

## ROL PATOGENO EXPERIMENTAL DE LA ENTAMOEBA COLI ASOCIADA AL ESTREPTOCOCCO HEMOLITICO (EN EL PERRO Y EN EL GATO)

Por VÍCTOR M. AYULO ROBLES

*Departamento de Bacteriología e Inmunología.*

*Instituto Nacional de Higiene y Salud Pública.*

La *Entamoeba coli* ha sido considerada como saprofita del intestino debido a que todas las experiencias realizadas con el fin de demostrar su rol patógeno siempre fracasaron.

Las primeras experiencias de infección del gato por la *E. coli* fueron hechas por CASAGRANDE y BARBAGALLO (2), "quienes afirmaron haber conseguido observar la eclusión de los quistes de la ameba citada en el intestino de los gatos, en los cuales, el tubo digestivo había sido previamente irritado de manera artificial".

Ensayos posteriores de infección del gato por la *E. coli*, realizados por QUINCKE y ROSS (2), DARLING (2), CRAIG (2), DOBELL (2) fueron negativos.

Las experiencias realizadas por WENYON en 1912, (1) con el fin de determinar si la *E. coli* podía causar síntomas de disenteria en el gato fueron infructuosas, apesar de haber inyectado gran número de amebas en el estómago y en el recto de dicho animal.

SIMIC en 1933, (2) "En el curso de mis estudios biológicos y experimentales con *Trichomonas intestinales* en el perro, tuve ocasión de tener un perro joven infectado espontáneamente con la *E. coli*". Tratando de confirmar este hecho realizó una serie de experiencias utilizando perros tiernos, obteniendo una infección pasajera en 4 de 21 animales. Tales experiencias le permitieron afirmar que: "Por pasajes sobre el perro la *E. coli* no cambia sus caracteres morfológicos ni biológicos; ella no se hace patógena para el animal infectado. No he visto jamás amebas hematófagas en el intestino del perro". SIMIC concluye afirmando: "El resultado de mis observaciones sobre la infección del perro con la *E. coli*

es que esta ameba vive en estado saprofítico en el intestino de este animal, más no penetra en la mucosa, ni fagocita glóbulos rojos".

MARCHOUX (3), comentando el trabajo de DESCHIENS referente a la infección experimental del gato por la vía ileal con la *E. histolytica*, y refiriéndose al poder patógeno de la *E. coli*, dice: "Yo no estaría sorprendido de que una ameba no patógena como la *E. coli* sea susceptible de volverse patógena por un procedimiento análogo si se le facilitan los medios".

ERNEST E. TYZZER y Q. M. GEIMAN (4), en un caso de obstrucción intestinal que presentó cámaras muco-sanguinolentas, observaron numerosas amebas, que habían ingerido glóbulos rojos. "Un estudio detenido de la ameba presente, teniendo en cuenta la morfología de los trofozoitos y quistes, su desarrollo en los medios de cultivo, y el resultado de la inoculación en animales, fracasaron en dar prueba alguna de la presencia de *E. histolytica*, pero mostraron de una manera concluyente que los glóbulos rojos fueron ingeridos por la *E. coli*".

Estos autores con el objeto de probar el rol patógeno de la ameba que ellos identificaron como *E. coli*, inocularon 7 gatitos y 1 perro con heces ricas en formas vegetativas, siguiendo la técnica de MELENEY y FRYE, y 1 perro con heces ricas en quistes, vía oral. Los resultados de esta inoculación fueron negativos.

La acción de patogenicidad en estos animales fundamentó su diagnóstico de *E. coli*.

De otro lado se han realizado multitud de estudios con el fin de determinar el rol que desempeñan las bacterias que se encuentran asociadas a la *E. histolytica* en la disentería.

CLEVELAND y SANDERS (5), en 1930 demostraron: "Que el aumento en virulencia de una cepa pura de amebas después de pasajes por hígado, era debida al aumento en virulencia de las bacterias asociadas".

H. L. RATCLIFFE (6), en 1931 opinó que en la amebiasis humana y experimental: "El rol aparente de la ameba es la destrucción superficial de la mucosa, lo cual permite la invasión de las bacterias piógenas a los vasos linfáticos y producción de abscesos submucosos en los folículos. Los abscesos foliculares se rompen dentro del intestino y forman las *undermining ulcers*".

WILLIAM W. FRYE y HENRY E. MELENEY (7), en 1933 "con el objeto de determinar la importancia de las bacterias asociadas en los cultivos, como posible factor en la producción de la lesión amebiana en el intestino de los gatos, y como posible factor en la diferenciación de la patogenicidad de cepas individuales de amebas", emplearon 5 cepas de *E.*

*histolytica*: 3 provenientes de portadores y 2 de cuadros agudos, observando que: "La separación de la mayoría de las bacterias de los cultivos de 2 cepas de amebas, las cuales habían producido previamente un porcentaje de infección relativamente alto, disminuyeron grandemente el poder de infección con ambas cepas" y que: "La interacción de las bacterias asociadas en cultivo con una cepa más patógena y otra menos patógena de amebas, no alteró prácticamente la severidad de la infección con cualquiera de las cepas", llegando a las siguientes conclusiones:

"Las bacterias, sus productos o alguna otra sustancia en los cultivos de *E. histolytica*, aparentemente, a veces juegan un rol en la producción de lesiones en el intestino del gatito, pero ellas no son un factor importante en la diferencia de patogenidad entre cepas diferentes. Esto se debe probablemente a una diferencia en la actividad patogénica de las mismas amebas".

BERTHA KAPLAN SPECTOR (8), en 1935 demostró que en el gato: "La proporción de la disentería amebiana y extensión de las alteraciones patológicas producidas por la *E. histolytica*, son mayores, cuando son inoculados o infectados espontáneamente con organismos como el *Streptococo hemolítico*, los *streptococos* productores de pigmento verde de los pacientes de colitis ulcerosa, *Pneumococos* del tipo 1 y 3, etc. y, menores cuando son inoculados con bacterias tales como el *B. subtilis* y el *Stafilococo albus*".

R. DESCHIENS (9) (10), en 1937-38 utilizando el *B. coli* asociado a una cepa de *E. histolytica*, obtuvo un porcentaje más alto de amebiasis en los gatitos (70 %) comparando al de 30 % cuando se excluyó de las experiencias al *B. coli*.

Nosotros (11), al tratar del diagnóstico diferencial entre la *E. histolytica* y la *E. coli* insistimos sobre las diferencias morfológicas entre estos 2 parásitos, quedando por establecer si en realidad la *E. coli* es una ameba saprofita del intestino, o si ella en determinadas condiciones podía ser susceptible de determinar un cuadro de amebiasis. Hemos tratado de ver cual sería el papel desempeñado por la flora bacteriana asociada a la *E. coli*, experimentalmente en el perro y en el gato.

#### MATERIALES Y METODOS

En el presente trabajo utilizamos 25 perros: 10 de los cuales fluctuaron entre 2 y 10 años de edad, mientras los 15 restantes fueron de 2 meses aproximadamente, y 7 gatitos de 2 meses aproximadamente.

Todos los animales fueron sometidos antes de ser inoculados a un previo y severo control parasitológico, con el fin de cerciorarse que no fueran portadores de formas vegetativas o quísticas de amebas.

Los cultivos de *E. coli* utilizados por nosotros fueron 5:4: (Las cepas Nº 2557, 2558, 2610 y 2612) se obtuvieron por nuestro método (12), a partir de muestras ricas en quistes de *E. coli* contaminadas con *Blastocystis*, de sujetos que nunca presentaron trastorno gastro-intestinal; la cepa Nº 3, fué obtenida en cultivo directamente de una muestra rica en formas vegetativas de *E. coli*, libre de *Blastocystis*. (L. D.)

Todas estas cepas fueron cultivadas en el siguiente medio: Suero hemolítico de caballo (coagulado de tal manera que quede una superficie inclinada), agregándole a cada tubo 5 cc. de una mezcla del mismo suero con solución de Ringer, en la proporción de 1:10, y una azada de almidón de arroz estéril. Cuando el suero de caballo es más rico en hemoglobina, el desarrollo de las amebas es mejor; por lo cual insistimos en su empleo para el cultivo de este tipo de amebas.

En este medio, todas las cepas de *E. coli* que hemos aislado, desarrollaron abundantemente, encontrándose muchas en el pasaje Nº 290, al publicarse este trabajo, en disconformidad con las observaciones realizadas por otros investigadores como Tyzzer y Geiman (4), quienes refiriéndose al cultivo de esta ameba dicen: "Nuestra experiencia ofrece una evidencia adicional al demostrar que ciertas cepas de *entamoebas* no patógenas son difíciles de cultivar artificialmente"; tomando en consecuencia la dificultad de cultivo en los medios que ellos utilizaron como un carácter distintivo de la *E. coli* frente a la *E. histolytica* que desarrolla muy bien.

Los medios utilizados por estos autores para el cultivo de la *E. coli* fueron: el medio de Drbohlav (13), el medio de Dobell y Laidlaw (14), el medio de Cleveland y Sanders (5). Medios que en nuestras manos también presentaron dificultades para el cultivo y mantención de esta especie de amebas, pero que en cambio, dan magníficos resultados para el cultivo y mantención de la *E. histolytica*.

Las bacterias que utilizamos fueron: *Streptococo hemolítico* y *B. peruensis* (\*) con la adición de bilis de buey en algunas experiencias.

