

ARCHIVOS MEXICANOS DE  
**anatomía**

## **ARCHIVOS MEXICANOS DE ANATOMIA**

Publicación Cuatrimestral

Organo Oficial de la Sociedad Mexicana de Anatomía

Apdo. Postal 70-278

México 20, D.F.-

### **EDITOR:**

DR. LUIS CARDENAS RAMIREZ

### **CONSEJO EDITORIAL:**

Dr. Isaac Costero Tudanca

Dr. Sergio A. Bencosme

Dr. Enrique Acosta Vidrio

Dr. Luis López Antúnez

### **COMITE EDITORIAL:**

Dr. Alfredo Feria Velasco

D. en C. Alfonso Cárabez Trejo

D. en C. Ma. Cristina Márquez Orozco

M. en C. Fermín Rivera Agüero

M. en C. Alejandro Mercado Coria

M. en C. Mariano Ruiz Bautista

Dr. José Ma. Cantú Garza

Dr. Amador González Angulo

Dr. Rafael Martín del Campo

M. en C. Antrop. Carlos Serrano

D. en C. Irma de León

Dr. Gildardo Espinosa

Dr. Guillermo Avella Martínez

Dr. Francisco Chávez Almanza

# XI CONGRESO INTERNACIONAL DE ANATOMIA

## INVITACION

El XI Congreso Internacional de Anatomía se verificará en la ciudad de México, durante los días del 17 al 23 de agosto de 1980, en la Unidad de Congresos del Centro Médico Nacional, del Instituto Mexicano del Seguro Social.

El Programa Científico está siendo cuidadosamente preparado y comprende: Symposiums, Mesas de Discusión Coordinada, Conferencias Magistrales, Trabajos Libres, Cursos Cortos y Exposición.

*Areas.* Los temas a desarrollar pueden referirse a las siguientes Secciones: Anatomía General y Anatomía Clínica, Neuroanatomía, Biología Celular, Histoquímica, Histología, Embriología, Anatomía Dento-Facial, Radiología, Tomografía Axial Computarizada, Anatomía Veterinaria, Anatomía Comparada, Antropología y Paleontología Humanas, Biomecánica, Cinematografía Anatómica, Enseñanza de la Morfología.

*Idiomas Oficiales:* Español, Francés, Inglés. Habrá traducción simultánea en la mayoría de las Sesiones.

*Eventos Sociales y Programa para Acompañantes.* Se efectuarán diversos actos sociales, culturales y artísticos para hacer agradable y amistosa la estancia de los señores congresistas y sus familiares. Así mismo, se programan viajes turísticos de interés especial, durante y después del Congreso.

Habrà un eficiente servicio de transportes. El clima agradable de la ciudad de México en esa época —24 a 27 grados centígrados— contribuirá a hacer placentera la estancia en esta ciudad. En nuestro próximo comunicado se incluirá lista de hoteles, y todos los detalles complementarios.

La Sociedad Mexicana de Anatomía tiene mucho gusto en hacer a Ud.(s) una cordial invitación para que asistan a este XI Congreso Internacional de Anatomía, y a que contribuyan con su presencia y sus conocimientos al progreso de las Ciencias Morfológicas, y a estrechar los lazos de amistad y comprensión entre los morfólogos del mundo.

México, D. F., marzo de 1978.

Dr. Enrique Acosta Vidrio  
*Presidente*

## EDITORIAL

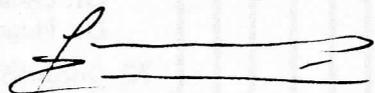
La Sociedad Mexicana de Anatomía realiza cada dos años un Congreso Nacional con el objeto de dar a conocer los avances más recientes en la investigación científica y docente en Ciencias Morfológicas entre los profesionistas de diversas disciplinas biológicas y médicos del país.

El campo de interés de nuestra Sociedad se ha ampliado considerablemente. Originalmente agrupó a un selecto grupo de profesores de Anatomíamacroscópica y con el tiempo se crearon las vocalías de Histología, Embriología, Anatomía Comparada, Antropología Física, Microscopía Electrónica y Radiología.

Actualmente, como reflejo del creciente interés que ha despertado la Biología Celular y Ultraestructura dentro de las disciplinas Biológicas, nuestra Sociedad agrupa un número cada vez mayor de investigadores en estos campos. Muestra de ello fué nuestro pasado Congreso Nacional, que se celebró en Chapala, Jal., en octubre próximo, donde además de un importante número de trabajos que utilizan la ultraestructura dentro de su metodología, se hace énfasis en las relaciones de las diversas disciplinas morfológicas entre sí y con otras Ciencias Biomédicas como la Fisiología, Bioquímica y Farmacología.

Además de las indudables ventajas que reportan estos eventos para el progreso científico y académico de los asistentes, los Congresos Nacionales han servido para establecer y fortalecer los vínculos amistosos y de colaboración científica entre profesionistas relacionados con la morfología.

Este Congreso guarda un especial interés por ser el que precede inmediatamente al próximo Congreso Internacional de Anatomía que se celebrará en la Ciudad de México en Agosto de 1980. Pensando en ello, se ha pretendido darle un cariz internacional, haciendo una difusión a nivel más amplio e invitando a destacados profesionistas nacionales y extranjeros a participar en los Symposios, Conferencias Magistrales y Cursos. Por primera vez se harán 3 symposios, dos sobre temas de investigación y uno sobre docencia. Se han hecho también por vez primera, sesiones poster y los 6 cursos cortos darán créditos para estudios de post-grado. Se espera que este evento sienta las bases de superación necesarias para estimular a la siguiente mesa directiva de la Sociedad que tendrá la responsabilidad de representar a nuestra agrupación ante los colegas de todo el mundo. Para lograr nuestros objetivos es imprescindible contar con la participación del mayor número posible de colegas de todas las instituciones de enseñanza e investigación del país.



Dr. Luis Cárdenas Ramírez  
Editor

## INDICE

- 43** Editorial
- 45** Estudio Biológico de Amibas del Grupo "LIMAX" *GENE-ROS NAEGLERIA* Y *ACANTHAMOEBA*.  
M. en C. Fermín Rivera Agüero  
M. C. Ma. Eugenia Paz Morelos  
Biól. Alfredo Ortega Rubio.  
D. en C. Eucario López Ochoterna.
- 59** Estudios preliminares de la ULTRAESTRUCTURA DEL C. C. *RACEMOSUS*.  
Dr. Luis Cañedo Dorantes  
Biól. Margarita González del Pliego
- 67** "Una realidad susceptible de análisis:  
El cuerpo humano en el microscopio"  
(Aspectos motivaciones en el proceso de  
enseñanza-Aprendizaje de la histología Médica)  
M. en C. Alberto Alejandro Mercado Coria  
Dr. Oscar Jaime Castellón Flores  
Dr. Hugo Carlos Mercado Coria
- 72** Discusión y comentarios sobre los criterios Taxonomicos  
para las Amibas del Grupo "LIMAX".  
M. en C. Fermín A.  
M. en C. Ma. Eugenia Paz M.

# ESTUDIO BIOLÓGICO DE AMIBAS DEL GRUPO "LIMAX"; GENEROS NAEGLERIA Y ACANTHAMOEBA.

## "LAS AMIBAS, ORDEN DENTRO DEL CAOS".

M. en C. Fermín Rivera Agüero (1)  
M. C. Ma. Eugenia Paz Morelos (1)  
Biól. Alfredo Ortega Rubio (1)  
D. en C. Eucario López Ochoterena (2)

### RESUMEN

Se realizó el estudio morfológico con Microscopía de luz, de organismos de las especies *Naegleria gruberi* y *Acanthamoeba astronyxis*. Se hizo la descripción detallada de los diferentes organoides observados en cada una de las fases del ciclo vital: trofozoide, flagelada y quística.

Los especímenes descritos fueron obtenidos de muestras de agua dulce de las piscinas de seis centros deportivos de distintas zonas de la Ciudad de México.

Las tinciones supravitales utilizadas corroboraron las observaciones en fresco y dieron luz sobre los constituyentes químicos que participan en la constitución de las paredes quísticas y gránulos citoplásmicos.

Se describe para los dos géneros el tipo de pseudópodo existente y su formación, y se delinean los rasgos más característicos del tipo de locomoción.

Se enfatiza la importancia de la presencia de estos organismos en las piscinas deportivas dada la patogenicidad que algunas especies de los géneros estudiados pueden presentar para los humanos.

(1) Facultad de Medicina, Depto. de Histología, U.N.A.M.

(2) Facultad de Ciencias, Laboratorio de Protozoología, U.N.A.M.

Solicitud de Reimpresos

M. en C. Fermín Rivera A.

Facultad de Medicina, Depto. de Histología, U.N.A.M.

México 20, D. F.

## SUMMARY

The morphological study of amoebae species *Naegleria gruberi* and *Acanthamoeba astronyxis* was performed with light microscopy. A detailed description of the different organelles observed was done on every stages of the life cycle: cyst, flagellate and trophozoid.

The described organisms were obtained from water of six swimming-pools of different zones in the Federal District.

The stained preparations confirmed the observations in the fresh ones and gave more information about the chemical components that are involved in the constitution of the wall of the cyst and the cytoplasmic granules.

The type and formation of the pseudopodia as well as the locomotive pattern were described for the two genera.

The importance of the presence of these organisms in recreative water is enhanced because of the pathogenicity for humans reported for some species of the studied genera.

Piscinas: 2 clubes privados en la Delegación

### Introducción

El presente estudio morfo y fisiológico de amibas del grupo "Limax" de los géneros *Naegleria* y *Acanthamoeba* colectadas en depósitos de agua dulce y piscinas de distintas zonas del Distrito Federal, es el primero de su tipo en el país.

Su importancia radica en la patogenicidad de varias especies de estos géneros, ampliamente demostrada en otros países.

Considerando la importancia y amplitud de un trabajo de esta naturaleza, el presente estudio representa la fase inicial del conocimiento en nuestro país del ciclo vital de estos organismos, de su hábitat y en caso de demostrarse, de la patogenicidad en mamíferos.

### Material y Métodos

Sitios de muestreo y colecta:

Suelo: Jardín de la Universidad Nacional Autónoma de México (plantel Zaragoza), Arroyo del Parque Viveros de Coyoacán, Delegación

Coyoacán; 2 clubes privados y escuela en la Delegación Miguel Hidalgo; Alberca Olímpica y piscina de la Universidad Nacional Autónoma de México. Las condiciones de temperatura variaron de 25 a 33°C y el pH de 6.5 a 7. Las muestras fueron repetitivas y en cantidad de 5 000 ml. cada una

Filtración: Con arena de Ottawa malla 40, auxiliada con bomba de vacío. Se retuvieron de 3 a 5 ml. para las observaciones y el cultivo.

Preparaciones: Las permanentes se fijaron con la técnica de Nissebaum (1953) y posteriormente se tiñeron con la Técnica del Acido peryódico de Schiff. Los colorantes supravitales diluïdos fueron colocados con micropipetas al momento de hacer la observación de las preparaciones en fresco.

Cultivo: La mitad de la muestra se incubó sin sembrar y la otra mitad se sembró en agar nutritivo. Se mantuvieron a temperatura fluctuante de 35-37°C.

Transformación amebo-flagelar:

Se indujo con agua destilada en proporción uno a uno.

### Resultados y Discusión

La descripción realizada en esta sección se basa por completo en observaciones hechas durante el curso de este estudio.

Descripción de una especie del género *Naegleria*:

Clase Rhizopodea, von Siebold 1845.

Subclase Lobosia, Carpenter 1861.

Orden Amoebida, Kent 1880.

Familia Vahlkampfiidae, Jollos y Zulueta 1917.

Género *Naegleria*, Alexeieff 1912 emend Calkins 1913.

Especie *gruberi*, Schardinger 1899.

### Diagnosis

La locomoción de estas amibas es monopódica, aunque a veces pueden presentar emisión de pseudópodos múltiples; su desplazamiento se realiza mediante pseudópodos anchos, hemisféricos y hialinos. Estas erupciones podálicas pueden formarse en cualquier zona de la superficie celular, pero son más frecuentes en las zonas anterior, posterior y central. Lo cual determina que el recorrido efectuado por estos animales se realice siguiendo un curso más o menos sinuoso. Podemos decir por analogía, que las amibas de esta especie "serpentean" cuando se desplazan.

Su extremo anterior es por lo general más ancho que su extremo posterior. En la mayoría de los casos no hemos podido hallar un uroide bien definido. Durante su locomoción activa, su longitud equivale a tres veces su anchura. Son comunes las formas irregulares. Los animales observados son mononucleados, con un núcleo de cara abierta que permite observar gránulos de cromatina próximos a la hoja interna de la membrana nuclear, así como un nucléolo prominente denominado por algunos autores *cariosoma*. Se han observado individuos con 1, 2 y a veces 3 vacuolas contráctiles, siendo más frecuentes los primeros. Las vacuolas fagocíticas son pequeñas y contienen una o varias bacterias. El cito-

plasma es muy refringente por la gran cantidad de gránulos que presenta. La longitud promedio de una amiba extendida para moverse varía de 25.7 a 45.7 micras. El diámetro del núcleo tiene así mismo un rango de variación de 4.1 a 7.1 micras, mientras que el del nucléolo varía de 2.8 a 2.9 micras.

Se puede inducir la transformación amebo-flagelar al diluir el medio de cultivo. Nosotros lo hicimos con agua destilada. La mayoría de los individuos observados exhibe dos flagelos, aunque hemos observado formas con uno solo. Las formas flageladas pueden ser piriformes, alargadas, elipsoides y a veces hasta redondeadas; en los tres primeros tipos el extremo posterior es redondeado. Cuando son dos, los flagelos tienen la misma longitud y su extensión es equiparable a la longitud de la propia célula (tratándose de cultivos, pero mayor cuando se les encuentra en sus hábitats naturales). Los flagelos observados nacen siempre en el extremo anterior. El núcleo se coloca dentro del flagelado en su extremo anterior, mientras que la vacuola pulsátil lo hace en el extremo posterior. La longitud de los flagelados varía de 8.2 a 15.7 micras.

Los quistes son en su mayoría esféricos y algunas veces ovoides, tienen pared lisa constituida por una capa interna gruesa y otra externa más delgada, poseen de uno a tres tapones a nivel de los poros. Los animales observados en el quiste son mononucleados y no se ha observado división celular. El citoplasma del animal enquistado es muy granuloso y opaco. El exquistamiento se realiza cuando la amiba sale a través de uno de los poros de la pared quística. El diámetro de los quistes varía de 9 a 15.6 micras. El diámetro del núcleo enquistado mide de 2.3 a 5.6 micras, mientras que el del nucléolo varía de 0.9 a 2.5 micras.

Se sabe que la reproducción de los organismos es por fisión binaria y ocurre sólo durante la fase ameboide. La división nuclear es promitótica, es decir con formación de cuerpos interzonales.

### Forma trófica

La forma trófica común de *Naegleria gruberi* es la ameboide, ya que la forma flagelada sólo se presenta en respuesta a cambios en el medio ambiente, y es una fase pasajera que generalmente revierte al estado ameboide. Aunque las amibas de esta especie junto con otras de la familia Vahlkampfiidae caen dentro de la denominación de amibas "Limax", *Naegleria gruberi* sólo se presenta en forma de babosa en contadas ocasiones durante su desplazamiento. *Naegleria gruberi* se caracteriza por emisión de pseudópodos no sólo anteriores sino también laterales. La forma extendida de *Naegleria gruberi* tiene una proporción longitud/anchura de 3:1, pero en los individuos que se están desplazando muy activamente puede no encontrarse esta proporción. Por lo general la amiba es casi tan larga como ancha.

Cuando la amiba no se desplaza emite constantemente pseudópodos que modifican su forma de modo continuo, lo cual determina que puedan observarse contornos muy variados, siendo uno de ellos la forma de babosa.

La parte caudal de la amiba es redondeada y en términos generales no se puede apreciar uroide.

Aunque las amibas se desplazan por una locomoción monopódica, excepto cuando cambian de dirección, su locomoción no es en línea recta como sucede en algunas especies del género *Hartmannella*. Más bien, ocurre mediante la formación de pseudópodos anchos y hialinos que se forman en su parte anterior. Los pseudópodos anteriores se forman a uno y otro lado de una línea central, de manera que la amiba sigue un curso sinuoso; aunque cualquier pseudópodo de formación lateral puede fundirse con el anterior y determinar un cambio de dirección (Fig. 1).

El endoplasma granuloso sigue el camino que le traza el ectoplasma hialino. El proceso de formación de pseudópodos es casi siempre eruptivo y ocasionalmente tan explosivo que el ectoplasma hialino se desliza sobre y

por debajo del endoplasma granuloso, entre el tubo en fase de gel y la membrana plasmática. La amiba puede cambiar de curso al seguir la dirección de uno sólo de los pseudópodos antero-laterales, sin compensar esta desviación con la formación de otro pseudópodo en sentido contrario. Un cambio de dirección de 90° sólo lo logra la amiba al formar un pseudópodo inmediatamente por detrás del anterior y perpendicular al eje anterior-posterior mayor del animal. El pseudópodo de *Naegleria gruberi* puede describirse como un pseudópodo ancho, hemisférico y hialino.

