



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

IMPORTANCIA DE LA FIEBRE REUMATICA  
Y CONCORDANCIA DE LA CLINICA  
CON LOS DATOS DE LABORATORIO.

Que para obtener el Título de:  
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

P R E S E N T A

ROSA DE GUADALUPE GONZALEZ JIMENEZ



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**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 esta 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.

Tesis 1977  
NO ~~M-187~~ 187  
ECHA \_\_\_\_\_  
PROC \_\_\_\_\_  
I \_\_\_\_\_



QUIMICA

PRESIDENTE. OSCAR AMOR DODERO.  
V O C A L. MAGDALENA ACOSTA S.  
SECRETARIO. ELDA PENICHE QUIN-  
TANA.

1er. SUPLENTE. LEONOR MARTINEZ S.  
2do. SUPLENTE. LUZ MARIA HERNANDEZ.

Jurado asignado originalmente  
según el tema.

Sitio donde se desarrolló el tema: Bibliotecas.

Nombre completo y firma del sustentante: Rosa de Guadalupe -  
González Jiménez. 

Nombre completo y firma del asesor del tema: Q. F. B. Elda Peniche  
Quintana. 

Nombre completo y firma del supervisor técnico. (No lo hay).

A mi madre

Por todos los años de su vida que ha sacrificado - para moldear mi espíritu, por su cariño, entusiasmo, confianza y sus palabras\_ siempre tan alentadoras - que me han hecho superar\_ los momentos difíciles de mi vida, logrando así mi superación.

A mi padre.

Con agradecimiento, por su cariño, confianza y apoyo.

A mis hermanos:

Maria del Pilar,  
Alberto Mario y Luis Al-  
berto, por el gran cariño  
que nos une.

A todos mis seres  
queridos.

A mis abuelitos:

Alberto Mario y María de los Remedios, por su entusiasmo, cariño y por la alegría que siempre han dado a mi vida.

A mis abuelitos:

Roberto y Raquel, por su cariño.

Con agradecimiento a la maestra Q.F.B. Elda Peniche, por su valiosa - ayuda en la realización de este trabajo.

Así como a los maestros  
Q.F.B. Oscar Amor,  
Q.F.B. Leonor Martínez y  
Q.F.B. Magdalena Acosta.

# I N D I C E

Pág.

## I INTRODUCCION

## II GENERALIDADES

A) Sobre el microorganismo.....	3
B) Sobre los padecimientos estreptocócicos.....	28
C) Sobre los padecimientos post-estreptocócicos.....	44
D) Fiebre Reumática.....	51
E) Pruebas de Laboratorio.....	103
1) Exudado Faringeo.....	104
2) Antibiograma.....	124
3) Determinación de Antiestreptolisinas.....	125
4) Antihialuronidasa.....	134
5) Antiestreptoenzimas.....	141
6) Determinación de Antidesoxirribonucleasa B Estreptocócica.....	144
7) Prueba de la DNasa.....	151
8) Determinación de Antinicotinamida Adenindinucleotido - Estreptocócica.....	152

	Pág.
9) Determinación de Anticuerpos Anticarbhidrato del Estreptococo Beta Hemolítico por Inmunodifusión Radial.....	153
10) Prueba de Hemaglutinación pasiva para determinar anticuerpos contra corazón humano.....	156
11) Prueba de Inmunodifusión Radial para Determinación de Antimiosina.....	157
12) Determinación de proteína C Reactiva.	158
13) Determinación del factor reumatoide.....	161
14) Velocidad de Sedimentación.	164
15) Recuento de Leucocitos..	167
16) Prueba de Estimulación - Linfocítica.....	167
17) Examen de Orina.....	168
III RESUMEN Y COMENTARIOS.....	171
IV CONCLUSIONES.....	178
V DEFINICION DE CONCEPTOS.....	180
VI BIBLIOGRAFIA .....	184

## I INTRODUCCION

Se realiza este trabajo por el interés -- que siempre ha despertado uno de los gérmenes -- más agresivos para el ser humano: Streptococcus haemolyticus, que es causa de varios padecimientos infecciosos, como la faringitis estreptocócica, con su importante secuela: la fiebre reumática. Esta es una enfermedad autoinmune de gran interés a nivel socioeconómico, por la invalidez que puede llegar a producir en la población durante las etapas escolar y productiva.

Se ha observado que el diagnóstico temprano y el tratamiento correcto de la infección estreptocócica pueden prevenir el ataque inicial de la fiebre reumática, lo cual traerá consigo una disminución de las tasas de morbi-mortalidad. Para lograr este objetivo, el médico necesita -- auxiliarse de algunos exámenes de laboratorio -- que le permiten el diagnóstico preciso del padecimiento.

Los avances tecnológicos han incorporado paulatinamente nuevos procedimientos para investigar la actividad estreptocócica y diagnosticar la fiebre reumática; desafortunadamente muchas veces estas pruebas, como la sarcolémica y subsarcolémica, la intermiofibrilar, así como la prueba del antígeno cardíaco de reacción cruzada y la antidifosfopiridín-nucleotidasa no están al alcance de la mayoría de los médicos, por lo que tienen que auxiliarse de métodos de laboratorio no específicos, como son la determinación del índice de velocidad de sedimentación globular, la proteína C reactiva y las antiestreptolisinas.

De los resultados que se lleguen a conseguir después de hecha la revisión de los datos y artículos, se obtendrá el grado de confiabilidad de las pruebas de laboratorio que se utilicen para determinar la actividad estreptocócica y ayudar a diagnosticar la fiebre reumática.

Se podría sugerir a la vez la hipótesis de que las pruebas utilizadas para determinar actividad estreptocócica en el laboratorio, permiten - ante un cuadro clínico sugestivo, ayudar al diagnóstico de fiebre reumática en el 60% de los casos.

## II GENERALIDADES.

### A.- Sobre el Microorganismo.

Aunque la escarlatina fue observada en --- 1976 por Sydenham, la fiebre reumática y la nefri tis aguda no lo fueron sino hasta 1805 y 1836, -- respectivamente. En 1874, Billroth describió por primera vez el estreptococo en el exudado purulen to de un enfermo de erisipela; a su descripción - se sumaron otras provenientes de investigadores - que estudiaron entidades nosológicas diferentes - (fiebre puerperal, abscesos locales, celulitis). Pasteur y Doleris en 1880, también hablan sobre \_ el estreptococo. Como se menciona anteriormente, fue Syderham quien describió originalmente la es carlatina, pero las primeras publicaciones son -- inadecuadas e imprecisas. Con seguridad esta en fermedad, la faringitis y amigdalitis estrechamen te relacionadas con ella y las erisipelas, fueron reconocidas muchos años antes de descubrirse el - Streptococcus pyogenes por Rosenbach en 1884. (7 y 13) La comprensión de las infecciones estreptocóc icas comenzó al descubrir Schottmüller en 1903, - que algunas cepas producían hemólisis en gelosa - sangre. Brown y Smith, en 1919, definieron esta \_ reacción en detalle y crearon los términos des--- criptivos todavía en uso actualmente, atendiendo \_ al modo de comportarse los estreptococos en las - placas de gelosa-sangre, tanto en superficie como en profundidad. Los clasificaron en tres tipos: - el alfa, que comprendería los viridans de Schott müller, incluyéndose aquí el estreptococo de la - endocarditis lenta; el tipo beta que da colonias \_ rodeadas de halo hemolítico y comprende los es--- treptococos hemolíticos de Schottmüller y los de la erisipela, escarlatina, fiebre puerperal y pió-

genos; por último el tipo gamma que da colonias que no modifican el medio y comprendería estreptococos saprófitos y el enterococo.

La etiología estreptocócica de la escarlatina y la amigdalitis fue establecida perfectamente alrededor de 1895. Algunos investigadores rusos habían inmunizado a gran número de niños - con diversos productos estreptocócicos, y tratado muchos casos de escarlatina con suero inmune, durante los primeros años de este siglo. Toda esta información se olvidó en la mayor parte del mundo por muchos años. Se sostenía que los estreptococos hemolíticos presentes en las gargantas de los pacientes con escarlatina, eran invasores secundarios y que la amigdalitis podría -- ser causada por bacterias diversas.

La comprobación de la etiología estreptocócica de la escarlatina por Dick y Dochez despertó nuevo interés en el tema, y Bloomfield definió claramente la etiología estreptocócica de casi todos los casos de amigdalitis. El esclarecimiento de todo el aspecto de infecciones respiratorias estreptocócicas y las complicaciones - importantes no supuradas se han logrado desde -- 1935; la adquisición de estos conocimientos fue apoyado sobre todo por la clasificación serológica de los gérmenes efectuada por Lancefield y -- Griffith y por las grandes epidemias de enfermedad estreptocócica en los ejércitos durante la Segunda Guerra Mundial que proporcionó un enorme volumen de material clínico. Los estudios hechos en niños por Powers, han tenido gran importancia en relación con el mecanismo de las diversas enfermedades según las edades. 7, 24

## Composición Química del Estreptococo y Características.

Los estreptococos pertenecen al orden IV de las bacterias verdaderas (Eubacteriales), familia X, Lactobacillaceae. Requiere de medios ricos para su crecimiento, siendo el más comúnmente empleado el de gelosa sangre, en donde es capaz de producir hemólisis, propiedad que fué aprovechada en 1919 por Brown para dividirlos en tres categorías.

