

ACTA CIENTIFICA DE LA SOCIEDAD VENEZOLANA DE BIOANALISTAS ESPECIALISTAS

Vol 3 N°2 1994
ISSN - 1315 - 1746
pp - 92 - 0487



CONTENIDO

Editorial1

Trabajos originales

Agentes bacterianos encontrados en pacientes inmunodeprimidos,
con síndromes respiratorios.
*Miriam Pérez Monrás; Isis Tamargo Martínez;
Alina Lera Marqués; José A. Valdivia*4

Modificación del Perfil Lipídico en pacientes tratados
con gemfibrozil.
Zuleima Morocoima de Garófalo, Luis Felipe Vásquez7

Estudio de plásmidos en cepas de *Neisseria Meningitidis*
con sensibilidad disminuida a la penicilina.
*Jorge Sosa Puente; Ana Sonia Patton Marisy;
Isabel Martínez Motas*
15

Determinación de IgG e IgM Anti- *Chlamydia Trachomatis*
en lactantes menores de 6 meses, con infecciones respiratorias
agudas en el tracto inferior.
*Mercedes C. Guilarte; Yelitza M. López M.; Daisy M. León de B.;
Carmen Luisa Sanoja P.; Ezio G. Valeri D.*19

Diagnóstico rápido de neumonías causadas por *Haemophilus*
influenzae tipo B y *Streptococcus pneumoniae* en niños menores
de 5 años.
Isis Tamargo Martínez; José A. Valdivia; Alina Lera Marqués ...32

Testimonios para la historia de la S.V.B.E.

XLV Aniversario de la Escuela de Bioanálisis de la UCV
Discursos de instalación37

Otros

Premio Científico S.V.B.E.43
Premio Louis Pasteur44
Premio Científico Franca Billi45
Programación de eventos científicos46

Tiraje: 2.000 ejemplares

Impresión: Poligráfica Industrial c.a.

Pre-prensa electrónica: Desarrollos Compumedia

Diseño, diagramación y producción: Avvizi c.a.

PORTADA

Louis Pasteur, hombre de ciencia de proyección universal.

En el centenario de su muerte, la Sociedad Venezolana de Bioanalistas Especialistas rinde un homenaje a este científico francés benefactor de la humanidad.

Pasteur es fuente de inspiración para llevar a cabo con orgullo nuestra tarea en pro de la salud de los venezolanos.





S.V.B.E.
JUNTA DIRECTIVA
1993 - 1995

Dr. AXEL RODOLFO SANTIAGO
Presidente

Lic. RAFAEL A. ROA
Vice presidente

Lic. CARMEN LLATAS de SZCZERBAN
Secretaria General

Lic. LIGIA SALINAS DELPINO
Secretaria Científica

Lic. OLIVIA LORETO
Sub - Secretaria Científica

Lic. MARIA DE JESUS MORENO
Secretaria de Finanzas

Lic. EUDOMARIO ALCANTARA
Primer Vocal

Lic. KATHERINA S. de AROCHA
Segundo Vocal

ACTA CIENTIFICA S.V.B.E.

Lic. ANA MONZON DE OROZCO
Editora

Comité de Redacción:

Lic. Zuleima M. de Garófalo, Dra. Mariangel Ochoa, Lic. Elizabeth Marval, Lic. Ciro A. Valiente, Lic. Fidias Herrera de Herrera, Lic. Josefina Guariguata, Lic. Marisa Gatti, Dr. Axel Santiago, Lic. Rafael Roa, Lic. Carme Llata de Szczerban, Lic. Ligia Salinas, Lic. Olivia Loreto, Lic. María de Jesús Moreno, Lic. Eudomario Alcántara, Lic. Katherina S. de Arocha, Lic. Carlos Santacruz, Lic. Yaniska Franquiz, Lic. Eliud Marín, Lic. Alicia Ruiz, Lic. María Gómez.

EDITORIAL

Al cumplir diez años de creada la Sociedad Venezolana de Bioanalistas Especialistas, queremos comenzar las celebraciones rindiendo honor a un hombre que sobrepasó las fronteras de su país para formar parte del pensamiento científico mundial, el pasado debe renacer en el presente y continuar en el futuro. Es por ello que motiva nuestro espíritu el reasaltar el nombre de este insigne benefactor de la humanidad, dedicando nuestros eventos científicos, el VII Congreso Venezolano de Bioanálisis y las VIII Jornadas Científicas de la S.V.B.E. a quien fué sin lugar a dudas piedra angular de grandes movimientos de cambio, que hoy todavía percibimos.

Todos los Bioanalistas de Venezuela queremos unirnos al mundo al conmemorar este año el centenario de la muerte de Louis Pasteur. Rendimos honores a uno de los grandes hombres de la ciencia universal, quien dedicó su vida al estudio de la física y la química, revolucionó su época con sus investigaciones y descubrimientos sobre los microorganismos responsables de las enfermedades en animales y humanos. Debemos a Pasteur metodologías para el correcto manejo de estos microorganismos, permitiendo su manipulación sin riesgos; nos legó todos los principios sobre higiene hospitalaria, que aun hoy siguen siendo base de nuestro trabajo seguro.

Queremos recordar hoy al hombre que con su perseverancia consiguió demostrar la disimetría molecular de los cristales y con sus estudios e investigaciones logró la forma de contener una epidemia, esta vez le tocó trabajar en el gusano de seda que moría por causas desconocidas, estableció las características del contagio y su profilaxis. Logra demostrar que la fermentación es un proceso en el cual intervienen los microorganismos, seres vivos, los cuales no nacen de la nada, y concluye que no existe la generación espontánea.

Trabaja en la industria vinícola, logrando conseguir los métodos para su conservación, lo que conocemos hoy como "pasteurización", método utilizado mundialmente para prolongar la calidad de muchos productos comestibles.

Pasteur investiga sobre la forma de identificar los gérmenes causantes de las enfermedades en animales y humanos, así como también evitar su aparición; los resultados obtenidos son sin lugar a dudas, el principio de la era de la vacunación, siendo este uno de sus logros más importantes, al obtener la vacuna contra la rabia sin lograr aislar el microorganismo causante de la enfermedad.

Pasteur como ser humano tenía un verdadero culto por los valores morales, con su familia, la ciencia, su país y el mundo. Fué muy religioso, creyente en Dios y respetuoso de sus obligaciones y deberes.

Como científicos debemos considerar a Louis Pasteur una gran figura de la humanidad. Meditar sobre su vida y obra nos hace sentir más cerca de la verdad por la que todos trabajamos, luchamos y para lo que nos hemos preparado. Continuar con esta cruzada por la salud de nuestros hermanos de Venezuela y el mundo debe seguir siendo hoy nuestro deber, igual que lo fué para Pasteur hace cien años, cumplir nuestros compromisos es la mejor forma de enaltecer el nombre de este gran hombre.

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

AGENTES BACTERIANOS ENCONTRADOS EN PACIENTES INMUNO DEPRIMIDOS, CON SINDROMES RESPIRATORIOS.

Miriam Pérez Monrás (1) Isis Tamargo Martínez (1) Alina Lera Marqués (2) José A. Valdivia (1)
 (1) Laboratorio Nacional de Referencia de Micobacterias y Tuberculosis, Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kouri", La Habana, Cuba. (2) Hospital Infantil "Pedro Borrás Astorga", Cuba.

RESUMEN

En el Laboratorio de Infecciones Respiratorias Agudas Bacterianas (IRAB), del Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kouri" (IPK), se recibió un total de 49 muestras de 49 pacientes de SIDA con síndrome respiratorio, éstas fueron: 3 en suero y 46 de esputo. Se aisló un total de 13 cepas: 6 de *Staphylococcus aureus* (46,15%), 3 de *Streptococcus pneumoniae* (23,07%), 2 de *Escherichia coli* (15,38%), 1 de *Pseudomonas aeruginosa* (7,69%) y 1 de *Streptococcus viridans* (7,69%). Además, se recibió un total de 23 muestras a partir de 23 pacientes con transplante renal con síndrome respiratorio, que fueron: 8 de lavado bronquial, 8 de esputo, 6 de hemocultivo y 1 de biopsia pulmonar, aislándose un total de 5 cepas: 2 de *Staphylococcus aureus* (40,0%) y 1 de *Pseudomonas aeruginosa* (20,0%).

Todas las muestras se recibieron en el período de Enero de 1.990 a Enero de 1.991 y a la totalidad se les aplicaron las técnicas de diagnóstico rápido y convencional.

Palabras Claves: SIDA, síndrome respiratorio, transplante renal, agentes bacterianos.

ABSTRACT

A total of 49 samples from 49 Aids patients were processed at Acute Respiratory Infection Laboratory of "Pedro Kouri" Tropical Medicine Institute 3 serum samples and 46 sputum.

Thirteen strains were isolated: 6 *Staphylococcus aureus* (46,15%), 3 *Streptococcus pneumoniae* (23,07%), 2 *Escherichia coli* (15,38%), 1 *Pseudomonas aeruginosa* (7,69%), and 1 *Streptococcus viridans* (7,69%).

Besides 23 samples received from 23 renal transplanted patients with Respiratory Syndrome: 8 samples from bronchial lavation, 8 sputum, 6 blood culture and 1 pulmonary biopsy. From these samples were isolated 5 strains: 2 *Staphylococcus aureus* (40,0%), 2 *Escherichia coli* (40,0%), and *Pseudomonas aeruginosa* (20,0%).

All the samples were received between January 1990 and January 1991 and processed by rapid diagnosis and

conventional techniques.

Key Words: AIDS, respiratory syndrome, renal transplanted, bacterial agents.

INTRODUCCION

Las infecciones oportunistas son la causa más importante de morbilidad y mortalidad en pacientes inmunodeprimidos y dentro de ellas las respiratorias agudas (IRA)(1,2,3). Conocer el agente causal de éstas permite la rápida implantación de medidas terapéuticas en etapas tempranas de la enfermedad.

Entre los microorganismos que se encuentran más comúnmente asociados a las IRA, en este tipo de pacientes están: *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, Enterobacterias, etc. (4,5,6). Debemos resaltar que el *Staphylococcus aureus* se asocia a cuadros de bacteriemia en estos enfermos, aunque no ha sido reportado como causa frecuente de neumonía en casos clínicos estudiados (6,7).

El síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA), entidad clínica en la que se incluyen infecciones oportunistas y procesos malignos de desenlace fatal, se observó por primera vez en 1981 en los Estados Unidos de América y pronto empezaron a describirse casos similares en otros lugares del mundo.(1).

Se ha comprobado, que el virus de la Inmunodeficiencia Humana (VIH), es un importante factor de riesgo en los pacientes de diferentes infecciones invasivas (2).

En el caso de los pacientes con transplante renal, se ha observado, que como son sujetos inmunodeprimidos, las infecciones oportunistas, y dentro de éstas las IRA, se ven con frecuencia (8,9).

En nuestro Laboratorio de Infecciones Respiratorias Agudas Bacterianas del IPK, recibimos muestras de inmunodeprimidos, tanto pacientes de Sida como con transplante renal, por lo que nos propusimos conocer cuales eran los microorganismos más frecuentes que causaban patología respiratoria en este tipo de pacientes en nuestro país.

MATERIAL Y METODO:

Se estudió un total de 49 muestras a partir de 49 pacientes VIH positivos: 3 de suero y 46 de esputo, en el Laboratorio de IRAB del IPK.

Además se evaluaron 23 muestras a partir de 23 pacientes con trasplante renal: 8 de lavado bronquial, 8 de esputo, 6 de hemocultivo y 1 de biopsia pulmonar, en el Laboratorio de IRAB del IPK.

Todas las muestras se recibieron en el período de Enero de 1.990 a Enero de 1.991 y a todas se les aplicaron las técnicas de diagnóstico rápido y convencional, acorde a las marchas técnicas establecidas en nuestro Laboratorio (8,9).

RESULTADOS Y DISCUSION:

Como se observa en la Tabla I, se muestra el número de cepas aisladas a partir de muestras de esputo de pacientes HIV positivos.

Se estudió un total de 49 pacientes, de los cuales se recibieron en el Laboratorio: 3 muestras de suero y 46 de esputo. Las muestras de suero resultaron negativas al realizar las técnicas de diagnóstico rápido (8).

De los 46 especímenes de esputo estudiados, se obtuvo crecimiento microbiano en 13 de ellos, para un 28,26%, representado el 26,53% del total de muestras.

A partir de los esputos (Tabla I), se aislaron 6 cepas de *Staphylococcus aureus* (46,15%), 3 de *Streptococcus pneumoniae* (23,07%), 2 de *Escherichia coli* (15,38%), 1 de *Pseudomonas aeruginosa* (7,69%) y 1 de *Streptococcus viridans* (7,69%).

TABLA I: Cepas aisladas a partir de muestras de esputo. De Enero de 1990 a Enero de 1991. Lab. IRAB.IPK.Ciudad de La Habana.

Microorganismos	Nº	%
<i>Staphylococcus aureus</i>	6	46,15
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	3	23,07
<i>Escherichia coli</i>	2	15,38
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1	7,69
<i>Streptococcus viridans</i>	1	7,69
Total	13	100,0

Fuente: Estudio realizado.

Se han encontrado numerosas bacterias asociadas a la patología del VIH y la mayoría de ellas producen neumonías bacterianas en estos pacientes, como por ejemplo: *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pneumoniae* o *Legionella*. (10,11,12).

En este estudio, se obtuvieron 3 cepas de *Streptococcus pneumoniae* a partir de muestras de esputo, lo

cual coincide con lo publicado por diferentes autores en relación a la importancia del aislamiento de este microorganismo, en este tipo de pacientes y en las muestras de esputo, que en nuestro estudio tuvo un valor fundamental (11,12,13).

Debemos destacar que una característica muy notable del SIDA, es el amplio espectro y la frecuencia de las infecciones causadas por agentes patógenos, posiblemente mortales y que raramente se encuentran en huéspedes normales (14,15). En nuestro estudio, se aisló una cepa de *Pseudomonas aeruginosa* (7,69%). La colonización e infección por esta bacteria, es un problema común en el ambiente hospitalario (16,17). Este agente biológico de extraordinaria ubicuidad, se señala con importancia creciente asociado a pacientes inmunodeprimidos y críticos en general (16,17,18).

Las cepas aisladas a partir de pacientes con trasplante renal, se muestran en la Tabla II.

Se estudió un total de 23 pacientes transplantados renales, con síndromes respiratorios, recibiendo en el Laboratorio un total de 23 muestras: 8 de lavado bronquial, 8 de esputo, 6 de hemocultivo y 1 de biopsia pulmonar. Se aisló un total de 5 cepas: 2 de *Staphylococcus aureus* (40,0%), 2 de *Escherichia coli* (40,0%) y 1 de *Pseudomonas aeruginosa* (20,0%).

TABLA II: Cepas aisladas a partir de muestras de pacientes con trasplante renal. De Enero de 1.990 a Enero de 1.991.

Lab.IRAB.IPK. La Habana.

Microorganismos	Nº	%
<i>Staphylococcus aureus</i>	2	40,0
<i>Escherichia coli</i>	2	40,0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1	20,0

Fuente: Estudio realizado.

Las 2 cepas de *Staphylococcus aureus*, fueron aisladas de muestras de lavado bronquial y esputo, las 2 de *Escherichia coli* fueron aisladas a partir de sangre para hemocultivo y de biopsia pulmonar y la de *Pseudomonas aeruginosa* se obtuvo a partir de una muestra de esputo.

Los microorganismos aislados en este estudio, se describen como causa frecuente de IRAB y causa de bacteriemia en este tipo de pacientes, sobre todo en el caso de la cepa aislada de *Pseudomonas aeruginosa* (17,18), agente biológico de extraordinaria importancia asociado a pacientes expuestos a procedimientos diagnósticos invasivos, terapéuticos o de seguimiento, como es el caso de los pacientes sometidos a trasplante

renal (18), pues este microorganismo tiene una extraordinaria capacidad de sobrevivir y multiplicarse como contaminante en el microambiente, facilitado por diversos instrumentos y equipos empleados para estas técnicas (18,19).

CONCLUSIONES

1.- Se aplicaron las técnicas de diagnóstico rápido y convencional al 100,0% de las muestras estudiadas.

2.- Se obtuvo crecimiento microbiano en el 26,53% del total de las muestras estudiadas de pacientes VIH positivos.

3.- El 28,26% de las muestras de esputo de pacientes de SIDA resultaron positivas.

4.- Los microorganismos aislados con mayor frecuencia de pacientes de SIDA fueron: *Staphylococcus aureus* (46,15%) y *Streptococcus pneumoniae* (23,07%).

5.- Se obtuvo crecimiento microbiano en el 21,72% del total de las muestras estudiadas de pacientes con transplante renal.

6.- Los microorganismos aislados en pacientes sometidos a transplante renal con síndromes respiratorios fueron: *Staphylococcus aureus* (40,0%), *Escherichia coli* (40,0%) y *Pseudomonas aeruginosa* (20,0%).

BIBLIOGRAFIA

- (1): Terry Molinert, H. y cols. Cuadro Epidemiológico. República de Cuba. Ministerio de Salud Pública. Programa de Control del SIDA. 159-170, 1989.
- (2): Redd, S. E. et al: The role of Human Immunodeficiency Virus Infection in Pneumococcal Bacteremia in San Francisco Residents. *J. Infect. Dis.* 162 (5): 1012-1017, 1990.
- (3): Boletín Epidemiológico. Instituto de Medicina Tropical Pedro Kouri. Dirección Nacional de Epidemiología. MINSAP. Habana. Cuba. 8/5/91. Semana No. 18/91. 5. EL SIDA. Segunda causa de muerte entre los hombres jóvenes de E.U. *The Daily Journal*. Enero 21. 1991.
- (4): Boletín Epidemiológico. IPK. Dirección Nacional de Epidemiología. MINSAP. Habana. Cuba. 12/6/91. Semana No. 23/91 5. SIDA en Cuba. Resultado del pesquizado serológico. 1991.
- (5): Boletín Epidemiológico. IPK. 31/7/91. 1 (3). 233, 1991.
- (6): Foro Mundial de la Salud. Revista Internacional de Desarrollo Sanitario. 6 (1), Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida: Situación Actual. 35 - 40. OMS. Ginebra, Informe de una reunión de la OMS. Primer Plano, 1985.
- (7): Centers for Disease Control Morbidity and Mortality Weekly Report. Vol 39, No. RR-16, recomendations and reports. HIV Prevalence. Estimates and AIDS. Case Projections for the United States: Report based upon a workshop. 1990.

- (8): OMS / Acute Respiratory Infections Laboratory. Manual of Bacteriological Procedures. No. 317, 1986.
- (9): Lennette, Edwin H. Manual de Bacteriología Clínica. Edición Revolucionaria. Editorial Científico - Técnica. Tomo I: 549 - 555, 1982.
- (10): A simple and effective method for Bronchoalveolar. *CDC. AIDS. Weekly.* 12/7/90. 21. 1990.
- (11): Instantáneas. *Bolet. Of Sanit Panam.* 109 (4), 384, 1990.
- (12): Boletín Epidemiológico de Antioquia. Jul/ Agosto/ Sept/1990. Año XV No. 3. Actualidades en SIDA. 6ta. Conferencia Internacional. 1990.
- (13): Rafael Nájera: SIDA: De la Biomedicina a la Sociedad. 180, 1990.
- (14): *CDC-AIDS-Weekly*, 5. December 10, 1990.
- (15): Foro Mundial de la Salud. *Rev. Internacional de Desarrollo Sanitario.* Vol 6 No. 1. Primer Plano. Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida. Situación Actual. 35-40. 1985.
- (16): Brown, R.B. et al: Infections in a pediatric intensive care unit. *AJDC*, 141: 267-270, 1987.
- (17): Celaya Pérez, S. y col. Brote de Sepsis por *Pseudomonas aeruginosa* tras cirugía cardíaca. *Med. Intensiva.* 10(5): 251 - 253, 1986.
- (18): Gómez-Lus, R. y col. Marcadores epidemiológicos. Ponencia presentada en la II Jornada de Higiene y Medicina Preventiva Hospitalaria. Stgo. de Compostela. España. 1977.
- (19): Allemeersch, D. et al: Marked increase of *Pseudomonas aeruginosa* serotype 012 in Belgium since 1982. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect Dis* 7 (2): 265 - 269, 1988.

