

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS

*Entamoeba Histolytica está
en Simbiosis*

Tesis Doctoral

PRESENTADA POR

Andrew Valentine Gregg

PREVIA OPCION AL TITULO DE

Doctor en Quimica Biológica



ABRIL DE 1969

SAN SALVADOR, EL SALVADOR, CENTRO AMERICA



UES BIBLIOTECA CENTRAL
INVENTARIO: 10107052

063552

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

RECTOR:

DR. JOSE MARIA MENDEZ

SECRETARIO GENERAL:

DR. JOSE RICARDO MARTINEZ



FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS

DECANO:

DR. RICARDO GAVIDIA CASTRO

SECRETARIO:

DRA. RHINA LEMUS DE SALGADO

J U R A D O S

PRIMER EXAMEN GENERAL PRIVADO DE DOCTORAMIENTO

Presidente: Dr. Luis Mario Samayoa

Secretario: Dr. Raúl Arévalo Alvarez

Vocal: Dra. Guadalupe Ventura de Calles

SEGUNDO EXAMEN GENERAL PRIVADO DE DOCTORAMIENTO

Presidente: Dr. Rómulo Sosa Cáceres

Secretario: Dr. Ricardo Gavidia Castro

Vocal: Dr. Pedro Geoffroy Luna

J U R A D O D E T E S I S

Dra. Concha Lemus de Bendix

Dr. Pedro Geoffroy Luna

Dr. Ricardo Gavidia Castro

DEDICATORIA

A MIS PADRES:

Algar Robert Gregg y Ana Consuelo Cisneros de Gregg, quienes con sus sabios consejos e infinitas bondades me brindaron inmerecida y constante ayuda, para ellos mi más sincero agradecimiento.

A MI ABUELITA:

Angela Miron V. de Cisneros con especial cariño.

A MIS HERMANAS:

Ana Altagracia Gregg de Vidales y Francisca Imelda Gregg de Parker, con mucho afecto.

A MIS HERMANOS:

Anthony Alan Gregg y Joseph Algar Gregg, con mucha estimación.

CON TODO APRECIO:

A mis familiares

A mis profesores

A mis compañeros y amigos.

AGRADECIMIENTO

Mi más sincero agradecimiento al Dr. Mauricio Sol Nerio, por la acertada dirección prestada y al Dr. Rómulo Sosa Cáceres, como al personal del laboratorio del I. S. S. S. por su fina colaboración en este trabajo.

I N D I C E

CAPITULO

- I INTRODUCCION
- II TEORIA SIMBIOTICA
- III MATERIAL Y PROCEDIMIENTO
- IV RESULTADOS
- V DISCUSION DE LOS RESULTADOS
- VI CONCLUSIONES
- VII RECOMENDACIONES
- VIII RESUMEN
- IX BIBIOGRAFIA

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

El objeto de este trabajo es demostrar que la Ameba está en simbiosis. Esto es importante debido a que generalmente la terapéutica va orientada únicamente a tratar la Ameba o si se dá medicamentos para los gérmenes asociados, se hace con desconocimiento de ellos y del antibiótico apropiado, obteniendo desde luego malos resultados por no realizar los estudios adecuados. Si nosotros conocemos el germen que está asociado a la ameba no sólo podemos dar una terapéutica específica sino que además controlaremos la evolución de éstos. A través del estudio bacteriológico evidenciamos cuales son los gérmenes más frecuentemente asociados y los antibióticos útiles que puedan reforzar el amebicida.

Espero con este trabajo demostrar la simbiosis y dar una mejor orientación terapéutica que ayude a la erradicación de este problema que tanta morbilidad y mortalidad causa en nuestro país.

TEORIA SIMBIOTICA

- 1.—¿QUE ES SIMBIOSIS?
- 2.—HECHOS DE SIMBIOSIS
- 3.—LA CELULA EN SIMBIOSIS
- 4.—LA AMEBA EN SIMBIOSIS.

1.—**SIMBIOSIS:** Viene del griego que significa syn: conjunto; biosis: vida, medio de subsistencia.

Se dice que un microorganismo está en simbiosis cuando no le es posible la vida, sin la presencia de otro. Es decir que un microorganismo simbiótico no puede vivir independientemente.

2.—**HECHOS DE SIMBIOSIS:** La simbiosis constituye el fundamento de todo fenómeno vital y sin ella no es posible la vida.

A continuación se describen algunos ejemplos generales de simbiosis.

a) Entre los crustáceos tenemos el ermitaño o bruja (*Empagurus Bernhardus*) que protege su abdomen introduciéndose dentro de la concha de un caracol encima de la cual suele colocarse una anémona de mar a la cual le cede los restos de comida y ella lo defiende con sus órganos urticantes. (1).

b) Abundan en las raíces de leguminosas bacterias que viven a expensas de hidratos de carbono elaboradas por estas plantas; pero en compensación les proporcionan sustancias nitrogenadas que las bacterias a su vez han elaborado con el nitrógeno libre.

c) Las hayas, pinos y otros árboles carecen de pelos radicales en la raíz, por lo cual morirían si no existieran unos hongos filamentosos, la “micorriza” que envolviendo a las raíces, absorben del suelo las sustancias minerales y las ceden a los árboles en pago de la sabia que de ellos reciben.

3.—LA CELULA EN SIMBIOSIS: La célula es una unidad elemental y compleja, capaz en determinado caso de vivir independientemente y de constituir de por sí un ser completo vegetal o animal. Lo más general es que vivan agrupadas y son estas asociaciones celulares las que constituyen los seres vivos superiores (2).

En el ser humano, cada órgano es un agregado de células, constituido por un tipo especial que está adaptado para llevar a cabo una función determinada y la función global del cuerpo es la suma de las funciones de todas las células.

Si una célula se separa del complicado sistema simbiótico no podría vivir, ya que por si sola no sería capaz ni de cumplir su función específica ni de asimilar las sustancias necesarias para su nutrición.