Los estreptococos son microorganismos que forman parte del grupo de bacterias piógenas, -- que microscópicamente se catalogan como -- Gram positivos, esféricos u ovoides, agrupados -- en cadenas que se dividen en un plano perpendicular al eje de las mismas.

La formación de la cadena y la longitud de ella está condicionada por las condiciones de cultivo. Estos microorganismos están ampliamente distribuidos en la naturaleza; es posible observar en lesiones purulentas y medios artificiales la presencia de cadenas largas, en tanto que en lesiones difusas como celulitis y en medios sólidos se observan cocos aislados o en pares.

El estreptococo beta hemolítico es el más importante desde el punto de vista médico ya que produce hemólisis total en el medio de gelosa -- sangre, la cual se pone en evidencia por la presencia de zonas claras que circundan a la colonia, que ocupa 2-3 veces su diámetro. La especie tipo es *Streptococcus pyogenes* y de éste, -- las cepas que presentan mayor interés son las -- que pertenecen al Grupo A. de Lancefield. 33.

El estreptococo beta hemolítico presenta tres clases de colonias: mucoides, mate y lustrosas, características que están relacionadas con la presencia de una cápsula constituida por ácido hialurónico. Las cepas mucoides presentan -- abundante material capsular y producen colonias húmedas, lisas y brillantes. Las colonias mate son opacas, aplanadas y rugosas, contienen menor cantidad de ácido hialurónico y producen mucha proteína M, aunque la desecación del medio puede hacer aparecer una colonia mucóide como mate. Las colonias lustrosas son muy pequeñas, no tienen cápsula en su superficie y producen poca proteína M. 17, 24, 33.

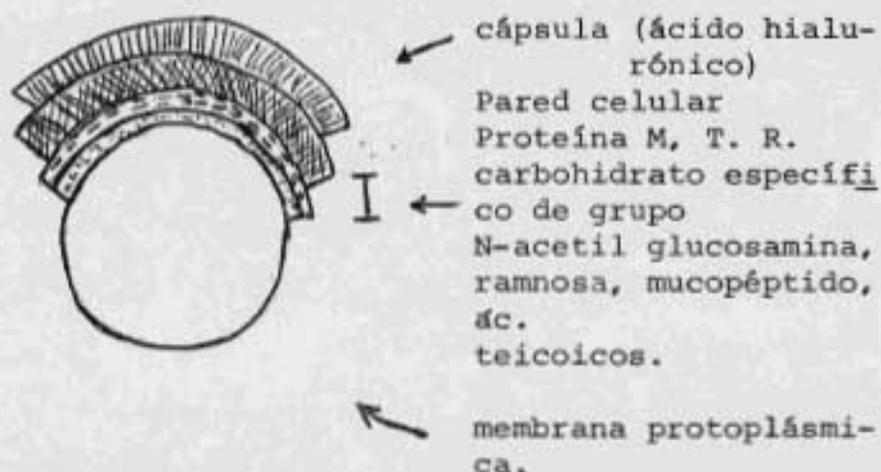
Es frecuente observar variaciones genotípicas en morfología colonial, las que a nivel molecular representan cambios químicos en la pared celular.

La energía para su crecimiento la obtienen fundamentalmente de la utilización de azúcares. El crecimiento y la hemólisis se incrementan por el suministro de CO<sub>2</sub> al 10%.

Mientras la mayoría de los estreptococos hemolíticos patógenos crecen mejor a 37°C, los enterococos del Grupo D lo hacen bien, a temperaturas entre 15 y 45°C. Los enterococos son capaces de crecer igualmente, en presencia de altas concentraciones (6.6%) de NaCl, así como en medios que contengan 0.1% de azul de metileno. La mayoría de los estreptococos son anaerobios facultativos, en tanto que algunas cepas aisladas a partir de infecciones posquirúrgicas, son anaerobios estrictos. 13, 17, 33.

La composición química del estreptococo -

ha ocupado la atención de varios autores, principalmente en lo que se refiere a su pared celular, los componentes se observan en el siguiente diagrama:



De ahí hacia adentro tenemos primero la CAPSULA; algunos estreptococos elaboran como sustancia capsular un polisacárido, pero la mayoría de las cepas de los grupos A y C poseen cápsulas compuestas de ácido hialurónico; la cápsula es no inmunogénica y tiene capacidad antifagocítica. 24

En seguida tenemos la PARED CELULAR, la cual contiene proteínas (antígenos M, T y R), -- carbohidratos (específicos de grupo) y mucopéptidos.

La PROTEINA M, identificada por Lancefield, responsable de la especificidad específica de tipo, localizada en la superficie celular es el factor de mayor virulencia que estimula la producción de anticuerpos, e impide la fagocito-

sis. Se conocen cerca de 60 tipos serológicos - de Streptococcus del Grupo A, que corresponden - al mismo número de tipos químicos de proteína.

Esta proteína está presente principalmente en los organismos que producen colonias aplanadas o mucoides; debido a que impide la fagocitosis, confiere capacidad protectora y se destruye con tripsina.

Dichos antígenos pueden demostrarse mediante varias pruebas: aglutinación, precipitación, pruebas de actividad bacteriana, formación de cadenas, fijación de complemento y hemaglutinación pasiva.

Se ha observado que los anticuerpos ante la proteína M dejan inmunidad larga. Dicha propiedad se ha tratado de aprovechar para la elaboración de vacunas específicas; pero aún existen varios problemas que resolver a este respecto, - como es la frecuencia con que varios tipos serológicos pueden presentarse en un brote, lo que - podría hacer el requerir vacunas polivalentes.

Se ha observado que las resiembras repetidas en medios artificiales pueden dar lugar a -- que el estreptococo pierda la capacidad de producir la proteína M, capacidad que se puede restablecer por pases consecutivos en animales.

Las formas L de crecimiento de los estreptococos también producen proteína M así como -- ácido hialurónico.

La proteína M está presente en extractos preparados con ácido clorhídrico caliente a partir de estreptococos del Grupo A y biológicamente

te no tiene asociación con los antígenos T y R. 24, 33, 60.

La PROTEINA T no es única, sino que es -- una designación que agrupa a diferentes proteí-- nas resistentes a la digestión por enzimas pro-- teolíticas. Este antígeno no guarda relación -- con la virulencia de los estreptococos, se des-- truye tanto por extracción ácida como por el ca-- lor y, por lo tanto, se le puede separar de la - proteína M. Se obtiene por digestión proteolíti-- ca de los estreptococos (con lo que se destruye\_ rápidamente la proteína M), y permite la diferen-- ciación de ciertos tipos. Otros tipos contienen\_ también la misma sustancia T. 24, 33, 60.

Los anticuerpos contra el antígeno T no - reflejan inmunoespecificidad debido a que están\_ asociados con múltiples tipos M.

La PROTEINA R que se describe en los ti-- pos 3 y 28 participa en algunas reacciones de -- aglutinación. La proteína R, aparentemente blo-- quea la formación de anticuerpos M. 24, 60.

En la tabla 1 se señalan algunas propieda-- des de estas proteínas:

PROTEINA	TRIPSINA	PEPSINA	ACIDO a	ALCALI
Proteína M	L	L	S	S (37°)
Antígeno T	S	S	L	S
Antígeno R	S	L	S <sup>b</sup>	S (100°)
Tipo 28				
Antígeno R	L	L	L	S (100°) c
Tipo 3				
Antígeno B	L	L	S <sup>b</sup>	L

- S.- Estable
- L.- Lábil
- a.- 100°, 15 minutos
- b.- Estable períodos cortos
- c.- Se inactiva parcialmente.

La capa media de la Pared Celular del estreptococo contiene el carbohidrato específico de grupo y con base a esta sustancia, los microorganismos se clasifican en grupos; cada uno está designado con letras que van desde la A a la Q (no hay grupo I ni grupo J); más del 90% de las infecciones humanas son causadas por estreptococos del Grupo A. La composición química del carbohidrato específico de grupo fue dilucidada por McCarty; esta sustancia es débilmente antigénica y en función de dicho antígeno, los estreptococos se dividen en los llamados grupos Lancefield. La capa más externa contiene a la proteína M que es la que está asociada a la tipificación de los estreptococos que van desde el 1 al 56%; esto se hace por medio de pruebas serológicas creadas por Griffith y Lancefield, siendo ésta última la que estudió exhaustivamente las propiedades de dicha proteína. Cuando no es posible tipificar al estreptococo mediante la extracción de la proteína M por el método de Lancefield, se llevará a cabo la tipificación tomando como base las diferencias que existen entre los estreptococos en cuanto a la estructura de la proteína T, que también se encuentra en la capa más externa. Por consiguiente al momento de tipificar un estreptococo existen varias posibilidades.

a) Que el estreptococo sea tipificable - tanto mediante la extracción de proteína M como de proteína T y que ambos antígenos sean de los llamados simples. Ejemplo: el estreptococo tipificado fue del tipo 1 (M-1) y su proteína T también fue tipo 1 (T-1), por lo tanto la designación correcta es estreptococo del Grupo A, M-1/T-1.

b) Que el estreptococo sea M tipificable y T tipificable, pero que el antígeno T no sea simple, sino más complicado y por lo tanto no corresponda a la designación dada a la proteína M. Por ejemplo: el estreptococo que mediante la tipificación M fué del tipo 2 (M-2) pero en lugar que la proteína T sea también 2 (T-2) es más complicada como 8/25 imp.19. En este caso la designación correcta del estreptococo sería: estreptococo beta hemolítico del Grupo A, tipo M-2/T-8/25imp.19.

c) Que el estreptococo no se pueda identificar mediante la proteína M (M-negativo) pero que sí se pueda identificar mediante la proteína T. En este caso las posibilidades son de que el antígeno T puede ser simple (T1, T2, T3, etc.) o complicado T-8/25 imp. 19, T-3/13/B3264.

d) La última posibilidad mucho más rara es que el estreptococo sea M tipificable pero T negativo, ejemplo M-30/T-neg.