MODIFICACION DEL PERFIL LIPIDICO EN PACIENTES TRATADOS CON GEMFIBROZIL

Zuleima Morocoima de Garófalo (1); Luis Felipe Vásquez (2)

(1) Laboratorio IPASME. Barcelona, Estado Anzoátegui

(2) Servicio de Medicina Interna Hospital Luis Razetti. Barcelona. Estado Anzoátegui.

RESUMEN

Teniendo en cuenta las múltiples evidencias con resultados satisfactorios con Gemfibrozil por varios autores en otras latitudes y, considerando que existen algunos pacientes que, debido a varios factores, no cumplen las medidas higiénico-dietéticas adecuadamente, se realizó un estudio en 27 pacientes con Hiperlipemias tipo IIb y tipo IV de Fredrickson. Además de insistirles en las medidas higiénico-dietéticas conocidas, se les inició tratamiento con Gemfibrozil a razón de 600 mgrs. dos veces al día. Se les elaboró un formato con toda la información pertinente. Se determinó el Perfil Lipídico previo y luego a los tres (3) meses de tratamiento. En la mayoría de los pacientes hubo cambios favorables significativos en sus perfiles lipídicos, siendo estos cambios más notables en los pacientes con Hiperlipidemias tipo IIb. No se observaron efectos colaterales relacionados con la droga que obligara a suspender la misma.

Podemos concluir que, además de las medidas higiénico-dietéticas como medida de intervención primaria en pacientes con Hiperlipidemia, Gemfibrozil constituye un elemento de primer orden a considerar en el manejo de estos pacientes, sobre todo si además presentan otros factores de riesgo cardiovascular como ocurre usualmente.

Palabras Claves: Gemfibrozil, hiperlipidemia, perfil lipídico.

ABSTRACT

Having in mind the wide range of evidences with satisfactory results with Gemfibrozil by several authors in other latitudes and, considering that some patients who due to different facts avoid the suitable hygienic-dietetic cautions, a study on 27 Fredrickson Hiperlipidemic type IIb and IV was made. Besides emphasizing on the already known hygienic-dietetic cautions a treatment on Gemfibrozil at the rate of 600 mgrs. was given twice a day. A format with the pertinent information was worked out. The lipidic outline was determined previously and after three months of

treatment. There was a significant improvement in most of the lipidic outline patients, being outstanding on the type IIb patients. As there were no secondary effects related to the drug, the treatment kept on.

Therefore, we can conclude that, besides the hygienic-dietetic cautions as a primary intervention in Hyperlipidemic patients, Gemfibrozil represents a primary element to be considered when dealing this patients, most if they have other cardiovascular risk factor as it usually happens.

Key Words: Gemfibrozil, hiperlipidemic, lipidic outline.

INTRODUCCION

Entre los diversos factores de riesgo para desarrollar cardiopatías isquémicas, existen los llamados factores modificables, tales como: la edad, sexo, la historia familiar, etc., además existen otros factores de riesgos, llamados modificables, debido a que sobre ellos podemos intervenir, bien sea de manera directa o indirecta, con medidas para combatir este grave problema que representan las enfermedades cardiovasculares.

Entre otros factores de riesgo modificables se encuentran la obesidad, la hiperuricemia, el hábito de fumar, la hipertensión arterial, la hipertrofia del ventrículo izquierdo, la hiperglicemia, el sedentarismo, la hiperlipemias, etc. Vale la pena señalar que estos factores ya habían sido establecidos desde el estudio de la cohorte de Framingham en 1948, aunque se han aplicado algunos cambios en los últimos años (1,2,3,4).

Ahora bien, teniendo en cuenta las diversas pruebas que existen en otras latitudes y en nuestro país de la incidencia y prevalencia que tienen las enfermedades cardiovasculares y, particularmente la cardiopatía isquémica, es por lo que se hace absolutamente necesario intervenir sobre estos factores susceptibles de ser modificados (5, 6, 7, 9, 10, 11).

Con respecto a las Hiperlipidemias y, a la luz de los conocimientos actuales, es innegable que la intervención de primera línea debe ser de tipo dietético. Sin embargo, existen unos pacientes, en los cuales resulta sumamente

difícil lograr un cumplimiento de un régimen higiénico-dietético adecuado, sobre todo si tomamos en cuenta la situación de nuestro país, que conlleva condiciones socioeconómicas para nuestra población que no le permiten cumplir una alimentación adecuada. Es por esto que se imponen otras medidas higiénicas y farmacológicas para el tratamiento de estos pacientes. Atendiendo a éstas y otras consideraciones, un panel de expertos del Programa de Educación sobre el Colesterol y del Instituto Nacional del Corazón, Pulmón y Sangre en Maryland, EEUU., recomienda que aquellos pacientes con otros factores de riesgo deben recibir otras formas de cuidado preventivo, según lo que resulte apropiado (12,13,14,15).

A la luz de los conocimientos de algunos medicamentos de uso en los últimos años, con los resultados obtenidos en el Estudio de Helsinki sobre el Corazón en la Prevención Primaria con Gemfibrozil y, teniendo en cuenta la experiencia de otros autores, tanto en animales de experimentación, como en humanos, decidimos iniciar un estudio prospectivo en un grupo de pacientes en la zona metropolitana de Barcelona y Puerto La Cruz, Estado Anzoátegui, utilizando esta droga previo consentimiento de los sujetos, para ver la modificación de sus perfiles lipídicos (16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24).

PACIENTES Y METODOS

El grupo de pacientes del estudio fueron de las personas que acudían a la consulta de Medicina Interna del Hospital Universitario "Dr. Luis Razetti" de Barcelona y a la consulta privada. Los requisitos para entrar en el estudio, eran los siguientes:

Presencia de Hiperrlipidemia tipos IIIb y IV de Fredrickson, adultos de ambos sexos, con presencia o no de factores de riesgo y que no estuvieron recibiendo ninguna otra medicación que modificara los Lípidos Plasmáticos, por lo menos un mes antes. Se les elaboró una historia clínica completa, se les hizo determinaciones previas de Hematología completa, Urea, Creatinina, Acido Úrico séricos, recuento de Plaquetas, Tiempo de Protombina (PT) y Tiempo Parcial de Tromboplastina Activada (PTTA), los cuales fueron repetidos al cabo de tres (3) meses de tratamiento.

A todos los pacientes se les realizó un Perfil Lipídico previo al tratamiento y luego se repitió a los tres (3) meses de iniciado el mismo.

Para la determinación de los Perfiles Lipídicos, se procedió de la siguiente manera:

Con los sujetos en ayuna de catorce (14) horas, en el día de la prueba a las 8:00 de la mañana, se les extrajo

una muestra de veinte (20) mililitros de sangre venosa periférica. La sangre que se empleó para la medición de los lípidos y lipoproteínas contenida EDTA a razón de 1,5 mg/dl.

El plasma sanguíneo se separó por centrifugación durante 15 minutos a 25° C.

TIPIFICACION DE LAS HIPERLIPIDEMIAS Y DISLIPIDEMIAS

Las muestras de plasmas obtenidas se usaron para tipificar las dislipidemias, mediante la determinación de Triglicéridos (TGD), Colesterol total (CT) y sus fracciones (Lipoproteínas de alta densidad y de baja densidad HDL-C y LDL-C, respectivamente). Para la determinación de Colesterol total y sus fracciones se utilizó el método enzimático de Siedel, estandarizado por Boehringer, previa precipitación por soluciones aniónicas, controlado de acuerdo con Coniglio y colaboradores (1978) y estandarizado por Boehringer. Para la determinación de Triglicéridos se usó el método enzimático de Wahfeldt y colaboradores (1974), estandarizado por Gilford. Los valores considerados como normales fueron los siguientes: Triglicéridos hasta 150 mg/dl; Colesterol hasta 220 mg/dl; HDL-C mayor de 45 mg/dl; LDL-C hasta 150 mg/dl; Razón CT/HDL-C de 2.5 a 4.5 y Razón LDL-C/HDL de 1.5 a 3.5. El Gemfibrozil se fraccionó en dos (2) dosis de 600 mg, cada uno, administrándose después del desayuno y cena.

ANALISIS ESTADISTICO:

Para el análisis estadístico de los resultados se usó el Test de Distribución T de Student, para muestras dependientes pequeñas.

RESULTADOS

En el período comprendido entre Marzo de 1988 y Marzo de 1989, fueron evaluados veintisiete (27) pacientes de los cuales, veintidós (22) eran de sexo femenino (81.84%) y cinco (5) eran de sexo masculino (18.51%) cuyas edades estaban comprendidas entre 25 y 67 años, con una media de 48 años. La distribución por grupos etarios fue la siguiente:

Entre 22 a 35 años, tres (03) pacientes (Grupo A) (11.11%)

Entre 36 y 45 años, seis (06) pacientes (Grupo B) (22.22%)

Entre 46 y 55 años, once (11) pacientes (Grupo C) (40.74%)

Entre 56 y 65 años, cuatro (04) pacientes (Grupo D) (14.81%)

y mayores de 66 años, tres (03) pacientes (Grupo E) (11,11%)

(Tabla 1)

ANTECEDENTES PERSONALES

Veinticuatro (24) pacientes no tenían antecedentes (88,88%); Litiasis Renal, dos (2) pacientes (7,40%) y, Colelitiasis, un (01) paciente (3,70%).

ANTECEDENTES FAMILIARES

Cardiopatía Isquémica Crónica (CIC), cinco (05) pacientes (18,51%); Hipertensión Arterial (HTA), cuatro (4) pacientes (14,81%); Diábetes Mellitus (DM) un (01) paciente (3,70%) y, diecisiete (17) pacientes no tenían antecedentes familiares de importancia (69,96%).

TIPOS DE HIPERLIPIDEMIAS ESTUDIADAS

Dieciseis (16) pacientes correspondían al tipo IIb (59,24%) y once (11) pacientes correspondían al tipo IV (40,74%).

HABITOS PSICOBIOLOGICOS

Diez (10) pacientes con hábito de fumar (37,03%); cinco (5) con hábitos alcohólicos (18,51%) y doce (12) negaban hábitos relacionados (44,44%).

PATOLOGIAS ASOCIADAS ENCONTRADAS:

Hipertensión Arterial en trece (13) pacientes (48,14%); Diábetes Mellitus en cuatro (4) pacientes (14,81%); Insuficiencia Renal Crónica en un caso (3,70%) y en cinco (5) pacientes no se encontró otro tipo de patología asociada (18,51%).

SUFICIENTE CORPORAL

Se agrupó a los pacientes, según la suficiente corporal, de la manera siguiente:

- 1.35 a 1.50 Mts², tres (3) pacientes (11,11%)
- 1.51 a 1.66 Mts², seis (6) pacientes (22,22%)
- 1.67 a 1.82 Mts², once (11) pacientes (40,74%)
- 1.83 a 1,98 Mts², cuatro (4) pacientes (14,81%) y,
- 1,99 a más Mts², tres (3) pacientes (11,11%)

(Tabla 2)

MEDICAMENTOS ASOCIADOS

Ocho (8) pacientes recibían Enalapril (29,62%); uno (01) recibía Glibenclamida (3,70%) y dieciocho (18) pacientes no tenían medicamentos asociados (66,66%). (Tabla 3).

MODIFICACION DEL PERFIL LIPIDICO

Después de tres meses de tratamiento, los cambios

fueron los siguientes:

A. Según los grupos etarios.

En relación a los triglicéridos, la disminución más importante se observó en las personas mayores de 35 años.

La significancia fue de 0.02 para todos los grupos. Con respecto al Colesterol, hubo una disminución en los grupos A-B-C-D y en el E se apreció un ligero aumento de 217.33 mg/dl a 225 mg/dl no significativo, ya que para todos los grupos la significancia fue menor de 0.05. Las Lipoproteínas de Alta Densidad (HDL-C) presentaron un aumento importante en todos los grupos etarios, siendo más notable en los grupos B y C. La totalidad de los promedios reveló una $P < 0.001$. Las Lipoproteínas de Baja Densidad (LDL-C) mostraron un ligero aumento en los grupos D y E; sin embargo, en todos los veintisiete (27) pacientes disminuyeron en forma global con un $P = 0.03$. La razón CT/HDL-C disminuyó en todos los grupos etarios, siendo más notorio en los grupos de 36 años de edad, con $P < 0.01$. Por otro lado, la razón LDL-C/HDL-C disminuyó más notablemente en los más jóvenes (Grupos A, B y C). El análisis de esta razón arrojó una $P < 0.02$. En la Tabla 4, pueden observarse los cambios de los promedios de todos los lípidos.

B. Según la superficie Corporal.

Notamos la disminución en los triglicéridos con una $P < 0.01$. El colesterol también disminuyó en todos los grupos con una $P < 0.05$. Las lipoproteínas de Alta Densidad (HDL-C) aumentaron significativamente ($P < 0.01$) en todos los grupos.

Llama la atención que en grupo de suficiente corporal entre 1,83 y 1,98 Mts² hubo un ligero aumento de las Lipoproteínas de Baja Densidad (LDL-C). Pero en general, la tendencia fue a la disminución con una $P < 0.3$. De igual manera, se observó una disminución de la razón CT/HDL-C, con una $P < 0.001$. También disminuyó la razón LDL-C/HDL-C en forma universal con una significación menor de 0.01. En la Tabla 5 pueden verse las modificaciones de los promedios de los lípidos y sus respectivas razones.

C. Según el tipo de Hiperlipidemias

Hiperlipidemias Tipo IIb: Hubo disminución de triglicéridos significativamente ($P < 0.001$). De igual manera se apreció una disminución del colesterol con significancia similar. También, aumentaron los Lipoproteínas de Alta Densidad (HDL-C) de manera importante ($P < 0.02$). Hubo disminución de la Lipoproteínas de Baja Densidad (LDL-C) de manera significativa ($P < 0.02$). Con respecto a las razones CT/HDL-C y LDL-C/HDL-C, disminuyeron significativamente, con ($P <$

0.001) en ambos casos. Los cambios de todos los promedios se presentaron en la Tabla 6.

Hiperlipidemias Tipo IV: El promedio de los triglicéridos disminuyó de 295.63 mg/dl a 167.54 mg/dl, con una (P < 0.01). Hubo disminución del colesterol de 257.27 mg/dl a 221.9 con una significancia de 0.05. Las Lipoproteínas de Alta Densidad (HDL-C) aumentaron de 29,54 mg/dl a 42,36 mg/dl (P < 0.02). También disminuyeron la Lipoproteínas de Baja Densidad (LDL-C), pero menos significativamente (P < 0.6).

Hubo disminución de la razón CT/HDL-C (P < 0.001); así como la razón LDL-C/HDL-C (P < 0.01). Los promedios de los lípidos de los pacientes con Hiperlipidemias tipo IV están presentados en la Tabla 7. Con relación a las variables hematológicas y Bioquímicas no hubo cambios significativos al cabo de tres meses de tratamiento con Gemfibrozil.

...

TABLA 1 - Modificación del Perfil Lipídico en Pacientes tratados con Gemfibrozil.

Distribución según Grupos Etarios

Grupo Etario en Años	Números Pacientes	%
25 a 35 (A)	03	11.11
36 a 45 (B)	06	22.22
46 a 55 (C)	11	40.74
56 a 65 (D)	04	14.81
65 y más (E)	03	11.11
Total	27	99.99

TABLA 2 - Modificación del Perfil Lipídico en Pacientes tratados con Gemfibrozil

Distribución de los Pacientes según Superficie Corporal

Superficie Corporal (en m2 de Sup.)	Nº de Pacientes	Porcentaje
1.35 a 1.50	03	11.11
1.51 a 1.66	06	22.22
1.67 a 1.82	11	40.74
1.83 a 1.98	04	14.81
1.99 y más	03	11.11
Total	27	99.99

TABLA 3 - Modificación del Perfil Lipídico en Pacientes Tratados con Gemfibrozil

Distribución de los Pacientes según Tipo de Medicamentos

Medicamento	Nº de Pacientes	Porcentaje
Enalapril	08	29.62
Glibenclamida	01	3.70
Sin Medicación	18	66.66
Total	27	99.98

...

TABLA 4 - Modificación del Perfil Lipídico.

Según Grupos Etarios (Promedio en mgrs./dl)

Grupo	I N I C I A L					
	TGD	CT	HDL-C	LDL-C	CT/HDL-C	LDL-C/HDL-C
A	222.	251	32.6	181	7.72	5.75
B	186.83	274	33	177.33	8.69	4.45
C	212	271.09	31.72	191.63	8.73	6.06
D	296.25	256.5	39.25	158.75	6.86	4.38
E	368.66	217.33	29	188.33	7.44	3.98
Grupo	F I N A L					
	TGD	CT	HDL-C	LDL-C	CT/HDL-C	LDL-C/HDL-C
A	128.33	213.66	41.33	143.33	7.08	3.40
B	162.16	143.5	47.41	170.5	5.35	3.69
C	128	205.36	42.81	140	5	3.46
D	118.25	226	44	162	5.33	4.02
E	212	225	43.33	135.66	5.23	3.08
P	<0.02	<0.05	<0.011	<0.03	<0.001	<0.02

DISCUSION

En la literatura se han descrito más de 270 factores de riesgo y, con base a estudios prospectivos y terapéuticos, la cardiopatía coronaria se podría prevenir hasta un 90% de los casos al modificar los factores de riesgo conocidos (20)(27). En relación a las Dislipidemias e Hiperlipidemias, han existido algunas controversias con respecto a su manejo, pero es innegable su papel como factor de riesgo cardiovascular. La mayoría de los autores coinciden en el hecho de que siempre debe intentarse la modificación de este factor de riesgo con intervención dietética. Sin embargo, como ya mencionamos, existen algunos pacientes cuyo manejo higiénico-dietético no siempre resulta fácil debido a múltiples factores, en base a las múltiples experiencias que existen desde 1971 con el uso de Gemfibrozil y sobre todo a la

Tabla 6 - Medicación del Perfil Lipídico en Pacientes con Hiperlipemias IIb (Promedios en mgs./dl)

16 pacientes						
Perfil Lipídico	TGD	CT	HDL-C	LDL-C	CT/HDL	LDL/HDL
Inicial	235,06	248,43	33,93	189,02	5,37	5,66
Final	127,	218,68	44,96	156,18	5,	5,59
P:	<0,001	<0,001	<0,01	<0,02	<0,001	<0,001

...

TABLA 7 - Modificación del Perfil Lipídico en Pacientes con Hiperlipemias IV (Promedios en mgs./dl)

11 pacientes						
Perfil Lipídico	TGD	CT	HDL-C	LDL-C	CT/HDL	LDL/HDL
Inicial	295,63	257,27	29,54	132,72	7,34	4,62
Final	167,54	221,9	42,36	112,36	5,43	3,47
P:	<0,01	<0,05	<0,02	<0,06	<0,001	<0,01

...

TABLA 5 - Modificación del Perfil Lipídico Según Superficie Corporal (Promedio en mgrs/dl).

INICIAL						
Superficie (m2)	TGD	CT	HDL-C	LDL-C	CT/HDL	LDL/HDL
1.35 - 1.50	308	253.	32.	150.	7,90	4,68
1.51 - 1.66	196,42	299,28	37.	185,71	8,35	5,14
1.67 - 1.82	285,56	247,62	32,06	167,31	7,84	5,35
1.83 - 1.98	207,5	254,	36,5	179,	7,88	5,66
1.99 y más	346	2.41	23,	166,	6,13	4,15
FINAL						
Superficie (m2)	TGD	CT	HDL-C	LDL-C	CT/HDL	LDL/HDL
1.35 - 1.50	159,	226,	50,	154,	4,5	3
1.51 - 1.66	97,28	237,8	50,64	148,14	4,86	3,06
1.67 - 1.82	164,56	210,66	40,37	145,37	5,38	3,62
1.83 - 1.98	158,5	244,5	51,	190,5	4,89	3,9
1.99 y más	85,	189,	36,	150,	5,36	3,8
P:	<0,01	<0,05	0,01	<0,3	<0,001	<0,01

luz de los resultados satisfactorios obtenidos en humanos; se desarrolló este estudio. Debemos señalar que la población estudiada es pequeña y que al discriminarla en algunas de sus características particulares se hacen subgrupos más pequeños aún, sin embargo, queremos ofrecer nuestros resultados.