4.—LA AMEBA EN SIMBIOSIS: Muchos hechos prácticos de laboratorio hacen referencias a las simbiosis amibiana, ya que para la preparación de medios de cultivos de la ameba necesitamos la presencia de bacterias. Se ha usado también el *Trypanosoma Cruzi* como asociado para cultivar las amibas. (3).

Sostienen algunos autores que la amiba se reproduce en la luz del intestino viviendo a expensas de microorganismos lo que nos indica que la patogenicidad de la amiba está directamente relacionada con la de las bacterias que se asocian con ellas. Es

notable también la incapacidad de las amibas para producir lesiones externas en los cobayos excentos de bacterias. Podríamos afirmar que es indispensable la presencia de las bacterias como medio de subsistencia de la amiba (3).

MATERIAL Y PROCEDIMIENTOS

SELECCION DE PACIENTES O TOMA DE MUESTRA

Durante los meses de Agosto, Septiembre y Octubre 1968, se obtuvieron muestras de heces por medio del método de la platina caliente en pacientes de la consulta externa del Hospital Benjamín Bloom.

Las muestras se obtuvieron en niños cuyas edades oscilaba de 1 a 13 años tomando como características en la selección pacientes que presentaban diarrea acompañada de moco y sangre dando preferencia a los que llegaban por primera vez a consulta y que no hubieran recibido anteriormente ningún tratamiento quimioterapéutico.

En base a esta selección los pacientes fueron estrictamente controlados anotándose el nombre, número del registro, la edad, peso, sexo y procedencia Urbano o Rural.

METODO A SEGUIR

El empleo de platinas calientes, tiene como primordial finalidad; mantener la temperatura original de microorganismo según su "habitat". Para ello existen platinas (4) que se superponen a la del microscopio y presentan doble pared por la cual se hace circular agua calentada a la temperatura necesaria.

Otra forma de platina es la que presenta una resistencia eléctrica que produce el calentamiento y provista de un dispositivo especial mantiene la temperatura constante.

En nuestro trabajo el método utilizado para la determinación de la amiba es el método de la platina caliente original del Dr. Luis Castañeda, de nacionalidad Mexicana é introducido a El Salvador por el Doctor Mauricio Sol Nerio (5).

Aquí no se hace uso de platinas sino de un portaobjeto calentado que hace las veces de la misma. También utilizamos una cucharilla especial atraumática de vidrio pyrex para la toma de muestra; que es una inovación del Dr. Castañeda.

El trofozoito de la amiba histolytica es muy sensible a los cambios de concentración de sales de las soluciones en que se encuentra y necesita un PH de 6.5 y 7.(3).

La temperatura óptima en los medios de cultivo del trofozoito es de 37°C. Expuestos a la desecación este último se destruye.

Todas estas condiciones ambientales son facilitadas por el método de la platina caliente ya que el trofozoito activo es viable a 37° - 40°C y al PH Neutro de la Solución Salina.

Comparado con las pruebas de concentración, métodos inmunocitoquímicos y medios de cultivo específicos, el método de la Platina nos permite determinar en forma inmediata la presencia de la amiba y realizar a continuación el coprocultivo con su antibiograma.

MATERIAL UTILIZADO

- 1 Porta objeto
- 1 Cubre objeto
- 1 Tubo de vidrio
- 1 Gotero
- 5 cc. Solución salina al 10%
- Palillos para agitar
- 1 Cucharilla especial de vidrio pyrex atraumática
- 1 Microscopio.

PROCEDIMIENTO

Primero: es necesario tener preparado el material que se va utilizar, lo mismo que un mechero encendido, o lámpara de alcohol, para el calentamiento inmediato del porta objeto, cubre objeto y solución salina (aproximadamente 40° C). Debiéndose tener esterilizada la cucharilla especial de vidrio con que haremos el curetaje rectal. Se tenía listo medio de salenito para el coprocultivo correspondiente.

Como el método de la platina caliente requiere una posición especial, se les explicó a los adultos la posición que debe tomar (posición genupectoral) y a los niños es preferible acostarlos boca abajo en las piernas de la madre para que colabore a mantenerlo quieto.

De inmediato se flamea el porta objeto y el tubo de la solución salina a una temperatura soportable por la mano (no mayor de 40° C).

Colocando una gota de la solución con el gotero en el porta objeto y humedeciendo la cucharilla con la solución se hace un curetaje rectal obteniendo una muestra preferiblemente con moco y sangre.

Se toma una porción de la muestra con un palillo y emulsificamos en la gota de la solución. Calentando un cubre objeto se monta en la preparación y se examina al microscopio.

METODO BACTERIOLOGICO

Una vez practicado el examen parasitológico al paciente, se procedió al examen bacteriológico.

Después de hacer el curetaje rectal y montar la muestra, se siembre la cucharilla especial en SELENITO F. y se incuba por 24 horas a temperatura de 37° C. con el objeto de obtener un enriquecimiento de la flora bacteriana. Luego se sembró en: EMB (Eosina Azul de Metileno); SS (Shigella Salmonella) y PA (PHENYL ETHYL ALCOHOL). (10), para establecer la diferencia entre microorganismos Gram positivos y Gram negativos. Los cultivos se incubaron a 37°C. y fueron examinados a las 24 y 48 horas.

Las colonias que a simple vista no pudieron ser clasificadas se resembraron en TSI (triple azúcar hierro), para lograr una mejor identificación de enterobactereaceas incubándose también durante 24 y 48 horas.

La lectura de los TSI se lleva a cabo según el cuadro A.

