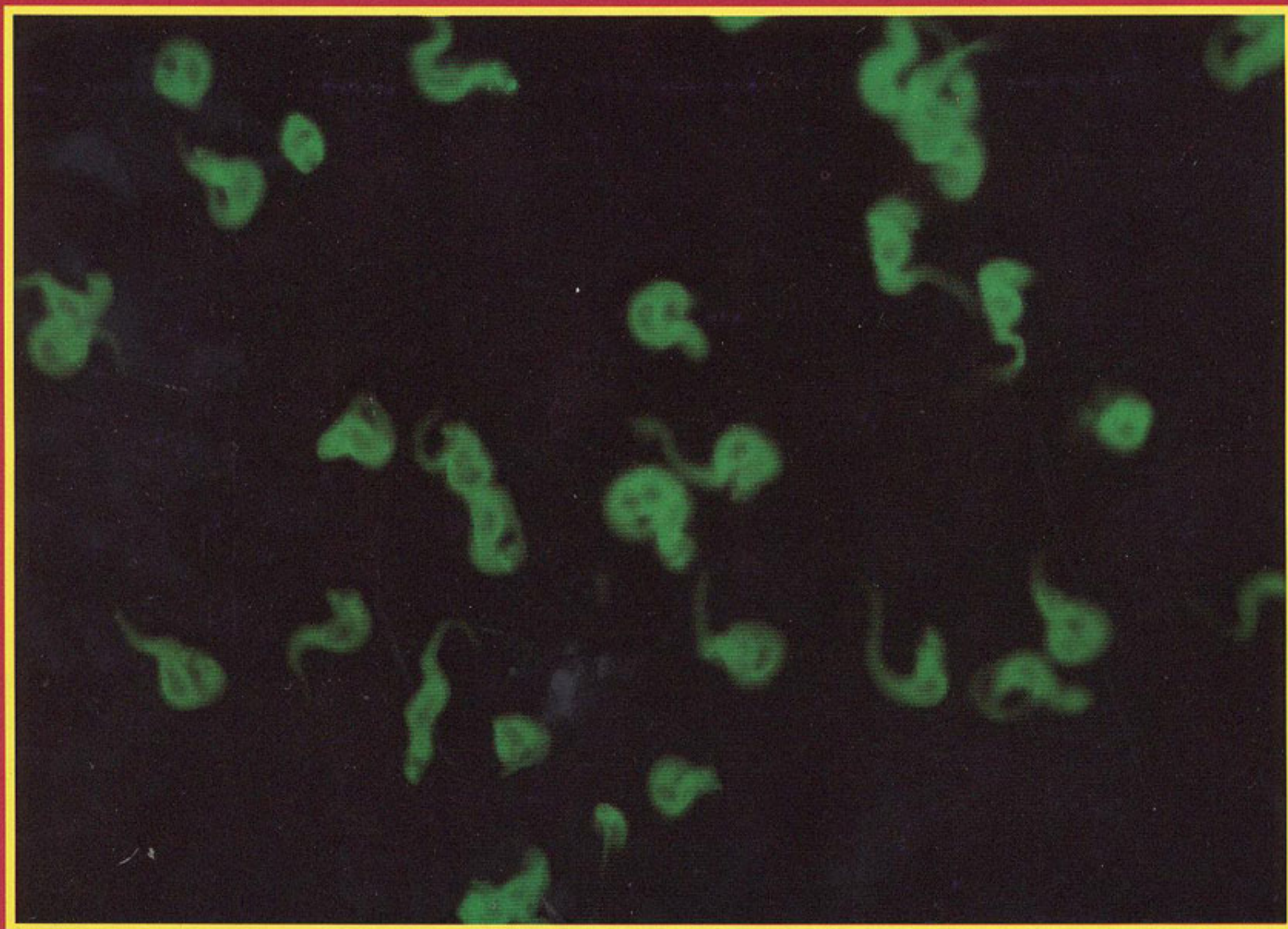


ACTA CIENTIFICA
SOCIEDAD
VENEZOLANA
DE BIOANALISTAS
ESPECIALISTAS

Vol 2 N° 2 1993
ISSN - 1315 - 1746
pp - 92 - 0487

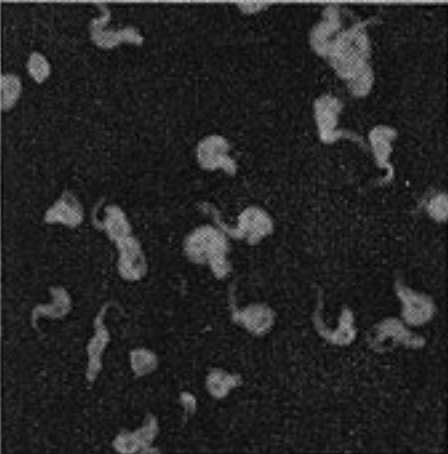


ACTA CIENTIFICA DE LA SOCIEDAD VENEZOLANA DE BIOANALISTAS ESPECIALISTAS

Vol 2 Nº 2 1993
 Depósito legal: pp - 92 - 0487
 Nº Indice: ISSN - 1315 - 1746

CONTENIDO

Estudio de la contaminación por hongos saprófitos, en muestras de lavado bronquial, en el Hospital Universitario de Caracas (Junio-Noviembre, 1992). Autores: <i>Ferreira T. y Hernández E.</i>	2
Métodos diagnósticos en hepatitis C. Autora: <i>Lic. Isabel Massin</i>	8
Nuevas técnicas ELISA aplicadas al diagnóstico de los agentes TORCH. Autora: <i>Lic. Isabel Massin</i>	11
Incidencia de <i>Streptococos</i> beta hemolíticos en la orofaringe de niños sanos. Autores: <i>Araujo M.; Hernández A.; Montaner D.; Rodríguez J. y Rodríguez M.</i>	14
Incidencia de <i>Chlamydia trachomatis</i> en mujeres prostitutas de la ciudad de Maracaibo. Autores: <i>Abdel El Kader D.; Osorio M.E.; Parra Q.K. y Uzcátegui S.</i>	23
<i>Pneumocystis carinii</i> Autor: <i>Axel Rodolfo Santiago</i>	29
Infecciones micóticas en el paciente inmunosuprimido Autor: <i>Antonio Rios F.</i>	32
Beauperthuy y su microscopio Autora: <i>Rosario Beauperthuy de Benedetti</i>	35
<u>Testimonios para la Historia de la SVBE</u> VICongreso Venezolano de Bioanálisis, Palabras de Instalación.....	37
Premio Científico Sociedad Venezolana de Bioanalistas Especialistas (reglamento).....	40
Premio Científico <i>Profesora Franca Billi</i> (reglamento).....	41
Abreviaturas de las Revistas Médicas Venezolanas.....	42
ASEREME, Documento Constitutivo y Estatutos.....	44



PORTADA
 Formas de trypomastigotes de una cepa de *Trypanosoma cruzi* en cultivo de células fibroblásticas. Inmunofluorescencia
 Aumento de 40X
 Cortesía del Dr. Axel Rodolfo Santiago

Tiraje: 1000 ejemplares
 Impresión: Tecnigraba C.A.
 Diseño, Diagramación y Producción: AVVIZI

ACTA CIENTIFICA SVBE
 una publicación
 de la Sociedad Venezolana
 de Bioanalistas Especialistas

EDITORIAL

El reto se ha cumplido. Los Bioanalistas tenemos una verdadera revista científica que permitirá recopilar todos aquellos trabajos científicos realizados en las diversas áreas del Bioanálisis y que realzará la calidad científica de todos los colegas que trabajan con ahínco, dedicación y constancia para el logro de la verdadera superación que merecen los profesionales que se dedican a la ciencia en nuestro país.

Hemos logrado en un tiempo muy corto que nuestra revista Acta Científica de la Sociedad Venezolana de Bioanalistas Especialistas, creciera y madurara. Ya hoy, ha sido incorporada al Index. Medicus Latinoamericano, y somos miembros de la Asociación de Editores de Revistas Biomédicas Venezolanas (ASEREME).

Gracias a la labor tesonera de las Lics. Rosandra Mazzali de Ilja y Ana Monzón de Orozco, podemos decir sin temor a equivocaciones que llegamos al anhelo de todo nuestro gremio, el de poder publicar lo nuestro... en casa. Este valioso aporte lo dejamos a las generaciones de nuevos Bioanalistas que podrán con sus esfuerzo dar a conocer sus experiencias científicas, la década del Bioanálisis no ha terminado, apenas comienza y es por ello que a estos jóvenes investigadores de nuestra querida profesión incentivamos a que continúen su perfeccionamiento y tengan por seguro que las puertas estarán abiertas para incluir sus publicaciones en futuros números.

A los profesionales conocedores de la dificultad de las publicaciones extranjeras queremos llamarlos a reflexión y que consideren esta revista como un órgano de divulgación científica que garantizará que sus trabajos atravesaran las fronteras de la ciencia nacional, esperando contar con sus publicaciones para que con su experiencia enaltezcan la madurez que hasta ahora hemos logrado.

Por nuestra parte como Junta Directa de la Sociedad Venezolana de Bioanalistas Especialistas, Comité Asesor y Comité de Redacción queremos desde ya felicitarlos por aceptar el reto que les enviamos al hacer que esta revista científica sea respetada no solo por los Bioanalistas sino por todos los científicos de Venezuela y el mundo.

Dr. Axel Rodolfo Santiago
Presidente de la S.V.B.E



JUNTA DIRECTIVA SVBE 1993-1995

Dr. AXEL RODOLFO SANTIAGO
Presidente

Lic. RAFAEL A. ROA
Vice-Presidente

Lic. CARMEN LLATAS DE SZCZERBAN
Sec. General

Lic. LIGIA SALINAS DELPINO
Sec. Científica

Lic. OLIVIA LORETO
Sub-Secretaria Científica

Lic. MARIA DE JESUS MORENO
Sec. de Finanzas

Lic. LINDA BLITZ DE DORFMAN
Primer Vocal

Lic. EUDOMARIO ALCANTARA
Segundo Vocal

Lic. KATHERINA S. DE AROCHA
Tercer Vocal

ACTA CIENTIFICA SVBE

Editora

Lic. Ana Monzón de Orozco

Jefa de redacción:

Lic. Rossandra Mazzali de Ilja

Comité de Redacción

Lic. Zuleyma M. de Garófalo, Dra. Mariangel Ochoa,
Lic. Elizabeth Marval, Lic. Ciro A. Valiente,
Lic. Fideas Herrera de Herrera, Lic. Josefina Guariguata,
Lic. Marisa Gatti, Dr. Axel Santiago,
Lic. Rafael Roa, Lic. Carmen Llatas de Szczerban,
Lic. Ligia Salinas, Lic. Olivia Loreto,
Lic. María de Jesús Moreno, Lic. Linda Blitz de Dorfman,
Lic. Eudomario Alcantara, Lic. Katherina S.
de Arocha, Lic. Carlos Santacruz,
Lic. Yaniska Franquiz, Lic. Eliud Marín.

ESTUDIO DE LA CONTAMINACIÓN POR HONGOS SAPROFITOS EN MUESTRAS DE LAVADO BRONQUIAL EN EL HOSPITAL UNIVERSITARIO DE CARACAS

(JUNIO-NOVIEMBRE 1992)

Teresa Ferreira y Elizabeth Hernández

Escuela de Bioanálisis, Facultad de Medicina, Universidad Central de Venezuela

(aceptado para su publicación: 29 julio 1993)

RESUMEN

Se estudiaron 146 muestras de Lavado Bronquial (LB), provenientes del Servicio de Neumonología del Hospital Universitario de Caracas (HUC), de pacientes con impresión diagnóstica de patología a nivel del tracto respiratorio, encontrándose un porcentaje de: 12.3% *Candida albicans* exclusivamente, 39.0% de hongos saprófitos, (*penicillium* spp. (33.2%), *Cladosporium* spp. (14.6%), *Aspergillus* spp. (9.2%), otros aislamientos (57.2%); hongos patógenos [0.7% (*Histoplasma capsulatum* - *Cryptococcus neoformans*), 1.4% *Paracoccidioides brasiliensis*) y 37.7% de muestras negativas. El alto número de muestras negativas, con hongos saprófitos, así como el aislamiento de *Candida albicans*, hacen pensar que la metodología de la toma de la muestra no la adecuada. Se procedió a la identificación de dichos hongos encontrando poca probabilidad, que nos hiciese pensar, en su implicación como agentes causales de estas patologías, recordando que los hongos saprófitos son flora transitoria del tracto respiratorio.

Palabras claves : Hongos saprófitos, lavado bronquial, tracto respiratorio

ABSTRACT

146 samples of bronchial washing (BW) were studied at Hospital Universitario de Caracas (HUC), Chest Medicine Department, from patients with diagnosis of respiratory diseases.

The results of such study were: *Candida albicans* 12.3%, Saprophytic fungi 39.0% (*Penicillium* spp 33.2% > *Cladosporium* spp 14.6%, *Aspergillus* spp

9.2% and other isolations 57.2%); pathogenic fungi: *Histoplasma capsulatum* and *Cryptococcus neoformans* 0.7%, *Paracoccidioides brasiliensis* 1.4% and negative samples 37.7%.

The highest number of negative samples were saprophytic fungi as well as the isolation of *Candida albicans*; this demonstrate that the sample taking procedures were not adequate. Such fungi were identified and considered as non-pathogenic agents since saprophytic fungi are transitory flora of respiratory tract.

INTRODUCCIÓN

El estudio de las infecciones micóticas del tracto respiratorio representa para el micólogo innumerables problemas, uno de los más importantes, se deriva, en la obtención de apropiadas y representativas muestras para la identificación del agente causal de la infección respiratoria.

En la mayoría de los casos la muestra de estudio inicial es el esputo, que presenta el inconveniente de obtener un bajo número de aislamientos de hongos patógenos debido a;

-Muestra no representativa, saliva mal tomada.

-Que ésta no sea procesada correctamente en el laboratorio.

-La investigación es limitada a un número reducido de esputos.

Otra de las muestras enviadas al Laboratorio de Micología es el lavado bronquial (LB), que por muchos años ha sido utilizado para la obtención de secreciones bronquiales. Ya en 1904, el Dr. Yackson Chevalier, en Philadelphia (U.S.A.), utilizó por primera vez esta metodología para el estudio de las infecciones pulmonares. (12)

En los veinticinco años siguientes este método (9) fue utilizado para remover secreciones pulmonares purulentas en pacientes con Bronquioectasis (3). En 1927, el Dr. Stitt propuso una modificación a la metodología clásica, incorporando el uso de solución

Tutores:

- Dr. Axel R. Santiago: Coord. de la Sección de Micología Dpto. de Bioanálisis, HUC.

- Lic. María Milagros Tremarias: Profesor Asistente, Cátedra de Micología, Facultad de Medicina, Escuela de Bioanálisis, Universidad Central de Venezuela (UCV).

salina para favorecer la obtención del material purulento (17). Si bien es cierto que la muestra obtenida por esta técnica es mucho más representativa, sin embargo, en muchos casos el procedimiento no es el más adecuado, encontrando, posterior al cultivo, resultados negativos o con un elevado porcentaje de hongos "contaminantes" que podrían enmascarar la presencia del agente causal de la infección pulmonar.

Hoy en día este procedimiento continúa en uso, sin embargo, se han hecho modificaciones para favorecer la toma de la muestra (inicialmente de 240-480 ml de líquido de lavado), se ha podido llegar, incluso, a 3 L y hasta 10 L de líquido en caso de pacientes con Proteónisis alveolar, entre otras (10,11,14). Una de estas modificaciones dio origen a lo que conocemos como lavado bronquiolveolar (LBA), el cual es una adaptación del lavado broncoscópico de rutina, que involucra la utilización de un broncoscopio fiberoptico en un subsegmento bronquial. Esta técnica ha sido reportada recientemente y es considerada de gran valor diagnóstico en las infecciones pulmonares en pacientes inmunosuprimidos con Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida (SIDA) (6).

Recientes estudios sugieren que el LBA también puede ser usado en el diagnóstico de infecciones pulmonares en pacientes inmunosuprimidos NO SIDA y en aquellos pacientes donde los procedimientos de biopsia pueden estar relativamente contraindicados (trombocitopenia, falla renal, enfermedades hematológicas, etc.) (18). En el Hospital Universitario de Caracas (HUC) es de uso rutinario el LB para el estudio de las afecciones pulmonares, usándose el LBA en aquellos pacientes que así lo ameriten.

La mayoría de los reportes de la literatura enfatizan sus hallazgos en hongos productores de micosis profundas (1,16), sin embargo el uso de los antibióticos de amplio espectro, corticoesteroides y otras drogas inmunosupresivas, así como el progreso de los métodos de diagnóstico, han permitido encontrar un aumento, en los últimos años, de infecciones causadas por hongos oportunistas. Estando el pulmón generalmente involucrado en estas patologías micóticas, es importante tratar de identificar estos agentes a la mayor brevedad posible. Hemos visto en el Laboratorio de Micología del HUC un aumento significativo de muestras contaminadas con hongos saprófitos, tanto en el esputo, LB y LBA.

Poco se hace mención en la literatura del estudio ecológico de los hongos en el ser humano (2). Un estudio realizado por Okudaira et al. 1977 (7),

menciona como objetivos principales la presencia o no de hongos en el parenquima pulmonar, cuándo existen, en qué número pueden estar involucrados y donde se ubican anatómicamente. Por último, estos hongos pertenecían a los mismos géneros encontrados en el ambiente. Estas preguntas nos hicieron pensar en la posibilidad de que nuestra contaminación no fuera tal, sino que respondiera a este último objetivo sugerido por estos autores. Intentando comprobar esta hipótesis, decidimos estudiar qué sucede con nuestros pacientes y consideramos oportuno dilucidar en el presente trabajo, si esta elevada contaminación era producto de:

- Inadecuada técnica de recolección de la muestra
- Inadecuada técnica micológica (procesamiento de la muestra)
- Aislamiento de hongos saprófitos que colonizan el tracto respiratorio.

En vista de la importancia que representa para el clínico un rápido y certero diagnóstico micológico del agente causal de la infección respiratoria, nos propusimos establecer las ventajas y/o desventajas del uso rutinario del LB, intentando comprobar los objetivos enunciados anteriormente.

MATERIALES Y MÉTODOS

Durante un período de seis meses (junio-noviembre 1992), se procesaron 146 muestras de lavado bronquial (LB), de pacientes adultos, tanto masculinos (90), como femeninos (56), correspondiendo al 61.6% y 38.4% respectivamente (Tabla 1), provenientes del Servicio de Neumonología del Hospital Universitario de Caracas (HUC), con afecciones del tracto respiratorio, y manifestaciones clínicas: tos, expectoración, disnea, hemoptisis, síndrome febril prolongado, pérdida de peso, etc., y alteraciones radiológicas que hiciesen pensar en estas patologías.

Tabla 1
Relación entre sexo y número de pacientes estudiados distribuidos por meses

MESES	MASCULINO	FEMENINO
Junio	18	12
Julio	12	5
Agosto	15	13
Septiembre	17	10
Octubre	9	8
Noviembre	19	8
Total	90	56
%	61.6%	38.4%

Método de obtención de la muestra: Lavado bronquial

Para la obtención del lavado bronquial, al paciente previamente se le administra, subcutáneamente, 12,5 mg de Demerol y una ampolla de Atropina. Luego se aplica xilocaina 1% en aerosol, tópicamente a nivel faríngeo y xilocaina 1% jalea, a nivel nasal. Posteriormente se conecta el paciente a un monitor para controlar la frecuencia cardíaca. Una vez finalizado este procedimiento se introduce el fibrobroncoscopio a nivel de una de las fosas nasales y a medida que se desciende por el árbol bronquial se administra una nueva dosis de xilocaina 1% a través del instrumento; el exceso de esta se remueve mediante una bomba de vacío. Al finalizar, se realiza una visualización del área pulmonar no afectada y luego donde existe la lesión, previamente detectada radiológicamente. Al localizarla se procede a instilar 20 ml de Neutrosol (solución hidroelectrolítica balanceada) a través del fibrobroncoscopio, recolectándose posteriormente el fluido en un envase estéril, mediante la aplicación de una presión negativa. Se repite este proceso en un determinado número de veces según la cantidad de muestra requerida y la misma se transfiere a envases estériles para su posterior estudio (bacteriológico, micológico, citopatológico, etc.).

Finalizado la toma de la muestra se retira el fibrobroncoscopio del árbol bronquial y se desinfecta con solución yodada, se lava con agua destilada y por último se seca con una corriente de oxígeno.

PROCESAMIENTO DE LAS MUESTRAS

Las muestras de LB fueron cultivadas en terrenos micológicos (Sabouraud-dextrosa-agar y mico-sel) en tubos en bisel, utilizándose dos de cada uno e incubándolos, respectivamente, a temperatura ambiente y a 37 °C. Alicuotas de las muestras fueron utilizadas para realizar examen directo entre lámina y laminilla (usando KOH al 20% en aquellas muestras purulentas) y coloraciones tales como Gram y Wright. Una vez observado el crecimiento macroscópico del hongo se procedió a su aislamiento en tubos y realizándose, posteriormente, macrocultivos en placas y microcultivos en lámina [Técnica de Ridell (5)]. Para su identificación se tomó en cuenta las características macroscópicas de las colonias (aspecto, reverso, color, pigmento difusible, bordes, etc.) y microscópicas (estructuras sexuales características, hifas tabicadas o no, color de las mismas, etc.).