La mayoría de los pacientes evaluados eran de edad madura, lo que se corresponde con mayoría de otras series, por los cuales ha llamado la atención sobre la necesidad de investigar las Dislipidemias e Hiperlipidemias en etapas más tempranas de la vida. En este sentido, el Comité de Nutrición de la Academia Americana de Pediatría han hecho algunas recomendaciones recientemente (28). En relación a los antecedentes personales, familiares y hábitos psicobiológicos no se observaron diferencias con respecto a lo publicado por otros autores. Los cambios observados en los Perfiles Lipídicos fueron más significativos para Triglicéridos y Lipoproteínas de Alta Densidad, aunque también hubo cambios para Colesterol y sus fracciones en todos los grupos etarios. Llama la atención que en los pacientes con Superficie Corporal entre 1.83 mts² y 1.93 mts² hubo un aumento de las Lipoproteínas de Baja Densidad, que al conformarlo con toda la población no fue significativo. El medicamento fue efectivo en mejorar los Perfiles Lipídicos tanto en Hiperlipidemias de tipo IIb como en Hiperlipidemias de tipo IV, aunque los cambios fueron más importantes en la primera.

Aparentemente Gemfibrozil aumenta los niveles plasmáticos de Lipoproteínas de Alta Densidad por estimular su síntesis y, el transporte aumentado de las mismas inducido por la droga pueden ser significativos en aumentar la remoción del Colesterol tisular en los pacientes. Se ha demostrado que Gemfibrozil inhibe la Lipólisis de Triglicéridos almacenados en el tejido adiposo y disminuye la captación de ácidos grasos por el hígado. Teóricamente, ambas acciones deben llevar a un menor aporte de ácidos grasos al hígado, con disminución de la síntesis y de la secreción de VLDL-Triglicéridos (29)(30)(31). El aumento de las Lipoproteínas de Alta Densidad es en base a las subclases de HDL - C2 y HDL-C3 (32) (33). Se ha planteado que los efectos de Gemfibrozil en la prevención y manejo de la Aterosclerosis podría ser debido, no sólo a la correlación de las Dislipidemias sino también a la protección contra la tendencia de una coagulación acelerada que puede verse en pacientes con Hiperlipidemias tipo II (34). Esto cobra mayor importancia, si tenemos en cuenta que los cambios más notables se apreciaron en este tipo de Hiperlipidemias. En el estudio no se apreciaron cambios hematológicos ni

bioquímicos, sin embargo, debe tenerse en cuenta que puede haber cambios similares a los producidos por el clofibrato (35). Además, en personas sometidas a ejercicios, Gemfibrozil puede tener un efecto antiplaquetario por disminuir la reactividad de las plaquetas (36).

Con relación a los pacientes diabéticos, no hubo cambios en la glicemia, aunque se ha descrito que puede producir hiperglicemia. En diabéticos que reciben tolbutamida no se ha observado hipoglicemia con Gemfibrozil (37) y, sin embargo, produce los efectos deseados en su Perfil Lipídico (38). En una de nuestras pacientes, la cual tenía insuficiencia renal crónica, se usó la droga sin producirle cambios en su status funcional, tal y como ha sido publicado (39),(40),(41). Debe tenerse en cuenta que la droga puede aumentar el posible riesgo de formación de cálculos biliares como lo hace el clofibrato (42). También se ha planteado que en los casos de Hipertrigliceridemia Primaria asociada con Coronariopatía, puede que la droga sola no sea suficiente (43) y, por otro lado, cuando se trata de Hiperlipidemia combinada familiar se le puede asociar colestipol o preferiblemente lovastatin (44).

No hay que olvidar que el manejo de los factores de riesgo no están excepto de efectos adversos (45)(46) y que deben tenerse en consideración algunos aspectos éticos relacionados (47). Además, insistimos en que aparte de las bondades de esta droga, deben establecerse programas educativos a la población y preferiblemente dirigidos a la infancia (48) para poder lograr nuestros objetivos, ya que la buena disposición de los pacientes en cumplir un adecuado régimen son primordiales en el manejo de estas patologías (49).

RECOMENDACIONES Y CONCLUSIONES

(1) Gemfibrozil ha demostrado ser una droga efectiva en mejorar el Perfil Lipídico en pacientes con Hiperlipidemias Tipo IIb y IV.

(2) Gemfibrozil no altera significativamente otros parámetros hematológicos ni bioquímicos y puede usarse en pacientes con deterioro de la función renal. Además, produce muy escasos efectos colaterales.

(3) Las Hiperlipidemias tienen aspectos genéticos, familiares y ambientales que deben tenerse en cuenta al momento de iniciar tratamiento farmacológico.

(4) Debe tenerse presente que el manejo de factores de riesgo conlleva otros riesgos y aspectos éticos implícitos.

(5) El tratamiento higiénico-dietético es la medida de intervención de elección en las Hiperlipidemias. Por lo tanto, debe insistirse en programas educativos para la población a todos los niveles.

(6) En pacientes con Hiperlipidemias, además de otros

factores de riesgo, Gemfibrozil se plantea como uno de los medicamentos de primera línea.

BIBLIOGRAFIA

- (1) Soltero, I. Factores de Riesgo para la Aterosclerosis En temas de actualización sobre Colesterol, Lipoproteínas y Aterosclerosis Ediciones A Carmena - 1985 - Página 28-34, Caracas-Venezuela.
- (2) López, M.B. y Fragachan F. Epidemiología de la Aterosclerosis. En aterosclerosis al Día. P C M, Vol. 1 - Sup. 1 - Junio 1987, Caracas - Venezuela.
- (3) Ruiz L. Factores de Riesgo Taller de Trabajo OPS - Div de Enfermedades Crónicas. M.S.A.S. Octubre 1986 Caracas - Venezuela
- (4) The Bogalusa Heart Study N Engl. J. Med. 314: 138-144 -1986
- (5) Moros G., C. En Introducción a Aterosclerosis al Día. P C M, Vol. 1, Sup. 1:13-19.
- (6) Anuario de Epidemiología y Estadística Vital Ed. del servicio de la División de Sistemas Estadísticos y computación del M.S.A.S. P. 5 - 1982 Caracas - Venezuela.
- (7) Gotto, A. M. Introducción Am J Med. Supp. 1A: 1 1987
- (8) Ross, R. The Pathogenesis of Atherosclerosis An Updat. N. Eng. J Med. 314: 488-500 1986.
- (9) Casteli, W.P. and Anderson, K A Population of Risk: Prevalence of high Cholesterol levels in hypertensive patients in the Framingham Study Am J Med. Supp 2A: 23-32 - 1986.
- (10) Casteli W.P. et al: Cholesterol and others lipids in Coronary Heart Disease: The cooperative Lipoprotein Phenotyping study Circulation 55: 767-772 - 1977.
- (11) Dyer et al: Alcohol consumption, Cardiovascular Risk factors and mortality in Two Chicago Epidemiologic Study Circulation 55: 1067 - 1074.
- (12) Camejo, C et al: Eventos Tisulares y Moleculares asociados con el desarrollo de la lesión aterosclerótica. Med. Interna 1: 5-17 Caracas, 1985.
- (13) Ruiz, M. Dislipemias, Tratamiento no Farmacológico. En temas de actualización sobre Colesterol, Lipoproteínas y Aterosclerosis. Edición A Carmena: 63 - 73 1985. Caracas - Venezuela.
- (14) Flores, I. y Cardona, R. Tratamiento Farmacológico de las Hiperlipidemias Cap. XVII:233-246 - En Aterosclerosis al Día. PCM Vol 1, Sup. 1 Junio 1987 Caracas - Venezuela.
- (15) Bonanome, A and Grundy, S.M. Effect of Dietetic Stearic acid on Plasma Cholesterol and Lipoprotein Levels N Eng J Med 318 (19): 1244-1248. 1988.
- (16) Manttary, O et al: The Helsinki heart Study: Basic Design and Randomization Procedure Eur Heart J 8 (Supp I): 1-29-1987.
- (17) Frick, M.H. Helsinki Heart Study. Primary-Prevention Trial with Gemfibrozil in Middle-aged Men With Dyslipidemia N Eng J Med 317 (20): 1237 - 1245 1987.
- (18) Rifkind, B.M. Ed. Gemfibrozil, Lipids and Coronary Risk N Eng J Med 317 (20): 1237 - 1245 1987.
- (19) Borresen, A. et al: The effect of Gemfibrozil on Human serum apolipoproteins and Reserve Cholesterol Binding Capacity Artery 9 (1): 77-86.
- (20) Kaukola, S. et al: Gemfibrozil increases HDL-Cholesterol and Apolipoprotein A-I and A-II Concentrations in Dyslipidaemic Subjects Further Progress with Gemfibrozil. Ed. Wood C - 1986.
- (21) Kesaniemi, Y.A. and Grundy, S.M. Influence of Gemfibrozil and Chofibrate on Metabolism of Cholesterol and Plasma Tryglycerides in Man. Jama 251 (17): 2241 - 2246. 4/1984.
- (22) Konttinen, A. et al: The effect of Gemfibrozil on Serum Lipids in Diabetic Patients. Ann Clin Research 11: 240-245; 1979.
- (23) Kuo, P.T. et al: Treatment of Type III Hyperlipoproteinemia with Gemfibrozil to Retard Progression of Coronary artery Disease. Am Heart J 116 (1): 85 -90/1988.
- (24) Maxwell, R.E.; Nawrocki, J.W. and Uhlendorf, P.D. Some comparative effects of Gemfibrozil, Clofibrate, Bezafibrate, Cholestyramine and Compactin of Sterol Metabolism in Rats. Atherosclerosis 48: 195-203; 1983.
- (25) Sorisky, A. et al: Change in Composition of High Density Lipoprotein During Gemfibrozil Therapy Atherosclerosis 67: 181 - 189; 1987.
- (26) Hopking, P.N. y Williams, R.R. Identificación e Importancia Relativa de los factores de Riesgo Cardiovascular. Clin Card. N A 1: 3-55; 1986.
- (27) Burke, G.L. et al: Factores de Riesgo Cardiovascular y su modificación en Niños. Clin. Card. N A 1: 57-77; 1986.
- (28) Committes on Nutrition. Indications for Cholesterol Testing in Children Pediatrics 83 (1): 141-142. Jan. 1989.
- (29) Saku, K et al: Mechanism of Action of Gemfibrozil on Lipoprotein Metabolism J Clin Invest. 75: 1702-1712; 1985.
- (30) Brown, M, y Goldstein, J. Drogas Usadas en el Tratamiento de las Hiperlipidemias. En las bases Farmacológicas de la Terapéutica. Ed. Goodman y Gilman. Sep. 1987.
- (31) Vessby, B; Boberg, M and Lithell, H. Influence of Gemfibrozil on Lipoprotein Composition: Triglyceride Remova Capacity and Fatty acid Composition the Plasma Lipd Esters. Further Progress with Gemfibrozil. Ed. by C. Wood - 1986.
- (32) Manninen, V.; Malkonen, M. and Nikkila, E.A. Effect of Gemfibrozil on the Blood Levels of the Nigh Density Lipoprotein Subfractions HDL2 and HDL3. Research and Clinical Forums 4 (2): 77-82; 1982.
- (33) Berg, K. Effect of Gemfibrozil on Lipid and Apoprotein Parameters. Research and Clinical Forums 4 (2) 85-92, 1982.
- (34) Torstila, I. et al: Plasma Prekallikrein, Kallikrein Inhibitors, Kininogen and Lipids During Gemfibrozil Treatment in Type II Dyslipidemia Act.Med. Scand (Suppl) 668: 123-129; 1982.
- (35) O'Brien, J.R. et al: Effect of Gemfibrozil on Some

- Hematological Parameters. Further Progress with Gemfibrozil. Ed. By C. Wood - 1986.
- (36) Laustiola, K. et al: Gemfibrozil Decreases Platelet Reactivity in Patients with Hypercholesterolemia during Physical Stress.
Clin. Pharmacol Ther 43: 302-307; 1988.
- (37) Eisalo, A.; Manninen, V and Malkonen, M.
 Interactions Between Tolbutamide and Gemfibrozil or Clofibrate in Chemical Diabetes. *Research and Clinical Forums* 4 (2): 105-110/1982.
- (38) Marks, J. and Howard, A.N. A Comparative Study of Gemfibrozil and Clofibrate in the Treatment of Hyperlipidemia in Patients with maturity-Onset Diabetes. *Research and Clinical Forums*. 4 (2) = 1982.
- (39) Evans, J.R.; Forland, S.C. and Cutler, R.E. The Effect of Renal function on the Pharmacokinetics of Gemfibrozil. *J. Clin. Pharmacol* 27: 994-1000/1987.
- (40) Manninen, V., Malkonen, M and Eisalo, A. Gemfibrozil Treatment of Dyslipidemias in Renal Failure With Uraemia or in the Nephrotic Syndrome. *Research and Clinical Forums*. 4 (2): 113-117; 1982.
- (41) Pasternack, A. et al: Normalization of Lipoprotein Lipase and Hepatic Lipase by Gemfibrozil results in Correction of Lipoprotein Abnormalities in Chronic Renal Failure
Clinical Nephrology 27 (4): 163 - 168, 1987.
- (42) Leiss, O. et al: Effect of Gemfibrozil on Biliary Lipid Metabolism in Normolipemic Subjects *Metabolism* 34 (1): 74 - 82, 1985.
- (43) Vega, G.L. and Grundy, S.M. Gemfibrozil Therapy in Primary Hypertriglyceridemia Associated With Coronary Heart Disease *Jama* 253 (16): 2398 - 2403; 1985.
- (44) East, C.; Bilkeimer, D.W. and Grundy, S.M. Combination Drug Therapy for Familial Combined Hyperlipidemia *Ann Intern Med*. 109: 25 -32, 1988.
- (45) Malinow, M.R. Efectos Adversos del Tratamiento de la Hiperlipidemia. *Clin. Card. N A*. 1: 155-169; 1986.
- (46) Alcocer, L. y Reyes, A. Efectos Negativos de la Disminución de los Factores de Riesgo sobre el Corazón. *Clin. Card. N A* 1:247 - 260; 1986.
- (47) Brett, A. Modificaciones de los Factores de Riesgo Cardiovasculares Problemas Eticos *Clin. Card. N. A.1*: 261 - 269; 1985.
- (48) Walter, H. et al. Modification of Risk Factors for Coronary Heart Disease. *N. Eng J Med*. 318 (17) 1093 - 1099
- (49) Siegel, D et al: Risk Factors Modification After Myocardial Infarction. *Ann Intern M*. 109: 213-218; 1988.

ESTUDIO DE PLASMIDOS EN CEPAS DE NEISSERIA MENINGITIDIS CON SENSIBILIDAD DISMINUIDA A LA PENICILINA.

Jorge Sosa Puente, Ana Sonia Patton Narisy, Isabel Martínez Motas.

Laboratorio Nacional de Referencia de Neisserias Patógenas, Subdirección de Microbiología, Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí", La Habana, Cuba.

RESUMEN

Durante los años 1990, 1991, 1992 se encontraron en el Laboratorio Nacional de Referencia de Neisseria meningitidis, 8 cepas procedentes de enfermos con sensibilidad intermedia a la penicilina (CMI 0.3 y 0.6 ug/ml); las mismas se clasificaron como B4: P1-15 y en todas se llevó a cabo la determinación de actividad betalactamasa por el método iodométrico y la búsqueda de plásmidos que pudieran ser responsables de dicha resistencia. Los resultados obtenidos con ambos métodos fueron negativos.

Palabras Claves: Neisseria meningitidis, betalactamasa, plásmidos, método iodométrico.

ABSTRACT

During the years 1990, 1991 and 1992, eight strains obtained from patients who had intermediate sensibility to penicilin (CMI 0,3 - 06 ug/ml) were found in the National Laboratory of Reference of Meningococcus of the Institute of Tropical Medicine "Pedro Kourí". These strains were classified as B4: P1.15 and in all of them the activity of the beta-lactamase was determined using the iodometric method and searching for the possible plasmides which could be responsible of such resistance. The results obtained from both investigations were negative.

Key Words: Neisseria meningitidis, betalactamase, plasmides, iodometric method.

INTRODUCCION

La enfermedad meningocócica es endémica o epidémica en cualquier parte del mundo, tanto en climas templados como tropicales, siendo entonces una causa importante de morbilidad y mortalidad (1,2). En Cuba, durante muchos años, esta patología se convirtió en un agobiante problema de salud, con una epidemia que comenzó a finales de la década del 70. En 1976, el brote estaba causado principalmente por el meningococo serogrupo C. Después de una inmunización masiva, con la vacuna francesa de polisacárido A - C, la incidencia continuó en ascenso pero a expensas del

serogrupo B. El pico de la epidemia ocurrió en 1983, con una tasa de 14.4/100.000 habitantes. En el año 1988 comienza a administrarse la vacuna cubana Vamengoc B - C, disminuyendo el número de casos hasta alcanzar en 1993 una tasa de 0.6/100.000 habitantes (3).

Si bien son importantes todos los esfuerzos destinados a la disminución de la incidencia de esta enfermedad, relevantes y necesarios son también los que apuntan hacia la vigilancia del comportamiento de la resistencia de las cepas de N. meningitidis que circulan en el país, a los antimicrobianos más utilizados en el tratamiento de dicha enfermedad (4).

En este trabajo se estudió el comportamiento de las cepas con respecto a la penicilina, que ha sido y es hasta estos momentos, el antibiótico de elección en el tratamiento de la enfermedad meningocócica (5).

La resistencia a la penicilina puede deberse a tres mecanismos (6,7,8): producción de beta-lactamasas (penicilinasas), alteraciones en la permeabilidad de la membrana citoplásmica, con la consiguiente escasa penetración del antimicrobioano y modificaciones en una o más proteínas fijadoras de la penicilina (PBP), lo que disminuye la interacción con el antibiótico.

En las últimas décadas han aparecido cepas moderadamente resistentes a la penicilina (MRP), con concentraciones mínimas inhibitorias (CMI) de 0.1 - 0.8 ug/ml, y francamente resistentes a la penicilina (CMI > 0.8 ug/ml) que es la concentración de este antibiótico que se alcanza en el líquido cefalorraquídeo (LCR), lo que ha llevado al establecimiento e incremento de la vigilancia por parte de los laboratorios de referencia, de las cepas recibidas, a través de la determinación de la CMI; de la actividad de la beta-lactamasa y presencia de plásmidos (9).

Las cepas con cifras de resistencia moderada, constituyen prácticamente un hallazgo de laboratorio por el momento, puesto que se han descrito sólo uno o dos casos con fallos terapéuticos, en embargo, cabe destacar la aparición de cepas con cifras de resistencia más elevadas, como consecuencia de alteraciones de

otras PBP y/o de la permeabilidad de la membrana externa, con la correspondiente aparición de fracasos terapéuticos (9,10).

MATERIALES Y METODOS

Se estudiaron 8 cepas de *N. meningitidis* procedentes de enfermos, recibidas en el Laboratorio Nacional de Referencia del Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kouri" (IPK), en el período comprendido de Enero de 1990 a Diciembre de 1992 y que tuvieron una CMI de 0.3 y 06 ug/ml; los mayores valores encontrados dentro del rango de cepas moderadamente resistentes que se obtuvieron (Tabla N° 1).

TABLA N° 1 - Procedencia, serogrupo y valores de CMI de las cepas estudiadas 1990 - 1992.

CASOS	PROVINCIA	FECHA	FUENTE	SEROGRUPO SERTIPO	PENICILINA CMI - ug/ml
1	LJUVENTUD	4/90	LCR	B.4 P1:15	0.3
2	SANTIAGO	7/90	-	-	-
3	MATANZAS	8/90	-	-	-
4	GRAMMA	5/91	-	-	-
5	CIENFUEGOS	8/91	-	-	-
6	CAMAGUEY	3/92	-	-	-
7	CAMAGUEY	3/92	-	-	0.6
8	SANTIAGO	4/92	-	-	-

Fuente: Laboratorio Nacional de Referencia de meningococo., IPK.

