



**Universidad Nacional Autónoma de México**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES**

**“CUAUTITLAN”**

**EFFECTO DE LAS DIFERENTES CONCENTRACIONES DE  
SUERO DE BOVINO EN EL MEDIO DE CULTIVO  
TYIS-33, EN EL CULTIVO DE Entamoeba histolytica  
CEPA HM-1 IMSS.**

**T E S I S**

**QUE PARA OBTENER EL TITULO DE  
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO**

**P R E S E N T A**

**SALVADOR HERNANDEZ GOMEZ**

**Director de la Tesis: Q. B. P. IRMA GOMEZ REYES**

**CUAUTITLAN IZCALLI, EDO. DE MEXICO**

**1985**



## **UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso**

### **DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## INDICE

INTRODUCCION.....	1
GENERALIDADES.....	2
OBJETIVO.....	7
MATERIAL Y METODOS.....	8
RESULTADOS Y DISCUSION...	11
CONCLUSIONES.....	24
BIBLIOGRAFIA.....	25

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

Una de las enfermedades que en nuestro país presenta un índice elevado de mortalidad y morbilidad es la amibiasis, causada por Entamoeba histolytica.

Es una enfermedad de tipo endémico, favorecida cuando hay factores socioeconómicos bajos, clima semitropical y tropical. Es más común en la gente que vive en condiciones precarias de higiene y en hombres de 20 a 50 años, en plena productividad.

En nuestro país, el absceso hepático amibiano es una de las principales causas de mortalidad, en donde ocupa el cuarto lugar, además de que predispone a adquirir otros padecimientos. México es una de las cuatro o cinco áreas geográficas con mayor proporción de casos de absceso hepático amibiano en el mundo.

En México se fundó en 1967 el Centro de Estudios sobre Amibiasis bajo la coordinación del Dr. Bernardo Sepúlveda, cuyos objetivos son el estudio del agente patógeno y su enfermedad.

Entre los logros de mayor importancia del Centro de Estudios sobre Amibiasis, está el descenso de la mortalidad del absceso hepático amibiano del 25 al 2 por ciento, en los centros que cuentan con los recursos humanos y materiales adecuados(18).

Para lograr la prevención de la amibiasis, se está tratando de elaborar una vacuna, para la cual se requiere de una gran cantidad de amibas cultivadas axénicamente, parte de las cuales se producen en el Departamento de Investigación, de la Gerencia General de Biológicos y Reactivos, de la Secretaría de Salud.

Dentro de los objetivos del Departamento de Investigación, está el de mejorar la producción de Entamoeba histolytica, a lo cual contribuye este trabajo de tesis.

## GENERALIDADES

Según Faust, E. C. y De la Torre, M., Cuttler cultivó por primera vez Entamoeba histolytica en 1918 (1,2). Bosak y Drbohlav en 1925, desarrollaron el primer método de cultivo reproducible para Entamoeba histolytica. Este medio fue difásico, formado por una base de huevo en tubo inclinado, a la que se agrega solución salina isotónica como sobrenadante. Balamuth en 1946, desarrolló el primer medio de cultivo monofásico. El primer cultivo monoxénico (mono-cuño, xenos-extraño) lo realizó Jacobs en 1947. Shaffer y colaboradores el 1949, idearon un medio de cultivo casi axénico. En estos medios de cultivo es necesario incluir otros microorganismos para que las amibas crezcan y se multipliquen. En 1950 Phillips y Chia Tsun Pan en 1950, informaron otros procedimientos para el cultivo de protozoarios con Trypanosoma cruzi y Leishmania sp.

El primer cultivo axénico (mono, xenos-extraño) de Entamoeba histolytica fue realizado con éxito por Diamond en 1961 (4), era un medio difásico consistente en agar nutritivo cubierto con un caldo diluido, complementado por cubrión de pollo fresco, hervido, libre de células y una mezcla de vitaminas. Se agregó una pequeña cantidad de agar en el sobrenadante para ayudar a mantener un potencial redox bajo. Debido a su naturaleza difásica, la preparación fue laboriosa, tardada y, por ello muy incómodo de usar. Además, el rendimiento fue relativamente bajo, inoculos de  $10^3$  organismos/ml de sobrenadante, -- crecieron tres o cuatro veces a las 72 horas de incubación. Sólo una de cuatro copias de Entamoeba histolytica pudo ser axenizada y mantenida en subcultivos seriados. Por lo tanto, el medio fue de poco valor práctico. Sirvió principalmente para probar que Entamoeba histolytica puede vivir y multiplicarse indefinidamente en ausencia de microorga-

nismos.

El primer gran paso en el cultivo axénico, resultó al sustituir el extracto de levadura usado en el medio inicial por un digerido de hígado de buey, llamado Panmede (5). Los rendimientos se incrementaron sustancialmente. Se requirió de extracto de embrión de pollo para la axenización, pero no para el mantenimiento de la ameba en el cultivo. La introducción del Panmede hizo posible el desarrollo de un medio líquido, el medio TP-S-1, el cual se caracterizó por su claridad, facilidad de preparación y la ausencia de partículas de materia densa. Las amebas cosechadas no tenían las partículas de agar presentes en el medio difusivo y se podían contar con equipo automático. Los cultivos en masa bajo condiciones axénicas se hicieron posibles con este medio.