Las colonias levaduriformes, morfológicamente

compatibles con *Candida* spp., fueron cultivadas en el medio Bilis agar y su posterior observación entre lámina y laminilla, después de 48 horas, para visualizar la formación de Clamidosporas, que nos permitió clasificarlas como *Candida albicans*. Otras levaduras no pertenecientes al género *Candida* se identifican de acuerdo a su morfología macro y microscópica (examen al fresco y tinta china). Aquellas que eran capsuladas se sembraron en el medio Urea agar para observar el viraje del color.

RESULTADOS

Exámenes directos y coloraciones Todas las muestras estudiadas fueron observadas previamente al microscopio (aumentos: 10X-40X-100X). De la observación realizada se encontró, en tres muestras, estructuras fúngicas compatibles con *Cryptococcus neoformans* y *Paracoccidioides brasiliensis*, y en otras tres visualizamos blastosporas aisladas, gemantes y pseudohifas, sugestivas de *Candida* spp. En nuestro reporte no hubo una correlación entre los resultados obtenidos, posteriormente, por cultivo con los exámenes directos ni las coloraciones examinadas.

CULTIVOS

De un total de 146 muestras de LB (Gráfico 1) observamos un 37.7% de casos negativos, con un 12.3%, de aislamientos de *C. albicans* exclusivamente, 2.7% de las otras levaduras encontradas fueron clasificadas como *Candida* spp. sin llegar a determinar su especie. Un solo caso (0.7%) de aislamiento mixto de hongos patógenos fue reportado (*Histoplasma capsulatum*-*Cryptococcus neoformans*) en un paciente con SIDA. Otro reporte significativo fue el proveniente de un caso con este síndrome, al cual se le aisló *Paracoccidioides brasiliensis*, que junto con otro caso que presentaba el mismo hongo, sumó 1.4% en total.

Es importante destacar que del total de muestras procesadas, 57 (39%), presentaron contaminación por dos y hasta seis hongos saprófitos, aislados e identificados, como se observa en el Tabla 2, en la cual se puede visualizar que los hongos que con más frecuencia se aislaron, pertenecen, a los géneros *Penicillium* spp (33.2%), *Cladosporium* spp (14.6%) y *Aspergillus* spp (9.2%). el resto de los aislamientos (57.2%) pertenecían a otros géneros.

Tabla 2

Aislamientos de hongos contaminantes y/o saprofitos en lavado bronquial

GÉNEROS	N	SUBTOTAL	TOTAL
Penicillium spp.	29	39.1%	33.2%
P. rubrum	3	3.1%	
Cladosporium spp.	14		14.6%
Aspergillus spp.	3	3.1%	
A. niger	2	2.1%	
A. flavus	1	1.0%	9.2%
A. glaucus	1	1.0%	
A. fumigatus	1	1.0%	
A. terreus	1	1.0%	
M. sterilia	7		7.3%
Fusarium spp.	6		6.3%
Acremonium spp.	5		5.2%
Paecilomyces spp.	4		4.2%
Graphium spp.	3		3.1%
M. sitophila	3		3.1%
Rhodotorula spp.	2		2.1%
Chrysosporium spp.	2		2.1%
Arthobotrys spp.	1		1.0%
Geothrichum spp.	1		1.0%
Drechslera spp.	1		1.0%
Sipedonium spp.	1		1.0%
Verticillium spp.	1		1.0%
Demateaceae spp.	1		1.0%
No Identificados	3		3.1%

N: Número de aislamientos

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

Considerando a *C. albicans* un hongo comensal de las vías aéreas superiores, en nuestro trabajo, el porcentaje de su aislamiento, conjuntamente con otras especies de *Candida*, no nos parecen significativos como agentes productores de afecciones del tracto respiratorio, ya que no fue posible asociarlos a estas patologías por no poder reaislarlas de otras muestras (sangre, orina, médula ósea, etc.). Estos hallazgos confirman lo reportado anteriormente por algunos autores (4,15). Es de hacer notar que en un porcentaje correspondiente al 4.8% de los aislamientos de *C. albicans* (Gráfico 1) fueron encontradas conjuntamente con hongos saprofitos, lo cual descarta de otra manera su implicación en los cuadros clínicos estudiados.

Si observamos el número de muestras analizadas en seis meses (Gráfico 2) notamos que existe una

fluctuación uniforme de los aislamientos de *Candida albicans*, lo cual podría corroborar lo anteriormente expuesto al considerar a este hongo como un comensal frecuentemente aislado en el tipo de muestra estudiada (LB).

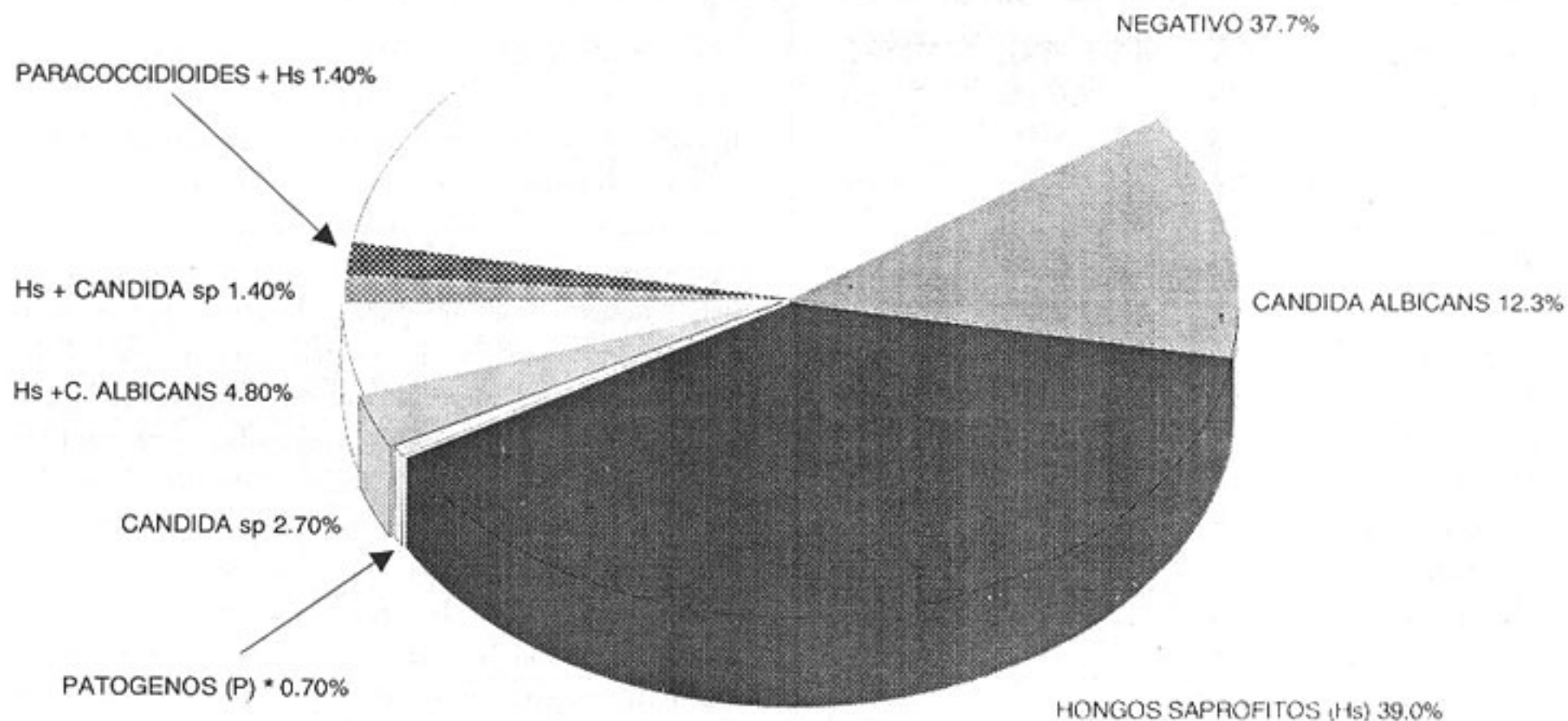
El 37% de muestras negativas permiten sugerir una baja sensibilidad del método de obtención de la muestra y/o un reducido número de medios de cultivo para el aislamiento de hongos patógenos del tracto respiratorio, ya que las patologías estudiadas orientan, significativamente, al aislamiento o identificación de dichos hongos. Por otra parte, el procesamiento de la muestra no conllevó la centrifugación de dicho material, como es sugerido por otros autores (13), por no contar con los equipos adecuados para realizar dicho procedimiento, en la forma indicada, donde tal vez el porcentaje de positividad hubiese aumentado.

Merece nuestra atención el gran número de muestras contaminadas con hongos saprofitos, tal como observamos en el Gráfico 2. Esto hace pensar en una deficiente asepsia en el momento de la toma de la muestra, lo cual fue corroborado por nosotros.

También se pudiese pensar que este elevado porcentaje de contaminación, fuese debido a un inadecuado procesamiento de la muestra "per se" en el laboratorio de micología, ya que no contamos de igual manera con un ambiente aséptico (Campana de flujo laminar) que disminuiría, probablemente el porcentaje de contaminación. Sin embargo en el procesamiento rutinario de otras muestras patológicas no se observó tal índice de contaminación.

El elevado porcentaje de aislamiento de hongos saprofitos del aire (39.0%) nos hace pensar que el mismo, es producto de una contaminación de las muestras en el momento de su recolección o de su procesamiento en el laboratorio. Sin embargo, existen reportes en la literatura (7) que explican la directa asociación de estos hongos con el Parenquima pulmonar, debido a que por la inhalación de sus esporas, pudiesen estos estar presentes transitoriamente en el pulmón, en el momento de la obtención de la muestra sin producir ninguna patología, a excepción de hongos saprofitos como los pertenecientes al género *Aspergillus*, que pueden causar patologías broncopulmonares (8). En nuestro estudio aunque se aisló este género (9.7%), no pudimos confirmar su implicación en los cuadros reportados, ya que fue imposible contar con otras muestras de LB para confirmar nuestros hallazgos. Este resultado sería conveniente tenerlo en consideración para futuras

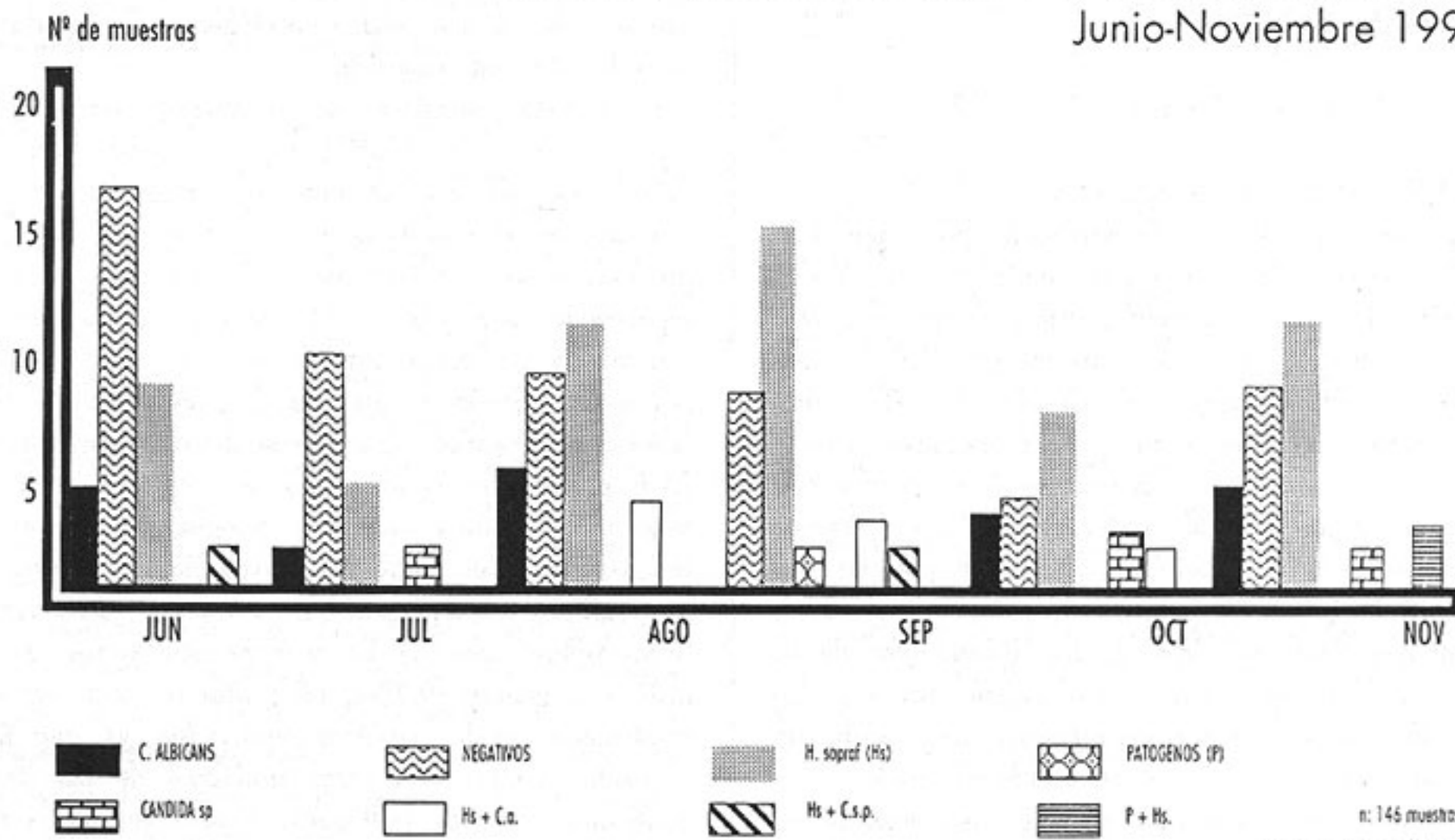
Gráfico 1
ESTUDIO MICOLOGICO EN LAVADOS BRONQUIALES
Junio-Noviembre 1992



n: 146 muestras

SEC. de MICOLOGIA DEP. de BIOANALISIS HUC

Gráfico 2
ESTUDIO MICOLOGICO EN LAVADOS BRONQUIALES
Junio-Noviembre 1992



n: 146 muestras

H. capsulatum y *C. neoformans*

investigaciones.

El ambiente físico y el procedimiento técnico de obtención de LB, nos permite sugerir que el mejorar estas condiciones, podríamos disminuir el número de aislamientos de hongos saprófitos, permitiendo quizás, al modificar las técnicas micológicas, aislar e identificar un número mayor de agentes productores de micosis pulmonares. Por otra parte, en este trabajo no se procedió a tomar muestras del aire, lo cual nos daría un indicativo valioso, para futuros trabajos, de contaminación de ambientes físicos y su importancia en la asepsia en el momento de este u otro procedimiento de la toma de muestra para estudios micológicos.

AGRADECIMIENTOS

Queremos expresar nuestro agradecimiento al Lic. Oscar I. Silva, Jefe del Departamento de Bioanálisis del Hospital Universitario de Caracas (HUC), al Dr. López Antonini, Jefe del Servicio de Neumología del HUC y a la Dra. Elizabeth Delgado, coordinadora del Internado Rotatorio de la Escuela de Bioanálisis, Facultad de Medicina, U.C.V. por el apoyo prestado al permitir la realización del presente trabajo.

También queremos manifestar nuestro agradecimiento al Dr. José D. Contreras y al Dr. Francisco Pérez, del Servicio de Enfermedades Infecciosas HUC, así como a los señores Angel Luna y Alí D'León que colaboraron en la preparación de los medios de cultivo.

BIBLIOGRAFÍA

- Baughman R.P.; Dohn M.N. Loudon R.G.; Frame P.T.: Bronchoscopy with bronchoalveolar lavage in tuberculosis and fungal infection. *Chest* 99: 92-97, 1990.
- Comstock G.W.; Palmer C.E.; Stone R.W.; Godman N.L.: Fungi in the sputum of normal men. *Mycopathologia* 54: 54-62, 1974.
- Jackson C. Bronchoscopy: past, present and future. *N. Engl J Med* 199:759-763, 1928.
- Marcano C.: El cepillo de dientes en la ecología de *Candida albicans*. *Mycopathologia* 74: 135-141, 1981.
- Moore G.S.; Jaciow D.M.: *Mycology for the clinical laboratory*. 10a edition, Reston Publishing Company Inc. USA. 1979.
- Ognibene F.P.; Shelhamer J.; Gill V.; Macher A.M.; Loew D.; Parker M.M.; Gelman E.; Fauci A.S.; Parrillo J.E. Masur H.: The diagnosis of *Pneumocystis carinii* pneumonia in patients with the acquired immunodeficiency syndrome using subsegmental bronchoalveolar lavage. *Am Rev Respir Dis* 129:929-939, 1984.
- Okudaira M.; Kurata H.; Sakabe F: Studies on the fungal flora in the lung of human necropsy cases. A critical survey in connection with the pathogenesis of opportunistic fungus infections. *Mycopathologia* 61: 3-18, 1977.
- Okudaira M. Schawarz J.: Tracheobronchopulmonary mycoses caused by opportunistic fungi with particular reference to Aspergillosis. *Lab Invest* 11: 1053-1064, 1962.
- Patterson E.: History of bronchoscopy and esophagoscopy for foreign body. *Laryngoscope* 36: 157-175, 1926.
- Ramírez R.J. Keiffer R.F. Jr.; Ball W.C.: Bronchopulmonary lavage in man. *Ann Intern Med* 63: 819-828, 1965.
- Ramírez R.J.; Schultz R.B.; Dutton R.E.: Pulmonary alveolar proteinosis. A new technique and rationale for treatment. *Arch Intern Med* 112: 419-431, 1963.
- Reynolds H.Y: Bronchoalveolar lavage: *Am Rev Respir Dis* 135: 250-263, 1987.
- Roberts G.D.; Karlson A.G; De Young D.r.: Recovery of pathogenic fungi from clinican specimens sublimated for mycobacterial culture. *J clin Microbiol* 3: 47-48, 1976.
- Rogers R.M; Braunstein M.S.; Shuman Jr: Role of bronchopulmonary lavage in the treatment of respiratory failure: A review. *Chest* 62 (suppl): 95-106, 1972.
- Sander O; Mata M: *Candida albicans* como saprofito de la mucosa lingual. *Derm Venez XVI*: 60-74, 1974.
- Sobonya R.E.; Barbee R.A.; Wiens J; Trejo D: Detection of fungi and other pathogens in immunocompromised patients by bronchoalveolar lavage in an area endemic for coccidioidomycosis. *Chest* 97: 1349-1355, 1990.
- Stitt H: Bronchial aspiration and irrigations with a hipertonic saline solution. *J Med Cincinnati Acad*: 112-117, 1927.
- Stover D.E.; Saman M.B; Hajdu S.I.; Langa M.; Gold J.; Armstrong D: Bronchoalveolar lavage in the diagnosis of diffuse pulmonary infiltrates in the immunosupressed host. *Ann Intern Med* 101: 1-7, 1984.

METODOS DIAGNOSTICOS EN HEPATITIS C

Isabel Massin Bocca * y Félix Toro**

* Laboratorios Géminis, C.A. ** Instituto de Inmunología, U.C.V.

(Charla presentada durante el VI Congreso Venezolano de Bioanálisis)

(aceptado para su publicación: 6 agosto 1993)

INTRODUCCION

Luego del desarrollo de metodologías diagnósticas para detectar los dos tipos de Hepatitis más frecuentes, la hepatitis A y la hepatitis B, se observó que persistía un grupo de pacientes que presentando una hepatitis viral, no respondían a ninguna de estas pruebas serológicas. Básicamente, estas hepatitis No A No B (Hep. NANB), pueden dividirse en tres grupos. Uno, de transmisión oral-fecal, identificado como hepatitis E. El segundo típicamente transfusional, se ha denominado hepatitis C. En cuanto al tercero, aún no se ha identificado el agente y su etiología sigue siendo desconocida. El virus de la hepatitis C, es responsable de la mayoría de las hepatitis transfusionales. Esto se descubrió cuando al eliminar la sangre contaminada con hepatitis B, el 5 al 10% de los receptores de trasfusiones continuaban contrayendo hepatitis. Las personas contaminadas, desarrollan en un 50 a 70% cronicidad, con el concomitante riesgo de pasar a un carcinoma hepático (DeLeys, 1993).

