



57  
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

MORAXELLA (BRANHAMELLA) CATARRHALIS:  
PATOGENA U OPORTUNISTA EN  
ENFERMEDADES DE VIAS  
RESPIRATORIAS

**TRABAJO MONOGRAFICO  
DE ACTUALIZACION**

Que para obtener el título de:  
QUÍMICO FARMACEUTICO BIÓLOGO  
P R E S E N T A :  
MARTHA EVELIA LIRA ORTEGA

México, D. F.

Abril de 1989

TESIS CON  
VALIA FE ORIGINAL



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

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

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

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

## INDICE DE CONTENIDO

	Pag.
INTRODUCCION	2
OBJETIVOS	2
1. GENERALIDADES	3
1.1 Antecedentes	3
1.2 Morfología	5
1.3 Composición química y antigénica	6
1.4 Taxonomía	11
1.4.1 Transformación y relaciones genéticas	13
1.5 Requerimientos nutricionales	36
1.6 Aislamiento e identificación bioquímica y serológica	39
2. ENFERMEDADES DE VIAS RESPIRATORIAS	41
2.1 Breve descripción anatómica y funcional de vías respiratorias	41
2.2 <u>Moraxella (Branhamella) catarrhalis</u> , de bacteria comensal a patógena de vías respiratorias	64
2.3 Sinusitis	72
2.4 Otitis media	90
2.5 Bronquitis	109
2.6 Neumonía	117
2.7 Bronconeumonía	130
2.8 Pacientes normales y pacientes inmunodeficientes	141
3. TRATAMIENTO DE LOS PADECIMIENTOS CAUSADOS POR <u>Moraxella (Branhamella) catarrhalis</u>	149

3.1	Penicilina. Cepas resistentes por producción de beta-lactamasas	156
3.2	Acido clavulánico	166
3.3	Otros antibióticos	170
3.4	Combinaciones	179
4.	DISCUSION	189
5.	CONCLUSIONES	209
6.	ANEXO	212
7.	BIBLIOGRAFIA	251

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

El interés clínico de Moraxella (Branhamella) catarrhalis ha crecido enormemente y se ha llevado a cabo toda una serie de estudios con mayor frecuencia e intensidad, a partir de los años setenta, gracias a las investigaciones, estudios y experimentos realizados sobre su aislamiento, identificación bioquímica y antigénica, así como los cambios en su taxonomía. Se consideraba generalmente comensal de los tractos respiratorios superior y medio, pero los trabajos recientemente publicados, señalan que se le ha aislado sola o asociada con otras bacterias patógenas en enfermedades de vías respiratorias, por lo cual debe considerársele de importancia en estos padecimientos.

En los métodos utilizados para la identificación a partir de las muestras clínicas, se observa la morfología, reacciones bioquímicas, o bien se detecta el antígeno de superficie de la bacteria, o así como los productos de su metabolismo (por ejemplo, la detección de la producción de beta-lactamasas).

Se ha hecho esencial adaptar técnicas para un diagnóstico rápido, debido a la gran necesidad de elegir el o los antibióticos, que combinados adecuadamente, sean los ideales para el tratamiento, porque la resistencia de dicha bacteria a varios agentes antimicrobianos por ejemplo a los antibióticos beta-lactámicos, es cada vez más frecuente.

## OBJETIVOS

1. Determinar cuáles han sido los cambios taxonómicos y genéticos por los que ha pasado Moraxella (Branhamella) catarrhalis.
2. Determinar, de acuerdo a todos los estudios recopilados, su papel como comensal, oportunista y/o patógeno de vías respiratorias.
3. Revisar los padecimientos de vías respiratorias en los que se ha encontrado la presencia de Moraxella (Branhamella) catarrhalis.
4. Demostrar el serio problema que existe en el tratamiento, por el surgimiento de cepas productoras de beta-lactamasas.
5. Llamar la atención de los médicos y microbiólogos acerca de la importancia de su presencia.

## 1. GENERALIDADES

### 1.1 Antecedentes

El reconocimiento del microorganismo causa dificultades por los cambios presentados en su nomenclatura, a través de los años<sup>5</sup>.

La bacteria fué descrita por primera vez por Frosch y K<sub>o</sub>lle en 1896, quienes aislaron al microorganismo a partir de tejido alveolar de niños con infección broncopulmonar y de muestras de esputo provenientes de pacientes adultos con bronquitis y pleuroneumonía<sup>5,110</sup>.

En 1902, Ghon y Pfeiffer aislaron al mismo microorganismo de muestras de esputo de pacientes con enfermedades broncopulmonares y establecieron su carácter patogénico.

En estos tiempos, el microorganismo se conoció como: Micrococcus catarrhalis, pero más tarde en 1920, se integró al género Neisseria, quedando Neisseria catarrhalis en el Manual Bergey de 1923<sup>5</sup>. En este mismo año, Garland y Moersh y en 1928 Thompson, por estudios realizados informaron, la presencia de Neisseria catarrhalis en casos de meningitis<sup>126</sup>.

En otros estudios bacteriológicos efectuados por Gronroos en 1964 y en 1966 por Feingold y Coffey, se presentó un análisis de muestras de fluido del oído medio (exudados de otitis media), en las cuales se encontraba a Neisseria catarrhalis entre

los microorganismos causantes de dicha enfermedad<sup>126</sup>.

Algunos microbiólogos como Baumann en 1968 y Catlin en 1970 propusieron que Neisseria catarrhalis se transfiriera al género Branhamella, por lo cual en este mismo año se transfirió a este nuevo género: Branhamella, creado en honor a la Dra. Sarah Elizabeth Branham, microbióloga americana distinguida y pionera en el estudio, conocimiento y taxonomía del género Neisseria<sup>5,144</sup>.

La razón de dicho cambio es que Neisseria catarrhalis difiere de las otras especies del género Neisseria en lo siguiente: sus reacciones bioquímicas, su contenido de bases nitrogenadas del DNA, su antigenicidad y su contenido de ácidos grasos<sup>5,110</sup>.

Aunque Branhamella catarrhalis se consideró durante muchos años generalmente como una bacteria comensal de nasofaringe y orofaringe, en los últimos quince años se ha incrementado drásticamente su importancia como microorganismo patógeno u oportunista<sup>110,159</sup>.

El conocimiento de su evolución en muchos aspectos, de su actividad metabólica y comportamiento bioquímico, de ser un microorganismo comensal sin importancia clínica hasta un microorganismo patógeno u oportunista del tracto respiratorio inferior de pacientes normales y de aquéllos con deficiencias en su sistema inmunológico (puesto que se ha aislado sola o asociada con otras bacterias patógenas; en muestras de secreciones broncopulmona-

res, aspirados transtraqueales y esputos obtenidos de pacientes con enfermedades broncopulmonares crónicas y agudas), ha llevado a muchos investigadores a realizar un gran número de estudios más profundos acerca del papel que desempeña este microorganismo<sup>5, 110, 120</sup>.

Otro aspecto considerado de gran importancia, es la detección de cepas productoras de beta-lactamasas puesto que sabemos la intervención de éstas como mecanismo de resistencia frente a antibióticos como las penicilinas<sup>88, 110, 111</sup>.

Estudios posteriores realizados por Bovre durante 1979, 1980 y 1981, y por Vedros en 1984 mostraron similitud tanto en la morfología como en algunos aspectos del metabolismo bioquímico y las pruebas correspondientes entre los géneros Branhamella y Moraxella, razones por las que acordaron cambiar y transferir a Branhamella catarrhalis al género Moraxella nombrada así en honor al microbiólogo e investigador Morax V.<sup>22, 110, 115</sup>.

Este último cambio taxonómico todavía no es universalmente conocido, por lo que inclusive en las últimas investigaciones, no se le menciona como Moraxella catarrhalis<sup>22</sup>.

## 1.2 M o r f o l o g í a

Moraxella (Branhamella) catarrhalis presenta generalmente forma de coco, con marcada tendencia a agruparse en pares, el

tener los lados adyacentes aplanados es la característica responsable de su forma arriñonada o de frijol, su división celular da lugar a la formación de tétradas en algunas ocasiones. Es Gram-negativa, mide aproximadamente de 0.6 a 0.8 micras de ancho por 0.8 a 1.0 micra de longitud. No produce esporas, es inmóvil y no capsulada<sup>22,36,56,115,141</sup>.

Moraxella (Branhamella) catarrhalis no es muy exigente, en cuanto a requerimientos nutricionales y desarrolla rápidamente en condiciones de aerobiosis (más 5.0% de CO<sub>2</sub>) e incubándola a 37°C durante 24 horas, apareciendo sobre las placas de medio de cultivo, colonias blanco-grisáceas, redondas (hemisféricas), de bordes regulares, semiconvexas que miden aproximadamente un milímetro de diámetro. Estas colonias tienen apariencia cerosa y no producen pigmento xantofílico<sup>76,110</sup>.

### 1.3 Composición química y antigénica

Adams, Tornabene y Yaguchi, encontraron que la pared celular de Moraxella (Branhamella) catarrhalis contiene D-glucosa, D-galactosa, D-glucosamina, lípido A, etanolamina, ácidos grasos (ácido beta-hidroxiláurico principalmente y en mayor porcentaje), acetyl, fosfato y proteínas<sup>115</sup>. Eliasson en 1980, estudió las proteínas antigénicas de superficie de dicha bacteria y las llamó arbitrariamente antígeno P, el cual es estable al calor y sensible a

la tripsina<sup>87</sup>. Anteriormente, las proteínas las estudiaron Fox y McClain, quienes analizaron las propiedades electroforéticas de las proteínas solubles de varias cepas empleando como soporte geles de poliacrilamida, observando grandes semejanzas entre ellas. Los mismos autores realizaron pruebas enzimáticas para tratar de detectar esterases en extractos de cepas de Moraxella (Branhamella) catarrhalis, pero sólo observaron en éstas, actividad de las enzimas propionato esterasa y butirato esterasa<sup>115</sup>.

La composición de bases nitrogenadas del DNA es 41.0 - 42.5% de moles de guanina más citosina<sup>115</sup>.

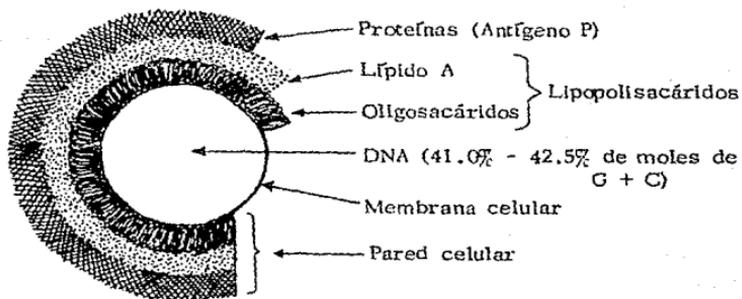
Estudios más recientes sobre lipopolisacáridos de la pared celular y lipopolisacáridos liberados realizados por Johnson, McDonald y Perry, mostraron que ambos tuvieron composición idéntica tanto cualitativa como cuantitativamente. Los lipopolisacáridos estudiados contenían oligosacáridos y lípido A, observando que los primeros tenían la siguiente composición: D-glucosa (4 moles), D-galactosa (1 mol), 2-amino-2-deoxi-D-glucosa (1 mol), ácido 3-deoxi-D-mano-octulosónico y aldeheptosa. El lípido A estaba compuesto por: ácido beta-hidroxiláurico (ácido 3-hidroxi-dodecanoico, principalmente y en mayor porcentaje), ácido decanoico, ácido dodecanoico, 2-amino-2-deoxi-D-glucosa, fosfato, acetil y etanolamina<sup>121</sup>. En la figura No. 1 se muestra un esquema de la composición química y antigénica de Moraxella (Branha-

mella) catarrhalis.

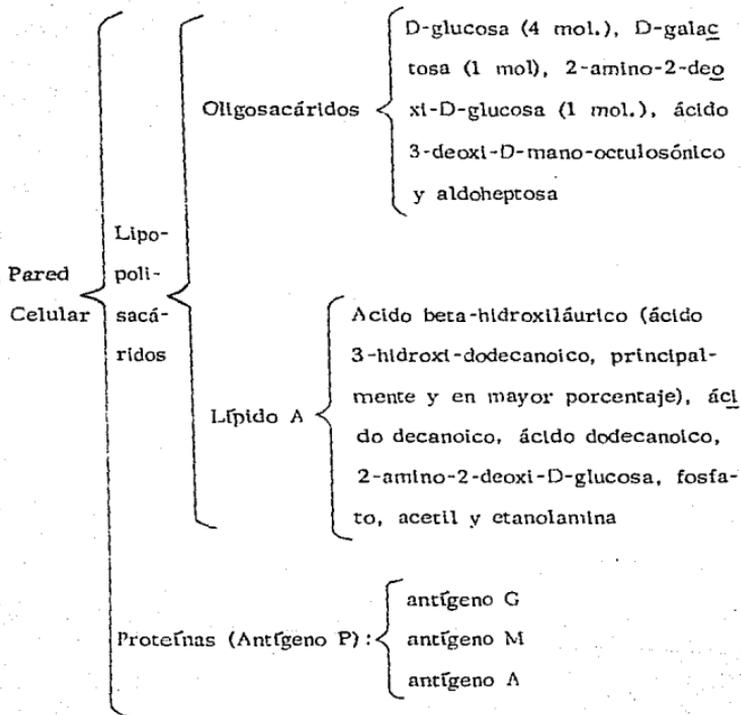
Los estudios comparativos de la composición química de dicha bacteria son pocos. Recientemente, se estudió el contenido de ácidos grasos de los géneros: Neisseria, Branhamella y Moraxella, por medio de cromatografía gas-líquido. Los resultados indicaron que estos microorganismos podían dividirse en dos grupos, de acuerdo con sus semejanzas. Uno engloba a todas las especies de Neisseria y el otro corresponde a Moraxella (Branhamella) catarrhalis, Moraxella lacunata, Moraxella nonliquefaciens y Moraxella bovis<sup>115</sup>.

Anteriormente, en 1976 Jantzen, Bryn, Bergan y Bovre, habían estudiado cepas de los géneros Neisseria, Branhamella, Moraxella y Acinetobacter por medio de técnicas de cromatografía gas-líquido, donde encontraron semejanzas en su composición, pero un mayor contenido de ácidos grasos en Neisseria, Branhamella y Moraxella que en Acinetobacter, aunque sólo en éste último género encontraron ácido 2-hidroxi-dodecanoico<sup>115</sup>.

FIGURA No. 1



Esquema de la composición química y antigénica de  
Moraxella (Branhamella) catarrhalis 87,115,121.



#### 1.4 T a x o n o m í a

Familia: Neisseriaceae

Parte No. 10 del Manual Bergey<sup>52</sup>

Género: I Neisseria

II Branhamella

III Moraxella

IV Acinetobacter

Especie: catarrhalis

Moraxella (Branhamella) catarrhalis ha sufrido cambios en su clasificación taxonómica a través de los años, tanto a finales del siglo XIX como a principios del XX se conocía con el nombre de Micrococcus catarrhalis, de acuerdo con los primeros estudios de diferenciación realizados sobre la morfología de la bacteria, pero más tarde, entre 1920 y 1923, se estudiaron más a fondo sus características morfológicas, culturales y bioquímicas, por lo que se le cambió el nombre, incluyéndola dentro del género Neisseria de la familia Neisseriaceae (Parte No. 10 del Manual Bergey de Bacteriología Sistemática)<sup>52</sup>.

En 1970, se hizo un estudio cualitativo y cuantitativo de la composición química de bases nitrogenadas y ácidos grasos, antigenicidad, proteínas y lipopolisacáridos de membrana celular y reacciones bioquímicas de Neisseria catarrhalis, mediante el cual se llegó a la conclusión de que estas características eran diferen

tes a las de las otras especies analizadas del género Neisseria, con lo que se justificaba la introducción del nuevo género Branhamella, con una especie, Branhamella catarrhalis<sup>87, 121</sup>.

Originalmente, este microorganismo se consideró como comensal de nasofaringe y orofaringe, no obstante, se le ha aislado en cultivos puros de muestras provenientes de pacientes con enfermedades broncopulmonares y otitis media, razones por las cuales se consideró ya como un microorganismo patógeno u oportunista<sup>110, 159</sup>.

Fox y McClain en 1974 y 1975, informaron acerca de otras diferencias en Branhamella catarrhalis, basadas en un estudio cualitativo diferencial en el que se analizaron sus esterasas que son isoenzimas con afinidad diferente y variada por sus sustratos, así como la realización de diferentes corrimientos electroforéticos de proteínas solubles<sup>87</sup>.

En 1979, Bovre propuso una división del género Moraxella en dos subgéneros: Moraxella (Moraxella) que abarcó a las especies bacilares y Moraxella (Branhamella) representado por las especies cocoides. No obstante que hasta entonces se recomendaron estos cambios, Catlin y Cunningham desde 1964 y el mismo Bovre en 1965, independientemente habían investigado y mostrado relaciones genéticas entre Branhamella catarrhalis y Moraxella<sup>110</sup>.

Bovre, Jantzen y Vedros estudiaron en 1984, la transforma-

ción genética y la composición química de los ácidos grasos de Branhamella catarrhalis y Moraxella nonliquefaciens y observaron relaciones entre ambas con respecto a su taxonomía<sup>87</sup>. En este mismo año, se aceptó simultáneamente el uso de las dos designaciones: Moraxella (Branhamella) catarrhalis en la novena edición del Manual Bergey de Bacteriología Sistemática. También en esta edición se acordó designar, de aquí en adelante, a dicha bacteria, como Moraxella catarrhalis, nombramiento basado en los resultados obtenidos de la comparación, realización de estudios y experimentos de transformación genética, composición química del contenido de bases nitrogenadas del DNA y comportamiento bioquímico entre los géneros Branhamella y Moraxella<sup>87,110</sup>.

#### 1.4.1 Transformación y relaciones genéticas

El descubrimiento del proceso de transformación de formas bacterianas no virulentas en formas virulentas constituye una de las más importantes conquistas, ya que permitió adquirir nuevos conocimientos fundamentales de Genética y de Bacteriología.

A través de los años y en investigaciones realizadas, se ha logrado conocer al factor responsable de la transformación, que está constituido por DNA y es el portador de caracteres hereditarios<sup>60</sup>.

Como base de la transformación, existe una integración del DNA de un donador, con el genoma del receptor, a este proceso se le llamó recombinación genética y es fundamental en el estudio del funcionamiento bacteriano y entendimiento de la farmacorresistencia<sup>44, 127, 128</sup>.

Catlin y Cunningham, analizaron cromatográficamente el contenido de bases nitrogenadas de preparaciones de DNA de siete cepas de Moraxella (Branhamella) catarrhalis, distinguiéndose tres clases de acuerdo con sus valores en porcentaje de moles de guanina más citocina: dos cepas con 41.0%, cuatro con 42.0 - 43.0% (Incluyendo la cepa ATCC 8193) y la cepa NCTC 4103 con 44.0 - 45.0%<sup>44, 60</sup>.

Cada una de las siete cepas sufrió transformación genética. Las preparaciones del DNA de mutantes resistentes a la estreptomitina de las siete cepas, al transformarse, presentaron 49 combinaciones posibles. Los resultados de la investigación de transformación interespecífica mostraron diferencias en la composición de las bases nitrogenadas del DNA.

Las preparaciones del DNA de seis cepas representativas y diferentes, tuvieron actividad transformante sobre células receptoras, los análisis de su composición mostraron que el contenido de guanina más citocina (G + C) fué de 50.0% en todas. Por otro lado, dos cepas de Moraxella (Branhamella) catarrhalis, al exponer

se a preparaciones de seis cepas de Neisseria con la capacidad de cambiar el código genético de otras bacterias con las que se ponen en contacto, aquéllas no sufrieron transformación genética alguna y su contenido de G + C fué de 41.0%. Esta diferencia en la composición de bases nitrogenadas se tomó como hipótesis para establecer una explicación posible en Genética.

La investigación aquí descrita reveló diferencias significativas de la composición de bases nitrogenadas del DNA entre las preparaciones de las siete cepas: anteriormente, Catlin y Cunningham en 1961 realizaron un estudio previo de cinco cepas que tuvieron su contenido de G + C de 41.0 a 44.5%. Contrariamente a los resultados obtenidos anteriormente, cada una de las siete cepas receptoras de Moraxella (Branhamella) catarrhalis fué transformada por todas estas preparaciones de DNA<sup>60</sup>.

Se realizaron otros estudios de transferencia de información genética con bacterias nativas aisladas y seleccionadas de la mucosa respiratoria, las cuales presentaron algunas semejanzas con la bacteria en estudio. También se analizaron transformaciones genéticas con Moraxella nonliquefaciens<sup>60, 132</sup>.

Las siete cepas de Moraxella (Branhamella) catarrhalis analizadas fueron: No. 11 de la Colección de la Universidad Rochester, No. 13 del Departamento de Sanidad de Nueva York, ATCC 8193 (Colección Americana de Cultivos Tipo), No. 23 del cultivo de un exuda

do faríngeo de un estudiante saludable. No. 9 y 8313 de la Colección de la Universidad de Maryland, NCTC 4103 (Colección Nacional de Cultivos Tipo, Londres).

El medio empleado contenía infusión de corazón, extracto de levadura (Difco) suplementado con ácido ribonucleico, glutamato de sodio y cloruro de calcio.

Se aislaron y subcultivaron separadamente una o más colonias típicas, todos los subcultivos se realizaron para minimizar cambios y selección de colonias.

Cuando se requería, las cepas se preservaban a  $-60^{\circ}\text{C}$ , durante el proceso. Después de 18 horas de crecimiento, las colonias se transfirieron del agar HIY-1 (agar con infusión de corazón y extracto de levadura) a unos frascos viales con caldo HIY + 0.1% de agar, (peso/volumen) e inmediatamente los congelaron. Los microorganismos en suspensión se subcultivaron diariamente en medios de cultivo recién preparados de agar HIY-1, incubándose a  $35^{\circ}\text{C}$ , durante una semana y en una incubadora con agitación (Modelo G 27, New Brunswick).

En todos los estudios, inclusive en el de las cepas resistentes a la estreptomycin (str<sup>-r</sup>), se empleó el sulfato de dihidroestreptomycin (Squibb; DHS).

Las mutantes espontáneas str<sup>-r</sup> se obtuvieron de las cepas de Moraxella (Branhamella) catarrhalis. La cepa original se cultivó a

35°C en matraces de 500 ml. con 50.0 ml. de caldo de infusión de corazón más 0.5% de extracto de levadura (Difco)(peso/volumen). Después de una incubación de 8 a 10 horas y con agitación, se añadieron 100.0 ml. de caldo HIY-1 con DHS suficiente hasta obtenerse una concentración de 500 microgramos/ml. El cultivo se reincubó durante 16 horas más con agitación, y después se colocaron varias muestras en agar HIY-1 con 500 microgramos de DHS por ml. Sólo se escogió una colonia, se aisló, se subcultivó e identificó por medio de su morfología macro y microscópica.

Catlin y Cunningham describieron un método cuantitativo para investigar la transformación de Neisseria resistente a la estreptomina.

Se obtuvo una cepa fisiológicamente activa para usarse como receptora, por medio de la realización de dos subcultivos de la cepa original en agar HIY-1, a 35°C y con intervalos de 12 horas. Se tomaron bacterias del segundo subcultivo y se suspendieron en caldo HIY-1 a 30°C hasta que se observó turbidez ( $1.0 - 2.0 \times 10^7$  bacterias/ml.). Se prepararon diluciones para emplearse en seguida, se mezclaron volúmenes iguales (1.5 ml.) de suspensión bacteriana receptora y solución de DNA con una concentración final de 10 microgramos/ml. e incubación a 30°C. Después de treinta minutos, el DNA transformante fue inactivado por la desoxiribonucleasa estéril adicionada, al mismo tiempo. se tomó una

muestra del cultivo, se diluyó y se sembró en placa para determinar el número total de bacterias/ml. Cada mezcla de reacción se analizó para determinar el número de bacterias transformadas/ml. Para esto, una muestra (diluida con caldo) se mezclaba con agar semisólido HIY-1 (0.7%, peso/volumen): inmediatamente el volumen se pipeteó sobre placas con agar sólido HIY-1 (1.4%, peso/volumen) y se incubaron las placas a 35 °C<sup>44, 60, 132</sup>.

Después de un tiempo de exposición de las bacterias al DNA, entre 5 y 7 horas, se les añadió agar semisólido con dihidrostreptomina (concentración de 500.0 microgramos de DHS/ml. Las cepas se incubaron a 35 °C, durante 4 a 6 días y se contó el número de colonias bacterianas transformadas.

En cada experimento se realizó un control con DNA inactivado por la desoxirribonucleasa, para revelar posibles mutantes *str-r*<sup>44, 60</sup>.

Los remanentes de las diluciones de DNA preparadas para cada prueba, se incubaron como un control de esterilidad<sup>44</sup>.

La identificación de las colonias bacterianas seleccionadas que se transformaron, se confirmó mediante el examen microscópico y la reacción de la oxidasa<sup>22, 44, 60, 132</sup>.

En las pruebas realizadas con las cepas ATCC 8313, 8193 y No. 9, el examen microscópico reveló que más del 85.0% de las bacterias fueron cocos aislados o agrupados en pares y en agrega

dos de 3 a 4 cocos (éstos últimos, rara vez). Las suspensiones de las cepas ATCC No. 13 y NCTC 4103 presentaron agregados de 5 a 8 cocos en un 5.0%. Las suspensiones de las cepas ATCC No. 11 y No. 23 presentaron: un 50% de cocos aislados o en pares y de 5.0 a 20.0 de agregados hasta con 8 cocos<sup>60</sup>.

Se podrían resumir los resultados obtenidos como sigue: En la caracterización bacteriológica, las siete cepas fueron cocos Gran-negativos, agrupados en pares con sus lados adyacentes planos.

La tabla No. 1 muestra las características de las siete cepas de Moraxella (Branhamella) catarrhalis, se observó que todas presentaron producción y actividad de desoxirribonucleasa. Todas las cepas fueron susceptibles a la acción antibacteriana de nueve de los diez antibióticos empleados.

El profesor Pelczar y colaboradores observaron que todas las cepas eran resistentes a la vancomicina a bajas concentraciones (5.0 microgramos), pero no a concentraciones de 30.0 microgramos.

Las cepas toleraban una concentración de 0.005% de nitrato de potasio, pero no concentraciones de 0.1 ó 0.03%, ya que se inhibió su crecimiento, no así las cepas ATCC 8193 y No. 11 que crecieron en presencia de 0.01% de nitrato de potasio.

Cuatro características sirvieron para diferenciar a la cepa

NCTC 4103 de las otras seis cepas:

a) No redujo el nitrato a nitrito, durante siete días de incubación, mientras que las otras lo redujeron en 20 horas;

b) Sus cultivos desarrollaron una coloración amarillenta sobre el agar H1Y-1, producida por un pigmento soluble; que se observó primero concentrado en ciertas áreas, pero después, durante la incubación, se difundió gradualmente a través del agar; también se observó que la producción del pigmento fué más intensa en el agar H1Y-1 que contenía 5.0 microgramos de vancomicina/ml.;

c) Por medio de la observación de la hidrólisis de gelatina, se detectó la actividad proteolítica en la cepa NCTC 4103;

d) Se realizaron duplicados para cada cepa y se incubaron, unas a 28°C y otras, a 36°C, lo que permitió observar un crecimiento más lento a 28°C en la cepa NCTC 4103 que en las otras cepas<sup>44, 60, 132</sup>.

Tabla No. 1 Características de las cepas de Moraxella  
(Branhamella) catarrhalis<sup>60</sup>.

Prueba o Reacción	No.11	No.13	ATCC 8193	No.23	No.9	8313	NCTC 4103
Reacción de la oxidasa	+	+	+	+	+	+	+
Producción de catalasa	+	+	+	+	+	+	+
Producción de desoxirribonucleasa	+	+	+	+	+	+	+
Acidificación del medio (CHOS)	-	-	-	-	-	-	-
Producción de indol	-	-	-	-	-	-	-
Hidrólisis de la urea	-	-	-	-	-	-	-
Crecimiento sobre agar citrato	-	-	-	-	-	-	-
Respuesta a los antibióticos:							
Penicilina (2 u.)	S	S	S	S	S	S	S
Estreptomicina (2 µg)	S	S	S	S	S	S	S
Tetraciclina (5 µg)	S	S	S	S	S	S	S
Oleandomicina (2 µg)	S	S	S	S	S	S	S
Neomicina (5 µg)	S	S	S	S	S	S	S
Cloramfenicol (5 µg)	S	S	S	S	S	S	S
Eritromicina (2 µg)	S	S	S	S	S	S	S
Novoblocina (5 µg)	S	S	S	S	S	S	S
Kanamicina (5 µg)	S	S	S	S	S	S	S
Vancomicina (30 µg)	S	S	S	S	S	S	S
Vancomicina (5 µg)	R	R	R	R	R	R	R
Reducción de nitrato	+	+	+	+	+	+	+
Producción de pigmento difusible	-	-	-	-	-	-	+
Hidrólisis de gelatina	-	-	-	-	-	-	+

Símbolo: +, resultados positivos; -, resultados negativos  
S, susceptibles; R, resistentes.

(CHOS): Carbohidratos, los cinco comúnmente empleados son glucosa, maltosa, lactosa, sacarosa y fructosa.

Los análisis de la composición y contenido de las bases nitrogenadas de las preparaciones del DNA, mostraron una equivalencia entre adenina y timina, y entre guanina y citocina. Por lo tanto, los valores son dados sólo en porcentaje de moles de G + C.

En la tabla No. 2 se enlistan los resultados de determinaciones independientes y algunos valores analíticos obtenidos por otros investigadores: (a) Catlin y Cunningham; (b) Marmur y Doty; (c) Schildkraut, Marmur y Doty; (d) Guild de las mismas preparaciones del DNA. Entre estas siete cepas se distinguieron tres clases: en la primera, los valores de G + C para las cepas No. 11 y No. 13 fueron de 41.0%; en la segunda, los valores para la cepa NCTC 4103 fueron elevados (44.4%) y las cepas *str-r* fueron indistinguibles aunque una se derivó por mutación espontánea, otra por transformación (con DNA de la cepa No. 11 - *str-r*) y la tercera clase formada por las cuatro restantes cepas con valores intermedios (42.3%)<sup>39, 60</sup>.

Tabla No. 2 Contenido de guanina más citocina del DNA transformante de preparaciones provenientes de Moraxella (Branhamella) catarrhalis<sup>39,60</sup>.

Fuente de DNA	Porcentaje (%) de moles de G + C (Cromatográficamente)		
No. 11 str-r	40.7% (a), 41.3%	41.0% (b)	-
No. 13 str-r	40.1% (a)	-	42.0% (c) 40.6% (d)
No. 13 str-r 11	41.3% (a)	-	-
ATCC 8193 str-r	42.2%, 42.3%	-	-
No. 23 str-r	42.1%, 42.2%	-	-
No. 9 str-r	42.3%, 43.0%	-	-
8313 str-r	42.1%, 42.4%	-	-
NCTC 4103 str-r	44.4%, 44.4%	45.1%	43.2% (d)
NCTC 4103 str-r 11	44.6%	-	-

Los resultados de los experimentos de transformación con seis de las cepas se muestran en la tabla No. 3 La transformación de la cepa 8313 se pudo reproducir bastante. En general, las relaciones del porcentaje de transformación de las cepas str-r por el DNA, correspondieron al porcentaje de cepas receptoras y se pudieron reproducir en experimentos con seis cepas.

Las cepas alcanzaron una resistencia a 500.0 microgramos DHS/ml. y varió de 0.01 a 11.08% en las pruebas realizadas por separado. La transformación de las cepas No. 9 y 8313 por preparaciones de DNA resultó baja al ser detectada; sin embargo,

cuando se cambió la dosis a 25.0 microgramos DHS/ml., la transformación fué de 0.1% o mayor en pruebas de DNA provenientes de todas las cepas, excepto la NCTC 4103, que resultó con 0.01% de transformación. Por tanto, la información genética incluyendo las determinantes *str-r* se pudieron transferir sucesivamente, aunque se requieren más pruebas para un ensayo cuantitativo confiable.

Los resultados de las pruebas de transformación indicaron que las cepas No. 11, No. 13, ATCC 8193, No. 23, No. 9 y - 8313 se relacionan estrechamente. Las preparaciones del DNA provenientes de la cepa transformante NCTC 4103 *str-r* presentaron transformación del grupo de las seis cepas con frecuencias intermedias<sup>60,132</sup>.

Tabla No. 3 Actividades de transformación de preparaciones de DNA provenientes de cepas de Moraxella (Branhamella catarrhalis)<sup>60</sup>.

Fuente de DNA	Cepas receptoras (% de transformación)					
	No. 11 ATCC 8193	No.23	No.9	8313	NCTC 4103	
No. 11 <i>str-r</i>	5.38	1.69	8.99	1.22	2.69	0.025
No. 13 <i>str-r</i>	3.79	0.50	6.77	0.90	1.53	0.012
ATCC 8193 <i>str-r</i>	4.90	2.00	8.77	0.98	3.58	0.011
No. 23 <i>str-r</i>	4.99	1.26	11.08	1.21	3.18	0.011
No. 9 <i>str-r</i>	4.51	1.33	6.30	1.14	3.72	0.242
8313 <i>str-r</i>	3.78	1.24	6.54	1.09	4.71	0.006
NCTC 4103 <i>str-r</i>	0.06	0.03	0.27	0.01	0.69	2.492
NCTC 4103 <i>str-r</i> 11	1.65	0.67	4.07	0.26	2.27	1.078

El conocimiento de la transformación como un fenómeno genético se basó principalmente en estudios realizados en Haemophilus, Streptococcus, Bacillus y Neisseria.

La transformación entre cepas se considera generalmente independiente de las variables, como concentración y tiempo de exposición del DNA y tiempo necesario para que se realice la expresión fenotípica.

La transformación genética podría complicarse por la presencia de mecanismos similares a la transducción y conjugación.

En la mayoría de las bacterias, generalmente la composición de bases nitrogenadas del DNA se expresa en porcentaje de moles de guanina más citosina (G + C) y varía de 25.0 a 75.0% aproximadamente. Dentro de una cepa bacteriana, el contenido de G + C mostró una distribución uniforme y el rango de heterogeneidad entre las moléculas del DNA es relativamente estrecho. Estas determinaciones de la composición del DNA, se consideran generalmente como un requerimiento para investigar una secuencia homóloga que refleja compatibilidad genética e integración<sup>39, 132</sup>.

Catlin, Cunningham, Dubnau y colaboradores realizaron la transformación genética, empleando microtubos que diferían en el contenido de G + C en un 3.0 a 4.0%. En algunos casos, la transferencia genética entre microorganismos se consideró me-

diada por episomas, los cuales no están integrados al cromosoma. Esta forma de transferencia de información genética indicó una gran agrupación taxonómica, como es lo que podría suceder en una familia<sup>39</sup>.

Las diferencias entre los resultados obtenidos de las investigaciones y las relaciones entre las especies de los géneros de la familia Neisseriaceae, mostraron capacidad de transformación genética entre ellas y esto se atribuyó a los factores siguientes:

- a) Los marcadores transferidos fueron marcadores de resistencia a antibióticos (DNA marcado con  $^{14}\text{C}$  o  $^{32}\text{P}$ ):
- b) El material genético transferido podría ser DNA episomal, el cual no se integró correctamente al cromosoma bacteriano<sup>132</sup>.

Los resultados de los estudios de la composición de las bases nitrogenadas del DNA de varios microorganismos, obtenidos por varios investigadores se muestran en la tabla No. 4; en ellos se observa un rango del porcentaje de moles de G + C entre 38.0 y 53.0%. Algunas de las cepas de Acinetobacter cayeron dentro del rango y tuvieron valores entre 38.0 y 43.5%. Pinter y De Ley encontraron que estas cepas se pueden dividir en tres grupos:

- El primero, de cepas sacarolíticas (Acinetobacter anitratus) con valores de 42.4% de moles de G + C;
- El segundo y el tercero de cepas no sacarolíticas (Acineto-

bacter lwoffii), unas con valores de 43.0% de moles de G + C y las otras con valores entre 44.5 y 46.9% de moles de G + C . Los resultados obtenidos muestran que hay una relación estrecha entre los géneros Neisseria, Branhamella y Moraxella. El género Acinetobacter también se relaciona, pero no estrechamente. Se observaron diversas diferencias en los resultados obtenidos por varios investigadores, probablemente debido a que emplearon diferentes métodos<sup>14,22,37,39,41,115,132</sup>.

El factor responsable de las cepas con capacidad receptora y donadora en la transformación genética, es el DNA, el cual se encontró durante la realización de varios experimentos y estudios de las especies de los cuatro géneros de la familia Neisseriaceae<sup>115</sup>.

Tabla No. 4 Composición de las bases nitrogenadas del DNA de varias especies de la familia Neisseriaceae, en porcentaje de moles de guanina más citocina<sup>15</sup>.

Microorganismo	Porcentaje (%) de moles de G + C
<u>Moraxella nonliquefaciens</u>	40.0 - 42.0
<u>Moraxella lacunata</u>	41.5 - 43.0
<u>Moraxella bovis</u>	42.5 - 43.0
<u>Moraxella osloensis</u>	43.0 - 43.5
<u>Moraxella phenylpyrovica</u>	43.1 - 43.5
<u>Moraxella atlantae</u>	47.0 - 48.5
<u>Moraxella kingae</u>	44.5
<u>Moraxella (Branhamella) catarrhalis</u>	41.0 - 42.5
<u>Acinetobacter sp.</u>	38.0 - 45.0
<u>Neisseria caviae</u>	44.5
<u>Neisseria ovis</u>	44.5 - 45.0
<u>Neisseria meningitidis</u>	51.3
<u>Neisseria gonorrhoeae</u>	49.5 - 49.6
<u>Neisseria perflava</u>	50.3
<u>Neisseria flava</u>	47.5
<u>Neisseria subflava</u>	50.5
<u>Neisseria sicca</u>	51.5
<u>Neisseria flavescens</u>	36.5 - 47.5
<u>Neisseria cinerea</u>	49.0
<u>Neisseria mucosa</u>	50.5 - 52.0
<u>Neisseria elongata</u>	53.0

Los resultados de los experimentos de transformación genética obtenidos por Bovre, Fuglesang, Hagen, Jantzen y Froholm, se muestran en la tabla No. 5, observándose en todas las especies de Branhamella y Moraxella, disponibilidad de transformación, con valores de la actividad de transformación que se aproximan a la unidad. El rango de las valoraciones fue entre 0.1 y 1.1<sup>115</sup>.

Las cepas de Moraxella kingae mostraron gran homogeneidad, con valoraciones de la actividad de transformación de 0.46 a 0.96, pero no tuvieron homogeneidad genética con alguno de los otros microorganismos estudiados<sup>22,115</sup>.

Después de una exposición continua del DNA entre cepas de Acinetobacter y cepas de Moraxella osloensis y Moraxella (Branhamella) catarrhalis, se observó cierta homogeneidad<sup>115</sup>.

Juni en 1972, encontró que las mutantes auxótrofas de las cepas de Acinetobacter se transformaron a protótrofas por el DNA de una colección de cepas marcadas y se realizaron combinaciones con los diferentes epítopes específicos.

Todos estos resultados indicaron que hay cierta homogeneidad entre las especies de los géneros, a pesar de la considerable variación en sus características fenotípicas y en su composición de bases nitrogenadas del DNA<sup>115</sup>.

También se analizó, estudió y confirmó la capacidad del

DNA proveniente de cepas mutantes de Moraxella sp. resistentes a la estreptomicina para transformar cepas del género Acinetobacter y viceversa<sup>39,115</sup>.

Tabla No. 5 Reacciones de transformación entre Moraxella, Branhamella y Acinetobacter<sup>115</sup>

Receptores de DNA	Donadores de DNA					
	<u>M. lacunata</u>	<u>M. nonliquefaciens</u>	<u>M. bovis</u>	<u>M. (B.) catarrhalis</u>	<u>Acinetobacter</u>	
<u>M. lacunata</u>	0.1 - 0.96	0.0045 - 0.0048	0.0012	0	0	
<u>M. nonliquefaciens</u>	0.001- 0.0052	0.34 - 0.99	0.0015- 0.0074	+	0	
<u>M. bovis</u>	0.008- 0.018	0.0017 - 0.0026	0.53 - 1.1	+	0	
<u>M. osloensis</u>	$4.0 \times 10^{-5}$	+	+	+	+	
<u>M. atlanticae</u>	0	0	0	0	0	
<u>M. (B.) catarrhalis</u>	$5.0 \times 10^{-5}$	$1.8 - 7.4 \times 10^{-5}$	$2.3-5.0$ $\times 10^{-5}$	0.3 - 0.94	+	

Símbolos : +, hubo transformación semicuantitativamente en experimentos con exposición al DNA;  
0, no hubo transformación.

Bovre, Kingsbury, Fanning, Johnson y Brenner realizaron estudios y experimentos de hibridaciones de los ácidos nucleicos, obteniendo los resultados que se muestran en las tablas No.6 y 7. Bovre, encontró homogeneidad entre Moraxella lacunata, Moraxella nonliquefaciens y Moraxella bovis y también encontró que Moraxella (Branhamella) catarrhalis, Neisseria ovis y Neisseria caviae fueron diferentes<sup>22,115</sup>.

Kingsbury y colaboradores encontraron una gran similitud en la constitución y secuencia de los nucleótidos del DNA de las cepas de Neisseria meningitidis y Neisseria gonorrhoeae por lo menos en un 80.0%, en cambio las especies de Neisseria no patógenas, sólo en un 8.0 a 15.0% y Moraxella (Branhamella) catarrhalis no tuvo ninguna similitud<sup>37,44,115</sup>. También Catlin y Cunningham analizaron estas bacterias y su transformación a cepas resistentes a la estreptomycin. Realizaron determinaciones del contenido de bases nitrogenadas de su DNA y obtuvieron resultados de 41.0% aproximadamente y 50.0% de moles de G + C, para los otros microorganismos<sup>14,39,44</sup>.

Las cepas de algunas de las especies analizadas del género Moraxella mostraron una semejanza pequeña con las cepas de Acinetobacter en los experimentos de hibridación DNA - DNA (tabla No.7); sin embargo, cuando se empleó RNA ribosomal y DNA en la hibridación, la relación entre las cepas fué más pequeña

(tabla No. 6)<sup>115</sup>.Tabla No. 6 Reacciones de hibridación de los ácidos nucleicos de Branhamella, Moraxella, Neisseria y Acinetobacter<sup>115</sup>.

Fuente de DNA receptor	Hibridación RNA - DNA		
	<u>M. nonliquefaciens</u>	<u>M. (B.) catarrhalis</u>	<u>N. ovis</u>
<u>N. meningitidis</u>			
<u>N. gonorrhoeae</u>			
<u>N. perflava</u>			
<u>N. subflava</u>			
<u>N. flava</u>	0.8%	0.5%	0.5%
<u>N. flavescens</u>	0.3%	0.6%	0.7%
<u>N. sicca</u>	7.1%	2.9%	4.5%
<u>N. ovis</u>	7.1%	2.9%	100.0%
<u>N. caviae</u>	4.5%	2.5%	5.5%
<u>N. cinerea</u>	0.6%	0.7%	0.6%
<u>N. elongata</u>	0.5%	0.0%	0.2%
<u>M. nonliquefaciens</u>	100.0%	8.4%	4.9%
<u>M. lacunata</u>	34.2%	4.6%	8.7%
<u>M. bovis</u>	13.1%	2.4%	9.7%
<u>M. osloensis</u>	2.0%		
<u>M. phenylpyruvica</u>	1.2%		
<u>M. kingae</u>	0.4%		
<u>M. (B.) catarrhalis</u>	6.5%	100.0%	2.4%
<u>Acinetobacter sp.</u>			

Tabla No. 7 Reacciones de hibridación de los ácidos nucleicos de Branhamella, Moraxella, Neisseria y Acinetobacter<sup>115</sup>.

Fuente de DNA receptor	Hibridación DNA - DNA		
	<u>N. meningitidis</u>	<u>N. subflava</u>	<u>M. (B.) catarrhalis</u>
<u>N. meningitidis</u>	100.0%	45.0%	19.0%
<u>N. gonorrhoeae</u>	80.0%		26.0%
<u>N. perflava</u>	55.0%	75.0%	11.0%
<u>N. subflava</u>	48.0%	100.0%	18.0%
<u>N. flava</u>	30.0%	50.0%	12.0%
<u>N. flavescens</u>	42.0%	47.0%	28.0%
<u>N. sicca</u>	45.0%	60.0%	10.0%
<u>N. ovis</u>			
<u>N. caviae</u>	10.0%	15.0%	33.0%
<u>N. cinerea</u>			
<u>N. elongata</u>			
<u>M. nonliquefaciens</u>			
<u>M. lacunata</u>			
<u>M. bovis</u>			
<u>M. osloensis</u>			
<u>M. phenylpyruvica</u>			
<u>M. kingae</u>			
<u>M. (B.) catarrhalis</u>	15.0%	17.0%	100.0%
<u>Acinetobacter sp.</u>	5.0%	5.0%	33.0%

Bovre y colaboradores realizaron diversos estudios y experimentos con cepas de los géneros de la familia Neisseriaceae, y obtuvieron su contenido de G + C y su densidad en gramos/cm<sup>3</sup>, en cloruro de cesio (CsCl). Estos datos se muestran en la tabla No. 8<sup>39</sup>.