En base a esas lecturas se procedió a las reacciones bioquímicas, sembrando del Bicel del TSI, con aguja, en los medios

**REACIONES TIPICAS EN EL MEDIO AGAR
HIERRO TRIPLE AZUCAR**

ORGANISMOS	MEDIO	AGAR	TRIPLE	HIERRO
	Fondo	Bisel	H₂S	
<i>Shigella Dysenteriae</i> (Suiga)	Y	NC	---	
<i>Shigella Ambigua</i> (Schmitz)	Y	NC	---	
<i>Shigella Sonnei</i>	Y	NC	---	
<i>Shigella Paradysenteriae</i> - Boyd And Flexner	Y	NC	---	
<i>Shigella Paradysenteriae</i> - Newcastle	Y or YG	NC	---	
<i>Shigella Alkalescens</i>	Y	NC or Y	---	
<i>Shigella Madampensis</i>	Y	Y	---	
<i>Shigella Ceylonensis</i> (Dispar)	Y	Y	---	
<i>Salmonella Typhosa</i> (Eberthella Typhosa)	Y	NC	+	
<i>Salmonella Paratyphi</i>	YG	NC	---	
<i>Salmonella Schottmuelleri</i>	YG	NC	+	
<i>Salmonella Typhimurium</i>	YG	NC	+	
<i>Salmonella Choleraesuis</i>	YG	NC	---	
<i>Salmonella Enteritidis</i>	YG	NC	+	
<i>Salmonella Pullorum</i>	YG	NC	+	
<i>Salmonella Gallinarum</i>	Y	NC	---	
<i>Aerobacter Aerogenes</i>	YG	Y	---	
<i>Aerobacter Cloacae</i>	YG	Y	---	
<i>Escherichia Coli</i>	YG	Y	---	
<i>Escherichia Freundii</i>	YG	Y	+	
<i>Escherichia Intermedium</i>	YG	Y	---	
<i>Proteus Vulgaris</i>	YG	Y	+	
<i>Proteus Mirabilis</i>	YG	NC or Y	+	
<i>Proteus Morganii</i>	Y or YG	NC	---	
<i>Proteus Rettgeri</i>	Y or YG	NC	---	
<i>Klebsiella Pneumoniae</i>	Y or YG	NC	---	
<i>Pseudomonas Aeruginosa</i>	NC	NC	---	
<i>Alcaligenes Faecalis</i>	NC	NC	---	

NC = No Cambia o Reacción Amarilla + = Positivo

Y = Amarillo o Formación de Acido - = Negativo

YG = Acido y Formación de Gas + = Variable

C U A D R O A

dextrosa, maltosa, sacarosa, manitol, indol, gelatina, movilidad, etc.

Le lectura de las reacciones bioquímicas se lleva a cabo según el cuadro "B".

Estudios en el campo de las enterobactereaseas han demostrado la patogenicidad de ciertos serotipos de Escherichia Coli, como 0111, 0119, 055, 086, etc. por lo que en los casos que se aisló E. Coli se llevó a cabo el tipeo correspondiente.

Se practicó además pruebas de sensibilidad a los antibióticos y drogas quimioterapéuticas para cada uno de los gérmenes aislados.

CULTIVO DE LA ENTAMOEBA HISTOLYTICA

El medio de cultivo empleado es el llamado "ENDAMOEBA MEDIUM" de la casa Difco que tiene la siguiente composición:

	Ingredientes por litro
Infusión de Hígado de Res	272 g.
Proteosa Peptona	5.5.g.
Fosfato Disódico	3 g.
Cloruro de Sodio	2.7 g.
Bacto Agar	11 g.

Para preparar el medio que viene deshidratado se agrega 33 g. a 1000 c.c. de agua destilada y luego se lleva a ebullición para disolver el agar completamente. Se distribuye en tubos y se esteriliza en autoclave por 15 minutos a 15 lbs. de presión (121°C.) Una vez autoclavado se inclinan los tubos y se deja solidificar.. Posteriormente se cubre el pico de flauta con suero sanguíneo de caballo o humano diluído 1: 6 en soluciones fisio-

REACCIONES BIOQUIMICAS DE LAS ENTEROBACTERIACEAS

	GLUCOSA	LACTOSA	SACAROSA	MANITOL	INDOL	ROJO DE METILO	VOGES-PROSKAUER	CITRATO DE SIMMON	UREA	SH2 (TSI)	MOTILIDAD	CNK	LISIN-DESCARBOXILASA	DEAMINASA-FENILALANINA
<i>E. Coli</i>	AG	AG	V	AG	+	+	--	--	--	--	V	--	+	--
<i>E. Freundii</i>	AG	AG	V	AG	V	+	--	+	sl	+	+	+	--	--
<i>Klebsiella-Aerobacter</i>	AG	AG	AG	AG	--	--	+	+	sl	--	V	+	V	--
<i>Paracolobactrum Coliforme</i>	AG	sl	V	AG	+	+	--	--	--	--	V	--	+	--
<i>Paracolobactrum Intermedium</i>	AG	sl	V	AG	V	+	--	+	sl	+	+	+	--	--
<i>Paracolobactrum Aeruginoides</i>	AG	sl	AG	AG	--	--	+	+	sl	+	V	+	V	--
<i>Paracolobactrum Arizonae</i>	AG	sl	--	AG	-	+	--	+	--	+	+	--	+	--
<i>Salmonella Paratyphi a</i>	AG	--	--	AG	--	+	--	--	--	--	+	--	+	--
<i>Salmonella Otras Especies</i>	AG	--	--	AG	--	+	--	+	--	+	+	--	+	--
<i>Salmonella Typhi</i>	A	--	--	AG	--	+	--	--	--	+	+	--	+	--
<i>Shigella Dysenteriae</i>	A	--	--	--	--	+	--	--	--	--	--	--	--	--
<i>Shigella Flexneri</i>	A	--	--	A	+	+	--	--	--	--	--	--	--	--
<i>Shigella Boydii</i>	A	--	--	A	--	+	--	--	--	--	--	--	--	--
<i>Shigella Sonnei</i>	A	sl	sl	A	--	+	--	--	--	--	--	--	--	--
<i>Shigella Alkaescens-Dispar</i>	A	--	V	A	+	+	--	--	--	--	--	--	--	--
<i>Proteus Vulgaris</i>	AG	--	AG	--	+	+	--	+	+	+	+	+	--	+
<i>Proteus Mirabilis</i>	AG	--	sl	--	--	+	--	+	+	+	+	+	--	+
<i>Proteus Morganii</i>	AG	--	--	--	+	+	--	--	+	--	+	+	--	+
<i>Proteus Rettgeri</i>	A	--	sl	A	+	+	--	+	+	--	+	+	--	+
<i>Proteus Inconstans (Providence)</i>	AG	--	sl	--	+	+	--	+	--	--	+	+	--	+