Todos los animales antes de ser inoculados los dejamos en ayunas por espacio de 24 horas.

Las inoculaciones las hicimos utilizando cultivos de amebas de 48 horas de desarrollo, en el medio ya mencionado (podían observarse de 50 a 60 formas vegetativas por campo microscópico), más cultivos de *Streptococo hemolítico* o *B. peruensis*.

Las inoculaciones fueron hechas por vía ileal, a 10 cm. por encima del ciego, previa laparotomía, siguiendo la técnica de Meleney y Frye (15) que en los casos de infección experimental con *E. histolytica*, da un porcentaje mucho más elevado que las inoculaciones por vía rectal (16). Al realizarse las inoculaciones en todos los animales se escarificó la mucosa intestinal con la aguja.

Como anestésico usamos éter sulfúrico, sin que se produjera ninguna complicación durante la operación. El post-operatorio en todos nuestros animales fué satisfactorio, no habiéndose producido en ninguno proceso peritoneal.

Todos los animales fueron estrictamente controlados hasta que murieron o fueron sacrificados. El día de la inoculación a ningún animal se le suministró alimento alguno. A partir del día siguiente, hasta el término de la experiencia, todos tuvieron una dieta alimenticia rica en proteínas (carne) (17). Los animales fueron colocados en condiciones de aislamiento individual.

Los exámenes de heces fueron practicados sobre material recientemente emitido. De los animales que murieron o fueron sacrificados, se hizo estudio microscópico en

(\*) *B. peruensis* n. sp.

fresco y coloraciones por el método de la hematoxilina férrica de Heidenhain (11) y cultivos en el medio prescrito. Para el estudio histo-patológico pequeñas secciones de zonas escogidas del intestino, fijadas en solución de Regaud fueron coloreadas por el método de la hematoxilina férrica y el corriente de hematoxilina-eosina.

### INFECCION EXPERIMENTAL

Nuestra experiencia consta de 6 series de animales, que las iremos enumerando sucesivamente. En las 2 primeras usamos perros cuya edad fluctuó entre los 2 y 10 años, empero en las 4 restantes todos los animales fueron de 2 meses.

*Serie N° 1* En esta serie utilizamos 5 perros, a cada uno de los cuales les inyectamos 2 cc. de un cultivo de 48 hs. de *E. coli* (cepa N° 2557). 3 (Nos. 1, 4 y 5) recibieron conjuntamente 1 cc. de cultivo en caldo corriente de *Streptococo hemolítico* de 24 hs. de desarrollo, mientras el perro N° 2, 0.5 cc. de cultivo en caldo de 24 hs. de edad del *B. peruensis*.

La cepa de *E. coli* N° 2557, estuvo en el 4° trasplante cuando se inocularon los perros 1°, 2° y 3° y en el 5° cuando se inocularon el 4° y 5°.

A cada uno de los perros 4 y 5 les dimos 2 hs. después de la inoculación "per os" una cápsula de 0.50 gms. de bilis de buey desecada, repitiendo lo mismo al día siguiente de la operación.

Los perros 1 y 2 fueron sacrificados al 7° y 10° día respectivamente, mientras los perros 3, 4 y 5 murieron al 6°, 7° y 8° día. (Cuadro N° 1).

Una nota predominante en todos los animales fué la de presentar un marcado estreñimiento. En los perros 1 y 3 al 2° día de la inoculación se observó una que otra forma vegetativa de *E. coli* en las heces., en los exámenes practicados en los días posteriores no encontramos ni formas vegetativas ni quísticas en ninguno de los 5 animales inoculados hasta el 6° día, en que el perro N° 4 hizo una cámara muco-sanguinolenta, con abundantes formas vegetativas de *E. coli*, muy móviles, gran número de ellas conteniendo 2, 3 ó mas glóbulos rojos, el cultivo de estas amebas fué positivo.

Al 7° día después de la inoculación sacrificamos al perro N° 1, constatando un puntillado hemorrágico que se extendía en toda la mucosa desde el ciego hasta 5 cm. por encima del ano, siendo mucho más marcado en las vecindades del ciego. La mucosa estaba cubierta de una abundante secreción muco-sanguinolenta que al examen microscópico reveló la existencia de gran número de formas vegetativas de *E. coli*, muy móviles, muchas de las cuales presentaban glóbulos rojos en el protoplas-

ma. (Lám. N° 4, Micro N° 13). La porción terminal del ileón, normal y el examen microscópico negativo.

El perro N° 4 murió al 7° día de inoculado, encontrándose una intensa congestión con focos hemorrágicos que se extendían desde la porción terminal del ileon hasta el ano. En la última porción del intestino grueso y en el recto, se constató la existencia de ulceraciones de la mucosa. (Lám. N° 1, Foto N° 3). Todo el tramo intestinal, desde la porción terminal del ileon hasta el ano, estaba cubierta de una abundante secreción mucosa de color achocolatado, en la que existían gran número de formas vegetativas, muchas de ellas hematófagas.

CUADRO N° 1.

| PERRO N° | INOCULO              |                                |                                                                |                                     |                           | EVOLUCION                                            |    |    |    |    |    |   |   |    |   | LESION ANATOMO PATOLOGICA |       |                  |       |                     |
|----------|----------------------|--------------------------------|----------------------------------------------------------------|-------------------------------------|---------------------------|------------------------------------------------------|----|----|----|----|----|---|---|----|---|---------------------------|-------|------------------|-------|---------------------|
|          | FECHA DE INOCULACION | ENTAMOEBA COLI<br>CEPA N° 2557 | CULTIVO EN CALDO DE<br>STREPTOCOCCO HEMOLITICO<br>B. PERUENSIS | CULTIVO EN CALDO DE<br>B. PERUENSIS | BILIS DE BUEY<br>DESECADA | N° DE DIAS DE<br>SUPERVIVENCIA<br>Y<br>N° DE CAMARAS |    |    |    |    |    |   |   |    |   | ILEON                     | CIEGO | INTESTINO GRUESO | RECTO | PRESENCIA DE AMEBAS |
|          |                      |                                |                                                                |                                     |                           |                                                      |    |    |    |    |    |   |   |    |   |                           |       |                  |       |                     |
| 1        | 17-1-43              | 2 cc                           | 1 cc                                                           | -                                   | -                         | 0                                                    | 1+ | 1- | 0  | 1- | 1- | S |   |    |   | -                         | +     | +                | +     | +++                 |
| 2        | 17-1-43              | 2 cc                           | -                                                              | 0.5 cc                              | -                         | 0                                                    | 0  | 1- | 0  | 1- | 1- | 0 | 0 | 1- | S | -                         | +     | -                | -     | ---                 |
| 3        | 17-1-43              | 2 cc                           | -                                                              | -                                   | -                         | 0                                                    | 1+ | 0  | 1+ | 0  | M  |   |   |    |   | -                         | -     | -                | -     | ---                 |
| 4        | 17-1-43              | 2 cc                           | 1 cc                                                           | -                                   | 0.5 cc                    | 0                                                    | 1- | 1- | 0  | 0  | 1+ | M |   |    |   | +                         | +     | +                | +     | +++                 |
| 5        | 17-1-43              | 2 cc                           | 1 cc                                                           | -                                   | 0.5 m                     | 0                                                    | 0  | 1- | 0  | 1- | 1- | 0 | M |    |   | -                         | +     | +                | -     | +++                 |

0 = NINGUNA CAMARA

1+ = 1 CAMARA POSITIVA

M = MURIO

1- = 1 CAMARA NEGATIVA

2+ = 2 CAMARAS POSITIVAS

S = SACRIFICADO

El perro N° 5 murió al 8° día de inoculado, presentaba en el ciego a medio centímetro por debajo de la válvula ileo-cecal una gran zona de ulceración. Los tejidos vecinos fuertemente congestionados. Desde el ciego hasta el recto la mucosa estaba cubierta de una secreción de color achocolatado; el examen microscópico de ésta y más abundantemente el de la región ulcerosa, contenían formas vegetativas de *E. coli*, muy móviles, gran número de ellas hematófagas. (Lám. N° 4, Micro N° 14). La zona de inoculación, el ileon, normal.

El perro N° 3 murió al 6° día no registrándose ninguna alteración anatómo-patológica, desde el ileon hasta el ano, siendo el examen microscópico negativo en todo ese tramo intestinal.

El perro N° 2 fué sacrificado al 10° día, presentó un proceso inflamatorio del ciego, el examen microscópico fué negativo.

**Serie N° 2.** En esta serie como en la anterior utilizamos 5 perros; a 3 (Nos. 6, 7 y 8) los inoculamos con una mezcla de 2 cc. de un cultivo de 48 hs. de *E. coli* (cepa N° 2558 de 7° pasaje) con 1 cc. de un cultivo en caldo corriente de *Streptococo hemolítico* de 24 hs. de edad. Al perro N° 9 con 2 cc. del cultivo de amebas y, al perro N° 10 con 1 cc. del cultivo de *Streptococo*. A los 5 perros les suministramos 2 hs. después de la inoculación una cápsula de 0.50 gms. de bilis de buey desecada. Los perros murieron entre el 2° y el 11° día de la inoculación. (Cuadro N° 2).