El Grupo A produce una gama amplia de enfermedades en el hombre como erisipela, escarlatina, amigdalitis, otitis media, sepsis puerperal, neumonía, meningitis, celulitis, y linfadenitis, infecciones de heridas y rara vez fiebre reumática y glomerulonefritis.

Las colonias de este grupo suelen ser pequeñas, opacas, duras, y con zona de hemólisis - de tipo beta.

El Grupo A se ha subdividido en más de 40 tipos y este grupo es sensible a la penicilina.

El Grupo B suele producir enfermedades en los animales como la mastitis bovina y en el hombre suele causar a veces sepsis puerperal, sue--len haber cepas hemolíticas y no hemolíticas y - se han obtenido de la sangre de pacientes con endocarditis, estos microorganismos a veces se ha--llan en forma persistente en la garganta de algu--nas personas.

Las colonias de este grupo son pequeñas;- la hemólisis que producen es menos definida y -- exhiben zonas dobles después de refrigerarlas y requieren de cierta tensión de oxígeno para el - desarrollo de su pigmento, pues desarrolla colo--nias pigmentadas rojas en condiciones anaerobias.

Los estreptococos del Grupo C son patóge--nos para el hombre y para animales causando en - estos fiebre puerperal, en el hombre puede cau--sar amigdalitis, infecciones en piel y heridas. Las colonias de este grupo tienen el mismo aspec--to de las del grupo A.

Los estreptococos del Grupo D o enterococ--cos forman parte de la flora normal del intesti--no grueso, pero producen algunas infecciones ge--nitourinarias o en heridas y en contados casos - endocarditis bacteriana; no se conoce bien el papel exacto de estos gérmenes en la patogenia de las pielonefritis agudas y crónicas; menos fre--cuentemente son responsables de sepsis puerperal

y de meningitis purulenta. No producen faringitis ni amigdalitis.

Las cepas de este grupo pueden ser beta-hemolíticas o carecer de poder hemolítico y sus colonias son grises, translúcidas y blandas.

Son resistentes a la penicilina, y las sulfonamidas tienen acción bacteriostática sobre ellas.

Grupos F y G. No es raro encontrar microorganismos de estos grupos como saprófitos en la garganta, vagina o colon; pero pueden producir cuadros patológicos en vías respiratorias altas. Sus colonias suelen ser pequeñas, opacas y con zona de hemólisis total.

Grupo N. Los miembros de este grupo generalmente no producen enfermedades pero hacen que la leche se "agrie".

Los Grupos C, E, F, G, H, K, L, M, N, se descubren sobre todo en la flora de las vías respiratorias altas y raramente causan enfermedad en el humano.

Las cepas alfa y no hemolíticas existen en más grupos particularmente C, D, G, H y K, pero también ocasionalmente en el Grupo A.

Los estreptococos beta se clasifican de la siguiente manera:

GRUPO	AISLADOS HUMANOS	OTRAS PROCEDENCIAS
A	Escarlatina Erisipela Mastoiditis Otitis media Faringitis aguda Fiebre reumática Garganta de portadores.	Carnero Conejo Ratón Mono
B	Garganta y vaginas humanas  (Infección esporádica)	Leche de <u>va</u> <u>cas</u> (Mastitis - bovina)
C	Garganta, vagina y piel humanas causa ocasional de erisipela y sepsis - puerperal	Causa común de enferme- dades en -- los anima-- les
D	Intestino y vagina Endocarditis Infecciones urinarias	Carnero
E	Ninguna	Leche de <u>va</u> <u>ca</u> Cerdo
F	Garganta, intestino, piel y vagina. Infecciones urinarias Glomerulonefritis (?) Sinusitis Abscesos	?

G	Garganta, Intestino, piel y vagina. Ocasionalmente patógeno.	Ampliamente distribuido en la naturaleza. Infecciones animales
H	Garganta y Heces	?
K	Garganta	?
L	Garganta	Animales
M	Ninguna	Perro Zorro
N	Ninguna	Leche 13, 36, 39.

Por debajo de la capa proteica está el -- CARBOHIDRATO C, Salton y McCarty fueron de los primeros en estudiar el carbohidrato específico para los Grupos A y C como componente de la pared celular; Lancefield utilizó el Carbohidrato C, específico de grupo, para la clasificación serológica en grupos A-O. Recientemente se han -- descrito nuevos grupos hasta llegar al grupo R.

La clasificación en grupos puede hacerse por métodos diversos, empleando sueros de fuentes comerciales.

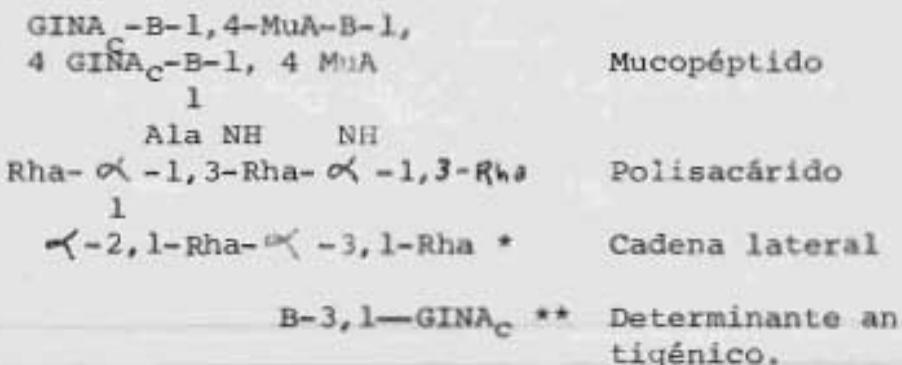
Los extractos del Carbohidrato C con fines de determinar el grupo de los estreptococos, pueden realizarse por extracción de cultivo centrifugado con HCl caliente, con formamida o por lisis enzimática de las células del estreptococo -- (por ejemplo, con pepsina, tripsina o enzimas --

elaboradas por Streptomicies albus); o bien sometiendo suspensiones celulares a la acción del -- autoclave a 1.056 Kg. por cm<sup>2</sup> de presión a 120°C durante 15 minutos. El carbohidrato C ocupa el 10% del peso seco del organismo, está constituido de ramno<sup>s</sup> / hexosamina con enlaces (alfa 1,-3) unido al mucopéptido por enlaces de alanina. La especificidad serológica del carbohidrato C - está determinada por un amino azúcar. Para el - Grupo A de los estreptococos es ramnosa-N-acetil glucosamina; para el Grupo C es la ramnosa-N-ace tilgalactosamina; para el Grupo F es una glucopi ranosil-N-acetilgalactosamina. 24, 33

Los diferentes polisacáridos pueden dar - reacción cruzada entre diversos tipos serológi- cos y algunos tejidos de mamíferos.

Matsuno estudió otro polisacárido com- - puesto de glucosa y N-acetilglucosamina, además\_ de un polímero de ácido teicoico en Streptococ- - cus Grupos A tipo 3.

Las formas "L" de Streptococcus A han ocu- - pado la atención de varios autores (Caravano, -- Schitt-Slomska et al), los cuales han inducido - la implantación de ellas en cultivos de tejidos, logrando que persista en equilibrio aún en ausen- - cia de antibióticos durante varias generaciones\_ de células. 33



- \* 2-4 unidades de ramnosa
- \*\* N-acetil glucosamina.

En la figura anterior se observa la relación molecular entre el mucopéptido, el polisacárido y el determinante antigénico.

#### Toxinas y Enzimas.

El Grupo A de estreptococos elabora más de 20 productos extracelulares antigénicos como fueron demostradas en un estudio electroforético que se realizó utilizando una mezcla de gamma -- globulinas humanas, que reveló que durante la infección estreptocócica se producían gran número de sustancias extracelulares que inducían la formación de anticuerpos. Algunas de ellas refuerzan su poder patógeno.

Mencionaremos sólo algunas de ellas.

EXOTOXINAS.- Son abundantes e incluyen -- dos variedades de hemolisinas. Los estreptococos del Grupo A, C y G producen estas dos hemolisi--nas (ESTREPTOLISINAS) que se identifican por su capacidad de lisar a los eritrocitos. Todd y --- Weld demostraron que la asociación del estrepto--coco con las enfermedades del hombre se debían a estas dos sustancias hemolíticas. Estas sustan--cias son la Estreptolisina O y la Estreptolisi--na S.