A = Acido

V = Variable

G = Gas

sl = Lenta o retardada

C U A D R O B

lógica de NaCl y se agrega una asada de almidón de arroz (Bacto-Rice-Powder) esterilizado en el horno a 150°C. durante hora y media.

Es conveniente agregar al suero de caballo diluído de 1000 a 2000 unidades de penicilina por cc. o 1 á 2 mg. de estreptomina para inhibir en parte la proliferación bacteriana y de Blastocystis Hominis. Los tubos sembrados deben ser observados a las 48 horas.

Cada uno de los antibióticos y quimioterapéuticos utilizados en las pruebas de sensibilidad, se agregaron al medio de cultivo de la ameba por separado para comprobar sí ésta podía subsistir en ausencia de bacterias. La dosis utilizada fué de 1000 a 2000 unidades por cc. o 1 a 2 mg. por cm³ como primera dosis y de 2000 a 4000 unidades por cc., o 2 a 4 mg. por cm³ como segunda dosis.

Después de sembrar los medios con muestras de heces positivos a E. Histolytica se observaron a las 48 h. y se examinó la acción de los antibióticos. También se sembraron tubos testigos a los que no se les había agregado ningún antibiótico o quimioterapéuticos.

RESULTADOS

CUADRO No. 1

	U R B A N O	R U R A L
PROCEDENCIA	72%	28%

DISTRIBUCION POR EDAD

C U A D R O No. 2

GRUPOS DE EDAD	No. de CASOS	%
(1)		
0 — 2	18	18%
2 — 4	21	21%
4 — 6	27	27%
6 — 8	16	16%
8 — 10	13	13%
10 — 12	5	5%
TOTAL	100	100%

(1) Se hace del conocimiento que de 0 - 1 hubieron 7 casos.

(2) El caso menor encontrado fué de 4 meses 18 días de nacido.

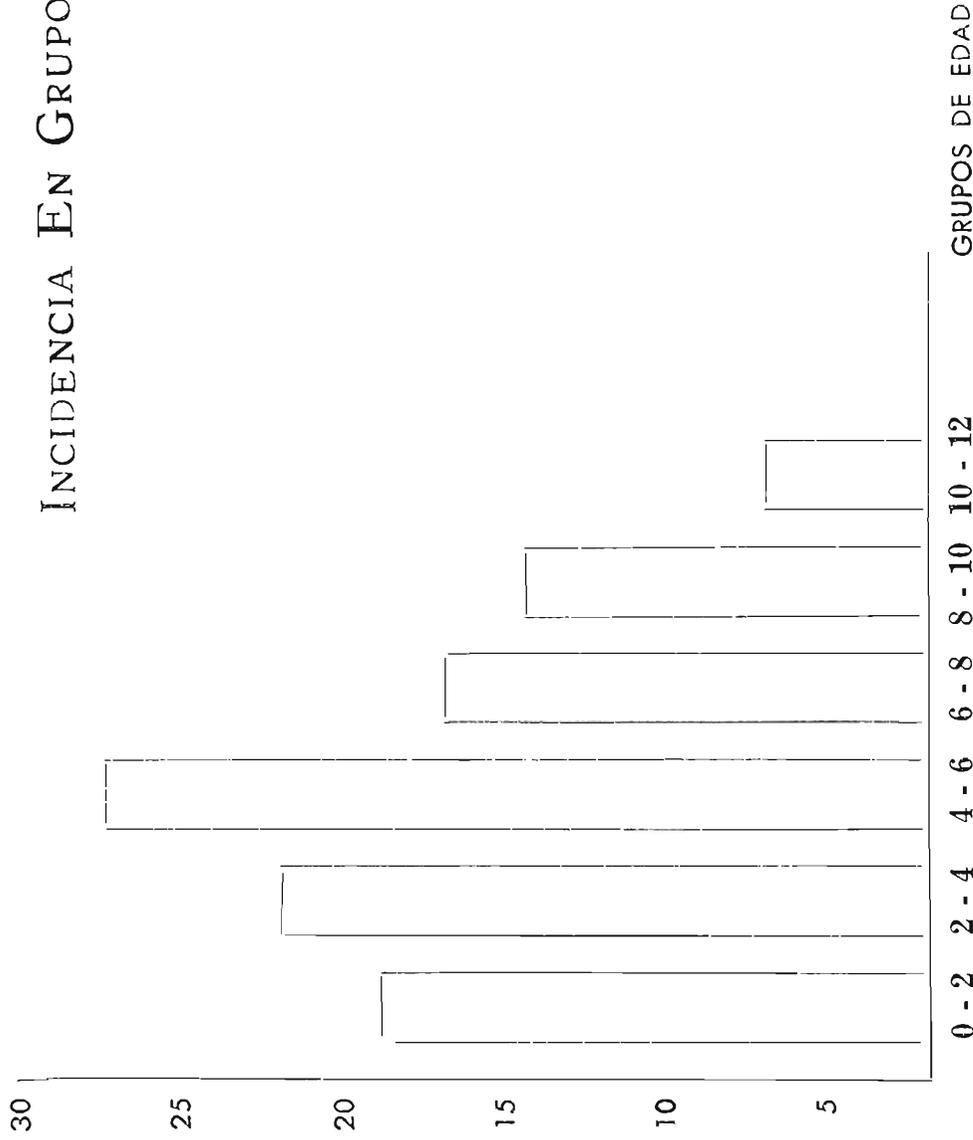
DISTRIBUCION POR SEXO

C U A D R O No. 3

SEXO	No. DE CASOS	%
Masculino	62	62%
Femenino	38	38%
T o t a l	100	100%

FRECUENCIA

INCIDENCIA EN GRUPOS DE EDAD



GRAFICA No. 1

Representación gráfica de 100 casos de amebiasis analizados en la consulta externa del Hospital Benjamín Bloom en los meses de Agosto, Septiembre y Octubre de 1968 y distribuidos en grupos de dos años de edad.