De los perros inoculados con la mezcla de amebas más *Streptococo* uno murió al día siguiente, encontrándose amebas en el intestino grueso,

CUADRO N° 2

| PERRO N° | INOCULO              |                                |                                                |                           | EVOLUCION                                            |    |    |    |   |   |    |   |   |    |    | LESIÓN ANATOMO PATOLÓGICA |       |                  |       |                     |
|----------|----------------------|--------------------------------|------------------------------------------------|---------------------------|------------------------------------------------------|----|----|----|---|---|----|---|---|----|----|---------------------------|-------|------------------|-------|---------------------|
|          | FECHA DE INOCULACION | ENTAMOBEA COLI<br>CEPA N° 2558 | CULTIVO EN CALDO DE<br>STREPTOCOCCO HEMOLITICO | BILIS DE BUEY<br>DESECADA | N° DE DIAS DE<br>SUPERVIVENCIA<br>Y<br>N° DE CAMARAS |    |    |    |   |   |    |   |   |    |    | ILEON                     | CIEGO | INTESTINO GRUESO | RECTO | PRESENCIA DE AMEBAS |
|          |                      |                                |                                                |                           | 1                                                    | 2  | 3  | 4  | 5 | 6 | 7  | 8 | 9 | 10 | 11 |                           |       |                  |       |                     |
| 6        | 29-4-43              | 2 cc.                          | 1 cc.                                          | 0.5 cc.                   | ⊕                                                    | 1+ | ⊕  | 1+ | ⊕ | ⊕ | 1+ | ⊕ | ⊕ | 1+ | M. | -                         | +     | +                | +     | +++                 |
| 7        | 29-4-43              | 2 cc.                          | 1 cc.                                          | 0.5 cc.                   | M                                                    |    |    |    |   |   |    |   |   |    |    | +                         | -     | -                | -     | +                   |
| 8        | 29-4-43              | 2 cc.                          | 1 cc.                                          | 0.5 cc.                   | ⊕                                                    | ⊕  | ⊕  | 1+ | ⊕ | M |    |   |   |    |    | -                         | +     | +                | +     | +++                 |
| 9        | 29-4-43              | 2 cc.                          | -                                              | 0.5 cc.                   | ⊕                                                    | ⊕  | 1- | ⊕  | M |   |    |   |   |    |    | -                         | -     | -                | +     | +                   |
| 10       | 29-4-43              | -                              | 1 cc.                                          | 0.5 cc.                   | ⊕                                                    | ⊕  | ⊕  | M  |   |   |    |   |   |    |    | -                         | -     | +                | +     | ---                 |

las que sin lugar a dudas fueron las mismas que se inocularon. Los otros 2 N° 6 y N° 8 comenzaron a hacer su cuadro agudo al 2° y 4° día respectivamente, revelando las cámaras muco-sanguinolentas de estos animales gran número de formas vegetativas de amebas, muy móviles, muchas de ellas hematófagas.

En ninguno de estos animales se apreció lesión del ileon, a excepción del perro N° 7 que murió al día siguiente, en el que se constató la lesión traumática practicada con la aguja. El examen parasitológico de esta región fué en todos negativo.

En los perros 6 y 8, observamos un intenso proceso congestivo desde la válvula ileo-cecal hasta el ano, con focos ulcerosos en el perro N°

6 y, con focos hemorrágicos en el perro Nº 8. En el perro Nº 7 el intestino grueso se encontró normal. En el perro Nº 9 uno que otro foco congestivo pequeño (como picadura de pulga) a nivel del recto, revelando el examen parasitológico una que otra forma vegetativa de amebas. En el perro Nº 10 un intenso proceso congestivo en la última porción del intestino grueso y del recto, con focos hemorrágicos sobre todo en esta última región, siendo el examen parasitológico negativo.

**Serie Nº 3.** En ésta como en las anteriores, empleamos 5 perros; 3 (Nos. 11, 12 y 13) se inocularon con la mezcla de 2 cc. de cultivo de amebas (cepa Nº 3 de 7º pasaje) y 1 cc. de cultivo en caldo de *Streptococo hemolítico*, los otros 2: perro Nº 14, sólo con el cultivo de amebas

CUADRO Nº 3

| PERRO N° | INOCULO              |                              |                                                |                           | EVOLUCION                                                    |   |   |   |   |   |   |   |   |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    | LESION ANATOMO<br>PATOLOGICA |       |                 |       |                     |
|----------|----------------------|------------------------------|------------------------------------------------|---------------------------|--------------------------------------------------------------|---|---|---|---|---|---|---|---|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|------------------------------|-------|-----------------|-------|---------------------|
|          | FECHA DE INOCULACION | ENTAMOEBIA COLI<br>CEPA N° 3 | CULTIVO EN CALDO DE<br>STREPTOCOCCO HEMOLITICO | BILIS DE BUEY<br>DESECADA | N° DE DIAS DE<br>SUPERVIVENCIA<br><br>Y<br><br>N° DE CAMARAS |   |   |   |   |   |   |   |   |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    | ILEON                        | CIEGO | INTESTINO GUESO | RECTO | PRESENCIA DE AMEBAS |
|          |                      |                              |                                                |                           | 1                                                            | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 | 17 | 18 | 19 | 20 | 21 |                              |       |                 |       |                     |
| 11       | 7-11-35              | 2 cc.                        | 1 cc.                                          | 0.50                      | +                                                            | + | + | + | + | + | + | + | + | +  | +  | +  | +  | +  | +  | +  | +  | +  | +  | +  | +  | +                            | +     | +               | +     |                     |
| 12       | 7-11-35              | 2 cc.                        | 1 cc.                                          | 0.50                      | +                                                            | + | + | + | + | + | + | + | + | +  | +  | +  | +  | +  | +  | +  | +  | +  | +  | +  | +  | +                            | +     | +               | +     |                     |
| 13       | 7-11-35              | 2 cc.                        | 1 cc.                                          | 0.50                      | +                                                            | + | + | + | + | + | + | + | + | +  | +  | +  | +  | +  | +  | +  | +  | +  | +  | +  | +  | +                            | +     | +               | +     |                     |
| 14       | 7-11-35              | 2 cc.                        | 1 cc.                                          | 0.50                      | +                                                            | + | + | + | + | + | + | + | + | +  | +  | +  | +  | +  | +  | +  | +  | +  | +  | +  | +  | +                            | +     | +               | +     |                     |
| 15       | 7-11-35              | 2 cc.                        | 1 cc.                                          | 0.50                      | +                                                            | + | + | + | + | + | + | + | + | +  | +  | +  | +  | +  | +  | +  | +  | +  | +  | +  | +  | +                            | +     | +               | +     |                     |

y, el perro Nº 15 con el cultivo de *Streptococo hemolítico*. A los 5 se les dió 2 hs. después de inoculados una cápsula de 0.50 gms. de bilis de buey desecada. (Cuadro Nº 3).

Los perros Nos. 11 y 13 fueron sacrificados al 10º y 11º día, mientras los perros Nos. 12, 14 y 15 murieron al 9º, 21º y 11º día respectivamente.

De los 3 perros inoculados con la mezcla de amebas más *Streptococo*, 2: los perros Nos. 11 y 13 comenzaron a hacer su cuadro agudo al 5º día de la inoculación y, el perro Nº 12 al 6º. Los exámenes parasitológicos de las muestras de heces de estos animales, revelaron gran número de amebas, muchas de ellas hematófagas, mientras los exámenes y cultivos en los perros Nos. 14 y 15 fueron negativos.



A la autopsia en ninguno encontramos lesión del ileon. En el perro N° 11 observamos intensa congestión del intestino grueso con focos hemorrágicos a nivel del recto y a un centímetro por encima del ano un exudado difterioide organizado que daba el aspecto de un papiloma de más o menos 1 cm. por 1 cm. (Lám. N° 1, Foto N° 1). En los perros Nos. 12, 13 y 15 se observó un puntillado hemorrágico desde el ciego al ano, siendo más marcado a nivel del recto. El examen parasitológico reveló gran cantidad de formas vegetativas de amebas, muy móviles, muchas de ellas hematófagas en los perros Nos. 11, 12 y 13, siendo negativo en el perro N° 15. (Lám. N° 4, Micros N° 15 y 16). En el perro N° 14 un intenso proceso congestivo del recto, siendo el examen parasitológico negativo desde el ileon hasta el ano.

*Serie N° 4.* Como en la serie N° 2 en la que empleamos la cepa de *E. coli* N° 2558, uno de los perros muriera al día siguiente de la inoculación, repetimos esta experiencia empleando 5 perros, a 3 de los cuales (Nos. 16, 17 y 18) los inoculamos con la mezcla de amebas más *Streptococo hemolítico*; al perro N° 19 solo con cultivo de amebas y al perro N° 20 con cultivo de *streptococo hemolítico*. Las inoculaciones las hicimos empleando la misma cepa de *E. coli* (N° 2558) que en la serie N° 2, la cual para esta experiencia estaba en el 10° trasplante. (Cuadro N° 4).

Al 5° día de la inoculación el perro N° 17 comenzó a hacer su cuadro agudo; al 6° día el perro N° 16, y, al 7° el perro N° 18. Los exámenes parasitológicos de estos animales mostraron gran número de formas vegetativas de amebas, muchas de ellas hematófagas. (Lám. N° 5, Micro N° 17). Los perros Nos. 19 y 20 en ningún momento presentaron formas vegetativas o quísticas de amebas en las heces al examen directo, por coloración o en los medios de cultivo.