El tamaño de la amiba varía de 25.7 a 45.7 micras. Dado que las amibas están constantemente cambiando de forma y dado que

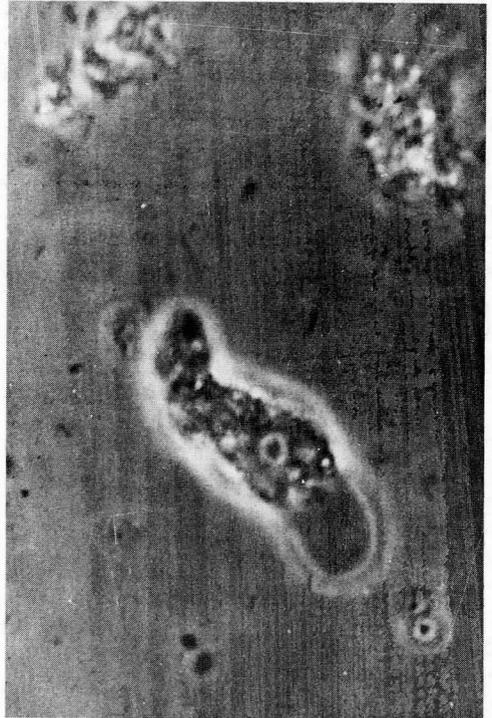


Figura No. 1: Trofozoide de *N. gruberi* que muestra los pseudópodos típicos que determinan el patrón característico de locomoción del microorganismo. Rivera, A.F.

casi siempre tratan de medirse estos animales cuando están extendidos, las medidas muestran más bien el posible rango de longitud, que el tamaño constante de un individuo. Esto dificulta la obtención de la media en cuanto a la longitud.

Por lo general cada individuo tiene un núcleo que a su vez posee un nucléolo o cariosoma central. El núcleo es de cara abierta y el material cromosómico mostrado por la técnica histológica parece estar localizado entre la membrana nuclear y el nucléolo, no pudiendo distinguirse en el organismo viviente. Tanto el núcleo como el nucléolo pueden deformarse cuando la célula se desplaza. Durante la locomoción el núcleo se halla generalmente colocado en la región más anterior del endoplasma granular. El diámetro del núcleo varía de 2.8 a 2.9 micras. Los organismos de la especie *gruberi* pueden mostrar una o dos vacuolas pulsátiles. Una amiba puede tener una sola vacuola pulsátil durante algún tiempo y posteriormente presentar dos. La vacuola se localiza en la mayoría de los casos en la parte más posterior del endoplasma, aunque a veces puede hallarse en la parte más anterior. Si una célula contiene dos o tres vacuolas pulsátiles éstas no se vacían simultáneamente. Cuando la amiba posee una sola vacuola, ésta se contrae durante la sístole en un número mayor de veces por minuto que en el caso de que existan dos. En esta última situación, la contracción de cada una de las vacuolas es más espaciada. El diámetro máximo de la vacuola pulsátil medido inmediatamente antes de la sístole varía de 1.4 a 5.2 micras. Las vacuolas digestivas son difíciles de observar una vez que se ha ingerido la partícula alimenticia, pero puede verse su formación en el momento mismo de que la amiba efectúa la fagocitosis. Estas vacuolas digestivas no suelen ser muy grandes y albergan unas cuantas bacterias sino es que una sola. Nosotros hemos observado —Rivera, 1978— el proceso de fagocitosis y, a diferencia de lo que ocurre en otros tipos de amibas en las que puede observarse los pseudópodos

englobando a la partícula alimenticia, en el caso de *Naegleria gruberi* la amiba se acerca por uno de los bordes a la bacteria y se establece una interfase entre la membrana citoplásmica de la amiba y la membrana bacteriana. Poco a poco los límites entre la bacteria y la amiba se van haciendo menos conspicuos hasta que la bacteria queda rodeada de un halo con características semejantes a las que posee el ectoplasma. Finalmente la bacteria queda incluida dentro del endoplasma granular y pierde su definición como partícula aislada para confundirse con la morfología típicamente granulosa del endoplasma amibiano.

Además del núcleo, de las vacuolas contráctiles de las vacuolas digestivas, las únicas inclusiones detectables con el microscopio ordinario y de contraste de fases, fueron una gran cantidad de gránulos que con frecuencia son muy refringentes y amarillo-verdosos. Cuando estos gránulos aparecen como refringentes, no sólo pueden observarse en el endoplasma sino también circundando la membrana nuclear. Los gránulos distribuidos en el endoplasma se deslizan juntos con éste durante el movimiento pseudopodálico, pero los que están alrededor de la membrana nuclear permanecen hijos.

*Naegleria gruberi* no posee una forma pélagica definida y cuando se la suspende en un medio líquido continúa emitiendo pseudópodos en varias direcciones y finalmente sedimenta.

*Naegleria gruberi*, dentro de las amibas de la familia Vahlkampfiidae es capaz de presentar transformación amebo-flagelar. La transformación puede ocurrir en forma espontánea mientras se hace la observación de una muestra o puede ser inducida al diluir en medio de suspensión. La mayoría de las formas flagelares con capacidad de desplazamiento acelerado pueden revertir también en forma espontánea al estado ameboide.

Aunque no se hicieron conteos para calcular la proporción de células que efectuaban la transformación, sí determinamos diferen-

cias notables entre los organismos de distintas muestras, en cuanto al período de latencia necesario para que se iniciase el fenómeno de la transformación amebo-flagelar, una vez inducido con agua destilada. Siendo menor en las muestras que procedían de su hábitat natural y mucho mayor para las muestras procedentes de piscinas.

Estudiamos muestras en las cuales la mayoría de los organismos ameboides efectuaron la transformación y sólo en un caso muestreado de una de las piscinas, la transformación de las amibas en flagelados fue del 100%.

La forma flagelar de *Naegleria gruberi* casi siempre exhibe dos flagelos aunque pudimos encontrar organismos con uno solo. Cabe la posibilidad de que estos uniflagelados sean en realidad biflagelados que han perdido un flagelo o en los que se halla en proceso de formación el segundo flagelo. En caso de existir dos flagelos poseen la misma longitud y son ligeramente más largos que la misma célula.

Los flagelos nacen de una pequeña depresión situada en la parte más anterior del organismo (en los casos de forma ovoide o elíptica), pero es difícil decir que se trata de un nacimiento anterior cuando la forma flagelar es esférica o cuando menos redondeada, como pudimos confirmar en varias ocasiones. (Figs. 2 y 3).

En la mayoría de los casos el núcleo de los flagelados se localizó inmediatamente por detrás del punto de nacimiento de ambos flagelos.

Las formas flagelares no muestran la típica diferenciación entre ecto y endoplasma. La célula puede ser piriforme, elipsoidal, alargada o redondeada. En el caso del contorno piriforme, la parte posterior resulta redondeada. La vacuola contráctil es por lo general posterior en los flagelados. Independientemente de su forma los flagelados observados en vivo, no mostraron ningún cambio morfológico notable aún en el momento de desplazarse con rapidez por el

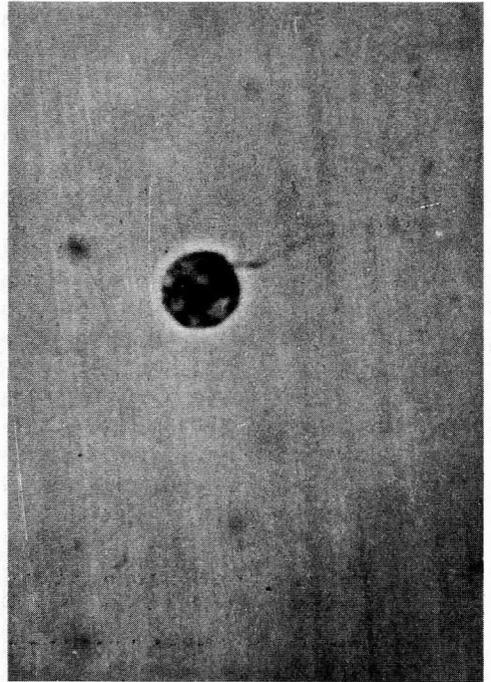


Figura No. 2: Forma flagelada de *Naegleria gruberi* con soma esférico. Rivera, A.F.

batimiento de sus flagelos. Esto sugiere que el estado flagelar constituye una forma más o menos rígida del organismo.

El flagelado rota sobre su eje longitudinal al desplazarse y su borde anterior dibuja una hélice. Se observaron individuos que aún cuando tenían todavía flagelos se fijaron al cubreobjetos y empezaron a emitir pseudópodos. Esta fase transitoria dimórfica puede darse durante la transformación y durante la reversión.

Parece ser que el flagelado bien definido, con su contorno rígido y sin citostoma, resulta incapaz de fagocitar. No se observó en ningún momento división celular durante la fase flagelar. La longitud de las células flageladas en su forma nadadora más activa varió de 8.2 a 15.7 micras.

Se hicieron pruebas citoquímicas con los trofozooides para determinar la naturaleza de



Figura No. 3: Flagelado elipsoidal de *N. gruberi*.  
Rivera, A. F.

los gránulos citoplásmicos. Ninguno de los gránulos se tiñó con la técnica de P.A.S. (ácido peryódico de Schiff), aunque el contenido de algunas vacuolas digestivas resultó ser fuertemente positivo con esta técnica. La superficie celular resultó P.A.S. positiva en la mayoría de los casos indicando la presencia de material polisacárido en ella. Con el Sudán negro muchos gránulos citoplásmicos, incluidos los perinucleares, son positivos, también lo son los perinucleolares. Con el azul de metileno y el verde de Janus se encontraron gránulos citoplásmicos positivos a estos colorantes y con el verde de metilo se tiñó intensamente el nucléolo y el contenido de algunas vacuolas digestivas.

#### Quistes:

Después de 48 horas de realizada la siembra en agar con bacterias se apreciaron no

sólo formas trofozoides sino también abundantes quistes. A medida que avanzaron los días de incubación, el número de quistes se incrementó y simultáneamente disminuyó el número de formas trofozoides.

Los quistes observados tienen una pared compuesta por dos hojas: una interna gruesa más o menos translúcida y otra externa delgada muy densa. Dentro del quiste el citoplasma exhibe esférulas densas. En muchos de los quistes más maduros pueden observarse los tapones a nivel de los poros. Después de tres días de incubación la mayoría de los quistes son completamente maduros.

Las amibas de la especie *gruberi* pueden formar quistes aislados pero es frecuente que muchos de ellos, tanto en la naturaleza como en medio de cultivo, se agrupen formando conglomerados.

El quiste de *Naegleria gruberi* tiene características que lo distinguen de otros y constituye un medio de diagnóstico fácil cuando se encuentran quistes de otros géneros. La pared quística es lisa. El quiste es generalmente esférico u ovoide, a menos que se trate de conglomerados en los cuales por razones de presión presentan el contorno deformado. La pared está constituida por una hoja interna gruesa y por una hoja externa aproximadamente con un tercio de espesor de la interna. La hoja interna suele ser translúcida aunque a veces aparece muy refrigente, mientras que la hoja externa es más densa y sólo visible a grandes aumentos. Dentro de la hoja interna se pueden observar engrosamientos distribuidos irregularmente por toda la circunferencia del quiste. Estos corresponden a los tapones que cierran los poros por donde exquista la amiba. La célula enquistada es casi siempre uninucleada. La división celular no se observa durante la fase quística y en caso de aparecer quistes con dos o tres núcleos, se trata de individuos que ya los tenían así desde la fase trofozoide. El núcleo del quiste se halla casi siempre rodeado de una monocapa granulosa. Este tipo de gránulos también puede observarse como en la fase trofozoide dentro

del citoplasma.

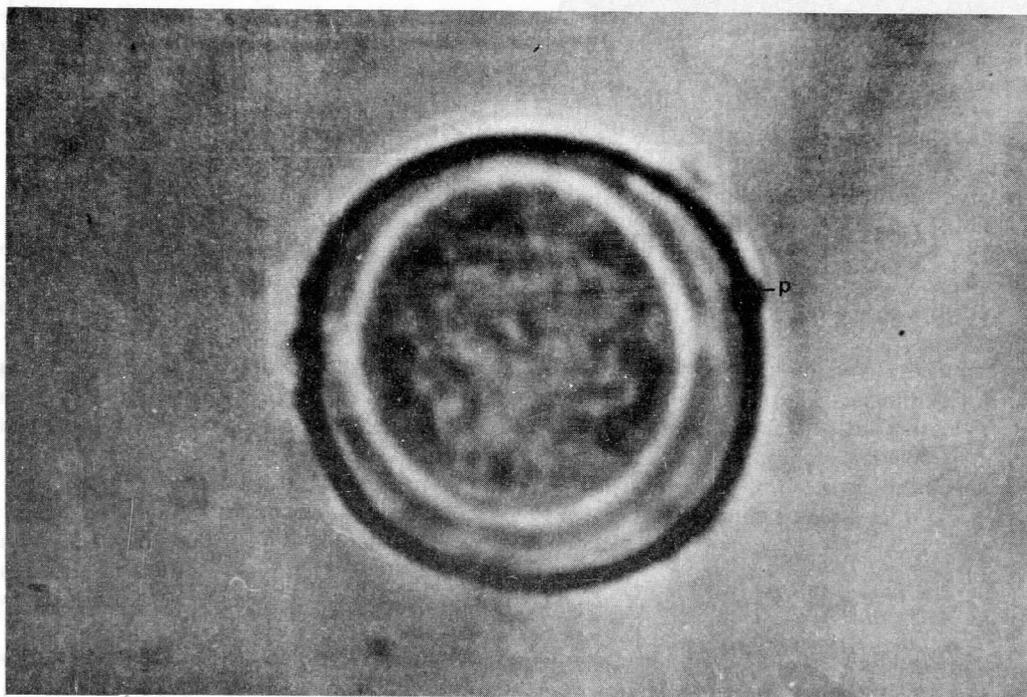
La pared gruesa y refringente así como la capa perinuclear de gránulos, hacen del quiste de *Naegleria gruberi* una estructura fácilmente identificable. El diámetro de los quistes varía de 9 a 15.6 micras. El diámetro de los núcleos del quiste varía de 2.3 a 3.6 micras, difiriendo poco del diámetro de los núcleos de la fase trofozoide. Por otra parte, el diámetro del nucléolo es siempre menor en el quiste que en el trofozoide, variando de 0.9 a 2.5 micras.

El exquistamiento se realiza fácilmente. *Naegleria gruberi* puede exquistar si se la coloca en un medio líquido, por debajo de un cubreobjetos. La célula que sale de un quiste lo hace siempre en forma ameboide. La salida se verifica a través de uno de los poros después de que los tapones se han disuelto. La amiba sale por un poro, pero a pesar de

esto se disuelven todos los tapones. Es muy probable que los tapones sean disueltos por enzimas digestivas del trofozoide que está exquisitando. Los poros vacíos pueden presentar contorno redondeado o elíptico y su diámetro siempre es menor de 1 micra.

Los estudios citoquímicos proporcionaron alguna información sobre la composición de la pared quística. Mediante el método de P.A.S., la hoja interna de la pared resultó fuertemente positiva (con gran cantidad de polisacárido), en cambio la pared externa permaneció incolora. Los tapones se tiñeron inclusive más intensamente que la pared con esta técnica, esto debido muy probablemente a su mayor contenido de polisacáridos. Por esto mismo pudieron contarse fácilmente en preparaciones teñidas con P.A.S., mostrando cada quiste de 2 a 9 tapones. Con el Sudán negro pudo demostrarse la presencia

Figura No. 4: Forma quística de *N. gruberi* teñida con tinción supravital que permite observar los poros de la pared; (p), poro de salida. Rivera, A.F.



de lípidos en la hoja interna de la pared. (fig. 4).

Los gránulos citoplásmicos de los quistes resultaron negativos al ser tratados con verde de Janus. Con el Sudán negro no se detectaron los pequeños gránulos acumulados alrededor del núcleo.

Hasta donde sabemos, no existen publicaciones que hayan referido si la respiración del animal enquistado es aerobia o anaerobia. Nosotros hemos encontrado que en los cultivos sometidos a anaerobiosis parcial, la fase trofozoide es escasa, mientras que las formas quísticas son muy abundantes.

#### Identificación:

La identidad específica de los animales estudiados parece cierta si la comparamos con la especie originalmente descrita por Schardinger en 1899, como *Amoeba gruberi*

Descripción de una especie del género

#### *Acanthamoeba*:

Clase Rhizopodea, von Siebold 1845.

Subclase Lobosia, Carpenter 1861.

Orden Amoebida, Kent 1880.

Familia Hartmannellidae, Volkonsky 1931.

Género *Acanthamoeba*, Volkonsky 1930.

Especie *astronyxis*, Ray y Hayes 1954.