El virus de la hepatitis C, HCV, tiene como material genético una molécula de ARN con una longitud aproximada de 9400 nucleótidos, que codifican unos 3000 aminoácidos. Estos aminoácidos proteínicas estructurales o proteínicas funcionales como proteasas, etc., llamadas proteínicas no estructurales. Un esquema del virus se presenta en la Fig. 1 (DeLeys, 1993). Es un virus de envoltura lipídica, con un diámetro de

aproximadamente 30 a 60 nm., y que en base a sus semejanzas estructurales con los géneros flavivirus y pestivirus se considera un miembro de la familia flaviviridae (Houghton et al, 1991).

Dada la importancia de este virus, se hacía perentorio el desarrollar un método para identificarlo. La identificación por "inmunoscreening" usando un clon de DNA complementario (clon 5-1-1) que codifica un polipéptido antigénico, la subsecuente utilización de este clon para obtener otras fracciones de DNA complementario solapadas y descifrar así el genoma, y por último la demostración de que el virus realmente existía y la designación oficial como HCV fueron aportes muy importantes de la corporación Chiron, quienes hicieron posible el desarrollo del primer kit diagnóstico (DeLyes, 1993).

METODOLOGÍAS DIAGNÓSTICAS PARA HCV:

Hasta el presente se utilizan tres metodologías básicas para diagnosticar la presencia del HCV:

1. Métodos Elisa:

Son hasta el presente los métodos utilizados para el despistaje primario de la infección, corrientemente empleados en Bancos de Sangre y laboratorios. Existen dos corrientes importantes: las versiones basadas en la patente de Chiron y las versiones basadas en los desarrollos de Innogenetics.

2. Métodos Inunoblot:

Para verificar los resultados obtenidos por ELISA, los fabricantes antes mencionados desarrollaron métodos inmunoblot (con antígenos ligados en bandas a una superficie sólida, celulosa o nylon) más sensibles y específicos.

3. Técnicas de PCR:

La técnica de Reacción en Cadena de la Polimerasa, la cual detecta la presencia de material genético específico, se ha estado utilizando para identificar viremia y en muchos casos como método alternativo en casos dudosos o contradictorios obtenido por los anteriores.

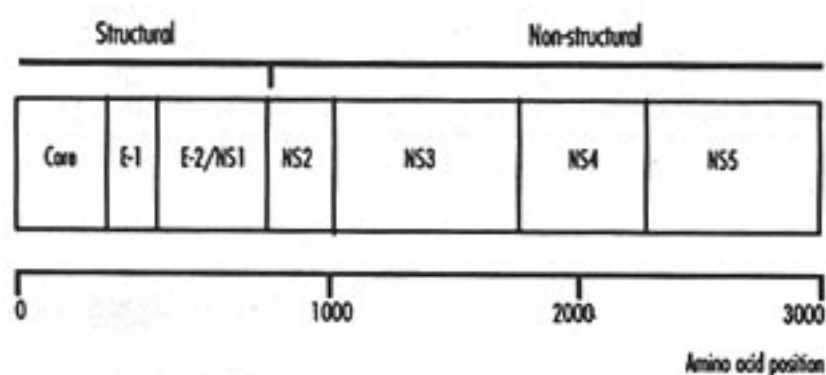


Fig.1 Esquema del genoma del HCV y de las posiciones de los aminoácidos que codifica (De Leys, 1993)

MÉTODOS DE ELISA:

Como ya mencionamos existen dos corrientes básicas en el desarrollo de pruebas de ELISA para el diagnóstico de la hepatitis C:

1. Chiron Corporation: Esta compañía desarrolló el primer kit diagnóstico para HCV en 1989 (Kuo, Choo, Alter et al, 1989) utilizando el antígeno c100-3, una proteína no estructural. Este antígeno ha sido utilizado por las marcas Ortho Diagnostics y Abbott Laboratories, de manera que ambos detectan los mismos anticuerpos. Para el desarrollo del producto se utilizó la tecnología de antígeno recombinante.

Esta primera versión resultó pobre en sensibilidad y especificidad, dando sobretodo un elevado número de falsos positivos, por lo cual se desarrolló una segunda versión en la que se incluyen además del c100-3, otra proteína no estructural la c200 y una proteína estructural la c-22-3, a fin de mejorar la calidad del kit (Nakatsuji et al, 1992). Esta nueva versión también utiliza antígenos recombinantes.

Los resultados sin embargo aún no son del todo satisfactorios, pues el número de positivos falsos es aún elevado, por lo que Chiron está por desarrollar una tercera versión de su ELISA.

2. Innogenetics N.V.: Esta compañía belga desarrolló en 1991 su primer kit diagnóstico para HCV, utilizando una tecnología diferente a Chiron. En primer lugar, incluyeron desde su primera versión proteínas estructurales del core, junto con dos proteínas no estructurales diferentes al c100-3, correspondientes a las regiones NS4 y NS5. En segundo lugar, esta compañía utiliza péptidos sintéticos en vez de antígenos recombinantes.

La primera versión del kit contenía 1 péptido para las proteínas del core, 1 péptido para NS4 y 2 péptidos para NS5. La segunda versión mejoró sensiblemente su sensibilidad y sobre todo su especificidad aumentando 3 péptidos para NS4 y 3 péptidos para NS5.

MÉTODOS INMUNOBLOT:

1. Chiron Corporation: al igual que en sus versiones de ELISA, los inmunoblots de Chiron utilizan antígenos recombinantes dispuestos sobre una tira de

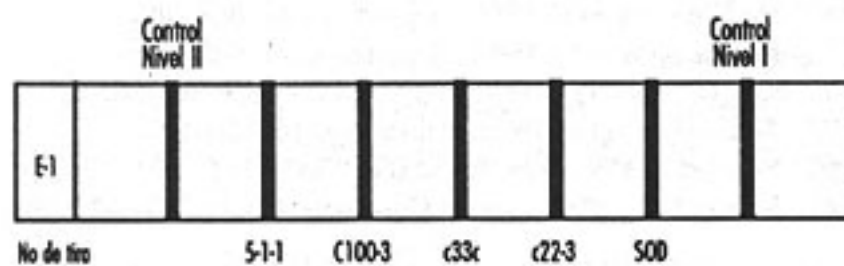


Fig. 2 Tira de Chiron Riba HCV Test System

nitrocelulosa. Una primera versión del producto comercial, RIBA de Ortho Diagnostics, incluía una banda para c-100-3 y una banda para 5-1-1. En la segunda versión incluyeron las proteínas de las que ya hemos hablado en el ELISA. El esquema de la tira que está disponible actualmente se representa en la Fig. 2., tal y como aparece en el inserto del producto. como puede verse existen dos bandas de control para el suero y una para la superoxidodismutasa. La interpretación de los resultados se hace por comparación con estas bandas.

2. Innogenetics N.V.: También en los inmunoblots, Innogenetics utiliza péptidos sintéticos, ligados en cambio a una malla de nylon para hacer las bandas más claras. Desde su primera versión, fueron incluidas 4 bandas para proteínas no estructurales del core (c1, c2, c3, c4) y dos para proteínas no estructurales NS4 y NS5. Se incluían cuatro bandas de control a objeto de hacer más precisa la identificación. Las proteínas no son corridas electroforéticamente y luego trasladadas al soporte, sino que los péptidos están ligados directamente al nylon para lograr bandas más nítidas (Pollet et al, 1991).

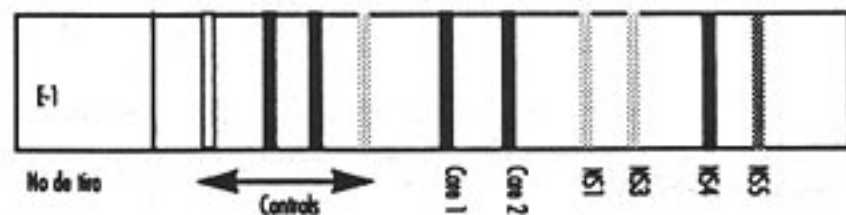


Fig. 3 Tira de Innolia HCV, tercera versión. El control blanco es un control de Estreptavidina, los tres siguientes de suero. Las bandas de core mantienen dos péptidos cada una (c1, c2 y c3, c4 respectivamente)

Una nueva versión acaba de ser lanzada este año incluyendo péptidos nuevos. Un esquema de la banda se muestra en la Fig. 3, tomada del inserto del producto. Los 4 péptidos del core se preservan, ubicándose c1 y c2 en una banda y c3 y c4 en otra. Los péptidos nuevos incluidos son el E2/NS1 (estructural) y el NS3 (no estructural), con el objeto de incrementar la sensibilidad y hacer detección temprana en la seroconversión respectivamente, según lo indica el fabricante.

Dado que las características que utilizan estas casas son diferentes, con frecuencia se presentan discrepancias en los resultados entre las distintas corrientes tanto de ELISA como de inmunoblot. Esto puede ser debido a que los antígenos que se utilizan difieren tanto en número como en la naturaleza misma del antígeno. Para ejemplarizar esta situación, en la Fig. 4 podemos ver los diferentes antígenos que se

utilizan en los inmunoblot citados, en correspondencia con la región peptídica del virus que evalúan.

Por otra parte, los antígenos no son del mismo origen. Los recombinantes son extraídos de células a las que se les ha insertado una región de material genético que codifica para una determinada proteína del virus. En el caso de RIBA, por ejemplo, los 5-1-1- y c33c son producidos en *E. coli* y el c100-3, c22-3 y SOD son producidos en levaduras. Se ha publicado que pueden darse reacciones inespecíficas del suero de los pacientes que puedan contener anticuerpos contra las proteínas de estas células resultando falsos positivos. Los péptidos sintéticos son sintetizados químicamente y en

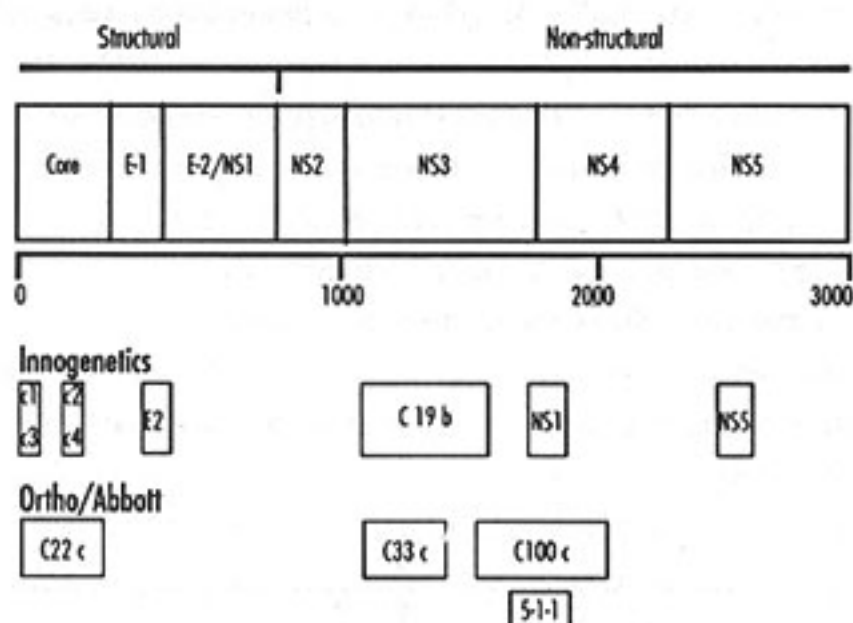


Fig. 4 Ubicación de los antígenos detectados por Innogenetics y Chiron (Ortho, Abbot) en relación al genoma del HCV

consecuencia son mucho más puros, teniendo menos probabilidad de producirse una reacción inespecífica (Valerie, 1991).

Hay que tener en cuenta también que el hallazgo del HCV es relativamente reciente. Si tomamos en cuenta que el primer kit fue desarrollado en 1989, podríamos hacer un paralelismo y pensar que estamos en una situación equivalente al empleo de los kits de HIV en 1986. Aunque el desarrollo en la tecnología molecular es acelerado, todavía tendremos que esperar un tiempo hasta alcanzar para los métodos diagnóstico en HCV, la sensibilidad y especificidad a la que estamos acostumbrados en otros parámetros como HIV o Hepatitis B. A esto se suma que estamos ante un virus difícil, de alta tasa de mutación y del que ya se han descubierto varios subclases (Chan, Simmonds et al, 1991).

Una de las características de la infección por HCV es la baja viremia reportada en individuos crónicamente infectados por el virus (Chuthbert, 1990). La incorporación de técnicas de detección de ácidos

nucleicos, tan sensibles como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) ha permitido evaluar con más detalle el proceso de infección del HCV, lográndose la identificación de secuencias virales específicas en etapas tempranas de la misma.

Es así como dicha estrategia metodológica es considerada hoy en día (por algunos) el único método práctico con el que se demuestra viremia en individuos infectados con HCV (Garson et al, 1990, Inchauspe et al, 1991, Bukh et al, 1992). La técnica de PCR permite identificar cantidades verdaderamente ínfimas del virus mediante un proceso de amplificación enzimática del ARN viral.

La amplificación es llevada a cabo a través de una serie de reacciones que involucran una primera etapa de síntesis de ADN complementario (ADNc) mediante transcripción reversa y la posterior amplificación de regiones específicas presentes en la secuencia de ADNc. El estudio de la biología molecular del HCV ha permitido identificar secuencias altamente conservadas de la región 5 no codificante del genoma viral que resulta sumamente útiles para el diagnóstico de la infección mediante técnicas de biología molecular (Inchauspe, 1991; Bukh, 1992).

La introducción de variantes metodológicas como la PCR en dos etapas o "ested PCR" ha permitido evaluar aún más el nivel de detección del ARN viral presente en sangre, permitiéndose con esta estrategia la visualización, mediante electroforesis en geles de agarosa y tinción de bromuro de etilo, de las secuencias virales amplificadas (Inchauspe et al, 1991). Actualmente, la prueba de PCR para el HCV es empleada únicamente como una herramienta importante de estudio de esta infección viral. Su uso como técnica de diagnóstico rutinario resulta bastante compleja debido a lo laborioso y extenso del ensayo, así como al cuidado y rigurosidad que se exige en la manipulación de las muestras que van a ser analizadas.

BIBLIOGRAFÍA

1. Beenhovwer et al. 1992. *Voc Sang* 63: 198-203
2. Bukh J. et al 1992. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89: 187-191.
3. Chan S.; Simmonds P. et al 1991. *Lancet* 38:1391.
4. Cuthbert J.A. 1990. *Am J Med Sci.* 299:346-355.
5. DeLeys r. 1993. *Current Drugs LTD.* Mayo.
6. Houghton M. et al 1991. *Hepatology* 14: 381-388.
7. Inchauspe G. et al 1991. *Hepatology* 14: 595-600
8. Kuo G.; Choo Q.L. et al 1989. *Science* 244: 362-305.
9. Nakatsuji Y. et al 1992. *Hepatology* 16: 300-305.
10. Pollet et al 1991. *Clin Chem* 37: 1700-1707.
11. Valery N.L. 1991. *Clinical Chemistry* 37: 1667-1668.

NUEVAS TECNICAS DE ELISA APLICADAS AL DIAGNOSTICO DEL TORCH

Isabel Massin Bocca

Laboratorios Géminis C.A.

Resumen del taller presentado durante el VI Congreso de Bioanálisis en Margarita

(aceptado para su publicación: 6 agosto 1993)

Como todos sabemos, los agentes infecciosos, en su mayoría virales, agrupados bajo las siglas anglosajonas de Torch (Toxoplasmosis, Others, Rubeola, Citomegalovirus, Herpes) son responsables de cuadros patológicos que pueden estar desde la inocuidad del portador silencioso hasta cuadros muy graves si se presentan durante la gestación o cuando el organismo tiene comprometido su sistema inmunológico (1). El diagnóstico de estas afecciones resulta cada día más importante y por ello las técnicas para detectarlos deben afinarse en el tiempo.

Usualmente estos agentes no se detectan de manera directa buscando las partículas infecciosas, antes bien se detectan los anticuerpos que el mismo organismo produce ante la presencia del agente.

Como se sabe, la sola presencia de anticuerpos en la muestra de un paciente no es indicativo de enfermedad, ya que muchos pueden haber tenido contacto con la partícula infecciosa sin que por ello se desarrolle ninguna patología. Lo que es indicativo de enfermedad es por un lado la presencia de IgM, que indica una infección reciente o por otro lado una gran cantidad de anticuerpos IgG, que significa que la infección es aguda, o una reactivación, y que por lo tanto los anticuerpos IgM ya han desaparecido. La capacidad de poder distinguir entre estas situaciones es lo que da a las diferentes metodologías una mayor capacidad diagnóstica.

Las técnicas tradicionales han tratado de resolver este problema haciendo diluciones de las muestras positivas hasta encontrar aquella donde desaparece la positividad, o lo que es lo mismo, hallar el título de la muestra. Sin embargo, las técnicas de titulación tienen algunas desventajas, se ha demostrado que pueden verse afectadas significativamente por errores de pipeteo y por muestras no homogéneas, inconvenientemente mezcladas (2). Es por ello que deben aceptarse para este tipo de técnicas un error entre 1 a 2 diluciones (3). Estas circunstancias hacen

de los métodos que utilizan las titulaciones métodos semicuantitativos, puesto que el resultado es una aproximación a la cantidad de anticuerpos presentes.

Las titulaciones se utilizan corrientemente en las técnicas que detectan anticuerpos totales, como la hemaglutinación y la fijación de complemento, que si bien son útiles, sencillas y económicas, no tienen la capacidad de diferenciar tipo de anticuerpo ni tienen la sensibilidad de otras técnicas como la inmunofluorescencia y el ELISA. Estas diferencian tipos de anticuerpos, tienen una mayor sensibilidad, pero resultan más costosas y el pretender hacer títulos o curvas de referencia por la más sensible de todas ellas, el ELISA, era hasta 1992 un procedimiento poco factible en la rutina.

En 1992 se desarrolló en Alemania, un procedimiento que permite detectar el título de una muestra en una sola dilución, utilizando la metodología ELISA. La misma pertenece a la firma Behring Diagnostika, representada en Venezuela por Laboratorios Géminis y se denomina método alfa, por ahora se aplica a la cuantificación de los títulos o concentraciones de los anticuerpos IgG.

El método se basa en la estandarización por parte del fabricante de cada lote de reactivo mediante la utilización de dos constantes ∂ y β . A partir de la revisión de los resultados de cada lote frente a curvas de calibración realizadas con cambios de variables controlados, los valores de ∂ y β son calculados por un procedimiento matemático, un método iterativo basado en la estrategia de mutación-selección (Meyer y Doptaka, en preparación, citado en 4).

El título se obtiene a partir de la fórmula:

$$\log_{10} \text{ título} = \partial \cdot OD^{\beta} \quad (*)$$

Donde ∂ y β son las constantes dadas por el fabricante para cada lote, y que se incluyen dentro de cada kit, y OD es la densidad óptica de cada muestra,

de manera que a a partir de la lectura de un solo pozo, se obtiene el título del paciente, sin necesidad de diluir.

Ese mismo año, Dopatka y Giesendorf, compararon los resultados de muestras obtenidos a partir del método alfa con aquellos logrados por ELISA utilizando diluciones y curvas de referencia. Los resultados no solo fueron equivalentes, sino que además los del método alfa mostraron un coeficiente de variación menor. Los autores concluyen que los resultados por este método son equivalentes a la titulación con ELISA en exactitud y superiores en precisión, economizando tiempo y dinero (4).

Otras ventajas del método alfa sobre las titulaciones, es que el comportamiento de los resultados es continuo y no discreto, como puede observarse en la Fig. 1 (tomada del folleto promocional "Single Point Quantification de Behringwerke, Marburg, Alemania), lo que ubica el resultado del paciente en un valor puntual y no en un intervalo de valores. Esto permite detectar diferencias pequeñas en los valores del paciente, que no son apreciables por titulación, como se ilustra en la Fig. 2 (tomada del folleto promocional "Single Point Quantification de Behringwerke, Marburg, Alemania).