Tabla No. 8 Contenido del DNA y densidad de cepas de los géneros Neisseria, Moraxella y Acinetobacter<sup>39</sup>.

Género, especies	Cepas examinadas	Densidad (g/cm <sup>3</sup> )	% moles de G+C
<u>Moraxella nonliquefaciens</u>	7784, 2770/60, 3828/60,	1.701	41.0
	826/61, 836/61, 4863/62,	1.701	41.0
	5058/62, 13536/62,	1.701	41.0
	178/62, 5050/62, 4663/62	1.700	40.0
	13385/62, 752/52,	1.7015	41.5
19116/51	1.702	42.0	
<u>Moraxella bovis</u>	8561, 9425, 10900	1.7025	42.5
	9426	1.703	43.0
<u>Moraxella (Branhamella) catarrhalis</u>	No. 11, 12910/62, 13016/62,	1.701	41.0
	13135/62, 13430/62,	1.701	41.0
	2833/63, 2982/63, 7889/63,	1.701	41.0
	1163/64, 1179/64, 2424/64,	1.701	41.0
	8176	1.702	42.0
4103	1.7025	42.5	
<u>Neisseria caviae</u>	10293, 14659	1.7045	44.5
<u>Neisseria ovis</u>	37/59, 917/60, 199/55	1.7045	44.5
<u>Acinetobacter lowffi</u>	17985, 17987	1.7035	43.5
	861/57, 8858/62	1.678	38.0
<u>Acinetobacter antratus</u>	8, 9	1.6995	39.5
<u>Neisseria flavescens</u>	8263	1.7065	46.5
	13115	1.707	47.0
	13120	1.7075	47.5

Moraxella (Branhamella) catarrhalis se relacionó estrechamente con Neisseria caviae y Neisseria ovis, tanto en transformación genética como en pruebas bioquímicas y características culturales.

Se observaron las diferencias tanto en el contenido del DNA como en la compatibilidad genética entre dos grupos:

- El primero integrado por Moraxella (Branhamella) catarrhalis, Neisseria ovis y Neisseria caviae;

- Y el segundo, por Neisseria cinerea y Neisseria flavescens, esto indicó que no había una relación muy estrecha entre estos dos grupos<sup>39</sup>.

### 1.5 Requerimientos nutricionales

Moraxella (Branhamella) catarrhalis no es exigente y puede desarrollar sobre medios de cultivo simples, porque no tiene los requerimientos nutricionales estrictos de Neisseria gonorrhoeae y Neisseria meningitidis. Puede desarrollar sobre agar nutritivo en condiciones de aerobiosis, a una temperatura de 22°C<sup>110</sup>.

Optimamente desarrolla a 37°C, durante 48 horas en aerobiosis total (en presencia de 5.0 a 10.0% de dióxido de carbono), sobre un medio definido B4 (líquido o semisólido) constituido por una mezcla de sales minerales, biotina, lactato de sodio o succinato (fuente de carbono y de energía), prolina (fuente de carbono

y de nitrógeno), aspartato de potasio (fuente de nitrógeno), factores de crecimiento: arginina, glicina y metionina, y Tween 80 (al 20.0%), empleado para reducir los períodos largos en algunos experimentos<sup>17</sup>.

Bovre y Hagen realizaron estudios y análisis en varias cepas de Moraxella (Branhamella) catarrhalis, a las cuales consideraron como bacterias heterótrofas porque requieren factores de crecimiento como los aminoácidos: arginina, glicina y metionina<sup>17</sup>.

Los aminoácidos empleados como fuente de nitrógeno por dicha bacteria son: aspartato, glutamato y prolina en el medio de cultivo B4. La presencia de alguno de los tres aminoácidos mencionados, resulta bueno, pero no óptimo para el crecimiento bacteriano. La prolina sola actúa estimulando en mayor proporción el crecimiento bacteriano; sin embargo, los investigadores observaron que este mismo efecto lo ejercían el aspartato y el glutamato juntos. En ausencia de los tres aminoácidos no observaron crecimiento.

Moraxella (Branhamella) catarrhalis emplea como fuentes de carbono a la prolina, lactato de sodio, glutamato de sodio, succinato de sodio, malato de sodio, acetato de sodio, aspartato de potasio y gluconato de potasio; entre las fuentes de carbono analizadas, la que estimuló el mayor crecimiento fué el lactato de sodio<sup>17</sup>.

Además, se realizaron estudios del efecto del cloruro de amonio sobre las mismas cepas, y se observó que no ejerce gran influencia sobre su crecimiento<sup>17</sup>.

Moraxella (Branhamella) catarrhalis también desarrolla sobre medios de cultivo como agar sangre y agar chocolate a 37°C, durante 48 horas y en aerobiosis total (en presencia de 5.0 a 10.0% de dióxido de carbono)<sup>22, 60, 87, 110</sup>.

Los medios de cultivo empleados para el estudio de las cepas analizadas de Moraxella (Branhamella) catarrhalis son los siguientes:

- a) Gelosa nutritiva
- b) Agar sangre
- c) Agar chocolate (gelosa chocolate)
- d) Medio de cultivo B4 (semisólido)
- e) Medio de cultivo AB (Aminoácidos + Biotina)
- f) Medio de cultivo APV (Aminoácidos + Purinas + Pirimidinas + Vitaminas)
- g) Medio de cultivo AYE (Aminoácidos + Extracto de levadura)
- h) Medio de cultivo HIY-1 (Infusión de Corazón + Extracto de levadura) (Difco) suplementado con ácido ribonucleico, glutamato de sodio y cloruro de calcio. (Líquido y semisólido)
- i) Medio de cultivo Frantz

(Consultar anexo)

### 1.6 Aislamiento e identificación bioquímica y serológica

El aislamiento e identificación de Moraxella (Branhamella) catarrhalis a partir de especímenes clínicos o cultivo no constituye mayor problema<sup>87</sup>. Aunque anteriormente se consideró comensal de los tractos respiratorios superior y medio, ahora se considera potencialmente patógeno u oportunista en enfermedades de vías respiratorias<sup>110</sup>, ya que se ha detectado su presencia al observarse diplococos Gram-positivos extracelulares e intracelulares en muestras de tejido alveolar de niños con enfermedades broncopulmonares, aspirados transtraqueales y esputos provenientes de pacientes adultos con enfermedades broncopulmonares crónicas y agudas<sup>5,6,110,120</sup>.

En otros estudios bacteriológicos, se presentó un análisis de muestra de fluido del oído medio (exudados de otitis media), en las cuales también se encontró a Moraxella (Branhamella) catarrhalis como agente causal de dicha enfermedad<sup>126</sup>.

Quando se realizaron tinciones de Gram de las muestras biológicas y se cultivaron en agar sangre y en agar chocolate en condiciones de aerobiosis (más 10.0% de dióxido de carbono), a 37°C durante 48 horas, se logró el crecimiento y aislamiento de las colonias de dicha bacteria, procediéndose a la realización de las pruebas bioquímicas y serológicas, siguiendo el criterio de varios investigadores, dichas pruebas<sup>8,22,60,76,87,110</sup>, se mues

tran en la tabla No. 9

Tabla No. 9 Características de Moraxella (Branhamella) catarrhalis

Prueba o Reacción	<u>Moraxella (Branhamella) catarrhalis</u>
Morfología y agrupación	Diplococos
Tinción de Gram	Gram-negativos
Prueba de la oxidasa	Positiva
Prueba de la catalasa	Positiva
Producción de desoxirribonucleasa	Positiva
Pruebas de utilización de los hidratos de carbono:	
Glucosa	Negativa
Maltosa	Negativa
Lactosa	Negativa
Sacarosa	Negativa
Fructosa	Negativa
Prueba de reducción del nitrato	Positiva
Prueba de la movilidad	Negativa
Producción de pigmento	Negativa
Prueba de licuefacción de la gelatina (Hidrólisis de gelatina)	Negativa
Reacción de la ureasa	Negativa
Prueba del indol	Negativa
Producción de lipasa	Positiva
Detección de :	
Producción de hemolisina	Negativa
Presencia del antígeno P	Positiva
Producción de beta-lactamasa	Positiva

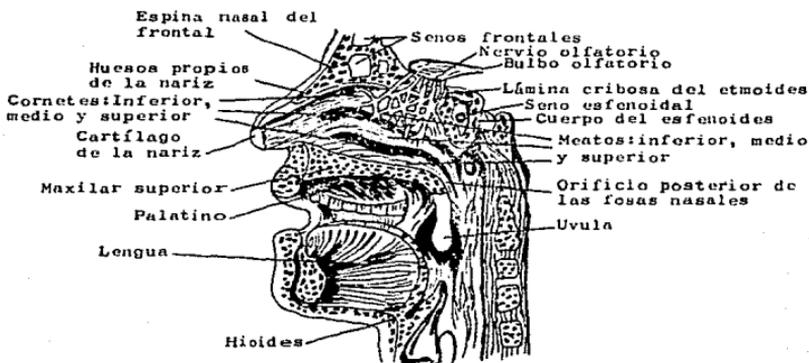
## 2. ENFERMEDADES DE VIAS RESPIRATORIAS

### 2.1 Breve descripción anatómica y funcional de las vías respiratorias

Las vías respiratorias se inician en la nariz, con las fosas nasales que penetran hacia la cavidad nasal, luego la faringe, la laringe, tráquea, bronquios y pulmones<sup>40, 113</sup>.

En términos generales la nariz consta de tres caras: dos laterales y una posterior; tres bordes, dos laterales y uno anterior y el vértice superior situado en el espacio intercililar. La base presenta un tabique medio que la divide en dos partes llamadas aberturas inferiores de la nariz o narinas. Las fosas nasales se encuentran a la derecha e izquierda de la línea media, cada una presenta cuatro paredes y dos aberturas; la abertura anterior es común a las dos fosas y tiene la forma de un corazón de naipe, cuya base es inferior, y la posterior es cuadrilátera, llamada coana y se comunica a las fosas nasales con la faringe<sup>113</sup>. En la figura No. 2, se muestra un esquema de la nariz, tejidos y huesos relacionados<sup>113</sup>.

FIGURA No. 2



Esquema de la nariz, tejidos y huesos relacionados<sup>113</sup>.

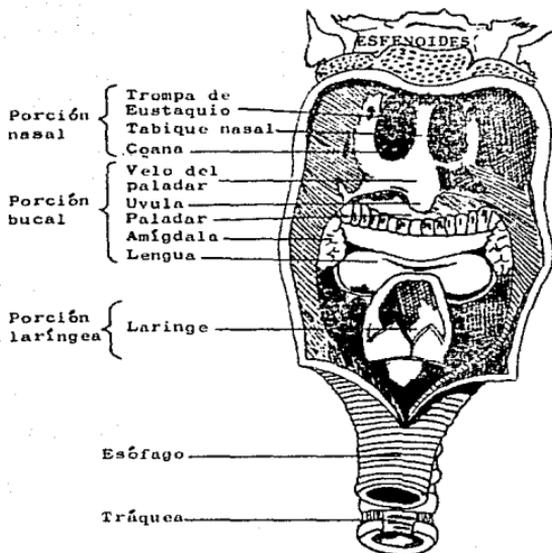
Para apreciar los olores es indispensable que la sustancia olorosa se ponga en contacto con el órgano encargado de recibir la impresión. Dicha impresión se recibe por medio de la inspiración, que hace llegar a las partes altas de la cavidad nasal un gran número de partículas aromáticas. Los olores también llegan por vía bucal momentos después de la deglución, en que el velo del paladar desciende dejando abiertas las coanas y permitiendo el paso de las partículas aromáticas que se dirigen a las fosas

nasales<sup>113</sup>.

La faringe es un conducto músculo-membranoso de forma cónica, cuyo extremo más amplio está situado hacia arriba, y el más pequeño hacia abajo, en el punto donde continúa el esófago. Se considera que la faringe se divide en tres segmentos: superior, medio e inferior.

La faringe se comunica con la nariz por medio de las coanas; con el oído medio por medio de las trompas de Eustaquio; por el istmo de las fauces con la boca; con la laringe por la glotis y con el esófago por su extremo inferior. La mucosa de la faringe se continúa con todos los órganos con los que se comunica; está muy vascularizada y tiene numerosas glándulas mucosas. Su inervación proviene de ambas divisiones del sistema autónomo. En la figura No. 3, se muestra un esquema de la faringe (vista posterior)<sup>113</sup>.

FIGURA No. 3



Esquema de la faringe (vista posterior)<sup>113</sup>.

La vía aérea en el cuello es la tráquea y en su extremo superior está la laringe<sup>40</sup>, que es el órgano de la voz, situada en la parte anterior y superior del cuello. La rodean la raíz de la lengua por delante, la faringe por arriba y por atrás, y a sus lados los grandes vasos del cuello.

Tiene la forma de un prisma triangular, ancha por arriba, estrecha y redondeada por abajo, por donde se une a la tráquea; sus bordes son planos y su cara anterior saliente por la presencia de la tiroides<sup>113</sup>.

Está formada por fibrocartílagos y músculos unidos por ligamentos y revestida por mucosa que se continúa con la mucosa faríngea y con la de la tráquea. Su cavidad interior se divide en dos partes por dos pliegues de mucosa que van de adelante hacia atrás, sin encontrarse en la línea media, y dejan una figura alargada llamada glotis, protegida por una cubierta de fibro-cartílago llamada epiglottis.

Las cuerdas vocales se componen de ligamentos elásticos y fibrosos situados en los bordes de la abertura glótica que refuerzan y dan elasticidad a la glotis.

Las cuerdas vocales se dividen en superiores e inferiores. Las superiores sirven para sostener la humedad de las inferiores, para detener la respiración y para proteger a la laringe durante la deglución. Las inferiores o cuerdas vocales verdaderas son las encargadas de producir la voz<sup>113</sup>.

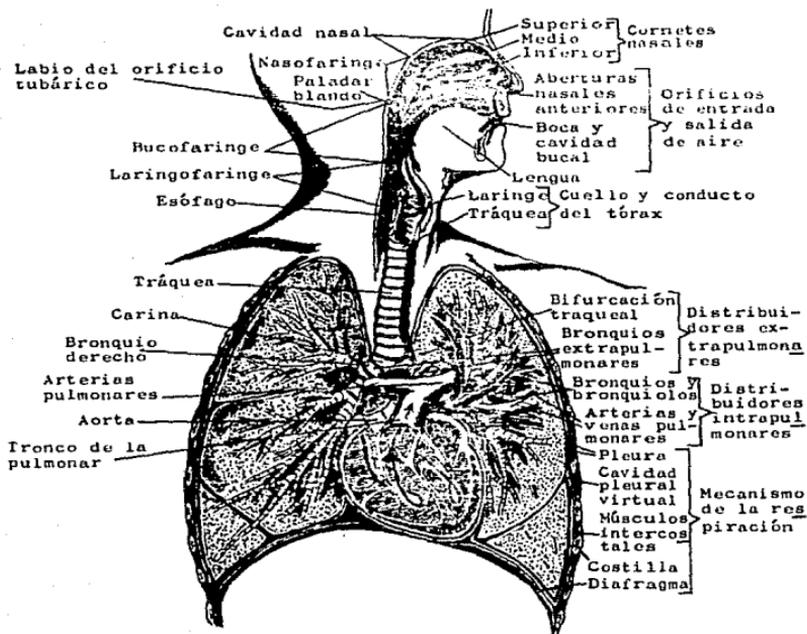
La tráquea es un conducto cuyas paredes contienen una serie de anillos incompletos de cartílago que aseguran que siga abierta durante los movimientos de cabeza y cuello. Los segmentos abiertos de los anillos están en la pared posterior de la trá-

quea, junto al esófago<sup>40</sup>. Está formada por veinte cartílagos en forma de C con la parte abierta hacia atrás, completados por bandas de tejido muscular liso, quedando la tráquea aplanada en su parte posterior y en contacto con el esófago<sup>113</sup>.

La tráquea permanece constantemente abierta gracias a sus anillos y toda ella se encuentra tapizada por una mucosa cuyo epitelio está formado por células vibrátiles y, en cuyo espesor, contiene numerosas glándulas secretoras de mucus. El extremo inferior de la tráquea se divide en dos bronquios primarios principales que van dirigidos hacia cada pulmón: son menos gruesos que la tráquea, están formados por anillos cartilaginosos casi completos y recubiertos interiormente por la mucosa con epitelio. Estos bronquios tienen 2 ó 3 cm. de longitud y a esa distancia de su origen, penetran en el pulmón, donde se dividen formando los bronquios secundarios, éstos forman los terciarios, etc., hasta llegar a un gran número de ramificaciones muy pequeñas llamadas bronquiolos, donde no existen ya los fibro-cartílagos y están formados únicamente por una delgada capa de tejido muscular.

Cada bronquiolito, que es la división final del árbol bronquial se divide todavía más en bronquiolos terminales que finalmente comunican con conductos que van a parar a los sacos alveolares, cuyas paredes están tapizadas por un epitelio<sup>113</sup>, (figura No. 4).

FIGURA No. 4



Esquema de las vías respiratorias<sup>40, 103, 113</sup>.

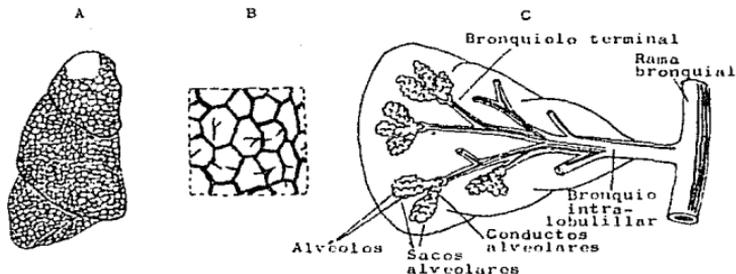
Las partículas extrañas que penetran llegando a los alvéolos quedan aprisionadas por los macrófagos, que tienen un ritmo de

recambio en el pulmón de varios millones al día. Se desplazan a través de los tejidos por movimiento ameboide, algunas llegan a la mucosa bronquial ciliada y son eliminadas junto con el moco que se desplaza continuamente siguiendo las vías aéreas por acción de los cilios<sup>40</sup>.

Los pulmones son los órganos esenciales de la respiración y en ellos se verifica la transformación de la sangre venosa en sangre arterial (hematosis), están contenidos en el tórax, cuyas paredes se adaptan a la forma de estos órganos. Se hallan separados de la cavidad abdominal por la bóveda diafragmática y entre ellos se abre un espacio llamado mediastino, ocupado por diferentes elementos anatómicos. Su volumen aumenta en la inspiración y disminuye en la espiración. El volumen del pulmón derecho es de  $875 \text{ cm}^3$  y el del izquierdo es de  $744 \text{ cm}^3$  y sus pesos son de 600 gramos y 500 gramos respectivamente. La diferencia entre el volumen y el peso, superiores en el pulmón derecho, se debe a que el izquierdo se encuentra deprimido por el corazón.

Los pulmones tienen la forma de un semicono de base inferior. Se distinguen en ellos una cara externa y otra interna, dos bordes: anterior y posterior, un vértice y una base, (figura No.5).

FIGURA No. 5



Esquema del pulmón.

El tejido pulmonar es blando y esponjoso. Por la presencia de aire es crepitante al tacto y flota en el agua. Está formado por ramificaciones bronquiales, sus dilataciones terminales, vasos sanguíneos, linfáticos, nervios y tejido conjuntivo elástico.

Las superficies externas de los pulmones están cubiertas de una membrana de tejido conectivo, la pleura visceral que continúa con el revestimiento de la cavidad torácica o sea la pleura parietal. Hay una película de líquido seroso que lubrica las dos superficies: estas se deslizan una sobre otra durante los movimientos respiratorios<sup>40</sup>.

Las pleuras son membranas serosas que recubren los pulmones y determinan su fijación a la cavidad torácica. Cada pleura

está formada por dos hojas, una adherida a las paredes del tórax (parietal) y la otra que cubre los pulmones (visceral).

Para que la respiración se efectúe es necesario que sucedan una serie de fenómenos mecánicos y químicos. Los primeros aseguran la entrada y salida del aire de los pulmones; por medio de los segundos se efectúa la hematosis.

La inspiración normal considerada activa, es el resultado de la contracción de los músculos inspiratorios, como el diafragma, intercostales externos, esternocleidomastoideos y pectorales menores. En la inspiración crecen todos los diámetros torácicos, ántero-posterior, lateral y vertical. Los diámetros ántero-posterior y lateral crecen en vista de la contracción de los músculos intercostales y otros que hacen que el esternón y las costillas se muevan hacia adelante y a los lados, respectivamente. Y en vista de que la hoja externa de la pleura está unida a la pared de dicha caja y la hoja interna al pulmón, queda entre ambas en la inspiración un espacio mayor que de ordinario y la presión atmosférica hace que el aire vaya penetrando en el pulmón. Por lo tanto el papel del pulmón en la inspiración es pasivo.

Así como la inspiración es activa en lo que se refiere a la caja torácica, porque para verificarse necesita la intervención de la fuerza muscular, la espiración es pasiva, pues está determinada por el cese de la contracción de los músculos inspiradores y

diafragma, que hace que el toráx recobre sus diámetros normales. Por efecto de este movimiento, los pulmones se oprimen ligeramente y en virtud de ello se expulsa el aire que contienen, contribuyendo también poderosamente la elasticidad de que gozan dichos órganos y que les hace volver pronto a su tamaño natural. Por esta razón el papel del pulmón en la espiración es activo.

En la respiración entra el oxígeno del aire en la sangre y sale el bióxido de carbono que ésta posee. De lo anterior se concluye que en los fenómenos químicos se deben estudiar las modificaciones que experimenta la sangre.

A los alvéolos pulmonares penetra el aire en la inspiración y el oxígeno de éste se fija en los glóbulos rojos de la sangre. De ésta sale el anhídrido carbónico al exterior.

Por lo tanto la respiración interna consiste en la absorción de oxígeno y desprendimiento del anhídrido carbónico al nivel de los tejidos donde se realiza la oxidación de algunas sustancias nutritivas con el fin de transformar la energía que almacenan y convertirla en trabajo para llevar a cabo las funciones vitales.

Todos los fenómenos mecánicos y químicos que le anteceden y suceden únicamente son fenómenos preparatorios destinados para asegurar el aporte del oxígeno y retiro del  $\text{CO}_2$ <sup>113</sup>.

### Senos paranasales

Reciben su nombre de acuerdo a los huesos dentro de los cuales se encuentran<sup>103</sup>.

Senos frontales: el hueso frontal es hueco por una cavidad irregular que se extiende a través de la línea media de la frente, por encima del borde supraorbitario interno, que es donde se encuentran los senos y están conectados por el conducto frontal o frontonasal a un orificio de la cavidad nasal, el cual está en la parte superior de la pared externa debajo del extremo anterior del cornete medio<sup>103</sup>.

Senos etmoidales: muchas células neumáticas, en grupos anterior, medio y posterior forman excavaciones del hueso etmoides en el techo de la cavidad nasal. El grupo anterior de células neumáticas etmoidales drena por medio de conductos diminutos hacia el meato medio; el grupo medio tiene conexiones semejantes exactamente por detrás de ellas. El grupo posterior drena en el meato superior del corto cornete superior. Las células neumáticas etmoidales, en conjunto, son las que constituyen los senos etmoidales (figura No.6)<sup>103</sup>. El etmoides es un hueso que está situado en la parte anterior y media de la base del cráneo y encajado parcialmente en la escotadura etmoidal del hueso frontal. Se distinguen en él, una lámina vertical atravesada por la lámina horizontal que la divide en dos partes y en dos masas laterales

que se desprenden de los extremos de la lámina horizontal.

La lámina vertical se divide en dos porciones: una superior, situada por encima de la lámina horizontal, conocida como apófisis, y otra inferior, situada por debajo de dicha lámina llamada lámina perpendicular que forma parte del tabique de separación de ambas fosas nasales.

La lámina horizontal forma el techo de la cavidad nasal y cierra la parte anterior de la base del cráneo. Está atravesada por pequeños orificios por los cuales pasan las fibras nerviosas olfatorias de la mucosa nasal al bulbo olfatorio.

De cada lado de la lámina horizontal descienden las masas laterales y forman parte de la órbita y parte de la cavidad nasal correspondiente. Contienen gran número de pequeñas cavidades de paredes delgadas llamadas células o senos etmoidales que se comunican con la cavidad nasal<sup>113</sup>.

Senos esfenoidales: se encuentran en una cavidad única ahuecada en una porción del hueso esfenoides en la base del cráneo por arriba de la extremidad posterior de la cavidad nasal y la nasofaringe por detrás de ella. Se abren en el recessus esfenoidal que se localiza por arriba y atrás del cornete superior<sup>103</sup>. Esfenoides es un hueso colocado en la parte anterior de la base del cráneo, por detrás del etmoides y del frontal y delante del occipital. Lateralmente limita con los huesos temporales (figura

No. 7)<sup>113</sup>. El cuerpo está unido al etmoides por delante y al occipital por detrás. Contiene cavidades llamadas senos esfenoidales que se comunican con la nasofaringe<sup>113</sup>. Los senos esfenoidales están cerca de los nervios ópticos y de la hipófisis, apenas por encima y separado de la arteria principal del encéfalo, la carótida interna, solo por una fracción de centímetro, y de los nervios que entran en la órbita por las hendiduras esfenoidales<sup>103</sup>.

Los huesos temporales están situados en la parte inferior y lateral del cráneo. Presentan dos caras: interna o endocraneal que lleva en la parte alta eminencias, depresiones y surcos vasculares, y en la parte media e inferior un grueso surco o canal para el seno lateral.

Su cara externa se divide en cinco partes: la escama, el peñasco, la mastoidea, las paredes timpánicas y la apófisis estilogoides, (figura No. 7)<sup>113</sup>.

La escama forma la parte anterior y superior del hueso. De su parte inferior sobresale el arco cigomático, que es una rama larga y curva que se articula por delante con el hueso malar.

El peñasco está incrustado entre los huesos esfenoides y el occipital. El oído interno se encuentra contenido en una serie de cavidades de este hueso.

La porción mastoidea sobresale hacia abajo por detrás de la abertura del conducto auditivo externo. Está excavada en su

interior por numerosos orificios llamados células o senos mastoideos que contienen aire y se comunican con la cavidad del oído medio.

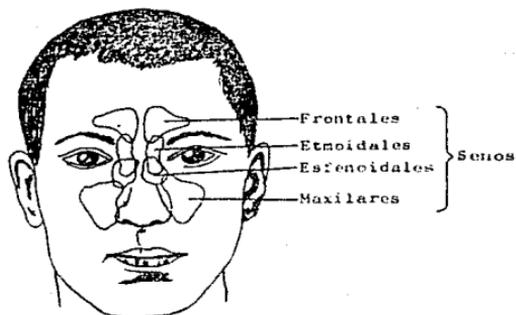
La porción timpánica, situada debajo de la escama y enfrente de la apófisis mastoides. Forma parte del meato acústico que conduce al oído interno.

La apófisis estiloides es una prolongación delgada que sobresale hacia abajo de la cara inferior del hueso temporal. En ella se insertan ligamentos y músculos de la lengua<sup>113</sup>.

Senos maxilares: el cuerpo de cada maxilar superior contiene una cavidad amplia llena de aire, el seno maxilar. Este saco dentro del hueso limita con la pared externa de la cavidad nasal, con la cual se conecta por una abertura, el orificio del seno maxilar que puede encontrarse posteriormente en el meato medio, oculto por el borde libre ondulado del cornete medio (figura No. 6)<sup>103</sup>.

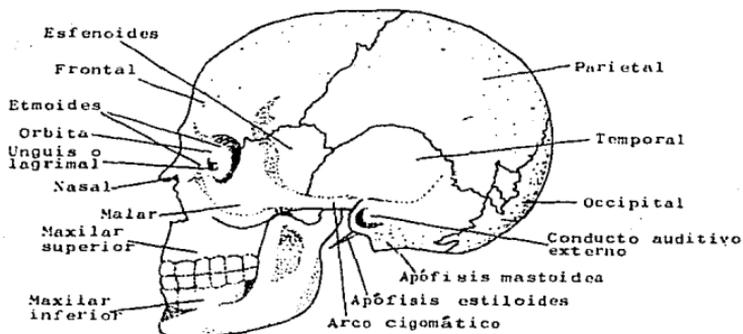
El seno maxilar está rodeado por los tejidos blandos de la cara por delante, la órbita por arriba, los dientes superiores por debajo y la cavidad nasal medialmente<sup>103</sup>.

FIGURA No. 6



Localización de los senos paranasales<sup>103</sup>.

FIGURA No. 7



Esquema de los huesos de la cabeza<sup>113</sup>.

Los senos paranasales producen moco adicional para la mucosa nasal y ayudan a la producción del habla como cajas de resonancia<sup>103</sup>.

La gran importancia de los senos reside en los daños que se presentan por sus enfermedades más que en su función normal. La neumatización de los huesos del cráneo, incluyendo la apófisis mastoidea del hueso temporal (figura No. 7)<sup>113</sup>, parece recordar la posición cuadrúpeda de los mamíferos. La dirección de los conductos y la posición de los orificios de los senos en

la pared lateral y el techo de la cavidad nasal, no se adaptan bien a la posición erguida del hombre. Es importante considerar que el drenaje de moco del seno frontal se efectúa por acción de la gravedad siguiendo el surco formado por la unión del cornete medio con la pared externa. Si el seno se infecta, el material purulento del seno frontal puede entrar por los orificios de los senos etmoidal anterior y maxilar, extendiéndose hasta ellos la infección<sup>103</sup>.

Debido a la continuidad de la mucosa nasal con la de los senos paranasales, las infecciones de la nariz pueden extenderse hacia estas cavidades encerradas en hueso. Los enormes volúmenes de moco, resultantes de la sobreproducción por los senos inflamados, pueden no escapar si las mucosas de los conductos y orificios de los senos también están inflamadas<sup>103</sup>.

Los senos frontales están cerca de la órbita y comunican con las fosas nasales<sup>103,113</sup>.

Cuando además de la cercana de estructuras importantes, se comprende que no solo las mucosas sinusales sino la mayor parte de las estructuras relacionadas poseen la misma inervación (quinto por craneal) para la sensación dolorosa, se verá que el dolor causado por una enfermedad sinusal puede irradiarse<sup>103</sup>.

## Anatomía y fisiología del oído

Los receptores de dos modalidades sensoriales, los de la audición y los del equilibrio, están alojados en el oído. El oído externo, el oído medio y la cóclea del oído interno están relacionados con la audición; en cambio, los canales semicirculares, el utrículo y el sáculo del oído interno, probablemente, con el equilibrio<sup>103, 113</sup>.

La audición es un sentido especial, cuyos estímulos se originan lejos del cuerpo en objetos que producen vibraciones físicas en la atmósfera. Estas vibraciones chocan con la superficie corporal como ondas sonoras. Los impulsos nerviosos, puestos en marcha por las vibraciones, atraviesan las vías auditivas del octavo par craneal para llegar a la zona de la audición de la corteza cerebral donde ocurre la percepción de los sonidos. El oído es la porción del mecanismo auditivo que actúa como órgano receptor para la audición, el fenómeno puede dividirse en las siguientes partes:

- a) Captación de ondas sonoras del oído externo
- b) Conversión de vibraciones físicas en el aire a vibraciones mecánicas por las estructuras del oído medio.
- c) Conversión de vibraciones mecánicas a vibraciones en las cavidades llenas de líquido en el límite del oído medio con el

oído interno.

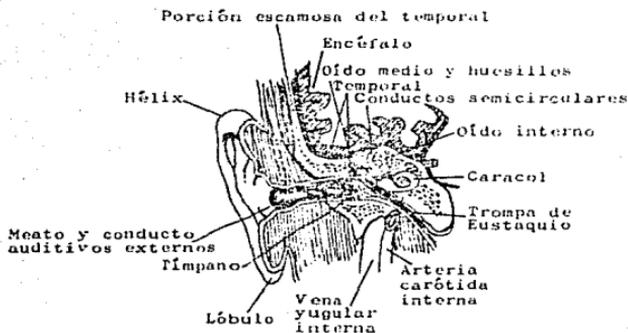
d) Conversión de vibraciones líquidas a impulsos nerviosos auditivos por el oído interno.

El oído externo consiste en la oreja (pinna) y un conducto hacia la cabeza, el conducto auditivo externo.

La oreja es una porción de piel que se extiende hacia afuera en la parte lateral de la cabeza, a la cual un cartílago elástico le proporciona rigidez y le forma bordes, elevaciones y depresiones.

Las ondas sonoras, reunidas por la oreja, entran al conducto o meato auditivo externo en la parte profunda de la concha; este conducto tubular entra al cráneo. El tercio externo, revestido de piel que contiene pelos duros y glándulas cerosas (que producen cerumen o cera), es sostenido por prolongaciones de cartílago elástico que se extienden desde la oreja. Los dos tercios internos están en el hueso temporal con la piel que se adhiere fuertemente al periestio del conducto óseo (figura No. 8)<sup>103</sup>.

FIGURA No. 8



Esquema de las partes constituyentes del oído<sup>103</sup>.

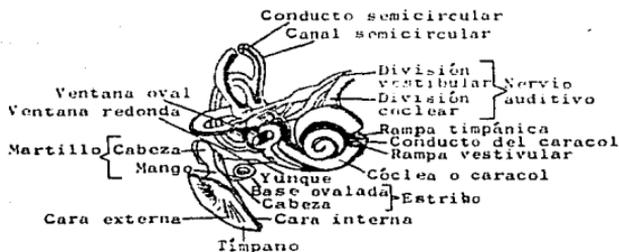
Una membrana fibrosa, el tímpano, se interpone oblicuamente entre el extremo interno del conducto auditivo externo y el oído medio (caja del tímpano). El lado externo del tímpano está cubierto por piel, mientras que el lado interno lo cubre la mucosa de la caja del tímpano. Las ondas sonoras que viajan en el aire, en el conducto auditivo externo, hacen que vibre el tímpano, (figura No. 8)<sup>103</sup>.

El oído medio es una hendidura a manera de caja dentro del hueso temporal. Esta hendidura está revestida por mucosa semejante a la de la cavidad nasal; contiene aire porque está conectada con la nasofaringe por la trompa de Eustaquio. Este tubo, de

dirección anterior e inferior desde la pared anterior de la caja timpánica a través de cartílago y hueso, conecta con la atmósfera por medio de la cavidad nasal de manera que se equilibra la presión del aire a cada lado del tímpano. La caja timpánica se extiende por encima del nivel del tímpano formando el recessus epitympanicus con solo una delgada pared del hueso temporal entre él y el lóbulo temporal del cerebro en la fosa craneal media<sup>103</sup>.

A los huesecillos del oído, conectados por ligamentos diminutos y articulaciones sinoviales en miniatura, el tímpano les produce vibración mecánica y transmiten esas vibraciones a través del oído medio. El martillo tiene una apófisis parecida a un mango que se conecta con el tímpano para recibir las vibraciones. Su cabeza transfiere las vibraciones al yunque que se articula con la cabeza del estribo. La base del estribo encaja en la ventana oval de la pared interna del oído medio. La vibración excesiva de los huesecillos del oído, como con los sonidos intensos, se impide por la tensión sobre el martillo y el estribo producida por la contracción de dos músculos: el músculo del martillo y el del estribo, respectivamente<sup>102, 103</sup>.

FIGURA No. 9



Esquema de los huesecillos del oído<sup>103</sup>.

La pared interna del oído medio presenta dos orificios en la parte ósea: la ventana oval que sujeta la base del estríbo y la ventana redonda que está cerrada por el tímpano secundario. Por dentro de la pared ósea, en el interior del peñasco del temporal, está el oído interno o laberinto, éste se compone de un sistema de conductos llenos de líquido que a su vez está suspendido en otros conductos óseos también llenos de líquido. En la ventana oval, la vibración de la base del estríbo convierte las vibraciones mecánicas en ondas de líquido<sup>103</sup>.

2.2 Moraxella (Branhamella) catarrhalis, de bacteria comensal  
a patógena de vías respiratorias

Frosch y Kalle encontraron por primera vez en 1896, a Moraxella (Branhamella) catarrhalis en muestras de esputo provenientes de pacientes que padecían ya sea bronquitis o pleuroneumonía<sup>110</sup>. Ghon y Pfeiffer en 1902 y en 1964 Wilson y Miles, mostraron la presencia de esta bacteria por medio de la observación de diplococos y algunas tétradas en muestras de esputo<sup>68</sup>.

En 1946, Fleming sugirió primero que las bacterias no patógenas podían proteger a las patógenas del efecto de la penicilina, por medio de la producción de beta-lactamasas que destruyen al antibiótico. Maddocks y May crearon el término "patogenicidad indirecta" en 1969, para describir la capacidad de las bacterias no patógenas, de proteger a las patógenas de un antibiótico beta-lactámico por la producción de una enzima destructora del antibiótico. Estos estudios para determinar el potencial de patogenicidad indirecta, los realizaron en pacientes con enfermedades broncopulmonares, pulmonares y bronquitis crónicas y agudas<sup>159</sup>.

Coffey y colaboradores aislaron a Moraxella (Branhamella) catarrhalis en 1967, en cultivos puros de exudados del oído medio provenientes de niños con otitis media aguda y afirmaron que ésta podría considerarse como patógena<sup>120</sup>. Los mismos investigadores, en otro trabajo también observaron que produce sinusitis

maxilar y septicemia<sup>46</sup>.

Moraxella (Branhamella) catarrhalis forma parte de la flora habitual de orofaringe y nasofaringe humanas (microorganismo comensal e inocuo de los tractos respiratorios superior y medio)<sup>120</sup>. Sin embargo, durante décadas anteriores, principalmente la pasada, su comportamiento se alteró y el número de informes que implican a dicha bacteria como agente etiológico en enfermedades humanas como la otitis media, se incrementó, según investigaciones realizadas por Kamme y colaboradores en 1971 y en enfermedades pulmonares crónicas por los estudios realizados por Ninane y Slevin en 1978 y en 1984, respectivamente. De acuerdo a esto se le considera potencialmente patógena u oportunista<sup>46, 159</sup>. Además, Leinonen y colaboradores estudiaron e investigaron en 1981, evidencias serológicas de su patogenicidad<sup>116, 120</sup>.

Brook y Gober observaron que muchos microorganismos pueden producir inflamación en y alrededor de la faringe. Entre estos se incluyen a bacterias aerobias y anaerobias, virus y parásitos, entre otros. Algunos de los microorganismos son parte de la flora habitual de la faringe, los cuales pueden hacerse virulentos y algunos son patógenos externos<sup>46</sup>. Después de que muchos microorganismos colonizan la faringe, la infección es mayor (polimicrobiana). Mergenhagen, Lev, Ingham y colaboradores<sup>46</sup> observaron en 1971, que hay un sinergismo entre los microorganismos

patógenos debido a la protección mutua, producción de factores de crecimiento esenciales y la disminución del potencial de óxido-reducción en los tejidos del huésped. Tal sinergismo puede demostrarse, manifestaron Brook y Walker en 1983, estudiando e investigando pacientes con enfermedades mixtas producidas por microorganismos aerobios y anaerobios<sup>46</sup>.

De las enfermedades del tracto respiratorio superior, frecuentemente es difícil la interpretación de las muestras clínicas polimicrobianas obtenidas de la superficie de la mucosa y es también difícil diferenciar entre microorganismos que son colonizadores y aquéllos que son invasores. Por todo lo anterior, se debe aislar e identificar cuidadosamente al microorganismo patógeno para poder evaluar su potencial de patogenicidad cuando se recupere la muestra clínica de la superficie del área infectada<sup>46</sup>.

Vergez y Riou obtuvieron algunos resultados en 1972, a partir de un estudio de cuantificación bacteriana en esputo obtenido de pacientes con bronquitis crónica y demostraron que aislaron a Moraxella (Branhamella) catarrhalis sola o asociada con otras especies bacterianas, siendo esto una evidencia más de su patogenicidad. Desde entonces, crece cada vez más el interés en esta bacteria, especialmente considerando su resistencia a los antibióticos por la producción de cepas productoras de beta-lactamasas<sup>110</sup>.

Recientemente se ha sugerido que la bacteria mencionada es un microorganismo patógeno u oportunista como ya se mencionó, ya que causa enfermedades broncopulmonares en pacientes con padecimientos fundamentalmente pulmonares obstructivos y neumonía a pacientes con mieloma múltiple, de acuerdo con los estudios realizados por Ninane, Mc Nelly y Kirchens en 1978 y en 1981 por Srinivasan. En los cultivos de las muestras de esputo de estos pacientes se produjo un crecimiento mixto de Moraxella (Branhamella) catarrhalis con Haemophilus influenzae y/o Streptococcus pneumoniae. Así, Slevin y colaboradores, de otro estudio reciente realizado en Nueva Zelanda, el 27.0% del total de cepas aisladas de Moraxella (Branhamella) catarrhalis a partir de esputo fueron parte de un cultivo mixto con una o ambas de las bacterias mencionadas<sup>46,123,159</sup>. Ninane mencionó que todo esto debe estudiarse con mayor profundidad, pero el conocimiento adquirido acerca de estas enfermedades polimicrobianas fortalece el argumento de su actividad patógena<sup>46</sup>.

Ingvarson analizó especímenes que obtuvo de la nasofaringe de 180 niños menores de 8 años de edad, quienes tenían signos clínicos o enfermedades definidas del tracto respiratorio superior, aquéllos que recibieron tratamiento con antibióticos durante un mes anterior a la investigación se excluyeron. Moraxella (Branhamella) catarrhalis fué la bacteria más comúnmente aislada, des-

pués Streptococcus pneumoniae y Haemophilus influenzae. La primera se aisló en un 45.0% de los casos en niños menores de 3 años de edad y la mayoría de todas estas cepas se encontraron en este grupo de edad. Así, el aislamiento de la bacteria a partir de la nasofaringe, de niños aparentemente saludables es relativamente común y podría tomarse en consideración cuando se analice y discuta más adelante la etiología y terapia de la otitis media aguda. Muchas de las cepas analizadas produjeron beta-lactamasas, aunque la mayoría de los niños con otitis media no habían sido tratados previamente con antibióticos<sup>120</sup>.

Moraxella (Branhamella) catarrhalis se reconoció como un agente etiológico, de acuerdo con las investigaciones y estudios realizados por Doern, Miller y Winn, durante 1979 y 1980, porque la encontraron en una extensa variedad de procesos infecciosos, incluyendo sinusitis maxilar aguda, otitis media aguda, septicemia, bronquitis y neumonía, particularmente en pacientes inmunosuprimidos y con funciones pulmonares deficientes<sup>75</sup>.

Varios investigadores, desde 1978 hasta 1986, realizaron estudios en Christchurch, Nueva Zelanda en donde manifestaron interés por la bacteria en estudio como un patógeno pulmonar, por que la aislaron de muestras de esputo de pacientes con enfermedades broncopulmonares y bronquitis crónica<sup>10,95,123</sup>.

Recientemente, en 1981, Leinonen sugirió que Moraxella

(Branhamella) catarrhalis posee propiedades patogénicas, ya que encontró que es agente causal de episodios bronquíticos agudos en pacientes con enfermedades respiratorias crónicas y en algunos casos de sinusitis maxilar aguda<sup>18, 120, 123</sup>.

Como ya se mencionó en varias ocasiones, siendo esta bacteria un microorganismo comensal de orofaringe y nasofaringe entonces su presencia en muestras clínicas como esputo expectorado, dificultaba la identificación del agente etiológico responsable de las enfermedades de vías respiratorias, porque los investigadores Thornley, Aitken, Drennan y Slevin en 1982, pensaban que sólo era parte de los microorganismos causantes de la contaminación de dichas muestras. Entonces, para profundizar más y conocer bien al agente etiológico, obtuvieron y compararon muestras de esputo y aspirados transtraqueales de los pacientes en estudio. Finalmente encontraron que era Moraxella (Branhamella) catarrhalis el microorganismo causante de las enfermedades, ya que lo aislaron de casi todas las muestras analizadas, al observar diplococos Gram-negativos en el interior de los leucocitos de las muestras de esputo, por lo que la reconocieron como un patógeno pulmonar<sup>7, 10, 123</sup>.