#### Diagnosis.-

Durante su locomoción estas amibas son más largas que anchas y con frecuencia su longitud es tres veces mayor que su anchura. Por regla general la parte más ancha de la forma alargada corresponde al extremo anterior del animal. Su extremo anterior con frecuencia se presenta en forma irregularmente truncada, mientras que su extremo posterior es generalmente redondeado. Presentan dos tipos de pseudópodos: un lobópodo hialino y ancho extendido en el extremo anterior y poco hacia los lados, con un espesor ligeramente más delgado que la zona endoplásmica, y un grupo de proyecciones digitiformes hialinas más cortas (acantho-

dios) que se forman sobre el borde anterior del pseudópodo principal, en forma individual o agrupados en pares o tríos y que se reabsorben dentro del pseudópodo principal o pasan hacia atrás a lo largo de la superficie de la amiba. Estos acanthopodios pueden ser finos y coniformes o muchas veces, sobre todo adelante, presentarse gruesos y redondeados.

La amiba se desplaza hacia adelante por el flujo del ectoplasma del lobópodo sin que aparezca erupción brusca alguna. El animal cambia de dirección mediante la extensión de su pseudópodo anterior dirigido hacia un nuevo punto. En el extremo anterior la región ectoplásmica forma una banda ancha y su espesor es más o menos la mitad de su anchura. El extremo posterior es redondeado y mucho más estrecho que el anterior y a veces se hallan adheridos a él algunas bacterias. En ocasiones pueden observarse algunos acanthopodios en el extremo posterior.

Estos animales poseen un núcleo vesiculoso colocado generalmente en el extremo anterior de la región endoplásmica. Tienen también una vacuola pulsátil prominente que suele formarse por coalescencia de dos o más pequeñas vacuolas y que vierte su contenido por el extremo posterior. La alimentación se realiza mediante la formación de vesículas fagocíticas que presentan la forma de una copa y que se forma a los lados y atrás del animal. Las vacuolas digestivas son muy conspicuas. Pueden encontrarse con frecuencia pequeños gránulos refráctiles de color amarillento en el endoplasma.

La longitud de la amiba completamente extendida puede variar de 22.3 a 33 micras. El diámetro del núcleo va de 2.6 a 4.8 micras y el del nucléolo varía entre 0.9 y 2.8 micras.

La forma pelágica es irregularmente esférica y presenta finos acanthopodios en su superficie. No se conocen formas flagelares.

La pared del quiste está compuesta por un ectocisto y un endocisto. El primero de forma más o menos circular y con pliegues

mal definidos. El endocisto es generalmente estrellado con rayos redondeados y cónicos en uno o más planos. Los quistes son biconvexos. El ecto y el endocisto se ponen en contacto en los extremos de los rayos del endocisto. Los rayos del endocisto son por lo general numerosos. Los quistes son generalmente mononucleados y dentro de ellos no se realiza la división. El citoplasma del quiste presenta gránulos esparcidos en su periferia. El exquistamiento se realiza a través de una abertura que se forma en el punto de contacto del endocisto con el ectocisto. El diámetro de los quistes observados oscila entre 8.0 y 10.7 micras. El diámetro del núcleo del quiste mide de 4.4 a 3.8 micras y el del nucléolo varía de 0.9 a 1.8 micras.

Sabemos que la reproducción se realiza por fisión binaria mediante una mitosis común igual a la de las células eucarióticas de los metazoarios.

#### Forma trófica:

La forma trófica única es la trofozoide con acanthopodios, vacuola pulsátil prominente y vacuolas fagocíticas conspicuas (fig. 5).

La forma locomotiva es alargada y la relación longitud/anchura sobrepasa la proporción 3:1. Esta forma locomotiva puede presentarse truncada en su extremo anterior o bien redondeada, exhibiendo un lobópodo hialino en la parte anterior del animal. Con frecuencia la parte más ancha de las formas alargadas se halla inmediatamente por detrás de la zona ectoplásmica. En ocasiones, el pseudópodo anterior de desplazamiento se asemeja mucho al que se observa en las amibas de la familia Mayorellidae. Los acanthopodios de *Acanthamoeba astronyxis* pueden surgir en forma individual o en grupos de 2 ó 3. Una vez formados se desplazan hacia el extremo posterior, de modo que el contorno lateral de la amiba suele presentarse adornado con varios acanthopodios. Debe recalcar-

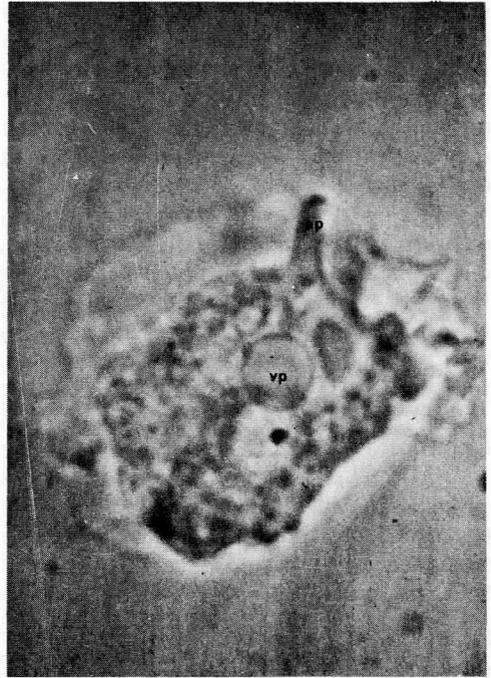


Figura No. 5: Trofozoide de *A. astronyxis* en el que puede observarse la vacuola pulsátil (vp), y los finos acanthopodios, (ap). Rivera, A.F.

se que el número de acanthopodios formado es bajo, si se compara esta especie con *Acanthamoeba castellanii* o con *Acanthamoeba polyphaga*, especies en las cuales el número de acanthopodios es mayor.

La forma locomotiva extendida tiene una longitud que varía de 22.3 a 33 micras. Cada amiba posee un solo núcleo vesiculosocolocado generalmente en el extremo anterior del endoplasma durante la locomoción. El diámetro del núcleo varía de 2.6 a 4.8 micras y el del nucléolo de 0.9 a 2.8 micras.

En estas amibas la vacuola pulsátil se forma en la mayoría de los casos por coalescencia de dos o más pequeñas vacuolas. La vacuola vacía su contenido cerca del extremo posterior. Cuando la vacuola era muy grande disminuía la velocidad de desplazamiento. El diámetro de la vacuola varió de

1.8 a 6.3 micras. Las vacuolas digestivas o fagosomas son muy aparentes en esta especie de amibas y la alimentación se verifica mediante la formación de "copas" digestivas.

Aunque es posible que los acanthopodios y el mismo lobópodo anterior puedan participar en la fagocitosis, como lo refiere Volkonsky<sup>3</sup> en 1931, el fenómeno de la fagocitosis ocurre principalmente al formarse las "copas" digestivas generalmente en las partes laterales del extremo posterior.

Pussard<sup>4</sup>, consideró a esta estructura como un verdadero aparato bucal. Aunque estas "copas" pueden formarse en el extremo anterior del animal, su posición más común se halla en las regiones postero-laterales de la célula. Dos proyecciones romas que pueden considerarse como pseudópodos cortos son proyectadas simultáneamente y muy cercanas entre sí. Cuando estas dos proyecciones alcanzan una longitud aproximadamente dos veces mayor que su anchura, empiezan a encorvarse y a dirigirse una hacia la otra. Al mismo tiempo uno puede apreciar la aparición de una hoja delgada y clara de citoplasma en un plano paralelo al del sustrato; aparentemente hay dos de estas hojas y a medida que las paredes se encorvan y se juntan, se constituye la "copa" digestiva. La estructura completa puede ser más estrecha que el extremo posterior de la amiba, pero en ocasiones es más ancha. Los lados de la copa tienden a juntarse y al hacerlo algo del líquido capturado escapa. Estas copas digestivas no siempre encierran bacterias y pueden formarse aún en ausencia completa de las mismas, por lo cual no sólo participan en la fagocitosis sino también en la pinocitosis. Este tipo de copas se forman con bastante frecuencia y rapidez, pero su contenido demora de 2 a 3 minutos antes de entrar a formar parte del endoplasma como una vacuola. Dado que las bacterias se adhieren fácilmente a las amibas, son fácilmente capturadas mediante este procedimiento.

Las amibas de esta especie, presentan con frecuencia un gran número de glóbulos pe-

queños, amarillos y refráctiles. Su aspecto sugiere que se trata de estructuras con contenido en lípidos. En ocasiones estos glóbulos pueden ser relativamente escasos.

Cuando se suspenden en medio líquido, estas amibas adquieren una forma esférica bastante regular, con presencia de finos acanthopodios en la superficie. Los diámetros de las formas pelágicas que contienen muchas vacuolas digestivas varían de 22.3 a 33 micras. No se observó transformación ameboflagelar.

Al tratarlas con la tinción de P.A.S. para polisacáridos, esta especie mostró positividad localizada en el contorno del animal. El tratamiento con Sudán negro, no reveló inclusiones grasas. En algunas partes de la superficie celular la reacción al Sudán negro fue positiva. La tinción del verde de Janus para mitocondrias, demostró un buen número de estructuras teñidas en las formas locomotivas.

#### *Quistes:*

El enquistamiento comenzó aproximadamente a las 60 hs de haber inoculado el cultivo. La amiba que se está enquistando adquiere una forma circular irregular al principio, pero se vuelve más poliédrica a medida que avanza este proceso. En un principio la superficie externa del quiste es lisa y flexible, puede apreciarse la vacuola pulsátil funcionando y el citoplasma contiene en estas primeras fases del enquistamiento, numerosos gránulos de aspecto irregular.

En estadios posteriores del enquistamiento, la superficie del quiste se torna irregular y hasta rugosa, formándose mamelones. Luego el ectocisto se separa del endocisto pero no totalmente, de manera que quedan puntos de contacto en donde se organizan los ostíolos. La vacuola pulsátil y los gránulos descritos en fases anteriores siguen presentes, pero aparecen unas nuevas esferas que son refráctiles.

El quiste maduro exhibe un citoplasma

más o menos homogéneo en el que han desaparecido las esferas, la mayoría de los gránulos orientados regularmente y que es característico de todas las amibas del género *Acanthamoeba*.

Tal parece que las esferas grandes observadas en el citoplasma durante el enquistamiento participan en la formación de la pared celular quística.

Otro hecho observado es que cuando las amibas se enquistan tienden a agruparse y formar cúmulos, esto es válido también para algunas amibas de la familia Vahlkampfiidae. Tal parece que este agrupamiento no es estrictamente necesario para enquistarse, pues se encuentran con facilidad quistes aislados. Este fenómeno de agrupamiento de los animales que se enquistan es especialmente notable en los organismos de la especie *astronyxis*. Fue en relación con esta especie que Raper<sup>5</sup>, sugirió que los quistes maduros podrían secretar una substancia que atrajera a otras amibas y que, *Acanthamoeba astronyxis* "puede presentar un tipo de conducta celular que puede considerarse transicional entre las formas estrictamente libres y las que se conglomeran para después diferenciarse de acuerdo a patrones específicos". Esta especie frecuentemente muestra afinidad física entre los quistes de modo que si uno lava la placa de agar o la deja remojar, los quistes continúan unidos formando un grupo. Este fenómeno no excluye la posibilidad de enquistamiento individual, que también se presenta. Cabe hacer notar que para algunas amibas del género *Vahlkampfia*, esta tendencia a agruparse existe en forma tan intensa como para la especie de *Acanthamoeba* descrita.

El quiste de *Acanthamoeba astronyxis* es uno de los principales criterios para clasificarla. Se trata de una forma biconvexa cuyo espesor depende de si los rayos del endocisto de forma estrellada se sitúan en uno o varios planos. El ectocisto es circular cuando todos las puntas del endocisto están en el mismo plano, y a veces cuando 1 ó 2 se encuentran

en dos planos distintos. La superficie es menos regular cuando las puntas del endocisto se localizan en diferentes planos. El aspecto ondulado del ectocisto es menos conspicuo que en otras especies de *Acanthamoeba*, de modo que el ectocisto circular presenta una superficie casi lisa alrededor de un endocisto con forma de estrella. Los rayos de esta estrella terminan en forma cónica y su contorno es más o menos triangular. Una diferencia esencial entre los quistes de *Acanthamoeba astronyxis* y *Acanthamoeba castellanii* es que las puntas de los rayos del endocisto se extienden ligeramente por encima del nivel general del ectocisto de la primera y por ello el ectocisto no es levantado en forma de cráter circular, de modo que las puntas del endocisto no se localizan en el fondo de ese cráter como sucede con *A. castellanii*, por esta razón no puede hablarse estrictamente de ostíolos, como lo mencionan Ray y Hayes<sup>6</sup>. Dado que esta organización estructural no es clara en todos los planos focales, las puntas de los rayos no siempre parecen levantarse por encima del nivel del endocisto. Si el endocisto pasa al través de un poro en el ectocisto, o si el ectocisto es levantado para formar una papila, es un problema relacionado con el hecho de que el Opérculo se componga de elementos derivados o no tanto del ectocisto como del endocisto. Vickermun<sup>7</sup>, en sus estudios con microscopio electrónico, encontró verdaderos poros en las áreas en que se unen al endocisto. Ray y Hayes (1954) reportaron que: "los picos de la estrella se ponen en contacto normalmente con el ectocisto en un mismo plano, pero esto puede variar". Aún cuando la distribución de los rayos del endocisto ocurra en varios planos, parece que el ectocisto se presenta como esencialmente redondo, aunque pueden estar presentes irregularidades en la forma de las ondulaciones.

Los diámetros de los quistes varían de 8 a 10.7 micras. Los picos de la estrella que forma el endocisto son numerosos y colocados

en un mismo plano pueden ser de 4 hasta 8. Los núcleos a veces difíciles de observar tienen diámetros que van de 4.4 a 3.8 micras, mientras que los nucléolos varían de 0.9 a 1.8 micras. No existe evidencia de división nuclear en el quiste.

Lo que primero se aprecia durante el proceso de exquistamiento es la pérdida de orientación de los gránulos citoplásmicos. Aparecen de nuevo los gránulos irregulares y comienza a funcionar la vacuola pulsátil. Se observaron uno o más opérculos dentro del citoplasma del quiste.

La tinción de P.A.S. da una reacción muy intensa del endocisto. El ectocisto es positivo con menor intensidad. El Sudán negro resultó muy positivo para el ectocisto y el endocisto fue algo positivo. Con el verde de Janus se colorearon algunos de los gránulos periféricos del citoplasma.

#### Identificación y sinonimia:

El arreglo de los picos del endocisto en uno o varios planos es uno de los criterios indiscutibles para clasificar a los animales de esta especie (Ray y Hayes, 1954). Las ilustraciones de los quistes que acompañan a la descripción de Singh de 1952, sobre *Hartmannella rhyssodes* sugiere que por lo menos una de las 4 cepas descritas por este autor es idéntica a *Acanthamoeba astronyxis*. Sin embargo, las otras cepas incluidas bajo la denominación de *Hartmannella rhyssodes* no reúnan las características de *A. astronyxis*. El nombre específico dado por Ray y Hayes debe ser considerado como válido.

Las figuras tanto del trofozoide como del quiste hechas por Nägler sobre *Amoeba albida* (1909), sugieren fuertemente que se trata de *Acanthamoeba astronyxis*. Nägler reporta promitosis en su especie, un enunciado difícil de creer dada la semejanza tan grande del quiste por él descrito y el de *Acanthamoeba*. Nägler también reporta autogamia dentro del quiste. Dada la incertidumbre de estos hallazgos dudosos, el comparar e identificar *Acanthamoeba astronyxis* con *Amoeba albida* no es posible.

#### Referencias Bibliográficas

1. Penard, E.: Faune rhizopodique du bassin du Léman-Henry Künding, Libraire de l'Institut, Genève. 1902
2. Bouee, E. C.: Morphological identification of free-living Amoebida. Proc. Iowa Acad. Sci. 60, 599-615; 1953
3. Adam, K. M. G.: A comparative study of hartwauuellid amoebae. J. Protozool. II, 423-430; 1964
4. Alexeieff, A.: Sur les caractères et la systématique des Amibes du groupe limax (*Naegleria* uou. gen. et *Hartmannia* nov. gen.) et des amibes parasites des vertébrés (*Proctamoeba* nov. gen.). Bull. de la Soc. Zool. France 37, 55-74; 1912
5. Arndt, A.: Bemerkungen über die Systematik der Amöben und über das Vorkommen extra nucleärer. Zentren bei Hartmannellen und verwandten. Formen. Verh. dtsch. zool. Ges. 26, 75-77; 1921
6. Volkonsky, M. *Hartmannella caslellanii* Douglas et classification des Hartmannelles. Arch. Zool. exp. gén. 72, 317-339; 1931
7. Jahn T. L and F. F. Jahn: How to know the Protozoa. WM C. Brown Company Publishers. 1949
8. Singh, B. N.: Nuclear division in nine species of small free-living amoebae and its bearing on the classification of the order Amoebida. Phil. Trans. Roy. Soc. London, Ser. B, 236: 405-461; 1952
9. Chatton, E.: Ordre des Amoebiens nus ou Amoebaea. In P. P. Grassé: Traité de Zoologie 1 (2), 5-91. Masson et Cie, Paris. 1953
10. Schmoller, H.: Description of some cultivated amoebae of various origin. J. Protozool II: 497-502; 1964
11. Page, F. C. Taxonomic criteria for limax amoebae, with descriptions of 3 new species of *Hartmannella* and 3 of *Vahlkampffia*. J. Protozool. 14: 499-521; 1967
12. : *Rhizamoeba polyura* n. g., n. sp. and uroidal structures as a taxonomic criterion for amoebae. Trans. Amer. Soc. 91: 502-513; 1972
13. : A further study of taxonomic criteria for "Limax" Amoebae. With descriptions of new species and a key to genera. Arch. Protistenk 116: 149-84; 1974.
14. Honigberg, B. M. (Chairman) et al: A revised classification of the phylum Protozoa. J. Protozool. II, 7-20; 1964.
15. Singh, B. U. And S. R. Das: Studies on pathogenic and non-pathogenic small free-living amoebae and the bearing of nuclear division on the classification of the order Amoebida.