Los perros Nos. 16 y 20 murieron al 10° día, el perro N° 18 fué sacrificado al 10° día y los perros Nos. 17 y 19 al 11° día respectivamente.

En ninguno de los 5 animales constatamos lesión anatómo-patológica a nivel del ileon, en cambio, observamos una intensa congestión con focos hemorrágicos de la última porción del intestino grueso y recto de los perros Nos. 16 y 18, siendo mucho más marcada la lesión en el recto del perro N° 18. En el perro N° 17 además de la congestión del intestino grueso, y de la existencia de un puntillado hemorrágico en la última porción de éste y del recto, se observó una ulceración a 2 cm. por encima del ano. (Lám. N° 1, Foto N° 4). En el perro N° 19 observamos focos congestivos diseminados en la última porción del intestino grueso;

y en el perro N° 20, un puntillado hemorrágico desde la válvula ileo-cecal hasta el ano. El examen parasitológico del raspado de la mucosa a nivel de las áreas afectadas, fué positivo en los perros Nos. 16, 17 y 18, y negativo en los Nos. 19 y 20.

Serie N° 5. En esta serie utilizamos 5 perros y 1 gato, de los cuales, los perros: (21, 22 y 23) y el gato (N° 24) fueron inoculados con la mezcla de cultivo de amebas (cepa N° 2612 de 5° pasaje) con cultivo en caldo de *Streptococo hemolítico*, mientras el perro N° 25 sólo con el cultivo de amebas, y el perro N° 26 con el cultivo de *Streptococo hemolítico*. (Cuadro N° 5).

CUADRO N° 4

| PERRO N° | INOCULO              |                                |                                                |                           | EVOLUCION                                            |    |    |    |    |    |    |    |    |    |   | LESION ANATOMO PATOLOGICA |       |                  |       |                     |
|----------|----------------------|--------------------------------|------------------------------------------------|---------------------------|------------------------------------------------------|----|----|----|----|----|----|----|----|----|---|---------------------------|-------|------------------|-------|---------------------|
|          | FECHA DE INOCULACION | ENTAMOEBA COLI<br>CEPA N° 2598 | CULTIVO EN CALDO DE<br>STREPTOCOCCO HEMOLITICO | BILIS DE BUEY<br>DESECADA | N° DE DIAS DE<br>SUPERVIVENCIA<br>Y<br>N° DE CAMARAS |    |    |    |    |    |    |    |    |    |   | ILEON                     | CIEGO | INTESTINO GRUESO | RECTO | PRESENCIA DE AMEBAS |
|          |                      |                                |                                                |                           |                                                      |    |    |    |    |    |    |    |    |    |   |                           |       |                  |       |                     |
| 16       | 6-2-45               | 2 cc.                          | 1 cc.                                          | 0.5 cc.                   | 0                                                    | 0  | 1- | 0  | 1- | 1+ | 1+ | 2+ | 4+ | M  |   | -                         | -     | +                | +     | +++                 |
| 17       | 6-2-45               | 2 cc.                          | 1 cc.                                          | 0.5 cc.                   | 0                                                    | 1- | 0  | 0  | 1+ | 1+ | 2+ | 3+ | 3+ | 5+ | S | -                         | -     | +                | +     | +++                 |
| 18       | 6-2-45               | 2 cc.                          | 1 cc.                                          | 0.5 cc.                   | 0                                                    | 0  | 1- | 1- | 0  | 1+ | 1+ | 5+ | S  |    |   | -                         | -     | +                | +     | +++                 |
| 19       | 6-2-45               | 2 cc.                          | -                                              | 0.5 cc.                   | 0                                                    | 0  | 1- | 1- | 0  | 1- | 1- | 0  | 1- | S  |   | -                         | -     | +                | +     | ---                 |
| 20       | 6-2-45               | -                              | 1 cc.                                          | 0.5 cc.                   | 0                                                    | 1- | 0  | 1- | 1- | 1- | 1- | 3- | 4- | M  |   | -                         | +     | +                | +     | ---                 |

En esta serie, de los 4 animales inoculados con la mezcla de amebas más *Streptococo*, 3, los perros Nos. 21, 22 y 23 comenzaron a eliminar formas vegetativas de amebas al 2° día de la inoculación, mientras el gato N° 24 al 6° día.

Los perros Nos. 25 y 26 fallecieron al día siguiente de la inoculación, los perros Nos. 21, 22 y 23 murieron al 7°, 5° y 6° día respectivamente; el gatito N° 24 fué sacrificado al 8° día.

En los 6 animales encontramos el ileon, normal. En los perros Nos. 21 y 23 se observó, un intenso proceso congestivo y grandes focos hemorrágicos en el recto, sobre todo en las vecindades del ano. En el perro N° 22 se constató la existencia de un motillado hemorrágico (como picadura de pulga) en la última porción del intestino grueso y recto. El ga-

to N° 24, así como el perro N° 26, presentaron una intensa congestión desde la válvula ileo-cecal hasta el ano, con focos hemorrágicos diseminados. En el perro N° 25, solo se presentó un proceso congestivo localizado a la última porción del intestino grueso.

El examen parasitológico del mucus sanguinolento que cubría la mucosa en los perros Nos. 21, 22 y 23 y en el gato N° 24, reveló gran cantidad de amebas, muy móviles, muchas de ellas hematófagas (Lám. N° 5, Micros N° 18 y 19) mientras el examen en el perro N° 26, solo la presencia de abundantes leucocitos, macrófagos y glóbulos rojos. La muco-

## CUADRO N° 5

| PERRO N° | INOCULO              |                                 |                                                |                           | EVOLUCION                                            |    |    |    |    |    |    |   | LESION ANATOMO PATOLOGICA |       |                  |       |                     |
|----------|----------------------|---------------------------------|------------------------------------------------|---------------------------|------------------------------------------------------|----|----|----|----|----|----|---|---------------------------|-------|------------------|-------|---------------------|
|          | FECHA DE INOCULACION | ENTAMOEBAS COLI<br>CEPA N° 2612 | CULTIVO EN CALDO DE<br>STREPTOCOCCO HEMOLITICO | BILIS DE BUEY<br>DESECADA | N° DE DIAS DE<br>SUPERVIVENCIA<br>Y<br>N° DE CAMARAS |    |    |    |    |    |    |   | ILEON                     | CIEGO | INTESTINO GRIOSO | RECTO | PRESENCIA DE AMEBAS |
|          |                      |                                 |                                                |                           | 1                                                    | 2  | 3  | 4  | 5  | 6  | 7  | 8 |                           |       |                  |       |                     |
| 21       | 15-2-43              | 2 cc                            | 1 cc                                           | 0.5 cc                    | ⊕                                                    | 1+ | ⊕  | 1+ | 1+ | 4+ | M  |   | -                         | -     | -                | +     | +++                 |
| 22       | 15-2-43              | 2 cc                            | 1 cc                                           | 0.5 cc                    | ⊕                                                    | 1+ | ⊕  | 1+ | M  |    |    |   | -                         | -     | +                | +     | +++                 |
| 23       | 15-2-43              | 2 cc                            | 1 cc                                           | 0.5 cc                    | ⊕                                                    | 1+ | ⊕  | ⊕  | 2+ | M  |    |   | -                         | -     | -                | +     | +++                 |
| 24       | 15-2-43              | 2 cc                            | 1 cc                                           | 0.5 cc                    | ⊕                                                    | ⊕  | 1- | 1- | ⊕  | 1+ | 2+ | S | -                         | +     | +                | +     | +++                 |
| 25       | 15-2-43              | 2 cc                            | -                                              | 0.5 cc                    | M                                                    |    |    |    |    |    |    |   | -                         | -     | +                | -     | +                   |
| 26       | 15-2-43              | -                               | 1 cc                                           | 0.5 cc                    | M                                                    |    |    |    |    |    |    |   | -                         | +     | +                | +     | ---                 |

sa en el perro N° 25, estaba recubierta de una abundante secreción de color verdoso, en la que encontramos de una a dos amebas por campo, algunas de las cuales todavía presentaban granos de almidón en el interior.

**Serie N° 6.** A diferencia de las series anteriores, en ésta utilizamos 6 gatitos, de los cuales 4 (gatos Nos. 27, 28, 29 y 30) fueron inoculados con la mezcla de cultivo de *E. coli*, (cepa N° 2610, de 5° pasaje), con cultivo en caldo de *Streptococo hemolítico*; de los 2 restantes, el gato N° 31 sólo con el cultivo de amebas, y, el gato N° 32, con el cultivo de *Streptococo*. (Cuadro N° 6).

Todos los gatitos murieron entre el 6º y 9º día, a excepción del gatito Nº 31 que fué sacrificado al 14º día.