**PARASITOS ENCONTRADOS EN 100 CASOS POSITIVOS
DE AMIBA HISTOLYTICA**

C U A D R O No. 4

P A R A S I T O S	No. D E C A S O S
Entamoeba Histolytica	100
Trichuris Trichiura	43
Giardia Lamblia	28
Trichomonas Hominis	27
Ascaris Lumbricoides	22
Uncinarias	17
Chilomastix Mesnili	11
Hymenolepis Nana	9
Levaduras	6
Entamoeba Coli	5
Enteromonas Hominis	4
Enterobius Vermicularis	2
Endolimax Nana	1
Taenia Solium o Saginata (huevos de)	1
Larvas Strongyloides Stercoralis	1

C U A D R O No. 5

Estado Nutricional	Frecuencia
Normales	21
Desnutridos 1er. Grado	56
Desnutridos 2do. y 3er. Grado	23

C U A D R O No. 6

**GRUPO DE PARASITOS ENCONTRADOS EN LOS
CIEN CASOS POSITIVOS DE E. HISTOLYTICA**

Número de diferentes pa- rásitos acompañantes (1)	Pacientes	Porcentaje
6	2	2%
5	4	4%
4	5	5%
3	17	17%
2	35	35%
1	37	37%
Total	100	100%

(1) Debido a que la variedad de los grupos acompañantes no fueron siempre los mismos, no se pueden expresar estos nominalmente sólo numéricamente.

**MICROORGANISMOS QUE SE ENCUENTRAN
ASOCIADOS EN LOS CIEN CASOS POSITIVOS
DE AMIBA HISTOLYTICA**

C U A D R O No. 7

Escherichia Coli (1)	100
Klebsiella-Aerobacter	59
Stafilococos Albus Coagulasa (-)	24

Continúa

C U A D R O No. 7

C o n t i n u a c i ó n

Proteus Mirabilis	18
Escherichia Freundii	16
Stafilococos Albus Coagulasa (+)	13
Pseudomonas Aeruginosa	11
Streptococos	9
Proteus Morganii	9
Proteus Vulgaris	7
Proteus Especies	5
Proteus Rettgeri	5
Salmonella Typhimurium	3
Alcaligenes Faecalis	2
Salmonella Choleraesuis	2
Aerobacter Aerogenes	2
Shigella Dysenteriae	1
Aerobacter Cloacae	1
Escherichia Intermedium	1
Pseudomona Fluorescens	1

(1) Se realizó tpeo de la Escherichia Coli obteniendo un resultado de 42 casos positivos a E. Coli patógena.

C U A D R O No. 8

GRUPOS DE BACTERIAS O MICROORGANISMOS QUE
SE ENCONTRARON ASOCIADOS A LA AMIBA EN
LOS CIEN CASOS POSITIVOS;

Número de diferentes Bacterias Asociadas (1)	Pacientes	Porcentaje
6	1	1%
5	4	4%
4	22	22%
3	36	36%
2	31	31%
1	6	6%
T o t a l	100	100%

(1)

Debido a que los grupos no fueron siempre los mismos sino que presentaban variabilidad en su asociación no se pueden expresar nominalmente.

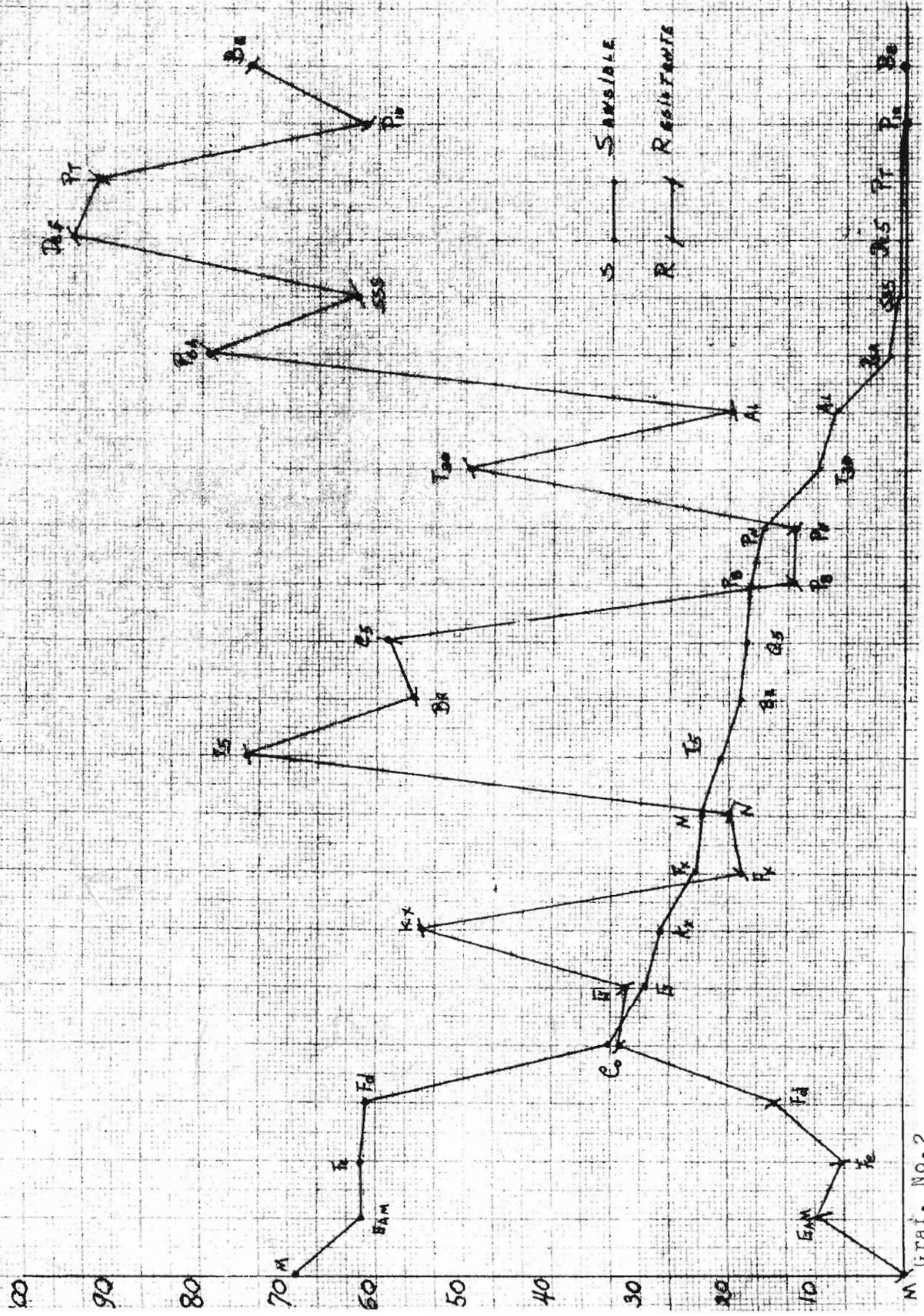
Los números de los grupos indican cada uno de ellos la cantidad de bacterias asociadas a las amiba, de mayor a menor.