La fórmula del medio TP-S-1 es la siguiente:

Caldo TP	
Ingredientes	Cantidades/100 ml
Tripticase	1000 mg
Panmede	2000 mg
Glucosa	500 mg
NaCl	500 mg
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	60 mg
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	100 mg
L-Cisteína HCl	100 mg
Ácido Ascórbico	20 mg
Ajustar pH a 7.0 con NaOH	
Esterilizar en autoclave	
Suero de Bovino (inactivado)	10.0 ml*
Mezcla de Vitaminas NCTC 107	2.5 ml
pH final del medio 6.8	
*15 a 20 ml para algunas cepas.	

Mezcla de Vitaminas NCTC 107	
Ingredientes:	ug/2.5 ml
Acido p-Aminobenzóico	83.2
d-Biotina	16.5
Pantotenato de Calcio	16.5
Cloruro de Colina	832.0
Acido Fólico	16.5
l-Imositol	83.2
Niacina	41.5
Niacinamida	41.5
Hidrocioruro de Piridoxal	41.5
Hidrocioruro de Piridoxina	41.5
Riboflavina	16.5
Hidrocioruro de Tiamina	16.5
Calciferol (D <sub>2</sub> )	165.0
Bisulfito de Sodio Menadiona (K)	33.3
Acetato de alfa-Tocoferol (E)	16.5
Vitamina A, alcohol cristalino; retinol	165.0

El cultivo axénico de Entamoeba histolytica alcanzó la etapa --- práctica. Las amibas axénizadas se usaron inmediatamente como una --- fuente de antígenos de diagnóstico altamente sensibles y específicos (10), para investigaciones inmunológicas (11,17), estudios bioquímicos (13,16), biológicos a nivel molecular (14), biológicos (15), patológicos (19), así como el estudio in vitro de las drogas amebicidas - (6).

Al simplificar el proceso de subcultivo, eliminando un paso de centrifugación, los rendimientos de amibas se duplicaron y, cambiando del suero de caballo al suero de bovino se obtuvo un crecimiento más confiable y uniforme. Incrementando las concentraciones de suero de - 10% v/v a 15% v/v, y en un caso a 25% v/v, se axénizaron cepas previamente refractarias (8).

Se observó que el Panmede variaba ampliamente de lote a lote en su capacidad para soportar el crecimiento amibiano. Algunos lotes no tenían ningún crecimiento. Esto provocó que se investigara para encontrar un sustituto del Panmede, con lo cual se encontró un nuevo medio,

el TYI-S-33 (7), el cual fue superior al TP-S-1 en varios aspectos: - se requerían pequeños inoculos para mantener un cultivo, el crecimiento celular resultó más homogéneo, los rendimientos se incrementaron - muchas veces, los tiempos de generación se redujeron a aproximadamente ocho horas, y las amibas permanecieron viables por un período más largo en la fase estacionaria.

La fórmula para el medio TYI-S-33 es la siguiente:

Caldo TYI*	
Ingredientes:	Cantidades/100 ml
Tripticasa	2000.00 mg
Extracto de Levadura	1000.00 mg
Glucosa	1000.00 mg
NaCl	200.00 mg
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	60.00 mg
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	100.00 mg
L-Cisteína HCl	100.00 mg
Ácido Ascórbico	20.00 mg
Citrato Férrico Amónico	2.28 mg
Ajustar el pH a 6.8 con NaOH	
Esterilizar en autoclave	
Suero de Bovino (inactivado)	10.00 ml**
Mezcla de Vitaminas-Tween 80	3.00 ml
*El caldo BI para el medio BI-S-33 se preparó al sustituir 3 g de Biosate por la Tripticasa y el Extracto de Levadura.	
**Se requieren de 15 a 20 ml para algunas cepas.	

Mezcla de Vitaminas-Tween 80	
Soluciones concentradas:	
a) Mezcla de Vitaminas NCTC 107.	
b) Vitamina B <sub>12</sub> , 40 mg disueltos en agua, e.b.p. 100 ml.	
c) D-L 6,8, Ácido Tioctico (oxidado), 100 mg disueltos - en etanol, e.b.p. 100 ml.	
d) Tween 80, 50 g disueltos en etanol, e.b.p. 100 ml.	
Soluciones de trabajo:	
A 1000 ml de (a), agregar 12 ml de (b), 4 ml de (c), --- 4 ml de (d) y 18 ml de agua.	

Las cepas de Entamoeba histolytica, presentan una gran variedad de requerimientos nutricionales, entre ellos el tipo de suero (caballo o bovino) y su concentración. Se sabe por ejemplo, que la cepa --HK-9, crece a una concentración de 10% v/v de suero de caballo (3); - la cepa HM-1 IMSS (ABRM), en cultivos mixtos y monoaxénicos crecieron con 5% v/v de suero de caballo en el medio de cultivo Amiba-Trypamo--soma de Diamond, en 1963; y en el medio monofásico axénico de Dia---mond, 1968, crecieron con suero de caballo al 10% v/v (2).

La cepa de Entamoeba histolytica HM-1 IMSS, crece en el medio axénico TYI-S-33 con una concentración de suero de bovino del 15% v/v (9,16).

