

## **ESTUDIO INMUNOLOGICO DE LA TREPONEMATOSIS, LA AMEBIASIS Y EL ANTIGENO AUSTRALIANO EN LOS INDIOS CUIVA DE VENEZUELA**

**Por F. FONVAL\***  
**J. LE BRAS\*\***  
**M. GENITEAU\*\***

Desde diciembre de 1972 estamos estudiando la población cuiva de Venezuela, en la que hemos ya realizado tres estadías completando dos años de investigación de campo. Ello nos ha permitido conocer bien la población estudiada, no solamente en el nivel de su organización y de su vida de grupo, sino también individualmente, lo cual es fundamental para el tipo de investigación que realizamos actualmente. Esta última trata sobre la interacción de los factores culturales, biológicos y ecológicos en esta población.

Desde fines del año 1972 la población estudiada ha pasado de 243 a 275 personas. La elevación más importante de la cifra de la población ha sido reciente, desde el segundo semestre de 1976, en virtud de la disminución de la mortalidad infantil gracias a una nueva asistencia médica.

Los Cuiva son tradicionalmente nómadas cazadores-pescadores-recolectores que viven en la zona de la frontera colombo-venezolana —(nuestra investigación se dirige exclusivamente sobre la parte venezolana de esta población). Sin embargo, desde hace más de veinte años la llegada progresiva de ganaderos a su región empuja a estos indios a un proceso de sedentarización cada vez más notorio. Hoy en día ellos se concentran, en Venezuela, a las orillas del río CAPANAPARO. Los contactos con los ganaderos se han visto así inevitablemente multiplicados de modo que la población cuiva sufre un proceso de deculturación intenso en todos los aspectos. Ha sido pues en un período muy crítico de la vida de este grupo étnico que nosotros hemos empe-

---

\* Antropóloga, 45 rue Desnouettes, 75015 PARIS.

\*\* Laboratorio del Instituto de Medicina y Epidemiología Africanas y Tropicales, Hospital CLAUDE BERNARD, 75019 PARIS.

zado a trabajar con él. Este estado crítico resulta así particularmente rico y de gran interés para el antropólogo y el biólogo.

Los Cuiva son endógamos, no conocemos sino casos excepcionales y muy episódicos de alianza con los criollos( no-indios): hay un sólo niño viviendo en la población cuiva fruto de estas relaciones y así mismo una sola alianza realizada por una joven con un criollo( de esta alianza nacieron 3 niños que viven casi todo el tiempo en la casa del padre criollo). Parece entonces que la población Cuiva permanece homogénea y constituye por lo tanto un terreno de estudio particularmente interesante tanto para el antropólogo como para el biólogo, el clínico y el genetista de poblaciones. Las condiciones de vida de esta población permanecen muy específicas: clima caluroso durante todo el año (temperaturas media anual de 28°C), 8 meses de estación de lluvias, 4 meses de estación seca, vida esencialmente dependiente de la fauna y la flora de la zona selvática. En consecuencia ella se presenta como una población ideal para el tipo de estudio que realizamos.

Llamamos "unidad residencial" al conjunto de personas —de la familia nuclear o extendida— que comparten el mismo techo y al mismo tiempo se desplazan juntos. Estas "unidades residenciales" cuentan de 4 a 30 personas.

A continuación de este artículo, presentamos los resultados obtenidos en esta población en materia de la treponematosi, la amebiasis y el Antígeno Australiano. Estos resultados se inscriben en el cuadro más general del estudio que hemos mencionado líneas arriba; la investigación patológica y biológica es necesaria para efectuar la síntesis global en la cual trabajamos.

Desde la primera vista nos impresionamos por la gran frecuencia de manchas cutáneas que presenta la mayoría de los Cuiva (foto 1): estas máculas son causadas por la *Pinta*, por lo que hemos sido inducidos a estudiarla en esta población. Presentamos también aquí los resultados obtenidos en materia de amebiasis y de Antígeno Australiano. Sin embargo se hacen necesarias otras estadías en el campo y también nuevas investigaciones.