El método tienen un control interno por paciente para descartar la presencia de la mayoría de los falsos positivos. Como se sabe, los virus no tienen la capacidad de reproducirse por si solos, y para su cultivo deben utilizarse células a partir de las cuales se multiplica. Si eventualmente el paciente ha desarrollado inmunidad contra la célula utilizada en el cultivo tendremos un positivo que no se debe al virus, la cual es la principal causa de los resultados falsos

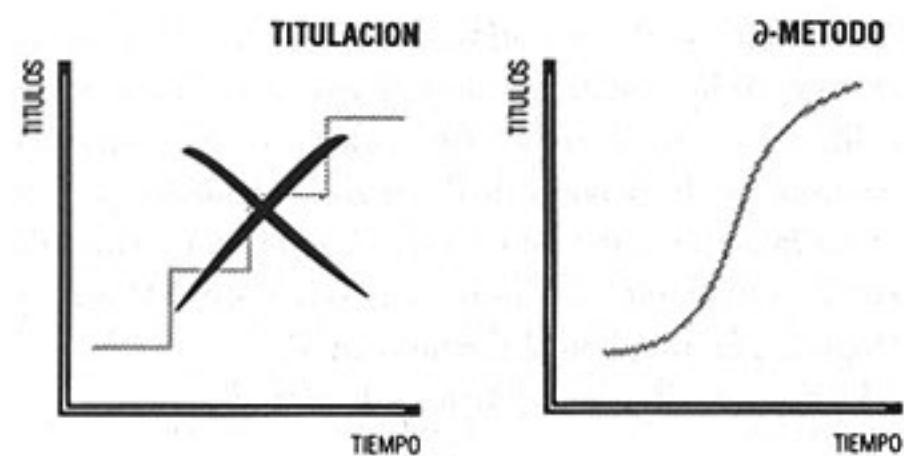
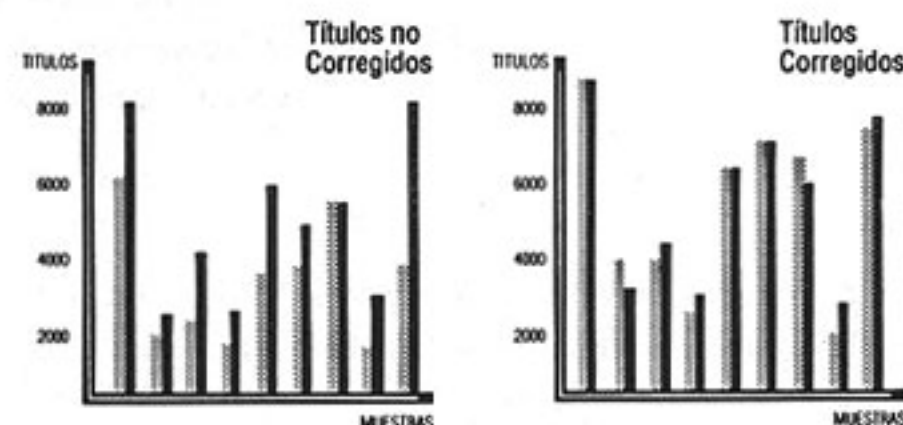


FIGURA 1 NUEVAS TECNICAS DE ELISA APLICADAS AL DIAGNOSTICO DEL TORCH

positivos en los ELISA aplicados a la detección viral. Esta metodología utiliza un pozo recubierto con las proteínas virales para atrapar los anticuerpos contra el

virus y un pozo de control recubierto con las proteínas celulares. La absorbancia de la muestra es la diferencia entre estas lecturas.

FIGURA 2



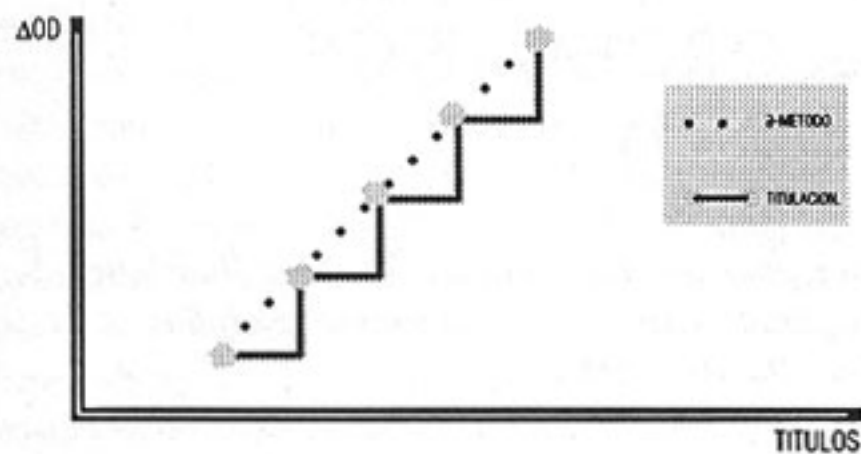
Otra estrategia de control la constituye la presencia del control positivo en el kit, lo cual tiene múltiples propósitos. En primer lugar es el control positivo del ensayo en sí en el sentido usual de todo ELISA. En segundo lugar, lleva el control de calidad, puesto que sus absorbancias deben colocarse entre un intervalo dado por el fabricante (como si se tratara de un control comercial). Por último, la absorbancia del control obtenida en el ensayo se compara con la absorbancia nominal obtenida por el fabricante, para lograr un factor de corrección para las muestras (*).

Este factor de corrección es muy importante, porque permite disminuir las diferencias que por efecto de factores externos como las temperaturas, operarios, instrumentos, entre otros, puedan presentarse en las densidades ópticas, tanto intra laboratorios como inter laboratorios, haciendo que los resultados de diferentes instituciones puedan ser comparables, como se ilustra en la Fig. 3 (tomada del folleto promocional "Single Point Quantification de Behringwerke, Marburg, Alemania).

Las técnicas son homogéneas entre las distintas pruebas, tanto en el número como en la duración de las incubaciones, de manera que pueden realizarse simultáneamente, por ejemplo: Toxo IgG e IgM, CMV IgG e IgM y Rubéola IgG e IgM, juntas como si fuera una sola prueba. Para ello los reactivos son universales: un solo buffer de lavado, un solo sustrato, un mismo conjugado para las IgG y otro para las IgM, un mismo buffer de dilución para las IgG y otro para las IgM, haciendo la diferencia los antígenos ligados a la placa.

El poder llegar a determinar el título o las concentraciones en UI/ml de una muestra desconocida empleando tan solo un micropozo de ELISA y un

FIGURA 3



control, es toda una innovación en el diagnóstico del TORCH. El poder detectar certeramente la cantidad de IgG, junto con la presencia o ausencia de IgM, utilizando la metodología más sensible de la que disponemos para el TORCH, da una mayor visión diagnóstica en este campo.

BIBLIOGRAFÍA

1. Krugman S.; Katzman S.; Gershon A.; Wilfert C. 1985. *Enfermedades Infecciosas*. 8ª Edición. Editorial Interamericana Mc Graw Hill. México D.F.
2. Husson-van Vliet I.; Roussel P. 1988. "Pipeting Errors in viral titration: A useful approach". *J Virol. Methods* 22: 183-190.
3. De Savigny D.; Voller A. 1980. "The communication of ELISA data from laboratory to clinician". *J. Immunoassay* 1:105-128.
4. Dopatka H.D.; Giesendorf B. 1992. "Single Point Quantification of Antibody by ELISA without Need of a Reference Curve". *J Clin Lab Analysis* 6: 147-492.

(*) El fabricante puede proveer de una calculadora especial para facilitar el cálculo.

INCIDENCIA DE ESTREPTOCOCOS BETA HEMOLITICOS EN LA OROFARINGE DE NIÑOS SANOS

Mary Araujo, Ana María Hernández, Doris Montaner, Josefina Rodríguez y Minerva Rodríguez
Cátedra de Microbiología, Escuela de Bioanálisis, Facultad de Medicina, Universidad del Zulia
(aceptado para su publicación: 25 abril 1993)

Este trabajo se hizo acreedor al Premio "Profesora Franca Billi", otorgado por la Sociedad Venezolana de Bioanalistas Especialistas en 1993.

RESUMEN

Se determina la incidencia del Streptococcus beta hemolítico del grupo A y otros estreptococos beta hemolíticos en la orofaringe de 231 escolares sanos con edades comprendidas entre 7 y 12 años que acuden a la Institución "Fundación del Niño" del Estado Zulia, durante el período Octubre 1991-Julio 1992. La muestra de exudado faringeo es obtenida y colocada en medio de transporte de Cary y Blair, y luego es inoculada en placas de agar sangre de carnero con kanamicina (atmósfera de anaerobiosis) y en agar sangre de carnero (5-10% CO₂) ambas incubadas a 35-37 °C, durante 18-24 h. A las colonias compatibles con estreptococos beta hemolíticos se les realiza un frotis coloreado con la técnica de Gram, si la morfología es compatible con la familia Streptococcaceae se procede a la identificación presuntiva siguiendo la metodología descrita por Facklam y colaboradores. La identificación definitiva se determina por pruebas serológicas empleando la técnica de Slide Strepto Kit. De las 231 muestras estudiadas 76 (32.90%) resultan positivas, correspondiendo para el grupo B 23 (30.20%), no agrupables 17 (22.37%), grupo G 15 (19.74%), grupo A 13 (17.10%) y grupo C 8 (10.53%). Por otra parte se encuentra que los grupos A, C y no agrupables serológicamente muestran el mayor porcentaje de aislamientos entre las edades de 9 y 10 años, el grupo G se aísla mayormente de escolares entre 7-8 años y el grupo B entre 7-10 años. En relación al sexo no se detecta una marcada variabilidad en los resultados de este estudio.

Tutoras:

- Messaria Ginestre

- Belinda Harris

Escuela de Bioanálisis, Universidad del Zulia

Palabras claves: Estreptococos beta hemolíticos. Escolares sanos. Orofaringe.

ABSTRACT

It is determined the incidence of beta haemolytic streptococci group A and other beta haemolytic streptococci on the oropharynx of 231 healthy scholars with ages between 7 and 12 years that come to the "Children Foundation Institute" of Zulia State from October 1991 through July 1992. The sample of pharyngeal exudate is obtained and put on transport medium of Cary and Blair, it is afterwards inoculated on plates of ram blood agar with kanamicina (anaerobiosis atmosphere) and in ram blood agar (5-10% CO₂) both incubated from 35-37 °C, for 18-24 h. To the colonies compatible with beta haemolytic streptococci it is done a stain smear with the Gram Technic, if the morphology is compatible with the streptococcus family the presumed identification is done following the methodology described by Facklam and contributors. The final identification is determined by means of serological tests using the Slidex Strepto Kit Technic. From this 231 studied samples, 76 (32.90%) are positive, corresponding for group B, 23 (30.20%); not groupable 17 (22.37%); group G, 15 (19.74%); group A, 13 (17.10%) and group C, 8 (10.53%). On the other hand, it is found that group A, C and not groupable show the highest percentage of isolation between ages 9 and 10 years, group G shows the highest isolation of scholars between the ages of 7 and 8 years and group B between ages 7 and 10 years. In relation with sex, the changes are not detected in the results of this study.

Key words: Beta haemolytic streptococci, healthy children, oropharynx

INTRODUCCIÓN

En 1874, Billroth demostró estreptococos en casos de erisipela e infecciones de herida y Pasteur los demostró en la sangre de una paciente con fiebre puerperal en

1879. Fehleisen en 1883, aisló microorganismos en cadenas a partir de cultivos puros de lesiones de erisipela y luego demostró que estos microorganismos podían inducir erisipela típica en los seres humanos. Rosenbach aplicó la designación de *Streptococcus pyogenes* a estos microorganismos en 1884. El progreso inicial hacia una clasificación racional de streptococcus data de la descripción de Schotmuller en 1903 sobre la técnica de agar sangre para diferenciar streptococcus hemolíticos de los no hemolíticos. En 1919, J.H. Brown hizo un estudio sistemático de los patrones de hemólisis e introdujo los términos: alfa hemólisis, beta hemólisis y gamma hemólisis para describir los 3 tipos de reacción hemolítica observada en las placas de agar sangre (48,21).

La clasificación de Lancenfield de *Streptococcus* beta hemolítico en distintos serogrupos, durante el año 1933, fue un punto de viraje importante en el conocimiento de la epidemiología de las infecciones estreptocócicas. A partir de los trabajos de Lancenfield, los estreptococos beta hemolíticos fueron diferenciados en grupos inmunológicos, basándose en diferencias antigénicas en los carbohidratos de la pared celular. Estos antígenos de grupo van desde la A hasta la H, y desde la K hasta la V. Los grupos A, B, C, D y G son hallados con mayor frecuencia en los seres humanos, los grupos E, L, P, U y V, se aíslan rara vez o nunca en el hombre (41, 48, 47).

Los estreptococos beta hemolíticos se distribuyen ampliamente en la naturaleza, algunos formando parte de la flora normal de muchas especies entre ellas el hombre y otros son patógenos importantes (45).

Entre los estreptococos patógenos para el hombre tenemos, el *Streptococcus* beta hemolítico del grupo A (SBHGA), llamado *Streptococcus pyogenes*. Este organismo es la causa bacteriana más frecuente de faringitis aguda y también ha sido involucrado en una diversidad de infecciones, que en muchos casos cursan con un alto grado de severidad como son en la producción de erisipela, piodermia, celulitis, linfangitis, sépsis puerperal, neumonía y otras (45, 39, 8). La faringitis ocurre principalmente en los niños de 5-15 años, apareciendo la incidencia pico durante los primeros años escolares. Sin embargo, todos los grupos etarios son susceptibles y las epidemias severas son comunes en las instituciones de entrenamiento militar. No existe predilección por sexo. La enfermedad habitualmente se extiende por contacto directo de persona a persona, con mayor probabilidad a través de las gotitas de saliva expelidas o las secreciones nasales y

a menudo esta transmisión está asociada con el contacto directo con una persona infectada sintomática o asintomática. El hacinamiento que ocurre en las escuelas y en las barracas favorece la diseminación interpersonal del microorganismo (45, 35, 41, 48).

Un porcentaje significativo de personas con infecciones estreptocócicas por el grupo A que no han sido diagnosticadas ni debidamente tratadas, pueden padecer de serias complicaciones tardías, incluyendo fiebre reumática y glomerulonefritis aguda (5). La fiebre reumática es una secuela no supurativa tardía de la infección respiratoria alta debida a SBHGA, es más frecuente entre niños con edades de 6-15 años. No existe predilección clara por sexo, aunque hay un predominio femenino en algunas manifestaciones (39). La glomerulonefritis es una secuela no supurativa tardía de la infección faríngea o cutánea con ciertas cepas nefritogénicas de *Streptococcus* del grupo A. La glomerulonefritis aguda se presenta más frecuentemente entre niños de 6 años en adelante y predomina en el sexo masculino si esta ocurre después de una infección faríngea, en tanto que si ocurre después de una infección cutánea, la distribución por sexo parece igual. Estas dos entidades clínicas siguen representando un problema de salud en nuestra región, en especial la glomerulonefritis aguda, la cual se presenta principalmente en la población infantil (39, 5, 8, 48).

A pesar de ser el *Streptococcus* beta hemolítico del grupo A, la principal causa de faringitis, en ocasiones los estreptococos de otros serogrupos en especial los C y G; pueden participar como responsables de dicha infección en la niñez. Recientemente los grupos C y G han sido asociados con complicaciones post-estreptocócicas como la glomerulonefritis aguda. De igual forma son causantes de bacteriemia, endocarditis, meningitis, neumonía e infecciones de huesos y tejidos blandos (39, 41, 48). El hombre es el reservorio natural del *Streptococcus pyogenes*; los estreptococos beta hemolíticos de los grupos C y G pueden colonizar la faringe, el tracto intestinal, la vagina y piel de humanos. La colonización faríngea por *Streptococcus* grupos C es rara en los adultos (1 a 2%) y en los niños (<1%), aunque el índice de portador asintomático en escolares puede ser alto (41).

El *Streptococcus* beta hemolítico del grupo F (SBHGF) y los beta hemolíticos no agrupables, han sido responsables de diversas enfermedades como bacteriemia, endocarditis y a menudo con infecciones supurativas polimicrobianas del sistema nerviosos

central, abdomen y pelvis (+1). El *Streptococcus beta hemolítico del grupo D (SBHGD)* se aísla con poca frecuencia de infecciones en humanos, son responsables del 10 al 20% de los casos de endocarditis bacteriana y del 5% de bacteriemia (39).

En investigaciones hechas recientemente en los Estados Unidos se encontró un resurgimiento de la infección por SBHGA y una creciente elevación de la incidencia de la fiebre reumática y glomerulonefritis en niños, siendo este un fenómeno que había desaparecido de los escenarios en los países industrializados (29). La reaparición de las enfermedades post-estreptocócicas en los países industrializados y la amplia variedad de enfermedades que producen los estreptococos beta hemolíticos especialmente en la población infantil, hace sospechar la existencia en nuestra región de un alto índice de personas infectadas con dichos microorganismos, igualmente el hecho de que la glomerulonefritis aguda sigue siendo un problema de salud en nuestra región, se considera entonces, la importancia de la presencia de estreptococos beta hemolíticos en nuestras comunidades principalmente en la población infantil, siendo necesario establecer la incidencia de ellos en la faringe de niños sanos en edad escolar.

MATERIALES Y MÉTODOS

Población en estudio

Durante el período Octubre 1991-Julio 1992, se estudian 231 muestras de exudado faringeo, provenientes de niños sanos con edades comprendidas entre 7 a 12 años, cursantes de educación básica en la Fundación del Niño del Estado Zulia.

OBTENCIÓN DE LAS MUESTRAS

Previo a la toma de la muestra, se examinó la faringe de cada escolar, con la finalidad de verificar la ausencia de algún signo característico de faringitis. La muestra es obtenida con un hisopo de algodón estéril, e inmediatamente colocada en el medio de transporte Cary y Blair, de esta forma es llevada a la sección de Bacteriología del Laboratorio Clínico de la Escuela de Bioanálisis, para su inoculación en los diferentes medios de cultivo.

METODOLOGÍA

Aislamiento

Las muestras son inoculadas en los medios de cultivo Agar Sangre de Carnero (A.S.C) y Agar Sangre de Carnero con Kanamicina (A.S.C.K.), esta última a una

concentración de 30 µg/ml.

El medio de A.S.C. se incuba en atmósfera microaerofílica, 5-10% de CO₂ (método de la vela) y el A.S.C.K. en condiciones anaeróbicas (método de Gaspak), a una temperatura de 35 °C- 37 °C durante 18-24 horas. Estas condiciones permiten la mejor visualización de la beta hemólisis producida por estreptococos en las placas de agar sangre.

IDENTIFICACIÓN PRESUNTIVA

Transcurrido el tiempo de incubación se realiza la lectura de los cultivos; seleccionando las colonias características de estreptococos beta hemolíticos, las cuales se presentan por lo general, como colonias pequeñas, lisas, de bordes enteros, transparentes, o translúcidas rodeadas por zonas claras de beta hemólisis. Las colonias compatibles con estreptococos se subcultivan en A.S.C. para su posterior identificación: a partir de éstas se elabora un extendido para ser coloreado con la técnica de Gram; si se observa predominio de cocos Gram positivo, en cadenas cortas se procede a realizar las siguientes pruebas: susceptibilidad a la bacitracina (taxo A), hidrólisis de hipurato, prueba de Camp, reacción de bilis esculina, y tolerancia de crecimiento en 6.5% de cloruro de sodio (Na Cl), siguiendo la metodología descrita por Facklam y cols (37).

SUSCEPTIBILIDAD A LA BACITRACINA

(TAXO A)

Principio: Los estreptococos beta hemolíticos del grupo A tienen la capacidad de ser inhibidos por concentraciones bajas de bacitracina (0.04 unidades) en discos de papel sobre el medio de agar.

Lectura: Una zona de inhibición del crecimiento del streptococcus alrededor del disco de bacitracina indica que la cepa puede considerarse *Streptococcus beta hemolítico presuntivamente grupo A*.

HIDRÓLISIS DEL HIPURATO

Principio: Los estreptococos beta hemolítico del grupo B producen enzima hipuricasa que actúa sobre el hipurato de sodio produciendo benzoato de sodio y glicina. El cloruro férrico al 12% precipita las proteínas, el hipurato y el benzoato; sin embargo, las proteínas y el hipurato son más solubles que el benzoato en un exceso de cloruro férrico.

Lectura: La presencia de un precipitado que se mantiene por más de 10 minutos en un caldo de hipurato después de agregar cloruro férrico en exceso,

indica la presencia de benzoato y una reacción positiva para la hidrólisis del hipurato.

FACTOR CAMP

Principio: Se utiliza para identificar los estreptococos beta hemolíticos del grupo B. Estos estreptococos producen una sustancia extracelular conocida como el factor Camp, que incrementa la lisis de los eritrocitos por la betalisisina estafilocócica.

Lectura: En el punto de contacto de los dos organismos aparece una zona de mayor lisis. Esta zona se observa comúnmente en la forma de punta de flecha. El medio de cultivo utilizado para esta prueba es A.S.C.

PRUEBA DE BILIS ESCULINA

Principio: Se basa en la capacidad de los estreptococos del grupo D y enterococos de crecer en bilis e hidrolizar la esculina en presencia de 1-4% de sales biliares, produciendo glucosa y esculetina en su medio apropiado. La esculetina reacciona con el citrato férrico que contiene el medio y forma un complejo negro que difunde en el medio de la bilis esculina.

Lectura: La prueba es positiva cuando se observa un ennegrecimiento difuso en el agar inclinado o un halo negro o marrón alrededor de las colonias.

TOLERANCIA DE CRECIMIENTO EN 6.5% DE CLORURO DE SODIO (NaCl).

Principio: Esta prueba se utiliza para diferenciar los estreptococos del grupo D del género Enterococcus, estos últimos resisten una concentración al 6.5% de NaCl adicionado a un caldo de infusión de cerebro corazón, mientras que los estreptococos del grupo D no resisten la misma concentración de NaCl.

Lectura: La prueba es positiva si en el caldo conteniendo 6.5% de NaCl aparece un enturbiamiento, indicativo de crecimiento bacteriano; si no aparece turbidez la prueba se interpreta como negativa.