DETERMINACION DE LA CMI

Se utilizó el método de dilución en agar (11), utilizando el agar Mueller Hinton suplementado con suero de ternera al 7,5% y conteniendo diluciones dobles de la droga, desde la concentración de 0.009 ug/ml hasta 2.4 ug/ml; se incluyeron placas controles sin antibióticos.

La lectura se llevó a cabo después de 20 - 24 horas de incubación a 37 °C y en atmósfera de 5% de CO₂ y se consideró como CMI la dilución mayor que fué capaz de inhibir el crecimiento bacteriano.

Se consideraron sensibles las cepas que crecieron a una concentración menor que 0.1 ug/ml y moderadamente resistentes las que fueron inhibidas por una concentración mayor o igual a 0.1 ug/ml.

PRUEBA DE DETECCION DE LA BETA-LACTAMASA.

Se utilizó el método iodométrico sobre tiras de papel. (12,13). Bandas de papel de filtro impregnadas de

almidón y bencil-penicilina, en el momento de su utilización se sumergieron en una solución de lugol, se dejó escurrir el exceso, después se tomaron varias colonias con asa estéril de platino y se dispusieron en la superficie del papel. La aparición de una coloración blanca en el lugar donde se había depositado el cultivo se dió como positivo, si permanecía igual, se daba como negativo.

PURIFICACION DE ADN PLASMIDICO

Se utilizó el método descrito en el Protocols and Applications Guide Promega. (14,15).

Al ADN plasmídico aislado se le realizó una electroforesis en gel de agarosa (DNA/RNA LKB 2206 - 105) al 1%, en una cámara submarina (Hofer Scientific Instruments, USA), utilizando un porta gel de 20 cms. de ancho por 25 de largo. De cada muestra se aplicaron 20 ul por pocillo y se efectuó la corrida a 35 volts. por período de 18 horas.

El marcador de corrida utilizado fué el azul de bromofenol. La visualización del ADN en el gel se obtuvo tiñendo el gel con una solución de 0.5 ul de bromuro de etidio, durante 45 minutos.

Conjuntamente a las cepas de estudio, se procesó una cepa *Escherichia coli* K12 portadora de un plásmido PBR procedente del "Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología", como control del método utilizado. Como marcador de peso molecular se utilizó ADN del fago Lambda (Amersham Lot. NIF 510) digerido con la enzima Hind III, el cual se aplicó en un pocillo en cantidad de 1 ug en un volumen total de 3 ul.

RESULTADOS Y DISCUSION

Hay pocas descripciones en la literatura de cepas de meningococo resistentes a la penicilina y las diversas citas se pueden agrupar de la siguiente manera:

1) Cepas productoras de beta - lactamasa, en Canadá, Sudáfrica y España (16,17, 18).

2) Algunos estudios dispersos de susceptibilidad a antimicrobianos en cepas en las que se obtuvieron CMI entre 0.1 y 0.25 ug/ml; la mayoría de ellas aisladas de portadores. (4,5,19).

3) Algunas descripciones de fracasos terapéuticos, sin documentación microbiológica (5,19).

Nuestro Laboratorio de Referencia posee datos acumulados de sensibilidad a los betalactámicos desde 1986 y, ya en ese mismo año, se encontraron cepas con resistencia moderada a la penicilina; no solamente el porcentaje de cepas con estas características ha ido en aumento, sino que también los valores de CMI se han incrementado de tal forma que si en un inicio no

sobrepasaban de 0.15 ug/ml, ya a partir de 1990 se alcanzaron valores de 0.3 y 0.6 ug/ml, según Patton et al. (20).

Al ser analizadas, ninguna de estas cepas fue productora de beta-lactamasa, ni portadora de alguna clase de plásmido (Foto).

La gran mayoría de los aislamientos clínicos con una CMI mayor o igual a 1 ug/ml, y que por ello son considerados francamente resistentes a la penicilina, son cepas productoras de beta-lactamasa y en una ocasión pudo encontrarse una portadora de un plásmido idéntico al que se ha aislado en cepas de *Neisseria gonorrhoeae*, con un peso molecular aproximado de 4.5 Megadalton (16,17,21); la posibilidad de que esto ocurra en cepas con CMI entre 0.1 y 0.8 ug/ml, sobre todo en las de valores más cercanos a 0.8 ug/ml, es un hecho a tener en cuenta, que justifica la detección y búsqueda de beta-lactamasa y plásmidos respectivamente en esta población bacteriana.

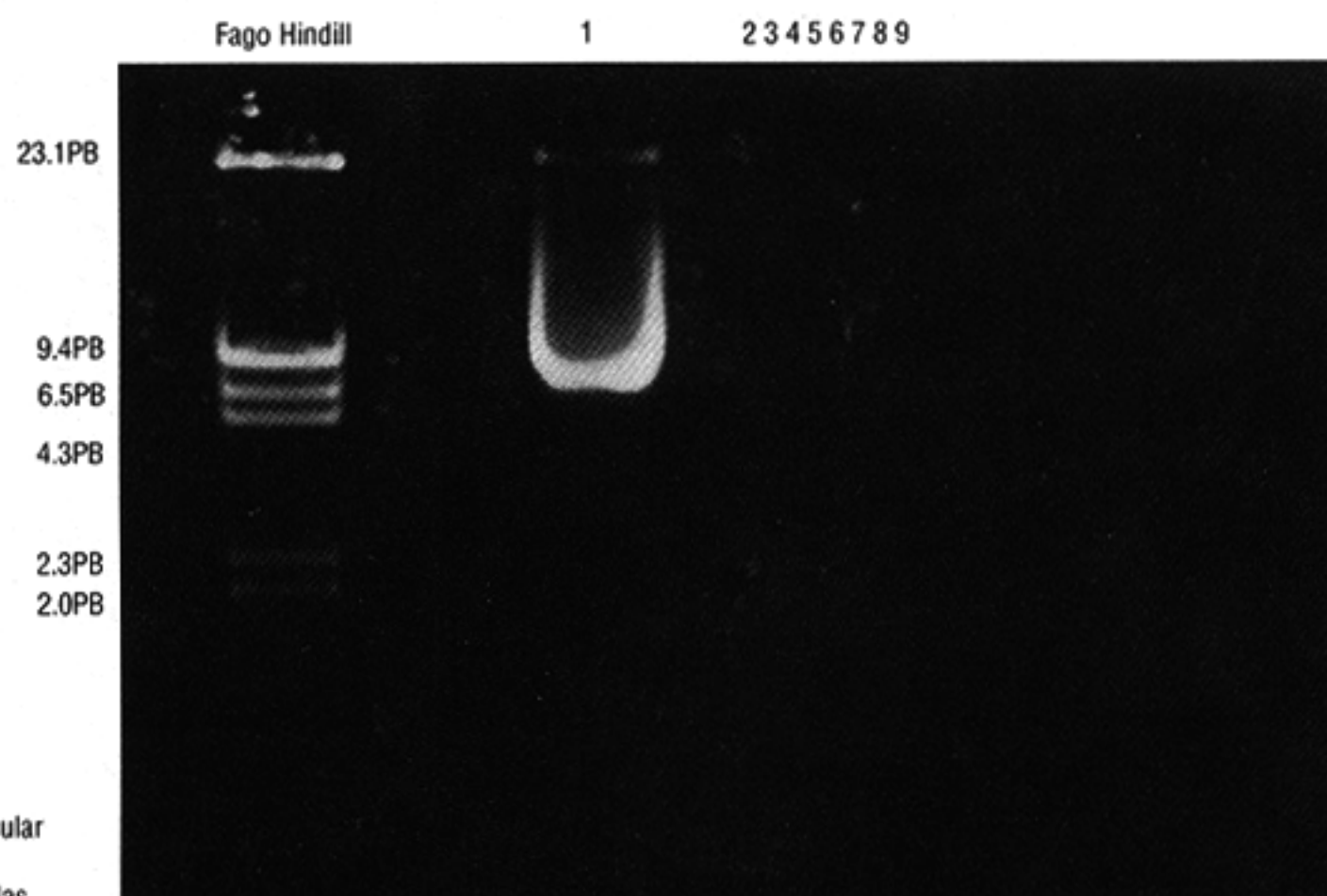
Hasta la fecha, sólo existen cuatro casos bien documentados de cepas con altos niveles de resistencia a la penicilina por la producción de beta-lactamasa y, en tres de ellos, aunque no se detectaron plásmidos, se sospecha esta posibilidad debido a las altas CMI exhibidas. Aún no existe la experiencia, in vitro, de la movilización de plásmidos portadores de la información

para la producción de penicilinas, desde el meningococo a otras cepas, con la participación de un plásmido conjugativo (16,17,22). Los resultados obtenidos en este estudio no se apartan de lo que es tratado con generalidad en la literatura relacionada. Así, los aislamientos clínicos de cepas de *N. meningitidis* con sensibilidad disminuída a la penicilina y que no producen beta-lactamasa, ya han sido reportados en Sudáfrica, España, Canadá e Inglaterra (9,23).

Tanto en España como en Reino Unido, ha habido un incremento en la frecuencia de aislamientos de cepas MRP, en un breve período de tiempo. Esto ha promovido el interés y preocupación de muchos investigadores, quienes se han dedicado al estudio de los posibles mecanismos de este fenómeno, por el peligro o la amenaza que representa el hecho de que este tipo de resistencia pueda deberse a la presencia de un plásmido, como elemento transferible por conjugación entre algunas cepas, siendo responsable de una rápida diseminación de la resistencia antimicrobiana en una población dada de microorganismos (9,10,16,19).

Es una suerte que la resistencia moderada a la penicilina no se asocie, por el momento, con la presencia de plásmidos, sino que se deba fundamentalmente a alteraciones en el gen pen A que codifica para la producción de la proteína fijadora de la penicilina 3

FOTO PATRON ELECTROFORETICO



- 1) Fago HindIII, marcador de peso molecular
- 2) 1, plásmido PBren E. Coli.
- 3) 2-9 Cepas de *N. meningitidis* estudiadas

(PBP 3) (9,10).

Se ha sugerido la posibilidad, de que en este caso la transmisión de la resistencia (tipo cromosomal) ocurra por transformación genética de genes pen A, alterados por mutaciones, desde neisserias saprófitas hacia el interior de cepas de *N. meningitidis* naturalmente transformables, que comparten temporalmente su habitat (10,24).

Sáez - Nieto (1992) en un estudio con 138 cepas con susceptibilidad disminuída a la penicilina, no pudo demostrar la presencia de actividad de beta - lactamasa ni de plásmidos, corroborando en las mismas posteriormente una disminución en la afinidad de las PBP 3 (24). Parece probable que el desarrollo de la resistencia moderada a la penicilina en el meningococo siga el camino ya tomado por cepas de gonococo, en el que se han desarrollado además, formas alteradas de la PBP 1 que requieren CMI > 1 ug/ml. (24)

Hasta el momento actual, la resistencia moderada a la penicilina no se asocia a fracasos terapéuticos (19), pero la realidad de tener en nuestro medio cepas con estas características, nos alerta a mantener la vigilancia sobre las mismas y orientar, en caso de que fuera necesario, cualquier cambio en la conducta clínico - epidemiológica.

BIBLIOGRAFIA

- 1.- Peltola, H. 1983. Meningococcal disease. Still with US. *Reviews of Infect. Dis.* 5(1): 71 - 91.
- 2.- MINSAP. Cuadro Epidemiológico Nacional. 1987 MINSAP; 1988.
- 3.- Valcárcel Novo, M.; Rodríguez Cruz, R.; Terry Molinert, H. 1991. La enfermedad meningocócica en Cuba. *Cronología.* Editorial Ciencias Médicas. C. Habana. Cuba.
- 4.- Sáez - Nieto, J.A. et al., 1987. Isolation of *Neisseria meningitidis* strains with increase of penicillin minimal inhibitory concentrations. *Epidem. Inf.* 99: 463 - 9.
- 5.- Mendelman, Paul M. et al., 1989, Genetic diversity of penicillin G-resistant *Neisseria meningitidis* from Spain. *Infect. Immun.*, 1025 -9.
- 6.- Hakembeck, T.M.; A. Tomás., 1980. Multiple changes of penicillin binding proteins in penicillin resistant clinical isolate of *Streptococcus pneumoniae*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 17: 364 - 71.
- 7.- Dougherty, T.J., 1985. Involvement of change in penicillin target and peptidoglycan structure in low level resistance to beta-lactam antibiotics in *Neisseria gonorrhoeae*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 28: 90 - 5.
- 8.- Ashford, W.; R. Golash; V. Hemming 1976. Penicillinase producing *Neisseria gonorrhoeae*. *Lancet.* 657 - 658.
- 9.- Berrón S.; J. A. Sáez - Nieto, J. A. Vázquez. 1992. Aplicación de marcadores epidemiológicos en cepas de *Neisseria meningitidis* con sensibilidad disminuida a la

- penicilina aisladas en España. *Rev. Esp. Quimioterap.* 5 (1): 35 - 41.
- 10.- Luján, R., 1990. Resistencia a penicilina en *Neisseria meningitidis*. *Epidemiología, bases moleculares e implicaciones terapéuticas.* *Rev. Esp. Quimioterap.* 3 (4): 323 - 329.
- 11.- Lennette, Edwin H. et al., *Microbiología clínica.* Tercera edición. Editorial Científico - Técnica. C. Habana. 1982. p. 152 - 172.
- 12.- Sorgenser, L.; J. C. Lee and G. A. Alexander. 1977. Rapid penicillase paper strip test for detection of beta - lactamase producing *Haemophilus influenzae* and *Neisseria gonorrhoeae*. *Antimicrob Agents Chemother.* 11: 1087 - 1088.
- 13.- Thomas, R. and David W. Towle, 1982. Evaluation of the rapid penicillin paper strip test for detection of betalactamase. *J. Clin. Microbiol.* 15 (2): 196 - 199.
- 14.- Titus, D., *Promega Protocols and Applications Guide.* Second Edition. Copyright. Marc - 1991.
- 15.- Asubel, F. M.; R. Brent; R. E. Kinston; D.D. Moore; J. C. Seidman; J. A. Smith and K. Struhl, 1989. *Curret Protocols molecular biology.* Greene Publishing Associates. Brooklyn, N. Y.
- 16.- Dillon, J.R.; M. Pauze; K.H. Yeung. 1983. Spread of penicillase proucing and transfer plasmid from gonococci to *Neisseria emningitidis*. *Lancet i:* p. 779 - 781.
- 17.- Broths, P., 1988. Penicillin resistance *Neisseria meningitidis* in Southem - Africa. *Lancet i:* p. 54.
- 18.- Fontanals, V. et al. 1989. Sepsis por *Neisseria meningitidis* resistentes a penicilina y productores de beta - lactamasa. *Med. Clin.* 92: 477.
- 19.- Sáez - Nieto. J.A.: J. Campos, 1988, Reistencia a antimicrobianos en *Neisseria meningitidis*. *Enf. Infec. y microbiol. Clin.* 6 (10), p. 450 - 453.
- 20.- Patton, A.S. y col. 1993. Estudio de la sensibilidad por Concentración Mínima Inhibitoria de cepas de *Neisseria meningitidis* durante un período de 7 años (186-1992). Trabajo presentado en el IV Congreso de Microbiología y Parasitología. Instituto de Medicina Tropical Pedro Kourí. C. Habana, Cuba.
- 21.- Fontanals, D. et al. 1989. Penicillin resistant betalactamase producing *Neisseria meningitidis* in Spain. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 8: 90 - 91.
- 22.- Roberts, M.C. et al., 1989. Plasmids of *Neisseria gonorrhoeae* and other *Neisserias* species. *Clin Microbiol. Rev.* 2: 518 - 523.
- 23.- James D. M.; Sutcliffe, E.M., 1990. Meningococci with reduced susceptibility to penicillin. *Lancet.* 863 - 864.
- 24.- Sáez - Nieto, J.A. et al., 1992. Epidemiology and molecular basis of penicillin resistant *Neisseria meningitidis* in Spain: A 5-Year History (1985-1989). *Clin Infect. Dis.* 14: 394 - 402.

DETERMINACION DE IGG E IGM ANTI-CHLAMYDIA TRACHOMATIS EN LACTANTES MENORES DE 6 MESES, CON INFECCIONES RESPIRATORIAS AGUDAS DEL TRACTO INFERIOR

Mercedes C. Guilarte * Yelitza M. López de B. * Carmen Luisa Sanoja P. * Ezio G. Valeri D. **

* Cátedra de Inmunología, Escuela de Bioanálisis. Fac. Farmacia, Univ. de Los Andes. Mérida.

** Departamento de Pediatría, Facultad de Medicina. Hospital Universitario de Los Andes, Mérida.

RESUMEN

Las infecciones respiratorias constituyen una de las primeras causas de morbilidad y mortalidad en niños de todas las edades, siendo los lactantes los más afectados. La importancia de la *Chlamydia trachomatis* como agente causal ha sido demostrada. En Venezuela, las neumonías por *Chlamydia trachomatis* en lactantes sólo se diagnostica clínicamente, y los datos no se registran de forma adecuada, careciéndose de información nacional en la casuística pediátrica. El objetivo de este trabajo fué determinar la prevalencia de anticuerpos tipo IgG e IgM anti - *C. trachomatis* en lactantes menores de 6 meses Infecciones Respiratorias Agudas (IRA) del Tracto Inferior, por el método de Inmunofluorescencia Indirecta, del Servicio de Pediatría del H.U.L.A.; se estudiaron 32 muestras de suero provenientes de lactantes menores de 6 meses con diagnóstico clínico de IRA del tracto inferior, y 32 de lactantes con patologías no respiratorias, como grupo control. Según los resultados obtenidos se establecieron como títulos significativos $> 1:512$ y $> 1:64$ para IgM e IgG respectivamente, cifras que coinciden con los reportes de otros investigadores en países industrializados. 14 pacientes (43,7%) presentaron títulos significativos para IgG. Concluimos que la inmunofluorescencia indirecta representa una alternativa importante para el diagnóstico de IRA del tracto inferior por *C. trachomatis* en lactantes menores de 6 meses.

Palabras Claves: *Chlamydia trachomatis*, infección respiratoria aguda (IRA), inmunofluorescencia indirecta.

ABSTRACT

Respiratory conditions are among the main causes of mortality and morbidity in children of all ages. The most affected ones are young infants. The importance of *Chlamydia trachomatis* as a causing agent has been demonstrated. In Venezuela, pneumonia caused by *Chlamydia trachomatis* in infants is only diagnosed on a clinical basis and data have not been properly recorded,

due to the lack of available national information of pediatric cases. The purpose of this research was to determine the prevalence of IgG and IgM antibodies to *Chlamydia trachomatis* in milkfed babies younger than 6 months of age with lower tract severe respiratory infections (SRI), at the Department of Pediatrics of the HULA., by the indirect immunofluorescence method. Sera were analyzed from of 64 young babies, of which 32 had clinical diagnosis of lower tract SRI, and 32 were from babies with non respiratory pathologies as a control group. For the determination of antibodies to *Chlamydia trachomatis*, the methodology recommended by bioMerieux laboratories was used. According to the obtained results $> 1:512$ and $> 1:64$ titers were established as significative for IgG and IgM respectively, figures similar to these were reported from researchers in U.S.A. and European countries. Fourteen patients out 32 (43,7%) showed significant titers for IgM antibody to *Chlamydia trachomatis*. We concluded that indirect immunofluorescence represents an useful alternative for the diagnosis of lower tract S.R.I. caused by *Chlamydia trachomatis* in milkfed babies younger than 6 months of age.

Key Words: *Chlamydia trachomatis*, severe respiratory infections (SRI), indirect immunofluorescence.

INTRODUCCION

Las infecciones respiratorias constituyen el conjunto de alteraciones orgánicas determinadas por la implantación y desarrollo de un microorganismo en la mucosa del tracto respiratorio. Se clasifican según su localización en infecciones del tracto respiratorio superior e inferior y según su tiempo de evolución en agudas y crónicas (Cecil, 1982).