La ESTREPTOLISINA O es una proteína de PM de 60,000 daltons, con actividad hemolítica sola--mente cuando está reducida (grupos -SH disponi--bles), por lo que se inactiva cuando se oxida, - su coeficiente de sedimentación es de 3.75, su - punto isoeléctrico es de 5.8-7.5, es estable a -

altas temperaturas, es cardiotóxica, in vitro el colesterol en bajas concentraciones inhibe la hemólisis y otros efectos biológicos y este efecto es irreversible. Es capaz de lisar leucocitos -- por acción sobre los fosfolípidos de la membrana causando daños irreversibles, es antigénica y -- produce anticuerpos que neutralizan la acción hemolítica de la toxina; característica que se ha empleado en los laboratorios para el diagnóstico de infecciones producidas por estreptococo. El título de antiestreptolisinas se encuentra elevado durante las infecciones agudas, así como en las infecciones no supurativas; tienen gran valor, diagnóstico, cuando se constata un aumento del título de anticuerpos, si se complementa de alguna otra titulación como la de antiestreptococina y antiproteína M. Un contenido de antiestreptolisina por arriba de 200  $\frac{UI}{ml}$  se considera

anormal y sugiere una infección reciente por estreptococo o bien niveles persistentemente altos de anticuerpos, a consecuencia de un contacto menos próximo. 13, 24, 60.

Inyectada en conejos en dosis pequeñas, -- produce cambios en el trazo electrocardiográfico en un período corto inmediato a su introducción en el animal de prueba; debido a la aparición -- brusca de estos cambios se piensa que hay liberación de alguna sustancia farmacológicamente activa, más que a una acción directa de la toxina.

Se han elaborado un gran número de hipótesis que relacionan la actividad de la estreptolisina O en enfermos de fiebre reumática; pero se considera que la respuesta en estos pacientes no difiere mucho de la que presentan individuos normales o con infecciones agudas.

Halbert señala como probable, la participación de complejos antígeno-anticuerpo que pudieran tener predilección por algún tejido en particular.

La ESTREPTOLISINA S es una hemolisina soluble, ya que es la que causa las zonas de hemólisis que circundan las colonias de estreptococos beta hemolíticos en placas de agar sangre.

Es una proteína que produce hemólisis en presencia de oxígeno, no es inmunogénica; sin embargo, los sueros del hombre y los animales contienen a menudo un inhibidor inespecífico que es independiente de los contactos que se hayan tenido con estreptococo en el pasado; su actividad se mide por la acción sobre los glóbulos rojos o por el efecto citotóxico que provoca en algunas células de mamíferos.

Tiene un espectro de acción más amplio -- que la estreptolisina O pues produce lisis en -- glóbulos rojos, leucocitos polimorfonucleares, - plaquetas.

Se destruye por el calor y se vuelve -- inactiva a muy bajas temperaturas; su actividad - hemolítica se inhibe por bajas concentraciones - de fosfátidos.

Se ha observado por Hirschhorn y col, que in vitro la toxina produce aumento de mitosis en los leucocitos periféricos de individuos normales, enfermos o convalecientes; sin embargo este efecto no se manifiesta en leucocitos de individuos con fiebre reumática.

Ginsburg describe varios tipos de hemoli-

sinas oxígeno estables, cuya relación observamos en la tabla 2.

Las diferencias se establecen de acuerdo con los factores involucrados en su formación, - su naturaleza química y los agentes capaces de - inhibir su acción. Cuando se inyecta en conejo produce la muerte en 45-60 minutos con daño cardíaco, hemoperitoneo y hematuria.

Los hematíes de ratón son altamente sensibles a estreptolisina S; la misma toxina tiene efecto citotóxico sobre leucocitos, células tumorales y plaquetas al parecer por modificación de los fosfolípidos de las membranas. 13, 24 60.

TABLA 2

HEMOLISINA	AGENTES INVOLUCRADOS EN SU FORMACION.	NATURALEZA QUIMICA	INHIBIDAS POR
Estreptolisina S	Albúmina, B.- Lipoproteína, Lecitovitelina.	Lipoproteína	Lecitina B.- Lipoproteínas
Estreptolisina S'	RNA. Oligonucleótidos; Polinucleóticos biosintéticos.	Complejo proteína polinucleótido-polisacárido. Complejo polipeptido-oligonucleótido.	Lecitina azul de tripan, rojo Congo, B lipoproteínas, pafina, ficina.
Hemolisina intracelular	-----	-----	K, +suero de conejo, lecitina.
Hemolisina fija a la célula	Azúcares, Mg, 2+com puestos son SH.	-----	Azul de tripan, tetracinas, clo-ranfenicol, ác. yodoacético, fluoruro de sodio

(continuación de la tabla 2)

Estreptolisina D	Azúcares o aminoácidos, Mg, 2+ <u>com</u> puestos con SH, - sueros, albúmina, detergentes (Tween, Triton).	Complejos proteínicos con albúmina o detergentes	Lecitina, azul de tripan, rojo - Congo, suero, $\phi$ lipoproteínas, - papaína, <u>fi</u> cina. (25)
---------------------	--	--	--

**TOXINA ERITROGENICA.**- Es una toxina filtrable, soluble y resiste al calentamiento a 60° C por varias horas, pero se destruye a la temperatura de ebullición en una hora, la toxina eritrogénica es responsable del exantema que se presenta en la escarlatina. Solamente las cepas que elaboran esta toxina son capaces de causar esta enfermedad. La toxina eritrogénica es elaborada por los estreptococos lisogénicos; a este grupo pertenecen los estreptococos del Grupo A. Las cepas desprovistas de genoma temperante del fago no producen la toxina; un estreptococo no toxigénico después de la conversión lisogénica producirá toxina eritrogénica. La toxina eritrogénica es antigénica y provoca la formación de la antitoxina específica, la cual neutraliza a la toxina; aquellas personas que poseen la antitoxina circulante son inmunes al eritema, aunque continúan siendo susceptibles a la infección estreptocócica. Existen diferencias cualitativas menores entre las toxinas eritrogénicas producidas por distintas cepas.

La susceptibilidad a la toxina eritrogénica se puede poner de manifiesto mediante la prueba de Dick, que consiste en inyectar por vía intradérmica 0.1 ml de toxina eritrogénica (un filtrado de cultivo en medio líquido) estandarizada y diluida. El mismo material, pero inactivado -- por el calor, se inyecta como testigo en un sitio diferente. Se observa una reacción positiva en ausencia de concentraciones significativas de antitoxina en la sangre: a las 8-24 hrs. de la inyección aparece una zona de eritema y edema -- que mide mas de 10 mm. de diámetro. Esta prueba ha sido prácticamente abandonada.

Se puede demostrar la naturaleza específica

del eritema de la fiebre escarlatina por medio de la prueba de Schultz-Charlton, la cual consiste en inyectar antitoxina específica en una zona de la piel en que el eritema sea bastante aparente; si dicho eritema está causado por la toxina eritrogénica de los estreptococos, el enrojecimiento se aclara y desaparece en el área inyectada en la cual la antitoxina ha neutralizado a la toxina.

La toxina eritrogénica es citotóxica, aumenta la sensibilidad a la endotoxina y exhibe gran actividad pirogénica por liberación de pirógeno endógeno; es antigénica y produce anticuerpos neutralizables.

Se asocia al ácido hialurónico y se han descrito tres tipos A, B, C. Es capaz de bloquear la respuesta anamnésica y deprimir la respuesta del sistema reticuloendotelial ambos considerados como mecanismos antimicrobianos importantes del huésped, razón por la cual debe profundizar más acerca del papel que esta toxina desempeña en la infección. 23, 27.

#### ALGUNAS PROPIEDADES DE LAS TOXINAS EXTRACELULARES DE S. pyogenes A.

ESTREPTOLISINA O	ESTREPTOLISINA A	TOXINA ERITROGENICA
Oxígeno-lábil	Oxígeno estable	Antigénica
Antigénica	No antigénica	Pirogénica
Cardiotóxica	Cardiotóxica	Letal al ratón
Letal al ratón	Letal al ratón	LD 3500 ug/Kg IV **
LD50 150-400 u	LD 15-30 u *	

\* Unidades hemolíticas para ratón

\*\* En conejo con Toxina pura (25)

1-3 min.	en 24 horas	
Citotóxica a leucocitos, plaquetas, células tumorales.	Citotóxica a leucocitos, plaquetas, células tumorales.	Citotóxica Aumenta susceptibilidad a la Endotoxina.
Intrarticular, - lesiones leves.	Intrarticular lesiones graves.	Deprime la respuesta - SRE
Destruye lisosomas.	Destruye lisosomas.	
Hinchazón de mitocondrias	Hinchazón de mitocondrias.	
Hemólisis renal ligera.	Hemólisis renal severa	
	Necrosis tubular	

**ESTREPTOQUINASA (FIBRINOLISINA);** en 1933 se hizo la observación de que los estreptococos hemolíticos licuan rápidamente la fibrina. La sustancia extracelular que produce este efecto fue llamada estreptoquinasa. Esta sustancia no lisa directamente la fibrina, sino que activa una enzima sérica, el plasminógeno, que a su vez produce la lisis del coágulo. La estreptoquinasa es producida por cepas de los grupos A, C, G de Lan cefield, y sólo ocasionalmente y en cortas cantidades por los grupos B y F.

No se conoce el papel exacto de la estreptoquinasa en los procesos infecciosos. Se ha pensado que la naturaleza invasora de las infecciones estreptocócicas es debida a la estreptoquinasa, que destruya la barrera de fibrina y otras proteínas. Tal digestión puede ser impedida por inhibidores no específicos presentes en el suero, así como por un anticuerpo específico, la antiestreptoquinasas, formada en respuesta a

un contacto previo del sujeto con la estreptocinasa. Así pues, la cuantificación de la antibrinolisisina o antiestreptoquinasa puede ayudar al diagnóstico.