IDENTIFICACIÓN DEFINITIVA

Los estreptococos son identificados definitivamente por pruebas serológicas; las cuales detectan el carbohidrato presente en su pared celular que constituyen los antígenos específicos de grupos. Los reactivos están disponibles en varias fuentes comerciales. La técnica empleada para realizar esta investigación ha sido la Slidex Strepto Kit, proporcionado por el Laboratorio Bio-Marieux, esta utiliza partículas de látex conjugadas con inmunoglobulina de conejo grupo específico para

estreptococos beta hemolítico A, B, C, D, F y G de Lancenfield.

El procedimiento se utilizó siguiendo las instrucciones establecidas por la casa comercial.

TÉCNICA

- A partir de un cultivo puro de 24 horas de A.S.C. se toman de 2 a 3 colonias y se emulsionan en 0.4 ml de enzima de extracción, incubándose luego por 10-15 minutos a 37 °C.

- colocar en una lámina en los sitios previstos al efecto, una gota de cada uno de los antisueros A, B, C, D, F y G. Por medio de una pipeta Pasteur tomar el extracto y colocar una gota al lado de cada suspensión de látex.

- Mezclar el contenido de cada círculo, utilizando toda la superficie con uno de los extremos de un agitador (utilizar un agitador limpio para cada círculo).

-Imprimir a la lámina un movimiento de rotación.

Lectura:

Reacción positiva: Aparece una aglutinación en menos de 2 minutos; agregación visible de las partículas de látex.

Reacción negativa: Suspensión homogénea o presencia de granulación muy finas.

Interpretación: La aparición de una aglutinación con una de las suspensiones de látex sensibilizado permite identificar el grupo del Streptococcus aislado. Una aglutinación intensa en varias suspensiones de látex sensibilizado, indica que en el cultivo hay una mezcla de grupos y se debe seguir con el aislamiento. Si no aparece aglutinación, la cepa no pertenece a ninguno de los grupos A, B, C, D, F y G.

ESQUEMA DIAGNÓSTICO

Resultados

La Tabla 1 indica el número de pacientes estudiados así como el sexo al cual pertenecen. De los 231 pacientes, 120 (51.95%) corresponden al masculino y 111 (48.05%) al femenino.

Tabla 1

Número de pacientes estudiados y distribución por sexo (Maracaibo 1992)

	Número	%
Exudados Faringeos procesados	231	100.00
Sexo Masculino	120	51.95
Sexo Femenino	111	48.05

En la Tabla 2, se evidencia que de las 231 muestras procesadas, 76 (32.90%) resultan positivas y 155 (67.10%) negativas para estreptococos beta hemolíticos.

Tabla 2
Cultivos positivos y negativos para estreptococos beta hemolíticos (Maracaibo 1992)

Muestra	Número	%
Exudados faringeos positivos para estreptococos beta hemolíticos	76	32.90
Exudados faríngenos negativos para estreptococos beta hemolíticos	155	67.10

En la Tabla 3 se aprecia la distribución por edad y sexo de los pacientes estudiados a partir de los cuales se aislan estreptococos beta hemolíticos. De las 76 (32.90%) muestras que resultan positivas, las edades de los pacientes oscilan entre 7 y 12 años, 40 (52.63%) pertenecen al sexo masculino y 36 (47.37%) al sexo femenino. El mayor porcentaje de aislamiento corresponde a 37 (48.68%) pacientes cuyas edades están entre 9 y 10 años; predominando en ese grupo etario el sexo femenino, 20 (26.32%) pacientes.

Tabla 3
Distribución por edad y sexo de los 76 pacientes positivos para estreptococos beta hemolíticos (Maracaibo, 1992)

Edad (años)	Nº	%	F	%	M	%
7-8	28	36.85	12	15.79	16	21.05
9-10	37	48.68	20	26.32	17	22.37
11-12	11	14.47	4	5.26	7	9.21
Total	76	100.00	36	47.37	40	52.63

La incidencia de los grupos serológicos encontrados en la población escolar estudiada, se evidencia en la

Tabla 4. De las 76 (32.90%) muestras positivas para estreptococcus beta hemolíticos, 23 (30.20%) aislamientos corresponden al SBHGB, los estreptococos beta hemolíticos no agrupables serológicamente para los grupos A, B, C, D, F y G se aislan en 17 (22.37%) muestras. En las 36 (47.31%) restantes se identifican estreptococos grupo serológico G, A y C, correspondiendo 15 (19.74%) aislamientos al grupo G, 13 (17.10%) al grupo A y B (10.53%) al grupo C.

Tabla 4
Incidencia de los grupos serológicos (Maracaibo, 1992)

Grupo Serológico	Nº	%
B	23	30.20
NO A, B, C, D, F y G	17	22.37
G	15	19.74
A	13	17.10
C	8	10.53
Total	76	100.00

La Tabla 5 muestra la distribución por edad y sexo de los 13 (17.10%) pacientes donde se aislan los SBHGA. El mayor porcentaje de aislamientos se detecta en 5 (38.46%) pacientes con edades de 9 y 10 años, correspondiendo al sexo femenino 3 (23.08%). Puede verse que en el resto de los grupos etarios no se observa una diferencia marcada en cuanto a los aislamientos logrados para este grupo de estreptococos.

Tabla 5
Incidencia de las 13 cepas del streptococcus beta hemolítico del grupo A por edad y Sexo (Maracaibo 1992)

Edad (años)	Nº	%	F	%	M	%
7-8	4	30.77	1	7.69	3	23.08
9-10	5	38.46	3	23.08	2	15.38
11-12	4	30.77	1	7.69	3	23.08
Total	13	100.00	5	38.46	8	61.54

En la Tabla 6 se establece la distribución de los aislamientos de estreptococos beta hemolíticos del

grupo G. De las 15 (19.74%) muestras positivas, 14 (93.33%) corresponden a pacientes cuyas edades oscilan entre 7 y 10 años. De estos 9 (60.00%) presentan edades entre 7 y 8 años pertenecientes 5 (33.33%) al sexo masculino y 4 (26.67%) al femenino.

Tabla 6
Incidencia de las 15 cepas de Streptococcus beta hemolítico del grupo G. por edad y sexo (Maracaibo, 1992)

Edad (años)	N°	%	F	%	M	%
7-8	9	60.00	4	26.67	5	33.33
9-10	5	33.33	3	20.00	2	13.33
11-12	1	6.67	-	-	1	6.67
Total	15	100.00	7	46.67	8	53.33

El mayor aislamiento de SBHGC, se logra en 5 (62,50%) pacientes con edades de 9 y 10 años, al sexo masculino corresponden 3 (37.50%) y 2 (25.00%) al femenino tal como se aprecia en la Tabla 7.

Tabla 7
Incidencia de las 8 cepas de Streptococcus beta hemolítico del grupo C por edad-sexo (Maracaibo, 1992)

Edad (años)	N°	%	F	%	M	%
7-8	1	12.50	1	12.50	—	—
9-10	5	62.50	2	25.00	3	37.50
11-12	2	25.00	1	12.50	1	12.50
Total	8	100.00	4	50.00	4	50.00

En la Tabla 8 puede apreciarse que las 23 (30.20%) muestras positivas para SBHGB, 21 cepas (91.30%) se aislan de pacientes cuyas edades oscilan entre 7 y 10 años, de estos 12 (52.17%) pertenecen al sexo masculino y 9 (39.13%) al sexo femenino, correspondiendo 11 (47.83%) aislamientos a escolares con edades de 9 y 10 años, predominando en ese grupo etario el sexo masculino, 7 (30.43%) pacientes.

Tabla 8
Incidencia de las 23 cepas de Streptococcus beta hemolítico del grupo B por edad y sexo (Maracaibo, 1992)

Edad (años)	N°	%	F	%	M	%
7-8	10	43.47	5	21.74	5	21.74
9-10	11	47.83	4	17.39	7	30.43
11-12	2	8.70	1	4.35	1	4.35
Total	23	100.00	10	43.48	13	56.52

La Tabla 9 muestra la incidencia de los estreptococos beta hemolítico no grupo A, B, C, D, F y G aislados en 17 (22.37%) pacientes. El mayor porcentaje se logra en 11 (64.71%) pacientes con edades de 9 y 10 años, correspondiendo 8 (47.06%) de ellos al sexo femenino y 3 (17.65%) al sexo masculino.

Tabla 9
Incidencia de las 17 cepas de Streptococcus beta hemolítico NO A, B, C, D, F y G por edad y sexo (Maracaibo, 1992)

Edad (años)	N°	%	F	%	M	%
7-8	4	23.53	1	5.88	3	17.65
9-10	11	64.71	8	47.06	3	17.65
11-12	2	11.76	1	5.88	1	5.88
Total	17	100.00	10	58.82	7	41.18

DISCUSIÓN

Streptococcus beta hemolítico del grupo A está bien reconocido como agente causante de faringitis en los niños. Pueden colonizar la faringe de niños sanos pero son aislados con más frecuencia en casos de faringitis. En esta investigación que se realiza a 231 niños sanos con edades comprendidas entre 7 y 12 años, se demuestra que el Streptococcus beta hemolítico grupo A, representa el 17.10% del total de los aislamientos, obteniéndose en niños con edades de 9 y 10 años el mayor porcentaje. Este hallazgo es coincidente con la investigación de Hayden y cols. (25) y Carruyo M.(8), quienes reportan para esa bacteria un

16% y un 12% respectivamente, en niños asintomáticos, existiendo diferencia en relación a que el predominio de esta bacteria en los estudios de Hayden se encontró en el grupo etario de 5-9 años. Cimolai N. y cols. (11), reportan un 32% para SBHGA, observando una marcada diferencia comparado con los hallazgos obtenidos en nuestro estudio.

Aunque los estreptococos beta hemolíticos no grupo A (SBHNGA) han estado asociados con brotes de faringitis, no ha sido demostrado actualmente su papel como causantes de faringitis endémica (60,11). Estos microorganismos son aislados con bastante frecuencia a partir de muestras faríngeas, tanto de pacientes sintomáticos como asintomáticos (11, 25, 8). Estudios realizados por varios autores (21, 47, 11, 8), con pacientes asintomáticos han encontrado a los SBHNGA en porcentajes de 0.2%, 11%, 21% y 40% respectivamente. En la presente investigación se logra aislar a los SBGHNGA en 63 (82,89%) muestras.

Algunos estudios (60, 18, 11, 2, 1, 14, 15, 34, 39), involucran a los estreptococos beta hemolíticos grupo C y G con faringitis así como también con complicaciones post-estreptocócicas. El índice de portador asintomático en escolares para estas bacterias es alto (45, 41). En una investigación realizada por Cimolai N. y cols. (11), se reporta un porcentaje de aislamiento del 3% para el Streptococcus beta hemolítico grupo C (SBHGG), Carruyo M. (8), reporta para estas bacterias porcentajes del 2% y 37% respectivamente, en tanto que los resultados obtenidos en nuestro estudio se diferencian de los anteriores ya que el porcentaje de aislamiento para el SBHGC es del 10.53% y para el grupo G del 19.74%.

Diversos estudios han demostrado diferentes criterios en relación al papel patogénico que puede o no atribuirse a los grupos B y F. Para los años 1978 y 1986, se evidencia el rol patogénico de estos grupos (10,13,53). Estudios realizados más recientemente confirman la pérdida de la importancia de estas bacterias como causantes de faringitis (10,11). El porcentaje de aislamiento en la presente investigación para Streptococcus beta hemolítico del grupo B es del 30.20%, constituyendo el mayor porcentaje obtenido. Cimolai N. y cols (11), reportan un 11% de aislamientos para este microorganismo. Carruyo M. (8), y Hayden G. y cols. (25) lo aíslan en un 1%, representando estos resultados una marcada diferencia con los presentados en esta investigación. Los datos de esta investigación demuestran que el mayor porcentaje de aislamientos para los grupos A, C y los no

agrupables se ubican en el grupo etario de 9-10 años, mientras que para el grupo G se presenta entre 7-8 años, el grupo B entre 7 y 10 años. como puede observarse en este estudio el porcentaje de aislamiento de los estreptococos beta hemolíticos diferentes al A va disminuyendo a medida que aumenta la edad. En contraste al estudio realizado por Hayden G. y cols. (25) donde la tasa de aislamiento aumenta con la edad en niños asintomáticos.

En este estudio no se detecta una marcada variabilidad en relación al sexo de los pacientes donde se aíslan estreptococos beta hemolíticos, siendo importante señalar que el mayor porcentaje de aislamiento corresponde al sexo masculino 52.63% y en el femenino se presentan en un 47.37%.

CONCLUSIONES

-Se obtiene un porcentaje de aislamiento de 32.90% para estreptococos beta hemolíticos en una población de 231 escolares sanos.

-El mayor porcentaje de aislamiento para estreptococos beta hemolíticos se obtiene en niños con edades de 7-10 años,(85.53%).

-El presente estudio revela porcentajes de incidencia considerablemente elevados en comparación con los resultados obtenidos en estudios similares realizados en países industrializados, exceptuando el SBHGA que se presenta con un porcentaje del 17.10%. Es importante señalar que los valores obtenidos de SBHGC (10.53%) y de SBHGG (19.74%) son de considerar debido a que se aíslan en una comunidad de niños sanos.

AGRADECIMIENTO

Nuestro más sincero y especial agradecimiento a las Licenciadas Messaria Ginestre y Belinda Harris, por brindarnos su experiencia y dedicación, así como a todo el personal docente que de una u otra forma hicieron posible la realización de este trabajo.

Al personal obrero de la Cátedra de Bacteriología de la Escuela de Bioanálisis, por su colaboración constante en el desarrollo práctico del trabajo.

Al personal médico y docente de la Institución Fundación del Niño, por prestarnos su ayuda en el desarrollo de la toma de muestras.

A todas aquellas personas que con su aporte colaboraron con el éxito de este trabajo.

BIBLIOGRAFÍA

1. Barham M.; Cole G.; Efstration A.; Tagg J.R.; Skjold S.A. Characterization of Streptococcus Zooepidemicus (Lancefield Group C) from human and Select Animals Infections. *Epidemiol. Inf.* 1987, 98:171-182.
2. Barham M.; Thornton T.J.; Lange K. Nephritis Caused by Streptococcus Zooepidemicus (Lancefield Group C). *Lancet I.* 1983. 945-947.
3. Belani K; Schilievort P.; Kaplan E.L.; Ferrieri, P. Association of Exotoxin-Producing Group a Streptococci and Severe Disease in Children. *Pediatr. Infect. Dis. J.* 1991. 10:351-354.
4. Bisno, A.L. Group a Streptococcal Infections and Acute Rheumatic Fever. *The New England Journal of Medicine.* Sept. 1991. 783-793.
5. Bracho A.; De Acevedo A. Guía del Género Streptococcus. Universidad del Zulia. Facultad de Medicina. Escuela de Bioanálisis. Cátedra Bacteriología Clínica.
6. Bradley S.F.; Gordon J.J.; Baumgartner D.D.; Marasco W.A.; Kauffman C.A. Group C Streptococcal Bacteremia: Analysis of 88 Cases. *Rev. Infect. Dis* 1991. 13 (2): 270-280.
7. Campos J.M. The Influence of rapid diagnosis of Streptococcal infection on pharyngitis and rheumatic fever. *Adv. Exp-Med. Biol.* 1990. 2633:37-50.
8. Carruyo M. Estudio sobre portadores sanos de Streptococos beta hemolíticos del Grupo A. Evaluación de dos medios de cultivo para su aislamiento. Trabajo de ascenso. Facultad de Medicina. Universidad del Zulia. 1976.
9. Cauwenberge P.B.; Mijnsbrugge V. A.M. Pharyngitis: A Survey of the Microbiologic Etiology. *Pediatr. Infect. Dis. J.* 1991. 10:39-41.
10. Cimolai N. Beta hemolytic non Group A Streptococci and pharyngitis. *AJDC* 1990. 144:452-453.
11. Cimolai N; Morrison B.J.; MacCulloch L.; Smith D. F.; Hlady J. Beta hemolytic Non Group A Streptococci and Pharyngitis: A case control study. *Eur. J. Pediatr.* Sept. 1991. 150 (11) 776-779.
12. Combs J. Eustachian Tube dysfunction in Children with Streptococcal pharyngitis. *Pediatr. Infect. Dis J.* 1990. 9:590-592.
13. Chretien J.H.; McGinnis C.G.; Thompson J.; Delaha E.; Garagusi V.F. Group B Beta Hemolytic Streptococci Causing Pharyngitis. *J Clin Microbiol.* 1979. 10:263-266.
14. Duca E.; Tedorovici G.; Rada C.; Vita A.; Talaman-Niculescu P.; Bernescu E.; Feldi C.; Rasca V. A New Nephritogenic Streptococcus. *J. Hyg.* 1969. 67: 691-698.
15. Edward A.T.; Roulson M.; Ironside M.J. A milk-borne outbreak of serious infection due to Streptococcus Zooepidemicus (Lancefield Group C). *Epidemiol. Inf* 1988. 101:43-51.
16. Facklam R.R. Specificity Study of Kits for detection of Group A Streptococci directly from throat swabs. *J Clin Microbiol.* 1987. 25:504-508.
17. Finegold S.M.; Baron E.J. Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology. Ed. 7. St. Louis. The C.,V. Meshy Co. 1986.
18. Fragoso M.A.; Manning L.; Frenkel L.D. Can parents do a throat culture. *Pediatr. Infect. Dis. J.* 1989. 8:845-847.
19. Gibbs R.S.; Hall R.T.; Low M.D.; McCracken G.H. Jr; Nelson J. Consensus: Perinatal prophylaxis for Group B Streptococcal infections. *Pediatr. Infect. Dis. J.* 1992. 11:179-183.
20. Giuner L.; Abramson J.S.; Wasilaukas B. Apparent increase in the incidence of invasive Group A beta Hemolytic Streptococcal Disease in Children. *The Journal of Pediatric.* 1991. 341-345.
21. Glezen W.P.; Clyde W.A. Jr; Senior R.J.; Scheaffer C.L.; Denny F.W. Jr. Group A Streptococci, Mycoplasma and Viruses Associated with Acute Pharyngitis. *JAMA* 1976. 202:455-460.
22. González S.N.; Torales A.; Gómez B.P. Enfermedades Infecciosas. Nueva Editorial Panamericana. Séptima Edición. Capítulo 31. 543-554.
23. Gotoff S.P.; Boyer K.M. Prevention of Group B Streptococcal early onset Sepsis. 1989. *Pediatr. Infect. Dis. J.* 1989. 8:268-270.
24. Greenberg D.; Bradley A. Changes in the differential White Blood Cell Count in Screening for Group B Streptococcal Sepsis. *Pediatr. Infect. Dis. J.* 1990. 9:886-889.
25. Hayden G.F.; Murphy T.F.; Owen H.J. Non Group A Streptococci in the Palarynx. *A.J.D.C.* 1989. 143 (7):794-797.
26. Hofkosh D.; Wald E.; Chiponis D. Prevalence of Non Group A Beta Hemolytic Streptococci in Childhood Pharyngitis. *South Med J.* 1988. 81 (3):329-331.
27. Huck W; Reed B.D.; Frech T.; Mitchell R.S. Comparison of the Directigen 1-2-3. Group A strep test with culture for detection of Group A beta hemolytic Streptococci. *J. Clin Microbiol.* 1989; 27:17115-1718.
28. Iladiba. Editorial Iladiba-Venezuela, C.A. Incremento en la resistencia de estreptococos Grupo A se observa en algunas regiones. 1992 (VI). 24.
29. Iladiba. Editorial Iladiba-Venezuela C.A. Incremento en la Resistencia de Estreptococos Grupo A se observa en algunas regiones. 1992 (IV): 20-21.
30. Joklik W.K.; Willett H.P.; Amos D.B. Zinsser Microbiología. Editorial Médica Panamericana. Décimo Octava Edición. Capítulo 26. 541-556.
31. Kellogg J. Suitability of throat culture procedure for detection of Group A Streptococci and as reference standard for evaluation of Streptococcal Antigen detection kit. *J Clin. Microbiol.* 1990. 165-169.
32. Klein J.D.; Collins T.L. Proceedings of a simposium diagnosis of Streptococcal Pharyngitis. *Pediatr. Infect. Dis. J.* 1989. 8:813-815.
33. Kodama H.; Hayashi M.; Gyobu Y. Comparison between the aged and children of the normal distribution of pharyngeal and intestinal hemolitic Streptococci. *Kansenshogaki-Zasshi.* 1991. 65 (8): 977-982.
34. Kohler W.; Cederberg A. A Streptococcus Zooepidemicus (Group C Streptococci) as a cause of human infection. *Scand J Infect. Dis.* 1976. 8:217-218.
35. Krugman S.; Katz S.L. Infectología Clínica Pediátrica. Editorial Trillas. Tercera Edición. Capítulo 30. 361-371.
36. Kuskie M.R. Group C Streptococcal infections. *Pediatr. Infect. Dis. J.* 1987. 6:856-859.
37. Lenette E.; Balows A.; Hausler W.J. and Truampt J.P. Microbiología Clínica. Editorial Médica Panamericana. Buenos Aires. Argentina. 1987.
38. Majeed H.A.; Lousof a.M.; Rotta J.; Haulickpua H.; Bahar G.; Bahbahani; K. Group A Streptococcal strains in Kuwait: A nine year prospective study of prevalence and Associations. *Pediatr. Infect. Dis. J.* 1992. 11:295-300.
39. Mandell G.L.; Douglas R.G. Jr.; Bennett J.E. Principles and practice of infectuos disease. Churchill livingstone. Third Edition. Chapter 175-176. 1518-1538.
40. Martin N.J.; Kaplan E.L.; Gerber M.A.; Menegus M.A.; Randolph M.; Bell K.; Cleary P. Comparison of epidemic and endemic Group G Streptococci by restrictin enzime analysis. *J Clin. Microbiol.* 1990. 1881-1886.
41. Martínez G.A.; Ginestre P.M.; Harris B.; Romero S.; rincón G.; Bracho P. A. Manual de Streptococcaceae y Micrococaceae. Universidad del Zulia. Facultad de Medicina. Escuela de Bioanálisis. Cátedra Bacteriológica Clínica.
42. Meier F.A.; Centor R.M.; Graham L. Jr.; Dalton H.P. Clinical and microbiological evidence for endemic pharyngitis among adults due to Group C Streptococci. *Arch. Intern. me.* 1990; 150-825-829.
43. Merino r.; Viota F.; Sancho M.B.; Castro G.C.; Gracia C.J.