Este tipo de patología constituye una de las causas más frecuentes de consulta médico-pediátrica. Se estima que anualmente ocurren de 4 a 5 millones de muertes por infecciones respiratorias agudas (IRA) en niños menores de 5 años y, dos terceras partes de éstas corresponden a menores de 1 año (Boletín Epidemiológico de la O.P.S.,

1986). En países en vías de desarrollo, la neumonía o inflamación del tejido pulmonar ocupa el segundo lugar como causa de morbilidad y mortalidad en niños de todas las edades, siendo los lactantes el grupo más afectado (Fletcher, 1990).

A pesar que en Venezuela la neumonía por *C. trachomatis* sólo se diagnostica clínicamente, los datos no se registran de forma adecuada, careciéndose de información nacional en la casuística pediátrica. Estos hechos, aunados a los pocos estudios realizados en nuestro país, los cuales se han caracterizado por utilizar para el diagnóstico pruebas inmunológicas directas, que requieren de la aplicación de métodos invasivos para la toma de la muestra del paciente, nos han motivado a realizar una investigación orientada a la búsqueda de datos epidemiológicos sobre IRA del tracto inferior por *C. trachomatis* en lactantes de nuestro medio, mediante la aplicación del método de inmunofluorescencia indirecta para la determinación de anticuerpos clase IgG e IgM.

C. trachomatis, ha sido reconocida como uno de los agentes causales de mayor prevalencia en los casos de neumonía en lactantes menores de 6 meses. Este microorganismo, es una bacteria perteneciente al orden Chlamydiales, familia Chlamydiaceae, género *Chlamydia*, caracterizada por ser de forma cocoide, gram negativa, de hábitat intracelular obligatorio. Se multiplica por fisión binaria, tiene ribosomas bacterianos, su pared celular es semejante a la de las Enterobacterias y pueden inhibirse por los antibióticos. (Jawetz y col. 1990).

Los análisis antigénicos de *C. trachomatis* han indicado la presencia de antígenos de grupo, especie y sub-especie, los cuales son inmunogénicos e inducen una respuesta humoral en individuos infectados. Los antígenos de grupo son lipopolisacáridos termoestables y los de especie están representados por la proteína principal de membrana externa (MOMP), la cual es considerada como el determinante estructural, mediador potencial de la interacción hospedero - parásito y es responsable de la mayoría de la reactividad observada en la prueba de inmunofluorescencia (Leannett y col. 1986). Los inmunotipos específicos de *C. trachomatis* D, E, F, G, H, I, J y K, se relacionan con las infecciones oculares y respiratorias en lactantes (Cecil 1986 Batteiger y col. 1986).

C. trachomatis, es causa importante de infecciones génito-urinarias en hombres y mujeres sexualmente activos. De acuerdo a la Organización Mundial de Salud, en 1975 dichas infecciones se incluyen dentro del grupo de enfermedades de transmisión sexual (Lugenbill 1989

Videla y col. 1991). Debido a su tropismo por células columnares y pseudocolumnares causa numerosos síndromes como el tracoma, conjuntivitis de inclusión, linfogranuloma venéreo y uretritis no gonococcica (Lugenbill, 1989; Videla y col. 1991).

La transmisión vertical puede ocurrir durante el paso a través del canal del parto. Los neonatos nacidos de madres infectadas por *C. trachomatis*, pueden desarrollar conjuntivitis de inclusión, neumonía, infecciones vaginales, infecciones entéricas, otitis media y sépsis neonatal (Bell y col. 1988; Much y Yeh, 1991).

De los síndromes causados por *C. trachomatis*, la neumonía ocurre en el 14% de los niños menores de 6 meses nacidos de madres infectadas, y aunque no es progresiva, los pacientes generalmente requieren hospitalización (Schachter y col. 1986; Martín, 1990).

En 1977, Beem y Saxon proporcionaron las primeras evidencias acerca del rol de *C. trachomatis* en infecciones respiratorias. Según datos clínicos, radiológicos y de laboratorio, éstos autores describen el "Síndrome de Neumonía Atípica", el cual se caracteriza por inicio de los síntomas a partir de la segunda semana después del nacimiento, ausencia de fiebre, presencia de secreción y obstrucción nasal, presencia de "tos en Staccato", la cual conduce a cianosis y emésis, taquipnea entre 40 y 50 respiraciones por minuto, en la auscultación de pulmones se perciben crepitantes y sibilantes; en el exámen radiológico, se observa imagen de hiperinsuflación e infiltrado intersticial difuso; en sangre hay eosinofilia absoluta mayor de 300/mm³, elevación de las inmunoglobulinas séricas (IgG e IgM) y presencia de conjuntivitis en aproximadamente la mitad de los casos.

No obstante, esta presentación clínica razonable, requiere del aislamiento de *C. trachomatis* de tracto respiratorio inferior o de la demostración de anticuerpos séricos, ya que en muchos casos es indistinguible de síndromes asociados a otros microorganismos como Citomegalovirus, *Pneumocystis carinii* y *Ureaplasma urealyticum* (Puolakkainen y col. 1984; Schachter y col. 1982).

Entre las técnicas disponibles para confirmar las IRA del tracto inferior por *C. trachomatis*, en lactantes se incluyen: el exámen microscópico directo de secreciones o raspados tisulares (Cecil, 1986), cultivo celular (Lombardo y Powel, 1985; Mc Gregor, 1989) y detección del antígeno por métodos inmunológicos directos, tales como: inmunofluorescencia directa, inmunoensayo enzimático, inmunotransferencia electroforética y sondas de ácidos nucleicos (Newhall y col. 1982); así como también métodos inmunológicos indirectos para

determinar Inmunoglobulinas de las clases IgG, IgM e IgA mediante fijación de complemento, inmunofluorescencia indirecta e inmunoensayo enzimático (Mc Gregor, 1989).

Schachter y col. en 1982, sugirieron que en infantes la detección de anticuerpos específicos contra *C. trachomatis*, es el método de diagnóstico más conveniente, ya que el aislamiento e identificación del antígeno requiere de métodos invasivos para la toma de la muestra, lo cual no siempre es posible realizar. Las técnicas de mayor aceptación han sido, la inmunofluorescencia indirecta por Wang y Grayston en 1974, y el inmunoensayo enzimático estandarizado por Engwall y Perlman en 1971, usando en ambas técnicas como antígeno proteínas de la membrana externa de los cuerpos elementales (Numazaki y col. 1986; Schachter y col. 1986).

En el diagnóstico de neumonía clamidial la serología ha sido particularmente útil observándose que los niveles de anticuerpos tipo IgM en el recién nacido guardan relación con el grado de infección (Schachter y col. 1982).

Estudios epidemiológicos han permitido demostrar que la incidencia de infección por *C. trachomatis* en lactantes, es un reflejo de la tasa de colonización materna durante el embarazo. La infección por dicho microorganismo en mujeres embarazadas varía de un 5 a 30% (Faro, 1985; Grossman y col. 1986; Datta y col. 1988) y la frecuencia de transmisión a los recién nacidos se ha estimado entre un 23 a 70% (Heggie y col. 1981; Preece y col. 1989). Del 30 al 40% de los lactantes expuestos podrían desarrollar conjuntivitis, la cual suele presentarse una semana después del nacimiento; entre el 10 al 20% desarrollan neumonía que se presenta comúnmente en los primeros 6 meses de vida y, del 15 al 20% infección nasofaríngea (Fletcher y Gordon, 1990; Mc Gregor, 1989).

En E.E.U.U. para 1990, se estimó que cerca de 155.000 lactantes fueron expuestos a *C. trachomatis* durante el parto, y más de 100.000 se infectaron (Graham y Blanco, 1990).

El 30% de las neumonías estudiadas por Harrison y col. en 1978 en lactantes menores de 6 meses, estuvieron asociadas a *C. trachomatis*. En otro estudio realizado por Brasfield y col. (1987), en 193 niños menores de 3 meses, *C. trachomatis* estuvo sólo en 29 casos de neumonía, y asociada a otros microorganismos en 20 de ellos.

En América Latina existen algunos reportes como los de Lagos y col. publicado en 1987 en Chile, quienes constataron la presencia del citado microorganismo por inmunofluorescencia directa en 14 (27,4%) de 51

lactantes menores de 4 meses con infección respiratoria. Nuñez y col. (1988) determinaron que el 6% de neumonías en Colombia en niños menores de 12 meses eran causadas por *C. trachomatis*. En 1991, Videla y col. realizaron un estudio en Buenos Aires - Argentina, en 75 niños menores de 6 meses con infección respiratoria baja, encontrándose que el 21% de los mismos presentaban serología positiva para dicho agente.

En Venezuela, la infección por *C. trachomatis* no es de reporte obligatorio, según los informes del Ministerio de Sanidad y Asistencia Social (Gallegos y col. 1989), por lo cual existen escasos datos epidemiológicos al respecto.

En Valencia, Venezuela, Escalona y col. (1991) estudiaron 33 embarazadas durante el trabajo de parto, y se demostró su presencia mediante la prueba Chlamydiazime (Abbott Laboratories) en un 15,2%, encontrándose además que el 20% de los recién nacidos hijos de estas madres infectadas fueron positivos en hipopados conjuntivales.

González y col. en el Distrito Federal durante 1991, estudiaron 40 lactantes con IRA, de los cuales 12 (30,0%) resultaron con neumonía por *C. trachomatis*, confirmada por el método de inmunoensayo enzimático en aspirado nasofaríngeo.

En el Hospital Universitario de Los Andes (HULA), entre Noviembre de 1989 y Mayo de 1990, se estudiaron 7 lactantes menores de 6 meses, con diagnóstico clínico de neumonía por *C. trachomatis*, realizándosele el diagnóstico definitivo en aspirado traqueal a través del método de inmunofluorescencia directa con anticuerpos monoclonales a 3 (43,0%) de ellos (Chacín, 1991).

MATERIALES Y METODOS

Población Estudiada

Para la realización de este estudio de tipo observacional-analítico, con enfoque epidemiológico se analizaron 64 muestras de suero provenientes de lactantes, de ambos sexos, menores de 6 meses, que acudieron al Servicio de Pediatría del HULA, durante los meses de Enero a Julio de 1993, de los cuales 32 lactantes tenían diagnóstico clínico de IRA del tracto inferior y 32 con otras patologías no respiratorias como grupo control.

Para la recolección de las muestras se tomaron en cuenta datos epidemiológicos, clínicos y de laboratorio, incluyendo estudio radiológico del tórax del paciente registrados en una hoja de formato de datos, así como antecedentes de leucorrea en la madre durante el embarazo, que orientaron al diagnóstico clínico de IRA del tracto inferior por *C. trachomatis*.

RECOLECCION DE MUESTRAS

Las muestras de sangre fueron tomadas asépticamente por punción venosa o arterial de la región del antebrazo utilizando una inyectora de 6 cc. a través de un pericraneal Nro. 25. Las muestras de sangre se colocaron en tubos de ensayo de 13 x 100 mm., sin anticoagulante para la posterior separación del suero. Dichas muestras fueron rotuladas junto con su ficha y trasladadas de inmediato al Laboratorio de Inmuno-diagnóstico de la Escuela de Bioanálisis para su procesamiento.

Con el fin de separar los sueros del paquete globular las muestras fueron centrifugadas a 3.000 r.p.m. durante 10 minutos, en una centrífuga Hettch (Roto Silenta III). Los sueros así obtenidos se repartieron en 3 alícuotas y se congelaron a -70°C hasta su procesamiento.

METODOLOGIA

Los anticuerpos anti-C. trachomatis tipo IgG e IgM, fueron determinados por el método de microinmuno-fluorescencia indirecta (IFI) diseñado por Wang y col. 1974, el cual se fundamenta en la reacción del anticuerpo específico anti - C. trachomatis presente en el suero con el antígeno serotipo L2, cultivado en embrión de pollo, previamente fijado e inactivado en una lámina; el complejo antígeno-anticuerpo se visualizó por la adición de una anti-inmunoglobulina marcada con fluorocromo, éste se fijó a las moléculas del anticuerpo específico anti-C. trachomatis combinadas con el antígeno.

REACTIVOS

Antígeno: C. trachomatis serotipo L2, cultivada en embrión de pollo, luego inactivada y fijada en láminas portaobjeto (bioMERIEUX 7 - 205-1).

Conjugado Fluorescente: Anti-inmunoglobulinas humanas totales obtenidas en cabra, marcadas con fluoresceína y azul de Evans como contraste (bioMERIEUX 7-207-1). Anti-inmunoglobulinas humanas IgM obtenidas en cabra y diluídas por PBS pH: 7, según su título óptimo (Fluoline - M-bioMERIEUX).

Sueros humanos controles positivos y negativos.

Fluoroprep: medio de montaje para inmunofluorescencia pH: 7,6 (bioMERIEUX).

PROCEDIMIENTOS

Los sueros, previamente descongelados fueron diluídos en tampón fosfato salino (PBS)pH: 7, a partir de 1:8 para la determinación de IgM, y de 1:16 para IgG; igual procedimiento se realizó para los sueros controles positivos y negativos.

Diez (10)ul de las respectivas diluciones fueron agregados en cada pozo de las láminas fijadas con el antígeno. Las láminas fueron incubadas en cámara húmeda de 37°C ($+2^{\circ}\text{C}$) durante 30 minutos. Luego se procedió a lavarlas 2 veces con PBS durante 15 minutos, se escurrieron golpeando el borde de las mismas sobre papel filtro y se secaron.

A cada pozo se agregaron diez (10)ul de conjugado polivalente o anti IgM, según el tipo de determinación a realizar. Se procedió nuevamente a incubar, lavar y secar en las condiciones descritas anteriormente. A cada uno de los pozos se agregó una gota de medio de montaje, y cada lámina fue cubierta con una laminilla de 22 x 55 mm., espesor N° 1.

Las láminas fueron observadas en un microscopio para fluorescencia con sistema de Epiluminación (Zeiss), utilizando objetivo de 40X, ocular de 10 X, filtro excitador BG-12 y bloqueador G-510. La presencia de una fluorescencia verde manzana sobre un fondo ligeramente rojo con aspecto de "Cielo Estrellado", indicó una reacción positiva y la ausencia de ésta, con fondo de la preparación ligeramente rojo, indicó una reacción negativa.

METODOLOGIA ESTADISTICA

El análisis estadístico, se realizó en base a la prueba estadística de Contraste de Hipótesis para diferencias de medias, t-Student y la Prueba de Chi - cuadrado de Independencia. Los resultados obtenidos se ordenaron en Tablas, Gráficos y Figuras.

RESULTADOS

Fueron analizadas 64 muestras de suero provenientes de lactantes menores de 6 meses, de ambos sexos, de los cuales 32 presentaron IRA del tracto inferior y 32 otras patologías no respiratorias como grupo control.

En el gráfico 1, se muestra el número de pacientes y controles estudiados, distribuidos según el grupo etario, con un promedio de 3 meses de edad.

En la distribución por sexo, se estudiaron en total 33 (51,7%) lactantes del sexo masculino y 31 (48,4%) del femenino (Gráfico 2).

De los 32 pacientes estudiados, 24 (75,0%) pertenecían al área urbana y 8 (25,0%) a rurales del Estado Mérida (Tabla I).

En el Gráfico 3, se expresa la distribución de los títulos de IgG anti-C. trachomatis obtenidos por la técnica de I.F.I. en pacientes y controles. Para los pacientes, 12 (37,5%) resultaron negativos a la dilución 1:16 y 20 (62,5%) fueron positivos entre las diluciones 1:16 y 1:2048. En el grupo control, 8 (25,0%) se observaron

negativos a la 1:16 y 24 (75,0%) fueron positivos distribuidos entre la dilución 1:16 y 1:256, al aplicar la prueba estadística no se encontró diferencia significativa entre los pacientes y controles sino en el título 1:128.

Los resultados obtenidos para los anticuerpos tipo IgM anti-C. trachomatis en pacientes y controles, se expresan en el gráfico 4; 26 (81,2%) de las 32 muestras de los lactantes con IRA fueron positivas desde la dilución 1:8 hasta 1:1024 y 6 (18,8%) negativas para la 1:8. Para el grupo control la positividad de 16 muestras (50,0%) se distribuyó entre las diluciones 1:8 hasta 1:64. Al aplicar la prueba estadística, se observó diferencia significativa entre los pacientes y controles en títulos > 1:64, por lo cual se consideraron sugestivos de una IRA del tracto inferior por C. trachomatis. Tomando en cuenta títulos > 1:64 para IgM, de los 32 pacientes con IRA del tracto inferior, 14 casos (43,7%) presentaron títulos significativos para IgM.

El gráfico 5, nos muestra que la mayor frecuencia de títulos < 1:64 se observó en lactantes menores de 1 mes de edad y la mayor frecuencia de títulos > 1:64 se evidenció en 5 lactantes (35,7%) de 1 a 2 meses de edad, observándose que no hay diferencia significativa en estos grupos.

Con relación al sexo, la mayor frecuencia de títulos significativos para IgM (> 1:64) se observó en el masculino, con 9 casos (64,2%), mientras que hubo 5 lactantes femeninas (35,7%), con una $P < 0.05$ (Gráfico 6).

De los 14 pacientes con títulos significativos para IgM (> 1:64), 11 (78,5%) pertenecían a áreas urbanas del Estado Mérida, y el resto 21,4% (3 casos) a zonas rurales, no encontrándose diferencia significativa entre ambos grupos (Figura 1).

En los pacientes estudiados, la tos y dificultad respiratoria, fueron los motivos de consulta más frecuentes (Gráfico 7).

Al analizar el Gráfico 8, se observa que 15 (46,8%) de los lactantes presentaron diagnóstico clínico de bronconeumonía, de los cuales (57,1%) presentaron títulos de IgM > 1:64, seguido de 8 (25,0%) casos con diagnóstico clínico de neumonía por C. trachomatis y sólo 2 (14,2%) de ellos resultaron significativos para este anticuerpo, al aplicar la prueba estadística, no se encontró diferencia significativa.

La variable leucorrea en el último trimestre del embarazo de las madres, se reportó en 25 casos (78,1%), la misma estuvo presente en 9 (64,2%) de los 14 lactantes con IgM > 1:64, con una $P < 0.05$ (Gráf. 9).

De los 32 neonatos, 25 (78,1%) nacieron por vía vaginal, y 7 (21,8%) por cesárea (Figura 2). De los primeros, 12 (85,7%) presentaron títulos para IgM anti C.

trachomatis >1:64. Estos se observaron sólo en 2 (14,2%) lactantes nacidos por cesárea, encontrándose una diferencia significativa de $P > 0.05$ entre ambos grupos.

Al analizar las manifestaciones clínicas de los lactantes con IRA del tracto inferior y títulos > 1:64 del IgM anti-C. trachomatis, la fiebre se presentó en 15 (46,8%) de los 32 pacientes, 8 (57,1%) presentaron títulos significativos para IgM, y presentaron "tos en Staccato" 9 (28,1%), de los cuales sólo 3 (21,4%) resultaron IgM > 1:64. En el examen auscultatorio de pulmones, los hallazgos más frecuentes fueron: crepitantes en 14 casos (43,7%) y sibilantes en 10 (25,0%) de los 32 pacientes estudiados, resultando significativos para el anticuerpo IgM, 6 casos (42,8%) para crepitantes y 4 (28,5%) para sibilantes. En los estudios radiológicos, se observó infiltrado intersticial en 20 (62,5%) de los pacientes, de los cuales 10 (71,4%) presentaron títulos significativos para IgM. En 14 (43,7%) de las 32 radiografías de ingreso había imágenes de hiperinsuflación pulmonar, de los cuales 4 (28,5%) resultaron significativos para IgM, al aplicar la prueba estadística no se encontró diferencia entre pacientes con título > 1:64 y aquellos que no los tuvieron al relacionarlos con las variables clínicas, radiológicas y los resultados de laboratorio (Gráfico 10).