Esta prueba serológica no es tal útil como método diagnóstico en comparación con la prueba de la antiestreptolisina, porque no todos los estreptococos del Grupo A producen suficiente estreptoquinasa para estimular la formación de anticuerpos.

La estreptoquinasa se emplea terapéuticamente para destruir adherencias y barreras de fibrina de reciente formación o en casos de formación anormal de coágulos de sangre en vasos sanguíneos o cavidades del cuerpo (enfermedad tromboembólica). 13, 33.

La ESTREPTODORNASA (DESOXIRRIBONUCLEASA). Es una enzima producida por varios grupos de estreptococos.

Los microorganismos del grupo A producen tres distintas desoxirribonucleasas (A, B, y C), inmunológicamente diferentes, que despolimerizan la desoxirribonucleoproteína y el ácido desoxirribonucleico, las dos sustancias a las que se debe la viscosidad de los exudados. La actividad enzimática puede determinarse midiendo la disminución de la viscosidad de soluciones conocidas de DNA. Actualmente hay un preparado comercial a base de estreptoquinasa y estreptodornada (Variadasa), destinado a inyectarse en las cavidades que contienen pus o sangre. Con este tratamiento se obtiene la licuefacción de la fibrina y de los detritus celulares.

**HIALURONIDASA.**- Es una enzima que hidroliza al ácido hialurónico, constituyente importante de la sustancia intercelular del tejido conjuntivo. Así, pues, la hialuronidasa favorece la diseminación de los microorganismos infectantes (factor de diseminación o factor de difusión) debido a que aumenta la permeabilidad de los tejidos. Las hialuronidasas son antigénicas y específicas para cada bacteria o tejido del cual se obtengan; después de una infección debida a un organismo productor de hialuronidasas se encuentran anticuerpos específicos en el suero del paciente.

La hialuronidasa purificada se emplea en medicina para facilitar la diseminación y la absorción de líquidos inyectados en los tejidos. Es producida en grandes cantidades por los tipos 4 y 22 de estreptococos del Grupo A.

Otras sustancias elaboradas por los estreptococos son: la leucocidina y la proteinasa estreptocócica; la primera, probablemente es idéntica a la estreptolisina O y es capaz de inhibir la fagocitosis in vitro. 15.

## B.- Sobre los padecimientos estreptocócicos.

Los estreptococos, como grupo, constituyen probablemente los más importantes microbios patógenos para el hombre por sus secuelas.

Estas bacterias pueden invadir cualquier tejido u órgano y, según el sitio de la invasión y de la relación huésped-parásito, producen diferentes síndromes clínicos. Es conveniente dividir las infecciones estreptocócicas en dos grupos.

Los padecimientos agudos, a veces espectaculares, como la faringitis, la escarlatina, la erisipela, la fiebre puerperal, impétigo, neumonía, abscesos originados por heridas infectadas, las linfagitis, sinusitis paranasal, otitis media, mastoiditis, celulitis, meningitis y adenitis cervical supurada, quedan incluidos en el grupo de INFECCIONES SUPURATIVAS; la infección supurativa está condicionada por la capacidad invasora del microorganismo y por la resistencia a la fagocitosis de las cepas virulentas, producidas por la presencia de proteína M o ácido hialurónico capsular.

Las lesiones pueden ser difusas como en la celulitis; se inician en diversas puertas de entrada, desde donde se diseminan por vías linfática y sanguínea, pudiendo provocar bacteremias graves.

Del Grupo de las INFECCIONES NO SUPURATIVAS en donde está incluida la fiebre reumática, hablaremos posteriormente.

## EPIDEMIOLOGIA.

Las infecciones por estreptococos se presentan en todas las razas, en ambos sexos y en todas las edades, y ocurren en cualquier estación del año, en todo el mundo.

Es verdad, sin embargo, que la frecuencia y las manifestaciones clínicas son alteradas por algunos de los factores epidemiológicos como clima, estación y geografía; estos son básicamente importantes, ya que rigen el contacto estrecho entre individuos. Por ejemplo: en las poblaciones de reclutas militares que se movilizan y se reúnen en cuarteles amplios y climas fríos o en condiciones de hacinamiento, en donde se producen las circunstancias ideales para el transporte rápido de gérmenes de un individuo a otro y en tales poblaciones donde se producen las epidemias más graves registradas. La enfermedad estreptocócica es particularmente grave en los conglomerados civiles, cuando la pobreza y las malas condiciones de vivienda originan la vida con mucho hacinamiento.

Se ha visto que las infecciones estreptocócicas varían notablemente según la estación del año. La frecuencia máxima ocurre entre diciembre y mayo y son raras las infecciones esporádicas durante los meses calientes del verano.

La enfermedad ocurre sobre todo en niños de 5 a 15 años, pero también son muy sensibles a la infección personas más jóvenes o de mayor edad. Para entender mejor todavía la epidemiología de la infección estreptocócica se debe considerar su modo de transmisión. Esta ocurre por contacto directo entre personas infectadas o por

tadores sanos y personas susceptibles. No se conocen reservorios importantes extrahumanos o animales de este germen, aunque se han observado -- brotes ocasionales causados por contaminación de alimentos, muchas veces la leche. En general, - sin embargo, los estreptococos se difunden rápidamente fuera del huésped humano y los gérmenes\_ obtenidos de los vestidos, ropas de casa o polvos caseros, aunque identificables como los del Grupo A, se ha comprobado que no son infecciosos cuando se inoculan a las gargantas de voluntarios humanos. Los niños, en quienes la infección es frecuente y los portadores humanos. Los niños, en quienes la infección es frecuente y -- los portadores humanos, abundantes, constituyen la causa básica de difusión de las enfermedades - estreptocócicas. La introducción de un niño no tratado e infectado de 5 años de edad en un hogar, irá seguida de infección de más de la mitad de sus hermanos y un número importante de adultos en el medio.

La difusión de una cepa virulenta de estreptococos del Grupo A de tipo M, a través de una familia, ocurre muchos más fácilmente que -- con gérmenes que no son de tipo M.

Después del nacimiento, los estreptococos alfa hacen su aparición en las vías respiratorias superiores, de donde pueden ser aislados durante toda la vida.

Por lo menos el 5% de las personas de cualquier comunidad son portadores de estreptococos del Grupo A. Las personas menores de 20 años, - especialmente si conservan sus amígdalas, tienen mayores probabilidades de alojar estreptococos - del Grupo A.

Los estreptococos del Grupo A, rara vez - existen en gran número en la garganta, excepto - inmediatamente antes o después de la infección o durante ella. Una vez que el individuo ha sido infectado, puede permanecer como portador durante muchos meses; conforme avanza el estado de portador, el estreptococo va perdiendo su capacidad de producir proteína M.

Se ha establecido que los portadores nasales de estreptococos del Grupo A, son especialmente aptos para transmitir la enfermedad.

Se acepta que los microorganismos patógenos respiratorios se diseminan por dos mecanismos.

1) Directamente, entre dos personas, por contacto físico o por gotitas "flush" llevadas por el aire a cortas distancias.

2) Indirectamente, por los núcleos de las gotitas, el polvo y los fomites.

Los estudios más recientes han demostrado, sin embargo, que los estreptococos del grupo A naturalmente depositados en el polvo o en las sábanas no producen infecciones respiratorias en el hombre.

Esto implica que el modo directo de transmisión es el principal responsable de la propagación de dichas infecciones.

La diseminación de estreptococos en cualquier grupo de población, debe relacionarse, también, con el grado de exposición o sea el tiempo de contacto interpersonal.

La infección primaria de las vías respiratorias superiores es indudablemente la infección estreptocócica más común en el hombre, o sea la FARINGOAMIGDALITIS. Este padecimiento ocurre especialmente entre 1 y 20 años, pero suele presentarse a cualquier edad. Predomina particularmente en las zonas templadas, en el invierno y al principio de la primavera y raramente aparecen infecciones esporádicas durante el verano. Las epidemias, por lo general, se deben a uno, o cuando más a varios tipos de estreptococos del Grupo A, en tanto que muchos tipos diferentes son los causantes de los casos aislados de FARINGOAMIGDALITIS; por ejemplo, tenemos los siguientes tipos pertenecientes al Grupo A. M-1/T-1, M2/T-2, M-4/T-4, M-6/T-6, M-12/T-12, M-14/T-14, M-24/T-4, M-26/T-4, M-29/T-28, M-39/neg y muchos otros. 53

En condiciones epidémicas el 80% de los pacientes no tratados pueden llevar la cepa infectante en la garganta hasta por 4 semanas.

Por otra parte, las infecciones estreptococcicas esporádicas y leves en niños en edad escolar estudiados durante los últimos años no se acompañan tan frecuentemente de tal etapa duradera de portador.

ESCARLATINA.- Los estudios indican que los niños menores de 10 años son más susceptibles a dicha enfermedad; las cepas que producen la infección parecen ser lisogénicas por la presencia de un bacteriófago que origina la producción de toxina eritrogénica.

Las infecciones de los SENOS PARANASALES, que generalmente vienen después de una infección

de las amígdalas o de la faringe, no sólo pueden presentarse como complicación de la faringitis - estreptocócica, sino también es común verlas -- después del sarampión, influenza, tosferina y -- otras infecciones respiratorias.