Las muestras de esputo pueden presentar mayor contaminación, por los microorganismos comensales del tracto respiratorio superior, que las muestras obtenidas por aspiración trans-

traqueal, ya que éstas últimas son más confiables para la identificación de patógenos del tracto respiratorio inferior, pero su obtención causa más molestias al paciente<sup>7,8</sup>. Por todo lo anterior, los investigadores concluyeron que Moraxella (Branhamella) catarrhalis es un microorganismo patógeno u oportunista del tracto respiratorio inferior<sup>7,8,10,123</sup>, y que es mejor emplear las muestras de esputo que las transtraqueales ya que las últimas son dolorosas, molestas y con cierto riesgo para los pacientes<sup>7,10</sup>.

Ahmad y colaboradores investigaron y demostraron que esta bacteria producía beta-lactamasas, a partir de muestras obtenidas de pacientes con padecimientos de vías respiratorias en Nueva Zelanda y de Edinburg en 1983<sup>6</sup>.

Alvarez, Jones y colaboradores en 1985, aislaron a Moraxella (Branhamella) catarrhalis de muestras clínicas provenientes de 53 pacientes con bronquitis aguda y neumonía, reconociéndola también como agente etiológico de estos padecimientos, aunque la habían encontrado anteriormente, causando en algunos pacientes otitis media, laringitis aguda, sinusitis aguda y septicemia<sup>12</sup>.

Davies y Maesen establecieron en 1986 sus argumentos para demostrar la patogenicidad directa de la bacteria mencionada, basándose principalmente en la observación y examen de su desarrollo, características bacteriológicas, bioquímicas, antigénicas y manifestaciones clínicas presentadas. Cuando los materiales pu-

rulentos representativos se cultivan y desarrollan las especies bacterianas, no hay problemas en atribuir las manifestaciones clínicas de las enfermedades producidas a los microorganismos cultivados. Según estos mismos investigadores, en 1983 ya habían propuesto que las muestras de esputo purulento expectoradas por los pacientes con exacerbaciones de bronquitis crónica, se colectaran cuidadosamente y transportadas al laboratorio, se lavaran y trataran adecuadamente para liberar a Moraxella (Branhamella) catarrhalis de la contaminación causada por las otras bacterias comensales integrantes de la flora habitual de los tractos respiratorios superior y medio. Si después se realiza la tinción de Gram, se siembran en los medios de cultivo propicios para su desarrollo y se realizan pruebas de identificación bioquímica y serológica, se puede asegurar en realidad su papel como patógeno<sup>68</sup>. De la misma manera, Soto, Berk y Nunley analizaron muestras de esputo y garganta en los laboratorios de Microbiología Clínica a principios de 1988, de pacientes con enfermedades pulmonares, broncopulmonares y otitis media; producidas por la misma bacteria<sup>26</sup>, encontrando resultados similares.

Entre algunos otros estudios, los realizados por Wallace, Musher, Luman y Wilson en 1986, demostraron que dicha bacteria sigue teniendo cada día mayor importancia porque se considera patógeno u oportunista, puesto que produce enfermedades de

vías respiratorias (principalmente en pacientes inmunosuprimidos, en presencia de defectos o alteraciones en el sistema inmune y con deficiencias de la función pulmonar), y otras enfermedades como otitis media aguda en niños y sinusitis maxilar aguda<sup>138</sup>.

Por todo lo mencionado en los párrafos anteriores, la evolución de nuestro conocimiento acerca de Moraxella (Branhamella) catarrhalis, ha cambiado en muchos aspectos, ya que lo hemos conocido de un microorganismo comensal sin importancia a un patógeno de vías respiratorias, por medio de las investigaciones y estudios realizados por diversos investigadores y microbiólogos, a través de los años y hasta nuestros días. El interés clínico por esta bacteria, creció dramáticamente gracias al uso de técnicas nuevas de diagnóstico para las expectoraciones y aspirados transtraqueales: las técnicas microbiológicas cada vez mejores, facilitan la identificación y reconocimiento de este microorganismo<sup>82, 144</sup>.

### 2.3 S i n u s i t i s

Sinusitis es la inflamación de la mucosa de los senos paranasales, o sea de las pequeñas cavidades excavadas en el esqueleto facial que comunican con las fosas nasales, se distinguen una sinusitis frontal, maxilar, etmoidal y esfenoidal, según la localización de la inflamación. Se denomina pansinusitis,

la inflamación simultánea de todos los senos<sup>45</sup>.

La sinusitis se presenta cuando un microorganismo patógeno como por ejemplo Moraxella (Branhamella) catarrhalis, se localiza en la mucosa que tapiza las paredes del seno provocando su inflamación; pero teniendo en cuenta que los senos no se comunican directamente con el exterior, la infección debe proceder de las fosas nasales contiguas. Tiende a favorecer la aparición y la cronidad de la inflamación sinusal, la obstrucción de las vías nasales; en estas circunstancias, las secreciones seromucosas de la mucosa del seno no pueden fluir al exterior y se almacenan en el propio seno, constituyendo un terreno óptimo para el desarrollo de los microorganismos patógenos<sup>20, 45</sup>.

Los síntomas de la sinusitis aguda son los siguientes: abundantes secreciones purulentas o mucopurulentas por la nariz y dolor en la zona correspondiente al seno lesionado que se exacerba a la presión digital. Cuando la sinusitis se hace crónica provoca cefalea, constituye un peligro porque representa un foco de infección a partir del cual se vierten los microorganismos a la sangre; estos focos, además de mantener las pequeñas elevaciones febriles, pueden provocar la aparición de afecciones cardíacas, etc.<sup>45</sup>

La sinusitis es una complicación frecuente del resfriado común y de otros procesos que ocasionan una inflamación de la mu

cosa nasal. En realidad, los senos casi siempre se inflaman en el curso del resfriado común, pero pronto desaparece la inflamación a medida que mejora el resfriado. En las infecciones graves del aparato respiratorio, los propios senos pueden inflamarse de tal forma que queda obstruida la comunicación con la cavidad nasal, con el estancamiento consiguiente de la secreción de los senos. Se produce entonces la sinusitis aguda. La inflamación de los senos frontales se acompaña de cefaleas por encima de los ojos; la inflamación de los senos maxilares se manifiesta en forma de dolor en las mejillas y, en la afección del seno esfenoidal, el dolor irradia a menudo hacia la parte posterior de la cabeza. Si se afectan las células etmoidales, el dolor y la sensación de pesadez se acusan en la parte de la nariz, hacia la frente<sup>153</sup>.

La sinusitis no es siempre consecuencia de un resfriado; también puede ser debida a infección generalizada<sup>153</sup>.

Las inflamaciones de los senos paranasales son casi siempre un síntoma acompañante de rinitis, menos a menudo consecuencia de la penetración de líquido o secreciones por los orificios de los senos paranasales, o debidas a infecciones en las lesiones traumáticas de los senos paranasales.

La sinusitis maxilar es la más frecuente. Los senos maxilares pueden infectarse también a partir de las raíces inflama-

das de los molares. Las inflamaciones de las celdillas etmoidales, los senos frontales y los esfenoidales son menos frecuentes. Los trastornos del desagüe de las secreciones por desviación del tabique y los orificios demasiado estrechos favorecen la sinusitis<sup>80</sup>.

La forma aguda comienza como una inflamación catarral, con hiperemia, edema y aumento de la secreción mucosa. Si debido a una mayor irritación e infiltración leucocitaria, se añade una obstaculización al desagüe de las secreciones por hinchazón de la mucosa, se produce entonces un empiema en uno o varios senos paranasales<sup>80</sup>.

En la sinusitis crónica aparecen linfocitos y células plasmáticas, y en la inflamación alérgica, leucocitos eosinófilos con intenso edema mucoso e hinchazón de la membrana basal. En las proliferaciones poliposas de la mucosa, que son muy frecuentes, pueden producirse hemorragias, necrosis y granulaciones con precipitación de cristales de colesterolina, debido a trastornos circulatorios<sup>80</sup>.

Anteriormente se realizaron diversas investigaciones, estudios, análisis y experimentos en pacientes con sinusitis maxilar aguda que pueden servir para prevenirlas y proporcionar un tratamiento adecuado.

Ballantyne y Rowe estudiaron algunos puntos de la patología,

Médica y el Departamento de Bacteriología Clínica de la Universidad de Göteborg, el Departamento de Otorrinolaringología del Centro Médico de Lundby y en el Departamento de Bacteriología Clínica de la Universidad de Umea, se examinaron sueros de 97 pacientes que padecían esta enfermedad, encontrando, en algunos casos, que todos los pacientes produjeron anticuerpos precipitantes y en otros sólo el 94.0% del total. También investigaron la presencia de anticuerpos fijadores de complemento en estos sueros y observaron en el primer caso, sólo el 28.0%, y en el segundo el 26.0% de los pacientes, los presentaron<sup>18</sup>.

Revonta investigó y propuso en 1979, el empleo del ultrasonido para diagnosticar la sinusitis maxilar en niños que resulta un método útil, simple y confiable<sup>152</sup>. En este mismo año, Hamory, Sande, Sydnor, Seal y Gwaltney continuaron estudiando acerca de la etiología de esta enfermedad y su tratamiento antimicrobiano. Por medio de la realización del cultivo, aislamiento y realización de las pruebas bacteriológicas necesarias para la identificación del o los agentes etiológicos así como la investigación de los antibióticos a los que son susceptibles, con la finalidad de tratar la enfermedad y evitar complicaciones<sup>43</sup>.

Wald, Gregory, Bluestone y Milmoie en 1981, relacionaron los resultados clínicos, bacteriológicos y radiológicos obtenidos

de 30 niños de 1 a 16 años de edad, con sinusitis maxilar, quienes además de padecer esta enfermedad presentaban sintomatología de infección en el tracto respiratorio superior. En esta investigación se demostró que los niños estudiados con los síntomas mencionados y realizadas las radiografías de sus senos anormales se pensó que hospedaban probablemente en sus senos paranasales a las bacterias causantes de la enfermedad. Ya que a partir de muestras clínicas obtenidas por medio de aspiración de los senos, realizaron cultivos, aislaron e identificaron bacteriológicamente las colonias bacterianas de Moraxella (Branhamella) catarrhalis, Haemophilus influenzae y de Streptococcus pneumoniae, con lo que propusieron que los niños tenían sinusitis bacteriana<sup>31</sup>.

Según observaciones realizadas por Kovatch y Wald en 1982, propusieron que dentro de la sinusitis hay varios tipos, de acuerdo con los senos invadidos e infectados por microorganismos patógenos<sup>34</sup>.

Schremer, Wald y colaboradores en 1984, presentaron sus resultados acerca de un estudio microbiológico realizado en aspirados de niños con sinusitis maxilar. En él mostraron a los microorganismos patógenos causantes de la enfermedad, siendo los principales Moraxella (Branhamella) catarrhalis y Haemophilus influenzae<sup>34, 89</sup>.

Más tarde, en 1987 Blanchard y Gray estudiaron más acer-

ca de la sinusitis, sus complicaciones y su terapia<sup>29</sup>. En este año, Kern siguió también sus investigaciones acerca de la sinusitis bacteriana aguda y crónica, puso gran interés en su fisiología, curso de la enfermedad y su tratamiento así como los procedimientos quirúrgicos posibles para evitar complicaciones<sup>130</sup>.

La sinusitis en bebés y niños es un problema común, pero su evaluación clínica frecuentemente es problemática. En el pasado, esta enfermedad se consideró como parte de la sintomatología del tracto respiratorio superior o similar a la enfermedad de los senos en adultos, en quienes los síntomas clásicos son dolor en las áreas involucradas, dolor de cabeza y fiebre.

En cambio, en los niños, la enfermedad parece ser más insidiosa y los síntomas consistieron primariamente de rinorrea crónica, tos persistente y otitis media asociada<sup>134</sup>.

En un estudio sobre este aspecto de la sintomatología, se estudiaron clínicamente a 100 pacientes de 7 meses a 14 años de edad, y se encontraron los siguientes datos: 77.0% de pacientes con rinorrea, 48.0% con tos persistente, 68.0% con complicaciones óticas, 42.0% con rinorrea y tos, 13.0% con dolor de cabeza, 21.0% con temperatura, 38.0% con rinitis alérgica y/o asma y 5.0% presentaron deficiencia inmunológica<sup>134</sup>.

Ambas, la sinusitis aguda y la crónica se observaron más frecuentemente en niños, pero también se han visto en muchos

bebés, ya que aunque ambos tipos de pacientes son quienes padecen más estas enfermedades, también la pueden padecer algunos adultos<sup>34</sup>. Generalmente durante el invierno, los niños y bebés sufren de una descarga nasal crónica persistente por meses y en algunas ocasiones hasta por años. Algunos niños tienen ataques de sinusitis aguda recurrente y otros desarrollan episodios agudos, casi todos con enfermedades conjunta del tracto respiratorio. La profilaxis es conveniente si los ataques son frecuentes. Cuando la sintomatología de la enfermedad continúa durante 2 ó 3 meses, se vuelve crónica, pero se puede tratar<sup>34</sup>.

La sintomatología presentada generalmente en los niños estudiados<sup>29,31,34,130</sup>, fué dolor de cabeza con marcada frecuencia, dolor dental o facial, hinchazón de la cara, descargas nasales (con olor fétido) u obstrucción nasal (más frecuente en sinusitis aguda que en la crónica), sangrado nasal, tos, mal aliento, fiebre y efusión del oído medio.

Como se ha detectado que la sinusitis puede presentarse en uno o en varios de los senos al mismo tiempo, los síntomas pueden variar de acuerdo con el sitio involucrado. Así, cuando hay sinusitis frontal, los pacientes presentan dolor de cabeza; en la sinusitis etmoidal, dolor en la porción media de la nariz o dolor retro-orbital; en la sinusitis esfenoidal, también dolor de cabeza; en la sinusitis maxilar, dolor en las mejillas, en toda la cara o

dolor dental. Ambas sinusitis, esfenoidal y etmoidal, pueden producir también dolor en los huesos occipital y parietal así como en la nariz<sup>130</sup>.

La sinusitis aguda supurativa se acompaña generalmente por descargas nasales mucopurulentas de color amarillo a verde, que pueden ser uni o bilaterales (estas últimas son más comunes). Los pacientes que sufren esta enfermedad pueden tener un cambio en la sensibilidad de su sentido del olfato y los resultados de la cuenta de leucocitos son elevadas. Frecuentemente se ha observado que la inflamación de los senos comienza en uno de ellos y después se extiende hacia los otros, esto se debe a que, como se mencionó en el capítulo correspondiente, todos ellos están relacionados y drenan al interior del meatus medio<sup>130</sup>.

La sinusitis crónica supurativa también se acompaña de descargas nasales, mucopurulentas y, en algunas ocasiones, de obstrucción nasal, pero los demás síntomas que se presentan en la sinusitis aguda son más leves o están ausentes<sup>29, 130</sup>.

El diagnóstico no es difícil porque, en general, coexiste la inflamación de la mucosa nasal, que representa el fenómeno patológico a partir del cual se origina la sinusitis<sup>45, 80</sup>. En todo caso se inicia con la observación y examen de ciertos síntomas y signos, después se hace la toma de muestras de aspirados y secreciones nasales mucopurulentas, e inmediatamente la realiza

ción de cultivos de estas muestras clínicas, procediéndose a los análisis bacteriológicos y serológicos respectivos. Para la confirmación del diagnóstico se realizan radiografías, biopsias, ultrasonido, y otras técnicas como transiluminación de los senos y sinoscopia<sup>29,31,45,80,130</sup>.

Cuando se realiza un examen físico, éste incluye: medición de la temperatura del paciente, observación de la presencia de inflamación en la cara, evaluación de la apariencia de la mucosa nasal, membrana del tímpano y faringe<sup>29,31</sup>.

Dentro de los estudios bacteriológicos y serológicos realizados en el laboratorio para obtener un diagnóstico, se puede ver que Moraxella (Branhamella) catarrhalis se ha aislado frecuentemente en cultivos mixtos provenientes de pacientes con sinusitis maxilar aguda. 97 pacientes se agruparon y se sometieron a tratamiento, mostraron síntomas radiológicos de dicha enfermedad y presentaron secreción espesa de la mucosa<sup>18,87,116</sup>.

Para la realización de los estudios bacteriológicos de sus muestras, éstas se obtuvieron por medio de aspiraciones en los senos después de anestestiarlos por vía tópica con lidocaína al 4.0%.

Para los estudios serológicos se obtuvo sangre por vía intravenosa, al inicio y después a los 15 días. Obtenidas las muestras de sangre se centrifugaron y se separó el suero. También

se obtuvieron sueros de 20 personas saludables para emplearlas como controles y tanto estos sueros como los de los pacientes enfermos se ordenaron por grupos de edades y cada uno se trabajó por duplicado.

Los análisis de los antígenos se realizaron por medio de métodos inmunológicos como la inmunodifusión y la fijación de complemento<sup>18,87,116</sup>.

De los 97 pacientes, solamente el 94.0% de los sueros presentaron anticuerpos precipitantes contra Moraxella (Branhamella) catarrhalis y el resto que no lo presentó era de pacientes ancianos<sup>18</sup>.

Separadamente observaron que 26.0% de los pacientes produjeron anticuerpos fijadores de complemento contra la bacteria mencionada (tabla No. 10).

Tabla No. 10 Grupos de pacientes estudiados que presentaron anticuerpos fijadores de complemento <sup>18</sup>.

Edad	Grupo estudiado			Donadores saludables (grupo control)		
	Hombres	Mujeres	Total	Hombres	Mujeres	Total
<20 años	8 ( 3)	4 ( 2)	12 ( 5)	2	1	3
21-30 años	9 ( 3)	19 ( 7)	28 (10)	2	4 (1)	6 (1)
31-40 años	8 ( 3)	17 ( 1)	25 ( 4)	2	4	6
41-50 años	2	17 ( 3)	19 ( 3)		3	3
>51 años	5 ( 2)	8 ( 1)	13 ( 3)	1	1	2
	32 (11)	65 (14)	97 (25)	7	13 (1)	20 (1)

Los anticuerpos fijadores de complemento se detectaron comúnmente en los grupos de jóvenes. Solamente uno de los sueros proveniente de los donadores saludables presentó anticuerpos fijadores de complemento<sup>18</sup>.

La tensión de oxígeno tuvo una influencia marcada sobre el crecimiento bacteriano, ya que se observó un mejor crecimiento a 760 mmHg; en cambio, a 300 mmHg hubo muy poco crecimiento<sup>18, 116</sup>.

El hecho de analizar muestras clínicas como aspirados de los senos paranasales tiene algunas desventajas como por ejemplo el tiempo que se emplea en el transporte, el medio para transportar la muestra y el manejo en sí de las muestras bacteriológicas, que muestran cierta influencia en los resultados del laboratorio<sup>18, 116</sup>.

Los análisis serológicos son más laboriosos para llevarlos

a cabo, frecuentemente se necesita que el paciente regrese después de 2 y 3 semanas para una segunda y tercera tomas de muestras de sangre, que es cuando la enfermedad ya disminuyó, con o sin tratamiento para observar y analizar un cambio significativo en el título y poder tomarlo como criterio en el diagnóstico serológico.

Hay una discrepancia obvia entre los numerosos reportes relacionados con la Bacteriología de la sinusitis maxilar 18, 68, 86, 87, 116 y el número bajo de reportes relacionados con la serología en esta enfermedad. Sorprendentemente, algunos de los pacientes (26.0%), tuvieron anticuerpos fijadores de complemento contra Moraxella (Branhamella) catarrhalis y en un porcentaje mayor de estos pacientes se observó un cambio moderado en el título.

Los anticuerpos precipitantes se demostraron en casi todos los sueros de ambos grupos de pacientes, o sea el grupo control y el grupo de pacientes con sinusitis maxilar aguda. Una explicación posible para esto puede ser que los anticuerpos precipitantes reflejan en realidad que dicha bacteria es un habitante normal del tracto respiratorio superior y que más personas se exponen continuamente a su antígeno, resultando la producción de anticuerpos precipitantes en los mismos. Por otro lado, la producción de anticuerpos fijadores de complemento se ha detectado recientemente en pacientes con sinusitis, pero después de dos meses de la

enfermedad ya no se pueden detectar generalmente.

Los estudios bacteriológicos y serológicos sobre sinusitis maxilar difieren ampliamente con respecto a la frecuencia con la cual Moraxella (Branhamella) catarrhalis se ha aislado de los cultivos 18, 68, 86, 87, 116, 134. Entonces, estos estudios indicarían que la correlación entre el cultivo y serología de dicha bacteria en la sinusitis maxilar aguda es muy baja. En cambio, cuando se realizaron estos mismos estudios con otro microorganismo patógeno, Haemophilus influenzae, se observó una mayor correlación entre su aislamiento de los senos maxilares y la presencia de anticuerpos fijadores de complemento. Otra explicación para la falta de correlación entre el aislamiento de Moraxella (Branhamella) catarrhalis y la detección de anticuerpos fijadores de complemento, implica que es la respuesta contra este microorganismo en estos pacientes, como parte de sus mecanismos de defensa.

Estos estudios muestran que Moraxella (Branhamella) catarrhalis es influenciada marcadamente por varios factores, los cuales podrían contribuir al hecho de que el microorganismo se aisla raras veces del contenido maxilar de pacientes con sinusitis maxilar aguda, ya que como Moraxella (Branhamella) catarrhalis no puede crecer bajo condiciones anaerobias, es incapaz de multiplicarse a una tensión de oxígeno correspondiente a la mitad de la atmosférica.

También observaron que en el suero de personas normales,

las cepas de la bacteria en estudio se destruyeron y este efecto del suero se abolió por inactivación con calentamiento.

Los análisis antigénicos de Moraxella (Branhamella) catarrhalis mencionados en el capítulo correspondiente, indicaron claramente que este microorganismo no quedó incluido en el género Neisseria, pero sí en los géneros Branhamella, Moraxella. Esto indicó que los anticuerpos fijadores de complemento observados, podían considerarse específicos y no consecuencia de las reacciones cruzadas<sup>18, 87, 116</sup>.

El examen de los senos por medio de radiografías es definitivamente confirmatorio del diagnóstico de sinusitis.

Los resultados de radiografías más comunes incluyen: mucosa espesa, fluido uniforme aéreo y opacidad completa de los senos. Cuando se observa la presencia de huesos erosionados se puede decir que se trata de un neoplasma<sup>29, 31</sup>.

Observaciones de las radiografías y datos de 100 pacientes con sinusitis mostraron que el 96.0% de ellos tuvieron sus radiografías anormales debido a su sinusitis maxilar; otros, además de sinusitis maxilar, presentaron 37.0% de sinusitis etmoidal, otros, además sinusitis frontal en un 13.0% y sólo un 7.0% tuvieron sinusitis esfenoidal además de maxilar<sup>134</sup>.

La destrucción u "oscurecimiento (mancha)" de los senos paranasales se debe al fluido, exudado o edema en la mucosa na

sal y se evaluó con una escala de 1 + a 4 +. El grado de destrucción se determinó por medio de la comparación de densidades de los senos paranasales frente a la densidad de las estructuras óseas circundantes. Un valor de 1 + indicó una pérdida mínima de aireación, de 4 + indicó una destrucción completa de los senos<sup>29,134</sup>.

La presencia o ausencia de daño óseo se determinó por medio del grado de desmineralización reactiva en los márgenes de los senos<sup>134</sup>.

96 pacientes examinados (96.0%), tuvieron sinusitis y esto se pudo observar en sus radiografías. Los síntomas más comunes de la sinusitis, demostrados radiológicamente en bebés y niños incluyeron rinitis limpia o purulenta (77.0%), tos persistente (48.0%) y otitis media (68.0%). Se vió la combinación de rinitis y tos persistente en 42.0% de los pacientes, otitis media con rinitis crónica en un 23.0% y un 22.0% de los mismos presentaron una combinación de rinitis, otitis media y tos<sup>29,134</sup>.

Sólomente un 13.0% de los pacientes tuvieron dolor en los senos y de cabeza; la mayor parte eran niños menores de 12 años de edad.

En un estudio realizado en la División de Inmunología del Departamento de Pediatría de la Universidad de Texas (Galveston, Texas), se analizaron a 38 pacientes con rinitis alérgica o asma

y cinco pacientes con deficiencias inmunológicas. Estos pacientes se examinaron clínica y radiológicamente durante todo el período que abarcó el estudio. Todos los niños con deficiencias inmunológicas tuvieron pansinusitis severas, extensas e intratables. Radiográficamente, los senos maxilares fueron los más comúnmente incluidos (96.0%). Los siguientes en frecuencia fueron los senos etmoidales (37.0%). Los cambios óseos se observaron sólo en 12 pacientes y se asociaron invariablemente con la enfermedad severa<sup>134</sup>.

Otra forma de realizar el diagnóstico es usando el ultrasonido y al igual que la toma de radiografías, sirve para la confirmación del diagnóstico, aunque es menos frecuente que éste se realice<sup>31,152</sup>.

El ultrasonido es un instrumento simple y útil en el diagnóstico de sinusitis, y se emplea para confirmar la descarga dentro del seno maxilar. El modelo de las ondas características del sonido reflejadas a través del aire y del fluido llenan los senos. Los pacientes a los que se les realiza este análisis no requieren de una preparación especial o de anestesia. Se puede emplear para un examen de rutina en niños, ya que tarda un tiempo menor a 10 minutos y no tiene mayores complicaciones. El ultrasonido sirve para realizar una prueba confiable, que se puede llamar prueba pantalla. En niños pequeños son necesarias sus radiografías, ini-

cialmente para revelar la presencia y tamaño de sus senos maxilares para su irrigación; pero el ultrasonido ofrece un método excelente para diagnosticar la sinusitis maxilar en niños<sup>31,152</sup>.

Otras técnicas adicionales que sirven para el diagnóstico de esta enfermedad son la transluminación y la sinoscopia. La primera puede dar información acerca de la infección y estado de los senos frontales y maxilares pero no es muy confiable porque pueden haber variaciones en la anatomía. El examen de los senos empleando la transluminación es útil cuando los casos que se analizan pertenecen a niños con sinusitis maxilar y entonces sólo sirve para complementar el diagnóstico ya obtenido por otros métodos<sup>31,134</sup>.

La sinoscopia es una técnica sofisticada y avanzada que emplea un tipo especial de telescopios para poder penetrar a las cavidades de los senos y así observar la mucosa o remover las secreciones y tejidos para estudiarlos. Ahora se emplean a usar los telescopios pequeños y por medio de endoscopia nasal se pueden estudiar los huesos de la cavidad nasal<sup>134</sup>.

#### 2.4 Otitis media

La otitis media consiste en la inflamación de la mucosa que tapiza la caja del tímpano (oído medio); puede ser aguda y crónica. La infección se produce generalmente por la presencia de un

agente infeccioso (patógeno u oportunista) como Moraxella (Branhamella) catarrhalis, y llega al oído medio por el conducto auditivo externo inflamado, o a través de la trompa de Eustaquio, esta modalidad de infección se realiza en casos de afecciones nasofaríngeas, como rinitis, faringitis, sinusitis, amigdalitis, etc., sobre todo al sonarse violentamente o al practicarse lavados nasales in tempestivos<sup>20, 80</sup>.

Además, se considera que existen 3 variantes de otitis media que se superponen clínica y patológicamente: purulenta o supurativa, serosa y mucóide. El tipo depende del agente etiológico y de las proporciones variables de modificaciones estromales, inflamatorias y epiteliales. Por ejemplo, un exudado polimorfonuclear neutrófilo domina la reacción cuando se trata de una invasión bacteriana. La otitis media serosa puede seguir a una infección o bien desencadenarse por una respuesta alérgica. Se caracteriza por la acumulación de líquido en la cavidad timpánica, asociada con alteraciones en el epitelio<sup>15</sup>.

La forma aguda de la otitis media, según la naturaleza del líquido formado, puede ser serosa (o catarral) y purulenta; raramente hemorrágica (como en la gripe y el escorbuto). La otitis media aguda catarral se manifiesta por dolores locales, zumbidos de oído, vértigos y ligera elevación febril; la purulenta, más grave, por un dolor más vivo y lacerante, fiebre más elevada e in-

somnio.

La forma purulenta crónica es casi siempre secundaria a un caso agudo o mal tratado, insuficientemente drenado o mantenido por la lesión de los huesos de la caja del tímpano o de las paredes de la misma. La salida de pus a través de la perforación de la membrana es continua y crónica (otorrea) y se hace pronto fétida; se presentan también síntomas de intoxicación general como dolor de cabeza, vértigos, zumbidos e incluso fiebre<sup>20, 153</sup>. La formación de pus en el oído medio es causa del abombamiento de la membrana timpánica, y la inflamación produce también la dilatación de los capilares sanguíneos del oído medio, con la inflamación consiguiente de la membrana timpánica. Cuando no se aplica ningún tratamiento, o en el caso de infección grave, esta formación de pus puede conducir a la ruptura del tímpano, generalmente en su parte inferior<sup>153</sup>.

Cuando la salida de pus fétido se prolonga durante meses y años y disminuye progresivamente la capacidad auditiva por destrucción total o parcial de los huesos, no queda otro remedio que intervenir quirúrgicamente, practicando un vaciamiento petrotimpánico<sup>20</sup>.

Si no se aplica ningún tratamiento para la infección, puede afectarse también apófisis mastoides, situada detrás de la oreja; afección severa denominada mastoiditis. La inflamación puede

extenderse también al oído interno y producir una laberintitis, que, en ocasiones, altera extraordinariamente la audición y el órgano del equilibrio. Otra complicación puede ser la inflamación del nervio facial o de las meninges; en este último caso, con parálisis de un lado de la cara. Todas estas complicaciones son bastante frecuentes y la otitis media se considera, por consiguiente, una enfermedad grave, especialmente cuando ataca a los niños. En la actualidad, estas complicaciones son relativamente raras gracias al progreso en los métodos de tratamiento y a la disponibilidad de la quimioterapia y del uso de antibióticos<sup>153</sup>.

Algunos investigadores determinaron la etiología bacteriana de varios casos de otitis media en 1956, ya que lograron cultivar a los microorganismos patógenos que estaban alojados en el oído medio y en la nasofaringe de los niños que padecían dicha enfermedad<sup>131</sup>.

Estudios anatómicos e histológicos realizados por varios investigadores durante 1962, 1964 y 1969, mostraron que estaba alterado en los pacientes con otitis media aguda, el cartilago del tubo de Eustaquio, en comparación con el de las personas saludables, además de observar en estos pacientes su paladar hendido, por lo que Holborow postuló que no hay una ventilación adecuada, pero sí una acumulación del líquido timpánico resultante<sup>149</sup>.

Dixon y colaboradores encontraron a Moraxella (Branhamella)

catarrhalis en exudados provenientes de bebés y niños con otitis media, analizados durante 1966<sup>73</sup>.

Coffey y colaboradores fueron unos de los primeros investigadores que reconocieron a Moraxella (Branhamella) catarrhalis como microorganismo patógeno en la otitis media en 1966, ya que desde 2 años antes habían iniciado su recolección e investigación en muestras de exudados faríngeos y del oído medio provenientes de niños con dicha enfermedad<sup>38, 58</sup>. El mismo Coffey y sus colaboradores aislaron a dicha bacteria en un 8.0% de cultivos puros a partir de muestras de timpanocentesis de niños con otitis media; también demostraron pero un año después, la presencia de diplococos Gram-negativos en el interior de leucocitos polimorfoculares en el fluido del oído medio de 24.0% de los niños analizados<sup>38</sup>.

En general, la incidencia de los episodios de otitis media supurativa corresponden a la incidencia de los episodios de la enfermedad aguda en el tracto respiratorio superior, Coffey y otros investigadores<sup>38, 149</sup>, en 1966 y en 1969, observaron que se incrementaba la frecuencia de estas enfermedades en los meses de invierno y disminuía durante el verano en los Estados Unidos.

Posteriormente, Paradise, Bluestone y colaboradores durante 1967 - 1974 en Estados Unidos, mostraron que los bebés analizados, todos menores de 2 años de edad con otitis media tenían

su paladar hendido. Paradise y Bluestone en 1971, encontraron en los oídos de los bebés analizados, efusiones inflamatorias con viscosidad variable en algunos de ellos, pero la supuración sí fué común en todos los bebés<sup>30, 89, 149</sup>.

La otitis media aguda es una enfermedad relacionada con el tracto respiratorio superior, razón por la cual se produce la consiguiente enfermedad del mismo y además establecieron sin duda alguna el papel del agente etiológico varios investigadores en 1967, 1969 y en 1975<sup>89, 149</sup>.

Ingvarson y colaboradores, colectaron muestras de exudados nasofaríngeos y del oído medio de 75 niños de 1 a 9 años de edad con otitis media. Moraxella (Branhamella) catarrhalis estuvo presente en un 98.0% en las primeras y sólo en un 80.0% en las otras, por lo que se dijo que prácticamente en todos los casos se obtuvieron cultivos positivos. Aunque dicha bacteria se encontró sola en un 43.0% y el resto asociada con otras bacterias patógenas como Haemophilus influenzae y Streptococcus pneumo-  
niae. Además, estos estudios se realizaron en el Departamento de Otorrinolaringología de la Universidad de Lund y en el Hospital General de Malmö en Suecia, muestran que la bacteria en estudio puede cultivarse y aislarse a partir de exudados nasofaríngeos provenientes de todos los niños con otitis media aguda cuando se emplean técnicas adecuadas para la recolección de dichos

especímenes<sup>120</sup>.

Tetzlaff, Ashworth y Nelson realizaron un estudio en bebés menores de 3 meses en el Departamento de Pediatría de la Universidad de Texas, durante 1974 - 1976. Estudiaron el material contenido en los conductos auditivos de los bebés, extraídos por medio de timpanocentesis, se analizaron clínica y bacteriológicamente para confirmar el diagnóstico de otitis media<sup>16</sup>.

De 1976 a 1977, Schwartz, Rodríguez y colaboradores estudiaron a 280 niños con otitis media purulenta. En sus cultivos de fluido de oído, desarrollaron microorganismos patógenos como Haemophilus influenzae y Streptococcus pneumoniae, y patógenos u oportunistas como Moraxella (Branhamella) catarrhalis, los cuales pudieron detectarse por medio de técnicas como la Contraímmunoelectroforesis e Inmunofluorescencia<sup>131</sup>. Además de estos investigadores, Malmvall, Maesen y colaboradores en 1977, detectaron y aislaron varias cepas productoras de beta-lactamasas de la bacteria en estudio, provenientes de pacientes con otitis media<sup>49,68</sup>.

La otitis media parece ser altamente prevalente en los niños con síndrome de Down. Schwartz y colaboradores realizaron un estudio en 1978, en el que examinaron a 39 bebés durante el verano y encontraron evidencias de efusión del oído medio unilateral en 59.0% de ellos. Los investigadores sugirieron que la hi

tre estas bacterias se incluyeron a aquéllas que también se han localizado en la nasofaringe y que igualmente tienen la capacidad de invadir el oído medio, son: Moraxella (Branhamella) catarrhalls, Haemophilus influenzae y Streptococcus pneumoniae. Estas bacterias se recuperaron y aislaron de la nasofaringe de 2 grupos de pacientes menores: uno de niños saludables y el otro de los niños con otitis media observándose un mayor porcentaje de las bacterias aisladas en los del segundo grupo<sup>47,62,129</sup>.

Paradise y colaboradores estudiaron más tarde a otros grupos de bebés con otitis media, en el Departamento de Pediatría de Pittsburg, durante 1980 - 1981. Observaron su sintomatología y signos, y obtuvieron los diagnósticos necesarios para aplicarles un tratamiento adecuado<sup>149,150</sup>.

Para el establecimiento del papel patógeno de Moraxella (Branhamella) catarrhalls en otitis media aguda en niños, Leinonen y colaboradores en Finlandia, durante 1981, utilizaron el inmunoensayo enzimático (ELISA) y células bacterianas en la preparación del antígeno P purificado para evaluar los anticuerpos IgG, IgM e IgA producidos contra dicha bacteria en el suero de estos niños con otitis media aguda<sup>87,116</sup>.

Lee, Fordham y Alban en 1981 realizaron algunas investigaciones con el propósito de saber e informar acerca del incremento en la producción de las infecciones y enfermedades causadas

por Moraxella (Branhamella) catarrhalis productora de beta-lactamasas<sup>11</sup>.

Doern y colaboradores en 1981 y en 1986 Lundgren e Ingvar son en Suecia, aislaron cepas de este microorganismo, a partir de muestras de pacientes (niños) con infecciones bacterianas como otitis media considerándola de gran interés en la clínica<sup>120</sup>.

Rohn y colaboradores en 1983 analizaron 2,000 aspirados provenientes de los oídos de niños con otitis media crónica con efusión y en ellos encontraron a los 3 microorganismos anteriores. En este mismo año Kovatch y Shurin postularon que Moraxella (Branhamella) catarrhalis es agente etiológico de la otitis media aguda en niños<sup>146,155</sup>, y que hay un incremento de esta bacteria en los exudados de oído medio de los niños, especialmente en Pittsburgh y en Cleveland<sup>155</sup>.

Moraxella (Branhamella) catarrhalis se reconoce como un microorganismo potencialmente patógeno u oportunista, que causa enfermedades en niños como otitis media. Estudios posteriores realizados por varios investigadores confirmaron su presencia en muestras de secreciones del oído medio<sup>155</sup>.

McMillan, Shurin, Johnson y Turczyk realizaron investigaciones acerca del diagnóstico de otitis media durante la infancia temprana, por medio de la timpanometría y de reflejos acústicos ipsilaterales durante 1985 - 1986. Los bebés estudiados por medio

de los métodos de diagnóstico anteriores eran menores de 5 meses y los resultados obtenidos se compararon con los del diagnóstico otoscópico y se confirmaron por medio de la timpanocentesis<sup>93</sup>.

Por otra parte Van Hare, Shurin, Marchant, Fulton, Kim y Johnson mostraron en sus estudios realizados durante 1986 - 1987, que Moraxella (Branhamella) catarrhalis continuaba siendo importante porque era la causa de la otitis media comúnmente entre los niños del área estudiada. Observaron un porcentaje elevado en la colonización de la nasofaringe por esta bacteria y lo relacionaron con el incremento de la enfermedad en los niños estudiados y sobre todo los que sufrían más la enfermedad durante el invierno. Además, observaron un incremento del 75.0% de cepas productoras de beta-lactamasas de dicha bacteria de todos los cultivos aislados, con la cual se muestra que entre los microorganismos que producen la otitis media es uno de los más resistentes a los antibióticos<sup>58</sup>.

En algunos estudios, la edad promedio de los pacientes enfermos de otitis media fué de 1 año 4 meses a 1 año 10 meses, los más pequeños tenían 2 meses y los mayores de 7 a 12 años<sup>33, 38, 58, 73, 131</sup>.

Otro grupo de pacientes estudiados por Terzlaff y colaboradores en el Departamento de Pediatría, en Texas, eran bebés de 0

a 5 semanas de edad y de 6 a 11 semanas de edad<sup>16</sup>.

En la otitis media aguda o crónica (supurativa o purulenta), el oído medio es invadido continuamente por la mismas bacterias que causan la otitis media aguda<sup>89</sup>.

Estos pacientes presentan generalmente complicaciones y enfermedades respiratorias y raras veces gastrointestinales. Presentan dolor de oídos, pérdida de la audición sensorineural, fiebre, frío, otorrea, tos, ronquera, llanto después de toser, intranquilidad, vértigo, atelectasia de la membrana timpánica, irritabilidad, conjuntivitis (menos del 10.0%), algunos tienen inflamación o hemorragia en la membrana timpánica, taquipnea y anorexia (menos del 20.0%), vómito y diarrea (menos del 10.0%), algunos pueden tener complicaciones más graves como el inicio de bronquitis y neumonía (50.0 - 60.0% de los bebés menores de 3 meses)<sup>11, 16, 32, 38, 73, 97, 150</sup>.

Una efusión del oído medio tiene muchos sinónimos, como: otitis media secretoria, supurativa o serosa, pero el término más aceptable es otitis media con efusión<sup>32, 33, 34, 149</sup>. La duración de la efusión (no la severidad) puede dividirse en: aguda (menos de 3 semanas), subaguda (3 semanas a 2 - 3 meses) y crónica (más de 2 - 3 meses). La sintomatología puede variar un poco en cuanto a frecuencia, por ejemplo, la otalgia y la fiebre pueden presentarla con mayor frecuencia los niños que padecen la otitis media aguda

supurativa que los que la padecen con efusión. Sin embargo, en ambas enfermedades hay pérdida de la audición en igual magnitud y frecuencia<sup>34</sup>. La mayoría de los exudados de los oídos son mucopurulentos, parecidos al pegamento de cola y al obtenerlos y punccionar, los investigadores han observado que se produce inflamación del tubo de Eustaquio<sup>73</sup>.

En el pus y en el moco se han podido observar leucocitos polimorfonucleares degenerativos, que al teñirse presentan frecuentemente en su interior diplococos Gram-negativos característicos de Moraxella (Branhamella) catarrhalis, por lo que los investigadores propusieron que este microorganismo tiene una patogenicidad significativa en la cavidad timpánica de los bebés y niños pequeños principalmente<sup>73</sup>.

Como existen relaciones anatómicas funcionales entre el oído medio y el tubo de Eustaquio, se sugirió que esto es una de las principales causas por las que se producen tanto enfermedades en los tractos respiratorios superior, medio e inferior, como en el oído medio<sup>49, 73, 131</sup>.

La otitis media es una causa muy común de morbilidad en bebés y niños pequeños, quienes son incapaces de localizar y describir su sintomatología y es por esto que los pediatras detectan más casos en estos pacientes que los otorrinolaringólogos. Y por lo tanto, para obtener un diagnóstico, se requiere de un examen

cuidadoso de los oídos<sup>73</sup>.

Para saber si hay daño en la membrana timpánica se puede comparar con la observación de la misma en condiciones "normales". ya que es generalmente opaca, blanca y con una consistencia suavemente identificable<sup>16</sup>.

Existen reportes que contienen información acerca del papel del sexo en la patogénesis de la otitis media y muestran una mayor predilección de esta enfermedad en los varones. La proporción de niños con otitis media aguda en el Hospital de la Ciudad de Boston, según Feingold y colaboradores fué de 61.0%; de 67.0% en los niños de los hospitales de Gran Bretaña; 70.0% en el grupo de niños con otitis media recurrente analizados por Rochester; 59.0% en el grupo de niños con otitis media crónica secretoria en Finlandia y 72.0% de niños con otorrea persistente o recurrente<sup>149</sup>.

En otros hospitales de los Estados Unidos también se observaron proporciones más elevadas de otitis media en los niños que en las niñas. Con todos estos estudios se puede decir que hay mayor susceptibilidad en los niños que en las niñas, pero todavía se realizarán más investigaciones a este respecto<sup>149</sup>.

Para obtener un diagnóstico clínico se empieza a analizar al paciente y su historia médica, el instrumento diagnóstico más importante es el examen otoscópico. Durante éste se explora visual-

mente el conducto auditivo externo y la membrana timpánica situada en el fondo del mismo, en contacto inmediato con el oído medio. Se realiza introduciendo en el oído un speculum auricular (espeque de embudo metálico) en el inferior del cual se proyecta, con la ayuda de un espejo frontal reflector, un haz de luz que ilumina las paredes del conducto y la superficie externa de la membrana timpánica, lo cual permite la observación de las modificaciones de color y de forma. El examen otoscópico sirve para descubrir la presencia de cuerpos extraños o de tapones de cerumen en el fondo del conducto auditivo, así como también la observación de las condiciones de las paredes del conducto (furúnculos, otitis externa difusa, etc.), y de la membrana timpánica (inflamación, enrojecimiento, perforaciones, etc., en casos de otitis media). Se debe obtener una visualización adecuada del canal auditivo externo y de la membrana timpánica, como se mencionó y remover el cerumen que obstruye el canal auditivo externo. También puede emplearse un otoscopio neumático para la evaluación propia de la membrana timpánica y de su movilidad. Durante la inspección se observan las características físicas de la membrana timpánica y en éstas se puede incluir a la posición, color, grado de translucidez y movilidad. Por ejemplo, en el examen de niños con otitis media aguda con el otoscopio neumático se puede observar la membrana timpánica hiperémica, opaca y con muy poca movilidad. Así,

se obtiene el diagnóstico clínico, con la observación de los signos y sintomatología de la otitis media aguda o crónica y también con efusión por medio del examen otoscópico y la otoscopia neumática<sup>32, 33, 58, 93, 149, 150, 155</sup>.