La conjuntivitis se presentó en 12 casos (37,5%) de los 32 pacientes, de los cuales 5 la presentaron dentro de la primera semana después del nacimiento y 7 después de la primera. De los 12 lactantes que presentaron conjuntivitis sólo 4 (28,5%) obtuvieron títulos significativos para IgM anti-C. trachomatis, en 2 de los casos la conjuntivitis fue unilateral y en el resto fue bilateral, con una $p > 0.05$ (Gráfico 11).

TABLA I - Distribución de Lactantes con IRA. Tracto inferior de acuerdo a su procedencia. Mérida, 1993.

Procedencia	Número	Porcentaje
Urbana	23	75,0
Rural	8	25,0
Total	32	100,0

DISCUSION

En 1975, se describió un caso de neumonía infantil seguido de conjuntivitis de inclusión (Schachter y col. 1975). En 1977, Beem y Saxon relacionaron un síndrome de neumonitis característica con infección clamidial. Este estudio, junto con una serie de casos de neumonía en infantes descritos por Harrison y col. (1978), condujo a una apreciación que C. trachomatis

es causa frecuente de dicha patología, en infantes menores de 6 meses de edad.

La neumonía debida a *C. trachomatis* tiene implicaciones epidemiológicas, clínicas y terapéuticas diferentes a las causadas por otros agentes infecciosos (Dworsky y Stagno, 1982); los lactantes enfermos no siempre ameritan hospitalización, pero si no son tratados adecuadamente con antibióticos específicos como: Eritromicina y Trimetropin Sulfametoxazol, la enfermedad puede prolongarse por varios meses, interfiriendo con la alimentación y el progreso del niño, aumentando el riesgo de enfermedad obstructiva de las vías aéreas inferiores en etapas sucesivas de la vida (Brasfield y col. 1987), de allí la importancia de establecer el diagnóstico precoz.

La serología es particularmente útil para el diagnóstico de la neumonía clamidial en lactantes (Schachter y col. 1982). En nuestro estudio se aplicó la prueba de inmunofluorescencia indirecta (IFI) para detectar anticuerpos tipo IgG y IgM anti - *C. trachomatis* en suero de lactantes. Los diferentes títulos obtenidos se observan en los gráficos 3 y 4. De estos resultados se puede deducir que niveles de IgG son menos útiles que los de IgM contra este microorganismo, debido a que los lactantes poseen considerables niveles de IgG maternos, los cuales son pasados a través de la placenta durante la gestación, y que tardan de 6 a 12 meses en desaparecer (Schachter y col. 1986). Esto explica los resultados obtenidos en los niños que se utilizaron como grupo control, de los cuales 24 (75,0%) presentaron títulos para IgG anti - *C. trachomatis* desde 1:16 a 1:256 (Gráfico 3). La totalidad de estos lactantes no mostraron manifestaciones clínicas de IRA. Tal observación se corresponde con un estudio realizado por Schachter y col. en 1986, donde el 60% de sus lactantes controles, sin enfermedad clínicamente detectable, presentaron

anticuerpos anti-*C. trachomatis* tipo IgG, con títulos sobre 1:64 y el 57,0% estuvieron sobre 1:256, todos ellos, al hacerles un seguimiento después de los 9 meses de edad, perdieron sus anticuerpos tipo IgG obtenidos maternalmente, y ninguno desarrolló anticuerpos tipo IgM. Según este estudio, los lactantes mayores de 9 meses de edad podrían ser analizados para determinar la prevalencia de la infección clamidial detectando anticuerpos anti - *C. trachomatis* tipo IgG, sin temor a confundirse con los efectos de los anticuerpos maternos. La determinación de IgG, es una prueba que no es de ayuda diagnóstica para IRA del tracto inferior por *C. trachomatis* en lactantes menores de 6 meses de edad.

Con respecto a la utilidad de la determinación de los anticuerpos tipo IgM anti-*C. trachomatis* en el diagnóstico de la IRA del tracto inferior por este microorganismo, en el gráfico 4 que muestra la distribución de títulos de pacientes y controles se observa que la determinación de este parámetro, a diferencia de la detección de la IgG, si resulta útil como herramienta diagnóstica de dicha patología, como también lo demuestran Schachter y col. en su estudio de 1986, donde encontraron títulos de IgM para los pacientes desde 1:32 hasta 1:4096. Su utilidad se corrobora porque se observan diferencias significativas entre los títulos de IgM de pacientes y controles, además que este tipo de anticuerpo es producido por el lactante en respuesta a la infección dentro de los 7 días posteriores a ésta, y porque la IgM no atraviesa la membrana placentaria (Harrison y col. 1986).

Teniendo como base la revisión de los resultados obtenidos por diferentes autores como Puolakkainen y col. en 1984, los cuales establecieron que títulos > 1:64 para IgM y títulos > 1:512 para IgG anti-*C. trachomatis*, determinados por la prueba de IFI son criterios para considerar un diagnóstico definitivo de neumonía por

FIGURA 1 TITULOS SIGNIFICATIVOS ($\geq 1:64$) DE IgG ANTI- *C. trachomatis*. LACTANTES CON IRA TRACTO INFERIOR SEGUN SU PROCEDENCIA. MERIDA 1993

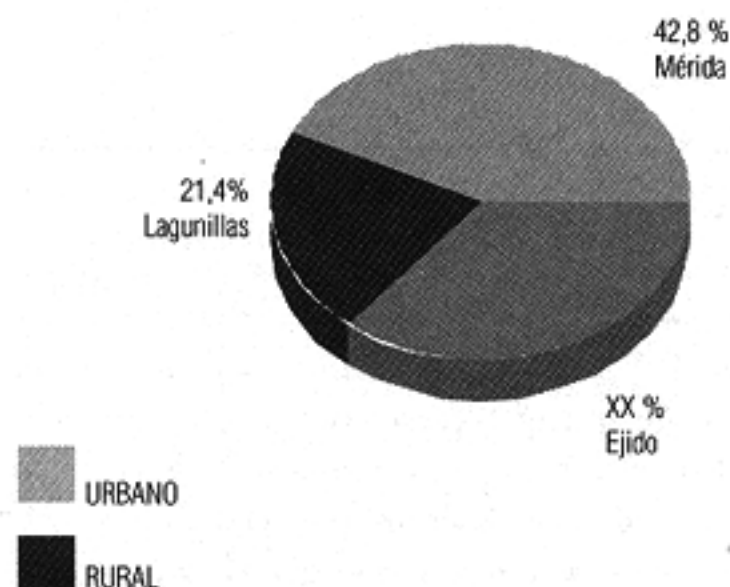


FIGURA 2 TITULOS DE IgG ANTI- *C. trachomatis*. LACTANTES CON IRA TRACTO INFERIOR SEGUN TIPO DE NACIMIENTO. MERIDA 1993

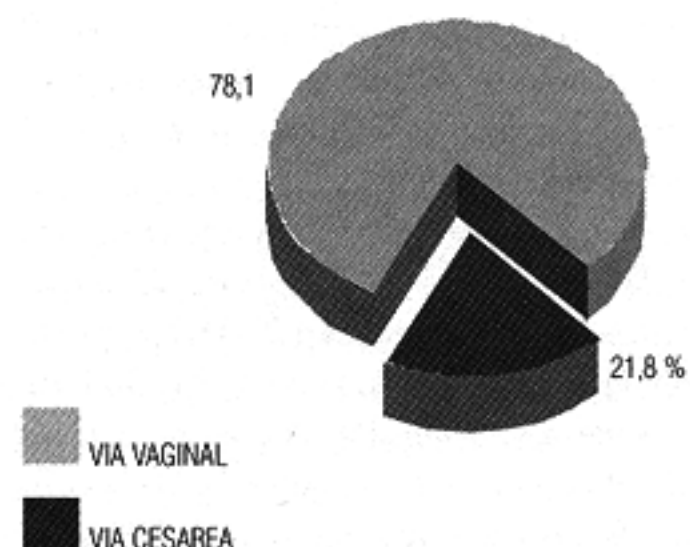


GRAFICO 1 LACTANTES CON IRA TRACTO INFERIOR Y CONTROLES SEGUN GRUPO ETARIO. MERIDA 1993

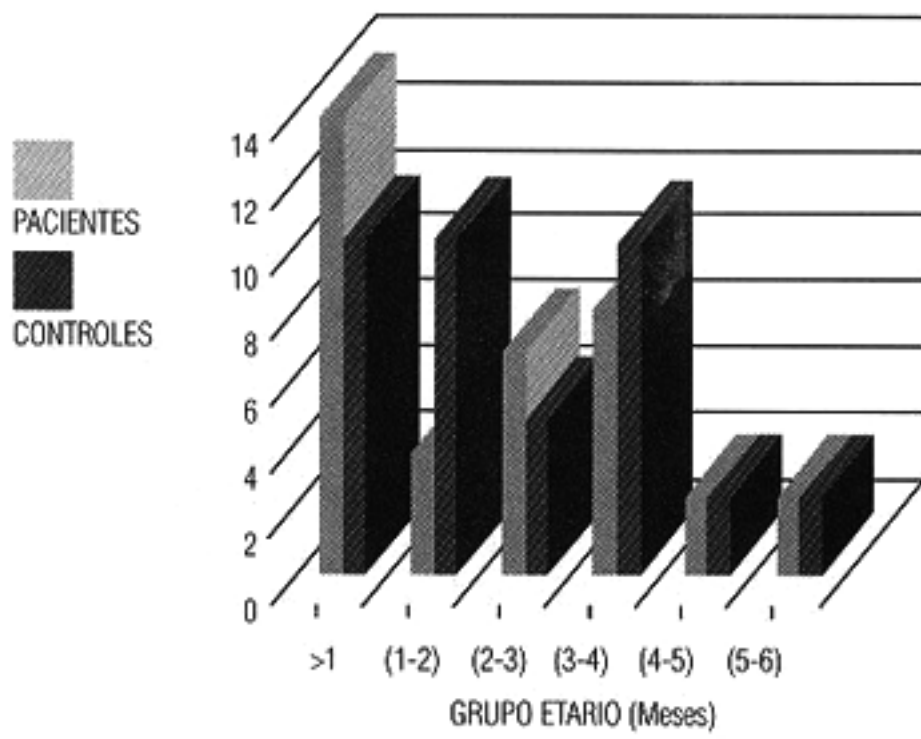


GRAFICO 2 TITULOS DE IgG ANTI- *C. trachomatis*. LACTANTES CON IRA TRACTO INFERIOR SEGUN TIPO DE NACIMIENTO. MERIDA 1993

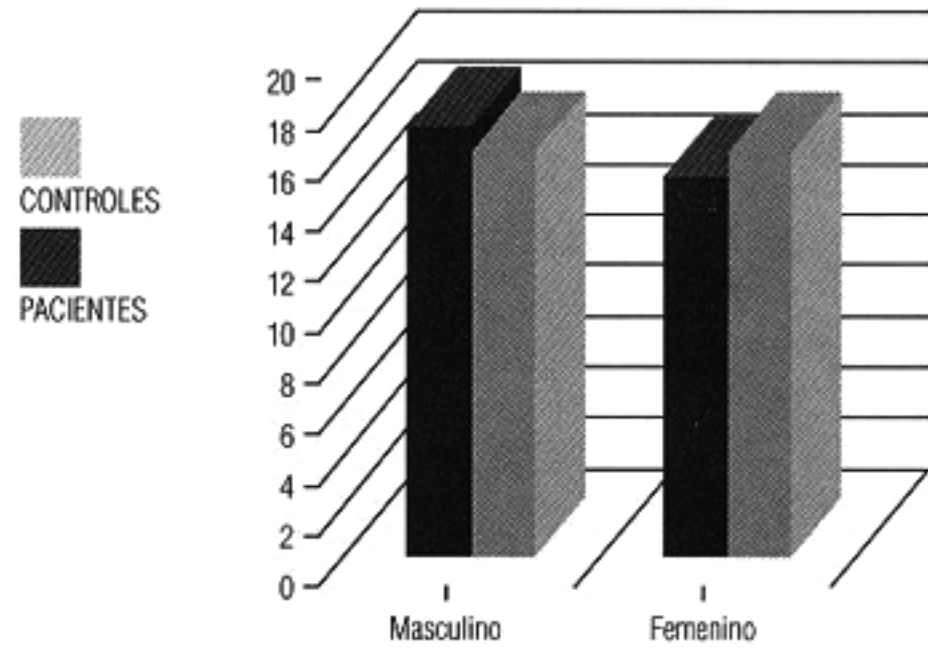


GRAFICO 3 DISTRIBUICION DE TITULOS IgG ANTI- *C. trachomatis*. LACTANTES CON IRA TRACTO INFERIOR Y CONTROLES. INMUNOFLUORESCENCIA INDIRECTA. MERIDA 1993

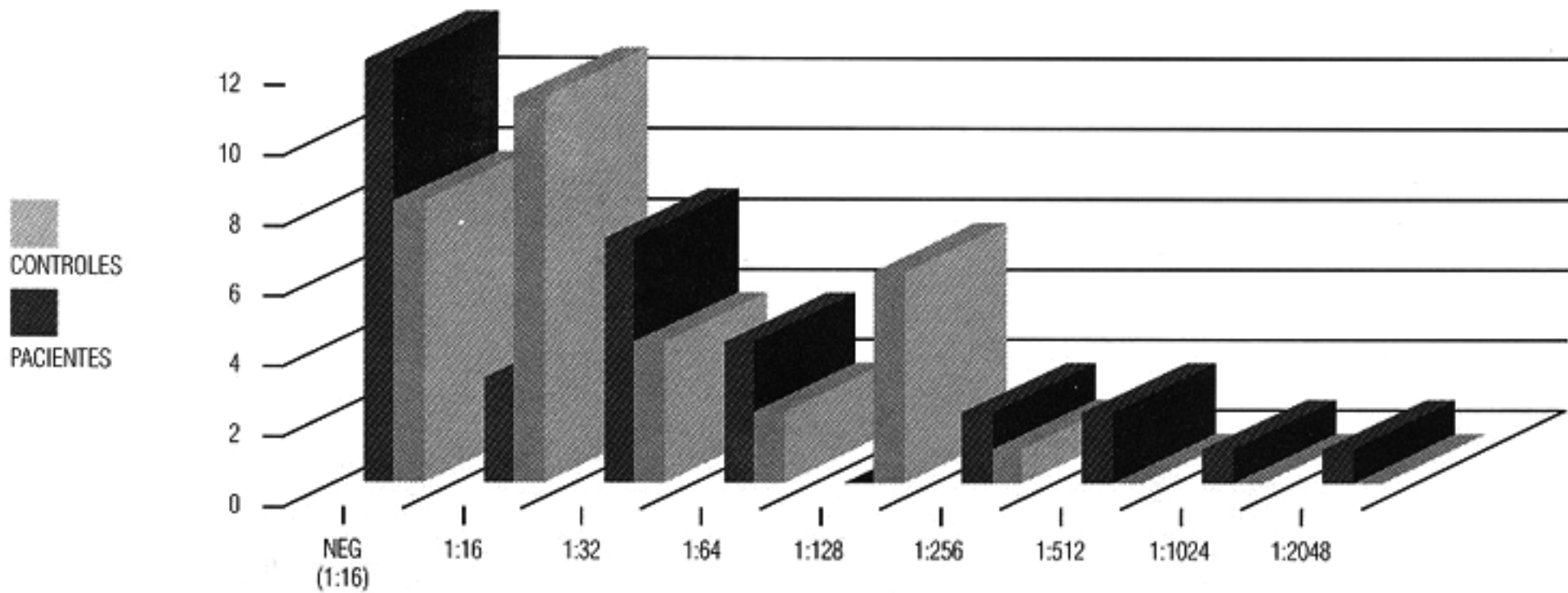


GRAFICO 4 DISTRIBUICION DE TITULOS IgG ANTI- *C. trachomatis*. LACTANTES CON IRA TRACTO INFERIOR Y CONTROLES. INMUNOFLUORESCENCIA INDIRECTA. MERIDA 1993

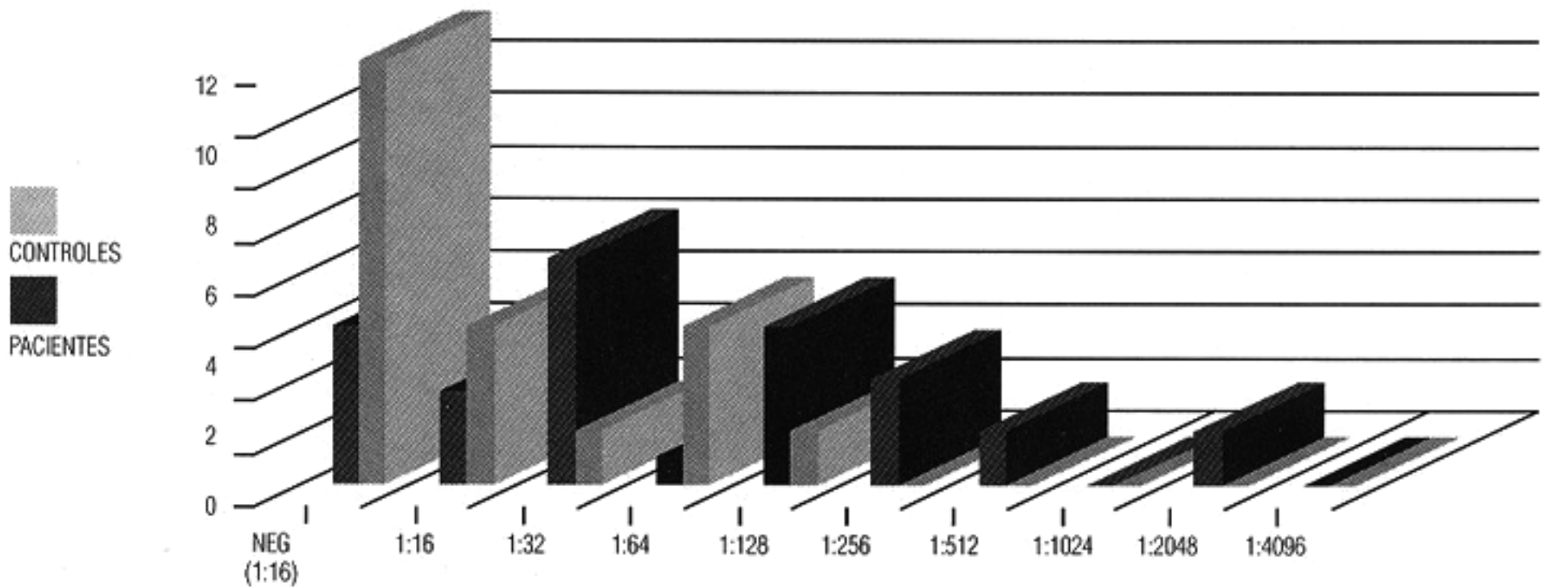


GRAFICO 5 TITULOS SIGNIFICATIVOS ($\geq 1:64$) DE IgG ANTI- *C. trachomatis*. LACTANTES CON IRA TRACTO INFERIOR. SEGUN GRUPO ETARIO. MERIDA 1993

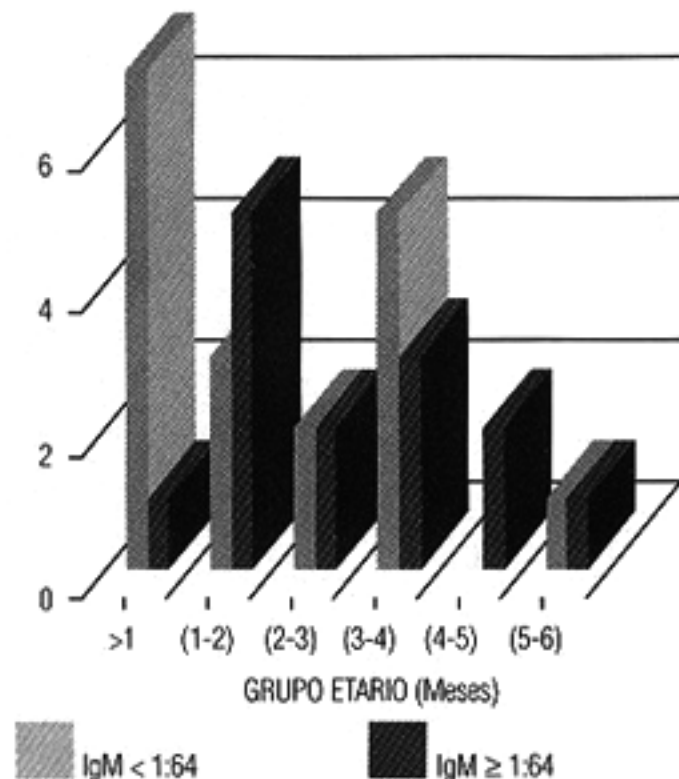


GRAFICO 6 TITULOS SIGNIFICATIVOS ($\geq 1:64$) DE IgG ANTI- *C. trachomatis*. LACTANTES CON IRA TRACTO INFERIOR. SEGUN SEXO. MERIDA 1993