- Fiebre Reumática y Artritis Postestreptocócica. Revisión clínica. *An Esp. Pediatr.* 1991. 4:239-242.
44. Morven E. Group B Streptococcal infections. *Pediatr. Infect. Dis. J.* 1990 9:778-781.
 45. Nelson W.E.; Vaughan V.C.; McKay J. Tratado de Pediatría. Salvat Editores, S.A. Séptima Edición. Capítulo 10. 589-593.
 46. Parra G.; Platt J.L.; Falk R.J.; Rodríguez-Iturbe B.; Michael A. Cell population and membrane attack complex in glomeruli of patients with postStreptococcae glomerulonephritis. Identification using monoclonal antibodies by indirect immunofluorescence. *Clinical Immunology and Immunopathology.* 1984. 33:324-332.
 47. Putto H. Febrile exudative tonsillitis: Viral or Streptococcal. *Pediatrics.* 1987. 80:6-12.
 48. Quie P.G. Development of effective programs infections. *Pediatr. Infect. Dis J.* 1991. 10:7-10.
 49. Reed B.D.; Huck W.; Frech T. Diagnosis of Group A B-Hemolytic Streptococcus using clinical scoring criteria, directigen 1-2-3 Group A Streptococcal test and culture. *Arch. Intern. Med* 1990. 150: 1727-1731.
 50. Rodley D.F. Jr. Quantitation of Group A Beta Hemolytic Streptococci in throat culture. *J Clin Microbiol.* 1991. 29 (6) 1.279-1.280.
 51. Rotta J.; Facklam R. R. Manual of Microbiological diagnostic methods for Streptococcal infections on their sequela. W.H.O. Bac 80.1. 8-227.
 52. Sánchez F.M. Manual de Procedimientos en Bacteriología Clínica. 43-48.
 53. Schwartz R.H.; McCay T.; Hayden G.F.; Hallas G. Group F Streptococci in the Palarynx: Pathogens or Innocent bystanders? *South Med. J.* 1986. 79:952-954.
 54. Shuiman S.T. Streptococcal pharyngitis: Clinical and epidemiologic factors. *Pediatr. Infect. Dis J.* 1989. 8 (11): 816-819.
 55. Sokol, D. M.; Demunter G.; Baker C. Unusual presentation of Group B Streptococcal ventriculitis. *Pediatr. Infect. Dis. J.* 1990. 9:525-526.
 56. Stede R.W. Home diagnosis of Streptococcal Pharyngitis: moving the art in which direction? *Pediatr. Infect. Dis. J.* 1989. 8:839-842.
 57. Tagg J.; Ragland M. A longitudinal study of Lancefield Group A Streptococcus Acquisitions by a Group of young dunedin. School children. *N.Z. Med J.* 1990. 103:429-431.
 58. Thorn G.W.; Adams R.D.; Braun W.; Petersdorf R.G. Medicina interna Harrison. Editorial La Prensa Médica Mexicana. Sexta Edición en español. Capítulo 135. 952-961.
 59. Turner J.C. Group C beta hemolytic Streptococci in college students with pharyngitis. *JAMA.* 1991. 265: 1526-1527.
 60. Turner J.C.; Hayden G.F.; Kiselica D.; Lohr J.; Fishburne C.F.; Murren D. Association of Group C beta hemolytic Streptococci with endemic pharyngitis among college students. *JAMA* 1990. 264 (20):2644-7.

INCIDENCIA DE CHLAMYDIA TRACHOMATIS EN LAS MUJERES PROSTITUTAS DE LA CIUDAD DE MARACAIBO

*Dina Abed El Kader; María Eugenia Osorio; Katynna Parra Q. y Sojan Uzcátegui**

Escuela de Bioanálisis, Facultad de Medicina Universidad del Zulia

(aceptado para su publicación: julio 1993)

RESUMEN

Durante el período de Junio de 1991 a Mayo de 1992, se estudiaron 300 mujeres prostitutas asistentes a las consultas de venerología de los Ambulatorios Dr. Francisco Gómez Padrón y El Amparo, de la ciudad de Maracaibo, Estado Zulia, y un grupo control de 100 mujeres aparentemente sanas que acudieron a diferentes clínicas privadas para determinar la incidencia de Chlamydia trachomatis. Las muestras fueron analizadas con el Método de Inmunoensayo Enzimático (CHLAMYDIAZYME).

Se determinó la incidencia de Chlamydia trachomatis en un 21.3% en las mujeres prostitutas (64 casos positivos), y un 8% en las mujeres del grupo control (8 casos positivos).

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en cuanto a edad, nacionalidad, grupos étnicos y antecedentes de enfermedades de transmisión sexual en la población estudiada. Una incidencia de 10.3% se observa en el grupo de mujeres prostitutas que tuvieron de 1 a 5 clientes por semana, diferenciándose significativamente de los otros grupos 36.8% y 29.25 para el grupo de 6 a 10 y más clientes semanales respectivamente. Todos estos hallazgos permiten demostrar la relación proporcional existente entre los comportamientos sexuales e infección por Chlamydia trachomatis.

ABSTRACT

During June, 1991 to May 1992, a population of 300 prostitutes, who attended the Medical Centers Dr. Francisco Gómez Padrón and El Amparo were studied to determine the incidence of Chlamydia Trachomatis by the Chlamydiazyme method. A control group of 100 healthy women were screened by the same

* *Tutores:*

*L. Blitz Dorfman; L. Porto Espinoza y D. Callejas M.
Laboratorio Regional de Referencia Viroológica, Facultad de Medicina, Universidad del Zulia, Maracaibo, Venezuela*

technique.

Chlamydia trachomatis incidence was found in 21,3% (64 positive Cases) in prostitutes, and 8% (8 positive cases) in women from the control group.

No significant differences were found related to age, nationality, ethnic groups, and previous history of sexually transmitted diseases.

A significant statistical difference in the incidence of Chlamydia trachomatis infection was found between the group who had had 6 to 10 (36.8%) customers or more (29.2%) weekly. (P<0.002).

This study demonstrated the relationship between sexual behavior and the incidence of Chlamydia trachomatis.

INTRODUCCIÓN

Las enfermedades de transmisión sexual, son procesos infecciosos complejos, en los cuales se encuentran asociados numerosos microorganismos, representando hoy día un serio problema de salud pública a nivel mundial. (1)

La Chlamydia ha sido reconocida como el agente productor de las infecciones de transmisión sexual más prevalente en los últimos años; éstas constituyen un grupo de bacterias intracelulares obligatorias siendo la especie patógena más común en el humano, la Chlamydia trachomatis. (2)

En el organismo humano, Chlamydia trachomatis coloniza particularmente el epitelio columnar. Por esta razón, puede provocar procesos patológicos en los sitios más diversos. (3). Se le considera como el agente etiológico responsable del Linfogramuloma venéreo, de la conjuntivitis de inclusión, neumonitis en el recién nacido, y ha sido demostrada su asociación en cervicitis (con alto riesgo de infección perinatal), en uretritis no gonocócica (U.N.G.), y epididimitis. (3)

La forma asintomática de la infección por este agente, constituye uno de los factores que ha contribuido a su rápida diseminación, especialmente en mujeres; aunque

no por ello ésta se considera de baja infecciosidad. Otro de los factores de relevancia en su propagación lo constituye el aumento de las prácticas sexuales sin control, aunadas a la promiscuidad sexual. Se ha determinado que la edad, raza, condición socioeconómica y presencia de enfermedades de transmisión sexual frecuentes, pueden predecir la infección por *Chlamydia trachomatis* (4). El factor de riesgo principal constituye la conducta sexual, en lo que respecta al comienzo precoz de las relaciones sexuales, la prostitución, el cambio frecuente de pareja y el número de compañeros sexuales (5).

El presente estudio tienen por objeto determinar la incidencia de *Chlamydia trachomatis* en mujeres prostitutas de la ciudad de Maracaibo; para así poder destacar la importancia de la Chlamydia como problema de salud pública en nuestro medio.

MATERIAL Y MÉTODOS

Población estudiada

Durante el período comprendido entre los meses de Junio de 1991 y Mayo de 1992, se estudió una población de 300 mujeres prostitutas que acudieron a control sanitario en el Servicio de Venereología de los Ambulatorios Dr. Francisco Gómez Padrón y El Amparo. La edad de este grupo de mujeres estuvo comprendida entre los 18 y 52 años. A cada una de ellas se les realizó una encuesta epidemiológica para la obtención de datos demográficos y socioeconómicos.

Como grupo control se seleccionaron 100 mujeres aparentemente sanas y sexualmente activas, que acudieron a la consulta ginecológica en clínicas privadas (Hospital Clínico y Policlínica Maracaibo). El grupo control fue tratado de diferente forma, ya que sólo se les interrogó sobre los hábitos sexuales sin mencionar caracteres de prostitución.

RECOLECCIÓN DE MUESTRAS

Para la recolección de las muestras se colocó un espéculo para visualizar el cuello uterino y tomar la muestra del endocervix. Para lo cual se utilizó un hisopo (Laboratorio ABBOTT (STD-EZE), el cual fue introducido en el canal vaginal, realizando ligeros movimientos de rotación en la zona escamocolumnar. El hisopo fue colocado dentro del tubo del medio de transporte que contenía la Glicina-buffer-fosfato. Las muestras fueron trasladadas al Laboratorio Regional de Referencia Viroológica del Estado Zulia, conservada en nevera de 2 a 8°C y procesadas antes de los siete (7) días siguientes de su recolección. Se utilizó la técnica de

Inmunoensayo Enzimático (*Chlamydiazyme Diagnostic ABBOTT Laboratories, Illinois, Estados Unidos*).

Las muestras fueron colocadas respectivamente en la placa de reacción, incluyendo un control positivo y tres controles negativos. Se agregó una esfera (Fase sólida). Inmediatamente las placas fueron incubadas a 37 °C durante 60 minutos en cámara húmeda, luego se procedió al lavado con agua destilada y se agregó un anticuerpo específico (conejo) contra *Chlamydia trachomatis*, seguido de un segundo período de incubación a 37°C durante 60 minutos. Al finalizar el período de incubación se añadió el conjugado específico (conejo), para proseguir a una tercera incubación en las condiciones previamente señaladas. Se adicionó la solución de sustrato; se incubó durante 30 minutos a temperatura ambiente. Se agregó ácido sulfúrico IN, para detener la reacción. Las muestras fueron leídas a 492 nm, utilizando un analizador Quantum II (ABBOTT Laboratories), incluyendo los controles respectivos. La presencia o ausencia de *Chlamydia trachomatis*, se determinó relacionando la absorción de la muestra del paciente con el valor límite de lectura o valor cut-off. La muestra de los pacientes cuyas absorbancias fueron mayores o iguales a la lectura del valor límite, se consideraron positivas para la *Chlamydia trachomatis*.

Los resultados obtenidos, fueron analizados por la prueba del chi cuadrado, considerándose significativa las $p < 0.005$.

RESULTADOS

En las 300 mujeres prostitutas investigadas, la incidencia global de *Chlamydia trachomatis* fue de un 21.3% correspondiendo a 64 casos positivos, mientras que en las 100 mujeres estudiadas del grupo control sólo se detectaron 8 casos positivos (8%) según lo demuestra la Tabla I.

Tabla I
Incidencia de la Chlamydia
en los tipos de población estudiada
Junio 1991-Mayo 1992 Maracaibo-Venezuela

Tipo de población	Control		Prostitutas	
	N	%	N	%
Positivo	8	8	64	21.3*
Negativo	92	92	236	78.7
TOTAL	100	100	300	100

N= Número de casos * P < 0.005

Tabla II

Incidencia de la Chlamydiosis según edad en la población de prostitutas
Junio 1991-Mayo 1992 Maracaibo-Venezuela

E D A D	18-25		26-35		36-45		>45		Total	
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
Positivo	17	18.3	32	22.4	12	22.5	3	43	64	21.6
Negativo	76	81.7	111	77.6	41	77.4	4	57	232	78.4
Total	93	100	143	100	53	100	7	100	296	100

La Tabla II demuestra que no hubo diferencias significativas en los grupos de edad estudiados.

Tabla III

Incidencia de la Chlamydiosis según nacionalidad
Junio 1991-Mayo 1992 Maracaibo-Venezuela

NACIONALIDAD	Venezolana		Extranjera		Total	
	N	%	N	%	N	%
Positivo	51	20.9	13	25.5	64	21.7
negativo	193	79.1	38	74.5	231	78.3
Total	244	100	51	100	295	100.0

N= Número de casos

En la Tabla III se observa que en lo referente a la nacionalidad no hubo diferencia significativa en la cantidad de casos detectados de Chlamydia

trachomatis. Para las mujeres prostitutas el mayor porcentaje relativo de positividad fue de 25.5%, correspondiendo esto a la población extranjera.

Tabla IV

Incidencia de la Chlamydiosis según raza
Junio 1991-Mayo 1992 Maracaibo-Venezuela

R A Z A	Blanca		Negra		Indígena		Mestiza		Total	
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
Positivo	39	23.5	2	5.7	1	50	22	23.6	64	21.6
Negativo	125	76.5	33	94.3	1	50	73	76.8	234	78.5
Total	166	100	35	100	2	100	95	100	298	100

N= Número de casos

La incidencia de Chlamydia trachomatis según los grupos étnicos estudiados está demostrada en la Tabla

IV. El estudio estadístico no evidenció diferencias significativas entre éstos.

Tabla V
 Incidencia de la Chlamydiosis según antecedentes de enfermedades de transmisión sexual
 Junio 1991-Mayo 1992 Maracaibo-Venezuela

ANTECEDENTES	SI		NO		Total	
	N	%	N	%	N	%
Positivo	30	22.7	33	20.6	63	21.6
negativo	102	73.3	127	79.4	229	78.6
Total	132	100	160	100	292	100.0

N= Número de casos

En la Tabla V se puede observar que la incidencia de infección por *C. trachomatis*, no varía significativamente por los antecedentes de

enfermedades de transmisión sexual presente en las infecciones por *C. trachomatis*.

Tabla VI
 Incidencia de la Chlamydiosis según tipo de E.T.S.
 Junio 1991-Mayo 1992 Maracaibo-Venezuela

TIPO E.T.S.	Herpes		Sífilis		Cándilo		Gonorrea		Total	
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
Positivo	1	33.3	21	21.9	0	0	4	23.5	26	21.5
Negativo	2	66.7	75	78.1	5	100	13	76.5	95	78.5
Total	3	100	96	100	5	100	17	100	121	100

N= Número de casos

La tabla VI demuestra que la presencia de *Chlamydia trachomatis* según el tipo de enfermedades de transmisión sexual diagnosticada previamente, no

presenta diferencias significativas con los porcentajes encontrados en las muestras procesadas en la población estudiada.

Tabla VII
 Incidencia de la Chlamydiosis según el número de clientes por semana.
 Junio 1991-Mayo 1992 Maracaibo-Venezuela

Número de Clientes/Semana	1-5		6-18		>10		Total	
	N	%	N	%	N	%	N	%
Positivo	15 *	10.3	48	36.8	19	29.2	62	21.6
Negativo	131	89.8	48	63.2	46	70.8	225	78.4
Total	146	100	76	100	65	100	287	100

N= Número de casos * P > 0.002

En la Tabla VII se puede demostrar que la incidencia de *C. trachomatis*, aumenta en función del número de contactos sexuales; en el grupo de 1 a 5 clientes por

semana se obtuvo una incidencia de 10.3%, por lo que se diferencia significativamente de los otros grupos, cuya incidencia fue mucho mayor (36.8% y 29.2%).

DISCUSIÓN

Las infecciones por *Chlamydia trachomatis* son las más frecuentes tanto en mujeres adultas como en adolescentes, ocupando el primer lugar de prevalencia entre las enfermedades de transmisión sexual, habiéndose detectado del 2% al 23% en mujeres gestantes, del 15% al 33% en mujeres que acuden a las consultas de enfermedades de transmisión sexual, y del 3% al 5% en la población general femenina (5).

Se reporta que entre el 4 y 5% de mujeres sexualmente activas son portadoras de *Chlamydia trachomatis* en el cérvix y numerosos estudios han demostrado que la misma población que está a riesgo para otras enfermedades de transmisión sexual, tienen también un elevado riesgo para la *Chlamydia trachomatis* (5).

Nuestros hallazgos sobre la incidencia de *Chlamydia trachomatis* en la población general se corresponden, en cuanto a porcentajes, con los reportados por otros autores (5). Esto indica que la susceptibilidad de la población venezolana a la infección por esta bacteria intracelular no presenta ninguna diferencia significativa con la evidenciada en poblaciones de otras latitudes. La diferencia estadística encontrada entre los grupos estudiados es ostensiblemente similar a la de otras poblaciones, lo que indica una relación directamente proporcional entre los factores de alto riesgo como la promiscuidad y la infección por este agente.

La infección real por *Chlamydia trachomatis* global en nuestra población, quizás no es demostrada por los parámetros utilizados por el M.S.A.S., debido a subregistros de los casos, teniendo en cuenta, que las secuelas inherentes a la afección por este agente son de carácter grave.

La edad parece no ser un factor que incide en las infecciones por este microorganismo. Esto contrasta con estudios previos en los cuales se observó una relación inversamente proporcional entre la edad y la infección (3).

Esta contradicción en nuestro estudio parece deberse a un incremento en el ingreso de nuevas prostitutas, especialmente en los grupos de mayor edad. Es de hacer notar que la crisis económica sufrida por nuestro país en los últimos años, ha provocado que extensos sectores de la población se hayan volcado a la prostitución como un medio de compensar sus necesidades económicas. Esto se hizo evidente en las entrevistas previas realizadas a la población estudiada. Magder y col (3) explicaban la relación inversa entre infección y edad, como debida a un aumento en la

inmunidad de la población. Si se tiene en cuenta que este nuevo grupo que ingresa a la prostitución en forma tardía carece de la inmunidad preconizada por Magder (3), podríamos explicar el por qué nuestro grupo carece de diferencias significativas.

La incidencia de la infección según la nacionalidad de los sujetos analizados no demostró ninguna discrepancia entre autóctonos y foráneos. Es posible que la mayoría de la población extranjera estudiada proviniera en gran porcentaje de Colombia y en un menor porcentaje de los países suramericanos circunvecinos, lo cual indica que tanto su carga genética como su idiosincrasia social, son similares a los de nuestra población y, por tanto, no debe haber ninguna diferencia en los grupos. En efecto, en Ecuador se determinó una prevalencia en las prostitutas por *Chlamydia trachomatis* similar a la de nuestro trabajo (6).

Magder y col (3) descubrieron una disimilitud significativa en las infecciones por *Chlamydia trachomatis* según la raza de los pacientes analizados. Estos describen una prevalencia mayor en las mujeres de razas negras o mestiza con respecto a las de raza blanca. Nuestro estudio no determina ningún tipo de diferencia, ya que probablemente la acentuada mezcla genética que se presenta en nuestro medio no permite, por los métodos epidemiológicos usuales, discriminar plenamente a qué raza pertenecen los individuos estudiados, y por tanto nuestros grupos tienden a ser más heterogéneos que los ensayos previos reportados en cuanto a carga genética se refiere. De este modo, la diferencia estadística que pudiera haber se diluye ante unos límites raciales imprecisos.

La historia previa de enfermedades de transmisión sexual no varió los índices de infección por *Chlamydia trachomatis* (Tablas V y VI). Otros estudios (3), han demostrado resultados similares. Aparentemente las enfermedades de transmisión sexual no predisponen ni promueven inmunidad cruzada con respecto a la presencia de *Chlamydia trachomatis*.