El avance más importante en la identificación de las enfermedades del oído medio es la oxención de la disfunción electroacústica por medio de un timpanograma<sup>32</sup>. La timpanometría (prueba altamente sensible detectora del funcionamiento del oído medio) y la medición de reflejos acústicos, son útiles para la identificación de procesos patológicos del oído medio como la efusión, y también sirven para confirmar un diagnóstico otoscópico<sup>32, 93, 149</sup>.

La audiometría es de valor limitado como un método de diagnóstico para la identificación de la otitis media con efusión, pero es útil en la evaluación del efecto de las enfermedades del oído medio sobre la audición<sup>32, 33, 93</sup>.

La aspiración de las secreciones del oído medio, es un método que nos sirve para verificar la presencia y tipo de efusión del oído medio y los aspirados obtenidos, posteriormente se analizan por métodos microbiológicos<sup>32</sup>.

La miringotomía puede llevarse a cabo cuando hay complicaciones supurativas, después de la timpanocentesis y también cuando el niño presenta otalgia severa<sup>32, 33, 93</sup>.

Es difícil observar señales por medio del otoscopio para el

diagnóstico de la otitis media en bebés muy pequeños<sup>16</sup>, siendo ésta más común durante los 2 primeros años de vida de los humanos<sup>149</sup>.

Después de la realización del diagnóstico clínico es importante también realizar los métodos y técnicas de laboratorio necesarias para mayor conocimiento y confirmación del diagnóstico obtenido. Los estudios microbiológicos de los aspirados del oído, exudados de nasofaringe y del oído medio, constituyen un diagnóstico invaluable para la clínica<sup>32</sup>.

Las especies bacterianas se pueden identificar por medio de sus características morfológicas y culturales, su Gram y reacción de oxidasa. Entre estas características se puede observar la presencia de diplococos Gram-negativos intracelulares característicos de Moraxella (Branhamella) catarrhalis, aunque también se observan diplococos extracelulares en las muestras clínicas. Otra de las características de dicha bacteria es que su reacción de utilización de hidratos de carbono es negativa<sup>38, 73</sup>.

Las bacterias que se han cultivado de las efusiones en los niños con otitis media, también se han encontrado en la nasofaringe y son: Moraxella (Branhamella) catarrhalis, Haemophilus influenzae y Streptococcus pneumoniae. La frecuencia con la que se presentan estas bacterias varía, dependiendo del área geográfica y de la estación del año<sup>32, 34, 58, 120, 129, 131, 149</sup>.

Obtenidas las muestras clínicas se siembran y aíslan en medios de cultivo adecuados. En la lectura de las placas puede emplearse un método semicuantitativo de las bacterias desarrolladas, basado en la observación de las colonias propias del microorganismo patógeno u oportunista<sup>131</sup>.

Puede aplicarse una terapia racional a los pacientes con otitis media aguda con efusión, cuando se tiene conocimiento del agente etiológico de la enfermedad<sup>129, 149</sup>.

En los casos estudiados, el diagnóstico obtenido se confirmó por medio de la aspiración timpánica. Uno de los grupos de pacientes estudiados recibió terapia antimicrobiana por vía oral durante 10 días. Después de 3 a 5 días de la iniciación del tratamiento, se revisaron los cultivos de sus muestras de fluido del oído medio y de nasofaringe, sembradas en agar sangre y en agar chocolate por medio de métodos estandarizados del Sistema de Microbiología BBL. De las muestras clínicas analizadas se aisló Moraxella (Branhamella) catarrhalis, sola y asociada con otras bacterias patógenas: Haemophilus influenzae y Streptococcus pneumoniae<sup>11, 131, 155</sup>.

El incremento en la frecuencia de la otitis media puede notarse y aún cuantificarse, por medio de la aparición de cepas productoras de beta-lactamasas<sup>155</sup>.

Otro método de laboratorio empleado para el diagnóstico de

la otitis media es aquel en el que existe una relación entre los valores de los títulos de anticuerpos producidos y la edad de los pacientes infectados por Moraxella (Branhamella) catarrhalis, ya que se han observado resultados de títulos bajos o nulos en niños menores de un año de edad, que se incrementaron gradualmente durante la infancia. En cambio, se observaron títulos elevados de anticuerpos IgG e IgA en los sueros de pacientes adultos<sup>86, 87, 116</sup>.

Así los investigadores relacionaron los anticuerpos IgG, IgM e IgA presentes en suero en fluido del oído medio, con el cultivo y aislamiento de dicha bacteria, proveniente de muestras de fluido del oído medio; en los resultados obtenidos, se observó un incremento en el título de anticuerpos producidos entre las fases aguda y convaleciente, en los sueros de niños con otitis media<sup>68, 87, 116</sup>.

Las complicaciones, secuelas y riesgos de la otitis media son variables, se puede presentar: timpanostomía, trauma psicológico, predisposición a desarrollar una enfermedad más severa del oído, daño permanente de la audición, o ambas<sup>150</sup>, aunque la pérdida de la audición es la consecuencia más común de la otitis media con efusión<sup>32</sup>.

Las complicaciones y secuelas de la otitis media ocurren dentro de la cavidad auricular y estructuras adyacentes al hueso temporal<sup>32, 149</sup>.

Otras complicaciones que pueden ocurrir después de la otitis media aguda y crónica con efusión, son meningitis y otras infecciones del Sistema Nervioso Central y esto constituye frecuentemente las bases para emprender la ejecución de operaciones en los niños durante la infancia como la miringotomía con o sin timpanostomía, adenoidectomía y tonsilectomía<sup>149</sup>.

## 2.5 Bronquitis

La bronquitis es la inflamación de la membrana mucosa de los grandes bronquios. El término alude a los síntomas de tos y esputo (excluyendo por lo general aquellos debido a alguna lesión localizada en los pulmones). La enfermedad puede ser aguda o crónica<sup>20,45,153</sup>.

La bronquitis aguda suele ser el resultado de la infección de los conductos aéreos superiores, que se propaga por la tráquea y los bronquios<sup>153</sup>. Puede producirse al desarrollarse sobre las paredes bronquiales, los numerosos microorganismos que se encuentran en las vías respiratorias como Moraxella (Branhamella) catarrhalis, Streptococcus pneumoniae, etc. Para que estos microorganismos, huéspedes habituales inocuos de las vías respiratorias se vuelvan patógenos e inflamen la mucosa bronquial, es preciso la intervención de las llamadas causas predisponentes como pueden ser: el enfriamiento, algunas enfermedades infecciosas

como la gripe, la inhalación de gases tóxicos o de polvos irritantes. Estas causas predisponentes actúan debilitando las fuerzas generales y locales de la defensa antimicrobiana, proporcionando la ocasión de que los microorganismos ataquen la mucosa bronquial debilitada; es decir, que éstos esperan para atacar la mucosa bronquial el momento de crisis cuando las defensas orgánicas están debilitadas por una causa predisponente. La infancia y la vejez, son las edades más predisponentes para padecer la bronquitis aguda<sup>20, 45, 153</sup>.

La enfermedad suele empezar con los síntomas de un enfriamiento corriente: estornudos frecuentes y abundante mucosidad nasal. Aparece después la tos, la expectoración mucopurulenta y el dolor en el centro del pecho (r e t r o e s t e r n a l): se produce tumefacción de la membrana mucosa de la tráquea y una secreción que junto con los leucocitos forma primeramente un esputo fluído que después se vuelve viscoso. El enfermo se siente débil, sin apetito y con dolores reumatoideos difusos; puede existir fiebre moderada; la fiebre elevada denota la infección concomitante de los bronquios más finos<sup>15, 153</sup>.

En pocos días la enfermedad se resuelve, si no se presentan complicaciones como la bronquiolitis o la bronconeumonía. Esto suele ocurrir con cierta frecuencia en los niños, en los viejos y en los individuos débiles y desnutridos, sobre todo cuando no se

toman las medidas oportunas para tratar la enfermedad<sup>15</sup>. La bronquitis aguda ataca, a menudo, la membrana mucosa de la laringe, con lo que el paciente se pone ronco (laringitis) y en ocasiones el paciente presenta dificultades respiratorias<sup>20</sup>.

La fase aguda solamente suele durar unos pocos días, pero la tos puede persistir por espacio de algunas semanas<sup>20</sup>.

Cuando los episodios de bronquitis aguda se repiten frecuentemente por las condiciones ambientales de clima frío y húmedo, ambiente frío y poco soleado, o por una predisposición particular del individuo a enfermar de bronquitis, acaba por instaurarse un estado de bronquitis crónica. En algunas ocasiones puede ésta surgir con los caracteres de cronicidad, desde un principio en los individuos expuestos continuamente a la inhalación de polvos irritantes (mineros, maquinistas de tren, cigarreros, etc.), en los individuos con defectos de la respiración nasal, en los fumadores empedernidos y en los alcohólicos<sup>20, 80</sup>.

El mayor tormento del enfermo es la tos continua, que en la bronquitis crónica seca (relativamente rara) produce escasa secreción bronquial, en tanto que en la bronquitis crónica húmeda (mucho más frecuente) se produce una expectoración abundante mucopurulenta, que acaba con los años adquiriendo un olor fétido (bronquitis crónica fétida)<sup>20</sup>.

La bronquitis crónica puede provocar la aparición de un c

dro caracterizado por una dilatación acentuada de los bronquios (bronquiectasia).

Los procesos crónicos del corazón y diversas enfermedades de los órganos respiratorios pueden desencadenar la forma crónica de la enfermedad. En tales casos, la tos constituye el síntoma más crítico. Normalmente, la membrana mucosa elimina el polvo y las sustancias extrañas del aparato respiratorio: cuando está alterada esta función, se producen más fácilmente las infecciones y, en ocasiones, disminuye la elasticidad de los tejidos pulmonares en forma tal que se altera la respiración<sup>15, 20</sup>.

Rion y colaboradores en 1972, propusieron a Moraxella (Branhamella) catarrhalis como un agente etiológico en casos de exacerbaciones de bronquitis aguda y crónica, ya que realizaron la identificación y cuantificación de esta bacteria en muestras clínicas de esputo proveniente de varios pacientes que padecían la enfermedad mencionada<sup>111</sup>.

Ninanc, Joly y Kravtman, durante 1977, aislaron cepas beta-lactamasa positiva de la bacteria en estudio a partir de aspirados transtraqueales de personas que eran mineros, que padecían antrasilicosis y que al hospitalizarse presentaron exacerbaciones severas de su bronquitis ya fuese aguda o crónica<sup>122</sup>. Los cultivos puros de dicha bacteria los aislaron e identificaron por medio de la metodología descrita en el capítulo 1 y en el anexo. En este

mismo año, Percival, Corkill, Rowlands y Sykes acordaron después de la realización de estudios e investigaciones similares y junto con los investigadores anteriores, algo que ya se había mencionado, el hecho de que Moraxella (Branhamella) catarrhalis es un microorganismo patógeno u oportunista de vías respiratorias, además de que la encontraron con cierta frecuencia, asociada con otras bacterias patógenas como Haemophilus influenzae y Streptococcus pneumoniae en las muestras clínicas estudiadas de los pacientes con estas enfermedades<sup>65, 66</sup>.

En 1978, Ninane y colaboradores continuaron sus investigaciones acerca del papel de Moraxella (Branhamella) catarrhalis en las enfermedades broncopulmonares, observando que las muestras clínicas (esputo y aspirados transtraqueales) fueron bacteriológicamente positivas en más del 50.0% de los pacientes. Las bacterias más comúnmente cultivadas, aisladas e identificadas microbiológicamente a partir de dichas muestras fueron Haemophilus influenzae, Streptococcus pneumoniae y Moraxella (Branhamella) catarrhalis; esta última sola o asociada con las 2 primeras. También consideraron de gran interés el haber encontrado algunas cepas productoras de beta-lactamasas de la bacteria en estudio<sup>123</sup>.

Johnson, Drew y Robert realizaron un estudio en los laboratorios del Hospital Zion Mount y del Centro Médico en San Francisco, California durante 1980 - 1981, en el cual observaron a va

rios pacientes de 60 a 75 años de edad con bronquitis crónica, y además, algunos de ellos presentaban enfermedad pulmonar obstructiva crónica, otros hipertensión, fallas cardíacas o diabetes. Después de las observaciones realizadas, obtuvieron las muestras de esputo de estos pacientes, las cultivaron y aislaron, identificando al agente causal de la bronquitis: Moraxella (Branhamella) catarrhalis<sup>83</sup>.

Nagatake y Matsumoto realizaron una investigación en 74 pacientes con bronquitis aguda y crónica, neumonía aguda y crónica, y enfisema pulmonar con infección; obtuvieron y estudiaron las muestras de esputo de estos pacientes desde 1980 hasta 1984, observando entonces un incremento en la incidencia de estas enfermedades respiratorias causadas también por la bacteria en estudio. Dicha investigación se realizó en el Departamento de Medicina Interna de la Universidad de Nagasaki<sup>145</sup>.

En 1981, Doern y colaboradores aislaron cepas de Moraxella (Branhamella) catarrhalis y de Haemophilus influenzae, provenientes de muestras clínicas de pacientes con infecciones bacterianas como bronquitis aguda y crónica. Para la identificación de dichas bacterias estudiaron sus características morfológicas y bioquímicas<sup>79</sup>. De manera similar, Stobberingh y colaboradores realizaron estas investigaciones, obteniendo resultados parecidos pero durante 1984<sup>118</sup>.

Bogaerts, Lepage, Weghe y Vandepitte pusieron particular interés en estudiar el caso de una niña africana de 2 años y 4 meses de edad, en el Centro Hospitalario de Kigali, Africa en 1985, porque presentaba disnea inspiratoria aguda con fiebre. Los investigadores obtuvieron cultivos puros de Moraxella (Branhamella) catarrhalis a partir de exudados bronquiales purulentos de la niña, analizados e identificados bacteriológicamente<sup>35</sup>.

Los pacientes que padecen bronquitis se caracterizan clínicamente porque padecen fiebre, tos frecuente, dolor de pecho, disnea inspiratoria, dolor de cabeza, somnolencia, cianosis, obstrucción de las vías aéreas e insuficiencia ventilatoria<sup>45, 83, 98, 122, 145</sup>. Tienen gran producción de esputo purulento<sup>83, 122, 145</sup>; sus aspirados endobronquiales y transtraqueales producen un material purulento de color blanco opaco que posee células de pus y diplococos Gram-negativos<sup>35, 122</sup>.

Cuando se realiza la auscultación a estos pacientes, se revela la disminución o ausencia total de los sonidos respiratorios pulmonares<sup>35</sup>.

Debe tenerse cuidado especial para obtener los detalles del grado y duración de la incapacidad respiratoria del paciente, mediante un interrogatorio al mismo paciente o a sus parientes<sup>45</sup>.

También se pueden realizar pruebas de la función pulmonar por medio de la medición de la capacidad vital y del volumen re-

sidual<sup>123</sup>.

Cuando los pacientes presentan colapsos, fiebre, o no responden a la antibioticoterapia adecuada, es importante realizar un examen directo de los aspirados transtraqueales o endobronquiales, por medio de una tinción de Gram y cultivos en medios de cultivo adecuados (por ejemplo: agar sangre y agar chocolate) para el desarrollo, aislamiento e identificación de los microorganismos responsables de la enfermedad de acuerdo con los procedimientos microbiológicos de los Sistemas de Microbiología<sup>35, 45, 83, 123, 145</sup>.

El aislamiento de estos microorganismos a partir de secreciones bronquiales por medio de la aspiración transbronquial, es aceptable como un procedimiento para coleccionar materiales no con taminados del tracto respiratorio inferior<sup>123</sup>.

Después de las observaciones y estudios para la obtención de los diagnósticos clínico y de laboratorio, se realizan estudios básicos adicionales o métodos de gabinete por medio de radiografías o roentgenografías del tórax del paciente, en las que se pueden observar evidencias de neumotórax, infiltraciones en la parte inferior de ambos lóbulos pulmonares, derecho e izquierdo, derrame pleural, enfermedad maligna, etc.<sup>45, 123, 145</sup>.

También se pueden realizar mediciones de la  $P_{O_2}$ , pero es-

ta es aconsejable cuando el paciente padece cianosis, y por medio de un estetoscopio lograr la audición de los estertores torácicos característicos de la región<sup>20</sup>.

## 2.6 Neumonía

La neumonía alude a la inflamación del parénquima pulmonar. Las principales manifestaciones son fiebre, taquipnea, en ocasiones dolor pleural y cianosis así como signos clínicos y radiográficos de consolidación. Puede haber afección intensa del estado general con delirio y colapso circulatorio<sup>45</sup>.

Es precedida, a menudo, por una infección aguda de los conductos aéreos, o por enfermedades víricas como la gripe. La inflamación es producida por muy diferentes tipos de bacterias, el comienzo no es tan brusco, los síntomas son bastante difusos, la fiebre es moderada, hay cefalea, dolores musculares y la tos se presenta gradualmente<sup>15</sup>.

Para que los microorganismos se desarrollen y realicen su acción patógena es necesario que haya ciertas condiciones favorables, en las cuales intervienen varios factores externos e internos constitucionales que predisponen a los pacientes. Entre los primeros están los enfriamientos (por eso, la neumonía es más frecuente en la estación invernal), la inhalación de polvos nocivos y de gases irritantes, las fuertes contusiones sobre el tó-

rax, o cuando existe debilidad del organismo por diabetes, nefritis, alcoholismo, etc. Entre los factores internos constitucionales existe una predisposición individual y familiar, en el sentido de que ciertos individuos y familias, por causas constitucionales aún oscuras, enferman con más facilidad y repetidamente de neumonía<sup>15, 20, 80</sup>.

La infección se produce por inhalación, es decir, por vía respiratoria pulmonar: la enfermedad no es contagiosa y no requiere el aislamiento del enfermo<sup>153</sup>, en su forma más típica se inicia de improviso con fiebre a veces muy elevada, escalofríos intensos, malestar general, tos seca, dolor de cabeza: el paciente advierte un dolor transictivo en forma de pinchazo sobre el tórax, y tiene una expectoración escasa, sólida adherente, que pronto adquiere el color de herrumbre (por la sangre que contiene). La respiración es disneica, los labios están azulados (cianóticos), el pulso es muy frecuente. Sobre todo en los alcohólicos crónicos, en quienes la neumonía (pulmonía) es con bastante frecuencia mortal, pueden surgir estados delirantes. Además de estos síntomas de grave intoxicación general, existen síntomas físicos locales que se manifiestan mediante el examen del tórax<sup>20, 45, 80</sup>.

Las complicaciones frecuentes son picuritis, absceso pulmonar, otitis media, miocarditis, etc.

La neumonía tiende a afectar a los individuos ancianos confi-

nados en cama. No es raro que ocasione la muerte en pacientes con su resistencia física disminuida<sup>45</sup>.

Louie, Gabay, Mathisen y Finegold realizaron un estudio en la Sección de Enfermedades Infecciosas del Centro Médico Wadsworth de Los Angeles, durante 1975 a 1980, las características que presentaron los 5 pacientes sometidos al mismo se presentan en la tabla No. 11<sup>95</sup>.

Tabla No. 11 Características de los pacientes con neumonía producida por Moraxella (Branhamella)  
catarrhalis<sup>95</sup>

Pacien- te	Edad	Sexo	Fecha estudio	Otros patógenos aislados	Enfermedad fundamental	Cuenta inicial leucoc. cel/l.	Signos físicos presentados			
							T °C	Cor- zón lat/min.	Respi- raciones	Datos del tórax
1	24	M	junio 1975	<u>Haemophilus</u> <u>Influenzae</u>	Hipogamma globuline- mia	18,800	39.1	90	20	
2	72	M	dic. 1977	Ninguno	Falla con- gestiva del corazón	15,900	38.3	130	30	Disminu- ción de los ruidos res- piratorios
3	62	M	marzo 1978	Ninguno	Neumonía	18,600	39.4	120	22	
4	63	M	dic. 1978	<u>Haemophilus</u> <u>Influenzae</u>	Hemocroma- tosis, al- coholismo	10,900	38.9	110	18	Disminución de los rui- dos respira- torios
5	28	M	mayo 1980	Ninguno	Lupus erit. matoso dis- minuido, in- suficiencia renal	22,000	39.1	108	24	Respiración difusa con dificultad

Mc Neely y colaboradores reportaron un caso de neumonía producida por la bacteria en estudio en un paciente inmunodeficiente, obtuvieron y confirmaron el diagnóstico por medio de los análisis microbiológicos realizados a las muestras de aspirados transtraqueales y la observación de la presencia de diplococos Gram-negativos en tejido pulmonar<sup>133</sup>.

En 1977, Doern, Miller y Winn detectaron a la bacteria mencionada como agente etiológico de enfermedades humanas sistémicas serias (neumonía y bacteremia) en 2 pacientes que fueron admitidos para estudio en el Health Sciences Center de la Universidad de Oregon, en Portland. Se examinaron clínicamente a los pacientes e identificaron al agente causal por medio de los procedimientos microbiológicos a los que fueron sometidas sus muestras<sup>77</sup>.

Entre agosto de 1979 y septiembre de 1980, West, Berk y Smith observaron que 102 pacientes del Centro Médico VA de la Ciudad de Johnson, tuvieron evidencias clínicas, bacteriológicas y radiológicas de neumonía con una o más bacterias patógenas aisladas a partir de muestras de aspirados transtraqueales. Dos de estos pacientes tuvieron sus cultivos puros de Moraxella (Branhamella) catarrhalis aislados a partir de sus aspirados y confirmados de acuerdo con los procedimientos del Sistema de Microbiología BBL (las pruebas de utilización de carbohidratos y producción

de pigmento negativas, reducción de nitratos positiva, etc)<sup>24</sup>.

Srinivasan, Raff, Templeton, Givens, Graves y Melo reportaron algunos casos de pacientes admitidos en la Sección de Enfermedades Infecciosas del Departamento de Medicina de la Universidad de Louisville en 1980, con neumonía producida por la bacteria mencionada, identificada por los resultados obtenidos de los cultivos de esputo y aspirados transtraqueales, sintomatología, datos clínicos y radiografías observadas y estudiadas en los laboratorios de Microbiología Clínica de la misma Universidad. Casi todos estos pacientes fueron inmunodeficientes o con enfermedades pulmonares<sup>86, 105</sup>.

Durante 1980 y 1981, Johnson, Drew y Roberts realizaron un estudio en los laboratorios del Hospital Zion Mount y del Centro Médico en San Francisco, California, sobre pacientes de 53 a 81 años de edad con neumonía y que también presentaban fallas cardíacas y arterioesclerosis. Los investigadores aislaron a Moraxella (Branhamella) cararrhals de las muestras de esputo provenientes de dichos pacientes, de acuerdo con los procedimientos microbiológicos y basados en los resultados de sus radiografías de tórax, que presentaron infiltrados en las partes inferiores de los lóbulos<sup>83</sup>.

Verghese y Berk en 1982 se interesaron particularmente en estudiar varios reportes acerca de casos de pacientes que además

de tener ciertas enfermedades (tabla No. 12) tenían neumonía causada por Moraxella (Branhamella) catarrhalis<sup>25</sup>.

Tabla No. 12 Casos de pulmonía producidos por Moraxella (Branhamella) catarrhalis reportados por diferentes investigadores<sup>25</sup>.

Pac.	Edad	Sexo	Enfermedad principal	Investigador
1	82	F	Linfoma linfocítico crónico	Srinivasan <sup>105</sup>
2	64	M	Alcohólico, enfermedad pulmonar obstructiva crónica	Srinivasan <sup>105</sup>
3	21	M	Alcohólico	Doern <sup>77</sup>
4	74	M	Mieloma	Mc Neely <sup>137</sup>
5	53	M	Fallas cardíacas congestivas	West <sup>24</sup>
6	64	M	Enfermedad pulmonar obstructiva crónica maligna	West <sup>24</sup>
7	53	M	Neumonía recurrente	Johnson <sup>83</sup>
8	51	M	Enfermedad pulmonar obstructiva crónica y arterioesclerosis	Johnson <sup>83</sup>
9	51	F	Enfermedad pulmonar obstructiva crónica y arterioesclerosis	Johnson <sup>83</sup>
10	73	F	Adenoma metastásico	Johnson <sup>83</sup>

Nicotra, Rivera, Luman y Wallace estudiaron durante un período de 8 meses (desde diciembre de 1982 hasta julio de 1983), a 150 pacientes con enfermedades pulmonares en los Departamentos de Medicina, Patología y Microbiología de la Universidad de

Texas. Colectaron todas las muestras de esputo de estos pacientes para teñirlas por medio de la tinción de Gram, cultivarlas e identificar mediante varias pruebas bioquímicas a los agentes etiológicos, en casi todas las muestras fue Moraxella (Branhamella) catarrhalis, ya que la encontraron sola y asociada con otras bacterias patógenas como Streptococcus pneumoniae y Haemophilus influenzae<sup>139</sup>.

En 1983, Malkamäki, Honkanen, Leinonen y Mäkelä realizaron estudios en el Instituto Nacional de Salubridad Pública de Helsinki en Finlandia, acerca del desarrollo de un inmunoensayo enzimático para medir la producción de anticuerpos contra Moraxella (Branhamella) catarrhalis en suero, como una evidencia más de su papel patogénico. Este inmunoensayo puede servir para confirmar el diagnóstico de enfermedades producidas por dicha bacteria obtenido mediante los datos clínicos, técnicas de laboratorio y las llamadas de gabinete<sup>117</sup>.

Pollard, Wallace, Nash, Luman y Wilson estudiaron la incidencia de la bacteria mencionada en el tracto respiratorio inferior de adultos (principalmente ancianos) y de niños estadounidenses. Desde enero de 1983 a junio de 1985 colectaron 4,180 muestras endotraqueales, de fluido pleural y de esputo, provenientes de estos pacientes admitidos en un Hospital de Enfermedades Respiratorias de Estados Unidos para analizarlos en los Departamentos de

Microbiología y Patología. Analizaron estas muestras por medio de tinciones de Gram, sus cultivos y su identificación bioquímica, logrando así 220 cultivos aislados de dicha bacteria en 180 pacientes. Las bacterias más identificadas fueron Haemophilus influenzae, Streptococcus pneumoniae y Moraxella (Branhamella) catarrhalis. Esta última se encontró en 124 cultivos puros y en 96 cultivos mixtos. También observaron que su número e incidencia prevalecieron sobre todo durante los meses de invierno<sup>137,138</sup>.

Roth, Gleckman y Hibert del Hospital de Saint Vincent de Massachusetts, establecieron la importancia de la bacteria en estudio en 1984, como un patógeno pulmonar en pacientes ancianos aunque algunos investigadores no lo reconocen como tal. Para ello, investigaron a los pacientes con enfermedades pulmonares de este hospital, obtuvieron los datos clínicos, sus muestras de esputo, aspirados transtraqueales y sangre para analizarlas de acuerdo con los procedimientos y técnicas de laboratorio adecuadas para obtener su diagnóstico y así pudieron aplicar un tratamiento propio de estas enfermedades<sup>106</sup>.

En un estudio posterior realizado por Robinson, Griffith y Johnson durante 1983 a 1986, examinaron varias cepas de Moraxella (Branhamella) catarrhalis que causaron neumonía y bronconeumonía a varios pacientes hospitalizados en el Hospital Hermann de Houston, Texas. Llegaron a la conclusión anterior, después

de que realizaron el examen clínico y radiológico de estos pacientes, las tinciones de Gram, cultivos y pruebas bioquímicas a los especímenes de esputo y aspirados transtraqueales<sup>109</sup>.

La neumonía producida por Moraxella (Branhamella) catarrhalis ocurre frecuentemente en pacientes con enfermedades pulmonares crónicas, ancianos, pediátricos e inmunodeficientes. Los pacientes que padecen neumonía se caracterizan porque presentan: disnea, algunos sufren episodios de cianosis, fiebre, escalofríos, otros sufren trasudores nocturnos, tos cada vez más frecuente, dolor de pecho y espalda, anorexia, palidez, pérdida de peso, disminución de los ruidos respiratorios, algunos sufren traqueobronquitis febril aguda o neumonía bacteriana aguda franca, incremento en la cantidad o purulencia del esputo como reflejo de las exacerbaciones de la enfermedad pulmonar (algunos producen esputo sangriento), casi todos presentan leucocitosis, otros presentan infiltrados irregulares rápidamente progresivos o invasión bacteriana de la corriente sanguínea, algunos padecen dolor pleurítico, mialgia, rinorrea y salpullido<sup>9, 24, 83, 95, 105, 106, 139, 144</sup>.

El diagnóstico clínico en general, no ofrece dificultades, salvo en los casos de pulmonía en donde faltan al principio los síntomas locales torácicos<sup>20, 45</sup>. Puede realizarse un examen físico del paciente y mediciones de su temperatura, presión sanguínea, pulso, respiraciones por minuto, latidos cardíacos y su hemoglo-

bina 77, 106, 109, 117, 139, 144.

Para la realización del diagnóstico de neumonía por medio de procedimientos de laboratorio, es importante el examen temprano de un frotis del esputo y/o aspirado transtraqueal sujetos a tinción de Gram en los pacientes con neumonía, para la diferenciación de los agentes etiológicos Gram-negativos como Moraxella (Branhamella) catarrhalis, de los Gram-positivos. La tinción de Gram de estos especímenes mostró leucocitos polimorfonucleares y diplococos Gram-negativos tanto intracelular como extracelularmente 24, 25, 45, 77, 95, 105, 109, 137, 138, 139, 144.

Siempre es deseable el cultivo del esputo y aspirados endotraqueales o transtraqueales, sobre todo es muy importante en los pacientes críticamente enfermos, en quienes no puede retardarse el tratamiento hasta que se disponga de los resultados del laboratorio. La bacteria en estudio crece rápidamente sobre agar sangre y agar chocolate, y puede distinguirse de las especies del género Neisseria por medio de los métodos de laboratorio de rutina 24, 25, 45, 77, 95, 105, 106, 109, 117, 137, 138, 144, 147.

Este diagnóstico depende de la buena calidad tanto de la tinción de Gram, como del o los cultivos de las muestras en estudio. En la mayoría de los casos, la tinción de Gram revela la presencia de varios microorganismos y algunos pueden tener apariencia morfológica parecida a la de Moraxella (Branhamella) ca-

catarrhalis<sup>144</sup>.

El cultivo de líquido pleural puede proporcionar corroboración útil del significado de los hallazgos en el esputo, y la aspiración pulmonar con una aguja de fino calibre puede, en ocasiones justificarse, en pacientes con dificultades, y que son objeto de preocupación seria<sup>45</sup>.

Un estudio comparativo mostró que la aspiración transtoraquel ofrece una ventaja pequeña adicional si el espécimen de esputo es de buena calidad<sup>144</sup>.

El desarrollo de anticuerpos IgG específicos durante la fase convalesciente y después de la enfermedad producida por Moraxella (Branhamella) catarrhalis se ha demostrado en el 90.0% de los pacientes, entonces se sugirió que la infección ha sido suficientemente invasiva como para producir una respuesta inmunológica<sup>117,139,144</sup>. Cuando hay episodios múltiples o repetidos de la enfermedad broncopulmonar producida por esta bacteria, puede ser que esto refleje deficiencias inmunogénicas o simplemente fallas del sistema inmune local en los pacientes con daños pulmonares. En estos pacientes se encuentra e identifica frecuentemente a las otras bacterias patógenas ya vistas, asociadas a la bacteria mencionada<sup>144</sup>.

En los pacientes muy graves, es a menudo muy útil llevar a cabo hemocultivos<sup>45,139</sup>.

También es importante y confirmativo el realizar biopsias de

tejido pulmonar para el diagnóstico de neumonía y en éstas se pueden observar diplococos Gram-negativos intracelulares<sup>24</sup>.

Moraxella (Branhamella) catarrhalis se ha observado sobre secciones histológicas y cultivos a partir de tejido pulmonar en la autopsia de pacientes que murieron de neumonía<sup>139</sup>.

El diagnóstico de neumonía obtenido clínicamente y por medio del laboratorio, puede confirmarse mediante roentgenografías (mejor conocidas como radiografías) de tórax<sup>20, 45, 77, 83, 117, 139</sup>.

Es importante realizar una radiografía (o roentgenografía) de tórax, lo más pronto posible cuando se observe al paciente gravemente enfermo. La extensión y el patrón de los cambios que se muestran en las radiografías es muy variable, pero virtualmente casi siempre se observa opacidad de por lo menos una sección del campo pulmonar. La radiografía de tórax puede revelar evidencias de la enfermedad, por ejemplo: signos sugestivos de embolia pulmonar, infiltrados alveolares, neumónicos lobular y multilobular, y bronconeumónicos, infiltrados lobulares inferiores derecho e izquierdo, cardiomegalía, hiperinflamación de los pulmones, consolidación lobular, etc. El examen del tórax puede mostrar un incremento en el diámetro antero-posterior con hiperresonancia difusa<sup>24, 25, 45, 95, 106, 117, 137, 139, 144</sup>.

## 2.7 Bronconeumonía

Bronconeumonía es el tipo de neumonía más común en el que hay afección en las placas del parénquima pulmonar, en particular en las zonas bajas<sup>45</sup>. En estado normal, la porción inferior del árbol respiratorio es aséptica. Las bacterias inhaladas durante la inspiración, que pueden incluir patógenos potenciales, son eliminadas por los mecanismos normales de defensa. Entre estos mecanismos de depuración o expulsión hay dos de importancia mayor; a saber: el epitelio ciliado íntegro, sobre el cual se mueve en sentido ascendente una capa continua de moco y la presencia de macrófagos alveolares competentes. Es patente que cualquier factor que dificulte los mecanismos normales de defensa predispone a la neumonía bacteriana. La invasión bacteriana de los pulmones origina reacción exudativa maciza (consolidación), en la cual los alvéolos están ocupados por células inflamatorias. Cuando ocurre la consolidación en zonas irregulares, en un lóbulo o en un pulmón, el cuadro anatómico se llama bronconeumonía<sup>153</sup>.

Los microorganismos responsables de la infección generalmente son: Streptococcus pneumoniae y Moraxella (Branhamella) catarrhalis, aunque pueden presentarse otros; en las llamadas bronconeumonías mixtas son varios los microorganismos que concurren a la vez para provocar la enfermedad. Contribuyen a facilitar el

desarrollo y la acción patógena de estos microorganismos sobre el tejido broncopulmonar, la mayoría de las veces, un enfriamiento, un golpe de aire, la inhalación de polvos o gases irritantes, una enfermedad infecciosa previa (gripe, tosferina, etc.). En los niños y en los viejos es frecuente que una bronquiolitis y hasta una bronquitis aguda febril evolucionen hacia una bronconeumonía 15, 20, 80.

Finalmente se debe recordar la bronconeumonía de tipo hipostática, que aparece en los ancianos, paralíticos, fracturados, etc., que conservan la posición horizontal en cama durante mucho tiempo. Pero hay que tener presente que todas estas causas son solamente predisponentes, ya que la verdadera causa determinante de la bronconeumonía es siempre el desarrollo de los microorganismos mencionados sobre el tejido broncopulmonar<sup>20, 80</sup>.

La iniciación clínica de la enfermedad suele ser lenta, progresiva, por grados, lo que la diferencia de la neumonía común; únicamente en los niños se asiste, en algunas ocasiones, a un comienzo agudo, violento. Uno de los primeros síntomas es la fiebre, no muy alta, que va poco a poco elevándose hasta alcanzar un máximo de 38 - 39°. Un criterio diferencial entre estas dos enfermedades lo constituye la aparición de un dolor pungitivo torácico inicial en la neumonía<sup>20, 153</sup>.

Después de la fiebre, que puede faltar en la bronconcu-

nfa de los ancianos, síntoma de mal pronóstico porque demuestra la escasa resistencia orgánica, ya que la fiebre es un fenómeno de defensa frente a la infección; se presentan frecuentemente una tos más o menos molesta, expectoración mucopurulenta a menudo estriada de sangre, disnea intensa, color azulado (cianosis) de los labios y la cara<sup>20,45</sup>.

A la exploración del tórax se puede apreciar una disminución de la sonoridad a la percusión y unos estertores crepitantes con un soplo bronquial a la auscultación: todo ello diseminado por los dos campos pulmonares, como corresponde a los diversos focos inflamatorios de la bronconeumonía<sup>45</sup>.

En los individuos alcohólicos y en los intoxicados o con su sistema inmunológico debilitado, es frecuente la aparición de trastornos nerviosos como el delirio y síntomas de meningismo, así como también síntomas cardiocirculatorios (adnamia cardíaca y colapso)<sup>15, 80</sup>.

Son fáciles las recidivas y no es rara la aparición de complicaciones como la pleuritis serosa, el empiema, el absceso pulmonar, la bronquiectasia y la tuberculosis incluso. Más frecuentes y más graves son las bronconeumonías del anciano, las cuales evolucionan con relativa benignidad de sus síntomas y a menudo sin fiebre (que demuestra la disminución de las fuerzas orgánicas defensivas de pronóstico desfavorable); las bronconeumonías de

los niños, muy frecuentes durante el primer año de vida y después cada vez menos frecuentes, pueden presentar gravísimos síntomas de intoxicación general y manifestaciones de insuficiencia cardíaca (bronconeumonía de tipo cardiovascular)<sup>20, 45, 80</sup>.

El pronóstico de esta enfermedad debe ser siempre reservado, sobre todo cuando afecta a ancianos, niños, alcohólicos crónicos, desnutridos, obesos, cardíacos, bronquíticos crónicos, diabéticos y convalescientes de gripe. En estos casos el organismo debe afrontar la enfermedad en condiciones desfavorables, ya sea por la disminución de las defensas orgánicas o por las condiciones cardiovasculares<sup>20, 153</sup>.

Ninane y colaboradores en 1978, encontraron que algunas cepas de Moraxella (Branhamella) catarrhalis productoras de beta-lactamasas, causaron enfermedades broncopulmonares en algunos pacientes que trabajaban en las minas y después de que obtuvieron los diagnósticos, los sometieron a tratamiento con los antibióticos adecuados para erradicar al agente causal<sup>124</sup>.

Durante un período de 2 meses (febrero y marzo de 1980), Graevenitz y Rathbone colectaron muestras de secreciones respiratorias (muestras de esputo y aspirados endotraqueales) de pacientes con enfermedades broncopulmonares y las analizaron en los laboratorios de Microbiología Clínica del Hospital Yale, New Haven. Solamente en 24 de 1,060 muestras clínicas encontraron

cultivos "puros" de Moraxella (Branhamella) catarrhalis (asociada con las otras bacterias de la flora habitual), por lo que propusieron que la bacteria mencionada era probablemente un microorganismo patógeno respiratorio<sup>107</sup>.

Thornley, Atken, Nichol y Slevin estudiaron las características microbiológicas de varios cultivos de esputo provenientes de pacientes con enfermedades broncopulmonares del Hospital Princess Margaret de Christchurch, Nueva Zelanda desde 1981 hasta 1984. Lograron diagnosticar 57 casos de estas enfermedades durante los períodos de otoño e invierno de 1981. Pero en 1984 observaron un incremento en el número de pacientes, hasta 101 casos diagnosticados. Así, Slevin y colaboradores lograron identificar sola a Moraxella (Branhamella) catarrhalis en los esputos de 71 pacientes estudiados en 1984, y en el resto de los pacientes, la encontraron asociada con otras bacterias: en 17 con Haemophilus influenzae, en 7 con Streptococcus pneumoniae, en 3 con ambos, en 2 con Staphylococcus aureus y en 1 con Klebsiella sp.<sup>9, 10</sup>.

McLeod, Capewell y colaboradores realizaron un estudio del número de cepas aisladas de Moraxella (Branhamella) catarrhalis que causaron enfermedades broncopulmonares a 15 mujeres y 48 hombres (ambos sexos con una edad promedio de 69 años), desde enero de 1981 hasta abril de 1984 (tabla No. 13)<sup>4</sup>:

Tabla No. 13 Número de cepas aisladas de Moraxella (Branhamella) catarrhalis que causaron enfermedades bronco-pulmonares desde enero de 1981 hasta abril de 1984<sup>4</sup>

	1981		1982		1983		1984	
	a	b	a	b	a	b	a	b
Enero	1	1	13	6	22	14	14	9
Febrero	5	2	9	3	14	5	5	4
Marzo	4	2	5	2	15	7	14	12
Abril	2	1	1	0	4	4	11	9
Mayo	0	0	0	0	14	11		
Junio	1	0	3	2	11	9		
Julio	2	0	3	1	8	4		
Agosto	4	3	2	0	2	1		
Septiembre	3	1	1	0	4	2		
Octubre	2	1	1	0	3	1		
Noviembre	4	2	8	3	14	8		
Diciembre	4	1	18	11	5	2		

a = Número de cepas aisladas;

b = Número de cepas aisladas productoras de beta-lactamasas

Dicha bacteria se aisló en cultivos puros a partir del esputo de 49 pacientes. La tinción de Gram de estas muestras mostró numerosos neutrófilos con muchos diplococos Gram-negativos tanto intra como extracelulares. En el resto de los pacientes (14)

Moraxella (Branhamella) catarrhalis se aisló junto con Haemophilus influenzae y/o Streptococcus pneumoniae<sup>4</sup>

En Holanda, Davies y Maesen analizaron cultivos de esputo de pacientes con enfermedades respiratorias durante 1981 a 1985, observando pequeñas variaciones a través de este tiempo en la proporción de cultivos puros de Moraxella (Branhamella) catarrhalis, porque varió entre 17.0 y 23.0%. En cambio, el porcentaje de cultivos de esta bacteria junto con Haemophilus influenzae y Streptococcus pneumoniae varió entre 70.0 y 75.0%, durante estos 5 años<sup>68</sup>. Durante un período de 2 años: 1982 y 1983, Shurin y colaboradores colectaron 172 cultivos puros provenientes del esputo de 140 pacientes con enfermedades broncopulmonares, analizándolas en el Laboratorio de Microbiología de la Universidad de Texas identificando a la bacteria en estudio de acuerdo con sus características morfológicas, culturales y bioquímicas<sup>146</sup>.

En el Departamento de Bacteriología del Hospital de la ciudad de Edinburgh, Croughan, Calder, Mc Leod, Ahmad, Power, Capewell y Seaton observaron un incremento marcado en el número de cepas aisladas de Moraxella (Branhamella) catarrhalis a partir de muestras de esputo de 144 pacientes con síntomas y signos de enfermedad broncopulmonar. Este estudio correspondió a 2 períodos invernales (de noviembre de 1982 a abril de 1983 y de noviembre de 1983 a abril de 1984): en el primero de ellos aislaron

63 cepas puras de la bacteria mencionada identificándolas por medio de su comportamiento respectivo.

En el segundo, aislaron 81 cepas de las cuales 14 resultaron combinadas con Haemophilus influenzae. Del total de pacientes, eran 94 hombres y 47 mujeres, en ambos sexos la edad fluctuó entre 22 y 88 años y las enfermedades que padecieron fueron: 75 pacientes bronquitis crónica y enfisema pulmonar, 25 carcinoma bronquial, 21 asma, 12 neumonía y 11 bronquiectasias o fibrosis pulmonar. Finalmente, los investigadores concluyeron que Moraxella (Branhamella) catarrhalis es un microorganismo patógeno oportunista importante e identificable microbiológicamente a partir de muestras del tracto respiratorio inferior y como detectaron que algunas de sus cepas fueron productoras de beta-lactamasas, propusieron que es importante emplear antibióticos adecuados en el tratamiento de estas enfermedades, porque de no ser así, se produciría un incremento en los índices de morbilidad y de mortabilidad<sup>2, 4, 6</sup>.

En otro breve estudio posterior realizado por Aitken y Thornley en 1983 acerca de la bronconeumonía aguda en 11 pacientes, observaron diplococos Gram-negativos intra y extraleucocitarios en las muestras de esputo y aspirados transtraqueales de estos pacientes. Después realizaron su identificación por medio de sus características microbiológicas<sup>8</sup>.

Recientemente, varios investigadores en 1985, realizaron unos estudios acerca de la actividad bactericida del suero de pacientes con enfermedades broncopulmonares frente a cepas de Moraxella (Branhamella) catarrhalis aisladas de los mismos pacientes, mostrando un título ascendente durante el curso de la enfermedad y observando que las cepas fueron resistentes al suero normal. Obtenidos los resultados de esta investigación, sugirieron que las enfermedades broncopulmonares producidas por dicha bacteria, causan una respuesta inmune por medio de la producción de anticuerpos IgG, medidándose la actividad bactericida en el suero por medio de la vía clásica del complemento<sup>87,116</sup>.