## MATERIAL Y METODOS

### 1. *Sueros.*

Para esta investigación se analizaron 145 muestras de suero. La sangre, guardada en medio estéril, fue enviada a París en dos lotes:

—El primero se mantuvo a una temperatura próxima de 4°C durante los cinco días que duró el transporte. Este lote contenía 104 muestras.

—El transporte del segundo lote —de 41 muestras— duró más de siete días y su conservación a baja temperatura no se pudo mantener constante.

En los dos casos el suero fue separado a su llegada y distribuido en diferentes laboratorios (cada uno tomó la cantidad mínima necesaria para el análisis considerado). Las dificultades de la repartición hicieron que los sueros fueran mantenidos a una temperatura de 4°C durante varias semanas antes de su llegada a nuestro laboratorio en donde se congeló inmediatamente la parte alícuota necesaria para el estudio que reportamos aquí.

Puesto que la comparación de los resultados serológicos no mostró grandes diferencias entre los distintos lotes enviados, no se excluyó ninguna muestra, pero estimamos que el análisis de los sueros puede comportar un error de carencia a causa de la leve degradación de las proteínas.

## 2. *Inmunofluorescencia indirecta de treponematosis (FTA-ABS)*

Los sueros se estudiaron a partir de la reacción de inmunofluorescencia indirecta del antígeno *Treponema Pallidum*, después de haber sido absorbido por una suspensión de treponemas saprofitos (*T. reiter*).

La absorción previa a la reacción de IFI sirve para eliminar los eventuales anticuerpos correspondientes al grupo de las espiroquetas no patógenas. La reacción es, por consiguiente, específica de los treponemas patógenos:

—*Treponema pallidum*, agente de la Sífilis,

—*Treponema pertenue*, agente del Pian,

—*Treponema carateum*, agente de la Pinta.

Las comunidades antigénicas de estas tres especies permiten la utilización de *T. pallidum*, para buscar los anticuerpos dirigidos contra *T. pertenue* o *T. carateum*, sin diferenciarlos.

La técnica utilizada es la de HUNTER y col. (1), (2).

—Luego de la descomplementación durante 30 min. a 56°C, se eliminan las coaglutininas mediante una dilución del suero a 1/20 con una suspensión de *T. reiter* cultivada in vitro y sometida a ultrasonido.

—El sobrenadante es entonces estudiado con esta dilución y a la dilución 1/4000, con una suspensión formulada conservada a + 4°C de *Treponema pallidum* mantenidos en el conejo.

Las diluciones de los sueros son puestas en contacto con la suspensión antigénica previamente extendida y secada sobre una lámina.

Después del lavado se revela el complejo antígeno-anticuerpo mediante un suero antiglobulina humana conjugado con el isothiocianato de fluoresceína (dilución 1/60).

La lectura se efectúa con un microscopio de fluorescencia, provisto de fondo negro, permitiendo la observación de los treponemas no fluorescentes.

La dilución 1/4000 ha sido seleccionada, pues ella corresponde según nuestras condiciones, a la presencia segura de anticuerpos específicos contra treponemas patógenos.

### 3. *Estudio serológico de la amebiasis.*

El despistaje se efectuó mediante la reacción de inmunofluorescencia indirecta (IFI) y fue completado mediante un estudio de hemaglutinación en los sujetos que presentaron un título IFI superior o igual a 1/100, y también por un estudio en electroinmunodifusión para los sueros que presentaron un título de hemaglutinación superior a 1/80.

#### a) *Inmunofluorescencia indirecta.*

Los sueros son diluidos en el tampón fosfato salino a partir de 1/50 hasta 1/400 con una progresión de razón 2.

El antígeno preparado a partir de un cultivo in vitro de *Entamoeba histolytica* es conservado en liofilización.<sup>1</sup>

El método aplicado es el descrito por AMBROISE-THOMAS (3). Estimamos que el título 1/100 corresponde por lo general a la presencia de anticuerpos específicos, pero esta especificidad no es absoluta puesto que la IFI utiliza un antígeno proveniente de un cultivo no axénico y por tanto susceptible de contener proteínas de origen no-amebiano.