Las NEUMONIAS bacterianas causadas por estreptococos aerobios, comprenden menos del 5% de todos los casos de este padecimiento originados\_ por estreptococos del Grupo A y puede ser secundarias a infecciones de las vías respiratorias - superiores causadas por virus, o bien en perso--nas con enfermedad pulmonar subyacente; casi nun\_ ca se observan como secuela de amigdalitis, fa--ringitis o escarlatinas.

Por lo que respecta a infecciones de la - piel ocasionadas por estreptococos tenemos:

La ERISIPELA, que es una infección cutá--nea causada por los grupos A, C y G; se presenta en individuos en edad avanzada, especialmente en aquellos que sufren enfermedades crónicas incapa\_citantes.

El IMPETIGO es la más común de las pioder\_mias; ocurre frecuentemente al final del verano\_ y comienzo de otoño y en niños en edad preesco--lar y lactantes. La transmisión del padecimien-to puede facilitarse mecánicamente por insectos, en particular pulgas que son atraídas por las le\_siones cutáneas; los pacientes con impétigo mu--chas veces albergan en la garganta los mismos --gérmenes que colonizan la piel.

Entre las enfermedades estreptocócicas - de otro tipo, tenemos:

LA FIEBRE PERPERAL, que es causa principalmente por estreptococos del Grupo A, aunque ocasionalmente es producida también por estreptococos de los Grupos B, C, D y G, y son portadores de estos microorganismos el cuello uterino o la vagina - del 3 al 5% de las mujeres normales, pudiendo producir una infección "endógena", especialmente en casos de aborto séptico.

La ENDOCARDITIS BACTERIANA, que puede ser causada por estreptococos alfa hemolíticos, beta hemolíticos y enterococos.

Del 5 al 10% de los casos son producidos por enterococos, y se ha visto que muchas veces, -- después de las extracciones dentarias, se originan bacteremias en el 30% de los pacientes y, como consecuencia, muchos de éstos presentan endocarditis - causada por estreptococos alfa hemolíticos. 33

#### PATOGENIA.

Los estreptococos penetran al organismo - principalmente a través de las vías respiratorias - superiores, se alojan en las mucosas o en otros tejidos y quizá se conservan viables durante períodos relativamente cortos, a menos que, en efecto, invadan los tejidos. Es muy fácil que se establezcan - en la nariz y la garganta.

Los microorganismos se abren paso a través de los tejidos linfáticos de la garganta, sobre todo de las amígdalas, cuyas criptas ofrecen aparentemente un sitio ideal.

Son múltiples los factores que determinan que aparezca la infección, a consecuencia de la exposición a los microbios.

1.- La cantidad o número de estreptococos parece ser un factor decisivo, así como la duración e intensidad de la exposición al microorganismo.

2.- El segundo factor en relación al estreptococo, es su virulencia.

3.- Quizá tan importante como el microorganismo mismo es la susceptibilidad del huésped. El que los estreptococos del Grupo A logren invadir los tejidos depende también del estado de inmunidad del individuo.

Los microorganismos pueden causar una bacteremia invadiendo los vasos sanguíneos si los mecanismos de defensa local no funcionan adecuadamente y provocar, ya sea infecciones como la meningitis, el absceso cerebral y la endocarditis, o bien las infecciones generalizadas que, al no ser tratadas, casi invariablemente llevan a la muerte.

La mayoría de las infecciones estreptocócicas son de corta duración y su fase termina en 5 a 7 días. No se ha definido el mecanismo exacto de la recuperación en este plazo, pero se supone que es porque se desarrollan anticuerpos -- que ayudan a la destrucción de los microorganismos; ese poder bactericida de la sangre es específico de tipo; el paciente está protegido sólo contra el tipo infectante del estreptococo del Grupo A y no contra otros de este grupo de microorganismos. Esta inmunidad antibacteriana persiste por varios años.

En seguida se hablará de la sintomatología de las infecciones de las vías respiratorias

superiores, entre las cuales tenemos principalmente a la FARINGITIS ESTREPTOCOCCICA. Este término se utiliza frecuentemente para describir -- las diversas formas de infección respiratoria no neumónica por estreptococos beta hemolíticos del Grupo A.

En los lactantes y preescolares de corta edad, la infección no tiene un comienzo agudo -- bien definido y se presenta en forma de una nasofaringitis subaguda, con exudación serosa muy -- fluída y poca fiebre; pero con una marcada tendencia a que la infección se extienda hacia el oído medio, la mastoides y las meninges. Los ganglios linfáticos cervicales generalmente están tumefactos y sensibles a la palpación; la manifestación dominante suele ser la rinorrea y -- los signos físicos en la garganta no tienen nada de característico, por lo que no permiten hacer un diagnóstico clínico preciso. La enfermedad puede durar semanas.

En niños y adultos se presenta como una enfermedad más aguda: se ve que a medida que --- los pacientes son de mayor edad, hay una tendencia aumentada en el sentido de que las reacciones inflamatorias se hacen más localizadas y más intensas; la inflamación e irritación de la garganta es más intensa y los tejidos pueden presentar alteraciones más severas y formas abscesos periamigdalinos o angina de Ludwig, obliterando el piso de la boca y bloqueando las vías respiratorias.

La infección estreptocócica de las vías respiratorias altas, raramente invade los pulmones. El cambio de la respuesta faríngea después de los primeros años de vida, puede reflejar el

brusco aumento de hipersensibilidad tardía (inmunidad celular) que aparece al primero o segundo año de la vida a consecuencia de la infección repetida con diversos tipos de estreptococos del Grupo A. Se ha observado que la fiebre reumática es muy rara antes que tenga lugar este aumento de inmunidad celular y humorales para el estreptococo, mientras que la glomerulonefritis si es frecuente. <sup>7</sup>

La faringitis estreptocócica se caracteriza por los siguientes síntomas: comienzo brusco con faringitis, a veces acompañada de dolor abdominal y náuseas, especialmente en niños, y los síntomas generales de malestar, cefalea y fiebre relativamente alta de 38.2°C o mayor.

Los signos son los siguientes: enrojecimiento y edema de la garganta en particular, presencia de un exudado en amígdalas y fosas amigdalinas; aumento de volumen e hipersensibilidad de los ganglios cervicales anteriores.

El cuadro clínico completo se desarrolla en una minoría de pacientes, con faringitis aproximadamente el 20%, excepto en casos de epidemia. En clínica, es mucho más frecuente el paciente con algunos de los signos y síntomas antes señalados, pero no todos; se ha observado que el 75% de los pacientes están afebriles en plazo de 72 horas después del comienzo de la infección, las molestias faríngeas y la adenitis por hipersensibilidad, suelen durar dos o tres días después que la temperatura ya se ha normalizado. Hay que tener en cuenta que no es raro que la enfermedad estreptocócica ligera se acompañe de faringitis no exudativa, (los estreptococos hemolí

ticos constituyen la única causa bacteriana importante de faringitis no exudativa) y, además - que hay faringitis causada por virus (adenovirus) y debido a que frecuentemente producen exudado amigdalino purulento y un síndrome que no puede distinguirse de la faringoamigdalitis estreptocócica, hacen difícil el diagnóstico de las infecciones respiratorias altas sin control bacteriológico. La infección respiratoria por estreptococos no se acompaña de mucha tos ni de coriza; la presencia de cualquiera de estas manifestaciones suele hacer sospechar otra causa, -- así como una faringitis aguda que no responde a un tratamiento penicilínico adecuado, pues prácticamente nunca será causada por estreptococos del Grupo A. 7, 27, 33

Los estreptococos del Grupo A tienden a persistir en la faringe largo tiempo después de haberlos superado el paciente, si no se ha empleado tratamiento antimicrobiano. En general, -- cuanto más virulenta es la cepa, más prolongada y manifiesta es la convalecencia y la duración de la etapa de portador faríngeo.

Complicaciones de la faringitis: procesos supurativos y no supurativos pueden seguir a una faringoamigdalitis estreptocócicas no tratadas. En la parte siguiente sólo hablaremos de las supurativas.

Complicaciones supurativas.- El absceso periamigdalino es una complicación interesante y poco frecuente de la amigdalitis estreptocócica; no se conoce su verdadera patogenia. La supuración se extiende a través de la cápsula de la amígdala palatina, hacia el tejido conectivo laxo del cuello. Se acompaña de formación de --

edema duro del lado afectado, con desplazamiento de la amígdala hacia la línea media. En casos no tratados termina por formarse un absceso que drena, pero el pus no siempre contiene estreptococos. El absceso periamigdalino se observa muy pocas veces en la actualidad, porque la amigdalitis estreptocócca hemolítica grave suele tratarse pronto con agentes antimicrobianos eficaces.

La diseminación directa de los estreptococos hemolíticos desde la zona faríngea a los tejidos vecinos puede originar algunas complicaciones supurativas. Sinusitis paranasal, otitis media, mastoiditis, adenitis cervical supurada impétigo son las más frecuentemente observadas en niños no tratados de menos de cuatro años de edad.

Se ha demostrado que la otitis media que ocurre en fase temprana de una infección respiratoria estreptocócca, está causada por el mismo tipo serológico que existía en la garganta al iniciarse el proceso.