**PRUEBA DE SENSIBILIDAD A LOS ANTIBIOTICOS Y
DROGAS QUIMIOTERAPEUTICAS DE
BACTERIAS AISLADAS**

C U A D R O No. 9

Antibiótico y Quimio- terapéutico	S í m b o l o	RESULTADO DE LA PRUEBA		
		Sensible	Resistente	%
Mandelamine	M	70	—	100 %
Gentamicina	GAM	62	10	86 %
Furacina	Fc	62	7	89 %
Furadantin	Fd	61	15	80.2%
Colimicina	Co	34	33	50.7%
Gabromicina	G	30	32	48.3%
Kantrex	Kx	28	55	33.7%
Furoxone	Fx	24	19	55.8%
Neomicina	N	23	20	53.4%
Terramicina	T5	21	75	21.8%
Bristaciclina	BR	19	56	25.3%
Cloranfenical	G5	18	59	23.3%
Polimixin B	PB	17	13	56.6%
Pasobina	PN	16	13	55.1%
Oxitetraciclina	T30	10	50	16.6%
Albamicina	AL	7	20	25.9%
Prostafilina	PSA	2	79	2.4%
Triplesulfa	SSS	1	62	1.5%
Diclosil	DC5	1	94	1.1%
Pentrexil	PT	1	92	1.1%
Penicilina	PIO	—	62	0 %
Bendralán	BE	—	75	0 %

PRUEBA DE SENSIBILIDAD



M Graf. No. 2

Representación gráfica comparativa de la prueba de sensibilidad a los antibióticos y drogas quimioterapéuticas, en cien casos de ambiasis tomados al azar de la consulta externa del

**INHIBICION DEL CRECIMIENTO IN VITRO
DE LA AMEBA USANDO ANTIBIOTICOS
Y QUIMIOTERAPEUTICOS**

C U A D R O No. 10

Antibiótico y Quimioterapéutico	1ª Dosis		2ª Dosis	
	1000 1	— 2000 U. 2 Mg.	2000 2	— 4000 U. Mg.
Mandelamine	—			—
Gentamicina	+			—
Furacina	—			—
Furadantin	—			—
Colimicina	+			—
Gabromicina	—			—
Kantrex	—			—
Furoxone	—			—
Neomicina	+			—
Terramicina	—			—
Brastaciclina	—			—
Cloranfenicol	+			—
Polimixin B	—			—
Pasobina	+			—
Oxitetraciclina	—			—
Albamicina	—			—
Prostafilina	—			—
Triplesulfa	+			—
Diclocil	+			—
Pentrexil	+			—
Penicilina	+			—
Bendralán	+			—
Eritromicina	—			—

POSITIVO (+) = TROFOZOITO ACTIVO

NEGATIVO (—) = TROFOZOITO MUERTO.

DISCUSION

El paratismo es un problema grave en la población infantil de El Salvador, y la amibiasis constituye uno de los problemas de salud pública más alarmantes en nuestro medio.

En cuanto a la población estudiada (ver cuadro No. 1) en este trabajo fué mayor su procedencia urbana que rural. Este hallazgo es similar al encontrado por otros investigadores (6,7) y en nuestro medio actualmente se justifica más, dada la gran proliferación de viviendas urbanas que se encuentran en gran promiscuidad y carentes de toda higiene.

Para su mejor estudio y comprensión, al referirnos a la edad (ver cuadro 2, gráfica 1), se distribuyó la población en grupos de dos años, encontrándose la mayor incidencia de amibiasis en niños de 4 a 6 años, entre los que se encontró 27 casos positivos. El caso de menor edad encontrado fué de cuatro meses 18 días de nacido y entre los niños menores de 1 año se encontraron 7 casos positivos de amibiasis. Esto es debido, a que los niños en edades tempranas están más expuestos a la contaminación. Podemos mencionar varias causas como: la falta de esterilización de la cristalería y utensilios necesarios para la preparación de sus alimentos; la contaminación de las aguas con heces fecales y el contacto directo con el polvo en el cual se encuentran quistes tanto de *Entamoeba Histolytica* como de *E. Coli*. Se vé pues que a medida que aumenta la edad, aumenta el número de casos, disminuyendo a partir de los 6 ños, como consecuencia de la aparición de defensas de tipo inmune y de la adquisición de nuevos hábitos higiénicos (8).