## O B J E T I V O

El objetivo del presente trabajo de tesis, fue el de observar si hay diferencia estadística en el rendimiento de Entamoeba histolytica cepa HM-1 IMSS, en el medio de cultivo TYI-S-33 al disminuir las concentraciones del suero de bovino. En forma paralela se llevó a cabo un análisis del costo de producción.

## M A T E R I A L Y M E T O D O S

Las cantidades de reactivos empleados en las tres concentraciones de suero a probar, las cuales aparecen en el cuadro 1, se pesaron y mezclaron en un vaso Nalgene de 4 litros, con agua bidestilada Eleg tropura, desionizada.

La solución se repartió a partes iguales en tres frascos de vidrio Pyrex de 4 litros, los cuales se aforaron con la cantidad de agua necesaria para cada concentración. Se ajustó el pH a 6.8 con NaOH 0.1 N. Este medio base se esterilizó en autoclave a 121°C, 15 lbs., durante 15 minutos. Se llevó el medio al cuarto estufa, a 35°C durante 24 horas, para comprobar su esterilidad. Se guardó en refrigeración hasta su envase cuatro días después. Se completó el medio agregándole la mezcla de vitaminas Diamond Vitamin Solution Tween 80 Mixture (North American Biologicals) y el suero de bovino de Biofluids, Inc., a cada frasco de 4 litros. Se envasó en 30 botellas de cultivo de tejidos Corning # 25120 o Costar # 3150 de 150 cm<sup>2</sup>, a las cuales se les agregó 400 ml de medio completo como volumen de operación. Se tomaron muestras del medio completo para hacerles prueba de esterilidad en gelosa sangre y BHI. El medio se refrigeró hasta el momento de su inoculación tres días después. El medio de cultivo no se utilizó después de diez días de iniciada su preparación.

El inóculo empleado fue de 48 horas de edad y de 15,000 amibas por ml.

Las botellas inoculadas se incubaron acostadas en una estufa con chaqueta de agua, National Weinieke Company, a 35.5°C±0.5°C. Se hicieron las lecturas a las 48 y 72 horas de cultivo, empleando 5 botellas de cada concentración a las 48 horas y las otras 5 botellas a --

C U A D R O 1			
	Concentración de Suero de Bovino		
	5%	10%	15%
Reactivos:	C a n t i d a d e s		
Buffer de Fosfatos*		80.00 ml	
Extracto de Levadura		40.00 g	
Triptinasa		80.00 g	
Glucosa		40.00 g	
NaCl		8.00 g	
L-Cisteína		4.00 g	
Acido Ascórbico		0.80 g	
Citrato Férrico Amónico (5x)**		8.00 ml	
Agua bidestilada y desionizada e.b.p.	3680.00 ml	3480.00 ml	3280.00 ml
Vitaminas	120.00 ml	120.00 ml	120.00 ml
Suero de Bovino	200.00 ml	400.00 ml	600.00 ml
<b>TOTAL</b>	<b>4000.00 ml</b>	<b>4000.00 ml</b>	<b>4000.00 ml</b>

## \*Buffer de Fosfatos:

K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	50.00 g
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	30.00 g
Agua Bidestilada e.b.p.	1000.00 ml

Se guarda en refrigeración.

**Citrato Férrico Amónico	273.60 mg
Agua bidestilada e.b.p.	24.00 ml

Debe prepararse cada vez que se usa.

las 72 horas de cultivo. Se revisaron las botellas con la ayuda de un microscopio compuesto invertido Olympus, para ver la forma, tamaño y movilidad de las amibas. A continuación se colocaron las botellas en un baño de hielo durante 5 minutos, para provocar que se desprendieran las amibas de las paredes de las botellas. Las muestras tomadas se colocaron en una cámara cuantaglóbulos Neubauer Brightline Lumi---cyte. Las lecturas se hicieron por duplicado para cada una de las bo-

tellas, con la ayuda de un microscopio compuesto Carl Zeiss.

El cálculo de amibas por ml se realizó de la siguiente manera:

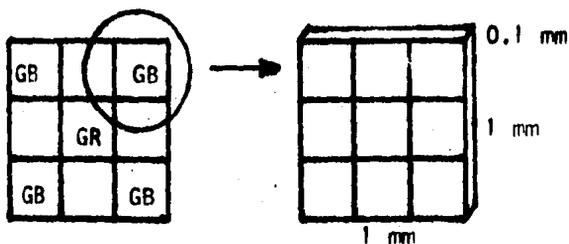
a) Las amibas se contaron en los cuatro cuadros destinados a los glóbulos blancos.

b) Las amibas contadas estaban contenidas en el siguiente volumen: 1 mm (largo) x 1 mm (ancho) x 0.1 mm (profundidad) =  $0.1 \text{ mm}^3$ . -- Este volumen se multiplicó por 4, el cual es el número de cuadros contados, lo que nos dió un volumen total de  $0.4 \text{ mm}^3$ .

c) Por lo tanto, fue necesario multiplicar el número de amibas contadas en  $0.4 \text{ mm}^3$ , por el factor de 2,500 para tener el resultado en número de amibas por ml.

d) Los datos de las 5 botellas se promediaron, para obtener el número de amibas por ml del lote.