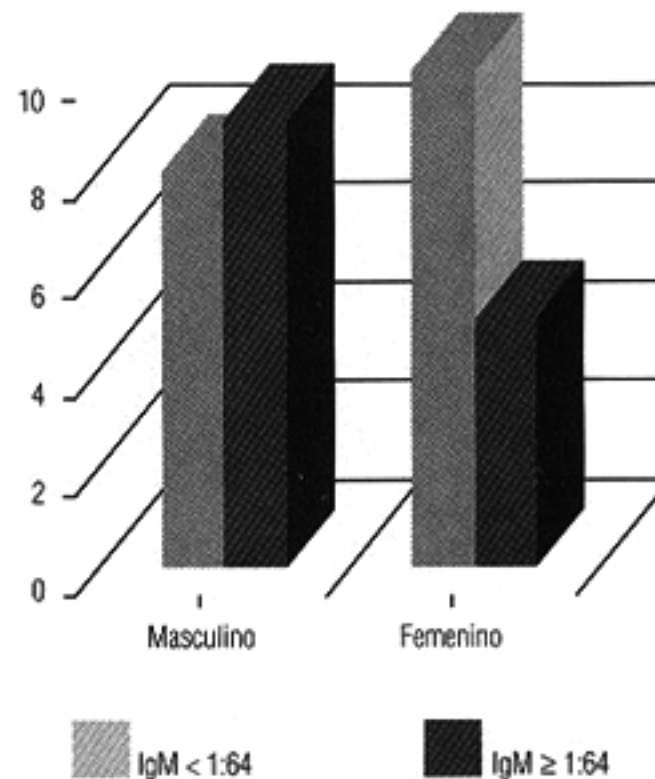


GRAFICO 7 TITULOS SIGNIFICATIVOS ($\geq 1:64$) DE IgG ANTI- *C. trachomatis*. LACTANTES CON IRA TRACTO INFERIOR SEGUN MOTIVO CONSULTA. MERIDA 1993

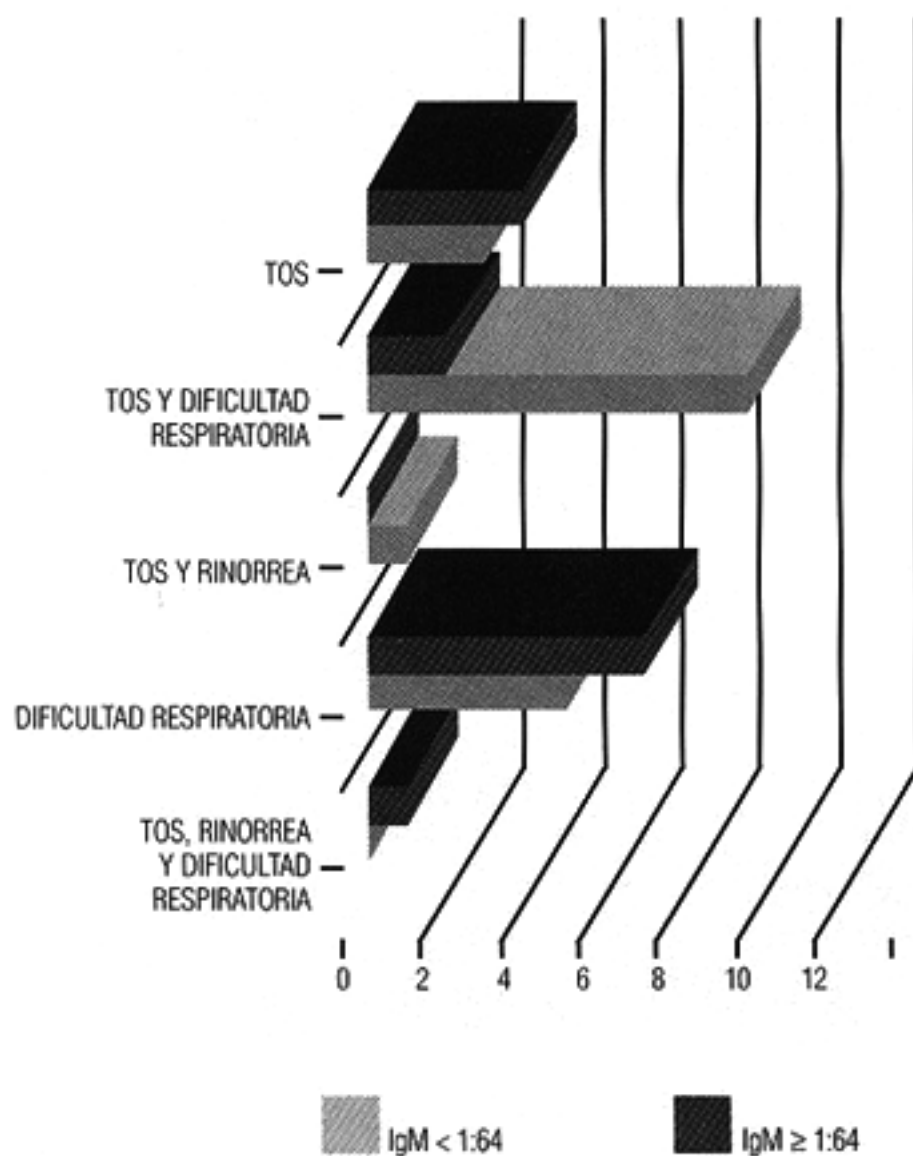


GRAFICO 8 TITULOS SIGNIFICATIVOS ($\geq 1:64$) DE IgG ANTI- *C. trachomatis*. LACTANTES CON IRA TRACTO INFERIOR SEGUN DIAGNOSTICO CLINICO. MERIDA 1993

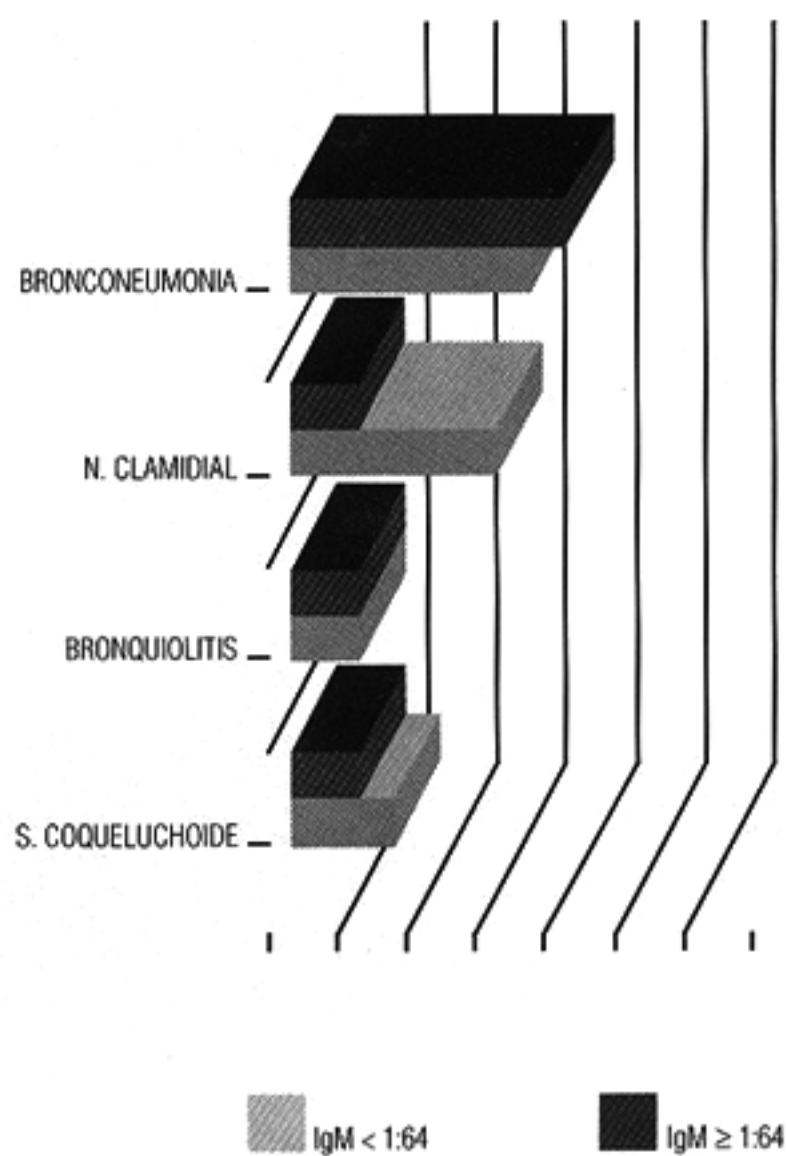


GRAFICO 9 TITULOS DE IgG ANTI- *C. trachomatis*. LACTANTES CON IRA TRACTO INFERIOR Y ANTECEDENTES MATERNOS DE LEUCORREA. MERIDA 1993

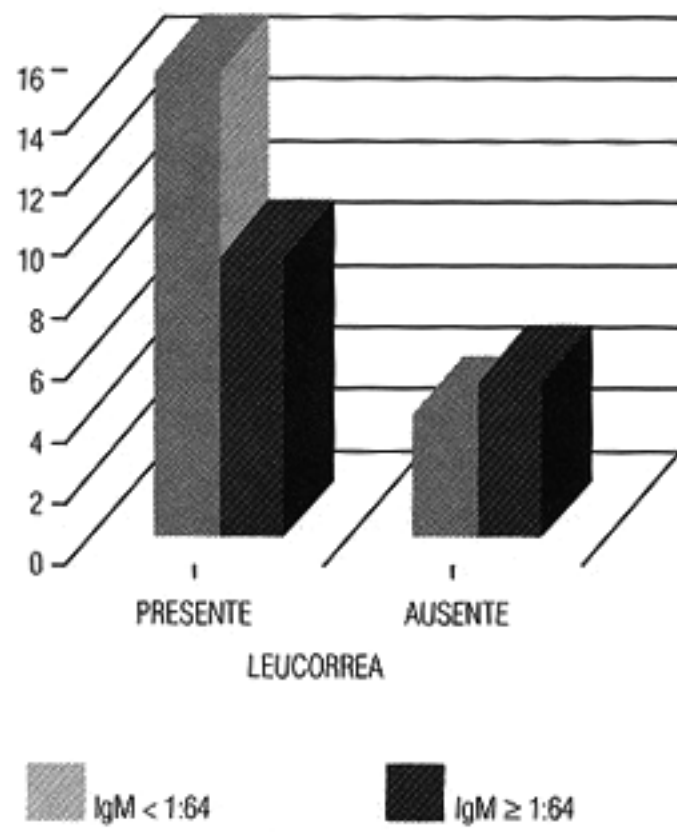


GRAFICO 11 TITULOS DE IgG ANTI- *C. trachomatis*. LACTANTES CON IRA TRACTO INFERIOR. SEGUN PRESENCIA DE CONJUNTIVITIS. MERIDA 1993

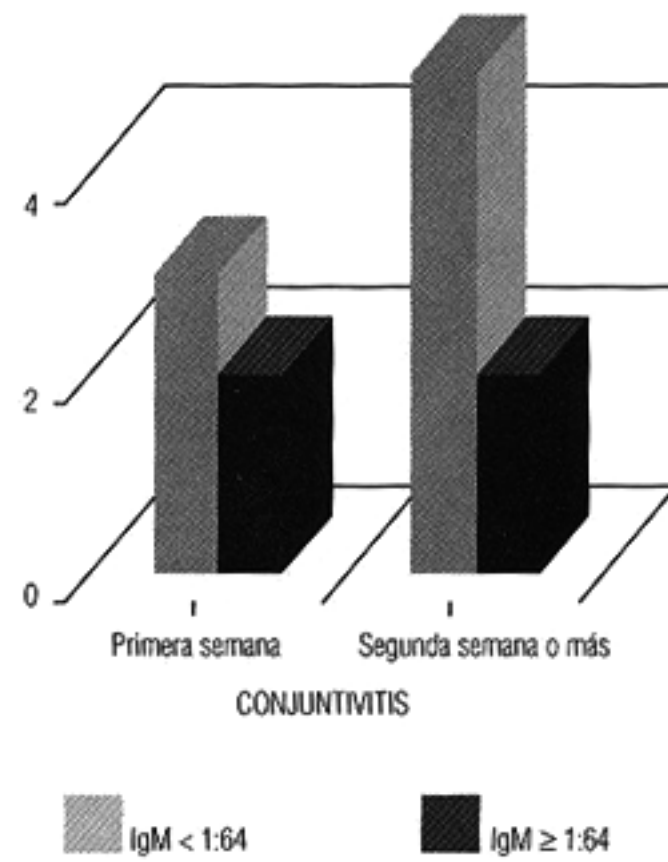
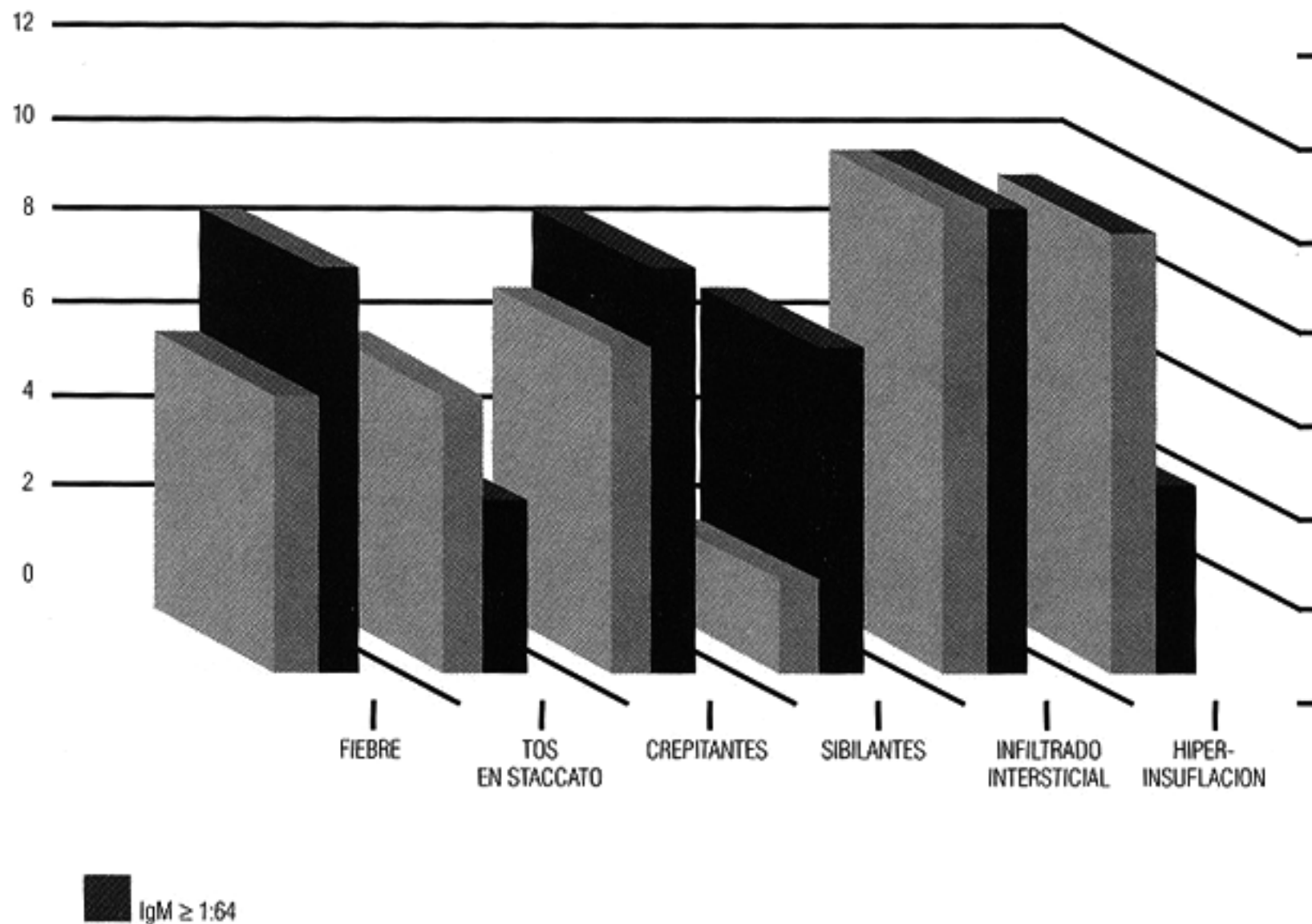


GRAFICO 10 TITULOS DE IgG ANTI- *C. trachomatis*. LACTANTES CON IRA TRACTO INFERIOR AGRUPADOS SEGUN CRITERIOS CLINICOS Y RADIOLOGICOS. MERIDA 1993



IgM < 1:64 IgM ≥ 1:64

dicho microorganismo en lactantes. Del mismo modo Schachter y col. en 1982 sostienen que títulos simples de IgM > 1:32 podrían mantener el diagnóstico de neumonía clamidial. Saikku (1988) propone que la presencia de anticuerpos tipo IgM en títulos > 1:32 es criterio para el diagnóstico inmunológico de las infecciones recientes por *C. trachomatis*, asimismo, considera que títulos de IgG entre 1:32 y 1:256 son evidencia de infección previa.

Según los resultados obtenidos en esta investigación, aplicando el método de IFI, se consideró que títulos > 1:512 para la IgG y > 1:64 para la IgM (Gráficos 3 y 4), son títulos significativos para orientar un diagnóstico temprano de esta infección.

Según los resultados de esta investigación las variables edad y sexo, para los pacientes con IgM anti - *C. trachomatis* > 1:64 no intervienen en el desarrollo de una IRA del tracto inferior (Gráficos 5 y 6). Sin embargo, se puede observar que el mayor número de casos con títulos significativos 5 (35,7%) para IgM se encontró entre 1 y 2 meses de edad, y el mayor número de casos < 1:64 para IgM, se encontró en lactantes menores de 1 mes (Gráfico 5), ésto probablemente debido al tiempo que el niño requiere para formar sus anticuerpos clase IgM.

Se considera que la procedencia del paciente, tampoco fue una variable importante para el desarrollo de la infección, pues si bien hubo un mayor número de casos positivos en el área urbana, ésto probablemente obedeció a que también el mayor número de casos estudiados provenían de dicha área. (Tabla 1).

El motivo de consulta e ingreso al hospital más frecuente en niños con IRA del tracto inferior estudiados, fué tos y dificultad respiratoria, al igual que lo reportado por Chacín (1991) y Gutiérrez y col. (1991) (Gráfico 7).

La bronconeumonía constituyó el diagnóstico predominante en este estudio con 15 casos (46,8%) (Gráfico 8). Según los resultados de laboratorio, 8 (57,1%) de los lactantes diagnosticados clínicamente con bronconeumonía, presentaron títulos significativos para IgM por IFI, lo cual sugiere que en estas bronconeumonías, *C. trachomatis* se involucró como agente causal o que hubo infección mixta. De los 8 niños con diagnóstico clínico de neumonía, en 7 (87,5%) no hubo correlación de los datos clínicos y radiológicos con las determinaciones de IgM (Gráfico 8), se considera que el método de IFI es de alta sensibilidad y especificidad para la determinación de este anticuerpo según lo demuestra Puolakkainen y col. (1984), no se descarta que el diagnóstico clínico haya sido incierto por lo indistinguible de síndromes asociados a Citomega-

lovirus, *Pneumocystis carinii* y *Ureaplasma urealyticum*, los cuales no fueron investigados.