Desde octubre de 1985 hasta marzo de 1986, Griffiths, Purohit y Leonard aislaron cultivos de Moraxella (Branhamella) catarrhalis como el microorganismo que más predominaba a partir de muestras de esputo de 56 pacientes (24 mujeres y 32 hombres) hospitalizados en el Hospital Royal Liverpool. Todos los pacientes tenían 50 años de edad o más, excepto 2 (una de 27 años de edad con trasplante renal y otra de 24 años con bronquiectasia). La mayoría de estos pacientes eran fumadores o exfumadores (41) y/o tenían enfermedades pulmonares crónicas como, 17 pacientes con bronquitis crónica y enfisema, 5 con fallas cardíacas congénitas, 4 con asma y 3 con carcinoma bronquial. Además, 4 pacientes tuvieron enfermedades asociadas con estado de inmunosu-

presión generalizado: 2 pacientes con leucemia aguda, una con trasplante renal y otro con síndrome mielodisplástico. Moraxella (Branhamella) catarrhalis se aisló e identificó microbiológicamente como patógeno único en 45 pacientes, combinado con Haemophilus influenzae en 9 pacientes y en 2 con Streptococcus pneumoniae<sup>108</sup>.

Davies y Maesen estudiaron a 338 pacientes con enfermedades respiratorias admitidos en los Departamentos de Enfermedades Respiratorias, de Microbiología o de Pediatría del Hospital de Wever Ziekenhuis, en Holanda, desde enero hasta abril de 1986. Durante este período, cultivaron e identificaron a partir de las muestras de esputo de dichos pacientes a Moraxella (Branhamella) catarrhalis, como única especie en 88 de ellos y asociada en otros con H. influenzae y/o S. pneumoniae<sup>67</sup>.

Los pacientes con enfermedades broncopulmonares pueden presentar exacerbaciones en las que se presenta disnea, fiebre, pirexia, producción de esputo purulento de color blanco mate o verde claro, tos muy frecuente, radiografía de tórax anormal (oscurecimiento u opacidad pulmonar irregular en las radiografías del tórax) y leucocitosis<sup>2, 4, 6, 9, 10, 107, 123, 124</sup>.

La producción de la desoxirribonucleasa de Moraxella (Branhamella) catarrhalis, es capaz de inflamar las membranas de la mucosa respiratoria<sup>3</sup>.

El diagnóstico clínico en general, no ofrece dificultades ya que hay que realizar la observación de la apariencia y los datos clínicos característicos del paciente en estudio<sup>9</sup>.

Para la realización del diagnóstico del laboratorio, al observarse diplococos Gram-negativos intra y extraleucocitarios en las muestras de esputo y aspirados transtraqueales (endotraqueales) provenientes de pacientes con enfermedades broncopulmonares, puede sospecharse de la presencia de Moraxella (Branhamella) catarrhalis como agente etiológico pero debe confirmarse por medio de su cultivo en agar sangre o en agar chocolate identificando su morfología característica tanto macroscópica como microscópica, finalmente, se realiza su identificación por medio de pruebas bioquímicas<sup>2, 4, 8, 9, 104</sup>.

En algunos otros estudios, realizados en el Instituto Nacional de Salubridad de Wellington, Nueva Zelanda, como en los anteriores mencionados, se confirmó también la presencia de dicha bacteria. Además, se pueden encontrar a otras bacterias patógenas asociadas a ella como las varias veces citadas Haemophilus Influenzae y Streptococcus pneumoniae<sup>2, 4, 8, 9</sup>.

También la toma de radiografías o roentgenogramas del tórax, ayuda a la confirmación de los diagnósticos clínico y de laboratorio<sup>45, 107</sup>, por lo que una radiografía de tórax es importante en alguna etapa de la enfermedad, y lo más pronto posible en

el caso de que el paciente esté gravemente enfermo y requiera hospitalización. La radiografía de tórax puede revelar evidencia importante de la enfermedad relacionada, por ejemplo carcinoma bronquial<sup>45</sup>.

## 2.8 Pacientes normales y pacientes inmunodeficientes<sup>100</sup>.

Considerando la naturaleza continua de nuestros encuentros con los microorganismos y a pesar de la relación recíproca a menudo benéfica, es sorprendente que las infecciones no sean más frecuentes. Sin embargo, a través del tiempo, el humano ha adquirido un mecanismo sofisticado para enfrentarse con los microorganismos patógenos invasivos potenciales. Tal mecanismo es la esencia de la resistencia natural, la cual se puede definir como los efectos protectores combinados de las barreras anatómicas, fagocitosis celular fundamental, digestión por fagocitos y mecanismos efectores (como el complemento), todos los cuales son modificados por el estado nutricional, hormonal y de conformación genética<sup>100</sup>.

Cuatro sistemas inmunológicos principales ayudan al individuo en la defensa contra el asalto constante de los virus, bacterias y hongos que pueden producir infección y enfermedad. Estos sistemas consisten en la inmunidad mediada por anticuerpos (células B), la inmunidad mediada por células (células T), la fagocitosis y el com

plemento. Cada sistema puede actuar independientemente o junto con uno o más de los otros.

La deficiencia de uno o más de estos sistemas puede ser congénita (por ejemplo, hipogammaglobulinemia infantil ligada al sexo) o adquirida (por ejemplo, hipogammaglobulinemia adquirida)<sup>100,158</sup>.

En general, los síntomas de inmunodeficiencia están relacionados con el grado de deficiencia y con el sistema particular, que es funcionalmente deficiente. Las causas predisponentes presentes frecuente y altamente sospechosas son: infección crónica, infección recurrente (más de lo esperado), agentes infecciosos raros y la curación incompleta entre episodios de infección o respuesta incompleta al tratamiento<sup>100</sup>.

El tipo de infección que ocurre, a menudo da una pista importante para el tipo de enfermedad por inmunodeficiencia. La otitis media bacteriana recurrente y la neumonía son comunes en la hipogammaglobulinemia. La infección generalizada con microorganismos bacterianos raros, normalmente de baja virulencia, es característica de la enfermedad granulomatosa crónica.

Toda una gama de funciones normales actúa para reducir continuamente la carga bacteriana del cuerpo. La escalera mecánica mucociliar del sistema respiratorio lleva los microorganismos y el material extraño a la bucofaringe, donde pueden ser expulsados

por la tos<sup>100</sup>.

Una vez que los microorganismos han abierto una brecha en los mecanismos de defensa local, se ponen en juego numerosos eventos inmunológicos relacionados de manera predominante con la actividad de 2 tipos de fagocitos, los leucocitos polimorfonucleares y los fagocitos mononucleares. Las membranas de estas células poseen receptores especiales para la porción Fc de las moléculas IgG y para la proteína C<sub>3</sub> activada del complemento. Estos receptores aumentan el proceso de fagocitosis, ayudando a la digestión de microorganismos con IgG o C<sub>3</sub> activada sobre su superficie. Los fagocitos facultativos incluyen, en contraste, las células endoteliales, las células epiteliales, los fibroblastos y otras células que ingieren microorganismos en condiciones especiales, pero que no poseen receptores especializados de membrana para IgG o C<sub>3</sub><sup>100</sup>.

Los leucocitos neutrófilos polimorfonucleares se relacionan principalmente con la destrucción de los microorganismos que para sobrevivir, deben de evadir la fagocitosis. Una vez ingeridos, dichos microorganismos por lo general perecen.

El papel de los factores humorales en la infección general, se relacionan primordialmente con el aumento de la función de los fagocitos a través de los procesos de quimiotaxis y opsonización. En muchos aspectos, el sistema inmunitario humoral propor

ción específica al sistema fagocitario. Sin embargo, algunos mecanismos de la actividad antimicrobiana son mediados exclusivamente por factores humorales<sup>100</sup>.

Muchas bacterias Gram-negativas pueden ser lisadas directamente por el suero en presencia del anticuerpo específico (bacteriolisis) y de una vía clásica intacta del complemento. Para que ocurra la bacteriolisis se requiere de la activación de la secuencia de ataque completo de la cascada del complemento.

Un sistema inmune que funciona normal es una defensa eficaz contra partículas extrañas como los agentes microbianos patógenos y contra las células propias que han sufrido una transformación neoplásica. Una función defectuosa del sistema inmune trae como consecuencia la enfermedad<sup>100, 158</sup>.

Según investigaciones realizadas por varios investigadores desde 1976 hasta 1985, se propone que Moraxella (Branhamella) catarrhalis no es una bacteria muy delicada y es capaz de sobrevivir en muestras de esputo secas durante algunos intervalos. Esta característica no se aprecia generalmente, pero amerita dársele énfasis, particularmente ahora que se reconoce como un microorganismo potencialmente patógeno u oportunista y que produce enfermedades en pacientes normales (aparentemente) e inmunodeficientes (pacientes con daños localizados en sus mecanismos de defensa) o en aquellos con enfermedades broncopulmonares cróni-

cas y en ancianos<sup>4,6,35,95</sup>. Las características clínicas de las enfermedades mencionadas anteriormente, son similares a las de aquellas causadas por otros microorganismos patógenos, por ejemplo Haemophilus influenzae y Streptococcus pneumoniae. También se considera útil la cuenta de glóbulos blancos ya que en el 50.0% de los pacientes se observaron valores dentro del intervalo de los valores de referencia<sup>6</sup>.

Históricamente, la virulencia de la bacteria en estudio parece fluctuar. Desde mediados de los 70s, varios reportes de diferentes ciudades sugirieron que cada vez aparecen microorganismos más virulentos<sup>4,71</sup>.

Entre los factores que causan la inmunosupresión generalizada, observados por Slevin, Aitken, Thornley y otros investigadores que realizaron diversos trabajos en varios pacientes, se pueden mencionar: terapia con corticoesteroides por vía oral, neoplasma maligno, diabetes mellitus, alcoholismo, infecciones virales y enfermedad reumatoide, aunque puede presentarse más de uno de estos factores en algunos de ellos<sup>9,54</sup>.

McNeely, Kitchens y Kluge del Departamento de Medicina de la Universidad de Florida, estudiaron en 1976 un caso de bronconeumonía producida por Moraxella (Branhamella) catarrhalis en un paciente inmunodeficiente de 64 años de edad con un mieloma múltiple avanzado. Las tinciones de Gram realizadas de sus esputos

expectorados y aspirados transtraqueales, revelaron la presencia de diplococos Gram-negativos extra e intracelulares y en los cultivos de estos especímenes se reprodujo la bacteria mencionada. La confirmación de la presencia de esta bacteria la obtuvieron por medio del examen histológico del tejido pulmonar con numerosos diplococos Gram-negativos en los espacios alveolares<sup>133</sup>.

La importancia de esta bacteria causante de neumonía se ha apreciado recientemente aunque no se ha encontrado todavía una única enfermedad fundamental predisponente asociada con este microorganismo. Berk, Karnad y Alvarez de la Sección de Enfermedades Infecciosas del Centro Médico VA de la ciudad de Johnson, Tenn. reportaron algunos casos de neumonía producida por Moraxella (Branhamella) catarrhalis en pacientes estudiados durante 1980 y 1986, dichos pacientes mostraron otras enfermedades asociadas o bien, deficiencias de inmunoglobulinas cuantitativamente documentadas. El nivel y normalidad de las inmunoglobulinas es importante en los mecanismos de defensa del huésped y también en la prevención de las enfermedades producidas por este microorganismo<sup>13</sup>. El reporte al que se hace referencia se emprendió para establecer la importancia del reconocimiento de este patógeno oportunista como un agente causal de neumonía en pacientes inmunocomprometidos con anormalidades en sus inmunoglobulinas. Los investigadores revisaron los expedientes de los pacientes ad-

mitidos entre 1980 y 1986 con diagnóstico de mieloma múltiple, leucemia linfocítica crónica o hipogammaglobulinemia, también observaron en el Laboratorio de Microbiología, hemocultivos y cultivos de esputo positivos para Moraxella (Branhamella) catarrhalis, la cual se identificó por medio de los métodos bacteriológicos convencionales previamente descritos. Las características clínicas y valores obtenidos de los pacientes en el laboratorio se muestran en la tabla No. 14. Ninguno de los pacientes tuvo neutropenia. En la hipogammaglobulinemia se incluyeron a todas las clases de Inmunoglobulinas<sup>13</sup>.

Se reportó un caso de bacteremia causada por una cepa de Moraxella (Branhamella) catarrhalis productora de beta-lactamasas, aislada e identificada por Christensen y Bruun de los Departamentos de Microbiología Clínica de los Hospitales Bispebjerg y Rigshospitalet de Escandinavia en 1985. El paciente además presentó granulocitopenia. Esta bacteria mencionada es un agente etiológico que raramente produce bacteremia en pacientes normales, pero sí es más frecuente en pacientes inmunodeficientes y se diferencia bien de las especies patógenas y no patógenas del género Neisseria<sup>51</sup>.

Tabla No. 14 Datos de los pacientes con anomalías en sus inmunoglobulinas y con neumonía causada por *Moraxella* (*Branhamella*) *catarrhalis*<sup>13</sup>.

Pacientes	Edad	Sexo	Enfermedad	Niveles de inmunoglobulinas (mg/dl)				Método usado para obtener el esputo	Microorganismos asociados cultivados	Infiltrados observados en las radiografías del tórax
				IgG	IgA	IgM	IgD			
1	61	M	Mieloma IgD	727	30	-	2,000	Expectorado	<u>S. pneumoniae</u>	Bilateral
2	61	M	Mieloma IgA	290	2,786	-	-	Aspirado transtraqueal	-	Lobular inferior derecho
3	66	M	Mieloma IgA	789	277	55	-	Expectorado	-	Lobular inferior izquierdo
4	63	M	Leucemia linfocítica crónica	850	54	174	-	Expectorado	-	Lobular inferior izquierdo
5	63	M	Leucemia linfocítica crónica	480	32	21	-	Expectorado	-	Peri-hiliar derecho
6	80	M	Mieloma múltiple	No evaluables				No evaluable	Flora habitual	Bilateral
7	64	M	Mieloma múltiple IgA	250	4,650	No evaluables		Aspirado transtraqueal	-	Bilateral
8	24	M	Hipogammaglobulinemia	No evaluables				Aspirado transtraqueal	<u>Haemophilus influenzae</u>	Lobular superior derecho
9	82	F	Leucemia linfocítica crónica	No evaluables				Aspirado transtraqueal	-	Lobular inferior izquierdo

Niveles de referencia : IgG = 800 - 1,800 , IgA = 90 - 450 ,  
 IgM = 60 - 310 , IgD = 0.6 - 16.9 .

### 3. TRATAMIENTO DE LOS PADECIMIENTOS CAUSADOS POR Moraxella (Branhamella) catarrhalis

Como se mencionó, Moraxella (Branhamella) catarrhalis se consideraba comensal de los tractos respiratorios superior y medio, pero ahora se reconoce además como un microorganismo oportunista así como un patógeno respiratorio, porque se ha implicado en una gran variedad de procesos infecciosos como sinusitis, otitis media, bronquitis, neumonía y bronconeumonía, sobre todo en pacientes pediátricos y en pacientes ancianos, inmunodeficientes y adultos<sup>20, 75, 79, 111, 126</sup>.

Es importante evitar enfriamientos durante y después del tratamiento de estas enfermedades, por lo que es conveniente recomendar al paciente condiciones de reposo, con clima templado o cálido e ingestión de bebidas y alimentos calientes, además de la administración de analgésicos, descongestionantes, aerosoles y antibióticos adecuados para el tratamiento de cada uno de los padecimientos causados por dicha bacteria<sup>20, 45</sup>.

Anteriormente esta bacteria era susceptible a las penicilinas, pero estudios recientes demostraron que se hizo resistente debido a su capacidad para producir beta-lactamasas; por tal motivo, es importante la re-evaluación de las recomendaciones necesarias para aplicar una terapia antimicrobiana adecuada. Para los miles de casos que se tratan anualmente, la etiología bacte-

riana específica se determina en raras ocasiones; entonces, deben de tomarse decisiones correctas para el tratamiento, basadas en el conocimiento de los microorganismos prevalentes y en su respuesta a los agentes antimicrobianos, de acuerdo con los experimentos realizados<sup>75,79,111</sup>.

Cuando una sinusitis no cede con los tratamientos médicos normales con antibióticos como penicilinas solas y combinadas, sulfamidas, etc., se debe recurrir (no tardando mucho) al tratamiento quirúrgico para evitar la cronicidad de la infección<sup>20</sup>.

La sinusitis aguda se trata corrientemente mediante gotas nasales para reducir la tumefacción de la mucosa y facilitar así la comunicación entre los senos y la cavidad nasal. Se aplica también calor y, en muchos casos, se requiere la administración de antibióticos y la aerosolterapia. Por lo general, estas medidas son suficientemente efectivas, pero en ocasiones la afección puede pasar a la forma crónica, casos en los que también se pueden aplicar gotas para desobstruir los conductos. Si esta medida no es efectiva puede ser necesario recurrir a la intervención quirúrgica: se inyecta líquido en el seno por medio de una cánula con anestesia local, de esta forma se desobstruye el conducto y se extrae el pus. La inflamación pertinaz de los senos requiere, a veces operaciones más complicadas<sup>20,45</sup>.

Uno de los métodos empleados en el tratamiento de la otitis

media consiste en compresas calientes en el oído, instalaciones de líquidos desinfectantes por el conducto auditivo externo y por la nariz, y administración de penicilinas y sus combinaciones, sulfamidas, etc.<sup>61, 92</sup>. En la forma purulenta, si el pus tarda en abrirse camino hacia el exterior perforando la membrana timpánica, es necesario intervenir practicando la paracentesis de dicha membrana; se punciona la misma con una aguja<sup>20</sup>, o con un bisturí pequeño<sup>153</sup> para abrir la parte inferior de la membrana timpánica. Esta operación se practica bajo anestesia local o mediante anestesia general de corta duración. Después desaparece la inflamación y cicatriza la pequeña abertura de la membrana. En algunas ocasiones, los pacientes pierden un poco su capacidad auditiva (hipoacústica). El dolor puede aliviarse con diversas clases de instilaciones óticas. La otitis media puede convertirse en una forma crónica, especialmente cuando la afección aparece como complicación de infecciones graves. En tales casos es frecuente la supuración del oído medio. La membrana del tímpano presenta perforaciones de diversos tamaños y los huesecillos auditivos suelen ser defectuosos. La inflamación crónica del oído medio requiere generalmente la intervención quirúrgica<sup>85</sup>. Debe intentarse la extirpación de toda la zona ósea infectada y del tejido cicatrizal. Después de ello desaparecen generalmente los síntomas, aunque puede persistir cierta disminución de la audición. En los

casos menos graves, puede bastar la eliminación del tejido cicatrizal y recubrir la perforación del tímpano mediante trasplante. Los antibióticos son ineficaces en la forma crónica<sup>20, 153</sup>.

El tratamiento de la bronquitis es variable: por regla general, el reposo en cama y las bebidas calientes constituyen medidas adecuadas. Estas se administran con el objeto de facilitar la fluidificación y la expulsión de las secreciones bronquiales y la reducción del proceso inflamatorio. Se prescriben fármacos a base de expectorantes, calmantes de la tos, antipiréticos como la aspirina y quinina. Si no sobreviene la bronconeumonía es inútil la administración de penicilina, sulfamidas, etc., que son ineficaces en la bronquitis<sup>45, 153</sup>.

El tratamiento de la bronquitis crónica no resulta fácil. Se aconsejará siempre el clima seco y templado, la vida al aire libre, la alimentación succulenta y el cuidado escrupuloso para evitar los enfriamientos en la estación del invierno. En los pueblos nórdicos se le da gran importancia a la terapéutica con la gimnasia respiratoria<sup>20, 45</sup>.

El tratamiento con medicamentos se debe hacer siempre bajo prescripción y dirección médica, y puede consistir en la administración de emolientes y expectorantes en la bronquitis crónica seca, con el objeto de fluidificar y lograr la expulsión de las secreciones semisólidas que no sobresalen espontáneamente con la

expectoración. En las formas húmedas con abundante expectoración, se administrarán secantes y balsámicos. Estos fármacos se administran con más eficacia por medio de la aerosolterapia<sup>20</sup>.

Cuando los pacientes tienen exacerbaciones infecciones de bronquitis producen en mayor cantidad y frecuencia esputo purulento amarillento o verdoso, puede administrárseles antibióticos de amplio espectro para disminuir las exacerbaciones y prevenir daño pulmonar.

En el tratamiento de la neumonía (pulmonía) a menudo son necesarias las siguientes medidas<sup>45</sup>:

- Estimulación de la ingestión bucal de líquidos para evitar deshidratación.
- Administrar aspirina o paracetamol para la fiebre intensa, el malestar y los dolores.
- Dar analgésicos potentes como codeína, pentazocina o fenzocina para el dolor pleural. (Si se utilizan opiáceos, se debe tener mucho cuidado en pacientes que han desarrollado previamente obstrucción de las vías aéreas, ya que puede desencadenarse insuficiencia respiratoria.

Los pacientes más graves pueden requerir<sup>45</sup>:

- Oxígeno: si hay cianosis y es considerable el esfuerzo respiratorio, debe administrarse oxígeno por catéter nasal o cualquier otro método que sea mejor tolerado y en concentración su-

ficiente para aliviar la cianosis.

- Líquidos intravenosos: los pacientes graves con taquicardia, hipotensión y extremidades frías, pueden tener volúmenes plasmáticos bajos, lo cual se refleja por una presión venosa central baja. Puede requerirse gran volumen de solución salina o dextrana para elevar la presión venosa central y restablecer una circulación adecuada.

- Corticosteroides: en pacientes muy graves se piensa generalmente que la aplicación intravenosa de hidrocortisona produce un efecto benéfico, aunque no se dispone de evidencias claras para apoyar esto.

La neumonía en individuos previamente saludables, puede deberse a virus, o a bacterias como Moraxella (Branhamella) catarrhalis, Streptococcus pneumoniae, entre otros. Puede tratarse con una combinación de antibióticos, por ejemplo la amoxicilina con el ácido clavulánico, porque la bacteria en estudio es productora de beta-lactamasas y cada vez se reportan más casos en los que los microorganismos patógenos muestran cierta resistencia a los antibióticos.

Cuando la neumonía es una complicación de una enfermedad pre-existente, por ejemplo cuando existe alcoholismo, debilidad, se trata de un sujeto con inmunosupresión, o bronquiectasia, debe tenerse en mente la posibilidad de un microorganismo Gram-

negativo como Moraxella (Branhamella) catarrhalis y se puede tratar también con estreptomícina, co-trimoxazol, ácido clavulánico, aureomicina o alguna combinación de ellos<sup>20, 45</sup>.

Con la curación, la neumonía no deja inmunidad, sino que incluso predispone a la recidiva<sup>153</sup>.

El tratamiento de la bronconeumonía es parecido al de la neumonía, habitación amplia con un cierto grado de humedad en el aire, que se debe renovar; alimentación líquida o semisólida, no pesada, pero suficientemente nutritiva<sup>20</sup>.

En el tratamiento también se administran medicamentos como los calmantes de la tos, emolientes y expectorantes de catarro bronquial, tónicos cardíacos y de la circulación sanguínea, sedantes de los síntomas eventuales de irritación meníngea, etc. También es conveniente la administración de fármacos que detengan la infección en un breve plazo, como las sulfamidas (sobre todo las del tipo tiazólico) y las penicilinas que son mejor toleradas y más eficaces. En caso de resistencia a éstas, se puede recurrir con éxito a otros antibióticos como la aureomicina y la terramicina. Gracias a estos fármacos se han salvado muchas vidas en todo el mundo desde el descubrimiento de las sulfamidas; de tal forma es esto cierto, que las enfermedades respiratorias agudas -neumonías y bronconeumonías- han retrocedido mucho entre las causas de muerte<sup>20, 45</sup>.

### 3.1 Penicilina. Cepas resistentes por producción de beta-lactamasas

Algunos investigadores realizaron estudios desde 1962, y mostraron que Moraxella (Branhamella) catarrhalls era altamente sensible a las penicilinas<sup>126</sup>, y todavía antes de 1977, seguía conservando su susceptibilidad. Sin embargo, en este año varios investigadores detectaron y reportaron la presencia de cepas productoras de beta-lactamasas de dicha bacteria y la producción de estas enzimas se incrementó frecuentemente<sup>89, 111, 118</sup>. En el sur de Suecia, Eliasson y Kamme aislaron también cepas beta-lactamasa positivas provenientes de muestras clínicas de pacientes con enfermedades de las vías respiratorias, obtenidas durante el período comprendido entre 1977 y 1985, observando un incremento en el porcentaje de su producción, desde 4.0% hasta 46.0% (tabla No. 15)<sup>89</sup>. Durante estas fechas Houben, Davies y colaboradores observaron un incremento semejante en la producción de las cepas mencionadas, de 7.0 a 48.0%, pero este estudio se realizó en la zona sur de Holanda<sup>118</sup>.

En Francia, la primera vez que se detectaron estas cepas fué en 1977, y desde 1980 se observó un incremento en su producción (entre 45.0 y 57.0%, aproximadamente)<sup>111</sup>.

En varios estudios realizados últimamente, se emplearon

una prueba cromogénica y una acidimétrica, para evaluar la capacidad productora de beta-lactamasas de las cepas aisladas de Moraxella (Branhamella) catarrhalis, provenientes de los pacientes en estudio<sup>89,111,118</sup>.

Tabla No. 15 Incremento en el porcentaje de la producción de beta-lactamasas de Moraxella (Branhamella) catarrhalis obtenidas de muestras clínicas, en Suecia<sup>89</sup>

Año	Incremento del porcentaje (%) de beta-lactamasas
1977	4 . 0
1980	1 5 . 0
1982	2 5 . 0
1983	3 3 . 0
1984	4 2 . 0
1985	4 6 . 0

La elevada frecuencia en la producción de estas enzimas por microorganismos comensales, oportunistas y patógenos del tracto respiratorio superior y medio, pueden considerarse desde el punto de vista de patogenicidad indirecta posible<sup>89</sup>.

Un número limitado de estudios anteriores a 1980, muestran que Moraxella (Branhamella) catarrhalis era sensible en forma uniforme a las penicilinas. Muchos casos reportados durante 1981 y 1984, se documentaron en la aparición de beta-lactamasas

producidas por dicha bacteria, por lo cual ahora el 75.0% aproximadamente de sus cepas aisladas son productoras de beta-lactamasas. Esto tiene un significado clínico básico en el tratamiento de las enfermedades que produce este microorganismo, ya que se considera un agente etiológico importante de una de ellas: la otitis media aguda (OMA) en niños, por lo que al tratarse estas enfermedades con penicilinas pueden ocurrir obviamente fallas terapéuticas con severas consecuencias o enfermedades más severas como neumonía y bronquitis crónica<sup>155</sup>.

Se podría decir que no hay datos concluyentes de los antibióticos empleados en el tratamiento de la otitis media aguda primaria o de sus fallas terapéuticas, cuando los pacientes se trataron primeramente con fenoximetilpenicilina o ampicilina. Las aminopenicilinas no ofrecen ventaja alguna por encima de las fenoximetilpenicilinas en el tratamiento de la otitis media aguda, pero se prefieren estas últimas. desde el punto de vista ecológico, de acuerdo con las investigaciones realizadas por varios investigadores en 1981 y 1982. Sin embargo, en estas fechas también recomendaron el co-trimoxazol en el tratamiento de estas enfermedades<sup>89</sup>.

De unos estudios realizados en 144 pacientes de la ciudad de Edinburg, quienes estaban hospitalizados por tener enfermedades broncopulmonares ya avanzadas, se obtuvieron los siguientes

tes datos: 83 eran fumadores, 26 exfumadores y 35 no fumadores<sup>6</sup>. Del total de los pacientes, 74 adquirieron la enfermedad en la comunidad y de éstos, 43 tuvieron cepas productoras de beta-lactamasas de Moraxella (Branhamella) catarrhalis; a 22 de los 43 pacientes se les trató con ampicilina, pero sin lograr mejoría. Los 70 pacientes restantes presentaron infección nosocomial producida por la misma bacteria. Se seleccionaron a 9 de estos últimos pacientes, de los cuales se obtuvieron muestras de esputo purulento, se aislaron las cepas y éstas produjeron beta-lactamasas; 8 pacientes entre 69 y 87 años de edad, con cepas productoras de beta-lactamasas no respondieron al tratamiento: 5 con ampicilina, 2 con amoxicilina y uno con trimetoprim. En cambio, los investigadores observaron mejoría clínica en aquellos pacientes a quienes se les cambió la terapia: a 4 pacientes se les trató con co-trimoxazol, a 2 con amoxicilina combinada con ácido clavulánico, a 1 con eritromicina y a 1 con tetraciclina. La novena paciente tenía 84 años, era no fumadora y con asma, enfermó gravemente y se hospitalizó pero murió en las 48 horas siguientes, a pesar de que se le administró eritromicina por vía intravenosa, se encontró en la necropsia, la extensa consolidación bilateral y una cepa de M. (B.) catarrhalis productora de beta-lactamasas, que se aisló de los tejidos pulmonares y principalmente de los bronquios<sup>6</sup>.

Todos los estudios e investigaciones de estos pacientes se realizaron durante los períodos invernales, el de 1982 - 1983 y 1983 - 1984, durante los cuales observaron primero una proporción del 51.0% de cepas productoras de beta-lactamasas, misma que se elevó a un 70.0% en el otro período. Por lo que se ve que los pacientes de quienes se obtuvieron estas cepas, se trataron inapropiadamente con ampicilina<sup>6,111</sup>.

En Edinburgo y en el experimento descrito antes, se ve que la ampicilina y amoxicilina se usaron mucho como primera línea terapéutica en ciertas enfermedades como bronquitis crónica y enfisema pulmonar, pero ahora con el incremento del porcentaje de las cepas productoras de beta-lactamasas de la bacteria en estudio, los investigadores recomendaron un cambio de antibióticos y ya no se usan<sup>6</sup>.

En otros estudios realizados por Farmer y Reading en 1982, se sugirió que hay varios tipos de beta-lactamasas asociadas con Moraxella (Branhamella) catarrhalis, que difieren de las obtenidas de varias especies bacterianas en sus puntos isoelectrónicos (analizados por medio de inmunoelectroforesis) y también en la afinidad por sus sustratos<sup>90</sup>. Posteriormente, en 1986 Barthelemy, Brive y colaboradores<sup>21</sup>, Stobberingh y colaboradores<sup>118</sup>, realizaron investigaciones semejantes y obtuvieron resultados similares. Sin embargo, cuando observaron que algunas de las cepas

productoras de beta-lactamasas eran sensibles a una concentración mínima inhibitoria menor a 0.125 mg/litro de ampicilina, se interesaron e introdujeron a un estudio más minucioso acerca de dichas cepas.

Kovatch, Shurin y colaboradores realizaron estudios sobre muestras de exudados de niños con otitis media durante 1983 y 1986, de las cuales obtuvieron un 76.0% de cepas productoras de beta-lactamasas de la bacteria en estudio. Tal incremento en el número de dichas cepas es de importancia clínica tanto para evaluar el potencial patógeno de Moraxella (Branhamella) catarrhalis como para seleccionar una terapia antimicrobiana adecuada<sup>155</sup>.

Brorson y colaboradores en 1983, realizaron investigaciones acerca de las concentraciones mínimas inhibitorias (MIC) de la penicilina V, para el 90.0% de las cepas no productoras de beta-lactamasas, obteniéndola de 0.125 a 1.2 mg./litro, mientras que las cepas productoras de beta-lactamasas, analizadas por separado, tuvieron una MIC de 1.0 a 4.8 mg./litro. También se observó que la ampicilina y quizá el cefaclor son inactivados por las mismas enzimas de estas cepas<sup>50</sup>.

Varios investigadores<sup>89</sup>, al analizar muestras clínicas obtenidas del tracto respiratorio inferior de diversos pacientes, encontraron algunas especies bacterianas aerobias y anaerobias productoras de beta-lactamasas; entre éstas, Moraxella (Branhamella)

catarrhalis y Haemophilus influenzae, se pueden considerar patógenos de vías respiratorias. Posteriormente, colectaron de 50 niños de entre 1 a 15 años de edad que sufrieron adenoidectomía, especímenes de nasofaringe, garganta y de tejido desintegrado de las adenoides extirpadas. Ninguno de los niños recibió tratamiento con antibióticos durante 2 meses previos a la extirpación. Así, obtuvieron un 68.0% de cepas aisladas de Moraxella (Branhamella) catarrhalis, de las cuales un 33.0% produjeron beta-lactamasas<sup>89</sup>.

Algunas de las penicilinas como los ésteres de ampicilina, y la amoxicilina inducen a la producción de cepas beta-lactamasa positiva, más que la fenoximetilpenicilina, debido a la actividad in vitro de estos antibióticos contra las cepas beta-lactamasa negativa. En estudios realizados en lugares donde la ampicilina se usaba rutinariamente en el tratamiento de enfermedades del tracto respiratorio superior, se observaron elevaciones en el porcentaje de las cepas productoras de beta-lactamasas aisladas<sup>89</sup>.

Todavía en 1984, Ahmad y colaboradores aislaron algunas cepas de dicha bacteria no productoras de beta-lactamasas, las cuales fueron sensibles a la penicilina y ampicilina<sup>6</sup>.

Ultimamente, los microbiólogos de Estados Unidos lograron el aislamiento de Moraxella (Branhamella) catarrhalis en más de un 80.0% de las cepas obtenidas, por lo que declararon que es-

te se incrementó, ya que en fechas anteriores obtuvieron un menor porcentaje de la bacteria mencionada<sup>125</sup>.

La conclusión dada por los investigadores<sup>125</sup>, de estos laboratorios a partir de datos de las pruebas de susceptibilidad antimicrobiana, obtenidos durante los años 1983 a 1985 fué:

- Las pruebas estandar de susceptibilidad a los antibióticos como ampicilina o penicilina, no son aplicables a Moraxella (Branhamella) catarrhalis.

Ensayos preliminares presentados en este trabajo y que también presentó el Comité Nacional de Estándares para el Laboratorio Clínico (NCCLS), indican que cuando se requiera una MIC menor o igual a 0.25 mg./litro de ampicilina, se reporta una zona de susceptibilidad menor o igual a 28 ó 30 mm.<sup>125</sup>

Estudios e investigaciones de las características de las enzimas, realizados por Ellason y Kamme en 1985 y en 1986, demostraron que la beta-lactamasa más producida es la de la bacteria en estudio, la cual es mediada por plásmidos y la llaman BRO - 1<sup>88, 89</sup>.

Alvarez y colaboradores reportaron elevaciones en la frecuencia de la presencia de cepas productoras de beta-lactamasas de la bacteria mencionada, en Estados Unidos durante 1985, en cifras que oscilaban entre el 80.0 y 87.0%<sup>12, 111</sup>.

En otro estudio realizado durante 1985 y 1986, en 82 pa-

cientes menores de edad, a quienes se les clasificó de la manera siguiente: como en 13 de ellos se observó una respuesta inadecuada durante el tratamiento con antibióticos, se determinó que tuvieron fallas terapéuticas. Mientras que, los restantes sufrieron otra vez la enfermedad después del tratamiento, por lo que acordaron que éstos últimos sufrieron recaídas. Como todos presentaron finalmente la otitis media aguda, se les examinó y no hubo diferencias entre ellos por lo que acordaron combinarlas. Moraxella (Branhamella) catarrhalls estuvo presente en el 54.0% del total de casos y casi todas las cepas fueron productoras de beta-lactamasas, de las cuales el 82.0% se encontraron en niños menores de 3 años de edad y el resto en niños de 3 a 6 años de edad. Entonces, los investigadores consideraron que no había diferencia significativa entre los niños con otitis media aguda primaria con recaída y aquéllos que no respondieron a la terapia con antibióticos. Moraxella (Branhamella) catarrhalls pudo aislarse de la nasofaringe en el 50.0% de los niños con otitis media aguda primaria y también en aquellos clasificados como fallas terapéuticas o recaídas. Todos los niños incluidos en este estudio no recibieron antibióticos durante el mes anterior a la investigación, pero los clasificados como fallas o recaídas, recibieron penicilina V al inicio del tratamiento<sup>120</sup>.

La penicilina V se ha usado en Suecia y en otros lugares

de Escandinavia, generalmente como antibiótico de primera elección en el tratamiento de la otitis media aguda en niños. Años más tarde, la ampicilina y la amoxicilina se recomendaron al inicio del tratamiento de la otitis media en niños de otras ciudades. El uso de la penicilina V en Suecia se basó en estudios de la dosis diaria y duración del tratamiento<sup>89,120</sup>. A una frecuencia de producción de beta-lactamasas cerca del 10.0% en Haemophilus influenzae y cerca del 50.0% en Moraxella (Branhamella) catarrhalis, el riesgo de una infección en Suecia puede ser estimado. La incidencia de la producción de beta-lactamasas en la bacteria en estudio parece ser importante e implica un cambio en la selección de los antibióticos usados en el tratamiento de la otitis media aguda en niños<sup>120</sup>.

En Suecia, las fallas terapéuticas y recaídas se tratan con antibióticos de amplio espectro como los ésteres de ampicilina combinados con amoxicilina, cefaclor o co-trimoxazol. Este último antibiótico se prefiere cuando se detectan y verifican cepas productoras de beta-lactamasas<sup>120</sup>.

Como se mencionó en el inciso 2.2: muchos experimentos y observaciones realizadas mostraron que en una infección o enfermedad mixta, un microorganismo patógeno sensible a los antibióticos beta-lactámicos puede ser protegido por la presencia de otro microorganismo patógeno u oportunista productor de be-

ta-lactamasas. Y como ejemplo de este último está Moraxella (Branhamella) catarrhalis<sup>6</sup>.

### 3.2 Acido clavulánico

El ácido clavulánico es un inhibidor de las cepas productoras de beta-lactamasas, que se ha aislado a partir de Streptomyces clavuligerus<sup>124</sup>, según los estudios realizados por varios investigadores<sup>126</sup>; Ahmad, Calder, Seaton y McLeod<sup>2</sup>; Doern, Morse, Siebers y Hallck<sup>75</sup>; Yokota, Fujii, Sato y Mitsuhashi<sup>101</sup>, mostraron que la actividad enzimática de las beta-lactamasas es inhibida por el ácido clavulánico.

Stobberingh, Houben, van Eck y van Boven, realizaron estudios acerca de la caracterización de las beta-lactamasas producidas por cepas de Moraxella (Branhamella) catarrhalis, de esta manera las dividieron en grupos por medio de la inmunoelectroforesis. Al estudiar diferentes "grupos" de beta-lactamasas y su inhibición por el ácido clavulánico, se vio que la cantidad de dicho ácido necesaria para inhibir 50.0% de la actividad de las beta-lactamasas (Inhibición I50) varió entre 0.0024 y 0.0044 mg./litro<sup>118</sup>.

Farmer y Reading realizaron investigaciones desde 1981 hasta 1986, sobre la inhibición de las beta-lactamasas de Moraxella (Branhamella) catarrhalis por el ácido clavulánico y otros

inhibidores<sup>90, 91</sup>.

Las beta-lactamasas de las cepas de dicha bacteria, se inhibieron rápidamente a bajas concentraciones de ácido clavulánico, sulbactam, ácido beta-halopenicilánico y ácido olivánico. Las concentraciones de los inhibidores contra las enzimas beta-lactamasas de las cepas en estudio se muestran en la tabla No. 16, todos los inhibidores fueron activos a concentraciones bajas y por lo tanto las cepas productoras de beta-lactamasas fueron altamente susceptibles a los inhibidores estudiados<sup>91</sup>.

Tabla No. 16 Concentraciones de los inhibidores de beta-lactamasas de Moraxella (Branhamella) catarrhalis<sup>91</sup>

Inhibidor	Inhibición (mg./l.)
Acido clavulánico	0.02
Sulbactam	0.04
Acido 6-beta-bromopenicilánico	0.05
Acido 6-beta-iodopenicilánico	0.05
Acido olivánico	0.05

El ácido clavulánico presenta un sinergismo antibacteriano marcado cuando se usa en presencia de un antibiótico beta-lactámico, especialmente la amoxicilina<sup>124</sup>.

En otro estudio, Farmer y Reading examinaron las beta-

lactamasas producidas por 4 cepas de Moraxella (Branhamella) catarrhalis: Ravasio, 1646, 1648 y 1908 (denominadas arbitrariamente). Midió la inhibición de estas beta-lactamasas por el ácido clavulánico, por medio de la medición espectrofotométrica de la hidrólisis de la bencilpenicilina a 240 nm. Obuvieron los resultados de este estudio observando que el ácido clavulánico inhibió rápidamente a las beta-lactamasas producidas por la bacteria mencionada. Propusieron que la eficacia clínica de la combinación del ácido clavulánico con amoxicilina sobre las enfermedades producidas por Moraxella (Branhamella) catarrhalis, refleja la capacidad del ácido clavulánico para proteger a la amoxicilina de la degradación enzimática, permitiendo que ésta actúe ejerciendo completamente su efecto antibacteriano<sup>90</sup>.

Doern y colaboradores<sup>75</sup>, examinaron la inhibición de la actividad de las beta-lactamasas producidas por 3 cepas: 318, A-1262 y A-1246 (también las denominaron arbitrariamente), aisladas en 1980, por medio de la comparación de varias concentraciones mínimas inhibitorias de 5 antibióticos como penicilina G, ampicilina, meticilina, cefalotín y cefoxitín en presencia del ácido clavulánico (tabla No. 17).

Tabla No. 17 Efecto del ácido clavulánico sobre las concentraciones mínimas inhibitorias de 5 antibióticos aplicados a 3 cepas aisladas de *Moraxella (Branhamella) catarrhalis*<sup>75</sup>

Antibiótico	Inhibidor	Cepas					
		318		A-1262		A-1246	
		MIC	% Reducción en MIC	MIC	% Reducción en MIC	MIC	% Reducción en MIC
Penicilina	Ninguno	20.0		10.0		10.0	
	Ac. clavulánico	0.32	98.0	0.16	98.0	0.32	97.0
Ampicilina	Ninguno	5.0		5.0		0.32	
	Ac. clavulánico	0.64	87.0	0.32	94.0	0.16	50.0
Meticilina	Ninguno	20.0		5.0		5.0	
	Ac. clavulánico	10.0	50.0	5.0	0	5.0	0
Cefalotin	Ninguno	5.0		5.0		5.0	
	Ac. clavulánico	2.5	50.0	2.5	50.0	5.0	0
Cefoxitin	Ninguno	0.32		0.32		0.32	
	Ac. clavulánico	0.16	50.0	0.32	0	0.16	50.0

### 3.3 Otros antibióticos

Doern y colaboradores<sup>75</sup>, estudiaron varias cepas aisladas de Moraxella (Branhamella) catarrhalis productoras de beta-lactamasas. Realizaron comparaciones de su susceptibilidad relativa a varios antibióticos beta-lactámicos y dedujeron que las beta-lactamasas que produjeron las cepas de la bacteria mencionada, fueron más activas contra las penicilinas que contra las cefalosporinas<sup>75,77</sup>. Observaron que había un rango estrecho de las MIC<sub>95</sub> entre cefalosporinas, cefamicina, eritromicina, clindamicina, tetraciclina, cloramfenicol y trimetoprim-sulfametoxazol.

Casi todas las cepas fueron resistentes a la penicilina, ampicilina, amoxicilina, meticilina y clindamicina, con excepción de una cepa que fué susceptible a la penicilina y 3 que fueron susceptibles a la meticilina. Contrariamente, casi todas las cepas fueron susceptibles a la cefalotina, cefaprina, cefaloridina, cefaclor, cefamandol, cefoxitin, cefuroxim, eritromicina, tetraciclina, cefalexina, cloramfenicol, trimetoprim-sulfametoxazol, con excepción de una cepa susceptible a la cefalexina<sup>75,77</sup>.

Varios investigadores, estudiaron la susceptibilidad antimicrobiana de 54 cepas aisladas, de las cuales 35 eran beta-lactamasa positiva y 19 beta-lactamasa negativa; observaron que todas fueron resistentes al trimetoprim pero susceptibles al ácido cla-

vulánico + amoxicilina, cloramfenicol, eritromicina, co-trimoxazol, cefotaxim y al cefuroxim. También observaron que las cepas beta-lactamasa negativa fueron susceptibles uniformemente a la penicilina y a la ampicilina. Los investigadores concluyeron y consideraron a la bacteria en estudio, patógena potencialmente por su producción de beta-lactamasas y que es inapropiado aplicar un antibiótico beta-lactámico en el tratamiento de las enfermedades producidas por dicha bacteria porque se incrementan los índices de morbi-mortalidad<sup>3,4,5,10,85,98,142</sup>.

Alban y colaboradores<sup>11</sup>, aislaron un cultivo puro de Moraxella (Branhamella) catarrhalis productora de beta-lactamasas a partir de la aspiración del oído medio derecho de una bebé de 3 meses de edad. De acuerdo con sus experimentos y estudios, observaron que dicho microorganismo fué susceptible a la eritromicina, kanamicina, tetraciclina, cefamandol, penicilina y ampicilina con concentraciones mínimas inhibitorias (MIC<sub>9</sub>) de 0.25, 0.5, 0.25, 8.0, 4.0 y 2.0 g./ml., respectivamente. Usaron como sustrato una cefalosporina cromogénica y así observaron la producción de beta-lactamasas. Finalmente observaron que la paciente respondió bien al tratamiento con cefamandol.