Los datos obtenidos con los once lotes estudiados se trataron -- estadísticamente, comparando las medias de las distribuciones y aplicando la prueba de t student, para un nivel de significancia del 5% - (12).



## RESULTADOS Y DISCUSION

En el cuadro 2, se observa el rendimiento de cada uno de los lotes de Entamoeba histolytica cepa EM-1 IMSS a las 48 horas de cultivo. Se apreció que el crecimiento con el suero de bovino a la concentración de 5%, es menor al obtenido con las concentraciones de suero de bovino de 10% y 15%, los cuales no tienen una diferencia apreciable en sus valores medios.

En la figura 1, se aprecia gráficamente el comportamiento individual de los lotes. Se observó a las 48 horas de cultivo que las curvas de las concentraciones de suero de bovino al 10% y 15% fueron -- muy similares, a diferencia de la curva de la concentración de suero de bovino al 5%, la cual se separó significativamente de las anteriores.

En la figura 2, tenemos el rendimiento promedio de los lotes, -- donde podemos apreciar que los rendimientos con las concentraciones de suero de bovino al 10% y 15% son casi el doble de rendimiento, -- comparándoles con la concentración de suero de bovino al 5%

**RENDIMIENTO DE LOTES DE Entamoeba histolytica CEPA HM1 IMSS  
CON DIFERENTES CONCENTRACIONES DE SUERO DE BOVINO A LAS 48  
HORAS DE CULTIVO.**

No. de LOTE	CONCENTRACION DE SUERO		
	5%	10%	15%
1	77 000	130 250	99 500
2	60 250	117 250	96 000
3	89 000	141 500	160 000
4	70 000	149 750	163 750
5	101 500	143 333	154 500
6	109 250	169 500	197 000
7	62 000	114 500	168 750
8	31 250	63 750	81 666
9	74 000	127 832	120 250
10	72 500	74 062	64 889
11	25 546	75 300	67 635
$\Sigma$			
$\bar{X}$ (amb/ml)	772 296	1 306 632	1 373 930
Máximo	70 209	118 784	124 902
Mínimo	109 250	169 500	197 000
	25 546	63 750	64 889

C U A D R O 2

RENDIMIENTO DE LOTES DE Entamoeba histolytica -  
 CEPA HM1-IMSS CON DIFERENTES CONCENTRACIONES DE  
 SUERO DE BOVINO A LAS 48 HORAS DE CULTIVO.

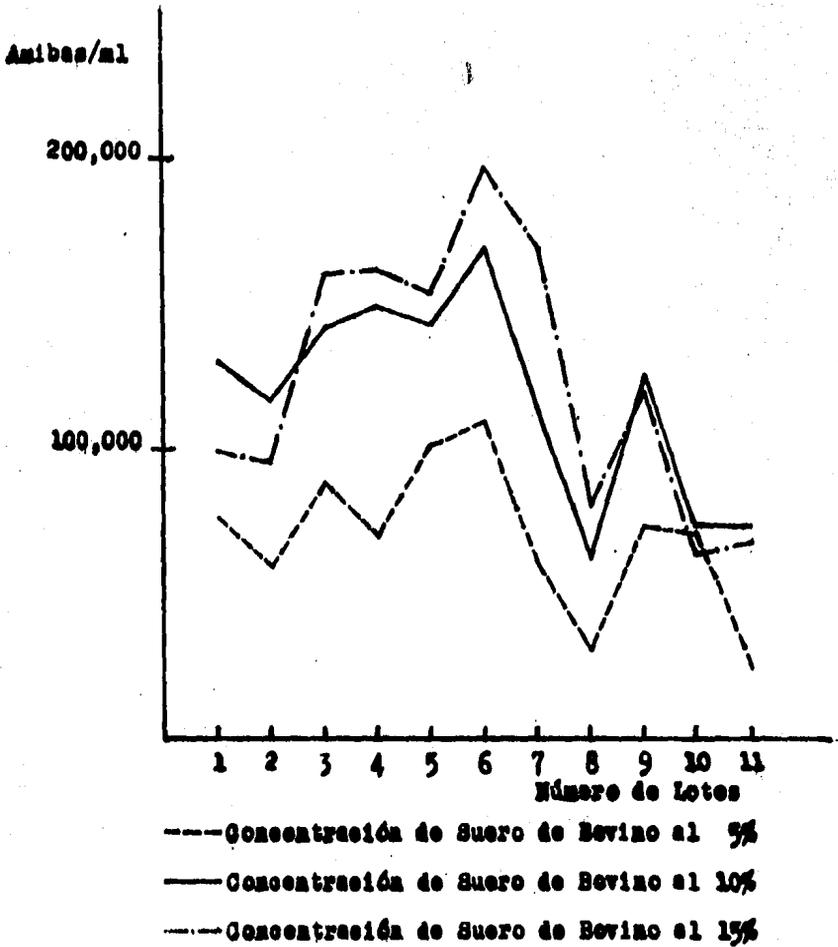


FIGURA 1

RENDIMIENTO PROMEDIO DE LOTES DE Entamoeba histolytica CEPA HM1-IMSS CON DIFERENTES CONCENTRACIONES DE SUERO DE BOVINO A LAS 48 HORAS DE CULTIVO.