- Phil. Trans. Roy. Soc. London, ser. B. 259: 435-476; 1970
- 16.- Culbertson, C. G., J. W. Smith, H. K. Cohen and J. R. Minner: Experimental infection of mice and monkeys by *Acanthamoeba*. *Am. J. Path.* 35: 185-197; 1959
  - 17.- Calkins, G. N.: Genera and species of amoeba. *Trans. 15th Intern. Congr. Hyg. Demog.* 2: 287-305; 1913
  - 18.- Neal R. A. Studies on the morphology and biology of *Entamoeba moshkousvkii* Tshalaia. *Parasitology*; 43, 253-268; 1953
  - 19.- Vahlkampf, E.: Beiträge zur Biologie und Entwicklungsgeschichte von *Amoeba limax* einschliesslich die Züchtung auf künstlichen Nährböden. *Arch. Protistenk.* 5, 167-220; 1905
  - 20.- Singh, B. N.: Classification of amoebae belonging to the order Amoebida with special reference to pathogenic free-living forms. *Curr. Sci.*, 41, 395-403; 1972
  - 21.- Pussard, M.: La cayocinèse des Amibes du genre *Acanthamoeba* (Famille des Hartmannellidae). *C. R. Acad. Sci.* 256, 2695-7; 1963
  - 22.- Pussard, M.: Comparaison morphologique de quatre souches d' *Acanthamoeba* du groupe *astronyxis commandoni*. *J. Protozool.* 19: 557, 1972
  - 23.- Pussard, M.: Modalités de la división nucléaire et taxonomie chez les amibes. Révision des notions de promitose, mésamitose et métamitose. *Protistologica* 9: 163-173; 1973
  - 24.- Baud, Ch. A. et J. C. Morard: Introduction des caractères morphologiques submicroscopiques en taxonomic. Application a' la classifications systématique des amibes. *Proc. 14th Int. Congr. Zool.* (Copenhagen) 182-3; 1953
  - 25.- Crick, F. H. C.: On protein synthesis. *Symp. Soc. Exp. Biol.* 12: 138-63, 1958
  - 26.- Adam, K. M. G.: Classification of amoebae. DNA and other criteria. *Progress in Protozool.* *erd. Int. Congr. Protozool.* (Leningrad) p. 363; 1969
  - 27.- Adam, K. M. G.: Studies on DNA of *Acanthamoeba*. *Ann. Soc. belge Méd. Trop.* 54: 387-93; 1974.
  - 28.- Sellards, A.: Immun: ty reactions with amoebae. *Philippine J. Sci.*: 281-298
  - 29.- Goldman, M. R. K. Carver and N. N. Gleason: Anantigenic analysis of *Entamoeba histolytica* by means of fluorescent antibody. II. *E. histolytica* and *E. hartmanni*. *Exptl. Parasitol.* 10, 366-88; 1960
  - 30.- Talis et al: Differentiation of *E. invadens* from *E. histolytica* by gel diffusion and immunoelectrophoresis. *Bull. Res. Council. Ispel: IOE: 110; 1962*
  - 31.- Talis B., M. La have and S. Beu-Efrim: Immunological study on some strains of *Entamoeba histolytica*. *Bull. Res. Council. Israel* 10 E: 130-6; 1963
  - 32.- Talis B.: Antigenic relationship among strains of *Entamoeba histolytica*, *Dientamoeba fogliis* and *Entamoeba invadns*. *J. Protozool.* 14 suppl.: 31; 1967
  - 33.- Talis. B.: Varying antigenicity within *E. histolytica* strains. *J. Protozool.* 18 suppl.: 35; 1971
  - 34.- Ali Khan Z. and E. Meerovitch: A comparative study of the antigens of some of the *Histolytica*-type strains of *Entamoeba*. A qualitative and quantitative evaluation of antigens by indirect hemagglutination, gel-precipitation and immunoelectrophoresis *An. J. Trop. Med. Hyg.* 17: 528-39; 1968
  - 35.- : Studies on the purification of *E. histolytica* antigens by gel-filtration. J. Some physicochemical properties of the isolated fractions. *Can. J. Microbiol.* 16: 485-92; 1970
  - 36.- Lunde, M. N. and L. S. Diamond: Studies on antigenic from axenically cultivated *Entamoeba histolytica* and *Entamoeba histolytica*-like amoebae. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 18: 1-6; 1969
  - 37.- Capron A., A. Vernes, G. Niel and M. Bouvry: Le diagnostic immunologique de l'amibiase. *Med. Chir. Digest.* I: 5-13; 1972
  - 38.- Siddiqui, W. and W. Balamuth: Serological comparison of selected parasitic and free-living amoebae in vitro using diffusion-precipitation and fluorescent-antibody technics. *J. Protozool* 13, 175-182. 1966
  - 39.- Balamuth, W. and T. Kawakami: Antigenic relationships among selected hartmannellid amoebae and amoebae-flagellates. *J. Protozool.* 14 (suppl.): 31; 1967
  - 40.- Cerva, L.: Immunological studies on Hartmannellid amoebae. *Folia Parasit.* (Praha) 14: 19-25; 1967
  - 41.- : Problems of the identify of pathogenic and free-living *Naegleria*. *Progress in Protozool* 4th Int. Cougr. Protozool. (Clermont Ferrand), 2-9 sept: 83; 1973
  - 42.- Saygi, G.: Studes on free-living amoebae. Ph. D. Thesis Liverpool. 1971
  - 43.- Willaert, E.: Elude immunotaxonomique du genre *Naegleria*. *Ann. Soc. Belge Med. Trop.* 54: 395-404; 1974
  - 44.- : Etude immunotaxonomique des Genres *Naegleria* et *Aranthamoeba*. (Protozoa: Amoebida). *Acta Zool. et Path., Antwerpian-sia* No. 65; 1976
  - 45.- Nägler, K.: Entwicklungsgeschi chtliche Studien über Amöben. *Arch. Protistenk.* 15, 1-53; 1909

# ESTUDIOS PRELIMINARES DE LA ULTRAESTRUCTURA DEL *C. RACEMOSUS*

Dr. Luis Cañedo Dorantes  
Departamento de Investigación  
Científica, D. I. F.

Biól. Margarita González del Pliego  
Departamento de Histología  
Facultad de Medicina, UNAM

## RESUMEN

Se analizó la ultraestructura de especímenes de *Cysticercus Racemosus* obtenidos de pacientes que fueron operados y que presentaban las larvas parásitas en el parénquima en los ventrículos, y en las meninges.

De los especímenes se distinguieron macroscópicamente 3 áreas atendiendo a su consistencia y a su color; un área blanda y blanquecina y otras dos de mayor consistencia, una amarillenta, otra café.

Las áreas blanquecinas de los especímenes de *C. Racemosus* se compararon ultraestructuralmente con las equivalentes de *C. Cellulosae* sin que se detectaran diferencias significativas.

Las áreas amarillenta y café exhibieron las siguientes características: presencia de vacuolas íntra y extracitoplásmicas distribuidas en todo el espesor de la pared vesicular.

También se observaron inclusiones de lípidos localizadas en la cutícula y en el citoplasma de las células almacenadas de glucógeno.

Igualmente se detectaron acúmulos de material fibrilar distribuidos intracuticularmente.

El área que mostró alteraciones estructurales más graves fue la café, y éstas varían desde una destrucción parcial del tejido en algunas zonas y la lisis celular total en otras.

Solicitud de Reimpresos :  
Biól. Margarita González del Pliego, Departamento de Histología, Facultad de Medicina, UNAM, México 20, D. F.

## SUMARY

The ultrastructure of different specimens of *Cysticercus racemosus* obtained during brain surgery in ventricular, meningeal and parenchymatous locations is compared to *Cysticercus cellulosae*.

Three different areas are distinguished regarding its color and consistency: soft and whitish and two harder areas, a yellowish and a brown one.

The whitish areas are compared to the bladder wall of *C. Cellulosae*. No significant differences are found among both structures. The yellowish and brown areas showed intra and extracytoplasmic vacuoles within the whole thickness of the bladder wall. Lipidic inclusions in the tegument and cytoplasmic processes of the glycogen storing cells was also found.

Fibrillar material was also detected within the tegument. The brown area displayed important structural changes varying from partial destruction to complete cellular lysis.

## INTRODUCCION

Es importante el estudio de la estructura de los parásitos con el fin de caracterizarlos, y aclarar algunos aspectos de la relación huésped-parásito también para la comprensión del mecanismo de la enfermedad y el empleo racional de tratamientos quirúrgicos. El mecanismo de infestación puede producirse por la presencia del parásito en el huésped, provocando una enfermedad en la cual intervienen mecanismos de defensa del huésped<sup>1</sup>, ya sean locales (físicos, bioquímicos) y generales (humorales, celulares), así como también los mecanismos de agresión del parásito (invasividad, migración y localización).

En la cisticercosis cerebral, es frecuente encontrar pacientes con parásitos en diferentes estadios de degeneración, en los que prácticamente no hay respuesta inflamatoria y las manifestaciones clínicas de la enfermedad son mínimas o inexistentes, lo cual podría implicar un estado de equilibrio entre el parásito y el huésped. Por otro lado, hay casos en los que un pequeño número de larvas, independientemente de su localización o viabilidad, generan una reacción inflamatoria muy importante con manifestaciones clínicas severas. De esta observación se infiere

que el parásito no produce reacciones iguales en los diferentes huéspedes.

Existen en la literatura reportes que describen la estructura de algunos taenidos adultos.<sup>2, 3, 4</sup> También, se han realizado estudios sobre la morfología, fisiología,<sup>5</sup> y ultraestructura en ovocitos de la *Taenia taeniae formis*<sup>6</sup>.

Se tienen además estudios sobre algunas de las formas larvarias como la larva hexacanto<sup>7</sup> y la oncosfera.<sup>9, 10</sup> Se encontraron sólo algunas publicaciones sobre la estructura del cisticerco en general con microscopía de luz,<sup>11</sup> y microscopía electrónica sobre el *C. fasciolaris*,<sup>12</sup> *C. cellulosae* y *C. bovis* realizados por Slaiss en 1970. Este último trabajo abrió nuevas interrogantes sobre la morfología del cisticerco, de tal modo que iniciamos el estudio ultraestructural del *C. racemosus*, que según algunos investigadores sería una forma larvaria del *C. cellulosae*, lo cual es aún motivo de especulación.

## MATERIAL Y METODOS:

De algunos casos de autopsia se obtuvieron larvas de lesiones meningeas, parenquimatosas y ventriculares, las cuales se procesaron

para ser analizadas histoquímicamente. Algunos fragmentos se procesaron para microscopía electrónica, fueron fijados con glutaraldehído al 2.5% en amortiguador de cacodilato de sodio 0.1M a pH 7.4, por 1 h. a 4°C; se postfijaron con tetraóxido de osmio al 1% en el mismo amortiguador por 1 h. a 4°C; se deshidrataron en alcoholes graduales y por último se incluyeron en Epón.

Para este estudio se utilizaron especímenes de *C. cellulosa* obtenidos directamente del cerdo y larvas de *C. racemosus* tomadas durante la cirugía de cerebro de diferentes pacientes. En el *C. racemosus* de cerebro humano, macroscópicamente se distinguieron tres zonas distintas en consistencia y color: un área blanca-opaca, similar a la membrana del *C. cellulosa* obtenido de cerdo y dos áreas con cierta dureza: una color amarillo y otra café. Inmediatamente después de obtenidas las vesículas, se les goteó el fijador antes mencionado y se fragmentaron. Todos los fragmentos de los cisticercos se procesaron de igual forma a la anteriormente descrita. Se hicieron cortes finos y se tiñeron con acetato de uranilo y citrato de plomo; fueron examinados con un microscopio electrónico Jeol 100B, a 80 Kv y las áreas representativas se fotografiaron.

## RESULTADOS

A excepción de los cisticercos ventriculares libres, en todos los casos se observó una cápsula limitante fibrosa formada por capilares de neoformación, fibroblastos, fibras de colágena, linfocitos y escasos macrófagos.

Se hizo un análisis comparativo entre la estructura del *C. cellulosa* y el área blanca opaca de *C. racemosus*, que no mostró aparentemente diferencias cualitativas entre las dos larvas (Fig. 1 y 2). Las otras áreas de *C. racemosus* presentan alteraciones en su estructura al microscopio electrónico. Uno de estos cambios es la presencia de vacuolas distribuidas en toda la pared, (Fig. 3, 4, 5 y 6)

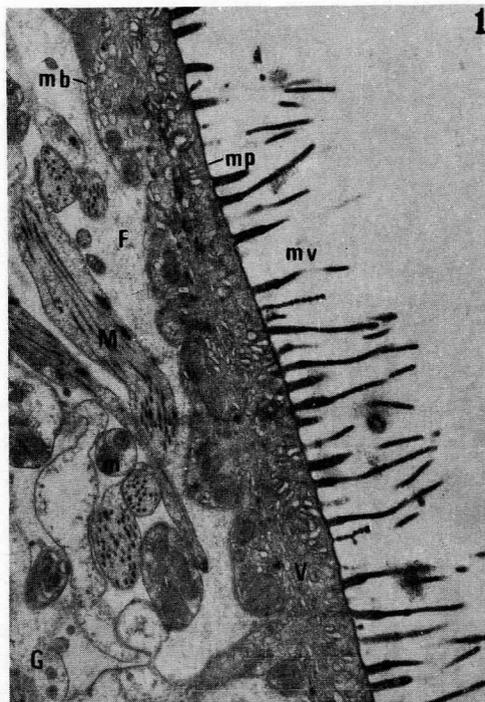


Fig. 1 Pared del *C. cellulosa* de músculo de cerdo, zona externa. (9.500 x).

algunas con material electro-denso y/o material ópticamente homogéneo, con un aspecto similar a las vacuolas de lípidos localizadas en células que contienen glucógeno (Fig. 4 y 5). En otras regiones de la pared se encontraron dentro de la cutícula acúmulos de un material aparentemente fibrilar (Fig. 6.)

La forma y distribución de las microvellosidades es perfectamente visible en la parte externa de la pared del cisticerco (Fig. 1, 2 y 7), e inmediatamente después se encuentra la cutícula, en la que se localizan gran número de vesículas dispuestas en diferentes direcciones (Fig. 1, 2, 5 y 6).

También se observaron signos de alteración de la estructura celular, como el aumento en el número de las vesículas de la cutícula y la presencia de muchas de ellas extracuticularmente (Fig. 7). En otras áreas la destrucción de los elementos tisulares es más

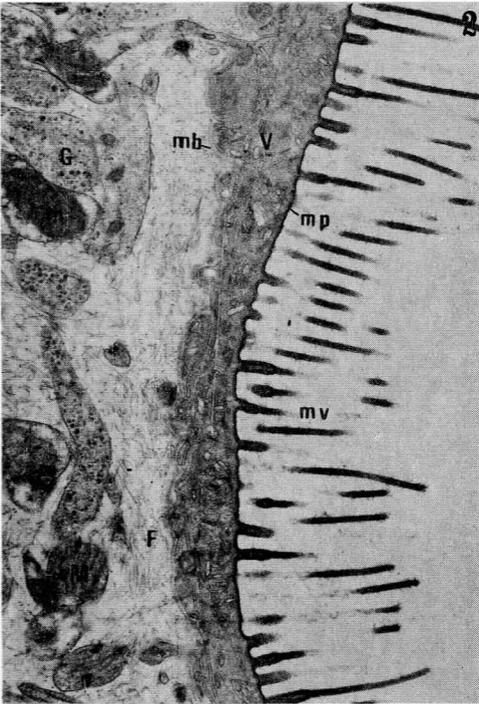


Fig. 2 Pared de *C. racemosus* de cerebro humano, área blanca opaca. (mv) microvellosidades, (mp) membrana plasmática, (V) vesículas, (mb) membrana basal, (M) músculo, (F) fibras, (m) mitocondrias, (G) glucógeno, (12,000 x).

marcada, encontrándose sólo restos de estructuras celulares, algunos núcleos, fibras y vacuolas vacías (Fig. 8), o bien destrucción total en otras áreas en las que únicamente se observa lo que correspondería a la parte externa de la pared y hacia el interior restos de membranas. (Fig. 9).