Este hallazgo es distinto al observado por autores (7,8,9) en sus estudios realizados en hombres donde la historia previa de contacto con algún agente de transmisión sexual disminuye la posibilidad de infección por *Chlamydia trachomatis*. La causa de esta diferencia es hasta ahora desconocida.

El análisis estadístico de la incidencia de la enfermedad dependiendo del número de contactos por semana determina una desigualdad significativa ($P > 0.002$) entre los grupos de hasta 5 contactos y

aquellos mayores de 5. Esto evidencia una relación directamente proporcional entre la promiscuidad y la infección. El primer grupo representa individuos que ejercen la prostitución de manera casual o intermitente, siendo por tanto sus condiciones sanitarias superiores y su porcentaje de contaminación bacteriana inferior a la de otros grupos, en los cuales situamos a los individuos cuyo ejercicio de la prostitución es permanente. Esta disparidad observada en las condiciones socioeconómicas, evidenciarían las causas de las diferencias encontradas.

Los estudios estadísticos al grupo control no fueron de carácter relevante, debido al mínimo porcentaje observado en estos individuos.

CONCLUSIONES

Existe evidencia de asociación entre promiscuidad e infección por Chlamydia trachomatis. Las mujeres analizadas como grupo control, no se diferencian en la incidencia por este agente con poblaciones controles de otros países. No existe diferencia significativa en cuanto a la edad, nacionalidad, grupos étnicos y antecedentes de enfermedades de transmisión sexual en la población estudiada.

La presencia de este patógeno en los grupos estudiados destaca su importancia potencial como problema de salud pública en nuestro medio.

BIBLIOGRAFÍA

1. Sevgi O.; Aral y King K. Holmes: Sexually transmitted diseases in the AIDS era. Scientific American 264 (2):18-25.
2. Manuel G.; Gordon D.; Bennett J.: Principle and practice infectious diseases. Seccion B chlamidial infectuos. Tercera Edición. pág. 1424-43.
3. Laurance S.; Magder H.; Robert Harrison; Josephine M. Emret: Factors related to genital Chlamydia trachomatis and its diagnosis by culture in a sexually transmitties disease clinic. American Journal of Epidemiology. Vol 28 (2): 298-307.
4. Thompson, S.E.; Washington A.E.: Epidemiology of sexually transmitted Chlamydia trachomatis infections. Epidem Rev. 5(1): 96-123, 1983.
5. Sweet R.L.; Schachter J. Y.; Landers D. V.: Infecciones por Chlamydiae en obstetricia y ginecología. Enfermedades transmitidas sexualmente. Clin Obstet Ginnecol (México). 26 (1):167-92, 1983.
6. Marcelo Narvaez; P. López Jaramillo; A. Guevara; A. Izurieta y R. Guderian: Prevalencia de Chlamydia trachomatis y Neisseria gonorrhoeae en tres grupos de mujeres Ecuatorianas de distinta conducta sexual. Boletín de la Oficina Sanitaria Panamericana. (10783) 220-24.
7. Carmona O.; Daricarrere R.; López Parra D.; Esparza J.; Graffe Luis H.; González I: Urethritis gonococcica y no gonococcica: Etiología y epidemiología. Archivos del Hospital Vargas. XXVI (3-4) 27-53. Caracas, Venezuela.
8. Mc Cormack W.M.; Rosner B.; McCom D.E.; Evrard J.R.; Zinner SH: Infection with chlamydia in female college students. AM J Epidemiol 1985. 121: 107-15.
9. Brunham R.; Irwin B. y Homes K.K.: epidemiologic and clinical correlates of Chlamydia trachomatis and Neisseria gonorrhoeae infection among women attending a clinical of sexually transmitted diseases. (Resume). Clin Res 29:47, 1981.

PNEUMOCYSTIS CARINII

*Axel Rodolfo Santiago S.**

Resumen de la conferencia dictada en el VI Congreso Venezolano de Bioanálisis
y VI Jornadas Científicas de la SVBE
(aceptado para su publicación:)

Si profundizas lo suficiente hacia el núcleo de las cosas, tendrás ojos para ver lo invisible y oídos para oír lo inaudible.

P. Bosmans

Pneumocystis carinii fue descubierto en 1909 por Chagas, quien pensó que se trataba de una variante de un Trypanosoma. Posteriormente Delanões (1912-1914), demostró que era un género y especie distinto denominándolo *P. carinii* en honor al Dr. Carinii. A partir de este momento fue estudiado como una curiosidad médica y solo en 1940, cuando en Europa aparece una neumonía en prematuros y niños malnutridos, es tomado en cuenta ya que produjo una alta mortalidad en estos pacientes que no respondían a los antibióticos de la época. Caracterizaba este tipo de neumonía, la presencia en los alveolos pulmonares de sustancias "espumosas", además del engrosamiento de los tabiques inter-alveolares con infiltración por células inflamatorias sobre todo plasmocitos.

En los años 60, *P. carinii* es reconocido como uno de los causantes de neumonías en pacientes inmunocomprometidos y desde la aparición del Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida (SIDA), a comienzo de la década del 80, es catalogado como uno de los más importantes parásitos productor de neumonías en estos pacientes y en inmunocomprometidos no-SIDA, (pacientes transplantados, carcinomas, terapias inmunosupresivas, quimioterapias, etc.).

En los Estados Unidos para 1988 se estimaban 150.000 casos de neumonías por *P. carinii* y ya para finales del 92 estas cifras habían aumentado

considerablemente. El Centro de Control de Enfermedades Transmisibles, estima un millón de personas infectadas con VIH, el 80% de estos individuos podrán desarrollar neumonía por *P. carinii* durante su vida. No sabemos si estas cifras podrían disminuir en los próximos años. En nuestro país, aunque no existen cifras precisas, sabemos que el panorama es aproximadamente igual, según se desprende de reportes sobre este tipo de neumonía, en especial en los pacientes con SIDA.

Aunque la clasificación del parásito y su ciclo de vida todavía requieren ser investigados, la necesidad de un diagnóstico precoz es de extraordinaria importancia.

TAXONOMÍA

Desde hace muchos años se está debatiendo sobre la taxonomía de *P. carinii*. Recientes investigaciones sobre la ultraestructura del organismo sugieren que se acerca más a un hongo que a un protozario, aunque hoy en día sigue apareciendo en los textos de Parasitología como un probable protozario. La base de su cambio taxonómico a un hongo se sustenta en la secuencia del ARN ribosomal mensajero y la presencia de características estructurales de genes codificados por las enzimas dihidrofolato reductasa y timidilato sintetasa.

Estas características hacen pensar que *P. carinii* está más cerca de las levaduras y de los hongos que de los protozoarios. La coloración que toma con metenammina de plata ayuda a esta conclusión. Sin embargo, la susceptibilidad a los antibióticos y su morfología general lo siguen semejando a un parásito. Otros reportes señalan que existen reacciones cruzadas de *P. carinii* con antisueros policlonales preparados contra *Aspergillus sp.*, lo que soporta aún más la naturaleza fúngica de este organismo.

Según estas recientes investigaciones, necesitamos un número mayor de pruebas para concluir definitivamente que *P. carinii* pudiera ser considerado como un hongo.

* Jefe de la sección de Micología. Depto. Bioanálisis
Hospital Universitario de Caracas. Caracas. Venezuela
Laboratorio Clínico Microbiológico Loyola

CICLO DE VIDA

Como ya dijimos, el ciclo de vida de *P. carinii* tiene muchas controversias. Presenta un ciclo sexual y uno asexual (Fig. 1). Podemos resumir que el ciclo comienza luego de la ruptura de los quistes maduros, al quedar libres los cuerpos intracitoplasmáticos, se transforman en trofozoítos haploides y posteriormente en diploides por copulación. Estos últimos formaron nuevos quistes a través de un complicado proceso, donde juega un papel importante el "complejo sinaptonemal", en progresivas fases de meiosis. Se forman por división sucesiva, cuatro y ocho núcleos los cuales son envueltos internamente por la membrana plasmática, dando origen al quiste maduro con ocho cuerpos intraquísticos.

Además del ciclo sexual, puede desarrollarse un ciclo asexual por fisión binaria y por endogénesis de trofozoítos haploides y diploides de donde recomenzará un nuevo ciclo de vida.

Es interesante señalar que *P. carinii* entra en contacto con la superficie de las células del tracto respiratorio (células epiteliales Tipo I) y por invaginación de la membrana de dichas células, penetra y se desarrolla.

DIAGNÓSTICO CLÍNICO

La presentación clínica de la enfermedad dependerá del paciente involucrado. Originalmente descrita en Europa esta neumonía afectaba a niños malnutridos; en Estados Unidos se observaba en pacientes leucémicos y con inmunodeficiencias congénitas, todos estos pacientes

presentaban un proceso neumónico agudo, rara vez con compromiso de otros órganos de la economía. En el caso de pacientes con SIDA, además de estas manifestaciones clínicas, podemos encontrar infecciones extrapulmonares. Un porcentaje de los pacientes transplantados pueden desarrollar neumonías por *P. carinii* (1-6 meses post-transplante), reduciéndose el número de casos con el uso de trimetoprimisulfametoxazole. En general el paciente sufre de intensa disnea y taquipnea, abundante sudoración, cianosis y/o palidez del cuerpo, tos seca, con aumento poco marcado de la temperatura. La muerte se produce por asfixia o insuficiencia cardíaca.

DIAGNÓSTICO DE LABORATORIO

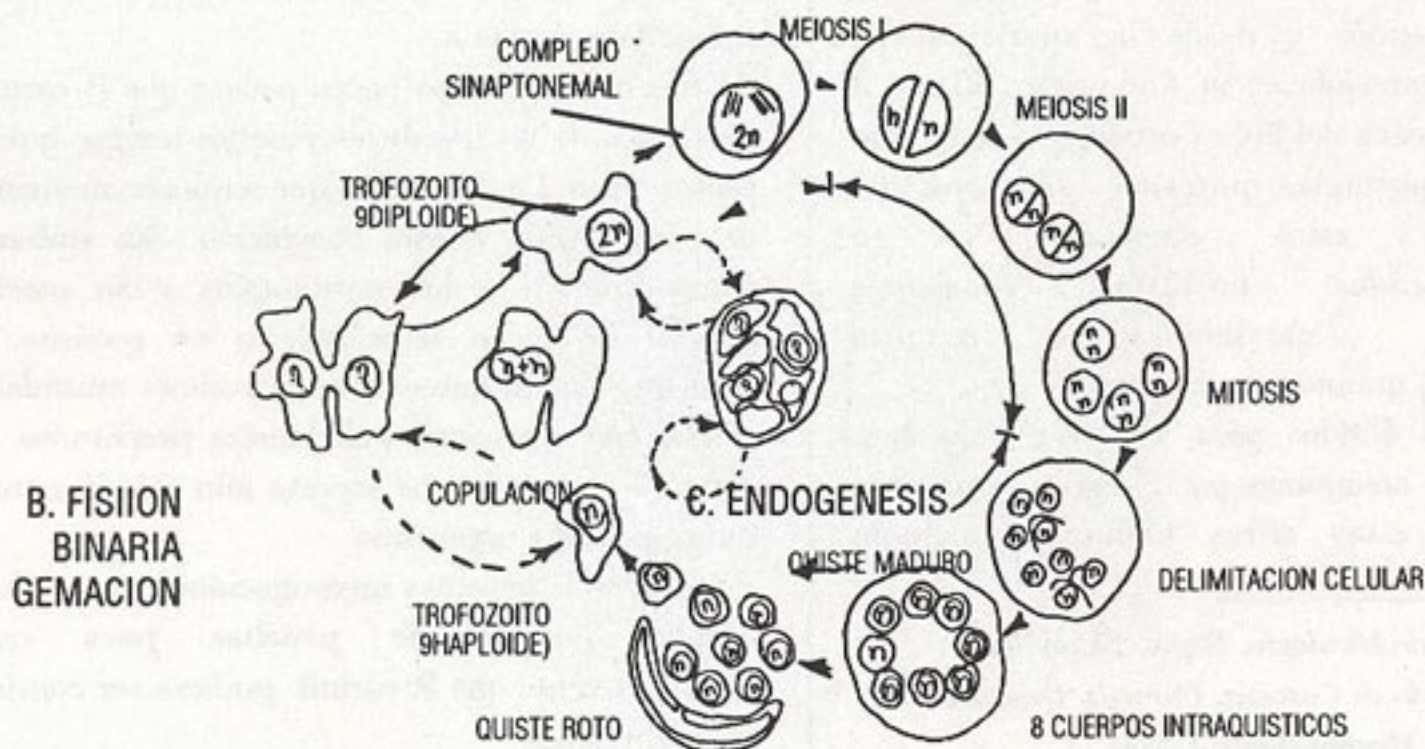
Recolección de la muestra

Como en todo diagnóstico Microbiológico el éxito del mismo dependerá de una buena muestra clínica. En un principio el diagnóstico de *P. carinii*, era realizado por medio de biopsias pulmonares. Muestras de lavado bronquioalveolar, lavados bronquiales y aspirados transtraqueales, son los utilizados con más frecuencia en los últimos años. No obstante, el esputo seriado puede ayudar al diagnóstico de esta neumonía, a pesar de que los resultados obtenidos son menos precisos.

Es importante señalar que muchos casos de neumonías por *P. carinii* no excluyen la presencia de otras infecciones oportunistas, sobre todo en los pacientes con SIDA, por esta razón el estudio microbiológico completo debe realizarse cuando se sospeche de algún otro agente causal.

CICLO DE VIDA DEL PNEUMOCYSTIS CARINII

A. CICLO SEXUAL



Procesamiento de la muestra, escogencia de la metodología diagnóstica.

Hasta el presente, solo la demostración del organismo por medio de coloraciones de preparaciones en láminas, concluye el diagnóstico. Muchas coloraciones han sido utilizadas para este fin, la sensibilidad y especificidad varía de una a otra, solo la experiencia de cada laboratorio puede decidir cual es la mejor. el método más utilizado es el de methenamina de plata de Gomori, sin embargo las coloraciones de Giemsa, Gram, Calcofluor, Papanicolaou, Naranja de acridina y otras, han sido utilizadas por ser rápidas y ofrecer buenos resultados. La incorporación de Inmunofluorescencia Directa ha permitido obtener resultados más rápidos y con una alta sensibilidad, demostrando el organismo de una manera fácil por el característico brillo verdoso que adquiere. El uso de anticuerpos monoclonales para la detección directa del organismo a partir de muestras biológicas permitiría aumentar la especificidad y sensibilidad del diagnóstico de *P. carinii*. Algunos reportes se han hecho confirmando que esta metodología podría ser superior a las antes mencionadas.

INMUNODIAGNÓSTICO

La respuesta específica del huésped, celular o humoral contra *P. carinii* hasta el presente ha sido poco dilucidada. Muy poca información existe sobre la naturaleza antigénica del organismo o de la respuesta del hospedero. Esto puede ser debido a la dificultad de su aislamiento en los tejidos y de su aislamiento en medios tradicionales.

Respuesta inmune humoral

Varias técnicas han sido desarrolladas para el estudio de la respuesta por anticuerpos. Las más utilizadas son la Inmunofluorescencia Indirecta, ELISA y Fijación de Complemento, detectando sobre todo Ig G. Aunque los resultados no son excelentes, la detección de antígenos solubles de *P. carinii* en el suero de los pacientes puede ser de gran valor ya que permitiría una aproximación con metodología rápida al diagnóstico de la enfermedad, incluyendo la detección de Ig M.

Respuesta Inmune Celular

Aunque puedan existir anticuerpos circulantes contra *P. carinii* y los mecanismos de inmunidad celular son importantes, no sabemos con claridad cual es el papel de este tipo de respuesta contra el organismo. Se supone que los Linfocitos T y sus mecanismos de inmunidad protegerían contra el desarrollo de *P. carinii*, hecho que explicaría las neumonías subclínicas; los macrófagos

también intervendrían en estos mecanismos de defensa. Otros factores que ayudan al huésped son el Sistema de Complemento y los Leucocitos Polinorfonucleares.

En individuos inmunocompetentes la respuesta celular y humoral es requerida para una adecuada defensa del hospedero contra *P. carinii*, como actúan estos mecanismos todavía no está totalmente establecido. El cultivo in vitro así como también mayor información sobre el comportamiento in vivo del hospedero debe permitir en un futuro un mejor conocimiento sobre la biología de este organismo tan controversial.

BIBLIOGRAFÍA

1. Felegie T.P.; Pasculle A.W.; Dekker A. Recognition of *Pneumocystis carinii* by Gram stain in impression smears of lung tissue. *J Clin Micro* 20 (6):1190-1191, 1984.
2. Graves D.C. Immunological studies of *Pneumocystis carinii*. *J. Protozool.*, 36(1):60-69, 1989.
3. Lunogren B.; Kovacs J.A.; Nelson N.N.; Stock F.; Martínez A.; Gill V.J. *Pneumocystis carinii* and *Espericium* fungi have a common epitope, identified by monoclonal antibody. *J Clin Micro* 30(2):391-395, 1992.
4. Stratton N.; Hryniewicki J.; Aarnaes S.L.; Tan g.; de la Maza L.M.; Peterson E.M. Comparison of Monoclonal antibody and calcofluor white stain for the detection of *Pneumocystis carinii* from respiratory specimens. *J Clin Micro* 29(3): 645-647, 1991.
5. Thomson R.B.; Smith T.S. Acridine orange staining of *Pneumocystis carinii* *J Clin Micro* 16 (1):191-192, 1982.6. Waldron M.A.; Fislunan J.A.. *Pneumocystis carinii*: Advances in diagnosis. *Clin Micro. Newsletter*. 14(21):161-168, 1992.
7. Walter P.D. Symposium: Historical perspectives on *Pneumocystis carinii*. *J. Protozool.* 36(1):39-41, 1989.
8. Yoshida Y. Ultrastructural studies of *Pneumocystis carinii*. *J. Protozool.* 36(1):53-60, 1989.

INFECCIONES MICOTICAS EN EL PACIENTE INMUNOSUPRIMIDO

*Antonio Ríos Fabra **

Resumen de la Conferencia dictada en el VI Congreso Venezolano de Bioanálisis y VI Jornadas Científicas de la SVBE

RESUMEN

Las infecciones micóticas oportunistas representan una importante causa de morbi-mortalidad en pacientes inmunosuprimidos, cuya incidencia ha venido incrementándose progresivamente en las últimas décadas debido al uso indiscriminado de potentes antibióticos de amplio espectro, mayor empleo de técnicas invasivas, mayor sobrevida de pacientes oncológicos y la presencia de nuevas entidades patológicas.

El objetivo de esta revisión es enfocar tanto los aspectos etiológicos, diagnósticos como terapéuticos y especialmente preventivos que sirva de orientación práctica para el manejo de esta patología.

ABSTRACT

The opportunistic fungal infections are playing an increasing role in morbi-mortality on immunocompromised patients, specially in the last two decades with a major advances in technology, the use of potent broad spectrum antibacterial agents, the use of invasive diagnostic modalities, and increasing number of new pathologies.

This article focuses on the etiology, diagnostic, therapeutic options and specially prevention control measures of these fungal diseases.

Hasta la década de los 60, las infecciones micóticas oportunistas, eran consideradas como una rareza, sin embargo en los últimos 20 años, debido a un conjunto de factores: como la creación de las unidades de terapia intensiva, el empleo de potentes antibióticos de amplio espectro capaces de alterar la flora bacteriana normal del individuo, la utilización de técnicas invasivas para el control de los pacientes

mediante catéteres intravasculares, sondas, ventilación mecánica, etc; el aumento de la sobrevida de pacientes oncológicos gracias a esquemas quimioterápicos más agresivos que a su vez predisponen a períodos prolongados de neutropenia y finalmente la presencia de nuevas entidades patológicas como infecciones en pacientes con transplante de órganos o con síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida (SIDA); ha traído como consecuencia un aumento considerable de las infecciones micóticas: candidiasis, criptococosis, aspergilosis, histoplasmosis, incluso el surgimiento de infecciones por hongos considerados como "contaminantes", pero con un poder patógeno real en estos pacientes inmunosuprimidos, tal es el caso de: *Fusarium*, *Pseudallescheria*, *Trichosporum*, *Alternaria*, etc. (Tabla I).

De todas las infecciones micóticas descritas en los pacientes inmunosuprimidos, la candidiasis constituye la más frecuentemente aislada, siendo un microorganismo que coloniza la piel y diversas mucosas como la orofaringe, recto, vagina, etc; pero solo invade los catéteres, bajo circunstancias especiales como: colocación de sondas y catéteres, cirugía digestiva y la administración de antibióticos de amplio espectro y por tiempo prolongado que provocan una disrupción de la flora normal facilitando el sobrecrecimiento de la *Candida*.

Pacientes que han sido expuestos a la inhalación en el medio ambiente de conidias de *Aspergillus* y que a su vez tienen ciertos predisponentes como: neutropenia prolongada, utilización crónica de esteroides, etc, pueden presentarse con manifestaciones respiratorias de sinusitis o bronconeumonía por aspergilosis o lo que es peor aspergilosis diseminada con un alto índice de letalidad.