Aitken, McLeod, Nicotra y colaboradores<sup>2,7,139</sup>, durante 1982, aislaron cultivos puros de Moraxella (Branhamella) catarrhalis a partir de 11 aspirados transtraqueales de 11 pacientes

con enfermedades del tracto respiratorio inferior. Todos estos cultivos fueron susceptibles a la eritromicina, co-trimoxazol, tetraciclina, cefuroxim y cefotaxim.

En este mismo año, Bluestone, Rockette y colaboradores realizaron estudios acerca del tratamiento de la otitis media en niños, en quienes investigaron el uso de antibióticos diferentes de las penicilinas como una alternativa adecuada en el tratamiento de los pacientes alérgicos a éstas. Algunos de los antimicrobianos empleados fueron: una combinación de eritromicina y sulfisoxazol, otra combinación de trimetoprim y sulfametoxazol y otro investigado fué el cefaclor (tabla No. 18)<sup>32,33</sup>.

Tabla No. 18 Eficacia de los agentes antimicrobianos contra los patógenos comunes en la otitis media<sup>32</sup>

Agentes antimicrobianos	<u>Streptococcus pneumoniae</u>	<u>Haemophilus influenzae</u>	<u>Moraxella (Branhamella) catarrhalis</u>
Ampicilina o Amoxicilina	+	+ -	+ -
Eritromicina y Sulfisoxazol	+	+	+
Trimetoprim y Sulfametoxazol	+	+	+
Cefaclor	+	+	+

Símbolos: +, efectivo  
 ±, efectivo sólo para las cepas beta-lactamasa (-)  
 -, inefectivo.

Durante 1983 y 1984, varios investigadores realizaron experimentos y estudios en muestras purulentas provenientes de pacientes jóvenes y adultos con enfermedades de vías respiratorias, producidas por Moraxella (Branhamella) catarrhalis, observando que su susceptibilidad a los agentes antimicrobianos administrados por vía oral, disminuyó considerablemente. Cultivaron y sub cultivaron las muestras y obtuvieron 737 cepas en total, las cuales mostraron la resistencia siguiente a ciertos antibióticos (in vitro): 48.0% a la ampicilina (por producción de beta-lactamasas), 10.0% al co-trimoxazol, 6.0% a la eritromicina y las cepas restantes fueron sensibles a la doxicilina<sup>67,69,126</sup>.

Robinson y colaboradores<sup>109</sup>, estudiaron y analizaron diversos especímenes de esputo provenientes de pacientes con enfermedades broncopulmonares, las cultivaron y obtuvieron cultivos puros de la bacteria en estudio. Realizaron pruebas de susceptibilidad, resultando que las concentraciones mínimas inhibitorias ( $MIC_{90}$ ), que inactivaron al 90.0% del total de cepas variaron desde 0.06 g./ml. de moxalactam, hasta 30.0 g./ml. de sulfamctoxazol.

Las concentraciones mínimas inhibitorias ( $MIC_5$ ) de los 15 antibióticos contra las cepas productoras de beta-lactamasas en estudio se muestran en la tabla No. 19. Basados en sus  $MIC_5$  resultantes, pudieron establecer que las cepas estudiadas fueron

susceptibles a: cefotaxim, cefoxitin, cefalexin, cefalotin, cloramfenicol, eritromicina, moxalactam y tetraciclina; pero fueron resistentes en un 100.0% a la ampicilina y penicilina, y 50.0% a la meticilina (todos en condiciones *in vitro*)<sup>109</sup>.

Tabla No. 19 MIC<sub>s</sub> obtenidas de los agentes antimicrobianos seleccionados contra las cepas aisladas de Moraxella (Branhamella) catarrhalis<sup>109</sup>

Antibiótico	MIC (µg./ml.)	
	50.0%	90.0%
Ampicilina	2.0	8.0
Cefotaxim	0.25	0.5
Cefoxitin	0.25	0.5
Cefalexin	2.0	4.0
Cefalotin	4.0	8.0
Cloramfenicol	1.0	1.0
Clindamicina	2.0	4.0
Eritromicina	0.125	0.25
Meticilina	8.0	16.0
Mezlocilina	0.5	16.0
Moxalactam	0.06	0.06
Penicilina	8.0	16.0
Piperacilina	0.5	8.0
Tetraciclina	≤ 0.3	≤ 0.3
Trimetoprim/sulfametoxazol	0.2/3.8	1.6/30.0

Alvarez, Jones y colaboradores investigaron la susceptibilidad (in vitro) de 53 cepas aisladas de Moraxella (Branhamella) ca tarrhalis, obtenidas de pacientes con enfermedades de vías respiratorias. Emplearon para estas pruebas 25 agentes antimicrobianos. De las 53 cepas, 46 (86.7%) fueron productoras de beta-lactamasas; todas fueron susceptibles a la mayoría de las cefalosporinas. Las combinaciones de ácido clavulánico y amoxicilina, ácido clavulánico y ticarcilina fueron activas contra las cepas productoras de beta-lactamasas<sup>12</sup>.

Los resultados de las pruebas de susceptibilidad de las cepas aisladas frente a los antibióticos estudiados se muestran en la tabla No. 20. Las cepas no productoras de beta-lactamasas se inhibieron con concentraciones bajas de penicilina G, pero las productoras de beta-lactamasas fueron resistentes a este antibiótico. Casi todas las cepas estudiadas fueron resistentes a: penicilina G, meticilina, amoxicilina y vancomicina. En cambio, todas las 53 fueron susceptibles a: ticarcilina, piperacilina, azlocilina, cefoxitin, cefuroxim, cefotiam, cefbuperazon, moxalactam, cefoperazon, ceftazidín y cefotaxim. Entre los antibióticos más activos contra dichas cepas estuvieron: ácido clavulánico-amoxicilina, ácido clavulánico-ticarcilina, cefbuperazon, ceftazidín, moxalactam, piperacilina y azlocilina<sup>12</sup>.

La eritromicina, tetraciclina, cloramfenicol y el trimetoprim

-sulfametoxazol fueron activos uniformemente contra las cepas aisladas de Moraxella (Branhamella) catarrhalis<sup>12</sup>.

Tabla No. 20 Actividad antibacteriana de 25 antibióticos contra 53 cepas de Moraxella (Branhamella) catarrhalis<sup>12</sup>

Antibiótico	MIC <sub>50</sub> (µg./ml.)	MIC <sub>90</sub> (µg/ml)
Penicilina G	2.0	8.0
Ampicilina	0.25	1.0
Amoxicilina	2.0	8.0
Meticilina	2.0	16.0
Ticarcilina	1.0	8.0
Piperacilina	0.125	0.125
Azlocilina	0.125	0.125
Amoxicilina + ac.clavulánico	0.06	0.25
Ticarcilina + ac.clavulánico	0.5	0.5
Clindamicina	1.0	1.0
Eritromicina	0.125	0.25
Vancomicina	16.0	32.0
Cefalotín	4.0	4.0
Cefamandol	2.0	4.0
Cefoxitin	0.125	0.125
Cefuroxim	0.5	1.0
Cefotiam	1.0	1.0
Cefbuperazon	0.125	0.125
Moxalactam	0.125	0.125
Cefoperazon	0.25	1.0
Cefotaxim	0.25	0.5
Ceftazidim	0.06	0.06
Trimetoprim-sulfametoxazol	0.25 - 4.75	0.25 - 4.75
Tetraciclina	0.125	0.125
Cloramfenicol	0.5	0.5

Durante 1986, Luman y colaboradores aislaron 231 cepas de Moraxella (Branhamella) catarrhalis para analizar su susceptibilidad a varios antibióticos por medio del método de difusión de

disco y determinar su capacidad de producción de beta-lactamas (la cual detectaron en un 98.0% de las cepas). Observaron que las cepas no fueron resistentes a: eritromicina, moxalactam, trimetoprim-sulfametoxazol, tetraciclina, sulfisoxazol y al ácido clavulánico + amoxicilina. Los diámetros de las zonas de inhibición promedio y desviaciones estándar (SD, rango) se muestran en la tabla No. 21<sup>138</sup>.

Tabla No. 21 Diámetros (zonas) de inhibición de los antibióticos contra las cepas aisladas de Moraxella (Branhamella) catarrhalis beta-lactamasa positiva y negativa<sup>138</sup>

Agente antimicrobiano	Cepas beta-lactamasa positiva			Cepas beta-lactamasa negativa		
	No.	Diámetro promedio (mm) $\pm$ SD, (rango)	% de No. cepas resistentes	No.	Diámetro promedio (mm) $\pm$ SD, (rango)	% de No. cepas resistentes
Cloramfenicol	171	36.4 $\pm$ 3.6 (28 - 50)	0	60	36.1 $\pm$ 2.8 (28 - 42)	0
Tetraciclina	171	29.2 $\pm$ 4.1 (21 - 45)	0	60	28.8 $\pm$ 2.3 (24 - 34)	0
Eritromicina	171	31.1 $\pm$ 4.2 (19 - 48)	0	60	32.0 $\pm$ 4.2 (19 - 42)	0
TMP-SMX <sup>a</sup>	152	26.8 $\pm$ 4.5 (14 - 48)	0	53	27.1 $\pm$ 3.1 (21 - 36)	0
Sulfisoxazol	171	39.8 $\pm$ 7.0 (21 - 60)	0	60	39.7 $\pm$ 6.4 (21 - 50)	0
Moxalactam	148	42.9 $\pm$ 5.3 (22 - 66)	0	53	42.3 $\pm$ 6.4 (20 - 54)	0
Cefotaxim	171	33.1 $\pm$ 5.0 (22 - 46)	0	60	37.7 $\pm$ 3.9 (29 - 46)	0
Cefalotín	171	19.6 $\pm$ 2.5 (13 - 27)	0.6	60	36.7 $\pm$ 4.1 (22 - 46)	0
Penicilina G	171	12.0 $\pm$ 5.4 ( 6 - 27)	100.0	60	36.0 $\pm$ 4.1 (25 - 46)	1.7
Ampicilina	171	17.6 $\pm$ 4.8 ( 6 - 31)	97.0	60	40.6 $\pm$ 4.3 (26 - 50)	1.7
Meticilina	171	8.7 $\pm$ 3.9 ( 6 - 28)	62.0	60	24.1 $\pm$ 4.7 (14 - 34)	0

TMP-SMX<sup>a</sup>, trimetoprim-sulfametoxazol.

### 3.4 Combinaciones

Varios investigadores realizaron estudios similares desde 1980 hasta 1986, en donde analizaron y demostraron la actividad antibacteriana del ácido clavulánico y el sulbactam contra Moraxella (Branhamella) catarrhalis. Sin embargo, cuando combinaron estos inhibidores beta-lactámicos con una penicilina, observaron un sinergismo antibacteriano marcado cuando la o las cepas aisladas producían beta-lactamasas. Por otro lado, existen diferencias en las concentraciones mínimas inhibitorias ( $MIC_g$ ) de los antibióticos, debidas tal vez, a las variaciones en las condiciones experimentales, por ejemplo la cantidad de inóculo en los diferentes laboratorios. También analizaron la resistencia de algunas cepas productoras de beta-lactamasas de la bacteria mencionada a ciertos antibióticos beta-lactámicos y observaron que ésta puede disminuir por medio de la co-administración de inhibidores de beta-lactamasas como los mencionados anteriormente. Así mismo investigaron la inhibición de la actividad de dichas enzimas por medio de la comparación de las diluciones de concentraciones mínimas inhibitorias ( $MIC_g$ ) de benzilpenicilina, amoxilpenicilina y cefoxitín, en presencia o ausencia de ácido clavulánico y sulbactam (tabla No. 22)<sup>111</sup>.

Otros investigadores concluyeron que la importancia de la

bacteria mencionada se incrementó porque es un microorganismo patógeno oportunista y productor de beta-lactamasas y los inhibidores beta-lactámicos como el ácido clavulánico, sulbactam y sus combinaciones con las penicilinas son útiles en el tratamiento de las enfermedades producidas por dicha bacteria<sup>111</sup>.

Maesen y Davies propusieron que el uso de inhibidores de beta-lactamasas como los mencionados, en combinación con antibióticos beta-lactámicos (como las aminopenicilinas), es un gran avance en el tratamiento de las enfermedades de las vías respiratorias producidas por Moraxella (Branhamella) catarrhalis. En ausencia de dichos inhibidores, las beta-lactamasas inactivan a las penicilinas<sup>69</sup>.

Tabla No. 22 Efecto del ácido clavulánico (1.0 mg./litro) o sulbactam (1.0 mg./litro) combinados con 5 antibióticos beta-lactámicos contra cepas aisladas de Moraxella (Branhamella) catarrhalis, beta-lactamasa positiva y negativa<sup>11</sup>

Antibióticos e inhibidores de beta-lactamasas	No. de cepas beta-lactamasa	No. de cepas inhibidas a una concentración del antibiótico (mg/l)												MIC
		≤0.03	0.06	0.12	0.25	0.5	1.0	2.0	4.0	8.0	16.0	32.0		
Pen	78	-	7	28	21	4	11	7						0.13
Pen	49	+							7	5	13	15	9	9.78
Pen/AC	49	+			29	2	7	11						0.29
Pen/SU	49	+			31	7		11						0.22
Amox	46	+					2	8	16	10	6	2	2	2.86
Amox/AC	46	+			37	8	1							0.14
Amox/SU	46	+			34	11	1							0.15
Cefox	85	-		2	12	30	20	14	4	3				0.79
Cefox	49	+			1	23	10	9	5	1				0.99
Cefox/AC	49	+		3	27	19								0.31
Cefox/SU	49	+		25	24									0.17

donde: Pen = benzilpenicilina, AC = ácido clavulánico,  
 Amox = amoxicilina, SU = sulbactam,  
 Cefox = cefoxitín.

Anteriormente, los pacientes con enfermedades de vías respiratorias causadas por Moraxella (Branhamella) catarrhalis no respondían al tratamiento con amoxicilina o con cualquiera de las penicilinas, debido a la producción de beta-lactamasas. Una solución posible a este problema, fué el uso de un inhibidor de las enzimas, el cual "evita" la destrucción de la penicilina y ésto le permite ejercer su efecto antibacteriano completo<sup>91</sup>. Después de estos estudios, se propuso la elaboración y uso de una formulación y combinación de amoxicilina y clavulanato de potasio, llamada "Augmentin" o BRL 25000, de acuerdo con los estudios realizados en el Centro de Investigación de Quimioterapia, Farmacéutica Beecham<sup>10, 91, 118, 124, 126</sup>.

Varios investigadores<sup>90, 91, 156</sup>, estudiaron el grado de permeabilidad de los antibióticos beta-lactámicos e inhibidores de beta-lactamasas, estos estudios los realizaron con células de cepas de Moraxella (Branhamella) catarrhalis: las pruebas de susceptibilidad antibacteriana desarrolladas con amoxicilina sola y en presencia del ácido clavulánico contra las células de dichas cepas apoyaron sus resultados y observaciones. Encontraron que concentraciones bajas del inhibidor como 0.05 mg./litro son suficientes para hacer susceptible este microorganismo a la amoxicilina (MIC  $\leq$  0.01 mg./l.) como sucede en las cepas no productoras.

ras de beta-lactamasas de dicha bacteria. Los valores de las  $MIC_5$  se obtuvieron y determinaron por medio de diluciones seriadas y agregadas sobre agar sangre, para la amoxicilina sola o con ácido clavulánico contra 53 muestras clínicas aisladas de la bacteria en estudio provenientes de diversas fuentes.

Como una consecuencia de las concentraciones bajas del ácido clavulánico, se requirió un incremento de la actividad antibacteriana de la amoxicilina contra las cepas beta-lactamasa positiva investigadas. Las diferencias en el grado de susceptibilidad para amoxicilina en presencia del ácido clavulánico, también las estudiaron por medio de un método turbidimétrico, empleando un biofotómetro y los resultados obtenidos los graficaron para observar las curvas de crecimiento de la bacteria en estudio (graficaron densidad óptica contra tiempo)<sup>156</sup>.

Algunos pacientes con sintomatología continua de enfermedades broncopulmonares producidas por Moraxella (Branhamella) catarrhalis, estuvieron hospitalizados durante un tiempo prolongado porque primero se ignoraba al agente etiológico y se les administró ampicilina, pero después, al identificarlo cambiaron el tratamiento, administrándoles amoxicilina y ácido clavulánico y fue entonces que respondieron al tratamiento<sup>6, 78</sup>.

Steele, Wallace, Brooks, McLarty y Wilson estudiaron desde 1984 hasta 1985, a un grupo de 21 pacientes hospitalizados

con enfermedades del tracto respiratorio inferior, (neumonía, exacerbaciones de bronquiectasias y enfermedades pulmonares crónicas) producidas por Moraxella (Branhamella) catarrhalis, Haemophilus influenzae o ambos, se les administró por vía oral una combinación de ácido clavulánico y amoxicilina. Consideraron la respuesta al tratamiento excelente, ya que 18 de 19 cepas productoras de beta-lactamasas se erradicaron. Dicha combinación de antibióticos se consideró muy útil para el tratamiento de estas enfermedades, puesto que inhibe las cepas productoras de beta-lactamasas, aunque puede causar efectos colaterales como problemas gastrointestinales (6 pacientes tuvieron náusea, 2 vómito, 4 náusea, vómito y diarrea)<sup>48</sup>.

Todos los pacientes tuvieron microorganismos patógenos u oportunistas: 13 pacientes tuvieron a Moraxella (Branhamella) catarrhalis, 5 tuvieron a Haemophilus influenzae y 3 tuvieron a ambos<sup>48</sup>.

Odio, Kusmiesz, Shelton y Nelson realizaron en 1984 y 1985, un examen comparativo acerca del tratamiento con ácido clavulánico + amoxicilina "Augmentin" y cefaclor en 150 niños con otitis media del Departamento de Pediatría de la Universidad de Texas. Administraron dosis de 40.0 mg./kg., dividida aproximadamente en 3 dosis diarias durante 10 días. Realizaron la timpanocentesis antes de iniciar el tratamiento y los especímenes se cultivaron y

aislaron, reconociéndose a Streptococcus pneumoniae, Haemophilus influenzae y Moraxella (Branhamella) catarrhalis. De los 150 niños, a 69 niños se les administró cefaclor y a 81 "Augmentin" algunos de los tratados con cefaclor se consideraron como fallas terapéuticas porque persistió la enfermedad; en cambio, en los pacientes tratados con Augmentin no hubo fallas terapéuticas. En este estudio, se observaron mejores resultados con el tratamiento con Augmentin que con el cefaclor, pero éste último produjo menos efectos adversos. Los 2 grupos sometidos a tratamiento se compararon con respecto a sexo, edad, raza, frecuencia de otitis media con efusión y lateralidad. Como se mencionó, el Augmentin consiste en una combinación de amoxicilina y ácido clavulánico (en forma de clavulanato de potasio). El compuesto se metaboliza a ácido clavulánico, el cual tiene actividad inhibitoria sobre las beta-lactamasas y esto permite que las penicilinas como la amoxicilina sean activas contra las demás bacterias. El espectro del Augmentin in vitro es similar al del cefaclor, por lo que ambos son útiles en el tratamiento de la otitis media y en particular la otitis media con efusión<sup>135</sup>.

Un estudio comparativo similar al anterior lo realizaron Marchant, Shurin, Johnson, Feinstein, Fulton, Flexon y Van Hare en el Hospital General Metropolitano Cleveland, en 1986. Aplicaron un tratamiento controlado contra la otitis media empleando

amoxicilina más ácido clavulánico para unos niños y para otros cefaclor. Así lograron erradicar a los microorganismos patógenos, pudiéndolo observar por medio de su ausencia en las muestras obtenidas del exudado del oído medio de los niños en estudio, después de 3 a 6 días del tratamiento en 35 (97.0%) de 36 pacientes tratados con amoxicilina + ácido clavulánico, en comparación con 24 (75.0%) de 32 pacientes tratados con cefaclor. Las bacterias aisladas asociadas fueron Streptococcus pneumoniae, Haemophilus influenzae y Moraxella (Branhamella) catarrhalis.

Concluyeron que el cefaclor es menos eficaz que la amoxicilina + ácido clavulánico para el tratamiento de la otitis media aguda<sup>57</sup>.

La amoxicilina fue el antibiótico prescrito más frecuentemente para el tratamiento de la otitis media aguda, pero ahora, con la presencia de microorganismos productores de beta-lactamasas como Haemophilus influenzae y Moraxella (Branhamella) catarrhalis, se ha tenido que cambiar a otros antibióticos. Algunas alternativas son<sup>57</sup>:

- Antibióticos no beta-lactámicos como eritromicina más sulfisoxazol y trimetoprim-sulfametoxazol;
- Cefaclor, cefalosporina administrada por vía oral;
- Un inhibidor de beta-lactamasas como el ácido clavulánico combinado con amoxicilina.

Moraxella (Branhamella) catarrhalis se aisló con frecuencia a partir de muestras clínicas de los tractos respiratorios superior e inferior y de fluido del oído medio provenientes de niños con bronquitis crónica y otitis media, así como de pacientes con enfermedades broncopulmonares agudas y crónicas. En estos casos se justificó el tratamiento con trimetoprim-sulfametoxazol y eritromicina en niños y en los adultos con tetraciclina<sup>126</sup>.

Bluestone y colaboradores<sup>34</sup> en algunos estudios que realizaron, mostraron que la amoxicilina y la ampicilina eran los antibióticos de elección en el tratamiento de la otitis media, porque eran activas tanto in vitro como in vivo contra cepas de Streptococcus pneumoniae y de Haemophilus influenzae, pero, si los pacientes eran alérgicos a la penicilina, se les administraba una combinación de eritromicina y sulfafurazol. Por otra parte, cuando aislaron cepas productoras de beta-lactamasas de Haemophilus influenzae y de Moraxella (Branhamella) catarrhalis por medio de timpanocentesis, emplearon para el tratamiento una combinación de ácido clavulánico y amoxicilina, una combinación como la anterior, o cefaclor. La eficacia clínica de estos agentes antimicrobianos fue buena en la mayoría de los casos<sup>34</sup>.

Durante 1983 y 1984, varios investigadores aislaron algunas cepas de la bacteria en estudio, de las cuales 70.0% fueron productoras de beta-lactamasas, y provenían de pacientes con enfer-

medades broncopulmonares. De acuerdo con las pruebas de sensibilidad antimicrobiana, las cepas fueron sensibles a: amoxicilina + ácido clavulánico, cloramfenicol, cefuroxim, cefotaxim, cotrimoxazol, eritromicina y tetraciclina. Estos antibióticos se aplicaron a los pacientes que anteriormente no habían respondido a la ampicilina<sup>6,149</sup>.

### Discusión

Moraxella (Branhamella) catarrhalis es una bacteria que con forme se ha estudiado a través del tiempo, ha presentado cambios en su nomenclatura, además de que primeramente se reconoció como comensal de nasofaringe y orofaringe y después adquirió importancia como microorganismo patógeno respiratorio u oportunista, tanto en pacientes normales como en pacientes inmunodeficientes, debido a la evolución del conocimiento de su actividad metabólica, comportamiento bioquímico y de su presencia cada vez más frecuente en muestras clínicas de los pacientes con enfermedades producidas por dicha bacteria. Además, la detección de la capacidad de esta bacteria para producir beta-lactamasas es importante, ya que éstas intervienen en el mecanismo de resistencia frente a los antibióticos beta-lactámicos.

La bacteria en estudio tiene forma de coco, pero como se agrupa en pares presentan sus lados adyacentes aplanados. Además es Gram-negativa, inmóvil, no capsulada y no produce esporas. Es aerobia estricta y desarrolla incubándola a 37°C durante 24 horas (más 5.0% de CO<sub>2</sub>), apareciendo en la superficie de los medios de cultivo empleados, colonias redondas, semiconvexas y no pigmentadas.

Primero se realizaron estudios acerca de la composición

química y antigénica, en donde se describieron de forma sencilla componentes como D-glucosa, D-galactosa, D-glucosamina, lípido A, etanolamina, ácidos grasos, acetil, fosfato y proteínas. Después, otros investigadores estudiaron las proteínas de superficie de dicha bacteria, observando que éstas le proporcionaban propiedades antigénicas, por lo que las llamaron arbitrariamente antígeno P. Uno de los componentes principales de esta bacteria es el DNA que interviene en su funcionamiento celular.

En estudios más recientes de los lipopolisacáridos de la pared celular, Johnson y colaboradores mostraron más detalladamente la composición de los lipopolisacáridos, observando que contenían oligosacáridos y lípido A, viendo que en los primeros estaban presentes: D-glucosa, D-galactosa, 2-amino-2-deoxi-D-glucosa, ácido 3-deoxi-D-mano-octulosónico y aldoheptosa. El lípido A estaba compuesto por varios ácidos grasos (ya mencionados), 2-amino-2-deoxi-D-glucosa, fosfato, acetil y etanolamina.

Existen pocos estudios comparativos de la composición química de Moraxella (Branhamella) catarrhalis con otras bacterias, pero los existentes mostraron semejanzas entre los géneros Neisseria, Branhamella, Moraxella y Acinetobacter.

La realización de diversos estudios cuali y cuantitativos acerca de la composición química de las bases nitrogenadas del DNA, de los ácidos grasos, de transformación genética y de reac

ciones bioquímicas de algunas especies de los 4 géneros mencionados, nos demostró que la bacteria en estudio está más relacionada con las especies del género Moraxella que con las especies de los otros géneros, por lo que los investigadores aceptaron llamarla: Moraxella (Branhamella) catarrhalis y también Moraxella catarrhalis, pero se puede decir que ésta última designación no se conoce mundialmente.

De acuerdo con los resultados obtenidos en las investigaciones de transformación genética, se puede observar que la recombinación genética es el proceso por el cual las cepas no virulentas se transforman en virulentas, siendo el DNA el responsable y el portador de los caracteres hereditarios. Lo anterior se pudo establecer por medio de los experimentos y observaciones de la exposición de unas cepas con otras, presentando las primeras carencia de una cierta característica que las segundas sí poseían, pero que después también adquirían al llevarse a cabo la recombinación genética. La característica estudiada principalmente en estas cepas fué la resistencia a la estreptomycin; para la identificación de las colonias bacterianas transformadas se realizaron las pruebas correspondientes. Se emplearon los controles necesarios y se realizaron duplicados para cada una de las cepas en estudio para evitar errores durante la interpretación de los resultados. Finalmente se propuso que la información genética,

Incluyendo las determinantes antigénicas de resistencia a la estreptomycin (str-r), se pudieron transferir sucesivamente, aunque es necesaria la realización de pruebas adicionales para la obtención de resultados más confiables.

La recombinación genética se consideró independiente de la concentración y tiempo de exposición del DNA y del tiempo necesario para la realización de la expresión fenotípica.

Los investigadores observaron diferencias entre sus resultados y las relaciones entre las especies de los géneros de la familia Neisseriaceae mostraron capacidad de recombinación genética entre ellos, atribuyéndose esto a los marcadores de resistencia transferidos a los antibióticos (DNA marcado con  $^{14}\text{C}$  o  $^{32}\text{P}$ ) y al material genético transferido que pudo haber sido DNA episomal no integrado correctamente al cromosoma bacteriano.

Se observó que en diversos experimentos y estudios con las cepas de los 4 géneros mencionados, las especies bacterianas que se relacionaron más con Moraxella (Branhamella) catarrahalis con respecto a transformación genética, algunas pruebas bioquímicas y características culturales, fueron Moraxella nonliquefaciens, Neisseria caviae y Neisseria ovis.

La bacteria en estudio no es exigente en cuanto a sus requerimientos nutricionales, ya que puede desarrollarse sobre medios de cultivo simples como agar nutritivo y no como las espe

cies patógenas del género Neisseria, cuyos requerimientos son estrictos. Esta bacteria desarrolla sobre la superficie de los medios de cultivo porque es aerobia estricta, aunque es necesario que se le administre 5.0% a 10.0% de CO<sub>2</sub> (Indispensable para la síntesis de ácidos grasos). Se ha observado un desarrollo óptimo de Moraxella (Branhamella) catarrhalis a 37°C, durante 48 horas en medios de cultivo que contengan componentes que le sirvan como fuentes de energía, carbono y nitrógeno, pero también necesita que los medios contengan mezclas de sales minerales y factores de crecimiento. Algunos de los medios de cultivo empleados en los diferentes experimentos y estudios poseen las características mencionadas y se presentan en el anexo.

A partir de especímenes clínicos o de cultivos se puede aislar e identificar a dicha bacteria sin dificultades, ya que la interpretación de los resultados no ofrece problemas, diferenciándose por todas sus características morfológicas macro y microscópicas, por su comportamiento bioquímico y propiedades antigénicas.

En el análisis de los especímenes en estudio se observa que es útil la realización de hemocultivos y de análisis inmunoenzimáticos, sirviendo los primeros para un diagnóstico presuntivo y para guiar en el aislamiento e identificación. El análisis inmunoenzimático también es útil para la identificación de esta bacteria, además de que se puede detectar la producción de anti-

cuerpos IgG, IgM e IgA en su contra, por lo que se puede decir que este análisis es muy sensible.

Las partes constituyentes de las vías respiratorias en conjunto, son muy importantes porque intervienen en los procesos mecánicos y químicos por medio de los cuales se lleva a cabo la absorción del oxígeno y desprendimiento del anhídrido carbónico a nivel de tejidos y en donde se realiza también la oxidación de algunas sustancias nutritivas con la finalidad de transformar la energía que almacenan y sea útil para que se lleven a cabo las funciones vitales de todo ser humano. Debido a la continuidad de la mucosa nasal con la mucosa de los senos paranasales, las infecciones de las vías respiratorias superiores (principalmente de la nariz), pueden extenderse hacia estas cavidades encerradas en hueso. Cuando los senos paranasales se inflaman producen enormes cantidades de moco y si las mucosas de los conductos y orificios de los mismos están inflamadas, entonces es posible que el moco no pueda escapar. Por lo tanto, se puede decir que la importancia de los senos reside en las alteraciones o daños que presentan por la presencia de enfermedad más que en su funcionamiento normal. Es importante considerar que además de las mucosas sinusales, la mayor parte de las estructuras se relacionan ya que poseen la misma inervación (que es el quinto par craneal), para la sensación do-

lorosa y es por esto que el dolor producido en las enfermedades sinusales puede irradiarse. Los receptores de 2 modalidades sensoriales, los de la audición y los del equilibrio se alojan en el oído. Se pudo observar que con la audición se relacionan el oído externo, medio e interno; en cambio, los canales semicirculares, el utrículo y el sáculo del oído interno se relacionan probablemente con el equilibrio.

Algunos de los microorganismos de la flora habitual pueden convertirse en virulentos. Varios investigadores realizaron diversas investigaciones y estudios a través del tiempo, en donde observaron la presencia de Moraxella (Branhamella) catarrhalis sola o asociada con otras bacterias patógenas como Streptococcus pneumoniae y Haemophilus influenzae, en los especímenes clínicos analizados de los pacientes con sinusitis, otitis media, bronquitis, neumonía y bronconeumonía. Otro aspecto de importancia es que la bacteria en estudio es capaz de producir beta-lactamasas, que le confieren la propiedad de resistencia a los antibióticos beta-lactámicos y también sirven para proteger a las otras bacterias patógenas sensibles a dichos antibióticos. Lo que ha hecho posible detectar ésto, es el uso de técnicas microbiológicas, cada vez mejores, que facilitan la identificación de la bacteria en estudio.

A la inflamación de la mucosa de los senos paranasales

se le llama sinusitis, esta es una complicación frecuente del resfriado común, debida a otros procesos que ocasionen inflamación de la mucosa nasal y también debida a infección generalizada. Con la finalidad de encontrar al o los agentes etiológicos de esta enfermedad y así poder dar un tratamiento adecuado o mejor aún para prevenirla, varios de los investigadores observaron y relacionaron sus resultados clínicos, bacteriológicos, serológicos y radiológicos obtenidos de sus investigaciones realizadas en niños menores de 16 años (principalmente bebés y niños pequeños) que son quienes padecen más frecuentemente la sinusitis; aunque la padecen también, pero con menor frecuencia los adultos y ancianos. Esta enfermedad se encuentra asociada con otitis media, rinitis, tos y asma en los niños y en adultos asociada a inmunodeficiencia. Como se ha detectado que la sinusitis puede presentarse en uno o en varios de los senos paranasales al mismo tiempo, los síntomas son variables de acuerdo con el sitio involucrado.

Es importante y muy útil la toma de radiografías de los senos paranasales para el diagnóstico de sinusitis, también son útiles, aunque menos empleados: el ultrasonido, la transiluminación y la sinoscopía. El ultrasonido es confiable, sencillo de realizar y rápido; en cambio la transiluminación y la sinoscopía son poco confiables, sirviendo sólo para complementar el diag-

nóstico ya obtenido por otros medios.

Cuando se presentan las afecciones nasofaríngeas, como rinitis, faringitis, sinusitis, amigdalitis, etc., el agente infeccioso pasa a través de la trompa de Eustaquio, sobre todo al sonarse violentamente o al practicarse lavados nasales intempestivos y llega al oído medio, aunque puede llegar a éste por el conducto auditivo externo inflamado, produciendo la inflamación de la mucosa que tapiza la caja del tímpano (otitis media). Esta enfermedad, al igual que la sinusitis, son producidas por Moraxella (Branhamella) catarrhalis principalmente, aunque en algunos casos se le encontró asociada con otras bacterias como: Streptococcus pneumoniae y Haemophilus influenzae.

Además de los datos clínicos y de los análisis bacteriológicos de los pacientes en estudio, se observó que las muestras clínicas (exudados del oído medio) se analizaron usando técnicas como la contrainmunolectroforesis e inmunofluorescencia (detectando al antígeno); en cambio, emplearon el análisis inmunoenzimático (ELISA) para detectar la producción de anticuerpos producidos contra la bacteria en estudio, presentes en suero.

Los bebés y los niños pequeños que corren mayor riesgo de adquirir la otitis media, con una alta proporción, están entre los 6 y 36 meses de edad y los que tienen menor riesgo son los que tienen entre 4 y 7 años. No obstante, la incidencia

y prevalencia de esta enfermedad tienden a decrecer en función de la edad, después de los 6 años. La incidencia es mayor en niños de niveles socioeconómicos bajos como los nativos de Alaska y los indios americanos, según el Centro Nacional Americano para las Estadísticas de Salubridad, se reportó que la otitis media aguda fué más común en niños de 6 a 17 años de edad, de entre estos, los niños con el paladar hendido o con otras anormalidades craneofaciales (como los niños con síndrome de Down) son los más susceptibles a dicha enfermedad. Además, se observa una mayor incidencia en el invierno y al principio de la primavera.

La pérdida de la audición es la consecuencia más común de la otitis media, que puede llevar a presentar trauma psicológico, timpanostomía, predisposición a desarrollar una enfermedad más severa del oído, o adenoidectomía, aunque en la actualidad estas complicaciones son relativamente raras gracias al progreso en los métodos de tratamiento.

Cuando se desarrollan sobre las paredes bronquiales, los microorganismos que se encuentran en las vías respiratorias como Moraxella (Branhamella) catarrhalis, Streptococcus pneumoniae, etc., producen la inflamación de la membrana mucosa de los bronquios (bronquitis) y para que ocurra esto deben existir las causas predisponentes que debilitan los mecanismos generales y locales del sistema inmunológico (de defensa antimicrobia-

na). Otro factor predisponente de esta enfermedad es la edad de los pacientes, ya que en la infancia y en la vejez se presenta con mayor frecuencia la bronquitis. También, la padecen los individuos mineros, cigarreros, maquinistas, fumadores, alcohólicos, inmunodeficientes, los que tienen defectos en su respiración, con fallas cardíacas, con enfermedad pulmonar obstructiva o con diabetes.

Los microorganismos comúnmente aislados a partir de muestras de esputo y aspirados transtraqueales son, igualmente Moraxella (Branhamella) catarrhalis, Haemophilus influenzae y Streptococcus pneumoniae; pero con mayor frecuencia la primera se ha aislado sola y en algunos casos asociada con las otras 2 bacterias. Por medio de todas estas investigaciones realizadas, se propuso que el aislamiento de estos microorganismos a partir de secreciones bronquiales por medio de la aspiración transtraqueal (endotraqueal) es altamente aceptable como un procedimiento de elección para colectar materiales no contaminados del tracto respiratorio inferior.

Además de los diagnósticos clínico y de laboratorio se deben realizar estudios adicionales por medio de radiografías del tórax de los pacientes, en donde se pueden observar evidencias de neumotórax, infiltraciones lobulares, etc., que son útiles para confirmar la bronquitis.

Otra de las enfermedades producida por la bacteria en estudio es la neumonía, la cual se caracteriza por la inflamación del parénquima pulmonar y es precedida frecuentemente por enfermedades virales como la gripe u otras bacterianas como la tosferina.

En esta enfermedad, al igual que en la bronquitis, existen ciertos factores que predisponen a los pacientes a la invasión y desarrollo de los microorganismos patógenos, entre dichos factores están los enfriamientos, la debilidad del organismo debida a enfermedades (alcoholismo, diabetes, etc.), a inhalación de sustancias tóxicas, a inmunodeficiencia, a enfermedades pulmonares previas, fallas cardíacas o arterioesclerosis; pero también influye la edad, porque la neumonía se produce con mayor frecuencia en ancianos y en niños pequeños.

En lo que se refiere a la metodología y tecnología seguida por los investigadores para realizar la observación y obtención de los datos clínicos, resultados bacteriológicos, serológicos de las muestras biológicas (aspirado transtraqueal, esputo y suero) provenientes de los pacientes con neumonía (pulmonía), éstas son iguales a las empleadas en la bronquitis, y los microorganismos identificados, con frecuencia semejantes a los que producen la bronquitis, ya que la bacteria en estudio se identificó en casi todos los casos analizados ya sea sola o asociada con una o am-

bas de las bacterias ya mencionadas.

Los pacientes con neumonía presentan una sintomatología muy molesta, ya que sufren alteraciones más severas y dolorosas en su organismo que la que presentan los pacientes con bronquitis.

El cultivo de líquido pleural nos proporciona una corroboración útil del significado de los hallazgos en el esputo, y la aspiración pulmonar justifica su empleo en pacientes con dificultades, que son objeto de preocupación seria.

Otras formas útiles en el diagnóstico se tienen en la realización de hemocultivos, biopsias, observaciones sobre secciones histológicas y cultivos a partir de tejido pulmonar en la autopsia de pacientes que murieron de neumonía.

La toma de radiografías o roentgenogramas de tórax es muy aceptable para la confirmación del diagnóstico de neumonía, ya que revelan más evidencias de la patogenicidad de Moraxella (Branhamella) catarrhalis, en infiltrados lobulares y multilobulares.

Una enfermedad parecida a la neumonía es la bronconeumonía, que es también producida por la bacteria en estudio, en la que hay afección en las placas del parénquima pulmonar, particularmente en las zonas bajas. Es patente que cualquier factor que dificulte los mecanismos normales de defensa, predispone a

la neumonía bacteriana. La invasión bacteriana de los pulmones origina una reacción exudativa maciza llamada consolidación, y cuando ésta ocurre en zonas irregulares, en un lóbulo o en el pulmón, el cuadro anatómico se llama bronconeumonía.

Streptococcus pneumoniae y Moraxella (Branhamella) catarrhalis son los agentes etiológicos de esta enfermedad, aunque pueden presentarse otros microorganismos. Los factores que predisponen a los pacientes a la bronconeumonía son similares a los de la neumonía, pero con la diferencia de que la primera también puede ser resultado del avance y duración de una bronquiolitis y hasta de una bronquitis aguda febril. Es importante tener presente que todas estas causas o factores son solamente predisponentes, ya que la verdadera causa determinante de la bronconeumonía es siempre el desarrollo de los microorganismos mencionados sobre el tejido broncopulmonar.

Una diferencia notable entre la neumonía y la bronconeumonía es que al realizar la exploración del tórax de pacientes con ésta, se puede apreciar una disminución de la sonoridad a la percusión y unos estertores crepitantes con un soplo bronquial a la auscultación, disseminado por los campos de ambos pulmones como corresponde a los diversos focos inflamatorios de la bronconeumonía. Esta enfermedad afecta a ancianos, niños inmunodeficientes, alcohólicos crónicos, desnutridos, obesos, cardíacos.

cos, diabéticos, a los que presentan bronquitis crónica y disminución de las defensas orgánicas o por condiciones cardiovasculares desfavorables y también a las personas que trabajan en minas, ferrocarrileros, etc.

Posteriormente a todos los estudios realizados, los investigadores propusieron que Moraxella (Branhamella) catarrhalis es un microorganismo respiratorio patógeno oportunista importante, identificable microbiológicamente a partir de muestras del tracto respiratorio inferior, serológicamente por medio de la detección de los anticuerpos presentes en el suero de los pacientes; y como encontraron que algunas de sus cepas producen beta-lactamas, se recomendó el empleo de antibióticos adecuados diferentes a los beta-lactámicos para el tratamiento de estas enfermedades, ya que si no se tiene el cuidado debido al elegir los antibióticos se puede producir un incremento en los índices de morbilidad y mortalidad.

La toma de radiografías de tórax, también ayuda a la confirmación del diagnóstico obtenido, y se puede realizar en cualquier etapa de la enfermedad; aunque en los pacientes enfermos gravemente, la radiografía se les toma lo más pronto posible.

Se ha observado que los humanos hemos adquirido mecanismos de resistencia para enfrentarnos a los microorganismos oportunistas y patógenos potencialmente invasivos, tales mecanismos

mos constan de efectos protectores combinados de las barreras anatómicas, fagocitosis celular fundamental, digestión por fagocitos y mecanismos efectores, por ejemplo el complemento, los cuales pueden verse modificados por el estado nutricional, hormonal y de conformación genética.

Cuando un sistema inmune funciona normalmente es una defensa eficaz contra agentes microbianos patógenos y contra células propias que han sufrido una transformación neoplásica; pero cuando el funcionamiento del sistema inmune es defectuoso, trae como consecuencia la enfermedad. Diferentes investigadores realizaron diversos trabajos en varios pacientes y observaron que entre los factores que causan una inmunosupresión generalizada, se pueden mencionar: terapia con corticoesteroides por vía oral (por ejemplo la reciben personas que tuvieron ocupaciones en las minas de carbón, siendo considerados como huéspedes inmunodeficientes debido a sus características clínicas y a sus funciones pulmonares alteradas, por lo que sufrieron episodios infecciosos repetidos que dañaron su mecanismo ciliar bronquial); diabetes mellitus, infecciones virales, neoplasma maligno, enfermedad reumatoide y alcoholismo, aunque puede presentarse más de uno de estos factores en algunos de ellos.

Raramente existen reportes que enfatizan la observación de que Moraxella (Branhamella) catarrhalis es un microorganismo

patógeno pulmonar primario en los huéspedes normales. No obstante, éste puede causar enfermedades del tracto respiratorio inferior significantes en pacientes con antecedentes de fallas en sus funciones pulmonares, por ejemplo antrasilicosis, síndrome de Goddpasteur, bronquitis crónica, bronquitectasias, etc.

Más del 50.0% de los casos de neumonías y bronconeumonías ocurrieron en pacientes con inmunodeficiencias. Esto no es sorprendente, porque como se ha mencionado, estos padecimientos bacterianos son complicaciones reconocidas en pacientes con mieloma múltiple, leucemia linfocítica crónica, alcoholismo y enfermedades pulmonares obstructivas crónicas.

Se puede dar un tratamiento a los pacientes que padecen estas enfermedades, recomendándoles lo siguiente: evitar enfriamientos durante y después del tratamiento, condiciones de reposo en clima cálido o templado, ingestión de bebidas y alimentos calientes y poner especial cuidado al seguir las indicaciones de la dosis y frecuencia de los antibióticos que se administren, así como de los analgésicos, descongestionantes, aerosoles, líquidos desinfectantes, expectorantes y emolientes, calmantes de la tos, antipiréticos, sustancias balsámicas (aerosolterapia), sedantes y de los tónicos cardíacos y de la circulación sanguínea (en pacientes con alteraciones o deficiencia cardíaca). Cuando los pacientes con sinusitis y otitis media no responden al tratamiento

prescrito, se puede recurrir (no tardando mucho) al tratamiento quirúrgico para evitar más complicaciones y la muerte del paciente.