#### DISCUSION

El estudio histopatológico mostró que el tipo de reacción tisular en las lesiones depende de las características locales de los elementos adyacentes a la lesión. El estudio cuantitativo de la evolución de los procesos inflamatorio e inmunológico requiere de un modelo experimental; los cambios descritos son úti-

les para sentar las bases racionales de este estudio.

Debido a que se ha postulado al *C. racemosus* como una forma degenerativa del *C. cellulosae*, se trató de establecer alguna comparación en cuanto a su ultraestructura. Como resultado de este estudio preliminar no se encontraron diferencias cualitativas importantes entre ambos Cisticercos. Es importante hacer notar que en los parásitos obtenidos de *C. racemosus* se distinguieron diferentes áreas en la pared, de ellas el área que se comparó con la pared del *C. cellulosae* de cerdo fue la transparente ya que en las otras áreas se observaron cambios degenerativos graduales. Los cambios encontrados en *C. racemosus* indican preservación y aumento de vacuolas de lípidos y fibras extracelulares en

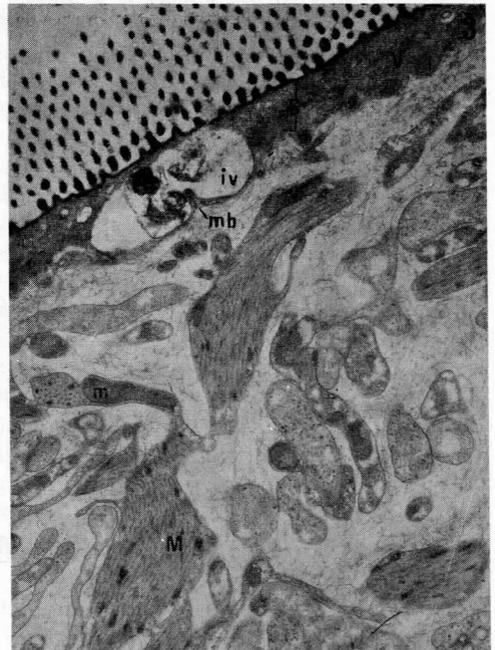


Fig. 3 Pared del *C. racemosus* cerebro humano, área transparente. (V) vesículas, (c) cutícula, (vi) vacuola intracuticular, (mb) membrana basal, (M) músculo, (m) mitocondria. (9,500 x).

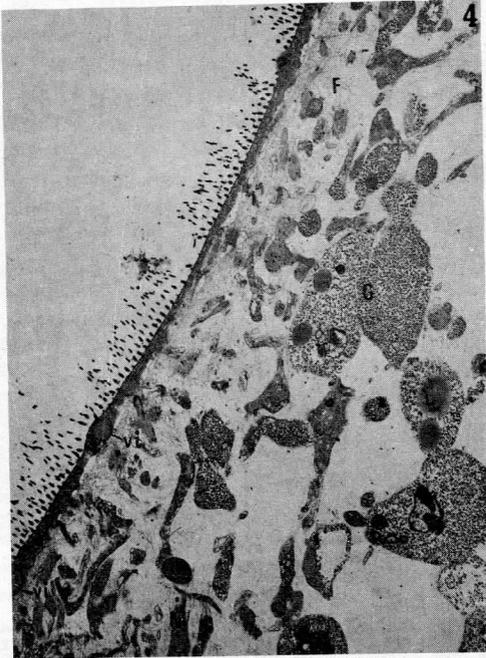


Fig. 4 Pared del *C. racemosus* cerebro humano área café. (vi) vacuolas intracuticulares, (F) fibras, (G) glucógeno, (M) músculo, (L) lípidos. (3,200 x).

estadios de degeneración muy avanzada. También aparecen vacuolas conteniendo material electrodenso y/o material ópticamente homogéneo similar a las vacuolas de lípidos. Estas observaciones se asocian a los datos reportados previamente sobre *C. cellulosa* en proceso de calcificación. Adicionalmente demostró la presencia de fibras similares a las estructuras extracelulares encontradas en larvas viables de *C. Cellulosa*.<sup>13</sup> Los datos anteriores sugieren la posibilidad de que los componentes proteicos del cisticerco estén involucrados en el proceso de calcificación.

Recientemente se ha considerado que aquellos componentes que se encuentran en menor cantidad en los tejidos calcificados podrían participar de manera importante en el inicio de la calcificación; de entre estos

compuestos, los lípidos han atraído la mayor atención. La presencia de estas moléculas en tejido mineralizado está ampliamente evidenciada,<sup>14</sup> la unión de lípidos a los iones de cristal de apatita por ligaduras coordinadas y a la matriz orgánica formando complejos lipoproteicos, se ha postulado como el mecanismo responsable de la unión entre la fase orgánica e inorgánica en los tejidos calcificados.<sup>14</sup> Aunque el estudio sobre la composición completa de lípidos del *C. cellulosa* calcificado aún no ha sido terminado, la presencia de colesterol y ácidos grasos indica que hay aumento de lípidos en el sitio de calcificación y de este hallazgo se infiere que estos compuestos probablemente estén involucrados en el proceso de calcificación. Un fenómeno común que se observó en las lesiones analizadas fue la presencia de áreas con



Fig. 5 Pared del *C. racemosus* área café, (VS) vacuola subcuticular contenido material muy electrodenso, (V) vesículas, (M) músculo, (G) glucógeno. (6,800 x).

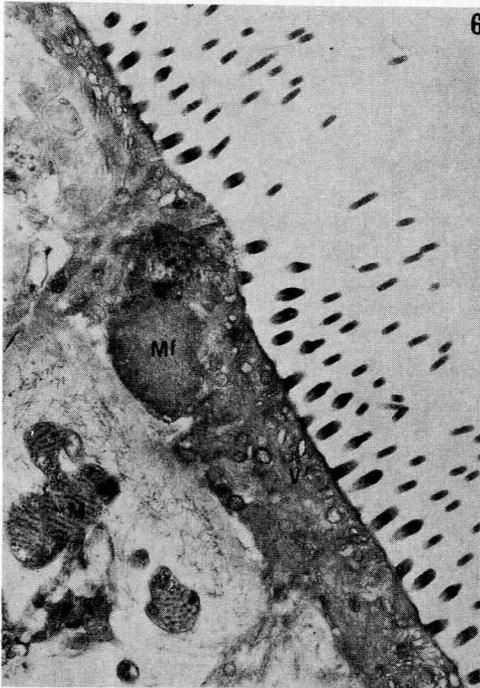


Fig. 6 Pared de *C. racemosus* área café. (MF) material fibrilar intracuticular (V) vesículas, (M) músculo. (12,000 x).

distintos grados de calcificación; existen algunos experimentos orientados a definir los cambios que ocurren durante ese proceso.<sup>1</sup> Con los datos existentes la presencia de glucosa en el cisticerco se puede asociar al glucógeno encontrado en el cisticerco; este polisacárido se observa aún en estadios avanzados de degeneración, se ignora si este compuesto proviene adicionalmente de otras moléculas.

#### BIBLIOGRAFIA

- 1 Cañedo, L.; Garrido, F. y González, M. Host-Parasite relationship of cysticerciasis in Man. Biochemistry of parasites and Host-parasite relationships. Proc. 2nd. Int. Sympon Bioch. of Parasites and Host-Parasite relationship H. Van den Bossene ed. 1976.
- 2 Lee, D. L. The structure and composition of helminth cuticle. *Advances in Parasitology* 4;

187-254, 1966.

- 3 Morseth, D. J. The fine structure of the tegument of adult *Echinococcus granulosus*, *Taenia hydatigena* and *Taenia psiformis*. *J. Parasit.* 52.; 1074-1085, 1966.
- 4 Freeman, R. S. Ontogeny of Cestodes and its bearing of their phylogeny and systematics. *Adv Advances in Parasitology* 11.; 481-557, 1973.
- 5 Silverman, P. H. Studies on the biology of some tapeworms of the Genus *Taenia*. 1. Factors affecting hatching and activation. *An Tropical Medicine & Parasitology* 48.; 207-215, 1954.
- 6 Nieland, M. L. Electron microscope observations on the egg of *Taenia taeniaeformis*. *J. of Parasitology.* 54.; 957-969, 1968.
- 7 Silverman, P. H. Studies on the biology of some tapeworms of the Genus *Taenia*. II. The morphology and development of the taeniid hexalanth embryo and its enclosing membranes, with some notes on the state of development and

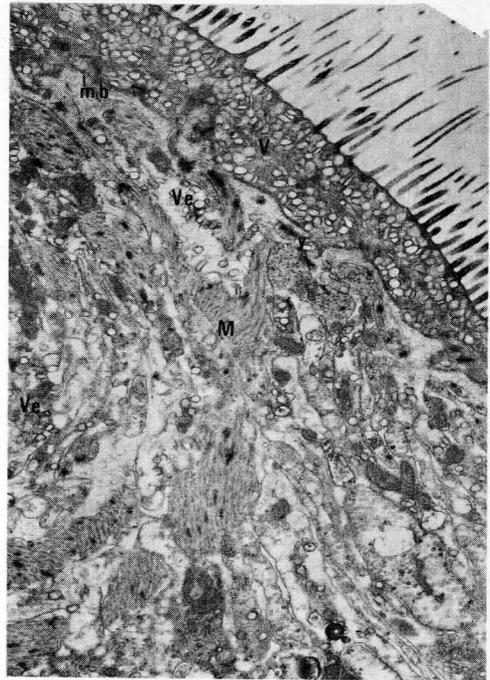


Fig. 7 Cambios degenerativos iniciales en la pared de *C. racemosus* área amarilla. (V) vesículas de la cutícula, (mb) membrana basal, (Ve) vesículas extracuticulares, (M) músculo. (,500 x).

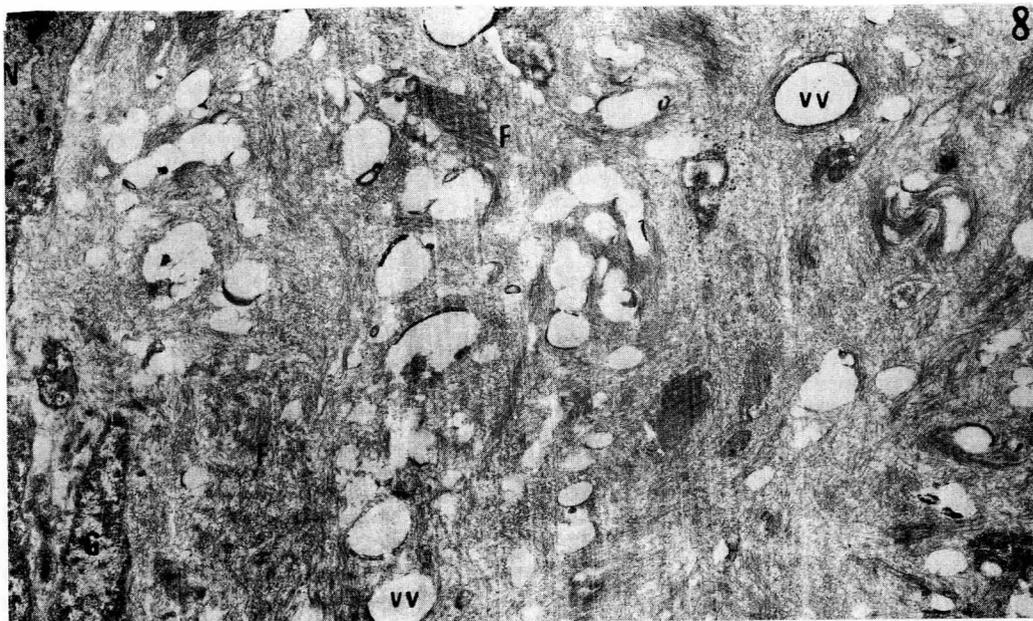


Fig. 8 Cambios degenerativos de pared de *C. racemosus* correspondientes a las áreas amarilla y café. (N) núcleo, (G) glucógeno, (F) fibras, (vv), vacuolas vacías, (M) músculo. (4,200 x).



Fig. 9 Cambios degenerativos avanzados en la pared del *C. racemosus* amarilla y café. (Ex) parte externa de la pared, (rm) restos de membranas. (3,200 x).

- propagation of gravid segments. *Annals of Tropical Medicine & Parasitology* 48,; 356-366, 1954.
- 8 Silverman, P. H.; and Maneely, R. B. Studies on the Biology of some tapeworms of the Genus taenia. III. The role of the secreting gland of the hexacanth embryo in the penetration of the intestinal mucosa of the intermediate host, and some of its histochemical reactions. *Annals of Tropical Medicine & Parasitology*, 49,; 326-330, 1955.
  - 9 Collin, W. K. Electron microscope studies of the muscle and hook systems of hatched oncospheres of *Hymenolepis Citelli* Mc Meod, 1933 (Cestoda: cyclophyllidea). *J. Of Parasitology* 54,; 74-88, 1968.
  - 10 Collin, W. K. The cellular organization of hatched oncospheres of *Hymenolepis Citelli* (Ces-  
toda: cyclophyllidea). *J. of Parasitology*. 55,; 149-166, 1969.
  - 11 Slais, Jeroslav. The morphology and pathogenicity of the bladder woerms *Cysticercus cellulosae* y *Cysticercus bovis*. pp. 144 Czechoslovak Academy of Sciences. Prague, 1970.
  - 12 Nieland, M. L. and Weinbach, E. C. The Bladder of *Cysticercus fasciolaris*: electron microscopy and carbohydrate content. *J. Parasitology* 58,; 489-496, 1968.
  - 13 Grau, E. On the calcification of *C. cellulosae*. *Third. Int. Symp. of Parasitology* 1; 396-1974.
  - 14 Shapiro, I. M. The lipids of skeletal and dental tissues: Their role in mineralization. In *Biological Mineralization* Zipkin I (ed) John Wiley 117, 1973.



# MICROSCOPIOS, S.A.

PRIMERA FABRICA DE MICROSCOPIOS EN AMERICA LATINA

PRESENTA SU LINEA DE MICROSCOPIOS

BIOLOGICOS

MONOCULARES  
BINOCULARES  
DE INVESTIGACION

CON UNA AMPLISIMA GAMA DE ACCESORIOS COMO:  
CAMPO OSCURO, CONTRASTE DE FASE, ILUMINACION  
KOEHLER, FOTOGRAFIA, ETC.

NUESTRO PROGRAMA DE FABRICACION  
ABARCA.

MICROSCOPIOS BIOLOGICOS  
MICROSCOPIOS ESTEREOSCOPICOS  
MICROSCOPIOS DE ENSEÑANZA

**MICROSCOPIOS, S.A.**

ALTA CALIDAD - SERVICIO

JUAN SANCHEZ AZCONA 524

MEXICO 12, D.F.

TELS.: 536-28-25 - 536-64-88

# **“UNA REALIDAD SUSCEPTIBLE DE ANALISIS: EL CUERPO HUMANO EN EL MICROSCOPIO” (Aspectos motivacionales en el proceso de enseñanza - Aprendizaje de la histología Médica)**

M. en C. Alberto Alejandro Mercado Coria<sup>1</sup>  
Dr. Oscar Jaime Castellón Flores<sup>2</sup>  
Dr. Hugo Carlos Mercado Coria<sup>3</sup>

Durante muchos años, la educación médica se ha realizado en forma tradicionalista. Sin embargo, dentro del contexto de las ciencias básicas, las ciencias morfológicas y de ellas la Histología Médica, ha tomado muy en serio el aspecto técnico de su enseñanza, sin perder de vista los trascendentales objetivos terminales de la carrera de Médico Cirujano.

Se ha hablado mucho de cambios y reformas a la educación, con los grandes propósitos de elevar el nivel académico del estudiante y asimismo, aumentar su interés por las materias. Todas estas transformaciones y modificaciones han provocado un mundo de problemas a la mayoría de los alumnos, ocasionándoles aburrimiento o hasta tedio por las asignaturas, a pesar del interés que tengan en el estudio de la medicina.

La motivación personal, sin duda representa un factor importante en el proceso de enseñanza-aprendizaje, pero a pesar de esto, muchos estudiantes se desilusionan al entrar en la carrera, ya que generalmente, no existe a nivel de ciencias básicas ese “algo” que los ponga en contacto con el gran campo clínico de la medicina, precisamente por el tipo de educación que se está brindando actualmente.

Existen muchos tipos de motivación, los cuales pueden lograr un dinterés auténtico, como es el caso de la imagen debidamente utilizada. Ya el célebre dramaturgo y filósofo

alemán Goethe, hizo hincapié en la imagen con su frase: “¿Qué es lo más difícil de todo? Lo que tú creyeras más sencillo: ver con los ojos lo que ante tus ojos está.” Tal es el caso de las pinturas de Goya, las cuales pueden ser vistas mas no apreciadas y valoradas por todos.

Recalcamos por consiguiente que “la imagen es un puente que garantiza la comunicación”.

Vemos entonces, que, la motivación dentro de la educación, resulta ser un parámetro trascendental a considerar. Atendiendo a ello los aspectos técnico-pedagógicos, en el proceso enseñanza-aprendizaje de la medicina, pueden ser transformados para tratar de solucionar los problemas ya mencionados. Así tenemos que en el caso concreto de la Histología Médica, desde el momento de presentar a los alumnos el manual y guía por objetivos, utilizado en la materia, los situamos frente a múltiples relaciones clínico-quirúrgicas y patológicas que la misma asignatura ofrece.