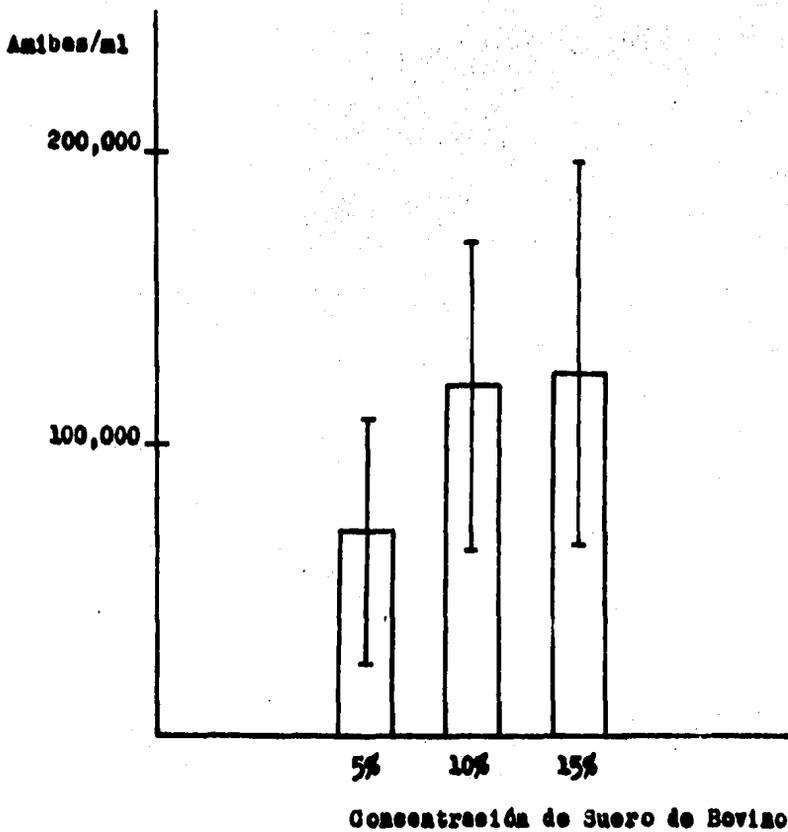


FIGURA 2

En el cuadro 3, se anotó el rendimiento de cada uno de los lotes de Entamoeba histolytica cepa HM-1 IMSS a las 72 horas de cultivo. Se observó que el crecimiento de las concentraciones de suero de bovino de 10% y 15%, duplicaron el crecimiento obtenido a la concentración de suero de bovino de 5%.

En la figura 3, se expresó gráficamente el comportamiento de -- los lotes. A las 72 horas de cultivo, las curvas de las concentraciones de suero de bovino de 10% y 15% se comportaron casi igual, apreciándose varias intersecciones entre ellas. La curva de la concentración de suero de bovino al 5% tuvo un valor muy por debajo de las -- concentraciones anteriores.

En la figura 4, vemos el rendimiento promedio de los lotes, donde se observa la similitud entre las concentraciones de suero de bovino de 10% y 15%.

RENDIMIENTO DE LOTES DE Enteroeba histolytica CSPA HMI-IMSS  
 CON DIFERENTES CONCENTRACIONES DE SUERO DE BOVINO A LAS 72  
 HORAS DE CULTIVO.

No. de LOTE	CONCENTRACION DE SUERO					
	5%		10%		15%	
1	172	500	239	375	258	750
2	77	500	184	150	135	400
3	124	750	272	250	226	000
4	118	750	262	750	232	750
5	125	112	203	125	195	312
6	163	500	426	500	462	750
7	172	250	459	000	596	750
8	54	687	187	187	251	875
9	105	500	436	750	417	500
10	210	500	243	457	331	875
11	79	150	210	600	231	200
<b>Σ</b>	<b>1 404 399</b>		<b>3 125 144</b>		<b>3 340 262</b>	
<b>X</b> (amb/ml)	<b>127 672</b>		<b>284 104</b>		<b>303 660</b>	
Máximo	210 500		459 000		596 750	
Mínimo	54 687		184 150		135 400	

CUADRO 3

RENDIMIENTO DE LOTES DE Entamoeba histolytica -  
 CEPA HM1-IMSS CON DIFERENTES CONCENTRACIONES DE  
 SUERO DE BOVINO A LAS 72 HORAS DE CULTIVO.