Fuera de nuestro cometido está señalar la contaminación en personas adultas ya que este estudio se realizó en infantes

exclusivamente, pero creemos importante hacer mención que las principales fuentes de infección amibiana (9) son los enfermos asintomáticos que expulsan quistes; los huéspedes reservatorios; el agua y legumbres contaminados con heces infectantes y personas portadoras que manipulan alimentos.

La frecuencia observada según el sexo (véase cuadro No. 3) fué mayor en los varones que en las niñas, obteniéndose 62 casos positivos masculinos y 38 casos positivos femeninos de *Entamoeba Histolytica*. No sabemos en realidad a qué se debe este incremento, pero podría atribuirse al hecho de que los varones son más inquietos en sus juegos y diversiones comparado con la de las niñas, y por lo tanto más expuestos a la contaminación.

Observamos en el cuadro No. 4, que los parásitos más frecuentemente encontrados en los 100 casos positivos de amiba *Histolytica* fueron: tricocéfalos 43 casos, *Geardia Lambia* 28 casos, *Trichomonas Hominis* 27 casos.

Como el examen parasitológico se realizó de materia fecal obtenida con la cucharilla especial atraumática, de vidrio pyrex, sólo fué posible encontrar huevos de taenia debido a la cantidad mínima de muestras, ya que los proglótides se encuentran más frecuentemente en las deposiciones.

La etiología bacteriológica encontrada nos permite demostrar la asociación simbiótica de la ameba ya que en todos los casos aparecía regular número de bacterias acompañantes. Estos grupos no fueron siempre los mismos sino que presentaban variabilidad en su asociación (ver cuadro No. 8).

La frecuencia de la *Escherichia Coli* fué de un 100% y cuando la ameba sólo se acompañaba de ésta se realizó el tipeo para

investigar su patogenicidad. Obtuvimos 6 casos en los que sólo se encontró Coli Patógena y ninguna otra bacteria.

También es importante observar que aunque la E. Coli estaba presente en el 100% de los casos sólo se pudo comprobar que era patógena en el 42% de su totalidad y un 58% fué negativa al tideo.

Las otras bacterias se encuentran en el porcentaje que se detalla en el cuadro No. 7.

Se realizaron pruebas de sensibilidad a los antibióticos y drogas quimioterapéuticas en las bacterias aisladas, siendo éstas más sensibles a la Mandelamine, Gentamicina, Furacina y Furdantin, y más resistentes a la triple sulfa, diclosil, pentre-xil, penicilina y Bendralán (Cuadro No. 9 gráfica No. 2).

Podríamos decir que la gentamicina, furacina y furdantin predominan en eficacia, no desmereciendo la posición de la Mandelamine que en un 100% de los casos fué eficaz.

La eritromicina, que se tiene como el antibiótico de elección para combatir los gérmenes asociados, no la podemos evaluar fué imposible obtener los discos apropiados; pero si se agregó al medio de cultivo de la ameba para las pruebas in vitro.

La tetraciclina, a pesar de que es el antibiótico con que se inicia la terapéutica en el Hospital Benjamín Bloom mientras se investiga el antibiótico apropiado, sólo es inútil en un 21.8%, lo que le dá poca eficacia al tratamiento inicial.

El cloranfenicol que también es de uso fuecvente en este problema lo encontramos al igual que el anterior con poca efectividad, 23.3%.

Un dato muy importante en este estudio es que la sulfa aparentemente no tiene ninguna utilidad en las gastroenteritis con sangre, ya que fueron inútiles.

En el cuadro No. 9 los porcentajes obtenidos no corresponden a los 100 casos estudiados de amibiásis sino a la totalidad en que se hizo la investigación de la sensibilidad y relacionando el número de casos en que el antibiótico fué efectivo con el que no lo fué.

El estado nutricional sigue las mismas curvas y distribuciones que los datos estadísticos que se establecen en la población general. Es lógico suponer que cualquier parasitismo aumenta el índice de desnutrición.

Para corroborar la teoría de que la ameba está en simbiosis, se agregaron por separado al medio de cultivo de la ameba los veinte y dos antibióticos utilizados en las pruebas de sensibilidad más la eritromicina que no se había ocupado anteriormente por falta de discos. Después de sembrar los medios con muestras positivas de *E. Histolytica*, se examinaron a las 48 horas y observamos que en la primera dosis del antibiótico utilizada (ver cuadro No. 10), se obtuvieron trece casos negativos y al doblar la concentración en la segunda dosis, la negativización fué total; lo cual demuestra que neutrolizando las bacterias desaparecen las formas activas de *E. Histolytica*.

La actividad amebicida de la eritromicina fué comprobada in vitro por Waks y se han obtenido resultados excelentes con la administración de 1.5 gramos por día de estearato o etilsuecinato de eritromicina durante 10 días. No obstante, con ésta forma farmacéutica deben administrarse dosis elevadas para al-

canzar concentraciones adecuadas del antibiótico en el intestino. ERYTRAMEB es el estearato de eritromicina que administrado por vía oral produce concentraciones amebicidas elevadas y persistentes de eritromicina en el intestino (12).

CONCLUSIONES

1—La ameba siempre está en simbiosis con una o varias bacterias que generalmente son gram negativas.

2—El tratamiento de la amebiasis debe ser siempre antibacteriano y antiparasitario.

3—Para usar el antibiótico más adecuado en cada caso debe hacerse siempre coprocultivo con antibiograma.

4—El tratamiento de la amebiasis debe establecerse con quimioterápicos intestinales y extraintestinales, ya que el usar sólo intestinales favorece la movilización de la ameba a otros focos extraintestinales.