#### b) *Hemaglutinación.*

Para este análisis utilizamos la aglutinación condicionada de hematies de carnero, los cuales habían sido sensibilizados con un antígeno soluble de *Entamoeba histolytica* obtenido en un cultivo axénico in vitro.<sup>2</sup>

Los hematies de carnero se tomaron frescos y se lavaron en un tampón fosfato salino PH 7,2. En seguida estos hematies fueron estabilizados poniéndolos dos horas en contacto con una solución de glutaraldehído al 2,5% y, después de lavados, fueron conservados a una temperatura de + 4°C.

El antígeno en concentración de 25 microgramo/mililitro se fijó sobre los hematies mediante agitación durante una hora a 37°C en un medio de tampón fosfato pH 6,2, 0,35 M (suspensión al 0,5%). Estos hematies así sensibilizados se conservan varios meses a una temperatura de + 4°C.

---

1. Laboratorios WELLCOME.

2. Cepa HK9 - Laboratorio ICN.

Los sueros son puestos en contacto (18 Horas a + 4°C), con una solución de hematies 1/20 (v/v) (estabilizados pero no sensibilizados) para absorber las posibles aglutininas anti-carnero.

Estos sueros fueron estudiados a partir de la dilución 1/20 con una progresión a razón 2. Se pusieron en contacto 50 microlitros de cada dilución con 50 microlitros de una suspensión de hematies sensibilizados al 1% y se apreció la aglutinación al cabo de 3 horas y de 24 horas.

La presencia de anticuerpos específicos fue considerada solamente a partir de 1/80.

c) *Electroinmunodifusión.*

Utilizamos el método sobre acetato de celulosa descrito por NIEL y Col. (4), el cual permite visualizar las comunidades antigénicas con un suero de referencia (amebiasis tisular). Es a partir de la presencia de tres sistemas precipitantes que se puede afirmar la existencia de un ataque amebiano tisular.

4. *Métodos de estudio del \*Antígeno Australiano (HBs Ag, HBe Ag y anti HBe).*

El antígeno HBs se investigó mediante los métodos de hemaglutinación y de electroinmunodifusión, el antígeno HBe y los anticuerpos anti HBe mediante electro inmunodifusión.

a) *Hemaglutinación.*

Se utilizaron hematies de carnero sensibilizados con anticuerpos anti HBs (hepanosticon<sup>3</sup>) y los sueros se estudiaron a la dilución reaccional 1/20.

b) *Electroinmunodifusión.*

Mediante este método hemos investigado la presencia del antígeno HBe en todos los sueros. En el caso del antígeno HBe y de los anticuerpos anti HBe ellos fueron investigados en los sueros que contenían el antígeno HBs.

La electroinmunodifusión se practicó en gel de agarosa 1% en verona acético 0,05 M pH 8,4 con una diferencia de potencial de 5 voltios cm durante una hora utilizando el suero en estudio y los tres reactivos siguientes anti HBs,<sup>4</sup> anti HBe y HBe Ag (estos reactivos se prepararon en nuestro la-

3. Organon technika.

4. CNTS, París.

boratorio). La observación del precipitado antígeno-anticuerpo se efectuó al final de la migración y también al cabo de 24 horas de difusión a la temperatura ambiente. La reacción es controlada disolviendo los precipitados inespecíficos mediante un baño de citrato trisódico al 5%, finalmente el gel es secado, coloreado y conservado.

## RESULTADOS Y DISCUSION

### 1. *Treponematosis.*

Se estudiaron los sueros de 139 sujetos en IFI con el antígeno *T. pallidum*. El 65W de las muestras presenta un título por lo menos igual a 1/4000 (Cuadro I), lo cual corresponde a un estado hiperinmune de la mayoría de la población (sobre todo si se tiene en cuenta la degradación previa de los anticuerpos provocada por las condiciones de transporte de las muestras).

La mayoría de los individuos presenta, a partir de los tres años de edad, lesiones cutáneas de tipo eritemato-escamosas que son características de la Pinta (*Treponema carateum*); estas manchas inicialmente negruzcas devienen despigmentadas al término de su evolución. Sin embargo no es posible descartar por completo la posibilidad de Pian (*Treponema pertenue*) aunque esta afección jamás haya sido reconocida en la población estudiada.