El gato Nº 27 comenzó a hacer su cuadro agudo al 4º día de la inoculación, los gatos Nos. 28 y 29 al 5º, y el Nº 30 al 6º. En todos estos animales las deposiciones fueron muco-sanguinolentas, y el examen parasitológico en fresco así como en las láminas coloreadas revelaron abundantes formas vegetativas de *E. coli*, algunas de ellas hematófagas (Lám. Nº 5, Micros Nos. 20 y 21); el cuadro se fué intensificando en los días posteriores, hasta la muerte de los animales, que ocurrió al 6º día en el gato Nº 27, al 7º en el gato Nº 28 y 29, y al 9º en el gato Nº 30. El gato Nº 31 en ningún momento presentó deposiciones muco-sanguinolentas,

CUADRO Nº 6

| GATO Nº | INOCULO              |                                |                                                |                           | EVOLUCION                                            |    |    |    |    |    |    |    |   |    |    |    |    |    | LESION ANATOMO PATOLOGICA |       |                  |       |                     |
|---------|----------------------|--------------------------------|------------------------------------------------|---------------------------|------------------------------------------------------|----|----|----|----|----|----|----|---|----|----|----|----|----|---------------------------|-------|------------------|-------|---------------------|
|         | FECHA DE INOCULACION | ENTAMOEBA COLI<br>CEPA Nº 2610 | CULTIVO EN CALDO DE<br>STREPTOCOCCO HEMOLITICO | BILLS DE BUEY<br>DISECADA | Nº DE DIAS DE<br>SUPERVIVENCIA<br>Y<br>Nº DE CAMARAS |    |    |    |    |    |    |    |   |    |    |    |    |    | ILEON                     | CIEGO | INTESTINO GRUESO | RECTO | PRESENCIA DE AMEBAS |
|         |                      |                                |                                                |                           | 1                                                    | 2  | 3  | 4  | 5  | 6  | 7  | 8  | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 |                           |       |                  |       |                     |
| 27      | 15-2-48              | 2 cc.                          | 1 cc.                                          | 0.5 cc.                   | +                                                    | 1- | +  | 1+ | 2+ | M  |    |    |   |    |    |    |    |    | 1                         | 1     | +                | -     | +++                 |
| 28      | 15-2-48              | 2 cc.                          | 1 cc.                                          | 0.5 cc.                   | +                                                    | +  | 1- | 1- | 1+ | 1+ | M  |    |   |    |    |    |    |    | 1                         | 1     | +                | +     | +++                 |
| 29      | 15-2-48              | 2 cc.                          | 1 cc.                                          | 0.5 cc.                   | +                                                    | +  | 1- | +  | 1+ | 3+ | M  |    |   |    |    |    |    |    | 1                         | 1     | +                | +     | +++                 |
| 30      | 15-2-48              | 2 cc.                          | 1 cc.                                          | 0.5 cc.                   | +                                                    | +  | +  | 1- | 1- | 1+ | 1+ | 2+ | M |    |    |    |    |    | 1                         | 1     | +                | +     | +++                 |
| 31      | 15-2-48              | 2 cc.                          | -                                              | 0.5 cc.                   | +                                                    | +  | 1- | 1- | +  | +  | 1- | 1- | + | +  | +  | +  | +  | S  | 1                         | 1     | +                | +     | ---                 |
| 32      | 15-2-48              | -                              | 1 cc.                                          | 0.5 cc.                   | +                                                    | 1- | +  | 1- | 1- | +  | M  |    |   |    |    |    |    |    | 1                         | 1     | +                | +     | ---                 |

tas, y los exámenes siempre fueron negativos. El gato Nº 32, presentó a partir del 4º día cámaras muco-sanguinolentas, pero los exámenes parasitológicos de las mismas sólo evidenciaron: leucocitos, macrófagos y glóbulos rojos, muriendo al 7º día de la inoculación.

A la autopsia, en ninguno hubo lesión del ileon (sitio de la inoculación). En el gato Nº 27 observamos una intensa congestión del intestino grueso, con focos hemorrágicos en la última porción de éste, estando el recto indemne. En los gatos Nos. 28 y 29, además de la congestión del intestino grueso, un puntillado hemorrágico muy marcado en la última porción del intestino grueso y recto en el gato Nº 28, y, focos hemorrágicos a nivel del recto en el gato Nº 29. El gato Nº 30 además

de la congestión del intestino grueso y recto, presentó un pequeño foco ulceroso a un centímetro por encima del ano. (Lám. Nº 1, Foto Nº 2). El gato Nº 32, marcada congestión desde el ciego al ano; con focos hemorrágicos diseminados en todo su trayecto. El gato Nº 31 no presentó ninguna lesión anatómo-patológica. El examen parasitológico de la secreción que cubría la mucosa reveló gran cantidad de amebas en los gatos Nos. 27, 28, 29 y 30, siendo negativo en el Nº 31 y 32.

#### DISCUSION

Se ha considerado a la *Entamoeba coli* como una ameba no patógena, que vive en forma saprofita en el intestino del hombre o de los animales, porque las experiencias de infección realizadas con esta ameba fueron siempre negativas, como lo demuestran los trabajos de QUINCKE y ROSS (2), DARLING (2), CRAIG (2), DOBELL (2), WENYON (1), etc. Aún más, investigadores como SIMIC (2), consideran de manera concluyente que esta ameba aun cuando puede infectar animales como el perro, no cambia sus caracteres morfológicos ni biológicos, permaneciendo siempre en estado saprofita, este carácter sería para él, de capital importancia para establecer una diferencia entre las amebas patógenas, de aquellas que viven sapofitas.

Esta falta de patogenicidad para los animales, sirvió también de fundamento a Tyzzer y Geiman (4) para considerar como *E. coli*, a la *entamoeba* que ellos estudiaron; en disconformidad con estos trabajos, nosotros, utilizando cultivos de *Entamoeba coli*, hemos obtenido la reproducción del cuadro agudo de la amebiasis en el 100 % de los animales que sometimos a experiencia; sin que querramos decir que la *Entamoeba coli* por sí sola es capaz de producir el cuadro agudo de la disenteria experimentalmente en los animales como el gato y el perro, sino que, en condiciones apropiadas como las que le dan la asociación con el *Streptococo hemolítico* y la bilis, ella es tan capaz de dar cuadro agudo como la *Entamoeba histolytica*.

En la amebiasis el rol que desempeña la flora microbiana es de gran importancia como lo demuestran los trabajos de CLEVELAND y SANDERS (5), RATCLIFFE (6), FRYE y MELENEY (7), BERTHA K. SPECTOR (8), DESCHIENS (9)(10). Este último (18) considera: "que una cepa de *ameba dysentérica* es un complejo: *ameba* + *flora microbiana*, en la cual el elemento flora bacteriana, es necesario según nuestros conocimientos actuales para que la ameba pueda propagarse por lo menos en cultivo".

Sin embargo, él plantea el problema de si: "Las bacterias juegan un rol secundario, invadiendo y complicando la necrosis provocada por las amebas o actuando ellas paralelamente a las amebas?" Considera que esto no parece aún resuelto. Con todo manifiesta que: "Los datos anatómo-patológicos permiten afirmar que en la amebiasis existe una acción microbiana yuxtapuesta a la de las amebas, pero, sin permitir medir la parte que le toca a cada uno de estos dos factores".

A. GAUDUCHEAU (19) dice: "No cabe duda de que las bacterias intervienen en los procesos de la amebiasis, no solamente por sus efectos patógenos propios que se unen a aquellos de las amebas, sino también por su acción sobre las amebas mismas, favoreciendo o impidiendo su pululación y modificando su virulencia".

Nosotros creemos que en la amebiasis, no son las amebas las que juegas el papel más importante para dar el cuadro agudo, sino que, son las bacterias las que primero actúan, determinando condiciones tales, que permiten a las amebas no solo su supervivencia y multiplicación sino también su invasión a los tejidos.

Si el *Streptococo* o el *Colibacilo* (8), (9), (10), asociados a la *Entamoeba histolytica* dan cuadros mucho más severos que los que experimentalmente se obtienen con el empleo solo de esta ameba, cabe suponer indiscutiblemente, que son las bacterias asociadas las que determinan la mayor severidad en las lesiones producidas.

De acuerdo con estas observaciones hemos utilizado el *Streptococo hemolítico* asociado a la *Entamoeba coli*, asociación que nos ha permitido reproducir el cuadro agudo. Aún más, hemos preparado el terreno a esta asociación con el uso de la bilis de buey que provoca una acción inflamatoria e irritativa del intestino. Por otra parte, estando demostrado que la dieta alimenticia juega un papel importante en la amebiasis experimental (17), hemos dado a nuestros animales una dieta rica en carne; creando en consecuencia, un ambiente tal en el intestino de los animales que, sometidos a experiencia, no solo permitió la supervivencia de la *E. coli* sino su multiplicación y aún más la invasión de los tejidos; nutriéndose a expensas no solo de las bacterias del intestino, sino también de los glóbulos rojos, como lo hacen a expensas del almidón de arroz en los medios de cultivo; de ahí que, muchas de las formas vegetativas que observamos en el curso de las experiencias tuvieran incluidos en su interior glóbulos rojos; dejando de ser la presencia de glóbulos rojos en el interior de la ameba, un carácter fundamental de diferenciación entre la *E. histolytica* y la *E. coli*. Por otra parte, insistimos como lo hicimos en nuestra comunicación anterior (11) sobre el factor movilidad de las for-

mas vegetativas de la *E. coli*, porque este carácter no tiene ningún valor para establecer un diagnóstico diferencial con la *E. histolytica* y al que todavía muchos autores le dan importancia (4).

De los 20 animales inoculados con la mezcla de amebas más *Streptococo*, 14 murieron en pleno cuadro agudo, mientras los 6 restantes tuvieron que ser sacrificados también en pleno cuadro agudo, por encontrarse en malas condiciones y en peligro de que murieran en el curso de la noche.

