, pues constituyen una gran ayuda de éste.

En cuanto a los resultados experimentales, salta a la vista que los porcentajes de infestación en los gatos jóvenes obtenidos en Puerto Rico con una variedad puertorriqueña de la *E. histolytica* no difieren mucho de los obtenidos en los mismos animales en los Estados Unidos con variedades de entamebas aisladas en aquel país; aunque el coeficiente de mortalidad es sin embargo, menor, y las lesiones del colon, ciego y recto son también menos numerosas.

Creemos que estas observaciones deben aclararse pues ello nos pondría en camino de podernos explicar porqué la frecuencia de portadores de amibas en la excreta es tan grande en la isla, existiendo en cambio un porcentaje relativamente pequeño de casos clínicos de amibiasis. La explicación reside quizás en los tres hechos siguientes:

(a) A pesar de que morfológicamente y en algunas de sus características la entameba de Puerto Rico se parece a la *E. histolytica*, no es ella, sin embargo, la que causa la amibiasis aguda.

(b) Como la población de Puerto Rico está expuesta constantemente al contacto con este protozoario y como, por otra parte, se da en ella un alto porcentaje de infestación parasitaria de otros protozoarios afines, puede haberse desarrollado en los habitantes cierto grado de inmunidad específica o grupal, lo que unido a la razón expuesta anteriormente quizás sea una explicación de lo que allí ocurre.

(c) Téngase además presente que los hábitos alimenticios de la mayor parte de los habitantes de la isla—dieta de carbohidratos principalmente—es la más a propósito para disminuir la actividad de la entameba, sin retardar su desarrollo normal, ni modificar su ciclo vital. Los perros y gatos en nuestros experimentos fueron alimentados con una dieta similar a la de los habitantes de la isla. Las entamebas existentes en el canal intestinal podían surtirse así abundantemente de hidratos de carbono aptos para la absorción. Rees(6) observó experimentalmente que la *E. histolytica* alimentada con féculas crece más débil en los cultivos que la que no ha tenido un alimento feculento, aunque el medio de cultivo haya sido el mismo. Hemos comprobado esta observación empleando en nuestros experimentos harina de arroz de Slade

y harina integral de trigo, de Ralston. Asegura Rees que a causa de esa debilidad de la *E. histolytica* puede ser eliminada antes de que invada la mucosa. Esto es lo que influye—dice Rees—en la pérdida del poder patógeno con los gatos, según se ha observado en ciertas familias de *E. histolytica* que han vivido en medios feculentos, así como también la aparente inocuidad de la *E. histolytica* procedente de los abscesos del hígado, pues en él las amibas han subsistido a pesar de haberse alimentado con grandes cantidades del glicógeno hepático.

En vista de los hechos observados tenemos la creencia de que las entamebas se multiplican en la proximidad de la entrada del colon, sin invadir la mucosa, enquistándose según descienden, para aparecer más tarde ya enquistadas en los excrementos.

El alto porcentaje de infestación amibica está en relación con las prácticas sanitarias y de higiene personal de los habitantes de un país.

La técnica que aplicamos en nuestros experimentos en los perros no fué la misma que la seguida por Faust(4). Difiere la nuestra en el método de observación y en la preparación preliminar de los animales.

RESUMEN Y CONCLUSIONES

La relación evidente que tienen entre sí el número de casos positivos obtenidos en los cultivos, con el número de los que se obtienen por examen microscópico directo, y la mayor facilidad para diferenciar las formas vegetativas de la *E. histolytica* y *E. coli*, de sus quistes respectivos, nos inclina a creer que el método de cultivo que hemos descrito puede emplearse como procedimiento diagnóstico; sobre todo, asociado a otros.

La forma vegetativa de *E. histolytica* puertorriqueña es menos patógena para los gatos alimentados con hidratos de carbono que las de la misma amiba procedentes de excretas de enfermos amibiásicos en distintos Estados norteamericanos, e inyectados a gatitos de la misma edad alimentados principalmente con leche, carne y pescado.

Ninguno de los perros alimentados con hidratos de carbono murió de la enfermedad, aunque algunos tuvieron trofozoos activos en la excreta durante varios días. No hemos

practicado ningún ensayo de amibiasis experimental con perros sometidos a una dieta cargada de proteínas.

Deseo expresar mi profundo reconocimiento al doctor George W. Bachman, director de la Escuela de Medicina Tropical, a su cuerpo facultativo y personal técnico, así como a los miembros del Departamento de Sanidad, del Hospital de la Universidad, del Hospital Presbiteriano y de la Clínica Miramar por la valiosa ayuda que todos me prestaron, proveyéndome del material y de los aparatos necesarios para llevar a cabo este trabajo.

R. L. trad.