5—A mayor hacinamiento y menores condiciones higiénicas hay más aumento de morbilidad y mortalidad.

6—Como en todo proceso patológico, entre más temprana es la edad en que se presenta, mayor es la morbilidad. Dada las condiciones de poca higiene en nuestro medio, la incidencia de amebiasis es alta en el primer año de vida, en relación a lo reportado en otras regiones de mayor higiene.

7—Etiologicamente las bacterias asociadas más frecuentes fueron: *Escherichia coli*, Grupo *Klebsiella aerobacter*, *Stafilococcus albus*, *Proteus mirabilis*, *E. freundii*. Y otros con menor porcentaje: *Shigella disenteriae*, *Aerobacter cloacae*, *E. Intermedium*, *Pseudomonas fluorescens*.

8—Los antibióticos más efectivos fueron: Gentamicina, Furacina, Furadantin, y los de menos efectividad: Diclosil, Triple-sulfa, Pentrexil, Penecilina, Bendralan.

RECOMENDACIONES

1—Frente a todo caso sospechoso de amebiasis debe practicarse la investigación con platina caliente.

2—En caso positivo de amebiasis debe hacerse coprocultivo para tener a travez del antibiograma el farmaco de elección, para el tratamiento de la bacteria asociada.

3—Además de dar el antibiótico correspondiente la amebiasis deberá tratarse intestinalmente con tetracloroacetamidas a razón de 10 miligramos por kilo de peso sin pasar de tres gramos repartido en tres dosis, y con cloroquina como amebisida extra intestinal a razón de 25 miligramos por kilo de peso, sin pasar de un gramo repartido en dos dosis. En casos severos puede usarse la vía intramuscular para obtener niveles sanguíneos más elevados, e inclusive la endovenosa en casos desesperados. La vía intramuscular o endovenosa sólo es para iniciar el tratamiento, o cuando hay intolerancia gástrica. Las dosis de mantenimiento se procurarán administrar por vía oral (11).

El tratamiento no debe durar menos de diez días y debe incluir otras medidas terapéuticas sintomáticas.

4—La emetina se considera el mejor amebicida, pero por ser cardiotóxico deberá dejarse para los casos rebeldes y procurará usarse durante el menor tiempo posible.

RESUMEN

- 1—El objeto de éste trabajo es demostrar la simbiosis Amibiana y a la vez señalar los antibióticos más efectivos que pueden utilizarse en el tratamiento juntamente con el amebicida.
- 2—Se tratan 100 casos de *E. Histolytica* comprobados microscópicamente en pacientes de la consulta externa del Hospital Benjamín Bloom durante los meses de Agosto, Septiembre y Octubre de 1968.
- 3—Se investigaron por el método de la platina caliente muestras de niños cuya edad oscilaba de 0 a 12 años, incluyendo pacientes tanto de la zona Urbana como Rural.
- 4—Se hizo a cada uno de los pacientes examen parasitológico, coprológico y antibiograma, realizando a la vez el tipeo de la *Escherichia Coli* para evaluar el porcentaje de su patogenicidad.
- 5—Se verificaron pruebas in vitro en medios de cultivo de la ameba, inhibiendo el crecimiento de la misma por la acción de antibióticos y quimioterapéuticos que hacían desaparecer las bacterias asociadas.
- 6—Se identifican los parásitos y bacterias más frecuentemente encontrados en los 110 casos positivos de *E. Histolytica*.

BIBLIOGRAFIA

- 1—PIERANTHONI, U. COMPENDIO DE BIOLOGIA. Tercera edición. Editorial Labor, S. A. México. 2:30-36 1958.
- 2—VILLE, C. A. BIOLOGIA. Quinta edición. Editorial Interamericana, S. A. México. 4:9-10. 1968.
- 3—BURROWS, W., MOULDER, J. W., LEWERT, R. M. TRATADO DE MICROBIOLOGIA. Decimoctava Edición. Editorial Interamericana, S. A. México. 34:723-724. 1965.
- 4—DI FIORE, M. S. H. DIAGNOSTICO HISTOLOGICO. Quinta Edición Editorial Librería "El Ateneo". Argentina. Tomo I 2:57-58. 1963.
- 5—Sol, N. SOSA. C. R. ETIOLOGIA DEL SINDROME DISENTERIFORME INVESTIGADO POR METODO DE LA PLATINA CALIENTE. CONSIDERACIONES SOBRE LA AMIBIASIS. Estudio Bacteriológico. Laboratorios LISTER e I. S. S. S. Folleto de 21 p.p. 1967.
- 6—ESCOBAR BARRIENTOS, F.E. AMIBIASIS INTESTINAL Y EXTRAINTestinal. Tesis Doctoral. Facultad de Medicina, Universidad de El Salvador, C. A. Febrero de 1964.
- 7—GODOY REYES, G. A. AMIBIASIS. Tesis Doctoral. Facultad de Medicina, Universidad de El Salvador, C. A. Junio de 1959.
- 8—PONTES, J. F., CAMPOS, R., CARNERI, IVO. De AMIBIASIS. Editorial Carlo Erba, Italia. 3:20-26. 1965.

- 9—BROWN, H. W. BELDING, D. L. PARASITOLOGIA CLINICA. Segunda Edición. Editorial Interamericana, S. A. México 3: 24 - 25. 1965.
- 10—DIFCO MANUAL. Ninth Edition. Difco Laboratories Detroit 1. Michigan. Pag. 133 - 158 - 130 - 131 - 134. 1964.
- 11—CONNAN, N. J. Jr. THE TREATMENT OF AMEBIA HEPATITIS WITH CHLOROQUINE BULL. New York. Academy of Medicine. 24: 545. Agosto 1958.
- 12—ERYTRAMEB. ABBOTT LABORATORIES INTERNATIONAL. Folleto de 16 p.p. Impreso en México 1967.
-