Los 5 animales inculados solo con cultivo de *Streptococo*, hicieron un cuadro disenteriforme caracterizado por la presencia de cámaras muco-sanguinolentas, muriendo entre el 1º y 10º día de la inoculación.

De los 6 animales inoculados solo con cultivos de amebas, ninguno reveló la presencia de formas vegetativas en las heces, en el curso del experimento, solo a la autopsia uno de ellos reveló la presencia de una que otra forma vegetativa, mientras que el otro que murió al día siguiente de la inoculación presentaba en el intestino grueso todavía amebas con granos de almidón en su interior, tratándose en este caso, solo de la supervivencia de las amebas que habían sido inoculadas.

En ninguno de los 20 animales a los cuales inoculamos la mezcla de amebas más *Streptococo*, pudimos constatar la presencia de la típica úlcera en botón de camisa, clásica de la disenteria amebiana en el hombre, y esto se debe a que los animales inoculados murieron en pleno cuadro agudo, sin dar tiempo a la formación de la úlcera, coincidiendo con las observaciones de RATCLIFFE (6) con *E. histolytica*, quien considera que: "...las diferencias que se presentan entre la lesión amebiana del hombre y de los gatitos, depende en parte de la tendencia de la amebiasis en el gato de persistir el cuadro agudo, resultando frecuentemente la muerte, antes de que ocurra el compromiso de la submucosa", y las de DESCHIENS (10), para quien: "...las ulceraciones clásicas en botón de camisa observadas en el hombre, no tienen tiempo de constituirse, siendo raramente notadas".

Los cambios histológicos notables que hemos encontrado son: la anormal producción de mucus, dilatación de los capilares sanguíneos y linfáticos, infiltración difusa de la mucosa, edema de la pared intestinal, tumefacción y congestión de los ganglios linfáticos mesentéricos en los animales que murieron a poco de inoculados, mientras que, en aquellos en los cuales el cuadro agudo duró varios días y que terminaron muriendo o siendo sacrificados, encontramos preferentemente: necrosis de la superficie del epitelio, que en algunos fué muy intensa, llegando hasta la

membrana basal pero sin compromiso de la submucosa. (Lám. Nº 2, Micros Nos. 5, 6, 7 y 8).

La luz de las glándulas de LIBERKÜHN fueron primero invadidas por las bacterias y luego por las amebas, las células epiteliales de estas glándulas desprendidas de su membrana basal, desaparecieron, siendo después reemplazadas por las amebas, coincidiendo con las observaciones de KENTARO HIYEDA (20) en gatitos, utilizando *E. histolytica*, las de DESCHIENS (10) y las de RATCLIFFE (6) quien dice: "En los animales estudiados las amebas son vistas en la lesión mucosa, pero no en la submucosa, cuando los tejidos fueron fijados inmediatamente después de la muerte" (Lám. Nº 3, Micros Nos. 9, 10, 11 y 12).

En varios animales notamos la existencia de un gran exudado de tipo difteroido perfectamente organizado sobre la mucosa intestinal, la que a su vez estaba completamente destruida. (Lám. Nº 1, Foto Nº 1).

Cuadros semejantes obtuvimos en los animales que solo inoculamos con *Streptococo hemolítico*: anormal producción de mucus, infiltración difusa de la mucosa, necrosis del epitelio, etc., lo que nos permite afirmar que son los gérmenes como el *Streptococo hemolítico*, los que inician el cuadro anatomo-patológico y que, las amebas como la *E. coli* en nuestro caso, encontrándose en condiciones óptimas invaden los tejidos previamente alterados por el *Streptococo*, no sucediendo lo mismo en los animales que solo recibieron como inóculo amebas, ya que en éstos le faltaba a las amebas uno de los factores más importantes: la flora bacteriana.

#### RESUMEN

Según nuestras observaciones, el cultivo de la *Entamoeba coli* es fácil de obtenerse cuando se emplea un medio rico en hemoglobina como el que hemos descrito.

El 100 % de los animales que inoculamos por vía ileal con la mezcla de cultivos de *Entamoeba coli* más *Streptococo hemolítico* y a los que se les suministró bilis de buey en cápsulas de 0.50 gms.; alimentados con una dieta rica en carne, reprodujeron el cuadro agudo de la disentería amebiana, no obstante de haber usado animales de 2 o más años de edad en las 2 primeras series, siendo las lesiones anatomo-patológicas e histológicas semejantes a las encontradas por otros autores quienes utilizaron para sus experiencias *Entamoeba histolytica*.

De los animales "controles", el 100 % de los inoculados solo con *Streptococo hemolítico* y bilis, sometidos a la misma dieta reprodujeron



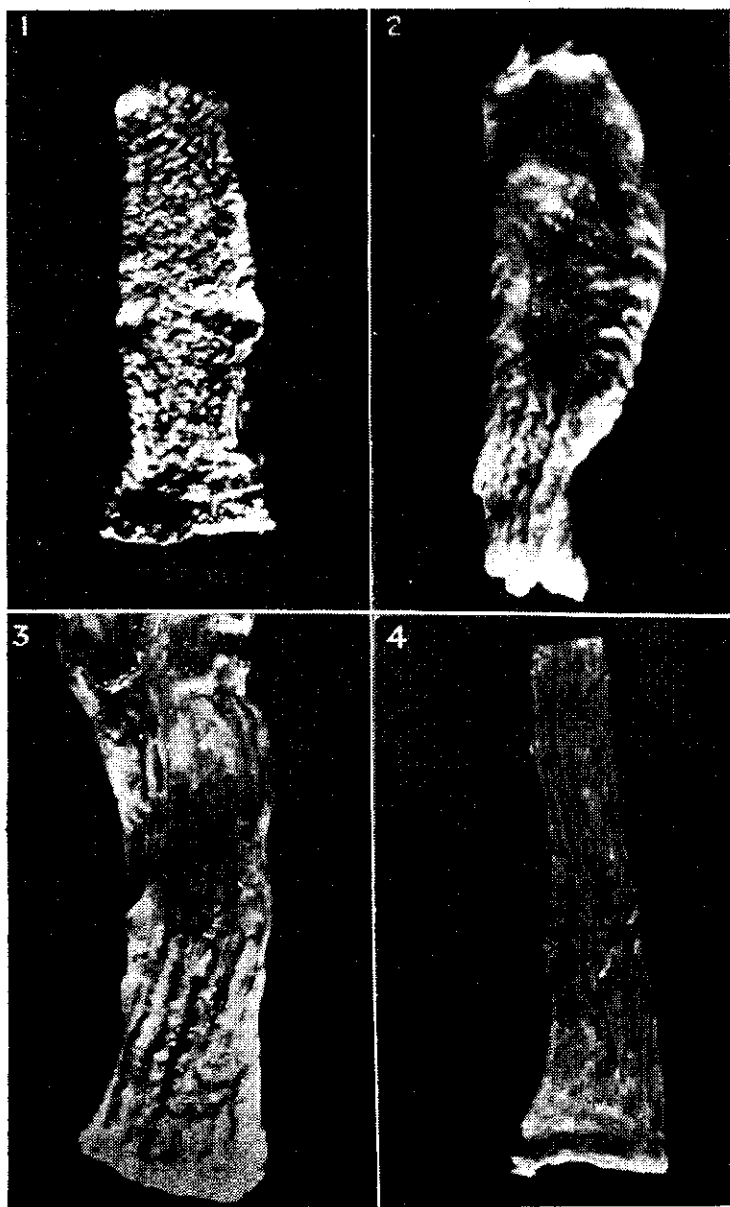
Un síndrome disenteriforme con un cuadro anatomo-patológico e histológico semejante a aquellos que recibieron la mezcla de amebas más *Streptococo*, pero, encontrándose solo leucócitos, macrófagos y glóbulos rojos en las heces. Mientras que, de los 6 que solo se inocularon con cultivos de amebas y bilis, sometidos a la misma dieta, 2 de ellos (33.3 %) no presentaron ninguna lesión anatomo-patológica ni amebas en las heces, empero 4 (66.6 %) presentaron lesiones anatomo-patológicas de variable intensidad y, en solo 2 de ellos encontramos una que otra ameba, considerando entre estos dos al que murió al día siguiente de la inoculación.

#### CONCLUSIONES

1. El cultivo de la *Entamoeba coli* no constituye un problema si se utiliza medios ricos en hemoglobina como el que hemos descrito.
2. Experimentalmente se puede obtener el cuadro agudo de la disenteria en los perros y gatos con la *Entamoeba coli* asociada al *Streptococo hemolítico* y a la bilis.
3. Las lesiones provocadas por el *Streptococo hemolítico* son de tal magnitud que permiten no sólo la supervivencia, sino también, la multiplicación e invasión de los tejidos por la *E. coli*.
4. La dieta tiene gran importancia favoreciendo la acción de esta asociación.