La bacteremia se observaba antes, con bantantes frecuencia, durante el curso de la infección respiratoria estreptocócca; solía asociarse con lesiones metastásicas en articulaciones, huesos y otras partes del cuerpo. Ahora estos procesos casi nunca se ven, ni suprimiendo la terapéutica antimicrobiana. En forma similar, ha habido una desaparición casi completa de meningitis por estreptococos del Grupo A. La neumonía ha sido una complicación sorprendentemente rara de las infecciones estreptocóccas respiratorias altas. La adenitis cervical dolorosa existe.

te siempre y no debe considerarse como complicación, a menos que los ganglios linfáticos aumenten mucho de volumen y fluctúen. Todas las complicaciones supuradas estreptocóccicas pueden evitarse con una terapéutica antimicrobiana temprana y adecuada. Si aparece una de tales complicaciones en un paciente no tratado. La respuesta a un tratamiento similar es excelente. 7, 27

LA ESCARLATINA es una infección de la garganta que se caracteriza por enentema y exantema: existe erupción en el cuello y la mitad superior del tórax, hay enrojecimiento punteado del paladar blando y del duro, la mucosa bucal se ve roja y edematosa, lo mismo que los labios.

La infección de los SENOS PARANASALES posiblemente ocurre en menor grado en todos los pacientes con infecciones respiratorias estreptocóccicas; entre esas infecciones tenemos la sinusitis.

La NEUMONIA causada por el estreptococo -- del Grupo A es muy variable, debido probablemente a que en muchos casos es secundaria a infecciones causadas por virus. Aunque no es una complicación común de la faringitis estreptocóccica, el 25% de los casos son consecutivos a esta infección. Debido a que el microorganismo se multiplica en los tejidos y produce daño en los lóbulos pulmonares es característico que este microorganismo origine neumonía intersticial o confluyente.

La ERISIPELA es una infección estreptocóccica aguda de la piel y en menor grado de las mucosas; en algunos pacientes se encuentra el dato de infección reciente de las vías respiratorias. No se conoce la forma exacta como las bacterias -

se introducen en la piel, en las erisipelas faciales primarias. Con frecuencia hay gran número de estreptococos del Grupo A en la flora nasofaríngea de pacientes con erisipelas tempranas; puede ocurrir que la infección primaria sea una nasofaringitis, desde la cual el microorganismo es transferido a la piel.

Esta infección es causada siempre por estreptococos del Grupo A y muy ocasionalmente por otros del Grupo C, y los síntomas iniciales son: escalofríos, febrícula, dolor de cabeza, malestar general, anorexia y vómito.

El IMPETIGO, es una infección localizada en los estratos superficiales de la piel, en la que hay formación de vesico-pústulas superficiales que se rompen fácilmente y se propagan por continuidad.

Esto se observa especialmente en los niños.

Las INFECCIONES PUERPERALES causadas por el estreptococo hemolítico siempre son graves. Después del aborto o del parto, los estreptococos invaden el endometrio y los linfáticos; la infección se extiende a las estructuras vecinas y produce celulitis, flebitis, abscesos, peritonitis o bacteremia; el paciente presenta fiebre alta y el pulso es rápido.

En la ENDOCARDITIS BACTERIANA, los estreptococos beta hemolíticos, durante una bacteremia, se depositan sobre válvulas cardíacas normales o con deformaciones previas, y producen una endocarditis bacteriana ulcerativa aguda; la destrucción rápida de las válvulas tiene a menudo un desenlace fatal en días o semanas. Ocasionalmente se en-

cuentran otros microorganismos en esta enfermedad.

La endocarditis bacteriana subaguda, por otra parte, afecta solamente a válvulas anormales (por deformaciones congénitas o lesiones reumáticas). Aunque cualquier organismo que invade corriente sanguínea tiene la posibilidad de establecerse sobre tales válvulas, la endocarditis bacteriana subaguda es causada frecuentemente por miembros de la flora normal de los aparatos respiratorio y digestivo que llegan accidentalmente a la sangre.

La PIELONEFRITIS es una infección en el riñón originado generalmente por estreptococos del Grupo D, cuando los microorganismos existen en gran número; hay disuria, polaquiuria, dolor en el flanco, fiebre y piuria.

Las infecciones estreptocócicas de las diversas cavidades del cuerpo pueden ser originadas por la bacteremia o por la extensión de una lesión local; entre dichas infecciones tenemos: PERICARDITIS, ARTRITIS, PERITONITIS y MENINGITIS.

La PERICARDITIS, complicación rara se presenta con mayor probabilidad durante la evolución de la neumonía; debido a que el pericardio está en amplia comunicación con los vasos linfáticos y su contenido, circula continuamente hacia la linfa, lo que favorece la rápida absorción de los productos procedentes de las bacterias que lo alcanzan y del proceso inflamatorio que se desarrolla. La reacción más común es la acumulación de líquido en la cavidad, el cual comprime las partes más depresibles del corazón, y dificulta las revoluciones cardíacas. Los síntomas de la enfermedad son oscurecidos por los de la enfermedad --

primaria; en ocasiones el primer signo es el brusco aumento de la frecuencia del pulso.

La ARTRITIS supurativa es secundaria a la bacteremia o extensión de la celulitis localizada; es complicación rara de la faringitis estreptocócica y se ven afectadas las articulaciones y hay dolor y deformación de éstas.

La PERITONITIS de origen estreptocócico es rara, entre sus síntomas tenemos: fiebre, postación, dolor abdominal, vómito.

La MENINGITIS estreptocócica, por lo general, es causada por microorganismos del Grupo A, pero en ocasiones se aíslan miembros de otros grupos del líquido cefaloraquídeo. En la mayoría de los casos la meningitis se origina por extensión o invasión de la corriente sanguínea a partir de una otitis media o una mastoiditis que fácilmente se desarrolla después de infecciones del aparato respiratorio.

Las infecciones de las heridas vienen por contaminación.

### C.- Sobre los padecimientos Post-estreptocóccicos

Son de gran interés e importancia ciertos padecimientos, llamados colectivamente complicaciones no supurativas o secuelas, que pueden seguir a las infecciones por estreptococos del Grupo A.

Después de una infección aguda causada por dichos estreptococos hay un período de latencia, entre 2-6 semanas, después del cual se presenta ocasionalmente nefritis, fiebre reumática o el escleroderma del adulto, aunque esta última tiene un origen aún muy oscuro.

El intervalo comprendido por el período de latencia, sugiere que tales enfermedades post-estreptocóccicas no son atribuibles al efecto directo de las bacterias que se han diseminado, sino que más bien representan una respuesta hipersensible consecutiva al daño provocado por el estreptococos en los órganos afectados. 7, 27, 33

### ETIOLOGIA Y PATOGENIA.

Este tipo de enfermedades nunca se ha logrado reproducir en el animal. El espectro de las enfermedades no supurativas es bastante amplio. - Ciertos pacientes presentan fiebre sin síntomas de localización; otros muestran linfadenitis con fiebre, ocasionalmente aparecen manifestaciones cutáneas tales como eritema marginado, eritema nudoso y escleroderma del adulto. En una familia cuyos miembros sufren infecciones estreptocóccicas agudas, en pacientes con escarlatina y en los brotes causados por alimentos o leche, no es raro observar fiebre reumática y glomerulonefritis; generalmente existe el antecedente de infección re-

ciente de la garganta.

En la nefritis, el hecho de que se observe hematuria durante el cuadro estreptocócico agudo sugiere la acción directa de alguna sustancia nefrotóxica: no obstante, la hematuria desaparece para volver a presentarse posteriormente. En la fiebre reumática, y en menor grado en la glomerulonefritis, el paciente responde a la infección que se inicia con la producción de gran cantidad de anticuerpos a diversos antígenos estreptocócicos. Se ignora por que tal respuesta es más -- frecuente en complicaciones no supurativas, pero esta observación contribuye al interés en la reacción antígeno-anticuerpo, en relación con los mecanismos responsables de la lesión tisular.

En cuadros experimentales, las reacciones tisulares del riñón y, en menor grado, del corazón han sido obtenidas por diversos procedimientos. Estas observaciones han contribuido a subrayar la importancia de la reactividad alterada de los tejidos, pero es difícil aplicar estos datos a los cuadros de nefritis y fiebre reumática del hombre. Inclusive en casos de cardiopatía valvular reumática, existen ciertas pruebas en el sentido de que el daño producido por el estreptococo es directo. Green y otros investigadores han aislado estreptococo hemolítico de las válvulas de pacientes que fallecieron a consecuencia de fiebre reumática. 27

#### Epidemiología de la fiebre reumática y de la glomerulonefritis.

La frecuencia bastante aparente de la fiebre reumática, se desprende de los informes de --

epidemias estreptocóccicas, en las que del 2 al 3% de la población infectada se presenta posteriormente con fiebre reumática identificable. Como la mayoría de las personas sufre varias infecciones estreptocóccicas durante su vida, puede deducirse que la fiebre reumática es común, pero -- que frecuentemente no es identificada.

Del 1 al 6% de la población presenta defectos valvulares, que revelan una gran frecuencia de fiebre reumática en los conglomerados.

En contraste con la fiebre reumática, la frecuencia de ataques de glomerulonefritis por infecciones estreptocóccicas varía de 0-90%. 25

La fiebre reumática se observa con igual frecuencia en ambos sexos, mientras que las manifestaciones clínicas de nefritis son más frecuentes en el hombre. Ambas complicaciones se presentan fundamentalmente en edades que oscilan entre 2 y 30 años, con una frecuencia máxima a los 7 años. La glomerulonefritis es algo más frecuente en el niño pequeño que la fiebre reumática.