En individuos con trastornos metabólicos especialmente cetoacidosis diabética, pacientes politraumatizados, oncológicos o con SIDA, se puede presentar *Zigomicosis* localizada en heridas o tracto

* Médico Internista-Infectólogo. Jefe la Unidad de Micología. Servicio de Patología Clínica. Hospital Vargas de Caracas. Consultante de la Unidad de Infectología del Hospital Vargas de Caracas.

respiratorio superior, pero que puede evolucionar rápidamente hacia la necrosis, incluso con formas diseminadas con mortalidad cercanas al 100% (Tabla II).

Debido a la profunda y gradual inmunosupresión que se evidencia en los pacientes con SIDA, se describen con mayor frecuencia tanto a nivel mundial como en Venezuela, la reactivación de infecciones micóticas silentes hasta ese momento, pero que se presentan con características diseminadas o atípicas en la medida que el paciente se encuentra en mayor inmunosupresión, tal es el caso de criptococosis extrapulmonar, candidiasis esofágica, histoplasmosis diseminada, coccidioidomicosis y paracoccidioidomicosis extrapulmonar, etc. La presentación clínica y los parámetros de laboratorio, considerados característicos en otras entidades son generalmente ambiguos o están ausentes en estos pacientes. La terapéutica usualmente es de eficacia limitada, debido a la incapacidad de respuesta del huésped al tratamiento, con alto índice de toxicidad y efectos adversos, siendo necesaria la aplicación de terapias prolongadas, debido a las frecuentes recaídas e infecciones persistentes.

Se han descrito recientemente casos de infección diseminada por *Malassezia furfur* en individuos recibiendo hiperalimentación parenteral con emulsión lipídica, la cual provee de nutrientes esenciales (ácidos grasos de cadena larga) que favorece la sobreproliferación de estos microorganismos presentes en la piel y que penetran al torrente circulatorio a través de catéteres intravasculares.

Previo a sus manifestaciones invasivas, estas micosis se caracterizan por su afinidad de adherirse a superficies mucosas y cuerpos extraños como: catéteres, sondas, prótesis, etc; siendo en la mayoría de los casos necesario su extracción para poder erradicar al hongo.

El poder patógeno de estos microorganismos viene dado por endotoxinas, así como ciertas enzimas (proteasas, fosfolipasas y oxidorreductasas) que facilitan la invasión y lesión tisular, con alto grado de necrosis, especialmente la aspergilosis y mucormicosis.

Con el avance tecnológico de los últimos años, el descubrimiento y síntesis de drogas antimicrobianas para combatir las infecciones bacterianas, ha sido impresionante; sin embargo en el campo de las drogas antimicóticas, son pocas las alternativas terapéuticas. La Anfotericina B, de uso clínico desde finales de la década del 50, sigue siendo la droga de primera elección para el manejo de las infecciones micóticas

sistémicas en los pacientes inmunosuprimidos, con el mayor rango de efectividad y espectro de acción de todas las existentes y que incluye desde micosis superficiales como dermatofitos, como también: candidiasis, histoplasmosis, criptococosis, paracoccidioidomicosis, cromomicosis, esporotricosis y coccidioidomicosis entre otros. A pesar de esto, la Anfotericina B no siempre resulta efectiva, debe administrarse por vía parenteral y está asociada con una serie de efectos secundarios y reacciones adversas entre las cuales se encuentra la nefrotoxicidad.

Con la entrada en la década de los 90, los nuevos triazoles (Fluconazol e Itraconazol), con mayor biodisponibilidad, tolerancia, potencia antimicótica y menos efectos secundarios que los imidazólicos de generaciones anteriores como Miconazol y Ketoconazol, han constituido una ayuda excelente en el manejo de estas infecciones.

El Fluconazol, especialmente efectivo para el tratamiento de candidiasis inclusive urinaria, por su alta excreción renal y para criptococosis tanto pulmonar como extrapulmonar, dentro de ellas la forma meningoencefálica, de frecuente presentación en pacientes con SIDA y con éxito terapéutico semejante en algunos casos al de la Anfotericina B, con la ventaja de poder usarla tanto por vía parenteral en casos severos como por vía oral en casos de mantenimiento o de infecciones menos graves.

El Itraconazol, ha demostrado utilidad en la terapia de candidiasis, aspergilosis, histoplasmosis, paracoccidioidomicosis, incluso dermatofitos y tiñas. Su presentación, hasta la fecha, es exclusivamente en cápsulas, pero su excelente absorción y biodisponibilidad le permiten utilizarlo incluso en casos de infecciones sistémicas severas.

Buscando modalidades terapéuticas con la finalidad de utilizar dosis menores o por menos tiempo, menor toxicidad y un efecto sinérgico, desde hace algunos años se vienen empleando combinaciones antimicóticas. Se sabe tanto por estudios in vitro como clínicos que la Anfotericina B + Azoles (Ketoconazol, Fluconazol e Itraconazol) son antagónicos para *Candida* y *Aspergillus*, pero resultan altamente sinérgicos para *Criptococos*. La Flucitosina, antimicótico potente pero de alta incidencia de resistencia cuando se utiliza como monoterapia, pero al administrarlo con azoles o Anfotericina B, son sinérgicos para *Candida*, *Aspergillus* y *Criptococos* (Tabla III).

La presencia de infecciones micóticas diseminadas en pacientes inmunosuprimidos, es una realidad cada vez más frecuente, pero es importante entender, que en la mayoría de los casos es prevenible, si tomamos ciertas medidas para su control como: 1) Evitar el uso indiscriminado de antibióticos de amplio espectro, así como su duración en ocasiones excesivamente larga. 2) Utilizando técnicas estrictamente asépticas, tanto en la colocación de los catéteres intravasculares, evitando manipulaciones innecesarias y frecuentes, así como mantenerlos, al igual que con las sondas urinarias, por más tiempo del necesario. 3) Diagnóstico precoz de infecciones micóticas localizadas, para evitar así su diseminación al ser tratadas con prontitud. De esta forma estaremos contribuyendo a evitar superinfecciones por hongos oportunistas, que vendrían a incrementar la morbimortalidad de estos pacientes, ya de por sí en condiciones críticas.

Tabla I

Infecciones micóticas en pacientes inmunosuprimidos

- *Candida albicans
- *Candida spp
- *Aspergillus
- *Zigomicosis
- *Reactivación de micosis latentes: *Cryptococcus neoformans*, *Histoplasma capsulatum*, *Paracoccidioides brasiliensis*.
- *Nuevos patógenos reconocidos:
Fusarium, *Trichosporon beigelii*, *Pseudallescheria boydii*, *Alternaria spp*, *Curvalaria spp*, *Malassezia furfur*.

Tabla II

Factores predisponentes a infecciones micóticas:

- *Enfermedades hematológicas malignas/
Neutropenia prolongada
- *Antibióticos de amplio espectro
- *Uso de esteroides y terapia inmunosupresora
- *Hiperalimentación parenteral
- *Catéteres intravasculares y sonda urinarias
- *Hiperglicemia y acidosis metabólica
- *Desnutrición

Tabla III

Drogas antimicóticas

- *Anfotericina B
- *Griseofulvina
- *Flucitosina
- *Imidazoles: Miconazol, Ketoconazol, Fluconazol, Itraconazol
- *Lipopéptidos: Cilofungin y Nikomicina

BIBLIOGRAFÍA

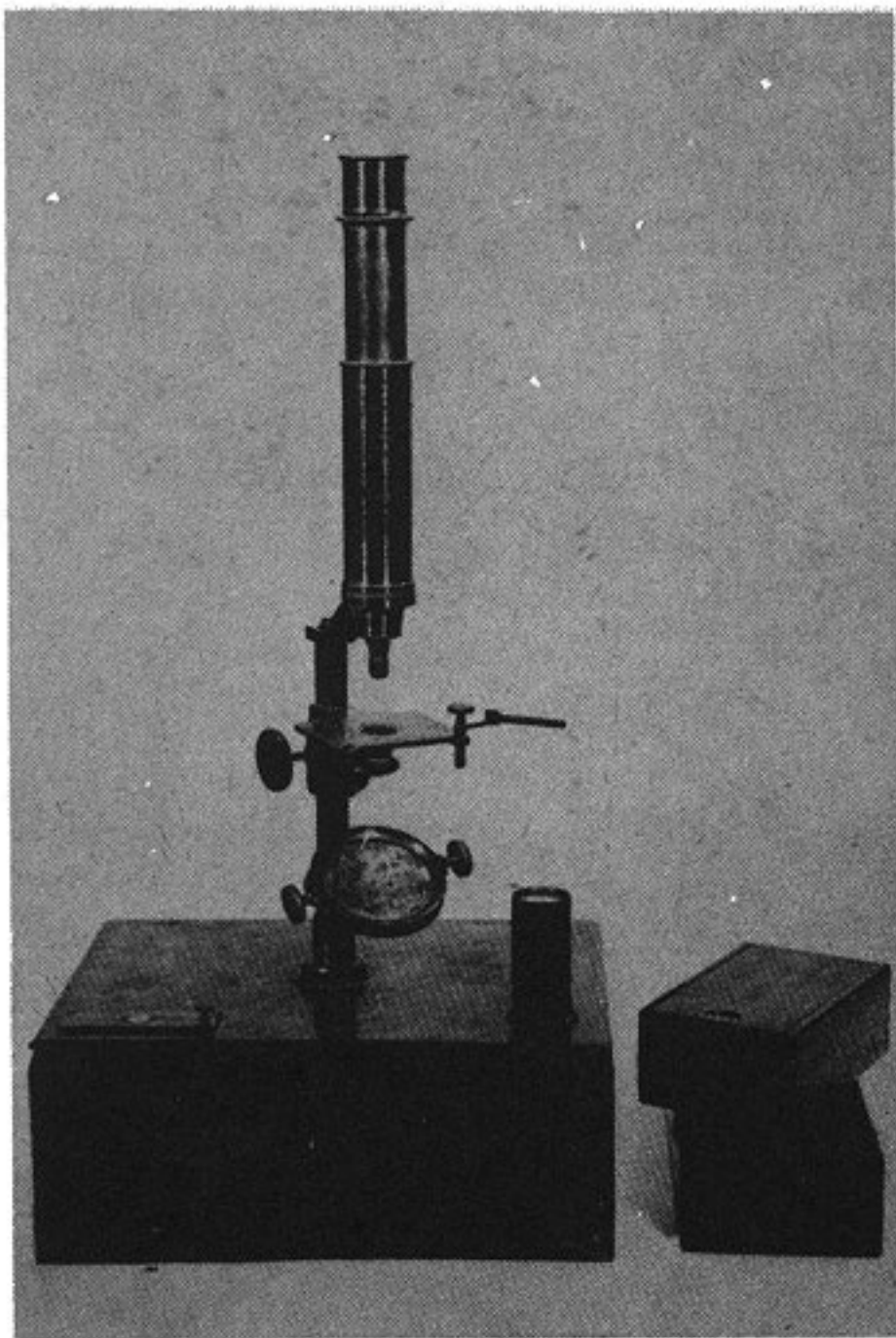
1. Anaissie E, Bodey G.; Sarosi G. Ed. Focus on fungal infections. An update on diagnosis and treatment. Clin Infect Dis. 1992; 14 Suppl. 1:S1-S181.
2. Armstrong D. Treatment of opportunistic fungal infections. Clin Infect Dis. 1993; 16:1-9.
3. Bodey G.; Buehlmann B.; Duguid W. et al. Fungal Infections in cancer patients: An international autopsies review. Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. 1992; 11:99-109
4. Drutz D. Ed. Systemic fungal infections. Diagnosis and treatment II. Inf Dis. Clin. North. Am. 1989; 3; 1:1-133.
5. Itraconazole. The medical letter. 1993, 35; 888: 7-9.
6. Medoff G and Kobayashi G. Systemic fungal infections. An overview. Hospital practice. 1991. 15 Feb. 41-52.
7. Nassoura Z.; Ivatury R.; Simon R.; et al. Candiduria as an early marker of disseminated infection in critically ill surgical patients: The role of fluconazole therapy. The Journal of Trauma. 1993; 35:2: 290-295.
8. Ríos F.A. Fiebre y neutropenia en pacientes con cáncer: Manejo antimicrobiano. Rev. Venez. Oncol. 1991; 3:1: 7-16.9. Ríos F.A. Fungemias en pacientes críticamente enfermos. Antibióticos e infección. 1992; 1; 1:30-337.
10. Ríos F.A. Micosis y Sida. Antibióticos e Infección. 1993; 1:3 12-21,11.
11. Rosenberg A and Brown A. Ed. Infection in the cancer patient. Disease month. 1993. XXXIX; 7:5007-569.
12. Sarosi C.A. Amphotericin B. Still the "Gold standard" for antifungal therapy. Postgraduate Medicine. 1990; 881:151-166.
13. Speller D.; Warnock D. Ed. Development in the management of fungal infection. Rev. Inf. Dis. 1991; 28. Suppl A: 1-10314. Telenti A.; Steckelberg J.; Stockman L. et al. Quantitative Blood Cultures in Candidemia. Mayo Clin. Proc. 1991; 66:1120-1123.
15. Terrel C and Hughes C. Antifungal Agents Used for Deep-Seated mycotic infection. Mayo Clin. Proc. 1992; 67:69-91.
16. Thompson S.; Bade P.; Taams M. and Chrystal V. Gastrointestinal mucormycosis. Br J Surg. 1991; 78:952-954.
17. Warnock D. and Richardson M. fungal infections in the compromised patient. 2nd Ed. 1991. John Wiley & Sons Editorial.
18. Wilder J. Ríos F.A.; Rodríguez M. et al. Infección sistémica por *Fusarium sp.* en una paciente inmunosuprimida. Presentación de una caso y revisión de la literatura. Arch Hosp Vargas. 1990. 32; 3-4: 229-233.

Beauperthuy

y su

microscopio

(aceptado para su publicación: 10 agosto 1993)



Microscopio acromático de Beauperthuy "Vincent Chevalier". El primero introducido en Venezuela en 1839 para el estudio de las enfermedades

Rosario Beauperthuy de Benedetti

Individuo de Número de la Academia Nacional de Historia de la Medicina

Un hombre inclinado sobre el microscopio es hoy la imagen universal, la figura representativa de la investigación. En la época de Beauperthuy (1807-1871) no era así, sus palabras semejan la voz de un profeta: "Los progresos de la medicina dependen de los de la química orgánica y de la observación microscópica".

Recién graduado de médico, Beauperthuy emprende estudios microscópicos y adquiere un excelente microscopio acromático "Vincent Chevalier". En 1838, sale rumbo a Venezuela, en calidad de viajero naturalista del Museo de Historia natural de París. Antes presenta a la Academia de Ciencias los resultados de las investigaciones hechas con su discípulo y colega Adet de Roseville, según consta en el "Compte Rendu des Séances" París 2 de Octubre de 1837 y en el "Journal des Connaissances Médicales" París, Abril 1838, tituladas:

"Carta sobre la presencia de animáculos en diversas secreciones y excreciones del hombre enfermo"; donde anuncian haber encontrado animáculos:

1. En el pus recogido en la superficie de llagas y excreciones venéreas;
2. en las materias excrementales de los individuos atacados de fiebre tifoide;
3. en las orinas de los calculosos y de varios individuos atacados de inflamaciones de la vejiga;
4. en el líquido de los hidroceles;
5. en las aguas de los amnios.

Lo más importante es que en su conclusión Lafirman que: "son los animáculos que engendran la putrefacción y no la putrefacción quien produce los animáculos"; 'negando por primera vez la generación espontánea.

Además han observado que "en el mayor número de enfermedades los glóbulos de la sangre están notablemente alterados". Estos exámenes son cosa corriente hoy día, pero entonces era sorprendente su afirmación: "Son agentes imperceptibles a la simple vista, pero visibles al examen microscópico" (p.52 "Travaux Scientifiques").

Al respecto el ilustre doctor Diego Carbonell, escribió: "La justicia de la ciencia exige que se recuerde que Beauperthuy no cree en la generación espontánea porque está convencido de que para la producción de la vida es necesario un germen, y ésta es la base fundamental en la existencia de la Bacteriología".

En la segunda Memoria, Enero de 1838, Beauperthuy somete al examen microscópico muestras de un cáncer escirroso; preocupado como hoy en

conocer la causa ignota de este mal. Esperamos llegará a extinguirse en un futuro próximo debido a los esfuerzos científicos mancomunados.

Como hombre de ciencia envió los resultados de todas sus investigaciones, realizadas en París y Venezuela, a la más alta institución científica: La Academia de Ciencias de París, sobre malaria, fiebre amarilla y cólera, comunicación fechada en Cumaná 18 de Enero de 1856, publicada en la "Gaceta Oficial de Cumaná" N° 57, 1854, y en "Comptes Rendus de l'Academie des Sciences", Tome 42, 1856 París; en "Escuela Médica" N° 10-26 y 27 Caracas, Junio 1875 a Abril 1876, dando a conocer su principal descubrimiento.

Beauperthuy, al visitar a Venezuela en 1834, realizó interesantes observaciones que presentó en su tesis doctoral; descubrió entonces, que una enfermedad de nuestros llanos, llamada por el vulgo "gusano de monte", es causada por un zancudo, cuya larva cava galerías en la piel del hombre y del ganado e indicó como extraerlo. Desde ese momento germinó su idea de la teoría insectil.

Beauperthuy fue un gran clínico, examina al hombre desde antes de nacer, al someter al microscopio el líquido amniótico que le rodea y sigue su estudio tras todo aquello que pueda causarle una enfermedad; motivación que le trae de nuevo al trópico ese mismo año de 1838, para investigar la causa de la fiebre amarilla, que despertaba singular interés en Europa, temiéndose fuera importada de América.

Para el notable médico Arístides Agramonte "El hecho de que este hombre, antes de 1840, viajara por las selvas de Venezuela, investigando con el microscopio las enfermedades tropicales bajo su observación, lo hace lo suficiente merecedor del lugar que reclamo para él entre los pioneros de la Medicina Tropical". Y añadió "Pero en lo que más deseo llamar la atención de la Sociedad es el hecho de que Beauperthuy, tan lejos como en 1853, definitivamente vio el papel de los mosquitos en la propagación de la malaria y de la fiebre amarilla".

En 1839, se establece en Cumaná; en 1844 revalida en nuestra universidad su título de médico; trabaja y exactitudes insospechadas hasta que Beauperthuy las descubrió y que son hoy el patrimonio común de la medicina, hacen de este médico de genio el nudo donde se bifurca la ciencia contemporánea. Su tránsito tiene significación de dignidad, prueba es el descubrimiento de la inoculación y transmisibilidad de la fiebre amarilla por la picada del mosquito o zancudo.

Ante de concluir nos referiremos al microscopio de Beauperthuy, el más perfeccionado que había salido en su época. En 1824, Selligie mostró ante la Academia de París el microscopio construido según los datos de Vincent Chevalier y de su hijo Charles Louis, en el cual se hallaban atornillados unos tras otros varios pares de lentes acromáticos, constituyendo así un sistema de objetivos. Por interposición de una lente intermediaria bicóncava, se conseguía de este modo un poder resolvente satisfactorio a la luz artificial. En otros objetivos, Chevalier y su hijo, unieron por primera vez las lentes que los componían mediante bálsamo del Canadá. Además, en su microscopio se hallaba un disco giratorio con diafragmas dispuestos bajo la platina, dispositivo que antes sólo había sido usado en las lupas. La acreditada y simple construcción de los objetivos acromáticos, de fuerte aumento, siguió siendo la misma por largo tiempo.



una publicación
de la Sociedad
de Bioanalistas Especialistas
Caracas - Venezuela

CONTENIDO

Estudio de la contaminación por hongos saprófitos, en muestras de lavado bronquial, en el Hospital Universitario de Caracas (Junio-Noviembre, 1992).
Autores: Ferreira T. y Hernández E.

Métodos diagnósticos en hepatitis C.
Autora: Lic. Isabel Massin

Nuevas técnicas ELISA aplicadas al diagnóstico de los agentes TORCH.
Autora: Lic. Isabel Massin

Incidencia de Estreptococos beta hemolíticos en la orofaringe de niños sanos.
Autores: Araujo M.; Hernández A.; Montaner D.; Rodríguez J. y Rodríguez M.

Incidencia de Chlamydia trachomatis en mujeres prostitutas de la ciudad de Maracaibo.
Autores: Abdel El Kader D.; Osorio M.E.; Parra Q.K. y Uzcátegui S.

Pneumocystis carinii
Autor: Axel Rodolfo Santiago

Infecciones micóticas en el paciente inmunosuprimido
Autor: Antonio Ríos F.

Beauperthuy y su microscopio
Autora: Rosario Beauperthuy de Benedetti.

Testimonios para la Historia de la SVBE
VICongreso Venezolano de Bioanálisis, Palabras de Instalación

Premio Científico Sociedad Venezolana de Bioanalistas Especialistas (reglamento)

Premio Científico Profesora Franca Billi (reglamento)

Abreviaturas de las Revistas Médicas Venezolanas

ASEREME, Documento Constitutivo y Estatutos