## BIBLIOGRAFIA

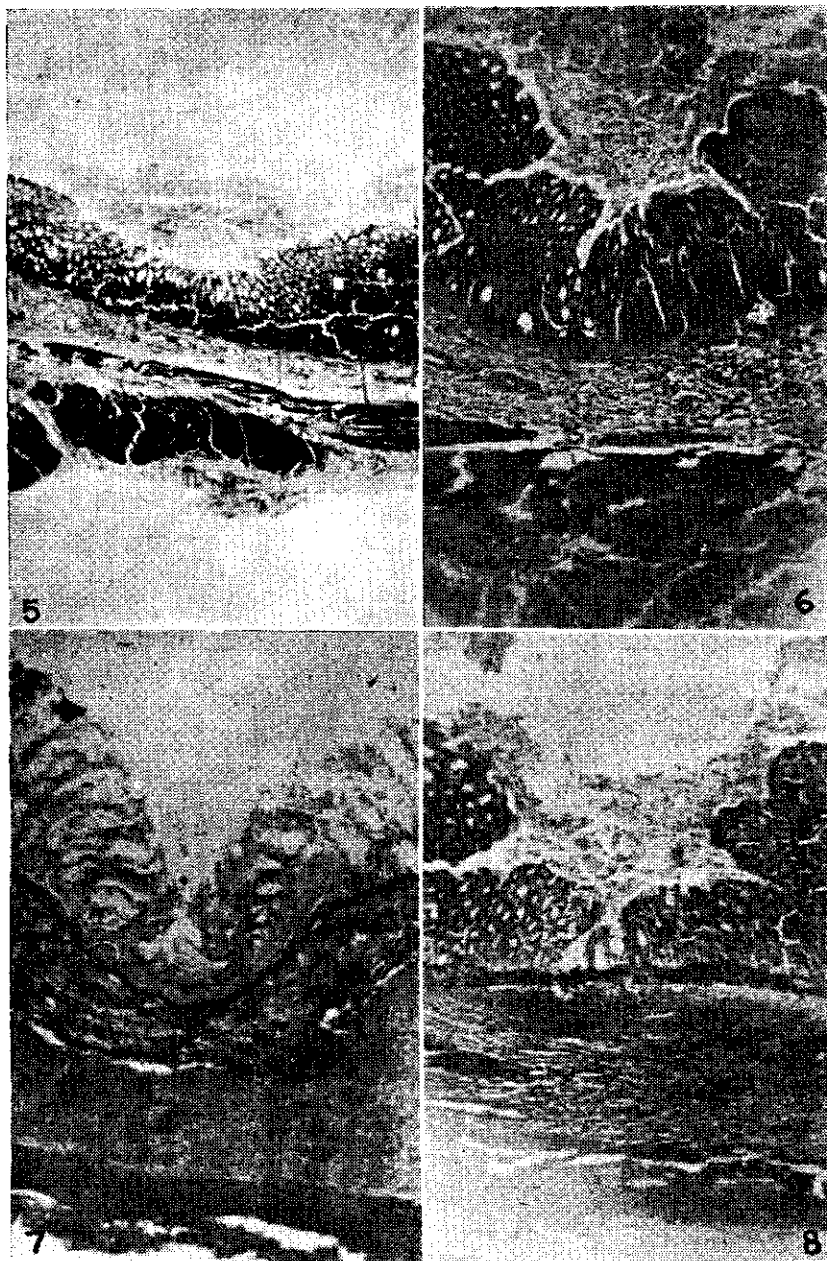
1. C. M. WENYON : *Jl. London School Trop Med.*, v. 2, p. 27, 1912. Citado en *Tropical Diseases Bulletin*, v. 1, p. 457, 1912-13.
2. TSH SIMIC : *Annales de Parasitologie*, v. 2, p. 329, 1933.
3. M. E. MARCHOUX : *Bulletin de la Société de Pathologie exotique*, v. 30, p. 656, 1937.
4. ERNEST E. TYZZER, QUINTIN M. GEIMAN : *American Journal of Hygiene*, v. 28, p. 271, 1938.
5. L. R. CLEVELAND, ELIZABETH P. SANDERS : *American Journal of Hygiene*, v. 12, p. 569, 1930.
6. HERBERT L. RATCLIFFE : *American Journal of Hygiene*, v. 14, p. 337, 1931.
7. WILLIAM W. FRYE, HENRY E. MELENEY : *American Journal of Hygiene*, v. 28, p. 543, 1933.
8. BERTHA KAPLAN SPECTOR : *American Journal of Hygiene*, v. 22, p. 366, 1935.
9. R. DESCHIENS : *C. R. Société de Biologie*, v. 125 B, p. 1017, 1937.
10. R. DESCHIENS : *C. R. Société de Biologie*, v. 127 A, p. 1076, 1938.
11. VÍCTOR M. AYULO R. : *Revista de Medicina Experimental*, v. 1, p. 177, 1942.
12. VÍCTOR M. AYULO R. : *Revista de Medicina Experimental*, v. 2, p. 283, 1943.
13. J. DRBOHLAV : *Annales de Parasitologie*, v. 3, p. 364, 1925.
14. C. DOBELL, P. LAIDLAW : *Parasitology*, v. 18, p. 283, 1926.
15. HENRY E. MELENEY, WILLIAM W. FRYE : *Proc. Soc. Experim. Biol. and Med.*, v. 30, p. 277, 1932. Citado en *Tropical Diseases Bulletin*, v. 30, p. 387, 1933.
16. R. DESCHIENS, A. PROVOST : *Bulletin de la Société de Pathologie exotique*, v. 30, p. 648, 1937.
17. HILDRUS A. POINDEXTER : *The Puerto Rico Journal of Public Health and Tropical Medicine*, v. 12, p. 324, 1937.
18. R. DESCHIENS : *Annales de L'Institut Pasteur*, v. 61, p. 5, 1938.
19. A. GAUDUCHEAU : *Bulletin de la Société de Pathologie exotique*, v. 30, p. 656, 1937.
20. HIYEDA KENTARO : *American Journal of Hygiene*, v. 12, p. 401, 1930.
21. ERNEST FAUST, EDWIN S. KAGY : *Amer. Jl. Trop. Med.*, v. 14, p. 221, 1934. Citado en *Tropical Diseases Bulletin*, v. 32, p. 190, 1935.

*LAMINA N° 1*

*LAMINA Nº 1*

- Fotografía Nº 1 Fotografía de la última porción del intestino grueso y del recto del perro Nº 11 mostrando una intensa congestión con focos hemorrágicos y un exudado difterioide en la última porción del recto a 1 cm. por encima del ano.
- Fotografía Nº 2 Fotografía de la última porción del intestino grueso y recto del gato Nº 30 mostrando una intensa congestión y un foco ulceroso a 1 cm. por encima del ano.
- Fotografía Nº 3 Fotografía del intestino grueso del perro Nº 4 en la que se aprecia con gran claridad un intenso proceso congestivo, con focos hemorrágicos y varias ulceraciones.
- Fotografía Nº 4 Fotografía de la última porción del intestino grueso y recto del perro Nº 17, mostrando una gran congestión del intestino grueso con puntillado hemorrágico en la última porción de éste y una ulceración a 2 cm. por encima del ano.

## LAMINA N° 2

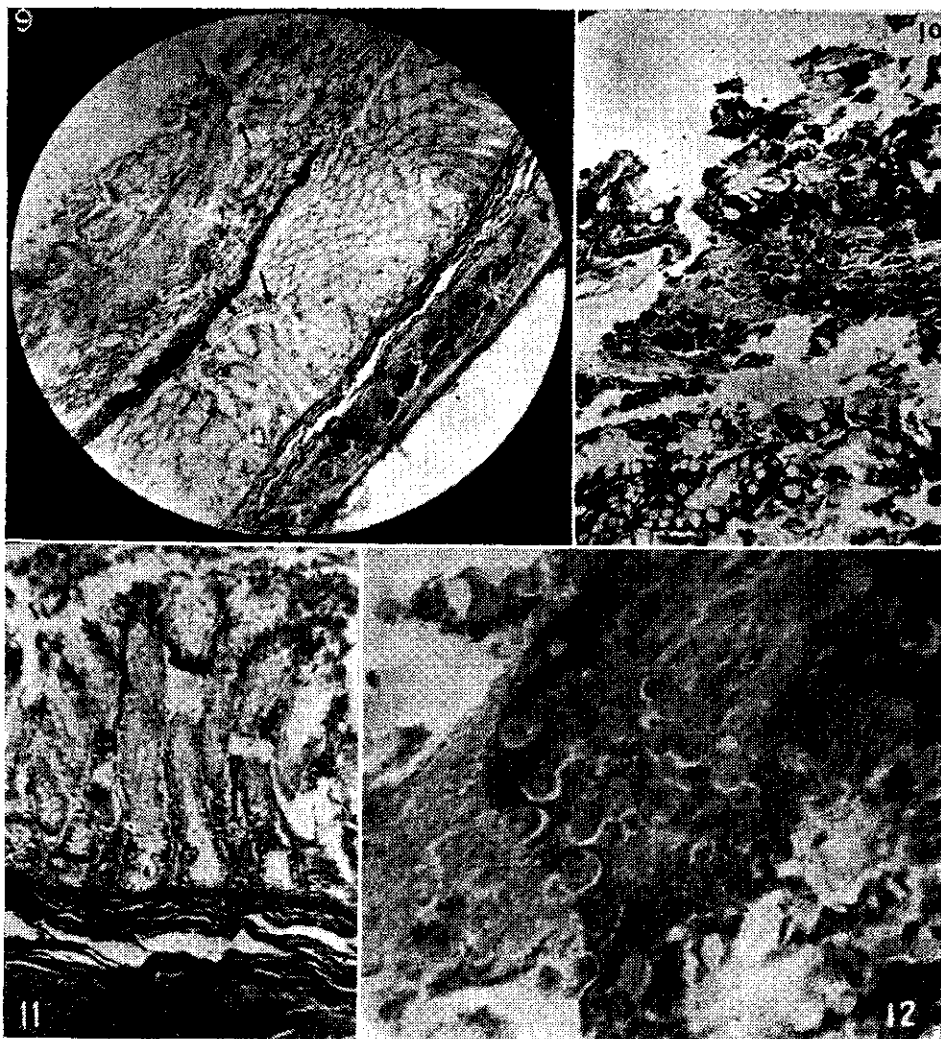


*LAMINA N° 2.*

Microfotografías N° 5, 6, 7, y 8    Microfotografías mostrando diferentes grados de necrosis de la mucosa intestinal.