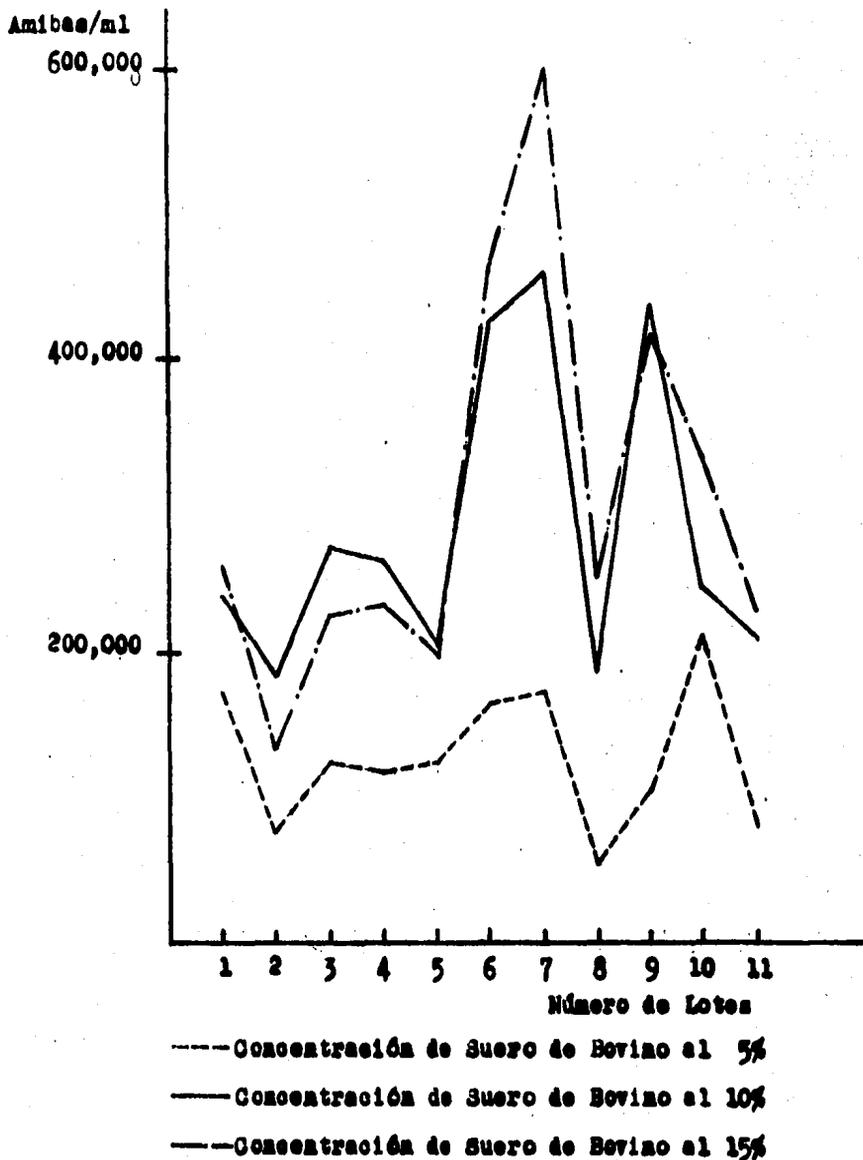


FIGURA 3

RENDIMIENTO PROMEDIO DE LOTES DE Entamoeba histolytica CEPA HM1-IMSS CON DIFERENTES CONCENTRACIONES DE SUERO DE BOVINO A LAS 72 HORAS DE CULTIVO.

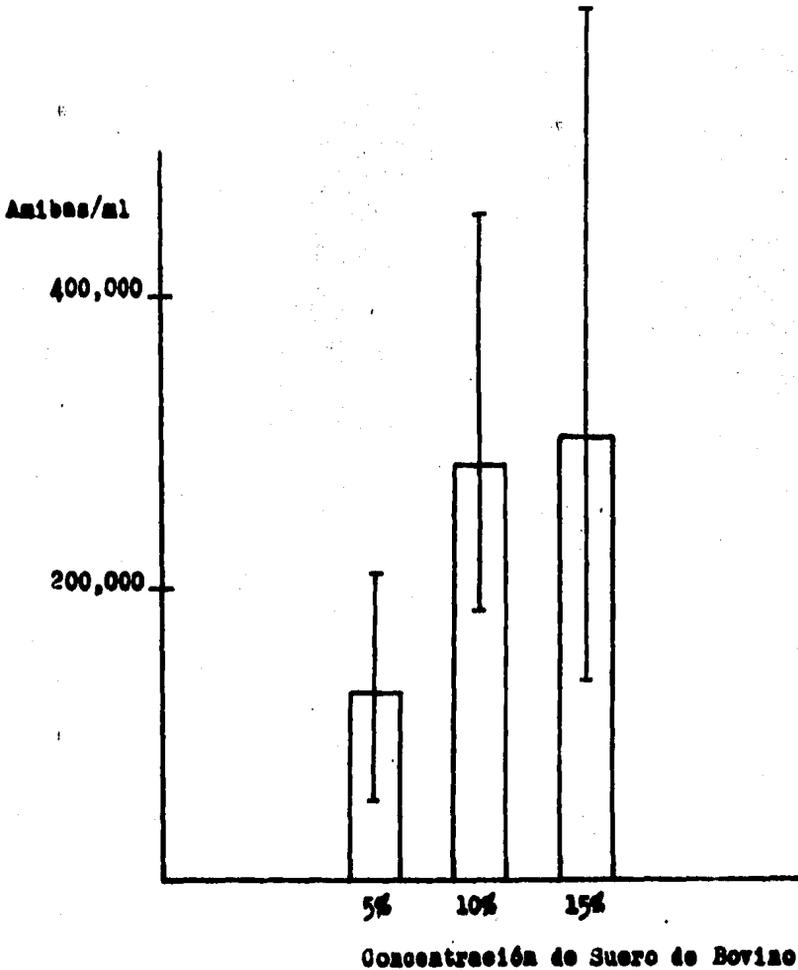


FIGURA 4

En los cuadros 4, 5 y 6 se anotaron los datos estadísticos comparativos entre las concentraciones de suero de bovino de 5% y 10% de 5% y 15% y de 10% y 15%. Se apreciaron los valores significativos y no significativos estadísticamente.