De acuerdo con los trabajos realizados anteriormente, Moraxella (Branhamella) catarrhalis era sensible a las penicilinas (aún a concentraciones bajas); pero en los últimos años, varios investigadores de diferentes lugares del mundo encontraron que dicha bacteria ya es resistente a las penicilinas, aunque se empleen concentraciones elevadas, debido a su capacidad de producir beta-lactamasas que actúan inactivando a los antibióticos beta-lactámicos como las penicilinas, tanto las obtenidas de fuente natural como las sintéticas. Esto tiene un significado básico en el tratamiento de las enfermedades que produce esta bacteria, ya que al emplearse penicilinas pueden ocurrir fallas terapéuticas con severas consecuencias o enfermedades más graves o aún la muerte de los pacientes; además, si hay otros microorganismos patógenos sensibles a las penicilinas, éstos pueden ejercer su acción patógena libremente en presencia de la bacteria en estudio ya que ésta produce las enzimas inactivadoras de dichos antibióticos.

Anteriormente, la ampicilina y amoxicilina se usaban mucho como la terapéutica de primera línea en las enfermedades producidas por la bacteria en estudio, pero ahora, con el incre

mento del porcentaje de las cepas de Moraxella (Branhamella) catarrhalis productoras de beta-lactamasas, ya no se usan para evitar que se eleven los índices de morbilidad y mortalidad.

Posteriormente, varios investigadores siguieron realizando estudios y experimentos, encontrando un antibiótico inhibidor de las beta-lactamasas llamado ácido clavulánico, obtenido a partir de Streptomyces clavuligerus. También se observa que dicho inhibidor presenta sinergismo antibacteriano cuando se usa en presencia de un antibiótico beta-lactámico, como las penicilinas (especialmente la amoxicilina), por lo que se puede decir que la eficacia de la combinación del ácido clavulánico con la amoxicilina sobre las bacterias causantes de las enfermedades respiratorias en estudio, refleja la capacidad del ácido clavulánico para proteger a la amoxicilina de la acción enzimática de las beta lactamasas, permitiendo que ésta actúe ejerciendo totalmente su efecto antibacteriano.

No obstante, también avanzaron las investigaciones y comparaciones de las susceptibilidades experimentadas por diversas cepas de Moraxella (Branhamella) catarrhalis frente a varios antibióticos diferentes de los beta-lactámicos y comparándolos con éstos últimos, se observó que algunos fueron más activos contra dichas cepas que las penicilinas. Por tal motivo, los investigadores sugirieron que para el tratamiento de las enferme-

dades que produce la bacteria en estudio, es conveniente emplear antibióticos como: eritromicina, cefalosporinas estables a la acción de beta-lactamasas, co-trimoxazol, cloramfenicol, tetraciclina, kanamicina, cefaclor, cafamandol, moxalactam, vancomicina, etc. Otra ventaja adicional de estos antibióticos es que se pueden administrar sin ningún problema a pacientes que son alérgicos a las penicilinas; aunque no se han establecido las dosis invariables para cada uno de los antibióticos mencionados.

Un aspecto adicional muy importante que contribuyó al desarrollo del conocimiento del tratamiento, es el uso de combinaciones de antibióticos, por ejemplo la del ácido clavulánico más amoxicilina, que se ha empleado con mayor frecuencia en las investigaciones, estudios y experimentos realizados hasta nuestros días, debido a que casi todos los investigadores calificaron como excelente la respuesta que presentaron los pacientes a quienes se les sometió a tratamiento con esta combinación, empleando bajas concentraciones de ambos componentes; una desventaja fué que se observó que se produjeron algunos efectos colaterales, por ejemplo problemas gastrointestinales en algunos de los pacientes en estudio. Entre otras combinaciones empleadas están: el sulbactam combinado con penicilina, amoxicilina o cefoxitín; la eritromicina combinada ya sea con sulfisoxazol o con sulfafurazol y la combinación muy conocida también del trimetoprim más sulfametoxazol.

### Conclusiones

1. Moraxella (Branhamella) catarrhalis es una bacteria comensal integrante de la flora habitual, aunque últimamente también se le considera como un microorganismo patógeno u oportunista de vías respiratorias.
2. Debido a su composición química y antigénica es fácilmente identificable y capaz de inducir la respuesta inmune en el huésped. El análisis inmunoenzimático (ELISA) es muy útil y se emplea frecuentemente para detectar los anticuerpos IgG, IgM e IgA producidos.
3. Al igual que en todas las células, su DNA es el responsable del control de su funcionamiento celular y el portador de caracteres hereditarios, por medio de él se realiza la recombinación genética, transformándose las cepas no resistentes en resistentes a ciertos antibióticos.
4. Las especies de los géneros de la familia Neisseriaceae se relacionan y tienen la capacidad de recombinación genética entre ellas.
5. Los mecanismos de resistencia que posee el ser humano son muy importantes, ya que sirven para que se enfrente a los microorganismos oportunistas y patógenos invasivos, y se modifican por el estado nutricional, hormonal y de conformación genética. Cuando se altera el funcionamiento de dichos

mecanismos de defensa (sistema inmune) se produce la enfermedad.

6. La importancia de las vías respiratorias no sólo reside en que intervienen en ciertos procesos para proporcionarnos oxígeno y energía necesarios en el funcionamiento vital del organismo, sino que si existe alguna alteración o daño en ellas se presentarán las enfermedades respectivas y como se interrelacionan con los senos paranasales y con el oído, la enfermedad puede prolongarse a éstos últimos.
7. Moraxella (Branhamella) catarrhalis se ha encontrado sola o asociada con Streptococcus pneumoniae y/o con Haemophilus influenzae, como agente causal de procesos patológicos como sinusitis, otitis media, bronquitis, neumonía y bronconeumonía. Siendo la sinusitis y la otitis media más frecuentes en bebés y niños pequeños, y poco frecuente en adultos y ancianos. En cambio, la bronquitis, neumonía y bronconeumonía, las padecen frecuentemente los bebés, niños pequeños, ancianos, pacientes inmunodeficientes y los pacientes que presentan enfermedades pulmonares previas; aunque también se presentan en adultos, pero no con frecuencia.
8. Para establecer el diagnóstico de dichos procesos patológicos son importantes: la obtención de los datos clínicos, la obtención de los resultados de los análisis bacteriológicos de las

muestras de senos paranasales, de exudados del oído medio, esputo y aspirados transtraqueales; y la obtención de los resultados de los análisis serológicos y radiológicos (éstos últimos sirven para la confirmación del diagnóstico obtenido).

9. Otro aspecto de gran importancia es la detección de la capacidad de Moraxella (Branhamella) catarrhalis para producir beta-lactamasas, por ello es resistente a los antibióticos beta-lactámicos y "protege" a otros microorganismos patógenos de la acción de dichos antibióticos. Las pruebas de susceptibilidad a los antibióticos beta-lactámicos como la penicilina y amoxicilina no son aplicables para la bacteria en estudio.
10. Se recomienda para el tratamiento de las enfermedades que produce la bacteria mencionada, el empleo de antibióticos diferentes de los beta-lactámicos, si se emplean éstos deben ser combinados con otros antibióticos inhibidores de beta-lactamasas o también emplear combinaciones de otros antibióticos para evitar que se incrementen los índices de morbilidad y mortalidad.

## ANEXO

Medio de cultivo B4

Solución S-715 de sales minerales	500.0 ml.
DL-lactato de sodio al 60.0%	20.0 ml.
Aspartato monopotásico	5.0 g.
L-prolina	4.0 g.
Cloruro de L-arginina hidratado	1.0 g.
Glicina	2.0 g.
L-metionina	0.2 g.
Tween 80 al 20.0%	2.0 ml.
Agar	7.5 g.

pH final de 7.1 y esterilizado por medio de la filtración de membrana.

La solución S-715 de sales minerales se preparó mediante la disolución de las siguientes sales, en un volumen final de agua destilada de un litro: 11.2 gramos de  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ , 4.0 gramos de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 2.0 gramos de  $\text{NH}_4\text{Cl}$ , 0.2 gramos de  $\text{MgSO}_4$  y 1.0 ml. de solución de  $\text{CaCl}_2$  al 1.0%<sup>17</sup>.

Medio de cultivo AB (Aminoácidos + Biotina)

Hidrolizado de caseína libre de vitaminas	5.0 g
L-cisteína	0.04 g
L-triptofano	0.01 g
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	0.5 g
MgSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O	0.05 g
FeSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O	0.005 g
DL-lactato de sodio	0.1 %
Succinato	0.1 %
Amortiguador de fosfatos 0.1M	200.0 ml.
Agua destilada	800.0 ml.

pH final de 7.0 y esterilizado en autoclave durante 30 minutos,  
a 15 libras/in<sup>2</sup> y a 121 °C.

Biotina (esterilizada por filtración

y adicionada al medio) 1.0 µg

Medio de cultivo APV (Aminoácidos + Purinas

+ Pirimidinas + Vitaminas)

Hidrolizado de caseína libre de vitaminas	5.0 g
L-cisteína	0.04 g
L-triptofano	0.01 g
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SC <sub>4</sub>	0.5 g
MgSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O	0.05 g
FeSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O	0.005 g

DL-lactato de sodio	0.1	‰
Succinato	0.1	‰
Adenina	0.02	g
Guanina	0.02	g
Citocina	0.02	g
Timina	0.02	g
Uracilo	0.02	g
Xantina	0.02	g
2-metil-1,4-naftaquinona	0.001	g
Riboflavina	0.0005	g
Acido para-amino benzoico	0.0001	g
Acido fólico	0.0001	g
Acido nicotínico	0.0001	g
Nicotinamida	0.0001	g
Acido pantoténico	0.0001	g
Piridoxal	0.0001	g
Acido lipoico	0.0001	g
Hemina	0.0001	g
Amortiguador de fosfatos 0.1M	200.0	ml.
Agua destilada	800.0	ml.

pH final de 7.0 y esterilizado en autoclave durante 30 minutos,  
a 121 °C y a 15 libras/in<sup>2</sup>

Biotina	} Esterilizadas por filtración y adicio- nadas al medio	1.0 $\mu$ g
Tiamina		1.0 $\mu$ g
Vitamina B <sub>12</sub>		1.0 $\mu$ g

Medio de cultivo AYE (Aminoácidos + Extracto de Levadura)

Hidrolizado de caseína	0.5	%
Extracto de levadura	0.5	%
DL-lactato de sodio	0.1	%
L-cisteína	0.04	g/l
L-triptofano	0.01	g/l

Amortiguador de fosfatos 0.02M

Agua destilada c. b. p. 1000.0 ml.

pH final de 7.0 y esterilizado en autoclave a 121°C, durante  
30 minutos y a 15 libras/in<sup>2</sup> 22, 96

Medio de cultivo HIY-1 (Infusión de Corazón + Extracto de  
Levadura) (Difco)

Infusión de corazón	2.5	%
Extracto de levadura	0.5	%
Agua destilada c. b. p.	100.0	ml.

pH final de 7.0 y esterilizado en autoclave a 121°C, durante  
30 minutos y a 15 libras/in<sup>2</sup>

Suplementado con ácido ribonucleico, glutamato de sodio y  
cloruro de calcio, este medio de cultivo se empleó en estado lí-

quido y semisólido, en la preparación de este último se añadió una pequeña cantidad de agar para darle consistencia semisólida<sup>22,60</sup>.

Medio de cultivo Frantz

Hidrolizado de caseína	5.0 g
L-cisteína	0.012 g
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> .12H <sub>2</sub> O	6.5 g
KCl	0.09 g
NH <sub>4</sub> Cl	1.25 g
MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	0.6 g
Agua destilada c. b. p.	1000.0 ml.

pH final de  $7.2 \pm 0.2$  y esterilizado en autoclave a 121°C, durante 30 minutos y a 15 libras/in<sup>2</sup> de presión<sup>96</sup>.

### Tinción de Gram

Cuando se trata de observar la morfología y agrupación, se realiza la tinción de Gram en el extendido bacteriano fijado al calor sobre un portaobjetos, empleando una serie de reactivos que permitirán diferenciar a las bacterias en dos grupos: los microorganismos Gram-positivos que se tiñen de color violeta, - mientras que aproximadamente un tercio de los cocos, la mitad de los bacilos y todos los microorganismos espiralados se tiñen de color rojo y se dice que son Gram-negativos.

El mecanismo de la tinción de Gram generalmente parece relacionarse con el espesor de la pared celular, el tamaño de los poros y las propiedades de permeabilidad de la pared y membrana celulares intactas.

La tinción de Gram es uno de los métodos de tinción más importantes en el laboratorio de Bacteriología, sobre todo en taxonomía bacteriana, indicando diferencias fundamentales de la pared celular de las distintas bacterias<sup>23,110,140,160</sup>.

### Prueba de la oxidasa

Keilin demostró por primera vez la utilidad de la reacción de la oxidasa para la identificación de los géneros Neisseria, Branhamella, Acinetobacter y Moraxella y otros que poseen el sistema de citocromos<sup>115</sup>.

La prueba de la oxidasa se basa en la producción bacteria-

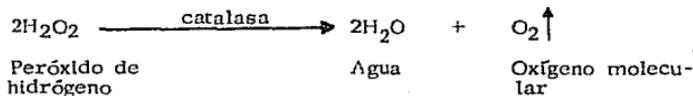
na de una enzima, la oxidasa. La reacción se debe a la presencia de un sistema citocromo-oxidasa que activa la oxidación de un citocromo reducido por medio del oxígeno molecular, el cual actúa como aceptor de electrones en la etapa terminal del sistema de transferencia de electrones<sup>64</sup>.

Todas las bacterias aerobias obtienen su energía por medio de la respiración, este proceso es responsable de la oxidación de diversos sustratos. El oxígeno molecular oxida un sustrato con la intervención del sistema de transporte de electrones<sup>84</sup>. El oxígeno es el aceptor final del hidrógeno, produciendo agua o peróxido de hidrógeno, dependiendo de las especies bacterianas y de su sistema enzimático.

El sistema de citocromos se presenta generalmente en microorganismos aerobios y como se mencionó antes, éstos son capaces de utilizar el oxígeno como aceptor final del hidrógeno para reducir el oxígeno molecular a agua o peróxido de hidrógeno, en la última etapa de la cadena respiratoria. De aquí que la citocromo-oxidasa cumple una función importante en la respiración aerobia. Steel demostró que todos los microorganismos oxidasa positiva que estudió eran aerobios o anaerobios facultativos<sup>53, 70</sup>.

Gordon y McLeod, expresaron que una reacción oxidasa positiva está limitada para aquellos microorganismos capaces de

crecer en presencia de oxígeno y que al mismo tiempo producen la enzima catalasa, que degrada al peróxido de hidrógeno<sup>53</sup>, - pues su acumulación es tóxica:



Los estudios espectrofotométricos realizados por Warburg demostraron que dos enzimas, de las cuales se hablaba en forma individual, la citocromo-oxidasa y la indofenol-oxidasa, son iguales.

Castor y Chance demostraron, por medio de métodos fotoquímicos, la existencia de tres pigmentos bacterianos que actúan como enzimas respiratorias citocromo-oxidatas terminales: citocromo  $a_1$ , citocromo  $a_2$  y citocromo  $a_3$ . Esta variedad de citocromos son pigmentos respiratorios que contienen compuestos de ferroporfirinas.

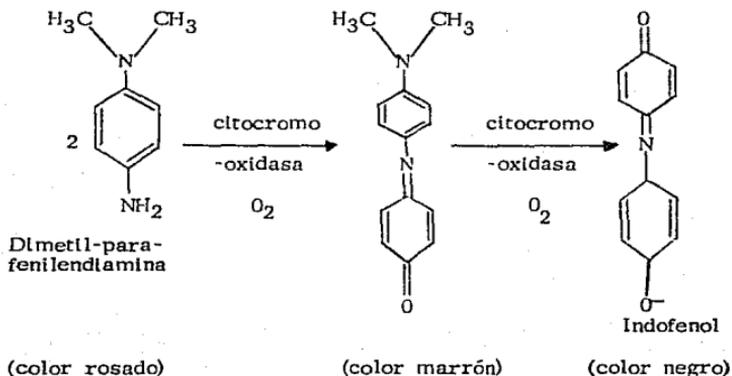
La distribución de los citocromos varía en cada especie bacteriana; algunos microorganismos poseen solamente una oxidasa, mientras que otros pueden producir dos o las tres<sup>160</sup>.

Kellin concluyó que la reacción de la oxidasa es una prueba directa para la citocromo-oxidasa terminal del tipo  $a_3$ , la cual

es una ectoenzima por lo que al realizarse la prueba de la oxidasa debe adicionarse el sustrato sobre las colonias bacterianas y por lo tanto se hace la lectura sobre las mismas.

Los diversos colorantes para la prueba de la oxidasa son aceptores artificiales de electrones, por ejemplo: el reactivo de para-fenilendiamina y el indofenol, ambos son aceptores y donadores de electrones<sup>55</sup>.

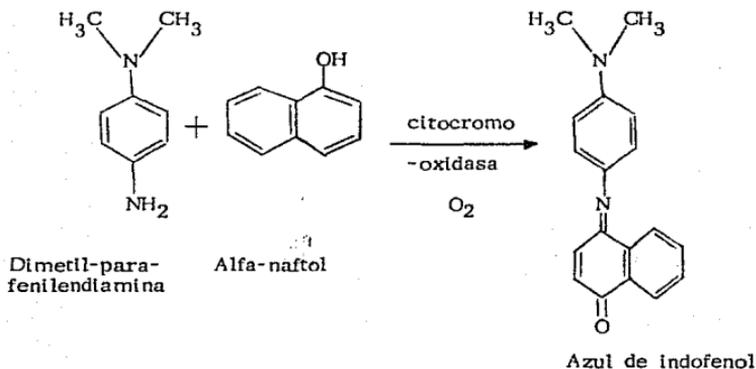
Estos sustratos artificiales son incoloros o coloridos, dependiendo del estado de oxidación en que se encuentren; la reacción final de la oxidasa muestra un producto colorido<sup>55</sup>. En la prueba de la oxidasa se lleva a cabo la siguiente reacción:



Todas las especies de Pseudomonas y Neisseria producen una enzima oxidasa, la cual en presencia de oxígeno, citocromo

c y del reactivo dimetil-para-fenilendiamina, oxida a éste último para formar un compuesto colorido, el indofenol<sup>23</sup>.

Si al prepararse el reactivo dimetil-para-fenilendiamina, se le agrega alfa-naftol se forma un compuesto colorido, el azul de indofenol y se logra una mayor sensibilidad, aunque el alfa-naftol no es necesario para que se realice la reacción<sup>22, 94, 143</sup>:



La prueba de la oxidasa se usó originalmente para la identificación de todas las especies del género Neisseria, pero más adelante se usó para diferenciar a la familia Pseudomonadaceae (oxidasa positiva) de los miembros oxidasa negativa de la familia Enterobacteriaceae<sup>66, 112</sup>.

Ayuda a la diferenciación entre Moraxella (Branhamella) catarrhalis (bacteria Gram-negativa, oxidasa positiva) y la ma-

yoría de las bacterias Gram-positivas que son oxidasa negativa <sup>140</sup>.

Es importante considerar las siguientes precauciones:

- La prueba de la oxidasa se usa como rutina para la identificación del género Neisseria y de Moraxella (Branhamella) catarrhalis. No obstante, otros microorganismos pueden ser oxidasa positiva.

- Es importante realizar primero una tinción de Gram al fro-  
tis bacteriano, antes de realizar la prueba de la oxidasa sobre  
las colonias bacterianas en la identificación de las especies del  
género Neisseria y de la bacteria en estudio, ya que todas estas  
bacterias son diplococos Gram-negativos con forma arrañada,  
mientras que otros microorganismos que sean oxidasa positiva  
presentan una morfología diferente, aunque sean Gram-negativos  
también. Sin embargo, Moraxella urethralis puede tener morfo-  
logía y Gram similares a Neisseria, por lo que se recomienda  
la realización de las pruebas de utilización de hidratos de carbo-  
no para la identificación final de las especies del género Neisse-  
ria y de Moraxella (Branhamella) catarrhalis.

- Cuando se rotule el reactivo diclorhidrato de tetrametil-pa-  
ra-fenilendiamina, no debe hacerse simplemente como reactivo  
de Kovacs, sino reactivo de oxidasa de Kovacs, ya que existe  
también un reactivo de indol de Kovacs.

Los reactivos de oxidasa se auto-oxidan rápidamente y pierden su sensibilidad, se logra reducir esto agregando una solución de ácido ascórbico al 0.1% directamente al reactivo<sup>72</sup>, si durante su preparación se forma un precipitado o toma un color azul intenso se desecharán<sup>66,72</sup>. Debe evitarse la exposición de los reactivos a la luz<sup>140</sup>. La confiabilidad de este reactivo se limita al tiempo en que pueda producirse un resultado positivo (hasta 60 segundos).

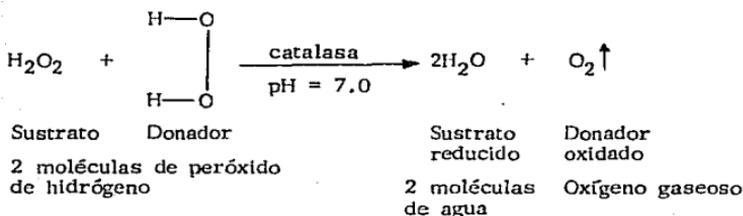
#### Prueba de la catalasa

La enzima catalasa se encuentra en la mayoría de las bacterias aerobias y anaerobias facultativas que contienen el sistema de citocromos<sup>74, 112</sup>; excepto el género Streptococcus. Por lo general, los microorganismos que no poseen el sistema de citocromos carecen también de la enzima catalasa y por lo tanto no pueden descomponer el peróxido de hidrógeno<sup>84</sup>.

El peróxido de hidrógeno, si se deja acumular, es tóxico para las bacterias y provoca la muerte. La catalasa descompone el peróxido de hidrógeno, sin embargo, no tiene acción contra otros peróxidos<sup>94</sup>.

En la descomposición del peróxido de hidrógeno, una molécula actúa como el sustrato y otra como un donador; el sustrato reducido por los átomos de hidrógeno cedidos por el donador,

da como resultado un sustrato reducido y un donador oxidado<sup>55</sup>:



El pH óptimo para la actividad de la catalasa es de 7.0<sup>114</sup>.

Es importante tomar en cuenta, antes y durante la realización de la prueba de la catalasa, lo siguiente:

- El peróxido de hidrógeno se debe controlar con cultivos positivos y negativos conocidos antes de usarlo. Como control positivo se emplea Staphylococcus aureus y como control negativo a Streptococcus sp., ya que se obtienen fácilmente y su conservación no crea problemas.

- El peróxido de hidrógeno (superoxal) debe ser muy fresco porque, es muy inestable y se descompone fácilmente cuando se expone a la luz, debe mantenerse continuamente en refrigeración mientras no se emplee y pasarse por un control de calidad diariamente o antes de su empleo.

- La prueba de la catalasa ayuda a diferenciar las especies Moraxella bovis (catalasa variable) y Moraxella kingii (catalasa negativa) de las otras especies del género, incluyendo a Moraxella (Branhamella) catarrhalis que son catalasa positiva.

- El crecimiento de un cultivo debe ser de 18 a 24 horas para la realización de la prueba de la catalasa, ya que las colonias viejas pierden su actividad y dan resultado falso negativo<sup>19</sup>.

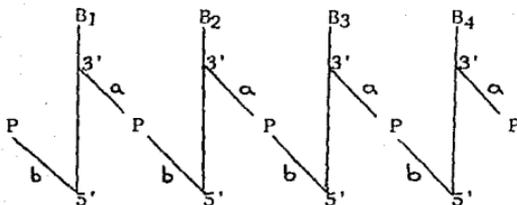
- El superoxal ( $H_2O_2$  al 30.0%) es una solución cáustica y por eso debe evitarse su contacto con la piel, porque produce quemaduras dolorosas. Si esto ocurriera, deberá lavarse inmediatamente la piel con alcohol etílico de 70°, para neutralizar la acción y no lavarse con agua.

- No existen normas universales para la concentración del peróxido de hidrógeno utilizado en las reacciones de la catalasa. La concentración y el método empleado son arbitrarios y varían de un laboratorio a otro<sup>140</sup>.

### Producción de desoxirribonucleasa

Los puentes fosfodiéster del ácido desoxirribonucleico (DNA) son atacados por dos clases de enzimas, designadas a y b. La clase a, desoxirribonucleasa I es una endonucleasa cuya especificidad radica en que ataca algunos enlaces 3' del DNA y la clase b, desoxirribonucleasa II, también es una endonucleasa pero su especificidad radica en que ataca algunos enlaces 5' del DNA, como se muestra en la figura No. 10<sup>136</sup>.

FIGURA No. 10



Representación esquemática de la notación "taquígrfica" de la estructura de los polinucleótidos. Las líneas verticales representan el esqueleto de la pentosa, los números 3' y 5' los átomos de carbono de la pentosa, y P el grupo fosfórico. Los diagramas siempre muestran los enlaces fosfodiéster 3' y 5' que van de izquierda a derecha. Los enlaces a (3') y b (5') (en color) de los enlaces internucleotídicos. B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>3</sub> y B<sub>4</sub> son las bases nitrogenadas.

Las enzimas clase a, desoxirribonucleasa I, hidrolizan específicamente el enlace éster entre el carbono 3' y el grupo fosfórico, y las enzimas clase b, desoxirribonucleasa II hidrolizan el enlace éster entre el grupo fosfórico y el carbono 5' del puen

te fosfodiéster (figura No. 10). La desoxirribonucleasa II se ha aislado de diversas bacterias<sup>136</sup>.

La producción de la desoxirribonucleasa puede detectarse por medio del sistema Quad FERM+ (Productos Analíticos, Nueva York). Este sistema consiste en una placa de plástico con varios pozos, a 6 de los cuales se les colocó amortiguador de fosfatos e indicador rojo de fenol, a 4 pozos se les colocó por separado solución de glucosa, maltosa, lactosa y sacarosa. Al quinto pozo no se le puso carbohidrato para emplearlo como control negativo. En el sexto se colocó penicilina para detectar la producción y actividad de beta-lactamasas y en el séptimo se depositó DNA, como sustrato, e indicador rojo de fenol para investigar y detectar la producción y actividad de la desoxirribonucleasa.

Después se inoculó el sistema con una suspensión de un cultivo puro del microorganismo, en este caso de Moraxella (Branhamella) catarrhalis, equivalente o mayor que el estándar de Mc Farland número 3. La suspensión se preparó con solución salina e inóculo de un subcultivo del microorganismo mencionado en agar sangre o en agar chocolate. Las muestras de 200.0 microlitros de esta suspensión se colocaron en cada uno de los pozos y se taparon con papel adhesivo. El sistema se incubó en condiciones de aerobiosis sin bióxido de carbono, a 35°C duran-

te 2 horas.

La prueba de utilización de hidratos de carbono resultó negativa para el microorganismo en estudio.

La producción de beta-lactamasas se determinó por medio de la prueba de cefalosporina cromogénica (Cefinase, BBL), resultando positiva para Moraxella (Branhamella) catarrhalis.

La producción y actividad de desoxirribonucleasa por Moraxella (Branhamella) catarrhalis, se detectó por medio de la observación de la hidrólisis del ácido desoxirribonucleico, después de un tiempo de incubación de 2 horas a 35°C y en condiciones de aerobiosis; por lo tanto, la prueba Quad+DNAasa fué positiva. Los otros microorganismos de las cepas empleadas de Neisseria sp. fueron Quad+DNAasa negativa<sup>41, 96</sup>.

La ruptura hidrolítica selectiva de los polinucleótidos por métodos enzimáticos se emplea en la determinación de la secuencia de bases nitrogenadas de los ácidos nucleicos<sup>136</sup>.

#### Pruebas de utilización de los hidratos de carbono

La utilización que una bacteria hace de los hidratos de carbono tiene lugar por alguno de los dos procesos: de oxidación o de fermentación. Algunas bacterias son capaces de metabolizar hidratos de carbono como la glucosa, maltosa, lactosa, fructosa y sacarosa, que son los más empleados en estas pruebas, con

producción de ácido sólo en condiciones de aerobiosis, mientras que otras producen ácido tanto en aerobiosis como en anaerobiosis<sup>119</sup>. Las bacterias anaerobias facultativas pueden crecer, metabolizarse y reproducirse en condiciones de aerobiosis o en anaerobiosis.

La oxidación de la glucosa por una de las vías de derivación es un proceso aeróbico y los oxidadores bacterianos de un hidrato de carbono son aerobios estrictos generalmente<sup>119</sup>.

En el proceso de oxidación, la glucosa u otro hidrato de carbono no son degradados ni desdoblados en 2 moléculas de triosas; al contrario, el grupo aldehído es oxidado directamente en un grupo carboxilo y forma ácido glucónico que es oxidado a su vez en un ácido 2-cetoglucónico<sup>74, 119</sup>. El ácido 2-cetoglucónico puede acumularse o degradarse nuevamente para formar 2 moléculas de ácido pirúvico. El proceso de oxidación no requiere fosforilación inicial de los hidratos de carbono antes de su degradación; en cambio, la fermentación sí<sup>112</sup>. Sebek y Randles aseguraron que la falta de fosforilación en el período inicial de la oxidación, se debe a la incapacidad del adenosíntrifosfato (ATP) para penetrar en las células bacterianas. La oxidación requiere oxígeno como aceptor terminal de electrones<sup>74</sup>.

Ciclo oxidativo sin fosforilación inicial<sup>53</sup>:



do así a la diferenciación e identificación de grupos, familias, géneros y especies.

El ciclo fermentativo más importante de la degradación de la glucosa es el ciclo de Embden-Meyerhof, aun cuando también puede producirse por la derivación pentosa o el ciclo Entner-Doudoroff o en combinación con ellos. No obstante, los tres ciclos requieren la fosforilación de la glucosa como paso inicial antes de la degradación<sup>53</sup>.

Entre los métodos empleados para la identificación de las especies del género Neisseria se incluyen las pruebas de utilización de los hidratos de carbono. Estos métodos también sirven para identificar a Moraxella (Branhamella) catarrhalis, aunque al realizarlas resultan todas negativas<sup>41</sup>.

Es muy importante tomar las siguientes precauciones antes y durante la realización de estas pruebas:

- Orr y Taylor llegaron a la conclusión de que algunos tipos de peptona son inconvenientes para la preparación del medio con hidratos de carbono. El componente básico es la peptona de caseína que debe estar exenta de hidratos de carbono que podrían ser degradados.

- Hermann recomendó evitar el agregado de extracto de levadura, suero o líquido ascítico al medio con carbohidratos. Sin embargo, se ha recomendado la adición de éste último para de-

mostrar la capacidad de oxidación de las especies de Neisseria.

- Cuando se utiliza el medio semisólido con hidratos de carbono, se debe picar el medio con una aguja de inoculación en el centro del tubo, hasta unos 0.6 cms. de profundidad. Enseguida se hace la picadura con suavidad y no utilizar el asa de inoculación. Las maniobras bruscas o el empleo de este último elemento puede dar una falsa apariencia de producción de gases que se debe a la desintegración mecánica del medio.

- Todos los hidratos de carbono deben rotularse correctamente e inmediatamente después de su preparación.

- El medio con hidratos de carbono es ligeramente alcalino (pH = 7.4), cuando algunos de estos se someten a calor en un pH alcalino se degradan en azúcares simples. La glucosa en presencia de fosfatos se destruye gradualmente en el autoclave, igual sucede con la maltosa, pero ésta se hidroliza<sup>140</sup>.

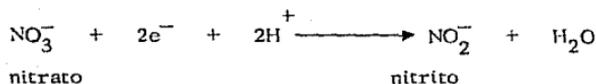
#### Prueba de reducción del nitrato

En la reducción del nitrato, los citocromos bacterianos transportan electrones a moléculasceptoras específicas<sup>1,112</sup>. El oxígeno sirve como un aceptor de hidrógeno<sup>151</sup>, por ejemplo, aceptor final de protones y electrones<sup>1</sup>.

Gunsalus y Stanier aseguraron que hay pruebas de que el nitrato actúa como el oxidante final en los sistemas citocromo.

La característica del nitrato de reducir una especie en particular es más o menos constante<sup>112</sup>.

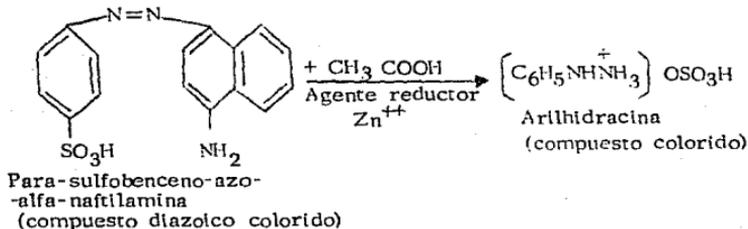
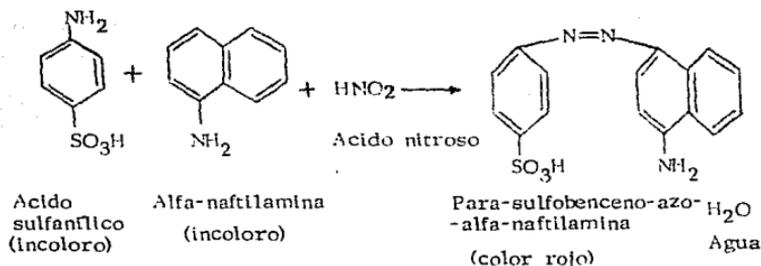
Reacción de reducción del nitrato en nitrito:



Sin embargo, hay más productos finales de la reducción del nitrato: nitrito ( $\text{NO}_2^-$ ), amoníaco ( $\text{NH}_3$ ), nitrógeno molecular ( $\text{N}_2$ ), óxido nítrico ( $\text{NO}$ ), óxido nitroso ( $\text{N}_2\text{O}$ ), hidroxilamina - ( $\text{R.NH.OH}$ )<sup>64, 66, 160</sup>. El producto final de la reducción que se forme depende de la especie bacteriana<sup>64</sup>. Estos productos, según las condiciones del medio, ya no son oxidados ni asimilados en el metabolismo celular, sino que se excretan al medio circundante<sup>64, 160</sup>.

El nitrato sirve como un aceptor de electrones y por cada molécula de nitrato reducido, se aceptan cinco electrones<sup>1</sup>. La reducción por lo tanto, en la prueba de reducción del nitrato, se manifiesta por la presencia de un producto final catabólico o la ausencia de nitrato en el medio.

Las reacciones involucradas en esta prueba son:



La reducción del nitrato en nitrito se indica por la aparición de color cuando el nitrito reacciona con los dos reactivos: ácido sulfanílico y alfa-naftilamina (o dimetil-alfa-naftilamina). La reacción de color resultante se debe a la formación de un compuesto diazoico para-sulfobenceno-azo-alfa-naftilamina<sup>53</sup>. El colorante diazoico se forma por acoplamiento a través de un enlace azo de una amina aromática con un compuesto de tipo fenólico, en posición para generalmente, de un grupo amino u oxhidrilo<sup>148</sup>. En este caso el acoplamiento se produce en la posición 'para' de un grupo amino.

La reducción de la sal diazoica por el agente reductor (polvo de cinc), en presencia de ácido acético produce un compuesto

colorido, la arilhidracina<sup>148</sup>.

Es importante realizar la prueba de reducción de nitratos porque nos ayuda a la identificación y diferenciación de las especies, Moraxella (Branhamella) catarrhalis (prueba de reducción de nitrato positiva) y Neisseria mucosa también positiva, de las otras especies del género Neisseria que son negativas<sup>140</sup>.

Antes y durante la realización de la prueba se deben tomar en cuenta las siguientes precauciones:

- Cuando se realiza utilizando alfa-naftilamina, el color producido en una reacción positiva puede desvanecerse rápidamente, por lo que debe interpretarse inmediatamente el resultado.

- Un microorganismo reductor del nitrato fuertemente positivo puede mostrar un precipitado color castaño inmediatamente después del agregado de los reactivos.

- Debe hacerse un control en un tubo sin inocular, sólo con los reactivos, para determinar si el medio está exento de nitratos<sup>140</sup>.

- Una prueba positiva de reducción con cinc, indica que el nitrato fué reducido en nitrito, éste último puede ser asimilado por la célula bacteriana o convertido directamente en nitrógeno celular<sup>66,140</sup>.

Prueba de la movilidad

Esta prueba es importante para determinar si un microorganismo es móvil o inmóvil, lo cual a su vez, depende de la presencia o ausencia de flagelos. Las bacterias móviles pueden contener un solo flagelo o muchos; además, su localización varía con la especie bacteriana y las condiciones de cultivo<sup>143</sup>.

Se emplean medios semisólidos que permitan detectar la movilidad y los resultados se interpretan de acuerdo con lo siguiente:

a) Prueba positiva: los microorganismos son móviles, migran de la línea de siembra y se difunden en el medio provocando turbiedad. Pueden mostrar un crecimiento en estrías vellosas<sup>23, 53, 157</sup>.

b) Prueba negativa: no hay movilidad, hay crecimiento bacteriano acentuado siguiendo la línea de siembra: el medio circundante se mantiene claro<sup>23, 53</sup>.

Además, debe emplearse un medio de control (sin inocular), no debe haber crecimiento y el medio se mantendrá incoloro y claro<sup>140</sup>.

Como Moraxella (Branhamella) catarrhalis presenta forma de coco, es inmóvil y por lo tanto la prueba de la movilidad es negativa<sup>52</sup>.

#### Producción de pigmento

Numerosas colonias bacterianas sobresalen por una marca-

da coloración, ya sea debido a la liberación al medio de un pigmento o a pigmentación de la célula. La capacidad de elaborar pigmentos se determina genéticamente y presenta, por tanto, un carácter distintivo. Las formas coloreadas pueden reconocerse e identificarse con facilidad. Los pigmentos pueden consistir en derivados de distintas clases de sustancias carotenoides, pigmentos fenacénicos, pigmentos pirrólicos, azaquinonas, antocianos, pigmentos xantofílicos, etc.<sup>154</sup>.

Es importante observar si hay o no producción de pigmentos, porque sirve para la identificación de las colonias bacterianas pigmentadas y las apigmentadas, en este caso, para la diferenciación de las colonias apigmentadas de Moraxella (Branhamella) catarrhalis de las colonias pigmentadas de algunas especies de Neisseria<sup>110</sup>.

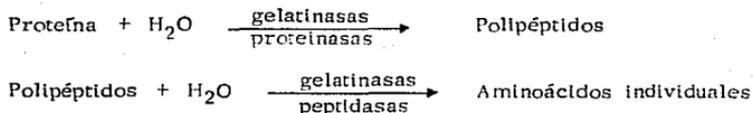
#### Prueba de licuefacción de la gelatina (Hidrólisis de gelatina)

La gelatina se incorpora a diversos medios de cultivo para determinar la capacidad de un microorganismo de producir enzimas de tipo proteolítico que, a su vez, son detectadas por la licuefacción de la gelatina presente. Estas enzimas, que son capaces de realizar la hidrólisis de la gelatina se denominan gelatinasas<sup>140</sup>.

Las proteínas que se producen naturalmente son demasiado

grandes para entrar a una célula bacteriana; por lo tanto, para que una célula las utilice, primero debe catabolizarlas en componentes más pequeños. La capacidad de producir estas enzimas extracelulares de tipo proteolítico ayuda a la diferenciación bacteriana. Así podemos identificar y diferenciar a Moraxella (Branhamella) catarrhalis que es incapaz de producir dichas enzimas y por lo tanto, la prueba de licuefacción de la gelatina resulta negativa, de las otras bacterias que son positivas<sup>52,140</sup>.

Las gelatinasas catabolizan a las proteínas en dos etapas, resultando finalmente una mezcla de aminoácidos individuales:



Es importante tomar las siguientes precauciones antes y durante la prueba de licuefacción de la gelatina:

- Deben controlarse diariamente los tubos hasta dos semanas, a menos que la licuefacción se produzca antes. A veces puede ser necesario una incubación prolongada (de 30 días a 6 semanas)<sup>66,143</sup>.
- La gelatina es sólida cuando se incuba a 20°C o menos y es líquida a una temperatura de 35°C o más. La gelatina cam-

bia de estado sólido a líquido a los 28°C aproximadamente. Por lo tanto, si se incuban los tubos de gelatina a 35°C, se deben colocar primero en un refrigerador para enfriarlos antes de su interpretación.

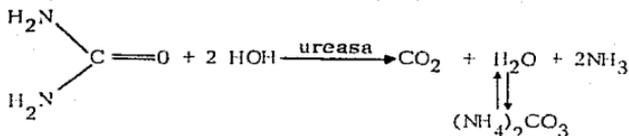
- No se deben agitar los tubos con gelatina mientras estén calientes ya que, con frecuencia, el crecimiento y la licuefacción de la gelatina se producen solamente en la capa superficial<sup>99</sup>.

Basta con registrar licuefacción de la gelatina positiva o negativa.

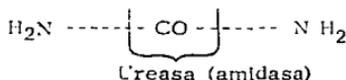
La gelatina varía en cuanto a su capacidad de gelificación, por lo tanto, cada lote de medio de gelatina nutritiva deberá ser sometido a control<sup>140</sup>.

### Reacción de la ureasa

La urea es una diamida del ácido carbónico. Todas las amidas ( $\text{RCO-NH}_2$ ) son rápidamente hidrolizadas. La ureasa es una enzima específica que hidroliza a la urea en dos moléculas de amoníaco. La urea se hidroliza en solución, dando carbonato de amonio como producto final<sup>55, 94, 148</sup>.



La ureasa es una importante enzima microbiana vinculada con la descomposición de compuestos orgánicos, se considera una enzima constitutiva dado que la sintetizan ciertas bacterias sin tener en cuenta la presencia o ausencia del sustrato urea, se clasifica también como una amidasa porque cataliza la hidrólisis de las amidas, que son capaces de hidrolizar el enlace entre el nitrógeno y el carbono<sup>53, 64, 112</sup>:



En el caso de la ureasa, el nitrógeno se disocia en amoníaco ( $\text{NH}_3$ ). El pH óptimo para la ureasa es 7,0<sup>114</sup>.

Para detectar la reacción de la ureasa se pueden emplear medios como el agar de Christensen y el caldo de urea de Stuart<sup>42</sup>.

Esta reacción nos ayuda a diferenciar a Moraxella phenylpyrouvica (ureasa positiva) de las otras especies del género Moraxella, incluyendo a Moraxella (Branhamella) catarrhalis que son generalmente ureasa negativa<sup>140</sup>.

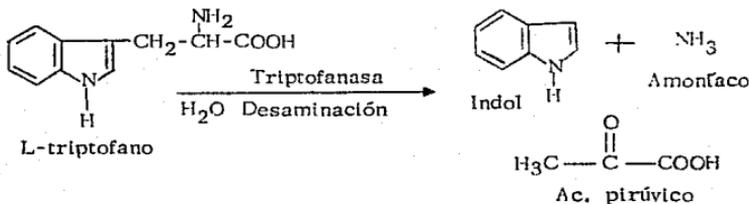
Es importante tomar en cuenta lo siguiente, durante la realización de la reacción de la ureasa:

- El volumen del sustrato empleado y/o temperatura de incubación pueden alterar la velocidad de producción de la enzima ureasa<sup>140</sup>.

### Prueba del indol

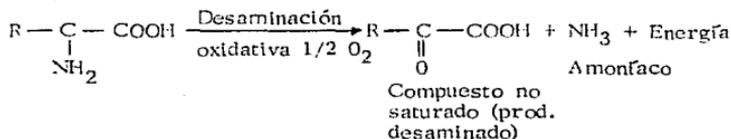
El triptofano es un aminoácido que puede ser oxidado por ciertas bacteria para formar: indol, escatol (metilindol) e indol-acético. Las enzimas intracelulares forman un sistema completo llamado "triptofanasa" que da lugar a la formación de indol<sup>140</sup>.

La enzima triptofanasa cataliza la reacción de desaminación, atacando al triptofano en su cadena lateral y dejando el anillo aromático intacto en forma de indol:



La desaminación y la hidrólisis tienen lugar con el agregado de una molécula de agua en presencia de la triptofanasa y el piridoxal-fosfato como coenzima. En la desaminación, se extrae la porción amina del aminoácido con liberación de amoníaco. Existen dos tipos de desaminación: oxidativa y reductiva, la primera

extrae el grupo amino del aminoácido y se agrega un doble enlace al producto desaminado, junto con la formación de amoníaco y energía<sup>53</sup>:



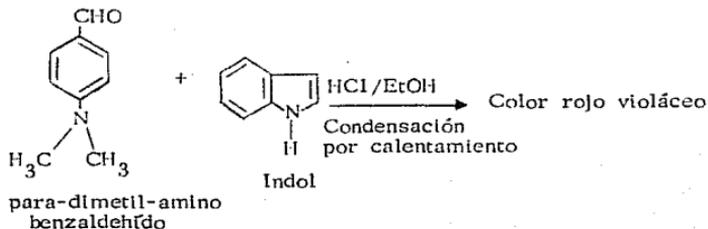
En la desaminación reductiva del triptofano se extrae el  $\text{NH}_2$  y se libera como amoníaco y energía, que es utilizada por la bacteria.