Sin embargo la posibilidad de una infección sifilítica (*T. pallidum*) puede ser excluida.

El estudio efectuado refleja pues con toda probabilidad la inmunidad adquirida contra el *T. carateum*.

Un tratamiento de inyección de Penicilina benzatínica (2,4 millones de unidades) se llevó a cabo entre 1973 y 1975. Este tratamiento resultó, aparentemente, tener mayor eficacia en los niños que en los adultos por lo menos en cuanto a la desaparición de las manchas. El porcentaje de los sujetos con fuerte proporción de anticuerpos es significativamente más bajo que el promedio (40%) de sujetos entre 6-15 años ( $X^2 = 58,81$ ;  $p < 0,001$ ); sin embargo la diferencia es poco significativa entre los sujetos de edad superior (61 a 79%). Los títulos observados en los hombres y las mujeres son similares (respectivamente 64,5 y 65,7% de títulos superiores o iguales a 1/4000).

En tres "unidades residenciales" la totalidad de los individuos examinados (23 sujetos) presentan un título elevado, mientras que en otras cuatro (26 personas) la mayoría de los individuos presenta una serología débil o nula. La biología del supuesto vector (simulium) no es suficiente para explicar la contaminación de todos los individuos de ciertas "unidades residenciales", por lo que la contaminación directa familiar parece más probable.

## 2. *Amebiasis.*

La búsqueda de los anticuerpos anti-amebianos que se llevó a cabo a partir de 145 sueros no nos permitió encontrar títulos elevados o anticuerpos precipitantes que son los únicos que podrían explicar una infección tisular reciente de los individuos examinados. En IFI 14% de los sujetos presentaron un título límite (1/100), pero no encontramos anticuerpos en título elevado en hemaglutinación, ni tampoco anticuerpos precipitantes (Cuadro II).

Como en el caso de la amebiasis la serología no puede aún utilizarse para el diagnóstico de infecciones digestivas, no podemos suministrar elementos que puedan descartar, una presencia eventual de *Entamoeba histolytica*.

Nuestros resultados son diferentes de los obtenidos a partir del estudio de una población de Indios de la Alta Guayana.<sup>5</sup> En efecto los autores notan una disminución del título de los anticuerpos con la edad, lo cual no lo observamos en nuestro análisis, y también revelan que 54% de sujetos presentan un título elevado ( > 80). Pero en nuestro estudio no encontramos ningún título superior a 1/200 ni anticuerpos aglutinantes o precipitantes de título significativo.

Sólo un análisis coprológico podría procurarnos las precisiones indispensables al estudio del predominio de la amebiasis en la población considerada.

## 3. *Antígeno Australiano.*

La búsqueda del antígeno Hbs en 143 muestras reveló 16 sujetos positivos aparentemente sanos, lo cual corresponde a un porcentaje de 11,2% (Cuadro III).

Estos resultados corresponden al promedio general venezolano de 7% según MERINO<sup>6</sup> el cual da sin embargo variaciones del 1% al 60% según las regiones.

Se detectaron tres portadores del anticuerpo anti HBe, pero no del antígeno HBe, lo cual concuerda con los trabajos de varios autores, quienes demostraron que la presencia asintomática del antígeno HBs va acompañada con frecuencia del anticuerpo anti HBe; el antígeno HBe se encuentra con mayor frecuencia en los sujetos que presentan una hepatitis crónica<sup>7, 8</sup>

Cinco sueros presentaron un título de antígeno HBs, lo que permitió un estudio más especializado: los cinco sueros pertenecían al sub-grupo adw 4

Agradecemos a la Srta. A. MARTIN y al Sr. H. DRIDI, por su colaboración técnica; a la Dra. A. M. COUROUCES<sup>5</sup>, quien ha efectuado la deter-

5. CNTS, we. A. Cabanel; 75015, París.

minación de los subgrupos HBs Ag; y al Dr. Y. LA TORRE por su colaboración en la redacción de la versión en español.