Se ha reportado que la infección por *C. trachomatis* es más frecuente en mujeres de 15 a 20 años y declina marcadamente a medida que la edad avanza (Faro, 1985). En este estudio, 5 (35,0%) de las madres de los 14 pacientes con títulos significativos de IgM estaban dentro de ese rango de edad. Sólo un caso cuya madre tenía 43 años resultó significativo para los anticuerpos específicos anti - *C. trachomatis*, ésto coincide con lo reportado por Ogle y col. (1986), quienes describieron a un lactante con neumonía clamidial cuya madre tenía 40 años de edad.

La presencia de leucorrea en la madre, durante el último trimestre del embarazo, no constituyó un dato clínico significativo para apoyar el diagnóstico de una IRA del tracto inferior por *C. trachomatis*, ésto quizás debido a que la leucorrea puede presentarse por otras causas (Gráfico 9).

Es importante destacar que de los 14 pacientes con títulos significativos para IgM anti-*C. trachomatis*, 12 (85,0%) nacieron por vía vaginal y 2 (15,0%) por cesárea (Figura 2), lo cual sugiere que la infección a través del paso del lactante por el canal del parto es más frecuente que la infección transamniótica. Harrison y col. (1986) opinan que la transmisión de *C. trachomatis* "in utero" no se produce, a menos que se ocasione una ruptura prematura de membranas, sin embargo, otros autores a pesar de considerar que la infección clamidial en lactantes nacidos por cesárea es muy rara, admiten que se puede producir. Numazaki y col. (1986), quienes encontraron resultados similares a los que arrojó esta investigación, con dos pacientes positivos para IgM, nacidos por cesárea, de un total de 16 pacientes positivos para este anticuerpo, Givner y col. (1981) reportaron el caso de un infante nacido por cesárea con infección por *C. trachomatis*. Mardh y col. (1984) publicaron un caso de infección respiratoria intrauterina en un infante prematuro nacido por cesárea a las 29 semanas de gestación. Por su parte Lagos y col. (1987) en 31 pacientes embarazadas, obtuvieron 2 casos positivos para el citado agente en líquido amniótico, detectados por la reacción en cadena de la polimerasa. El presente estudio, aunado a todos los antes mencionados, no descarta la posibilidad de infección intrauterina por *C. trachomatis*. El mecanismo de infección intraamniótica aún no está claro, pero una fuerte asociación entre infecciones urogenitales y las intraamnióticas sugiere que el ascenso del microorganismo desde la vagina y el cérvix, puede ser una probable ruta a través de la cual el microorganismo

logra acceso a la cavidad amniótica, lo que podría significar la forma por la cual *Chlamydia* puede ser transmitida al lactante antes del nacimiento (Chia y col. 1991).

La ausencia de fiebre y de reacción sistémica son aspectos clínicos característicos de la neumonía debida a *C. trachomatis* (Tipple y col. 1979; Chacín, 1991; González y col. 1991). Sin embargo, de los 14 pacientes con títulos significativos para IgM, 8 (53,3%) presentaron fiebre de menos de 2 días de evolución (Gráfico 10), pero ella no fué un parámetro definitivo para el diagnóstico de IRA del tracto inferior por *C. trachomatis*. Por otro lado, presumimos que ésta pudo deberse a su asociación con otro microorganismo, el cual sí produjo esta reacción sistemática en el lactante. En otro estudio realizado por González y col. (1991), también se encontró presencia de fiebre en 6 pacientes (15%) que presentaban reumonía por *C. trachomatis*.

La "tos en Staccato" es un signo presente en el 100% de los casos de neumonía por el citado agente, así lo reportan estudios como los realizados por Tipple y col. (1979), González y col. (1991) y en el 71% de los casos positivos en el estudio realizado por Chacín y col. (1991). En este estudio se reportan 9 casos (28,1%) con "tos en Staccato" de los cuales sólo 3 (21,4%) presentaron títulos significativos para los anticuerpos específicos anti - *C. trachomatis* tipo IgM (Gráfico 10). Estos resultados no coinciden con los estudios citados y se infiere que pudo ser debido a que este signo no fue bien reconocido por el facultativo. Se admite que este parámetro clínico constituye un hallazgo importante y decisivo para el diagnóstico presuntivo de neumonía por *C. trachomatis*, según lo reportado por los autores mencionados anteriormente.

Un hallazgo relevante en este estudio fue la presencia de crepitantes al exámen auscultatorio de pulmones en 6 (42,8%) de los casos con títulos significativos para IgM, este porcentaje es menor a los obtenidos por Stagno y col. (1981) quienes reportaron 77% de presencia de crepitantes y Chacín y col. (1991) quienes encontraron este hallazgo en 86% de los pacientes.

De los signos radiológicos más frecuentes de este estudio, el infiltrado intersticial se observó en 20 (62,5%) casos, y la hiperinsuflación pulmonar en 13 (40,6%). Al hacer el inmunodiagnóstico son pocos los positivos que se correlacionan con la presencia de hiperinsuflación pulmonar, por el contrario tenemos que 71,4% de los pacientes con IgM > 1:64 presentaban al exámen radiológico infiltrado intersticial (Gráfico 10). Estos hallazgos no son específicos y coinciden con lo reportado en casos de infecciones virales del tracto

respiratorio, lo cual podría explicar en parte la falta de correlación entre la hiperinsuflación pulmonar y nuestros resultados de laboratorio. En una investigación realizada por Lagos y col. (1987) encontraron hiperinsuflación pulmonar en 8 (72,7%) e infiltrado intersticial en 5 (45,5%) pacientes positivos para *C. trachomatis*. Gutiérrez y col. (1991), reportan un 100% de hiperinsuflación pulmonar e infiltrado intersticial parahiliar, en pacientes con neumonía por *C. trachomatis*, según dichos autores estos criterios son básicos para el diagnóstico. González y col. en un estudio de 40 pacientes realizado en 1991, observaron en 10 de ellos (25%) infiltrado intersticial bilateral e imagen de hiperinsuflación. Aún cuando estos hallazgos son inespecíficos y no distintivos de la neumonía por *C. trachomatis*, son los criterios radiológicos básicos hasta ahora descritos como orientadores para alertar al clínico sobre esta posibilidad diagnóstica. Los resultados obtenidos en este estudio, concuerdan con la mayoría de los mencionados anteriormente.

La conjuntivitis fue un dato clínico que se observó en 12 de los pacientes estudiados (Gráfico 11), bien sea en forma simultánea o referida como un antecedente. La conjuntivitis de inclusión por *C. trachomatis* en el lactante comienza de 5 a 14 días después del nacimiento, a diferencia de la oftalmía gonocócica que tiene un período de incubación más corto, apareciendo de 3 a 5 días después del nacimiento. Según Tipple y col. (1979) y Branfield y col. (1987), la conjuntivitis se puede presentar desde un 10% a un 50% de los casos de neumonía clamidial. Esto coincide con el hallazgo de 28,5% de conjuntivitis en nuestros pacientes con IRA del tracto inferior por *C. trachomatis* con títulos significativos del IgM (Gráfico 11). González y col. (1991), encontraron conjuntivitis en un 55% de los casos con neumonía positivos para *C. trachomatis*. Gutiérrez y col. (1991), reportaron 40% de conjuntivitis en los casos de neumonía clamidial estudiados.

Los resultados obtenidos en este primer estudio realizado en nuestro país, en el cual se determinaron anticuerpos anti-*C. trachomatis* por el método I.F.I. nos permiten afirmar que la prueba facilita la orientación del clínico hasta el diagnóstico de IRA tracto inferior donde el citado microorganismo se involucra como agente único o asociado, y representa una alternativa frente a los cultivos o determinación de antígenos por procedimientos directos, los cuales a pesar de su especificidad, requieren de métodos invasivos para la obtención de la muestra, que resultan de riesgos para el paciente.

CONCLUSIONES

El método de inmunofluorescencia indirecta representa una alternativa importante para el diagnóstico de IRA del tracto inferior por *C. trachomatis*.

Títulos de IgM anti-*C. trachomatis* > 1:64 son significativos de una infección por este microorganismo en lactantes con IRA del tracto inferior.

Se demostró la alta frecuencia IRA del tracto inferior por *C. trachomatis* (43,7%), lo cual se correlaciona con los resultados reportados por otros autores en países industrializados.

El grupo etario más afectado fué el de lactantes entre 1 y 2 meses de edad, constituyendo el 15,6% del total de pacientes estudiados.

Es importante considerar a la *C. trachomatis* como un posible agente etiológico en los lactantes menores de 6 meses con IRA del tracto inferior, ya que la misma puede conllevar a la obstrucción de las vías aéreas en etapas sucesivas de la vida.

Los criterios clínicos - radiológicos constituyen elementos orientadores para el diagnóstico presuntivo, pero no definitivo de IRA del tracto inferior por *C. trachomatis*.

Se debe considerar el diagnóstico de IRA del tracto inferior por *C. trachomatis*, como factor importante para diferenciarla de otras IRA, en lactantes menores de 6 meses.

RECOMENDACIONES

Implantar como método de rutina la determinación de anticuerpos clase IgM anti-*C. trachomatis* para el diagnóstico temprano de esta infección.

Concientizar a los pediatras sobre la importancia de investigar la presencia de *C. trachomatis* en lactantes menores de 6 meses con IRA del tracto inferior.

Realizar nuevos estudios a fin de conocer la prevalencia de la neumonía clamidial en Venezuela y su asociación a otros patógenos, en caso de IRA del tracto inferior.

Continuar con esta investigación con un número mayor de pacientes y por un método más largo de tiempo de fin de estimar la incidencia.

Fomentar el interés de esta línea de investigación a nivel de otras especialidades.

AGRADECIMIENTO

A Reinaldo López, por la colaboración prestada en el trabajo de Laboratorio.

Al C.D.C.H.T., organismo que financió nuestra investigación.

Al Servicio de Emergencia Pediátrica del Hospital Universitario de Los Andes, área donde se realizó esta investigación.

Al Laboratorio de Inmunodiagnóstico de la Escuela de Bioanálisis, donde se ejecutó el trabajo.

A la ilustre Universidad de Los Andes, por darnos la oportunidad de formarnos profesionalmente.

A los médicos residentes por su constante colaboración.

A los pequeños pacientes y sus madres, material humano imprescindible en la realización de este estudio.

BIBLIOGRAFIA

- Battiger, B.; Newhall, W.; et al. Antigenic analysis of the major outer membrane protein of *Chlamydia trachomatis* with murine monoclonal antibodies. *Infect. Immun.* 53 (3): 530-533. 1986.
- Bell, T.; Stamm, W. Delayed appearance of *Chlamydia trachomatis* infections acquired at birth. *Pediatr. Infect. Dis J.* 6: 928 - 931. 1988.
- Beem, M.; Saxon, E. Respiratory - tract colonization and distinctive pneumonia syndrome in infants infected with *Chlamydia trachomatis*. *N. Engl. J. Med.* 296 (6): 306 - 310. 1977.
- Brasfield, D.; Stagno, S.; Witley, R.; Cloud, G.; Cassel, G.; Tiller, R. Infant pneumonitis associated with Cytomegalovirus, *Chlamydia*, *Pneumocystis* and *Ureaplasma*: follow - up. *Pediatr* 79 (1): 76 - 86. 1987.
- Carballal, G.; Siminovich, M.; et al. Etiologic, Clinical, and Pathologic analysis of 31 total cases of acute respiratory tract infection in Argentinian children under 5 years of age. *Rev. Infect. Dis.* 12 (8): 1074 - 1080. 1990.
- Cecil. R. Tratado de Medicina Interna. 12^é ed. México Editorial Interamericana. p.p. 1863 - 1866. 1986.
- Chacín Y. Neumonía en niños menores de 6 meses debido a *Chlamydia trachomatis* diagnosticada en aspirado traqueal, Trabajo de Grado. Depto. de Pediatría. HULA. 1991.
- Chia. P.; Kao, S.; Wang H.; Lee, C. Intraamniotic detection of *Chlamydia trachomatis* deoxyribonucleic acid sequences by polymerase chain reaction. *Am J. Obstet. Gynecol.* 164 (5): 1295 - 1299. 1991.
- Datta P.; Laga. M.; Plummer, A.; Ndiny, J.; Piot, P.; Maitha, G.; Ronald A.; Brunham, R. Infection and disease after perinatal exposure to *Chlamydia trachomatis* in Nairobi, Kenya. *J. Infect. Dis.* 158 (3): 524 - 528. 1988.
- Dworsky, M.; Stagno, S. Newer agents causing pneumonitis in early infancy. *Pediatr. Infect. Dis.* 1 (3): 188 - 195, 1982.
- Engwall, E.; Pelman, P. Enzyme linked Immunosorbent assay (ELISA) Quantitative assay of IgG. *Immunochemistry.* 8: 871. 1971.
- Escalona, L; y col. *ARCH. VEN. PUER. PED.* 55 (2): 36. 1993.
- Faro, S. *Chlamydia trachomatis* infection in woman. *J. Reprod. Med.* 30 (3): 273 - 278. 1985.
- Fletcher, J.; Gordon, R. Perinatal transmission of bacterial sexually transmitted diseases. Part II: Group B *Streptococcus* and *Chlamydia trachomatis*. *J. Fam.*

- Pract. 30 (6): 689 - 696. 1990.
- Callegos, B.; Molero, J.; Chacín, R. Urethritis por Chlamydia trachomatis: respuesta a cuatro esquemas de tratamiento. *Medicina de Hospital*. 30: 27 - 31. 1989.
- Givner, L.; Renneis, M.; Woodward, C.; Huang, S. Chlamydia trachomatis infection in infants delivered by cesarean section. *Pediatrics*. 68: 420 - 421. 1981.
- González, G.; Morreo, M.; Rivero, D.; Adimandi, G. Investigación de la Chlamydia trachomatis en infecciones respiratorias en lactantes de 6 meses. *ARCH. VEN. PRER. PED.* 54 (3): 137 - 145. 1991.
- Graham, J.; Blanco, J. Chlamydial Infection. *Prim. Care*. 17: 85 - 93. 1990.
- Grossman, M.; Schachter, J. Prospective studies in Chlamydia in Newborns, in Mardh, P.; Holmes, K.; Oriel, J. (eds) *Chlamydial Infections*. Amsterdam. Elsevier Science Publishers: 213 -216. 1988.
- Harrison, H.; English, M.; Lee, C. Alexander, E. Chlamydia trachomatis infant pneumonitis. Comparison with matched controls and other infant pneumonitis. *Eng. J. Med.* 298 (13): 702 -708. 1978.
- Harrison, H.; Magder, L.; Boyce, T.; Hauler, J.; Becker, T.; Stewart, J.; Humphrey, D. Acute Chlamydia trachomatis Respiratory Infection in Childhood. *A.J.D.C.* 140: 1068 - 1071. 1986.
- Heggie, A.; Lumicao, G.; Stuart, L.; Gyves, M. Chlamydia trachomatis Infection in mothers and infants. *Am J. Dis. Child*. 135: 507 - 511. 1981.
- Jawetz, E.; Melnick, J.; Adelberg, E.; Brooks, G.; Butel, J.; Ornston, L. *Microbiología Médica*. 13a. ed. México. D.F. Editorial El Manual Moderno, S.A. de C.V. p.p. 286 - 294. 1990.
- Lagos R.; Goldenberg, E.; Maldonado, A.; Vildosola, C.; Méndez, M. Investigación de Chlamydia trachomatis mediante Inmunofluorescencia directa en lactantes menores de 4 meses. *Rev. Pediatría (Santiago)*. 30: 241 - 248. 1987.
- Leamette, E.; Ballows, A.; Hausler, W.; Truant, J. *Manual de Microbiología Clínica*. 4a. ed. Buenos Aires. Editorial Médica Panamericana. p.p. 1045 - 153. 1986.
- Lugenbill, C. New strep test during delivery "more sensitive". *Fam. Pract. News*. 19: 10. 1989.
- Lombardo, J.; Powel, R. Chlamydia trachomatis testing: an overview. *Am J. Clin. Lab.* 8 (30). 1985.
- Mardh P.; Johansson, P.; Svenningsen, N. Intrauterine lung infection with Chlamydia trachomatis in premature infant. *Acta Paediatr. Scand.* 73: 569 - 572. 1984.
- Martín, D. Chlamydial Infections. *Med. Clin. North America*: 74 (6): 1367 - 1387. 1990.
- Mc Gregor, J. Chlamydia infection in women. *Obstet. Gynecol. Clin. North America*. 16 (3): 565 - 592. 1989.
- Much, D.; Yeh, S. Prevalence of Chlamydia trachomatis infection in pregnant patients. *Public Health Reports*. 106 (5): 490 - 493. 1991.
- Newhall, W. Batteiger, B.; Jones, R. Analisis of the human serological response to proteins of Chlamydia trachomatis. *Infect. Immun.* 30 (3): 1181 - 1189. 1982.
- Numazaki, K., Chiba, S.; Kogawa, K.; Umetsu, M.; Montoya, H.; Nakao, T. Chronic respiratory disease in premature infants caused by Chlamydia trachomatis. *J. Clin. Pathol.* 39: 84 - 88. 1986.
- Núñez, R.; Duque, J.; Manrique, C.; Villegas, A. Niño, J. Viral and Chlamydial etiology of acute infections of the lower respiratory tract in colombian children. *Pediatr. Infec. Dis. J.* 7 (1): 69 - 70. 1988.
- Ogle, K.; Nguyen, Q.; Barry, H. Chlamydia pneumonitis in an infant of a Vietnamese refuge family. *J. Fam. Pract.* 23 (3): 207 - 213. 1986.
- OPS. *Bol Epidemiol.* 7 (5 - 6): 7 - 11, 1986.
- Preece, E.; Anderson, J.; Thompson, R. Chlamydia trachomatis Infection in infants a prospective study. *Archives of disease in childhood*. 64: 525 - 529.
- Puolakkainen, M.; Saikku, P.; Leinonen, M.; Nurminen, M.; Vaananen, P.; Makela, H. Chlamydial pneumonitis and its serodiagnosis in infants. *Journal of Infect Diseases*. 149 (4): 598 - 604. 1984.
- Saikku, P. Acute Lower - Respiratory - trast infection associated with Chlamydial TWAR antibody in philipino children. *J. Infect. Dis.* 158 (5): 1095 - 1097. 1988.
- Schachter, J.; Lum, L.; Gooding, C. Pneumonitis following inclusion bleannorrhoea. *J. Pediatr.* 98: 779 - 780. 1975.
- Schachter, J.; Grossman, M.; Azimi, P. Serology of Chlamydia trachomatis in infants. *J. Infect. Dis.* 146 (4): 530 - 535. 1982.
- Schachter, J.; Grossman, M. Sweet, R.; Holt, J.; Jordan, C.; Bishop, E. Prospective study of perinatal transmission of Chlamydia trachomatis. *Jama*. 27 (255): 3374 -3377. 1986.
- Stagno, S.; Brasfield, D.; Brown, H.; Cassell, G. Pifer, L.; Whitley, R.; Tiller, R. Infant pneumonitis associated with Cytomegalovirus, Chlamydia, Pneumocystis and Ureaplasma: a prospective study. *Pediatrics*. 68 (3): 322 - 329, 1981.
- Tipple, M.; Beem, M.; Saxon, E. Clinical characteristics of the afebrile pneumonia associated with Chlamydia trachomatis infection in infants less than 6 months of age. *Pediatrics*. 63 (2): 192 - 197. 1979.
- Videla, V.; Carballal, G.; Keklikian, C.; García, A.; Gómez, M.; González, C.; Mendiola, S.; Juárez, C.; Celadilla, M.; Nejamkis, M. Serología para Chlamydia trachomatis en neonatos con infección respiratoria, en mujeres embarazadas y en estériles. *Boletín de la Sociedad Venezolana de Microbiología*. 11 (1): 41. 1991.
- Wang, S.; Grayston, J. Human Serology in Chlamydia trachomatis infection with microimmunofluorescence. *J. Infect. Dis.* 130: 388-397. 1974.