En la degradación del triptofano se libera indol, ácido pirúvico, amoníaco y energía. El ácido pirúvico puede entrar al ciclo de Krebs para liberar bióxido de carbono, agua y energía. El amoníaco puede utilizarse para sintetizar nuevos aminoácidos.

El indol producido puede detectarse por medio de un reactivo que posea una combinación química que produzca un color definido, por lo tanto, la presencia o ausencia de formación de indol se emplea para la identificación bacteriana con el uso del reactivo de Ehrlich y se realiza la interpretación de acuerdo con lo siguiente:

a) Prueba positiva, cuando se observa un anillo rojo en la superficie del medio en la capa alcohólica, debido a la presencia del indol, el cual se combina con el aldehído que se encuentra en

el reactivo de Ehrlich. Esta reacción se produce por un proceso de condensación formado por un desdoblamiento ácido de la proteína<sup>55</sup>:



b) Prueba negativa, se observa un color amarillo que es el color del reactivo de Ehrlich.

c) Prueba variable, se observa un color anaranjado en la superficie del medio debido a desarrollo de escatol, compuesto metilado que puede ser precursor de la formación del indol<sup>23, 114</sup>.

Es importante tomar las siguientes precauciones antes y durante la realización de la prueba del indol:

- El pH óptimo de la triptofanasa es ligeramente alcalino (pH = 7.4 a 7.8); la disminución del pH provoca una reducción del indol y una reacción negativa.

- El agregado de triptofano estimula la producción de indol, mientras que la presencia de glucosa la inhibe<sup>59, 63</sup>.

- Los microorganismos que utilizan los hidratos de carbono por medio de un proceso oxidativo son incapaces de producir in-

dol, aunque el metabolismo de Moraxella (Branhamella) catarrhalis es oxidativo no utiliza ningún hidrato de carbono y también es incapaz de producir indol<sup>52,119</sup>.

- Cuando se emplea un caldo de peptona en lugar de triptofano para la prueba del indol, debe controlarse el medio con un microorganismo conocido productor de indol. Esto permite determinar si la peptona es adecuada para la producción del indol y así mismo, el período de incubación óptimo necesario<sup>27</sup>.

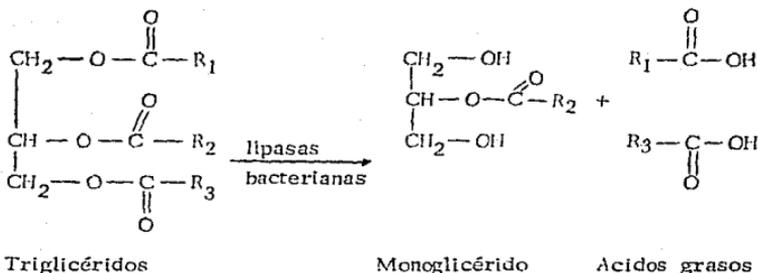
- Los cultivos que se van a someter a las pruebas de producción de indol deben incubarse aeróbicamente. El descenso de la tensión del oxígeno disminuye la producción de indol.

- Si el inóculo es de un cultivo mixto de microorganismos indol positivos y negativos, cuando se realiza la prueba pueden producirse reacciones falsas positivas. Es fundamental obtener un cultivo puro<sup>140</sup>.

### Producción de lipasa

La actividad lipolítica de las bacterias se ejerce a través de las lipasas.

Las lipasas bacterianas producen la hidrólisis de las grasas con formación de monoglicéridos y ácidos grasos:



En aerobiosis, se oxidan los ácidos grasos y se ataca el monoglicérido<sup>154</sup>.

La detección de la producción de la enzima lipasa se considera importante para diferenciar a las cepas productoras de la lipasa como las de Moraxella (Branhamella) catarrhalis de las cepas no productoras como las del género Neisseria<sup>110</sup>.

#### Detección de la producción de hemolisina

Las hemolisinas son enzimas que destruyen los glóbulos rojos y liberan hemoglobina. Son producidas por varias clases de bacterias y son de dos tipos, las del primer tipo son extracelulares y se pueden separar de la célula bacteriana por filtración, difieren en su naturaleza química y mecanismo de acción<sup>151,154</sup>.

La virulencia e invasividad de las bacterias se incrementa por su capacidad para producir hemolisinas. En general, las cepas de bacterias patógenas productoras de hemolisinas son más

virulentas que las cepas no productoras de hemolisinas<sup>151, 154</sup>.

El segundo tipo de hemolisinas bacterianas incluye las que producen cambios visibles en las placas de agar sangre. En dichas placas, las colonias se rodean de una zona clara e incolora que es donde los glóbulos rojos han sido lisados y la hemoglobina destruída hasta perder su color. Otros tipos de bacterias reducen la hemoglobina a metahemoglobina, que produce una zona verde alrededor de las colonias<sup>151, 154</sup>.

También existen colonias bacterianas no productoras de hemolisinas, a este tipo pertenece Moraxella (Branhamella) catarrhalis, por esta razón es importante la detección de la producción de hemolisinas para diferenciarla de otras bacterias<sup>87, 110</sup>.

#### Detección de la presencia del antígeno P

Este estudio fué posible gracias a que se realizaron preparaciones de anticuerpos IgG, obtenidos de conejos inmunizados con el antígeno P característico de Moraxella (Branhamella) catarrhalis, las preparaciones se trataron con tripsina, se centrifugaron y filtraron para recuperar los anticuerpos IgG presentes en el sobrenadante<sup>116</sup>.

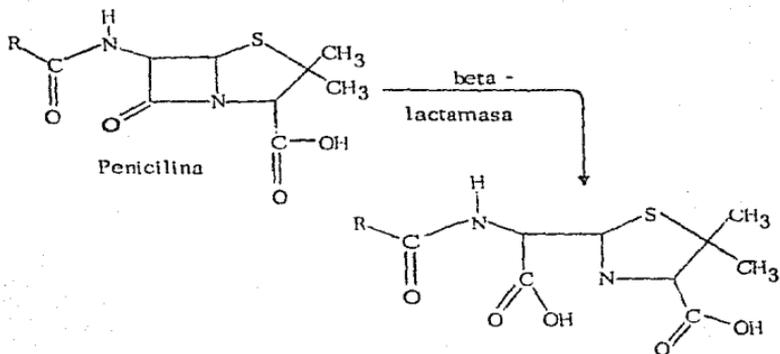
Para observar la reacción de los anticuerpos con el antígeno P se hicieron varios estudios como el radio-inmuno-análisis (RIA) en otras bacterias, usando anticuerpos IgG de conejo y pro

teína A de Staphylococcus aureus. Lavaron las células usadas como antígeno en estos experimentos. La radioactividad adquirida por las bacterias se comparó entre las 31 cepas de Moraxella (Branhamella) catarrhalis, incluyendo las cepas ATCC 8193 y NCTC 4103 y 34 cepas de las especies del género Neisseria. Todas las cepas de Moraxella (Branhamella) catarrhalis mostraron abundante radioactividad<sup>87,116</sup>.

En investigaciones clínicas realizadas por Kamme y colaboradores en 1983 y en 1985 por Schalén y colaboradores, usaron el radioinmunoanálisis (RIA) del antígeno P como criterio en el laboratorio para la identificación de Moraxella (Branhamella) catarrhalis. La confirmación serológica de su papel patógeno es limitada, ya que hay pocos informes<sup>87,116</sup>.

#### Detección de la producción de beta-lactamasas

Las beta-lactamasas son enzimas constitutivas e inducibles que tienen la propiedad de catalizar la hidrólisis de la penicilina y otros antibióticos beta-lactámicos, con producción de ácido peniciloico inactivo:



La enzima es producida intracelularmente por algunas bacterias y liberada hacia el medio donde crecen.

Las bacterias pueden tener resistencia natural a la penicilina o adquirirla después de exponerse a ella. Tratándose de la penicilina, en la mayor parte de los casos, la resistencia depende de la producción de beta-lactamasa por los microorganismos resistentes, que pueden surgir como mutantes a través de procesos de transducción o transformación o bien, aparecer por inducción de una penicilinasas, o ser la descendencia de unos pocos microorganismos dentro de la población que muestran resistencia natural desde el principio y se manifiestan cuando los sensibles han sido destruidos por el fármaco<sup>28, 40</sup>.

Las penicilinas parcialmente sintéticas, como meticilina, oxacilina y nafcilina, así como las cefalosporinas, actúan como inductores de beta-lactamasas, aunque casi siempre son malos

sustratos para la enzima<sup>40</sup>.

En una enfermedad mixta, los microorganismos productores de beta-lactamasas pueden destruir la penicilina antes de que afecte a los microorganismos sensibles.

Por lo antes visto, algunas bacterias pueden destruir enzimáticamente a los antibióticos beta-lactámicos, porque son capaces de inactivarlos. Las diferentes penicilinas y cefalosporinas varían en su susceptibilidad frente a las beta-lactamasas producidas por diferentes especies bacterianas, las de las bacterias Gram-negativas se encuentran en cantidades variables, pero están situadas en el espacio periplásmico entre la membrana celular interna y externa. Como las enzimas de síntesis de la pared celular están en la superficie externa de la membrana interna, estas beta-lactamasas están estratégicamente situadas para la protección máxima del microorganismo, y están codificadas en los cromosomas o en los plásmidos<sup>28, 40, 104</sup>. Pueden hidrolizar penicilinas, cefalosporinas o ambas. Sin embargo, existe una correlación inconstante entre la susceptibilidad de un antibiótico a ser inactivado por la beta-lactamasa y la capacidad de dicho antibiótico para matar el microorganismo, por ejemplo ciertos antibióticos que son hidrolizados por la beta-lactamasa (ampicilina) son capaces de matar ciertas cepas de microorganismos productores de dicha enzima<sup>40, 104</sup>.

Las cepas aisladas de Moraxella (Branhamella) catarrhalis productoras de beta-lactamasas se detectaron por primera vez en Francia en 1977, pero su presencia se incrementó a partir de 1980.

Una prueba iodométrica, otra cromogénica rápida y una acidimétrica se emplearon para evaluar la capacidad productora de beta-lactamasas en 188 cepas aisladas de la bacteria en estudio, y obtenidas principalmente de muestras de esputo y de faringe. Los resultados obtenidos con los 2 primeros procedimientos indicaron que todas las cepas de Moraxella (Branhamella) catarrhalis produjeron beta-lactamasas, pero en la prueba acidimétrica hubo algunas variaciones<sup>21,111</sup>.

Se analizaron estas enzimas y de acuerdo con sus puntos isoeléctricos se dividieron en dos tipos: el tipo I para el 87.2% de las enzimas que tuvieron valores de puntos isoeléctricos de 5.35 y 5.55 y el tipo II para el 12.8% restante de las enzimas con valores de puntos isoeléctricos de 5.9 y 6.25<sup>111</sup>.

## Bibliografia

1. Adelberg, E.A., Doudoroff, M., Stanier, R.Y.,  
THE MICROBIAL WORLD  
2a. Edition  
Prentice - Hall, Incorporation  
Englewood (1963)
2. Ahmad, F., Calder, M.A., McLeod, D.T., Power, J.T.,  
Seaton, A., "Bronchopulmonary infection due to Branhamella  
catarrhalis", Brit. Med. J., 287(6403): 1446 (1983)
3. Ahmad, F., Calder, M.A., Croughan, M.J., McLeod, D.T.,  
"Antimicrobial susceptibility of Branhamella catarrhalis isolates from bronchopulmonary infection", Antimicrob. Agents and Chemother., 26(3): 424 - 425 (1984)
4. Ahmad, F., Calder, M.A., Capewell, S., Croughan, M.J.,  
McLeod, D.T., Seaton, A., "Increase in bronchopulmonary infection due to Branhamella catarrhalis", Brit. Med. J., 292: 1103 - 1105 (1986)
5. Ahmad, F., Calder, M.A., Croughan, M.J., McLeod, D.T.,  
"The incidence and antibiotic susceptibility of Branhamella catarrhalis in respiratory infections", Drugs, 31(3): 11 - 16 (1986)
6. Ahmad, F., Calder, M.A., Croughan, M.J., McLeod, D.T.,  
"Bronchopulmonary infection due to Branhamella catarrhalis: clinical features and therapeutic response", Drugs, 31(3): 109 - 112 (1986)
7. Aitken, J., Drennan, C.J., Mac Vicar, M., Slevin, N.J.,  
Thornley, P.E., "Branhamella catarrhalis infection of the lower respiratory tract: reliable diagnosis by sputum examination", Brit. Med. J., 285(6354): 1537 - 1538 (1982)
8. Aitken, J.M., Thornley, P.E., "Isolation of Branhamella catarrhalis from sputum and tracheal aspirate", J. Clin. Microbiol. 18(5): 1262 - 1263 (1983)
9. Aitken, J., Slevin, N.J., Thornley, P.E., "Clinical and microbiological features of Branhamella catarrhalis - bronchopulmonary infections", The Lancet, 2: 782 - 783 (1984)

10. Aitken, J.M., Nichol, G.M., Slevin, N.J., Thornley, P.E., "Amoxicillin - clavulanic acid combination in bronchopulmonary infection due to beta-lactamase-producing - Branhamella catarrhalis, preliminary report", Drugs, 31(3): 113 - 114 (1986)
11. Alban, J., Fordham, T., Lee, W.S., "Otitis media caused by beta-lactamase-producing Branhamella catarrhalis", J. Clin. Microbiol., 13(1): 222 - 223 (1981)
12. Alvarez, S., Berk, H.S., Guarderas, J., "In vitro susceptibilities and beta-lactamase production of 53 clinical isolates of Branhamella catarrhalis", Antimicrob. Agents and Chemother., 27(4): 646 - 647 (1985)
13. Alvarez, S., Berk, S.L., Karnad, A., "Branhamella catarrhalis pneumonia in patients with immunoglobulin abnormalities", South. Med. J., 79(11): 1360 - 1362 (1986)
14. Anderson, S.R., Johnson, L.J., Ordal, J.E., "Nucleic acid homologies among oxidase - negative Moraxella species", J. Bacteriol., 101(2): 568 - 573 (1970)
15. Anderson, W.A.D.,  
PATOLOGIA,  
8a. Edición, Tomo 2,  
Editorial Médica Panamericana,  
Buenos Aires (1986)
16. Ashworth, C., Nelson, D.J., Tetzlaff, R.T., "Otitis media in children less than 12 weeks of age", Pediatrics, 59: 827 - 832 (1977)
17. Avery, M., Heym, G.A., Junt, E., "Defined medium for Moraxella (Branhamella) catarrhalis", App. Environm. Microbiol., 53(3): 546 - 551 (1986)
18. Axelson, A., Brorson, J.E., Holm, S.E., "Studies on Branhamella catarrhalis (Neisseria catarrhalis) with special reference to maxillary sinusitis", Scand. J. Infect. Dis., 8: 151 - 155 (1976)
19. Bailey, R.W., Scott, E.G.,  
DIAGNOSTIC MICROBIOLOGY,  
Second edition, (1970)  
Mosby Company

20. Balcells, A., Gorina, M.,  
 PATOLOGIA GENERAL: ETIOLOGIA, FISIOPATOLOGIA,  
 PROPEDEUTICA CLINICA  
 Editorial Interamericana, S. A.,  
 (1984)
21. Barthelemy, M., Brive, C., Hoi-Dan Van, A.B., Labla, R.,  
 LeBouguennec, "Classification of beta-lactamases from Branhamella catarrhalis in relation to penicillinases produced by other bacterial species", Drugs, 31(3): 40 - 47 (1986)
22. Baumann, I., Doudoroff, M., Stanier, R.Y., "Study of Moraxella Group: I. Genus Moraxella and Neisseria catarrhalis Group", J. Bacteriol., 95(1): 58 - 73 (1968)
23. BBL,  
 MANUAL OF PRODUCTS AND LABORATORY PROCEDURES  
 5 th. edition,  
 Division of BioQuest, Division of Becton Dickinson and Company,  
 Cockeysville Maryland (1968)
24. Berk, S.L., Smith, J.K., West, M., "Branhamella catarrhalis pneumonia", South. Med. J., 75(8): 1021 - 1023 (1982)
25. Berk, S.L., Verghese, A., "Is normal throat flora causing pneumonia in your patients?", Am. Rev. Respir. Dis., 124: 783 - 784 (1982)
26. Berk, S.L., Holtsclaw, B.S., Nunley, D., Soto, H.J., "Selective medium with DNase test agar and modified toluidine blue O technique for primary isolation of Branhamella catarrhalis in sputum", J. Clin. Microbiol., 26(3): 405 - 408 (1988)
27. Berman, N., Rettger, L.F., "1. Bacterial nutrition: further studies on the utilization of protein and non-protein nitrogen. 2. The influence of carbohydrate on the nitrogen metabolism of bacteria", J. Bacteriol., 2: 367 - 389 (1970)
28. Bevan, A.J.,  
 ESSENTIALS OF PHARMACOLOGY INTRODUCTION TO THE  
 PRINCIPLES OF DRUG ACTION  
 Second edition, (1976)  
 Editorial Harper & Row, Publishers

29. Blanchard, L.C., Gray, C.W., "Sinusitis and its complications", *Am. Fam. Phys.*, 35(3): 232 - 243 (1987)
30. Bluestone, D.C., Paradise, L.J., "Early treatment of the universal otitis media of isolates with cleft palate", *Pediatrics* 53(1): 48 - 54 (1974)
31. Bluestone, D.C., Bowen, D.A., Ledesma, M.J., Milmoe, J. G., Salomon, N., Wald, R.E., "Acute maxillary sinusitis in children", *The New England J. Med.*, 304(13): 749 - 754 (1981)
32. Bluestone, D.C., "Otitis media in children: to treat or not treat", *The New England J. Med.*, 306(23): 1399 - 1404 (1982)
33. Bluestone, D.C., Cantekin, I.E., Frfa, J.T., Mandel, M.E., Paradise, L.J., Rockette, E.R., Rogers, D.K., Stool, E.S., "Lack of efficacy of a decongestant - antihistamine combination for otitis media with effusion ("Secretory" otitis media) in children", *The New England J. Med.*, 308(6): 297 - 301 (1983)
34. Bluestone, D.C., "Otitis media and sinusitis in children. Role of Branhamella catarrhalis", *Drugs*, 31(3): 132 - 141 (1986)
35. Bogaerts, J., Lepage, P., Vandepitte, J., Weghe, V., "Severe respiratory infection with Branhamella catarrhalis in an african child", *European J. Pediatric*, 143(4): 303 - 304 (1985)
36. Bohnhoff, M., Janda, M.W., Morello, A.J., "Use of the API Neldent System for identification of pathogenic Neisseria ssp. and Branhamella catarrhalis", *J. Clin. Microbiol.*, 19(3): 338 - 341 (1984)
37. Bohnhoff, M., Janda, M.W., LeBeau, J.L., Ulanday, G.M., "Evaluation of the RIM-N, Gonocheck II, and Phadebact Systems for the identification of pathogenic Neisseria ssp. and Branhamella catarrhalis", *J. Clin. Microbiol.*, 21(5): 734 - 737 (1985)
38. Booth, N.H., Coffey, D.J., Martin, D.A., Natchez, M.S., "Neisseria catarrhalis in exudate otitis media", *Arch. Otolaryngol.*, 86: 403 - 406 (1967)

39. Bovre, K., "Transformation and DNA base composition in taxonomy, with special reference to recent studies in Moraxella and Neisseria", Acta Pathol. Microbiol. Scand., 69: 123 - 144 (1967)
40. Bowman, W.C., Rand, M.J.,  
FARMACOLOGIA, BASES BIOQUIMICAS Y PATOLOGICAS,  
APLICACIONES CLINICAS  
2a. edición,  
Editorial Interamericana, S.A.,  
(1985)
41. Bradna, J.J., Janda, W.M., Zigler, K.L., "API Quad FERM+ with rapid DNase for identification of Neisseria spp. and Branhamella catarrhalis", J. Clin. Microbiol., 25(2): 203 - 206 (1987)
42. Branson, D.,  
METHODS IN CLINICAL BACTERIOLOGY  
Publisher Springfield  
(1972)
43. Brantley, S.J., Brill, H.A., Evans, O.F., Fitz, H.S., Gwaltney, M.J., Hanna, S., Holdeman, V.L., Jackson, T.R., Laurence, M.J., Moore, R.G., Moore, W.E.C., Sande, A. M., Skaar, S.J., "Sinusitis of the maxillary antrum", The New England J. Med., 293(15): 735 - 739 (1975)
44. Brenner, D.J., Fanning, G.R., Johnson, K.E., "Thermal stability of interspecies Neisseria DNA Duplexes", J. Gen. Microbiol., 55: 201 - 208 (1969)
45. Brewis, R.A.L.,  
PATOLOGIA Y TERAPEUTICA DE LAS ENFERMEDADES  
RESPIRATORIAS  
Editorial El Manual Moderno, S.A.  
(1979)
46. Brook, I., "Direct and indirect pathogenicity of Branhamella catarrhalis", Drugs, 31(3): 97 - 102 (1986)
47. Brook, I., "Aerobic and anaerobic Bacteriology of purulent nasopharyngitis in children", J. Clin. Microbiol., 26(3): 592 - 594 (1988)

48. Brooks, D.L., Luman, J.I., McLarty, J.W., Steele, L.C., Wallace, R.J., Wilson, R.W., "Amoxicillin - clavulanic acid in the treatment of lower respiratory tract infections caused by beta-lactamase positive Branhamella catarrhalis and Haemophilus influenzae", Antimicrob. Agents and Chemother., 27(6): 912 - 915 (1985)
49. Brorson, J.E., Malmvall, B.E., "Branhamella catarrhalis and other bacteria in the nasopharynx of children with long-standing cough", Scand. J. Infect. Dis., 13(2): 111 - 113 (1981)
50. Brorson, J.E., Larson, P., Zackrisson, G., "Antibiotic susceptibility of bacteria commonly isolated from the upper respiratory tract", Infection, 11: 287 - 288 (1983)
51. Bruun, B., Christensen, J.J., "Bacteremia caused by beta-lactamase producing strain of Branhamella catarrhalis", Acta Pathol. Microbiol. Immunol. Scand., 93(B): 273 - 275 (1985)
52. Buchanan, R.E., Gibbons, N.E.,  
BERGEY'S MANUAL OF DETERMINATIVE BACTERIOLOGY  
8 th. edition,  
The Williams & Wilkins Company,  
Baltimore: 1974
53. Burrows, W., Moulder, J.W.,  
TEXT BOOK OF MICROBIOLOGY  
19 th. edition, Vol. 1  
Philadelphia W.B., Saunders Company  
(1968)
54. Calvert, J.E., Jefferis, R., Proctor, S.J., "Activation of B chronic lymphocytic leukaemia cells by Branhamella catarrhalis", Immunology, 60: 45 - 50 (1987)
55. Cantarrow, A., Schepartz, B.,  
BIOCHEMISTRY  
3 th. edition,  
Philadelphia, W.B., Saunders Company  
(1962)
56. Carballo, M., Dillon, J.R., Pauze, M., "Evaluation of eight methods for identification of pathogenic Neisseria species: Neisseria kwik, RIM - N, Gonobio-test, Minitek, Gonocheck II,

- GonoGen, Phadebact Monoclonal GC OMNI Test and Syva Microtrak Test", J. Clin. Microbiol., 26(3): 493 - 497 (1988)
57. Carlin, A.S., Feinstein, C.J., Flexon, P., Fulton, D., Johnson, E.C., Marchant, D.C., Murdell-Panek, D.D., Shurin, A.P., Van Hare, F.G., "A randomized controlled trial amoxicillin plus clavulanate compared with cefaclor for treatment of acute otitis media", J. Pediatrics, 109(5): 891 - 896 (1986)
  58. Carlin, S., Carrelli, N.A., Fulton, D., Kim, H.C., Johnson, E.C., Marchant, D.C., Shurin, A.P., Van Hare, F.G., "Acute otitis media caused by Branhamella catarrhalis: Biology and therapy", Rev. Infect. Dis., 9(1): 16 - 27 (1987)
  59. Carlson, J.R., Yokoyama, M.T., "Disimilation of tryptophan and related indole compounds by rumihal microorganisms in vitro", App. Microbiol., 27: 540 (1974)
  60. Catlin, B.W., Cunningham, L.S., "Genetic transformation of Neisseria catarrhalis by deoxyribonucleate preparations having different average base compositions", J. Gen. Microbiol., 37: 341 - 352 (1964)
  61. Charney, E., Cunningham, D., Klein, W.S., Mac Whitney, B.J., McInerney, K.T., Miller, L.R., Nazarian, F.L., Olson, L.A., "Prevention and therapy of serous otitis media by oral decongestant: a double-blind study in pediatric practice", Pediatrics, 61(5): 679 - 684 (1978)
  62. Christensen, P., Kamme, C., Mörner, H., Pettersson, K.I., Schalén, C., Schalén, L., "High isolation rate of Branhamella catarrhalis from the nasopharynx in adults with acute laryngitis", Scand. J. Infect. Dis., 12: 277 - 280 (1980)
  63. Clarke, P.H., Cowan, S.T., "Biochemical methods for Bacteriology", J. Gen. Microbiol., 6: 187 (1952)
  64. Cordes, E.H., Mahler, H.R.,  
BIOLOGICAL CHEMISTRY  
Harper and Row,  
New York (1966)
  65. Corkill, J.E., Percibal, A., Rowlands, J., Sykes, R.B., "Pathogenicity of and beta-lactamase production by Branhamella (Neisseria) catarrhalis", The Lancet, II: 1175 (1977)

66. Corkill, E.J., Makin, T., "A selective medium for non-pathogenic aerobic Gram-negative cocci from the respiratory tract: with particular reference to Branhamella catarrhalis", Med. Lab. Sciences, 39: 3 - 10 (1982)
67. Davies, B.I., Maesen, F.P.V., "Branhamella catarrhalis chest infections", The Lancet, 2: 278 (1986)
68. Davies, B.I., Maesen, F.P.V., "Epidemiological and Bacteriological findings on Branhamella catarrhalis respiratory infections in The Netherlands", Drugs, 31(3): 28 - 33 (1986)
69. Davies, B.I., Maesen, F.P.V., "Branhamella catarrhalis respiratory infections in The Netherlands", Drugs, 31(3): 83 - 86 (1986)
70. Davis, D.B., Dulbecco, R., Eisen, N.H.,  
MICROBIOLOGY  
Third edition,  
Editorial Harper and Row
71. Diamond, A.L., Lorber, B., "Branhamella catarrhalis pneumonia and immunoglobulin abnormalities: a new association", Am. Rev. Respir. Dis., 129: 876 - 878 (1984)
72. Difco,  
MANUAL  
9 th. edition,  
Difco laboratories,  
Detroit (1953)
73. Dixon, C.J., "Otitis media in the practice of pediatrics", Pediatrics, 38(1): 25 - 32 (1966)
74. Doelle, H.W.,  
BACTERIAL METABOLISM  
Academic Press,  
New York (1969)
75. Doern, V.G., Hallick, M.L., Morse, A.S., Siebers, G.K., "Antibiotic susceptibility of beta-lactamase producing strains of Branhamella (Neisseria) catarrhalis", Antimicrob. Agents and Chemother., 17(1): 24 - 29 (1980)

76. Doern, V.G., Morse, A.S., Stephen, "Branhamella (Neisseria) catarrhalis: criteria for laboratory identification", J. Clin. Microbiol., 11(2): 193 - 195 (1980)
77. Doern, V.G., Miller, J.M., Winn, E.R., "Branhamella (Neisseria) catarrhalis systemic disease in humans: case reports and review of the literature", Arch. of Intern. Med., 141: 1690 - 1692 (1981)
78. Doern, V.G., Tubert, T.A., "Detection of beta-lactamase activity among clinical isolates of Branhamella catarrhalis with six different beta-lactamase assays", J. Clin. Microbiol., 25(8): 1380 - 1383 (1987)
79. Doern, V.G., Tubert, T., "Effect of inoculum size on results of macrotube broth dilution susceptibility tests with - Branhamella catarrhalis", J. Clin. Microbiol., 25(8): 1576 - 1578 (1987)
80. Doerr, W., Giese, W., Leder, L.D., Remmele, W., PATOLOGIA ORGANICA Tomo I, Salvat Editores, S.A., México, D.F. (1979)
81. Donner, A., Klein, O.J., Pelton, I.S., Shurin, A.P., "Persistence of middle-ear effusion after otitis media in children", The New England J. Med., 300(20): 1121 - 1123 (1979)
82. Dotsu, Y., Hara, K., Kohno, S., Kusano, N., Saito, A., Shigeno, Y., Yamaguchi, K., "Clinical and Bacteriological evaluation of Branhamella catarrhalis in respiratory infections", Drugs, 31(3): 87 - 92 (1986)
83. Drew, W.L., Johnson, M.A., Roberts, M., "Branhamella (Neisseria) catarrhalis - a lower respiratory tract pathogen?" J. Clin. Microbiol., 13(6): 1066 - 1069 (1981)
84. Dubos, R.J., Hirsch, J.G., BACTERIAL AND MYCOTIC INFECTIONS OF MAN 4 th. edition, Lippincott Company, Philadelphia (1965)
85. Dunk, J.H.M., Van Buchem, F.L., Van't Hof, "Therapy of

- acute otitis media: myringotomy, antibiotics or neither? A double-blind study in children", *The Lancet*, 2: 883 - 887 (1981)
86. Editors, "Branhamella catarrhalis: pathogen or opportunist?", *The Lancet*, 1: 1056 (1982)
  87. Eliasson, I., "Serological identification of Branhamella catarrhalis. Serological evidence for infection", *Drugs*, 31(3): 7 - 10 (1986)
  88. Eliasson, I., Kahl, B.K., Kamme, C., Vang, M., "Plasmid-mediated beta-lactamase in Branhamella catarrhalis", *Drugs*, 31(3): 55 - 63 (1986)
  89. Eliasson, I., Kamme, C., "Upper respiratory tract infections ecological and therapeutic aspects of beta-lactamase production with special reference to Branhamella catarrhalis.", *Drugs*, 31(3): 116 - 121 (1986)
  90. Farmer, T., Reading, C., "Beta-lactamases of Branhamella catarrhalis and their inhibition by clavulanic acid", *Antimicrob. Agents and Chemother.*, 21(3): 506 - 508 (1982)
  91. Farmer, T., Reading, C., "Inhibition of the beta-lactamases of Branhamella catarrhalis by clavulanic acid and other inhibitors", *Drugs*, 31(3): 70 - 78 (1986)
  92. Feder, M.H., "Comparative reliability of ampicillin, amoxicillin and trimethoprim-sulfamethoxazole suspensions in children with otitis media", *Antimicrob. Agents and Chemother.*, 21(3): 426 - 427 (1982)
  93. Feinstein, C.J., Johnson, E.C., Marchant, D., McMillan, M.P., Murdell, P.D., Shurin, A.P., Turczyk, A.V., "Objective diagnosis of otitis media in early infancy by tympanometry and ipsilateral-acoustic reflex thresholds", *The J. Pediatrics*, 109(4): 590 - 595 (1986)
  94. Fieser, L.F., Fieser, M.,  
ORGANIC CHEMISTRY  
3 th. edition,  
Reinhold Publishing Corporation,  
New York (1965)

95. Finegold, S.M., Gabay, E.L., Louie, M.H., Mathisen, G.E.  
"Branhamella catarrhalis pneumonia", West. J. Med., 138(1):  
47 - 49 (1983)
96. Fitting, C., Scherp, W.H., "Observations on the metabolism  
of a strain of Neisseria catarrhalis", J. Bacteriol., 59: 277 -  
286 (1950)
97. Fleshman, K.J., Maynard, E.J., Tschopp, F.C., "Otitis me  
dia in alaskan eskimo children", JAMA, 219(5): 597 - 599  
(1972)
98. Freeman, R., Ingham, H.R., Ninane, G., Wardle, J.K.,  
"Branhamella catarrhalis", The Lancet, 1: 1244 - 1245  
(1982)
99. Frobisher, M.,  
FUNDAMENTALS OF MICROBIOLOGY  
W.B. Saunders Company  
Philadelphia (1967)
100. Fudenberg, H.H., SITES, P.D., Stobo, D.L., Wells, J.V.,  
INMUNOLOGIA BASICA Y CLINICA  
Editorial Interamericana, S.A.,  
México, D.F. (1985)
101. Fujii, T., Inoue, M., Mitsuhashi, S., Sato, K., Yokota, E.,  
"Purification and properties of a beta-lactamase produced by  
Branhamella catarrhalis", Antimicrob. Agents and Chemother.  
29(4): 696 - 698 (1986)
102. Ganong, F.W.,  
FISIOLOGIA MEDICA  
Editorial El Manual Moderno, S.A.,  
México, D.F. (1984)
103. Gardner, D.W., Osburn, A.W.,  
ANATOMIA HUMANA  
2a. edición  
Editorial Interamericana, S.A.,  
México, D.F. (1975)
104. Gilman, A., Goodman, G.A., Goodman, S.L.,  
LAS BASES FARMACOLOGICAS DE LA TERAPEUTICA  
6a. edición

Editorial Médica Panamericana,  
México, D.F. (1983)

105. Givens, J.S., Graves, C.R., Melo, C.J., Srinivasan, G., Raff, J.M., Templeton, C.W., "Branhamella catarrhalis pneumonia, report of two cases and review of the literature" Am. Rev. Respir. Dis., 123: 553 - 555 (1981)
106. Gleckman, A.R., Hibert, M.D., Roth, M.R., "Branhamella catarrhalis: an unappreciated pulmonary pathogen", Am. Fam. Phys., 30(4): 169 - 173 (1984)
107. Graevenitz, V.A., Rathbone, R.R., "Branhamella catarrhalis in respiratory secretions: clinical correlation in 16 cases", South. Med. J., 74(9): 1095 - 1096 (1981)
108. Griffiths, L.R., Leonard, P.A., Purohit, S., "Increase in bronchopulmonary infection due to Branhamella catarrhalis", Brit. Med. J., 292: 1461 (1986)
109. Griffith, S.B., Johnson, P.C., Robinson, A., "Clinical interpretation of beta-lactamase producing strains of Branhamella catarrhalis in sputum Gram's stain and culture", Am. J. Clin. Pathol., 87(4): 498 - 503 (1987)
110. Guibourdenche, M., Riou, J.Y., "Branhamella catarrhalis new methods of bacterial diagnosis", Drugs, 31(3): 1 - 6 (1986)
111. Guibourdenche, M., Philippon, A., Riou, J.Y., Sotolongo, "Detection, distribution and inhibition of Branhamella catarrhalis beta-lactamases", Drugs, 31(3): 64 - 69 (1986)
112. Gunsalus, I.C., Stanier, R.Y.,  
THE BACTERIA  
Vol. II  
Academic Press  
New York (1961)
113. Gutiérrez, C.G.,  
ANATOMIA Y FISILOGIA  
Segunda edición,  
Editorial Kapelusz Mexicana,  
México, D.F. (1979)

114. Harrow, B., Mazur, A.,  
A TEXTBOOK OF BIOCHEMISTRY  
9th. edition,  
W.B. Saunders Company,  
Philadelphia (1966)
115. Henriksen, S.D., Wilhelmsen, W.K., "Moraxella, Neisseria, Branhamella and Actinobacter", Ann. Rev. Microbiol., 30:  
63 - 83 (1976)
116. Herva, E., Leinonen, M., Luotonen, J., Mäkelä, P.H.,  
Valkonen, K., "Preliminary serologic evidence for a patho-  
genic role of Branhamella catarrhalis", J. Infect. Dis., 144  
(6): 570 - 574 (1981)
117. Honkanen, E., Leinonen, M., Mäkelä, P.H., Malkamäki, M.  
"Branhamella catarrhalis as a cause of bacteremic pneumo-  
nia", Scand. J. Infect. Dis., 15(1): 125 - 126 (1983)
118. Houben, A.W., Stobberingh, E.E., van Boven, C.P.A.,  
van Eck, "Analysis of relationship between ampicillin resis-  
tance and beta-lactamase production in Branhamella catarrha-  
lis", Drugs, 31(3): 23 - 27 (1986)
119. Hugh, R., Leifson, F., "The taxonomic significance of fer-  
mentative versus oxidative metabolism of carbohydrates by  
various Gram-negative bacteria", J. Bacteriol., 66: 24  
(1968)
120. Ingvarson, L., Lundgren, K., "Acute otitis media in Sweden,  
role of Branhamella catarrhalis and the rationale for choice  
of antimicrobial therapy", Drugs, 31(3): 125 - 131 (1986)
121. Johnson, K.G., McDonald, I.J., Perry, M.B., "Studies on  
the cellular and free lipopolysaccharides from Branhamella  
catarrhalis", Canadian J. Microbiol., 22: 460 - 467 (1976)
122. Joly, J., Kravtman, M., Plot, P., Ninane, G., "Branham-  
ella (Neisseria) catarrhalis as pathogen", The Lancet, II:  
149 (1977)
123. Joly, J., Kravtman, M., Ninane, G., "Bronchopulmonary in-  
fection due to Branhamella catarrhalis: 11 cases assessed  
by transtracheal puncture", Brit. Med. J., 1: 276 - 278  
(1978)

124. Joly, J., Kravtman, M., Ninane, G., Plot, P., "Bronchopulmonary infection due to beta-lactamase producing Branhamella catarrhalis treated with amoxicillin/clavulanic acid", The Lancet, 2: 257 (1978)
125. Jones, R.N., Sommers, H.M., "Identification and antimicrobial susceptibility testing of Branhamella catarrhalis in United States laboratories, 1983 - 1985", Drugs, 31(3): 34 - 37 (1986)
126. Kallings, I., "Sensitivity of Branhamella catarrhalis to oral antibiotics", Drugs, 31(3): 17 - 22 (1986)
127. Kamme, C., Stahl, S., Vang, M., "Transfer of beta-lactamase production in Branhamella catarrhalis", Scand. J. Infect. Dis., 15: 225 - 226 (1983)
128. Kamme, C., Stahl, S., Vang, M., "Intragenetic and intergeneric transfer of Branhamella catarrhalis beta-lactamase production", Scand. J. Infect. Dis., 16: 153 - 155 (1984)
129. Kamme, C., Nilsson, N.I., "Secretory otitis media: Microbiology of the middle ear and the nasopharynx", Scand. J. Infect. Dis., 16: 291 - 296 (1984)
130. Kern, B.E., "Suppurative (bacterial) sinusitis", Postgrad. Med., 81(4): 194 - 198 (1987)
131. Khan, W., Mann, R., Rodríguez, J.W., Ross, S., Schwartz R., "The nasopharyngeal culture in acute otitis media", JAMA, 241(20): 2170 - 2173 (1979)
132. Kingsbury, T.D., "Desoxyribonucleic acid homologues among species of the Genus Neisseria", J. Bacteriol., 94(4): 870 - 874 (1967)
133. Kirchens, S.C., Kluge, M.R., McNeely, J.D., "Fatal Neisseria (Branhamella) catarrhalis pneumonia in an immunodeficient host", Am. Rev. Respir. Dis., 114: 399 - 402 (1976)
134. Kogutt, S.M., Swischuk, E.L., "Diagnosis of sinusitis in infants and children", Pediatrics, 52(1): 121 - 124 (1973)
135. Kusmiesz, H., Nelson, D.J., Odio, M.C., Shelton, S.,

- "Comparative treatment trial of Augmentin versus cefaclor for acute otitis media with effusion", *Pediatrics*, 75(5): 819 - 826 (1985)
136. Lehninger, L. A.,  
BIOQUIMICA, LAS BASES MOLECULARES DE LA  
ESTRUCTURA Y FUNCION CELULAR  
Segunda edición,  
Ediciones Omega, S. A.  
Barcelona (1984)
137. Luman, J.I., Nash, D.R., Pollard, J.A., Wallace, R.J.,  
Wilson, R.W., "Incidence of Branhamella catarrhalls in the  
sputa of patients with chronic lung disease", *Drugs*, 31(3):  
103 - 108 (1986)
138. Luman, I., Nash, D.R., Wallace, R.J., Wilson, R.W.,  
"Disk diffusion susceptibility of Branhamella catarrhalls and  
relationship of beta-lactam zone size to beta-lactamase pro-  
duction", *Antimicrob. Agents and Chemother.*, 30(5): 774 -  
776 (1986)
139. Luman, J.I., Nicotra, B., Rivera, M., Wallace, J.R.,  
"Branhamella catarrhalls as a lower respiratory tract patho-  
gen in patients with chronic lung disease", *Arch. Intern.  
Med.*, 146(5): 890 - 893 (1986)
140. Mac Faddin, F. J.,  
BIOCHEMICAL TESTS FOR IDENTIFICATION OF MEDICAL  
BACTERIA  
The Williams & Wilkins Company  
Baltimore (1976)
141. Matsen, J.M., Sherris, J.C., "Comparative study of the  
efficiency of seven paper-reagent strips and conventional bio-  
chemical tests in identifying Gram-negative organisms",  
*App. Microbiol.*, 18: 452 (1969)
142. Maywood, I.L., O'Keefe, J.P., Puczynski, S.M., Stankie-  
wicz, A.J., "Single dose amoxicillin treatment of acute oti-  
tis media", *Laryngoscope*, 97: 16 - 18 (1987)
143. Miles, A.A., Wilson, G.S.,  
TOPLEY AND WILSON'S PRINCIPLES OF BACTERIOLOGY  
AND IMMUNITY

5 th. edition, Vol. I  
The Williams & Wilkins Company  
Baltimore (1964)

144. Musher, D.M., Wallace, R.J., "In honor of Dr. Sarah Branham, a star is born: the realization of Branhamella catarrhalis as a respiratory pathogen", Chest, 90(3): 447 - 450 (1986)
145. Nagatake, T., "Clinical significance of respiratory infection caused by Branhamella catarrhalis with special reference to beta-lactamase producing strains", Tohoku J. Experim. Med. 147: 1 - 13 (1985)
146. Nash, D.R., Shurin, P.A., Steingrube, V.A., Wallace, R. J., "Isoelectric focusing of beta-lactamases from sputum and middle ear isolates of Branhamella catarrhalis recovered in the United States", Drugs, 31(3): 48 - 54 (1986)
147. Needham, C.A., Sweeney, K.G., Verghese, A., "In vitro susceptibilities of isolates from patients with Branhamella catarrhalis pneumonia compared with those of colonizing strains", Antimicrob. Agents and Chemother., 27(4): 499 - 502 (1985)
148. Noller, C.R.,  
CHEMISTRY OF ORGANIC COMPOUNDS  
3 th. edition  
W.B. Saunders Company  
Philadelphia (1965)
149. Paradise, L.J., "Otitis media in infants and children", Pediatrics, 65(5): 917 - 943 (1980)
150. Paradise, L.J., "Otitis media during early life: how hazardous to development? A critical review of the evidence", Pediatrics, 68(6): 869 - 873 (1981)
151. Pelczar, J.M., Reid, D.R.,  
MICROBIOLOGY  
4 th. edition,  
Mc Graw-Hill Book Company,  
U.S.A. (1977)
152. Revonta, M., "A mode ultrasound of maxillary sinusitis in

- children", The Lancet, 1: 320 (1979)
153. Robbins, S.L., Angell. M.,  
 PATOLOGIA BASICA  
 2a. edición,  
 Editorial Interamericana, S.A.  
 México, D.F. (1979)
  154. Schlegel, G.H.,  
 MICROBIOLOGIA GENERAL  
 Cuarta edición  
 Ediciones Omega, S.A.  
 México, D.F. (1979)
  155. Shurin, A.P., Van Hare, F.G., "Therapy of acute otitis media caused by Branhamella catarrhalis, preliminary report",  
 Drugs, 31(3): 122 - 124 (1986)
  156. Slocombe, B., "Inhibition of beta-lactamases in Branhamella catarrhalis",  
 Drugs, 31(3): 79 - 81 (1986)
  157. Titsler, R.P., "The use of semi-solid agar for the detection of bacterial motility",  
 J. Bacteriol., 31: 575 (1966)
  158. Todd-Sanford-Davidsohn,  
 DIAGNOSTICO Y TRATAMIENTO CLINICOS POR EL  
 LABORATORIO  
 7a. edición, Tomo I, II  
 Salvat Editores, S.A.  
 (1985)
  159. Wardle, J.K., "Branhamella catarrhalis as an indirect pathogen",  
 Drugs, 31(3): 93 - 96 (1986)
  160. Zinsser,  
 MICROBIOLOGIA  
 17a. edición  
 Editorial Médica Panamericana  
 Argentina (1983).