## RESUMEN

El estudio de 145 sueros de Indios Cuiva, permitió precisar que la infección de la Pinta en la mayoría de esta población se traduce en un importante porcentaje de anti-cuerpos anti-treponema fluorescentes; el 65 % de los sujetos presenta un título igual o superior a 1/4000.

No encontramos ninguna prueba inmunológica de amebiasis invasiva, ya que ningún sujeto presenta anticuerpos a un título elevado.

El antígeno HBs se detectó en 16 sujetos (11,2%), 3 de ellos presentaron anticuerpos anti HBe.

## BIBLIOGRAPHIE

1. HUNTER, E. F.; DEACON, W. E.; MEYER, P. E.: An improved FTA test for syphilis, the adsorption procedure (FTA - 3BS). Publ. Rep., 79, 410, 1964.
2. O. M. S. Recherches sur les Treponematoses. Org. Mond. Santé, Rapport Technique, N° 355, 1970.
3. AMBROISE-THOMAS P.; TRUONG, T. K.: Fluorescent antibody test in amoebiasis. Am. Journal Tropical Medecine Hygiene, 21, 907-12, 1974.
4. NIEL, G.; GENTILINI, M.; PINON, J. M.; COUTURE, J.; DANIS, M: Electrosynérèse et diagnostic sérologique de l'amibiase valeur comparée à celle de l'immuno-électrophorèse, de l'immunofluorescence et du test du latex. Médecine et Maladies Infectieuses, 4, 5, 231-5, 1974.
5. BOIS, E.; FRIBOURG-BLANC, A.; FEINGOLD, J.; RICHARD-LENOBLE, D.; NIEL, G.; et PRADINAUD, R.: Bilan épidémiologique des Amérindiens de Haute-Guyane Française. Sérologie de la rubéole, de la syphilis, du paludisme et de l'amibiase. Médecine et Maladies Infectieuses, 6, 1, 4-11, 1976.
5. MERINO: Frecuencia del antígeno de la hepatitis entre las poblaciones aparentemente sanas de Venezuela. Sangre, 20, 121-6, 1975.
7. SHERLOCK, S.: The Association of "e" Antigen and "e" Antibody with type B Virus Hepatitis. Biomedicine, 24, 283-285, 1976.
8. MAUPAS, Ph.; COURSAGET, P.; GOUDEAU, A.; DRUCKER, J.; GRENIER, B.; Nouveaux marqueurs du virus de l'hépatite B. Intérêt diagnostique et pronostique. La nouvelle Presse médicale, 6, 1, 32-40, 1977.



TABEAU I - REPARTITION PAR AGE DES ANTICORPS CONTRE T. PALLIDUM DETECTES PAR IFI

AGE	TOTAL ETUDIE	TITRE DES ANTICORPS		
		négatifs	1:20	≥1:4000
6-15	25	7 28%	8 32%	10 40%
16-25	47	5 10,6%	9 19,1%	33 70,2%
26-35	36	4 11,1%	10 27,8%	22 61,1%
36 +	33	3 9,1%	4 12,1%	26 78,8%
TOTAL	141	19 13,5%	31 22%	91 64,5%

TABIEAU II - REPARTITION PAR AGE DES ANTICORPS CONTRE E.HISTOLYTICA  
DETECTES PAR IFI

AGE	TOTAL ETUDIE	TITRE DES ANTICORPS			
		negatifs	1:50	1:100	1:200
6-15	27	19 70,4%	5 18,5%	3 11,1%	-
16-25	47	29 61,7%	15 31,9%	3 6,4%	-
26-35	36	20 55,6%	12 33,3%	4 11,1%	-
36 +	34	16 47%	7 20,6%	9 26,5%	2 5,9%
TOTAL	145	85 58,6%	39 26,9%	9 6,2%	2 1,4%

TABIEAU III - PORTAGE DE L'ANTIGENE HBS ET DE  
L'ANTICORPS ANTI HBe

SEXE	TOTAL ETUDIE	Ag HBS	AG HBe *	Ac/HBe *
♂	78	10	0	3
♀	65	6	0	0
TOTAL	143	16 11,2%	0	3 (18,7% des porteurs Ag HBS)

\* Recherche effectuée chez les porteurs d'Ag HBS