Asimismo, para evitar la confusión o desorientación que muchas veces se presenta, ubicamos al alumno dentro del programa, que se encuentra dividido en 15 módulos de enseñanza y que son impartidos en 41 sesiones a lo largo de todo el curso y cada una de ellas con objetivos terminales perfectamente establecidos, hecho que permite la precisión en la adquisición de conocimientos por parte

del alumno y la correcta situación de la información por parte de los profesores (información a dosis terapéuticas sin efectos colaterales tóxicos).

Además, hemos tratado de llamar aún más la atención del alumno, utilizando títulos más objetivos para los temas, y así tenemos que en lugar de mencionar "Tejido nervioso", empleamos la correspondiente a "Bases Histológicas de la Neurología"; en vez de usar "Tejido Cartilaginoso, Oseo y Muscular", utilizamos "Bases Histológicas de la Traumatología Músculo-Esquelética". Esto permite por consiguiente, dar al estudiante una correlación con las diversas materias clínicas a las que se enfrentará más adelante.

Sin perder de vista la utilidad que tienen las imágenes, las hemos empleado desde el momento en que se brinda al estudiante el concepto de la Histología médica, por lo tanto, éste se encuentra anclado con imágenes seleccionadas para definir la trascendencia de la materia. El microscopio en este caso, es el factor fundamental (puede ser el cadáver en la anatomía macroscópica, el feto en Embriología, algunos medicamentos en Farmacología, etc.) presentándose circundado por elementos que traducen su relación inmediata con los aspectos prácticos, motivando así entonces al alumno (e incluso al profesor de la materia) de una manera realmente importante.

Las imágenes se pueden construir de una manera sencilla, con elementos visuales adecuados a la realidad que rodea a la materia por estudiar, además, si se pide al alumno un análisis objetivo de la imagen, podemos lograr que él, al elaborar por escrito este trabajo, quede convencido por *motu proprio* de la trascendencia del curso que va a estudiar.

Conseguido todo esto, un buen comienzo, lo podemos lograr a través de una ubicación general en el tema a tratar en cada una de las diferentes sesiones, apoyado por dos factores: 1) imágenes alusivas a él y 2) una frase célebre que recalque el valor que éste representa.

También al plantear los objetivos específicos en cada sesión, un bosquejo a través de imágenes y palabras pueden representar la trascendencia del tema.

Por otra parte es importante que el estudiante realice dibujos de la micromorfología observada a través del microscopio, ya que de esta manera tendrá más oportunidad para analizar los diversos elementos estructurales que se le presentan.

Para finalizar cada una de las sesiones, el empleo de autoevaluaciones e histodiagnóstico a través de imágenes, es sin duda, una de las mejores retroalimentaciones que puedan existir.

Asimismo, establecemos antecedentes biográficos de la materia, resultando una buena medida, para permitir el reforzamiento en el área afectiva de la asignatura, ya que al conocer los aspectos humanos que participaron y participan desde su nacimiento, desarrollo y maduración, el alumno revalora en su correcta dimensión, la importancia que tiene el mecanismo creativo de la mente humana en el campo de la Medicina.

Todo esto es verdaderamente trascendental, para fines motivacionales dentro de la enseñanza de las Ciencias Básicas en general. *Los profesores no debemos perder nunca de vista* que los alumnos constituyen solamente receptores pasivos de información, sino que deben constituir elementos centrales del proceso de enseñanza-aprendizaje, de tal manera que el verbo aprender debe ser conjugado fundamentalmente por el alumno y secundado siempre por el coordinador del grupo, que en última instancia, debe ser el profesor.

Por último, no debemos olvidar que en el proceso de enseñanza-aprendizaje de la Medicina debe jugar un papel de primordial importancia la imagen, pero en la enseñanza de la Morfología, en general (macroscópica, microscópica y del desarrollo) se torna indispensable, ya que dentro de los aspectos motivacionales, el empleo de imágenes adecuadas, constituye un parámetro vital para

lograr los objetivos terminales de la materia y secundariamente los objetivos terminales de la carrera de Médico Cirujano; puntos de vista verdaderamente importantes, que justifican el nuevo enfoque en la enseñanza de la Histología Médica.

### BIBLIOGRAFIA

1 Miller, G.: Enseñanza y aprendizaje en escuelas médicas. Edit. Alfa, 1969.

2 Kauffman, E.: Planificación de sistemas educativos. Edit. Trillas, 1973.

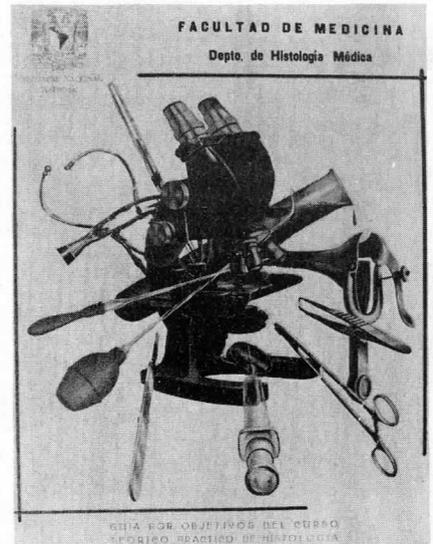
3 Larroyo, F.: Pedagogía de la enseñanza superior. Edit. U.N.A.M., 1968.

4 Friedmann, S.: Sistematización de la enseñanza. Comisión de Nuevos Métodos de Enseñanza. U.N.A.M., 1975.

1 Departamento de Histología Médica, Facultad de Medicina, U.N.A.M. y Departamento de Histología, Escuela Médico Militar.

2 Departamento de Histología Médica, Facultad de Medicina, U.N.A.M. México 20, D. F.

3 Departamento de Histología Médica, Facultad de Medicina, U.N.A.M. México 20, D. F.



1 Recalamos por consiguiente que "la imagen es un puente que garantiza la comunicación".

2 Al presentar a los alumnos, el Manual y Guía por Objetivos del Curso Teórico-Práctico, lo situamos frente a múltiples relaciones clínico-quirúrgicas y patológicas que la misma asignatura ofrece.

MÓDULO DE TRABAJOS DEL CURSO EN HISTOLOGIA MEDICA

Total de sesiones: 15. Cada módulo, tiene varias sesiones de práctica.  
 Total de sesiones=15. Cada sesión, tiene una duración de 7 horas, sumando un total de 105 horas en el semestre.

Módulo I  
 4 Sesiones "INTRODUCCION, TIPO DE MICROSCOPIO, BIOLOGIA CELULAR"

Módulo II  
 3 Sesiones "LOS 4 TEJIDOS BASICOS, LIGADO TIJULAR Y SUSTANCIAS INTERCELULARES"

Módulo III  
 5 Sesiones "BASES HISTOLOGICAS DE LA TRINATOMOLOGIA MUSCULO-ESQUELETICA"

Módulo IV  
 3 Sesiones "BASES HISTOLOGICAS DE LA NEUROLOGIA"

Módulo V  
 1 Sesión "BASES HISTOLOGICAS DE LA DERMATOLOGIA E INMUNOLOGIA"

Módulo VI  
 5 Sesiones "BASES HISTOLOGICAS DE LA CARDIOLOGIA"

Módulo VII  
 2 Sesiones "BASES HISTOLOGICAS DE LA GASTROENTEROLOGIA"

Módulo VIII  
 4 Sesiones "BASES HISTOLOGICAS DE LA NEFROLOGIA Y UROLOGIA"

Módulo IX  
 2 Sesiones "BASES HISTOLOGICAS DE LA ENDOCRINOLOGIA"

Módulo X  
 2 Sesiones "BASES HISTOLOGICAS DE LA GINECO-OBSTETICIA"

Módulo XI  
 3 Sesiones "BASES HISTOLOGICAS DE LA ANDROLOGIA"

Módulo XII  
 1 Sesión "BASES HISTOLOGICAS DE LA OTORRINOLARINGOLOGIA"

Módulo XIII  
 1 Sesión "BASES HISTOLOGICAS DE LA OFTALMOLOGIA"

Módulo XIV  
 1 Sesión "BASES HISTOLOGICAS DE LA OFTALMOLOGIA"

Módulo XV  
 1 Sesión "BASES HISTOLOGICAS DE LA OFTALMOLOGIA"

SEGUIR A LA PATOLOGIA CON BASES MORFOLOGICAS NOMINATES SOLIDAS Y A LA CLINICA Y CIENCIA CON UNA INFORMACION INTRODUCTORIA UTIL.

**UN BUEN COMIENZO**

SESION I  
 (4 SESIONES)

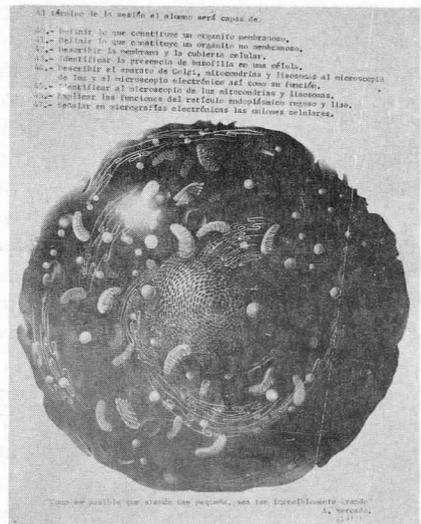
- INTRODUCCION: CONCEPTO DE HISTOLOGIA MEDICA
- TECNICA HISTOLOGICA
- EL MICROSCOPIO
- BIOLOGIA CELULAR
- APLICACIONES MEDICAS DE BIOLOGIA CELULAR

"No basta examinar hay que comprender. Logramos de atención y rapidez las cosas observadas; hacemos las cosas tanto por el corazón, como por la inteligencia" **S. Ramón y Cajal**



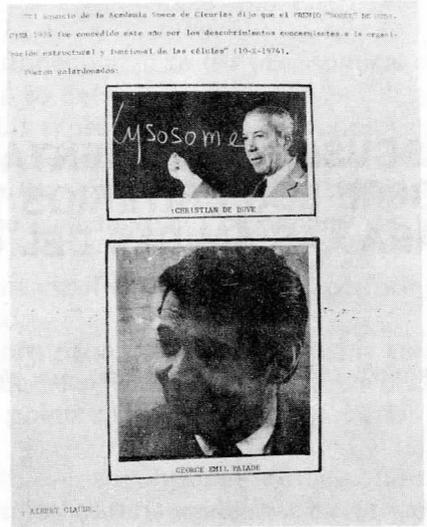
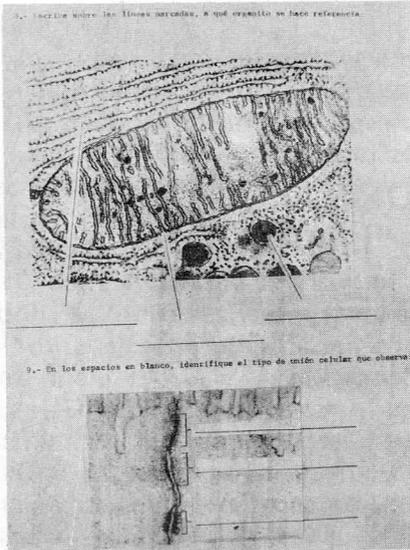
3 Ubicamos al alumno dentro del programa, que se encuentra dividido en 15 módulos de enseñanza y que son impartidos en 41 sesiones, a lo largo de todo el curso.

5 "Un Buen Comienzo", lo podemos lograr a través de una ubicación general en el tema a tratar en cada una de las diferentes sesiones, apoyado por dos factores:  
 a) imágenes alusivas a el, y  
 b) una frase célebre que recalque el valor que este representa.



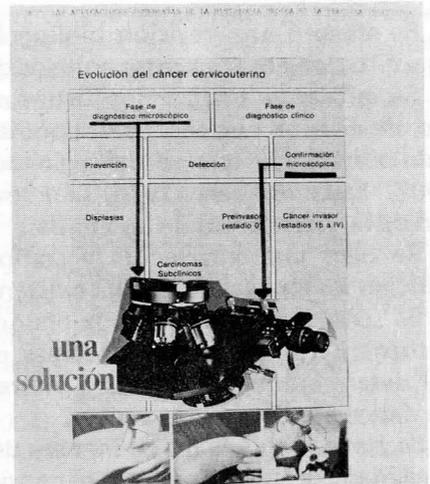
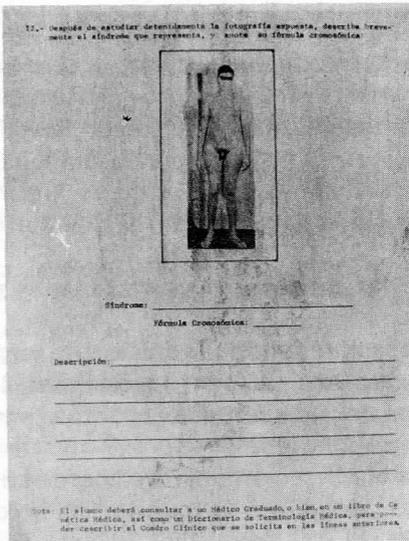
4 Sin perder de vista la utilidad que tienen las imágenes, las hemos empleado desde el momento en que se brinda al estudiante el concepto de Histología Médica.

6 Un bosquejo a través de imágenes y palabras, pueden representar la trascendencia de los objetivos específicos de cada sesión.



7 Para finalizar cada una de las sesiones, el empleo de autoevaluaciones e histodiagnósticos a través de imágenes, es sin duda, una de las mejores retroalimentaciones que puedan existir.

9 Establecemos antecedentes biográficos de la materia, resultando una buena medida, para permitir el reforzamiento en el área afectiva de la materia y dar a conocer la importancia que tiene el mecanismo creativo de la mente humana, en el amplio campo de la Medicina.



8 El alumno es enviado a consultar inclusive a médicos graduados para describir alteraciones clínicas que se manejan en forma bastante panorámica dentro del campo de la Histología Médica.

10 No debemos olvidar que el empleo de imágenes adecuadas, constituye un parámetro vital para lograr los objetivos terminales de la materia y secundariamente los objetivos terminales de la carrera de Médico Cirujano.

# DISCUSION Y COMENTARIOS SOBRE LOS CRITERIOS TAXONOMICOS PARA LAS AMIBAS DEL GRUPO "LIMAX".

*"Rien'est plus defficile en etfet que de determiner une amibe"*

*Dangeard, 1900*

*M. en C. Fermín Rivera A.  
M. C. Ma. Eugenia Paz M.*

## RESUMEN

Se efectuó una revisión bibliográfica exhaustiva sobre los criterios taxonómicos utilizados por los protozoólogos desde 1900 hasta la fecha.

Se señalan y analizan los distintos tipos de fundamentos (morfológico, fisiológico, de división nuclear, pseudopódico, quístico, nutricional y sero-inmunológico) postulados en lo que va del siglo por diversos autores, que como desde Penard (1902) hasta Willaert (1976) han contribuído en el esclarecimiento y objetivización de la Taxonomía de las amibas.

Se hace una correlación y comparación de las distintas clasificaciones y se enuncian las equivalencias que existen entre ellas.

Se señala que a pesar de la abundante información de toda índole sobre estos protozoarios, existen todavía áreas de estudio que nos ofrecen pocos datos, lo cual determina la existencia de diferentes puntos de vista en torno a cómo y por qué deben clasificarse las amibas.

Se postula que la mejor manera de lograr una clasificación objetiva acorde con la realidad, se suscita cuando se consideran todos y cada uno de los criterios taxonómicos enunciados por los distintos autores.

## SUMMARY

An exhaustive bibliographical review was done related to the taxonomical criteria used by the protozoologists since 1900 up to date.

An analysis is performed over the different types of criteria (morphological, of nuclear division, pseudopodial, cystic, nutritional and sero-immunological) proposed along this century by different authors, such as Penard (1902) and Willaert (1976) that have contributed to the clearance and objectivity on the taxonomy of amoebae.

A correlational comparison of the different clasifications has been performed and the equivalences among them are presented.

Although the information about these protozoa already obtained is abundant, there is still a huge area which has not been completely researched and because of this the existence of very diverse points of view about the matter of classification is quite understandable.

One postulates that the best way to achieve an objective classification is obtained by taking on account all the taxonomical criteria established by different authors.

## INTRODUCCION

Hacia 1900, Dangeard dijo que no había cosa más difícil de definir que una amiba. La dificultad para clasificar y distinguir entre sí las distintas especies de amibas "Limax", se debe en parte a la naturaleza misma de los organismos y en parte a las descripciones más o menos incompletas que a lo largo del siglo se han hecho acerca de ellas.

Algunos autores como Penard (1902)<sup>1</sup> y Bovee<sup>2</sup> (1953) opinan que existen características morfológicas que permiten distinguir unas amibas de otras. La realidad es que la simple identificación morfológica de estos organismos resulta insuficiente como criterio taxonómico.