Las microfotografías N° 5 y 7 son tomadas de preparaciones coloreadas por el método de la hematoxilina férrica de Heidenhain, y las N° 6 y 8 por el método corriente de hematoxilina-eosina.

## LAMINA N° 3

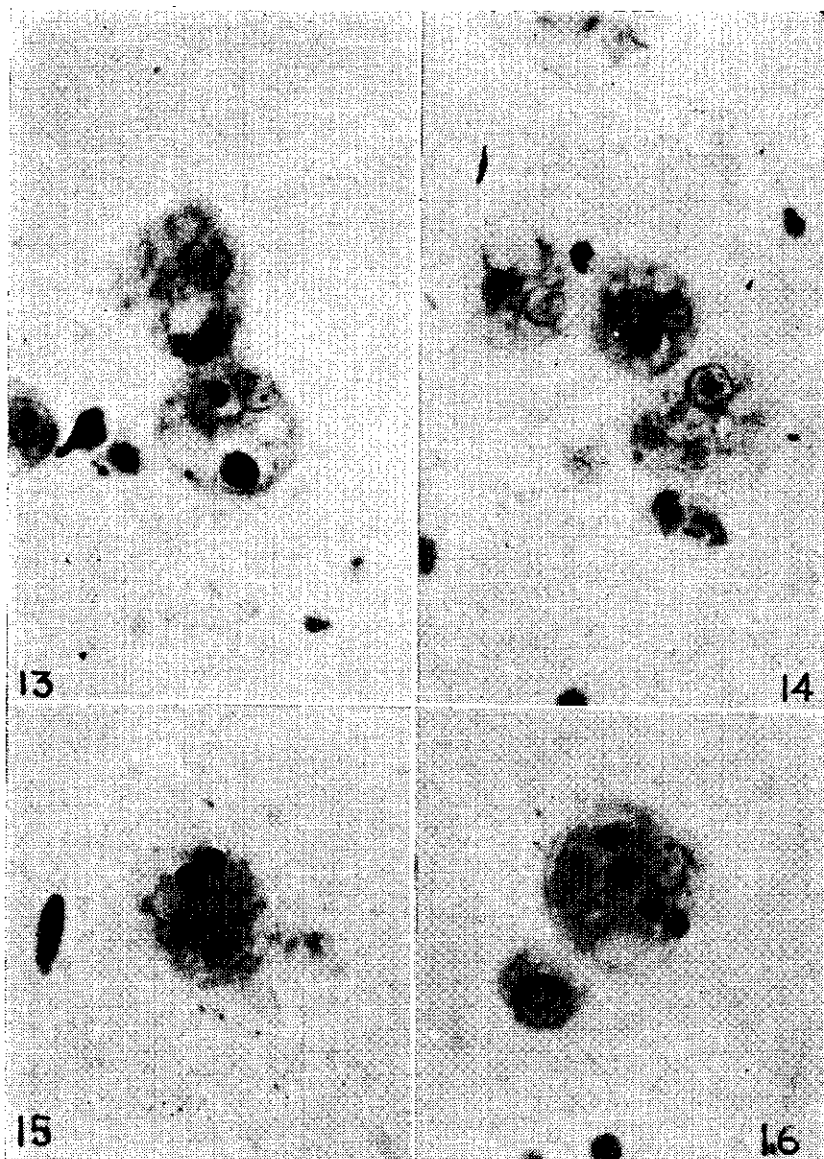


## LAMINA Nº 3.

- Microfotografía Nº 9 Corte histológico mostrando 2 zonas marcadas por las flechas en las que se aprecia una marcada necrosis del epitelio intestinal.  
Coloración: hematoxilina férrica.  
Aumento: 25 diámetros aproximadamente.
- Microfotografía Nº 10 Una de las zonas marcada por las flechas a mayor aumento.  
Aumento: 65 diámetros aproximadamente.
- Microfotografía Nº 11 La otra zona marcada por las flechas en la microfotografía Nº 9, a mayor aumento.  
Aumento: 200 diámetros aproximadamente.
- Microfotografía Nº 12 La misma zona de la microfotografía Nº 10 en la que se aprecian formas vegetativas de *E. coli* en las lesiones.  
Aumento: 65 diámetros aproximadamente.



## LAMINA N° 4



## LAMINA N° 4

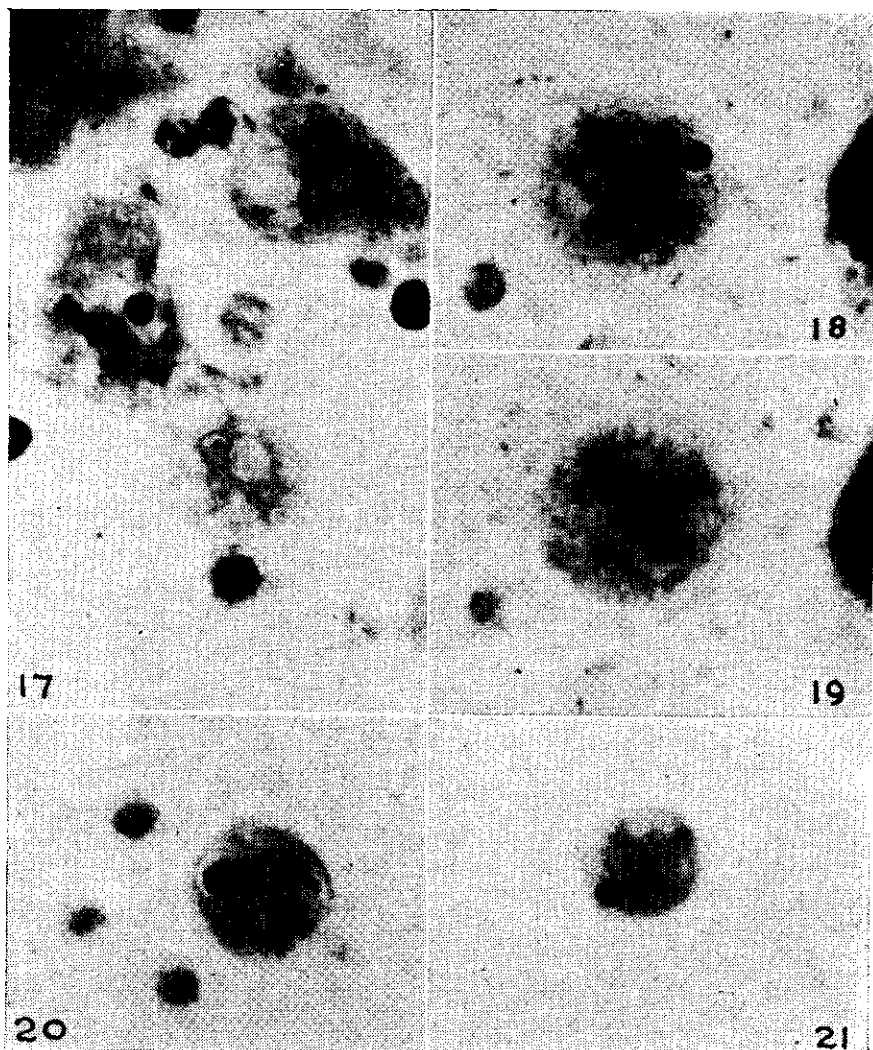
Microfotografía N° 13 Microfotografía mostrando dos formas vegetativas de *Entamoeba coli*, una ellas con 2 glóbulos rojos en su interior.

Microfotografía N° 14 Tres formas vegetativas de *E. coli*, una de ellas con un glóbulo rojo en su interior.

Microfotografía N° 15 Una forma vegetativa de *E. coli*, con 2 glóbulos rojos en su interior.

Microfotografía N° 16 Una forma vegetativa de *E. coli*, con 6 glóbulos rojos en su interior. A su lado un leucócito.

## LAMINA Nº 5



**LAMINA Nº 5**

**Microfotografía Nº 17** Microfotografía en la que se aprecian 3 formas vegetativas de *E. coli*, una de ellas con 5 glóbulos rojos en su interior.

**Microfotografías Nº 18-19** Una forma vegetativa de *E. coli*, conteniendo 5 glóbulos rojos en su interior; tomada en 2 planos diferentes.

**Microfotografía Nº 20** Una forma vegetativa de *E. coli* con un glóbulo rojo en su interior.

**Microfotografía Nº 21** Una forma vegetativa de *E. coli* con un glóbulo rojo en su interior.

Las microfotografías que reproducimos en las láminas Nº 4 y 5 son tomadas de preparaciones coloreadas por el método de la hematoxilina férrica de Heidenhain. Aumento de 900 diámetros aproximadamente.