En el cuadro 7, se comparó el costo de un litro de medio de -- cultivo TYI-S-33 con las concentraciones de suero de bovino de 5%, 10% y 15%. Se observó que el suero de bovino es el elemento más -- costoso del medio, representando el 61.1%, 75.9% y 82.5% del costo del medio a las concentraciones de suero de bovino de 5%, 10% y -- 15% respectivamente.

Gráficamente se pudo observar que las curvas de rendimiento de los lotes de Entamoeba histolytica cepa HM-1 IMSS a las 48 y 72 horas de cultivo, fueron muy similares, tanto en forma individual de los lotes, como en sus valores medios, por lo que se dedujo que no hay un efecto operacional importante entre el uso del suero de bovino al 10% y 15% en el medio de cultivo TYI-S-33, lo cual no sucedió a la concentración de suero de bovino de 5%

Todo lo anterior se confirmó estadísticamente, por lo cual no se justifica el uso de un 5% de suero de bovino adicional.

Se observó que las diferencias en costos entre el medio de cultivo a las concentraciones de suero de bovino de 10% y 15% es de - 27.5%.

Actualmente en el Departamento de Investigación, de la Gerencia General de Biológicos y Reactivos, de la Secretaría de Salud, se elaboran 30 litros de medio a la semana. Posteriormente, se planea aumentar ésta cantidad, lo cual permite ver la importancia que tiene la reducción de la concentración de suero de bovino en un 5% y su efecto en el costo de producción.

DATOS ESTADÍSTICOS DEL RENDIMIENTO DE  
Entamoeba histolytica CEPA HM1-IMSS -  
 CON LAS CONCENTRACIONES DE SUERO DE -  
 BOVINO DE 5% Y 10% A LAS 48 Y 72 HO--  
 RAS DE CULTIVO.

	HORAS DE CULTIVO	
	48	72
Varianza al 5%	660 136 637	2 292 460 248
Varianza al 10%	1 177 831 167	18 603 172 735
Valor crítico (0.975, 20 g.l.)	2.09	2.09
Prueba t student	3.757	4.504

C U A D R O 4

DATOS ESTADÍSTICOS DEL RENDIMIENTO DE  
Entamoeba histolytica CEPA HM1-IMSS -  
 CON LAS CONCENTRACIONES DE SUERO DE -  
 BOVINO DE 5% Y 15% A LAS 48 Y 72 HO--  
 RAS DE CULTIVO.

	HORAS DE CULTIVO	
	48	72
Variansa al 5%	660 136 637	2 292 460 248
Variansa al 15%	2 099 164 192	18 603 172 735
Valor crítico (0.975, 20 g.l.)	2.09	2.09
Prueba t student	3.453	4.033

CUADRO 5

DATOS ESTADÍSTICOS DEL RENDIMIENTO DE  
Entamoeba histolytica CEP4 HMI-IMSS -  
 CON LAS CONCENTRACIONES DE SUERO DE -  
 BOVINO DE 10% Y 15% A LAS 48 Y 72 HO-  
 RAS DE CULTIVO.

	HORAS DE CULTIVO	
	48	72
Variance al 10%	1 177 831 167	10 975 954 909
Variance al 15%	2 099 164 192	18 603 172 735
Valor crítico (0.975, 20 g.l.)	2.09	2.09
Prueba t student	0.354	0.377

C U A D R O 6

COSTO COMPARATIVO DEL MEDIO DE CULTIVO TYI-S-33  
 CON LAS CONCENTRACIONES DE SUERO DE BOVINO DE -  
 5%, 10% Y 15%

	CANTIDADES	COSTO M.N.
Extracto de Levadura	10.00 g	13.50
Tripticasa	20.00 g	51.00
Glucosa	10.00 g	20.40
Cloruro de Sodio	2.00 g	0.21
Cisteína	1.00 g	105.00
Acido Ascórbico	0.20 g	3.51
Citrato Férrico Amónico	0.02 g	2.70
Fosfato de Potasio Monobásico	0.60 g	5.67
Fosfato de Potasio Dibásico	1.00 g	9.48
Mezcla de Vitaminas Tween-80	30.00 ml	540.00
Suero de Bovino al 5%	50.00 ml	1,200.00
Suero de Bovino al 10%	100.00 ml	2,400.00
Suero de Bovino al 15%	150.00 ml	3,600.00
Agua Bidestilada c.b.p.	1,000.00 ml	10.50
Medio completo al 5%	1,000.00 ml	1,961.97
Medio completo al 10%	1,000.00 ml	3,161.97
Medio completo al 15%	1,000.00 ml	4,361.97

C U A D R O 7

## CONCLUSIONES

De acuerdo con los datos obtenidos experimentalmente para el -- crecimiento de Entamoeba histolytica cepa HM-1 IMSS, a las diferentes concentraciones de suero de bovino en el medio de cultivo TYI-S-33, -- podemos concluir lo siguiente:

-El crecimiento con la concentración de suero de bovino de 5%, -- es de aproximadamente la mitad del crecimiento con las concentracio-- nes de suero de bovino de 10% y 15%, a las 48 y 72 horas de cultivo, por lo cual, el medio de cultivo con una concentración de suero de -- bovino de 5% no se debe usar debido a que se obtiene un crecimiento -- celular muy bajo.