Además del criterio morfológico total de la amiba, algunos autores propusieron dos criterios más para clasificar a estos organismos. Uno de los criterios fue la forma de los pseudópodos y el método de locomoción Adam<sup>3</sup>, (1964) y otro fue el patrón de división nuclear que seguía cada especie de amiba Alexeieff<sup>4</sup>, (1912).

Durante 35 años se han realizado varios intentos para dar a la taxonomía de las ami-

bas una base sólida y amplia que no descansa en un sólo criterio. Uno de los primeros intentos en este sentido fue hecho por Arndt<sup>5</sup> (1921), quien por primera vez tomó en cuenta la existencia y morfología del quiste como criterio taxonómico útil. Aportaciones en esta misma línea fueron más formalmente realizadas por Volkonsky<sup>6</sup> (1931), Jahn<sup>7</sup> (1949) y Singh<sup>8</sup> (1952). Posteriormente Chatton<sup>9</sup> (1953), fué el primero en hacer el gran intento para unificar los criterios citológicos particulares de las amibas, con los criterios de estructura de los pseudópodos y formas de locomoción. En forma más reciente Schmolter<sup>10</sup> (1964), después de realizar estudios mitóticos en diferentes grupos de amibas, demostró que el tipo de división nuclear no puede aceptarse como criterio único y suficiente para clasificarlas. Por su parte Adam<sup>3</sup> (1964), agregó como criterio taxonómico de utilidad los hallazgos serológicos diferentes para cada grupo de amibas y los de tipo nutricional igualmente variables para cada especie.

Es nuestro propósito a lo largo del presente trabajo, analizar las tres principales clasificaciones sobre las Amibas en general y las del grupo "Limax" en particular. Para ello criti-

camos y discutimos los diferentes criterios taxonómicos que se han tomado en cuenta para la elaboración de las distintas clasificaciones.

Intentamos así mismo correlacionar los enfoques aportados por los distintos autores incluyendo nuestros propios puntos de vista.

Consideramos que pese al esfuerzo realizado hasta ahora queda aún mucho por esclarecer en torno al debatido tema de la Taxonomía de las amibas del grupo "Limax".

Esperamos que este análisis arroje un poco más de luz y nos permita ubicar a este grupo de Sarcodarios.

#### Análisis Crítico y equivalencias de las Principales Clasificaciones.

Por su interés histórico y por constituir uno de los primeros intentos taxonómicos formales en torno al grupo de las pequeñas amibas de vida libre, señalamos en la Tabla No. 1 el esquema taxonómico de T. L. Jahn<sup>7</sup> (1949).

Jahn, no considera a los Géneros *Hartmannella* ni *Acanthamoeba*, ni a la Familia Hartmannellidae dentro de su esquema taxonómico. Pero por las ilustraciones que presenta en su trabajo, *Thricamoeba limax* puede corresponder al Género *Hartmannella*.

Page<sup>11, 12, 13</sup> (1967, 72 y 74), ha intentado recientemente la unificación de los enfoques citológico, pseudopódico y locomotor que definen las distintas escuelas, sin dejar de tomar en cuenta la estructura de los quistes y la transformación amebo-flagelar como criterios útiles. Los criterios taxonómicos tomados en cuenta de Page<sup>11</sup> (1967) son los siguientes:

1. Forma de locomoción
2. Forma de los pseudópodos
3. Patrón de división nuclear
4. Patrones nutricionales y serológicos
5. Forma de los quistes
6. Transformación amebo-flagelar

En la Tabla No. 2 se esquematiza la situación del Orden Amoebida, Kent 1880, siguiendo los lineamientos de la clasificación del Phylum Protozoa establecidos por Honig-

berg *et al.*<sup>14</sup> en 1964.

Otro criterio taxonómico es el considerado por Singh<sup>8</sup> (1952) y por Singh y Das<sup>15</sup> (1970) quienes dentro de su clasificación colocan a las amibas del grupo "Limax", dentro de la Clase Rhizopodea, von Siebold 1845.

Dentro del contexto enunciado por Singh<sup>8</sup> (1952) para elaborar su clasificación, existen varios hechos que conviene explicar para tener un mejor entendimiento de la taxonomía propuesta por este autor.

El descubrimiento de la amiba de vida libre, *Entamoeba moshkovskii*, por Tschalaia en Moscú (1941), que desde el punto de vista morfológico es muy semejante a *Entamoeba histolytica*, le sugirió a Singh que no justificaba la formación de una familia para incluir dentro de ella sólo a las formas parásitas. La demostración hecha por Culbertson, Smith, Cohen y Minner<sup>16</sup> (1959) y por otros investigadores de que la amiba de vida libre *Acanthamoeba castellanii* (este género se denomina *Hartmannella* dentro de la clasificación de Singh), es patógena para los ratones y los monos, determinó que Singh encontrara dificultad para decidir qué amibas deben llamarse realmente parásitas y cuáles de vida libre.

Es bien conocido que *Entamoeba histolytica*, considerada siempre como parásito obligado, pueda ser cultivada por tiempo indefinido siempre y cuando reciba el aporte bacteriano necesario, lo mismo que ocurre para las formas de vida libre. El hecho de que se vuelva invasiva bajo ciertas condiciones no muy bien esclarecidas, no justifica según Singh, la creación de la familia Entamoebidae (Calkins<sup>17</sup> 1913; Singh, 1963).

Los factores responsables de la virulencia y de la invasividad son muy poco entendidos, aún para el caso de *Entamoeba histolytica*, conocido parásito de nuestro medio. Existen cepas de *Entamoeba histolytica* aisladas de portadores sanos que no son invasivas ni para otros humanos, ni otros mamíferos (Beaver, Jung, Scherman y Robinson, 1956; Neal,<sup>18</sup> 1953; Singh, Mathew, Sharma y Sexena,

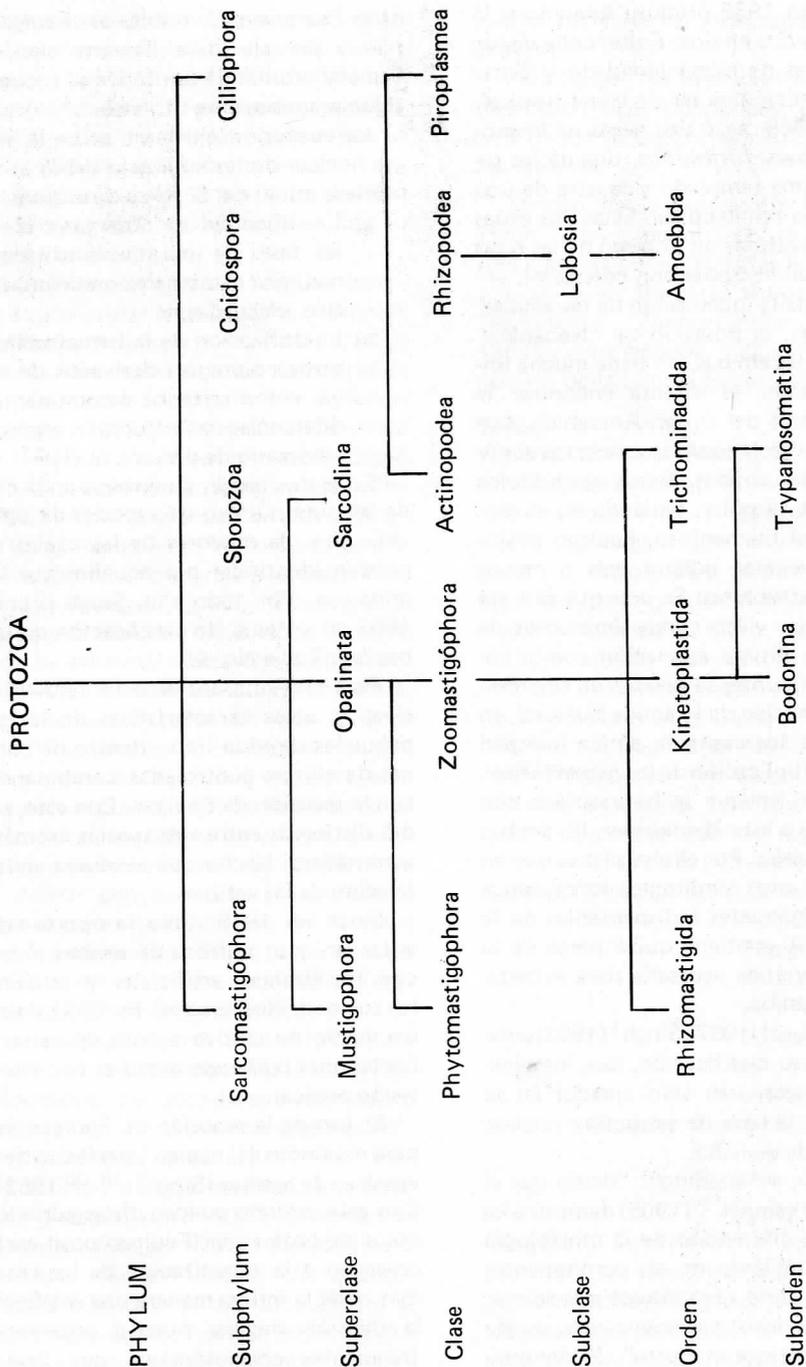


Tabla No. 2 Situación del Orden Amoebida en el Phylum Protozoa Houigberg *et al*<sup>14</sup>, 1964

1958). Dew en 1958 propuso diferenciar la especie *histolytica* en dos: *Entamoeba dispar* para las amibas de clima templado y *Entamoeba histolytica* para las de clima tropical.

Singh en 1959, aisló dos cepas no invasoras de *Entamoeba histolytica*, una de las regiones con clima templado y la otra de una zona con clima semitropical. Estas dos cepas se tornaban invasoras en el ciego de las ratas cuando eran alimentadas con colesterol, antes o después de la inoculación de las amibas.

Según Singh, la posesión de "Nebenkörper" por algunas amibas, no tiene mucha importancia cuando se intenta encontrar la historia evolutiva del Orden Amoebida. Los "Nebenkörper" son cuerpos asociados al núcleo de algunas amibas. Estos corpúsculos poseen estructura polar, teniendo en el centro un material filamentoso, Feulgen positivo y dos casquetes polares más o menos provistos de estructuras. Se cree que se trata de bacterias que viven como simbioses de las amibas, en íntima asociación con el núcleo. Estos simbioses se dividen en sincronización con el núcleo de la amiba huésped, en la mayoría de los casos, la amiba huésped controla la multiplicación de los nebenkörper.

En los casos en que se ha irradiado con luz ultravioleta a los nebenkörper, las amibas dejan de ser viables. Por ello se piensa que en muchos casos estos simbioses funcionan a veces como organoides indispensables de la amiba. Su DNA contiene quizá parte de la información genética necesaria para el metabolismo de la amiba.

Igual que Page<sup>11</sup> (1967), Singh<sup>8</sup> (1952) señala al proponer su clasificación, que los géneros y las especies, han sido creados en su mayoría sobre la base de estructura nuclear y de su forma de división.

Sin embargo, señala Singh: "desde que el trabajo de Vahlkampff<sup>9</sup> (1905) demostró las extraordinarias diferencias de la morfología y del comportamiento de los componentes nucleares, el criterio taxonómico que sólo se base en las características enunciadas, puede resultar incompleto e inexacto". El denomi-

nado "cariosoma", resulta ser Feulgen negativo y por ello debe llamarse nucléolo. La llamada cromatina periférica se encuentra en algunas amibas y en otras no.

La confusión existente sobre la morfología nuclear de las amibas se debió durante la primera mitad del S. XX a dos causas:

- a) La dificultad de observar e identificar las fases de una división nuclear normal, por carecer de condiciones de cultivo adecuadas, y
- b) La utilización de la hematoxilina y de otros colorantes derivados de la anilina, como criterios determinantes para diferenciar la estructura nuclear y el fenómeno de división nuclear.

Estas dos causas determinaron la creación de un gran número de especies de amibas de vida libre, la mayoría de las cuales sólo se pueden identificar por aquellos que las describieron. Por todo ello, Singh propuso en 1963 su sistema de clasificación de las amibas (ver Tabla No. 4).

Para ello propuso estudiar la división nuclear y otras características de las amibas pequeñas de vida libre, dentro de condiciones de cultivo controladas, combinando esto con la reacción de Feulgen. Con esto, pretendió distinguir entre sustancias cromáticas y acromáticas. Hecho que ayudaría en la clasificación de las amibas.

Singh en 1949, tuvo la oportunidad de aislar un gran número de amibas al trabajar con fertilizantes artificiales y estiércol, en los suelos de Rothamsted. En 1950, desarrolló un medio de cultivo a base de varias cepas bacterianas pudiendo estudiar con ello la división nuclear.

El uso de la reacción de Feulgen fue útil para el estudio del núcleo interfásico de nueve especies de amibas (Singh<sup>8</sup>, 18, 20 1952<sup>53,72</sup>). Con este método pueden distinguirse los gránulos de cromatina (Feulgen positivos), que preceden a la organización de los cromosomas, y de la misma manera una vez finalizada la división nuclear pueden observarse los fragmentos cormosómicos, que finalmente

aparecen como los gránulos de cromatina del típico núcleo interfásico. En concordancia con Page<sup>11</sup> (1967), Singh (1953), señaló que nucléolo (cariosoma), ni contiene cromatina Feulgen positiva, ni origina cromatina en ningún estadio de la división nuclear.

Tomando en cuenta la forma de división nuclear, Singh (1963) dividió a las amibas en dos grandes grupos.

En el primero, el nucléolo persiste durante todo el proceso de división. Este organoide intranuclear se divide en dos mitades iguales, conocidas como masas polares. Este tipo de división fue encontrada en: *Naegleria gruberi* (Schardinger 1899); *Didascalus thorntoni* (Singh 1952); *Schizopyrenus russelli* (Singh 1952); *Schizopyrenus erythaeusa* (Singh 1952); *Schizopyrenus atopus* (Singh 1952). En el núcleo interfásico de estos animales, los gránulos cercanos a la membrana nuclear son Feulgen positivos y el nucléolo no. Durante la división, los gránulos Feulgen positivos se aglutinan cerca del nucléolo, el cual a su vez, ofrece el aspecto de una clava, que finalmente se parte en dos mitades iguales. El destino de la cromatina Feulgen positiva a través de la profase, metafase, anafase y telofase puede seguirse fácilmente. Si uno se basa primordialmente en preparaciones teñidas con Hematoxilina, resulta muy difícil definir con precisión si el nucléolo participa o no en la formación del material cromático y también es difícil seguir el comportamiento del material cromático a través de todas las fases de la división nuclear.

En el segundo grupo de amibas la división mitótica es igual a la de las células eucarióticas conocidas. El nucléolo desaparece durante las primeras fases de la división y se reconstituye en los núcleos de las células hijas. Este tipo de división ha sido estudiada en: *Hartmannella glebae* (Dobell, 1914); *Hartmannella rhyodes* (Singh 1952); *Hartmannella leptocnemus* (Singh 1952); *Hartmannella agrícola* (Gooday 1916). El nucléolo se disgrega y los gránulos Feulgen positivos que lo rodeaban (organizador nucleolar) pasan a

formar parte de los cromosomas durante la división.

Para Singh, los dos tipos de división nuclear descritos proporcionaron una base lógica para dividir al Orden Amoebida en dos grandes familias.

Dentro de la taxonomía propuesta por Singh, la gran mayoría de las especies, tanto de vida libre como parásitas intestinales, pertenecen a los Géneros: *Amoeba*, *Pelomyxa*, *Leptomyxa*, *Theratromyxa* (Zwillenberg, 1953) y *Enthamoeba*; incluyendo a todos los géneros de la familia Hartmannellidae

#### TABLA 4

Familia: Schizopyrenidae, Singh 1952

Definición: El núcleo interfásico contiene un nucléolo negativo al Feulgen, que se divide durante la mitosis para formar las masas polares; pueden formarse cuerpos interzonales (parte adelgazada de la clava). Las amibas pueden tener más de un núcleo y algunos Géneros efectúan la transformación amebo-flagelar. Esta familia fue denominada así por Singh, por el Género prototipo *Schizopyrenus* y de acuerdo con las reglas internacionales de la nomenclatura zoológica.

Género: *Schizopyrenus*, Singh 1952

Nuécleo negativo al Feulgen, que se divide durante la mitosis para formar las masas polares. No efectúa la transformación amebo-flagelar.

Especies: *S. russelli*, Singh 1952

*S. erythaeusa*, Singh 1952

*S. atopus*, Singh 1952

El género *Schizopyrenus* se escoge como prototipo, ya que las amibas incluídas en él, no forman flagelos y porque las amibas que los producen son consideradas por algunos autores fuera del grupo de las amibas.

Género: *Naegleria*, Alexeieff 1912, Singh 1963

Se forman masas polares. Se encuentran presentes cuerpos interzonales negativos al Feulgen en las últimas fases de la división nuclear. Efectúan la transformación amebo-flagelar.

*N. gruberi*, Schardinger 1899. Especie tipo de este género.

*Didascalus*, Singh 1963

Se forman masas polares, sin cuerpos interzonales durante la división. Existe la transformación amebo-flagelar.

Familia: Hartmannellidae, Alexeieff 1912, Singh 1963

El núcleo interfásico tiene uno o varios nucléolos negativos al Feulgen. Durante la mitosis él o los nucléolos se dispersan en forma de huso donde los cromosomas se disponen para formar la placa ecuatorial, proceso este igual al encontrado en las células de plantas y animales superiores. Las amibas pueden ser uni o multinucleadas, y no efectúan la transformación amebo-flagelar. Esta familia toma su nombre del conocido Género *Hartmannella*.

Género: *Hartmannella*, Alexeieff 1912, Singh 1963

El núcleo interfásico contiene un sólo nucléolo negativo al Feulgen. Durante la mitosis se dispersa el nucléolo, se organiza el huso y los cromosomas se disponen para formar la placa ecuatorial. No efectúan la transforma-

ción amebo-flagelar.

*H. glebae*, Dobell 1914

*H. rhyssodes*, Singh 1952

*H. leptocnemus*, Singh 1952

*H. agrícola*, Gooday 1916, comb. Singh 1952

y tomando como característica taxonómica la división nuclear.

De todo lo anterior puede deducirse que Singh toma como criterios taxonómicos solamente tres:

1. la estructura nuclear
2. la forma de división nuclear
3. la transformación amebo-flagelar

Su clasificación de 1952, aunque lógica resulta incompleta, ya que no toma en cuenta la fase quística, los nutrimentos necesarios para cada grupo, la forma de locomoción, la forma de los pseudópodos, ni el patrón serológico de estos animales.

Posteriormente Singh y Das (1970), redefinen tomando en cuenta todos los criterios taxonómicos conocidos, la clasificación del Orden Amoebida enunciada en 1952, de la manera siguiente (Tabla 5).

#### TABLA No. 5

Familia: Schizopyrenidae, Singh 1952

Géneros: *Schizopyrenus*, Singh 1952

Especies: *S. russelli*, Singh 1952

*Naegleria*, Alexeieff 1912  
*N. aerobia*, Singh y Das 1970

*Didascalus*, Singh 1952  
*N. thorntoni*, Singh 1952

*Tetramitus*, Perty 1852  
*T. rostratus*, Perty 1852

Familia: Hartmannellidae, Volkonsky 1931  
*Hartmannella*, Alexeieff 1912

*H. glebae*, Dobell 1914

*H. rhyssodes*, Singh 1952

*H. castellanii*, Dou-

glas 1930  
*H. astronyxis*, Ray y  
Hayes 1954  
*H. palestinensis*,  
Reich 1963

Familia: Endamoebidae, Calkins 1913  
*Endamoeba*, Casagrandi y Barba-  
gallo 1895  
*E. histolytica*, Schaudin 1903  
*E. invadens*, Rodhain 1934

En esta segunda propuesta taxonómica, Singh incluye a la familia Endomobidae (Calkins,<sup>17</sup> 1913), que Page había considerado desde 1967.

Conclusiones sobre las Consideraciones Taxonómicas de las Amibas "Limax".

El grupo de las amibas "Limax" está constituido por numerosas especies repartidas dentro de diferentes Familias y Géneros. Su clasificación presente se basa esencialmente sobre sus características morfológicas, su modo de división nuclear y la forma de los pseudópodos. Por esta razón, la interpretación de su posición dentro de un sistema taxonómico difiere notablemente según los autores considerados y constituye un problema de Sistemática que reclama una solución urgente. Debe intentarse eliminar la confusión actual debida al empleo de dos o más nombres genéricos o específicos.

La mitosis ha constituido por cierto, el mecanismo más explotado por los investigadores para detectar características que permitan diferenciar las amibas. En verdad, aunque existe homogeneidad en las estructuras celulares, también es cierto que existe heterogeneidad en la forma de la división mitótica.

Sin embargo, el estudio de la mitosis resulta un criterio taxonómico insuficiente a nivel genérico y específico.

A fines del siglo pasado y a principios del presente, se produjeron muchos trabajos acerca de la mitosis, pero solamente los trabajos de Singh<sup>8</sup>,<sup>20</sup> (1952, 72) y Pussard<sup>21</sup>,<sup>22</sup>,<sup>23</sup> (1966, 72 y 73), dan un enfoque realista de

este aspecto de los diferentes grupos de amibas. El mismo Passard<sup>23</sup> (1973) señalaba las dificultades que existen al utilizar a la mitosis como criterio taxonómico.

El método de clasificación menos laborioso y así mismo menos confiable es el de distinguir a las amibas por su morfología general y por la forma de sus pseudópodos. Este método ha sido empleado por muchos investigadores, pero los resultados obtenidos con él, no satisfacen plenamente a los taxonomistas de hoy en día. A este respecto conviene recordar las admirables descripciones de Dujardin en 1841, Leidy en 1879, Penard en 1890 y 1902, Frenzel en 1892, Schaeffer 1926 y Boree en 1953, 66 y 70.

Solamente Page<sup>11</sup> y <sup>13</sup> (1967, 74) enfatiza la necesidad de emplear todas las características disponibles, ya sean citoplásmicas, nucleares, químicas o citoquímicas. Es por esto que sus trabajos son los más cercanos a la realidad. Actualmente la mayoría de los investigadores prefieren la clasificación propuesta por Page (ver Tabla No. 3).

Debe hacerse el intento de incluir dentro de los criterios taxonómicos los datos que pueden aportar las proteínas, enzimas, ADN y ARN, así como las características serológicas e inmunológicas.

Schaeffer en 1931, sugiere que las diferencias morfológicas entre las amibas, no son más que un reflejo de su organización molecular proteica. Baudy Morand<sup>24</sup> (1956), proponen que se tome en cuenta como criterio taxonómico útil, la organización proteica submicroscópica. Crick<sup>25</sup> (1958), sugirió una taxonomía de proteínas que es la expresión más fiel del Fenotipo.

Adam<sup>26</sup>,<sup>27</sup> (1969, 74), considera que tomarse en cuenta la cantidad de ADN y ARN, como criterio taxonómico útil en la distinción de las amibas emparentadas entre sí.

Sellads<sup>28</sup> (1911), encontró diferencias inmunológicas entre dos especies de pequeñas amibas que morfológicamente eran muy semejantes. Los métodos inmunológicos y serológicos han sido empleados para identifi-

cación de amibas parásitos (Goldman<sup>29</sup> 1960; Talis *et al.*<sup>30, 31, 32, 33</sup> 1962, 63, 67, 71; Ali Khan y. Meerovitche 1968, 70; Lunde y Diamond,<sup>36</sup> 1969; Caprón<sup>37</sup> *et al.* 1972).

En cambio los estudios serológicos en las amibas de vida libre han sido escasos (Siddiqui y Balamuth<sup>38</sup> 1966; Balamuth y Kawakami<sup>89</sup> 1967; Cerva<sup>40-41</sup> 1967, 73; Singh y Das<sup>15</sup> 1970; Saygi<sup>42</sup> 1971 y Willaer<sup>43, 44</sup> 1974, 76).

El progreso de la taxonomía y la filogenia de las amibas de vida libre ha sido lento, ya que las técnicas modernas han sido poco utilizadas. Corliss en 1962, acusa a los protozoólogos de estancarse siempre en el estado Alfa de la taxonomía, es decir con cien años de atraso. Las técnicas modernas entre otras los análisis bioquímicos, apenas comienzan a utilizarse y sólo recientemente se ha abordado el estudio de los parentescos serológicos e inmunológicos de las amibas (Willaert<sup>43, 44</sup> 1974, 76).

Pensamos como muchos autores que para establecer una taxonomía valiosa para las amibas, es necesario contemplar todas las características accesibles, tanto las morfológicas como las biológicas, ecológicas, bioquímicas, serológicas e inmunológicas. Ya que nuestra meta es clasificar amibas no pseudópodos ni husos mitóticos.

De las clasificaciones que han surgido sobre amibas, las dos más importantes son la de Page<sup>11</sup> 1967) y la de Singh y Das<sup>15</sup> (1970); que a su vez se basan en los trabajos realizados por Alexeieff<sup>4</sup> (1912) y Volkonsky<sup>6</sup> (1931). Alexeieff y Page se basan esencialmente en los caracteres morfológicos y citológicos de las amibas, mientras que Volkonsky y Singh y Das, enfatizan mucho sobre la forma de división del núcleo como criterio taxonómico.

Aunque estas dos clasificaciones se fundamentan sobre criterios diferentes, la distinción entre las familias Vahlkampfiidae (Schizopyrenidae) y Hartmannellidae, está esencialmente caracterizada en la forma de división nuclear.

En efecto, la Familia Vahlkampfiidae o

Schizopyrenidae muestra el tipo de división nuclear llamada Promitosis por Nägler<sup>45</sup> (1909) mientras que la Familia Hartmannellidae, exhibe la mitosis típica de los eucariontes, que ha sido diferenciada recientemente por Passard<sup>26</sup> (1973) en Mesomitosis y Matamitosis.

Coincidimos con Pussard en el sentido de denunciar la confusión y desorden existentes todavía dentro de la taxonomía de las amibas en general y de las "Limax" en particular. Pensamos que actualmente puede crearse una clasificación confiable y veraz si se consideran todos los criterios taxonómicos accesibles y si se les da a estos una jerarquización juiciosa y objetiva. Sin embargo, la célebre frase de Dangeard (1900), sigue teniendo vigencia en las postrimerías de este siglo XX; "rien n'est plus difficile en effet que de déterminer une amibe".

*Tabla 3.* Clasificación taxonómica para las amibas propuesta por Page en 1967:

Orden Amoebida, Kent 1880

Familia: Vahlkampfiidae, Jollos y Lalung Bonnaire 1912.

Género: *Vahlkampfia*, Chatton y Bonaire 1912

especies: *Vahlkampfia vahlkampfi*, Chatton 1910

*Vahlkampfia avara*, Page 1967

*Vahlkampfia inrata*, Page 1967

*Vahlkampfia jugosa*, Page 1967

*Naegleria*, Alexeieff 1912

*Naegleria gruberi*, Scharfing 1899

*Naegleria fowleri*, Carter 1970

*Tetramitus*, Perty 1852

*Tetramitus rostratus*, Perty 1852

Familia: Hartmannellidae, Volkonsky 1931

*Hartmannella*, Alexeieff 1912

*Hartmannella hyalina*, Dangeard 1900

*Hartmannella vermiformis*, Page 1967

*Hartmannella exundans*, Page 1967

*Hartmannella limacoides*, Page 1967

*Acanthamoeba*, Volkonsky 1930

*Acanthamoeba castellanii*, Douglas  
1930

*Acanthamoeba astronyxis*, Ray y  
Hayes 1954

*Acanthamoeba poliphaga*, Puschka-  
rew 1915

*Acanthamoeba palestinensis*, Reich  
1933

Familia: Endamoebidae, Calkins 1913

*Entamoeba*, Casagrandi y Barbagallo  
1895

*Entamoeba histolytica*, Schaudinn  
1903

*Entamoeba invadens*, Rodhain  
1934

Tabla 1.- Clasificación de amibas, Jahn 1949

Phylum Protozoa, Goldfuss 1818 emend von  
Siebold 1845

Subphylum Sarcodina

Clase Rhizopodea, von Siebold 1845

Orden Amoebida, Kent 1880

Familia: Dimastigamoebidae.- Formas pe-  
queñas; generalmente menores de 20 micras;  
con fase ameboide y flagelar.

Género *Naegleria* (*Dimastigamoeba*), Alexe-  
ieff 1912

especie: *N. gruberi*, Schardinger 1899

Familia: Mayorellidae, Schaeffer 1926: con  
pseudópodos cónicos o puntiformes; mate-  
rial granuloso en el endoplasma cerca de la  
base del pseudópodo; tiene uroide; locomo-  
ción por flujo protoplásmico

*Mayorella*

*M. bigemma*, Schaeffer

*M. vespertilio*, Penard

*Astramoeba*

*A. radiosa*

*Flabellula*, Schaeffer 1926

*F. rulata*

*Vahlkampfia*, Chatton y Lalung Bonnaire  
1912

*V. limax*, Kudo

*Thricamoeba*

*T. limax*

Familia Endamoebidae: dividida en cinco  
géneros en base en la estructura de su núcleo  
que es vesiculoso; la mayoría de las especies  
son parásitas intestinales forman quistes que  
se expulsan con las heces.

*Endamoeba*

*E. blattae*, Kudo

*E. histolytica*, Kudo

*E. coli*, Kudo

*E. gingivalis*

Referencias

BOVEE, E.C. (1953): Morphological identification  
of free-living Amoebida. Proc. Iowa Acad. Sci. 60,  
599-615.

ADAM, K.M.G. (1964): A comparative study of  
hartmannellid amoebae. J. Protozool. 11, 423-30.  
ARNDT, A. (1921): Bemerkungen über die Sys-  
tematik der Amöben und über das Vorkommen  
extranukleärer. Zentren bei Hartmannellen und  
verwandten. Formen. Verh. dtsch. zool. Ges. 26,  
75-7.

SINGH, B.N. (1952): Nuclear division in nine spe-  
cies of small free-living amoebae and its bearing on  
the classification of the order Amoebida. Phil.  
Trans. Roy. Soc., London ser. B, 236, 405-61.

CHATTON, E (1953): Ordre des Amoebiens nus  
ou Amoebaea. In P. P. Grassé: Traité de Zoologie  
1 (2), 5-91, Masson et Cie, Paris.

SCHMOLLER, H. (1964): Description of some  
cultivated amoebae of various origin. J. Protozool.  
11: 497-502.

PAGE, F. (1967): Taxonomic criteria for limax  
amoebae with description of 3 new species of Hart-  
mannella and 3 of Vahlkampfia. J. Protozool. 14:  
499-521.

(1974): A further study of taxonomic  
criteria for "Limax" Amoebae. With descriptions  
of new species and a key to genera. Arch. Protis-  
tenk 116: 149-84.

SINGH, B.N. and S.R. Das (1970): Studies on  
pathogenic and non pathogenic small free-living  
amoebae and the bearing of nuclear division on the  
classification of the order Amoebida. Phil. Trans.  
Roy. Soc. Dond. 250: 435-76.

CULBERTSON C.G., J. Smith, H. Cohen y J.  
Minner (1959): Experimental infection of mice  
and monkeys by *Acanthamoeba*. Amer. J. Path.  
35: 185-7.

DOBELL, C. (1914): Cytological studies on three  
species of Amoeba. A. lacertae, Hartmann, A. gle-  
bae n. sp., A. fluvialis n. sp. Arch. Protistenk 34:  
138-89.

PUSSARD, M.C. (1972): Comparaison morphologique de quatre souches d'*Acanthamoeba* du groupe *astronyxis commandoni*. J. Protozool. 19: 557.

(1973): Modalités de la division nucléaire et taxonomie chez les amibes. Révision des notions de promitose, mésamitose et métamitose. Protistologica 9: 163-73.

FRENZEL, J. (1892): Untersuchungen über die Mikroskopische Fauna Argentiniens I & II Abt. Die Rhizopoden und Helioamoben. Bibliotheca Zool. 12: 1-114.

BAUD CH. A., J. C. Norard (1953): Introduction des caractères morphologiques submicroscopiques en taxonomie. Application à la classification systématique des amibes. Proc. 14th Int. Congr. Zool. (Copenhagen) 182-3.

ADAM, K.M.G. (1969): Classification of amoebae. DNA and other criteria. Progress in Protozool., 3rd Int. Congr. Protozool. (Leningrad) p. 363.

(1974): Studies on DNA of *Acanthamoeba*. Ann. Soc. Belge Néd. Trop. 54: 387-93.

CRICK, F.H.C. (1958): On protein synthesis. Symp. Soc. Exp. Biol. 12: 138-63.

GOLDMAN, M. (1960): Antigenic analysis of *Entamoeba histolytica* by means of fluorescent anti-

body. I. Instrumentation for microfluorimetry of stained amoebae. Exptl. Parasit. 9: 25-36.

TALIS B., M. Lahav and S. Beu-Efrim (1963): Immunological study on some strains of *Entamoeba histolytica*. Bull. Res. Council. Israel 10 E: 130-6.

ALI KHAN Z. AND E. Meerovitch (1968): A comparative study of the antigens of some of the *Histolytica*-type strains of *Entamoeba*. A qualitative and quantitative evaluation of antigens by indirect hemagglutination, gel-precipitation and immunoelectrophoresis. Am. J. Trop. Med. Hyg. 17: 52-8-39.

(1970): Studies on the purification of *E. histolytica* antigens by gel-filtration. I. Some physicochemical properties of the isolated fractions. Can. J. Microbiol. 16: 485-92.

LUNDE, M.N. and L.S. Diamond (1969): Studies on antigenic from axenically cultivated *Entamoeba histolytica* and *Entamoeba histolytica*-like amoebae. Am. J. Trop. Med. Hyg. 18: 1-6.

CAPRON A., A. Vernes, G. Niel and M. Bouvry (1972): Le diagnostic immunologique de l'amibiase. Med. Chir. Digest. 1: 5-13.

SIDDQUI, W. and W. Balamuth (1965): Serological compari Grell, 73.