-Apoyados estadísticamente, observamos que el crecimiento con -- las concentraciones de suero de bovino de 10% y 15%, no presentan una diferencia significativa, por lo que, si se puede utilizar la concen-- tración de suero de bovino al 10% en sustitución de la concentración de suero de bovino de 15%, tanto por su crecimiento celular como por su costo.

-El costo del medio de cultivo se reduce en un 27.5%, lo que es muy importante cuando se piensa en volúmenes de producción de 30 li-- tros o más.

## B I B L I O G R A F I A

- 1.- Faust, E. C.; Russell, P. F.; Jung, R. C. Parasitología Clínica Salvat Editores, S. A., p. 139, 1978.
- 2.- De la Torre, M.; Landa, L.; Sepúlveda, B. Avances en los métodos para el cultivo de Entamoeba histolytica. Archivos de Investigación Médica (México). Suplemento: 9, 1970.
- 3.- De la Torre, M.; De la Hoz-Couturier, R.; Landa, L.; Sepúlveda, B. Cultivos axénicos de Entamoeba histolytica. Archivos de Investigación Médica (México). Suplemento 1: 165, 1971.
- 4.- Diamond, L. S. Axenic cultivation of Entamoeba histolytica. ---- Science. 134: 336, 1961.
- 5.- Diamond, L. S. Techniques of axenic cultivation of Entamoeba histolytica Schaudin, 1903 and Entamoeba histolytica-like amoebae. - Journal of Parasitology. 54: 1047, 1968.
- 6.- Diamond, L. S.; Bartgis, I. L. Axenic cultures for in vitro testing of drugs against Entamoeba histolytica. Archivos de Investigación Médica (México). Suplemento 1: 339, 1971.
- 7.- Diamond, L. S.; Harlow, D. R.; Cunnick, C. C. A new medium for the axenic cultivation of Entamoeba histolytica and other Entamoeba. Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene. 72: 431, 1978.
- 8.- Diamond, L. S. Axenic cultivation of Entamoeba histolytica: progress and problems. Archivos de Investigación Médica (México). - 11, suplemento 1: 47, 1980.
- 9.- Gillin, F. D.; Reiner, D. S. In vitro activity of certain quasi-ncid anti-tumor agents against Entamoeba histolytica. Archivos de Investigación Médica (México). 13, suplemento 3: 43, 1982.

- 10.- Grundy, M. S. Antigen fraction from Entamoeba histolytica strain HK-9 for use in ELISA. Archivos de Investigación Médica (México) 13, suplemento 3: 249, 1982.
- 11.- Jiménez, B.; Olvera, J.; Kumate, J.; Ortiz, B. Purificación parcial de algunos antígenos de superficie de Entamoeba histolytica Investigación de la actividad biológica frente a sueros de pacientes con absceso hepático amibiano. Archivos de Investigación Médica (México). 13, suplemento 3: 281, 1982.
- 12.- Kreyzig, E. Introducción a la Estadística Matemática. Editorial Limusa, S. A. p. 241, 1976.
- 13.- Lee, B.; Palacios, O.; Landa, L. Estudio de la actividad enzimática de Entamoeba histolytica procedente de cultivos axénicos. - Archivos de Investigación Médica (México). Suplemento 1: 173, -- 1971.
- 14.- Martínez Pelomo, A. The Biology of Entamoeba histolytica Head. - Department of Cell Biology and Section Experimental Parasitology, Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional, México City. México, p. 61, 1980.
- 15.- Mattern, G.; Keister, D.; Matevitz, P. Virulence of Entamoeba histolytica upon continuous axenic cultivation. Archivos de Investigación Médica (México). 13, suplemento 3: 185, 1982.
- 16.- Mendoza, F.; Arcos, L.; Ortiz-Ortiz, L.; Díaz de León, L. Protein biosynthesis by Entamoeba histolytica in culture. Archivos de Investigación Médica (México). 13, suplemento 3: 71, 1982.
- 17.- Sepúlveda, B.; Tanimoto-Neki, M.; Vázquez-Saavedra, J.; Landa, L. Inducción de inmunidad antiambiana en el hamster con antígeno obtenido de cultivos axénicos de Entamoeba histolytica. Archi

- vos de Investigación Médica (México). Suplemento 1: 289, 1971.
- 18.- Sepúlveda, B. Introducción al Noveno Seminario sobre Amibiasis. Archivos de Investigación Médica (México). 13, suplemento 3: 2, 1982.
- 19.- Tanimoto, M.; Sepúlveda, B.; Vázquez-Saavedra, J.; Landa, L. Lesiones producidas en el hígado de hamster por inoculación de --- Entamoeba histolytica cultivada en medio axénico. Archivos de -- Investigación Médica (México). Suplemento 1: 275, 1971.