La edad no modifica la susceptibilidad a la fiebre reumática, pero las infecciones estreptocóccicas suelen ser más frecuentes en la edad adulta.

Las personas que han sufrido un ataque de fiebre reumática se encuentran especialmente propensas a ataques subsecuentes. Se ha estimado que hasta un 40% de los pacientes experimenta una recaída en el curso del año que sigue al ataque inicial.

Como ya se dijo, la glomerulonefritis agu-

da es una enfermedad que afecta de preferencia a niños y adultos jóvenes, aunque puede presentarse en sujetos mayores de 50 años (30 a 50%); predomina en el sexo masculino en proporción de 2:1. Se ha observado que la mayor parte de los casos revela antecedentes de infección que preceden de 1 a 3 semanas a la sintomatología renal; la infección es generalmente en la porción superior de las vías respiratorias, o puede manifestarse como impétigo, mastoiditis, otitis media, neumonía y otras. En la gran mayoría de los casos se debe a estreptococo hemolítico Grupo A tipos 12, 4, 1, 19, 25 y Red Lake, y también se dice que intervienen los tipos 49 y 57.

Para explicar la enfermedad han sido involucrados dos mecanismos y ambos implican complejos antígeno-anticuerpo.

1.- Los complejos antígeno-anticuerpo de muchas clases diferentes (ejemplo antígeno bacteriano más anticuerpo principalmente) circulan y son atrapados en el filtro glomerular. Estos complejos Ag-Ac con el complemento, forman "jorobas" debajo del epitelio glomerular.

El antígeno más importante se encuentra en la membrana del protoplasto estreptocócico.

2.- Un paciente produce anticuerpos contra su propia membrana basal glomerular. Los complejos antígeno-anticuerpo se forman directamente sobre la membrana basal glomerular formando un depósito lineal uniforme.

Macroscópicamente los riñones son normales o están aumentados de tamaño y llegan a pesar hasta el doble de lo normal, son pálidos sobre su su

perficie se observan pequeñas hemorragias punti--  
formes.

Con el microscopio, las alteraciones son:--  
los glomérulos están todos afectados y caracterís--  
ticamente en el mismo grado, son grandes, llenan\_  
completamente el espacio capsular o sea que hay -  
un aumento en la celularidad de los mismos, con--  
tienen pocos eritrocitos y muchas más células nu--  
cleadas que normalmente. La membrana basal se en\_  
cuentra engrosada, las células tubulares mues----  
tran cierta inflamación, hay necrosis fibrinoide\_  
aguda de las arteriolas y vasos del glomérulo.

Las lesiones halladas en la autopsia, transg\_  
curridos varias semanas o meses del padecimiento,  
muestran proliferación epitelial, necrosis fibri--  
noide, degeneración tubular e infiltración infla--  
matoria alrededor del glomérulo. La fibrosis es  
una manifestación tardía. No se ha aclarado la re\_  
lación que existe entre estas últimas alteracio--  
nes y la nefritis consecutiva a infecciones por -  
estreptococos del Grupo A.

En la glomerulonefritis aguda hay sangre y  
proteínas en la orina, edema, hipersensibilidad -  
mediada por complejos Tipo III y retención de los  
productos del metabolismo del nitrógeno; las ci--  
fras séricas del complemento están bajas.

Se ha visto que una pequeña minoría; de --  
los pacientes, algunos desarrollan una glomerulo--  
nefritis crónica con insuficiencia renal final, -  
éste tipo de glomerulonefritis representa el es--  
tadio terminal de los diversos tipos de glomerulo\_  
nefritis y por lo tanto no es una sola enferme---  
dad; se trata de un síndrome en el que el riñón -  
muestra las consecuencias finales del proceso in--  
flamatorio glomerular, más el daño producido por

la hipertensión arterial. Esta glomerulonefritis puede tener antecedentes de glomerulonefritis aguda postestreptocócica; otros más sólo relatan -- episodios de síndrome nefrótico y, finalmente, -- otros enfermos no tienen antecedentes de sufrimiento renal previo. La mayoría de los enfermos suelen recuperarse totalmente. 25, 33, 48

Escleroderma. Como se mencionó antes, se dice que se considera una secuela de las infecciones estreptocócicas; pero esto está por investigarse pues se ha observado a menudo que el escleroderma se presenta después de una infección bacteriana o por un virus en especial de las vías -- respiratorias. La naturaleza de esta relación permanece oscura, por lo que realmente no se puede asegurar que sea una secuela estreptocócica y se considere una enfermedad de etiología desconocida que se caracteriza por una inflamación e induración de la piel y tejido subcutáneo, benigna, diseminada. Aparece en cualquier edad, más común en la infancia y los adultos jóvenes, puede verse en el período neonatal y afecta a las mujeres dos veces más que a los hombres.

Las principales alteraciones histológicas, son la hinchazón del tejido colágeno de la piel y el tejido celular subcutáneo, con depósito de un material mucinoso muy peculiar entre los haces fibrosos y alrededor de los vasos. Hay infiltración moderada de linfocitos y células plasmáticas, pero no inflamación intensa. El proceso desaparece sin dejar huellas; los cambios mencionados pueden proceder a la aparición de una erupción de -- manchas eritematosas o lívidas y en otras ocasiones por un período corto de malestar general, febrícula y dolores musculoesqueléticos. La hinchazón comienza en el cuello, se disemina a la cara,

cuero cabelludo, hombros, tronco y abdomen. Las manos y los pies son respetados en su totalidad o por lo menos, existe hinchazón muy ligera. La cara semeja una máscara y el paciente se ve como endurecido. La participación de los párpados puede producir quemosis; otros datos son: derrame pleural, debilidad muscular, alteraciones histológicas de las vísceras. La hinchazón puede extenderse rápidamente y alcanzar su máximo en unos días o semanas; es seguida de regresión lenta y, a veces, se requieren meses o años para la completa recuperación. Las áreas lesionadas, en primer lugar la cara y el cuello, a menudo son las últimas en sanar, no son comunes las recaídas; pero sí se han observado después de un período prolongado de curación aparente.

La cuenta de glóbulos rojos por lo general es normal y la velocidad de sedimentación, también. En unos cuantos casos se ha observado elevación de la globulinagamma del suero.

Por lo que respecta a la fiebre reumática se hablará más ampliamente de ella inmediatamente.

#### D.- Fiebre Reumática.

La fiebre reumática es una de las complicaciones causadas por el estreptococo beta hemolítico del Grupo A. Esto se corroboró, hasta por la identificación serológica de los organismos hecha por Lancefield y Griffith, los cuales observaron altos niveles de anticuerpos contra estreptococo en el suero de personas reumáticas.

Es una enfermedad autoinmune y para explicar el origen de los autoanticuerpos se han formulado hipótesis para apoyar este criterio. Algunas de éstas invocan la intervención de un estímulo antigénico anormal del sistema inmuno-competente; por parte de un autoantígeno que ha sufrido un proceso de desnaturalización; o por la penetración en el organismo de un antígeno exógeno con grupos determinantes parecidos a los de algunos constituyentes del propio organismo.

Varios reportes publicados (34) (60) han sostenido el concepto de estas hipótesis en la patogénesis de la fiebre reumática, fue inicialmente sugerido por Brockmann y Col. en 1937. En 1947 Cavelti, Jaffé y Holz y Frick en 1951, reportaron la presencia de anticuerpos circulando en el suero en forma de aglutininas contra el tejido de corazón a través de varios experimentos.

Los sueros de pacientes con fiebre reumática o enfermedad reumática o enfermedad reumática del corazón, comúnmente exhiben actividad serológica con constituyentes de corazón humano, como se determina por la fijación de complemento, inmunofluorescencia, etc.

Kaplan dice que se depositan gamma globuli

nas en esos tejidos del corazón como en orejuelas auriculares, además del miocardio y principalmente localizados en el sarcolema, en el sarcoplasma subarcolémico de miofibrillas, en las paredes vasculares y en grado menor, en el tejido conectivo intersticial.

Se dice que esa relación inmunológica se debe a que existen antígenos de la pared celular del estreptococo del Grupo A y el tejido cardíaco humano presenta determinantes antigénicos comunes, por lo que se ha demostrado que el suero de pacientes con enfermedad estreptocócica, puede exhibir anticuerpos contra antígenos del corazón.

La fiebre reumática y sus consecuencias siguen constituyendo un problema en muchos países con cualquier grado de desarrollo económico.

En los países muy desarrollados, la incidencia de la fiebre reumática ha disminuido considerablemente durante los últimos decenios, gracias al gran número de contribuciones hechas en los últimos años y al disponer, en la actualidad, de un conjunto significativo de conocimientos acerca de esta enfermedad que permite su prevención y tratamiento. Afortunadamente, el empleo temprano de penicilina y otras medidas terapéuticas están disminuyendo la evidencia de carditis, por lo que, a pesar de que continúa siendo un gran problema médico-social, la situación ha cambiado favorablemente en los últimos años, como resultado de un mejor conocimiento de su etiopatogenia.

En algunos países apenas se ven casos de fiebre reumática; sin embargo, incluso en las sociedades con un ingreso medio elevado siguen ha--

biendo islas de pobreza donde persiste una incidencia relativamente alta del padecimiento.

Así L. Muñoz (Colombia) (29) se refirió a un estudio efectuado recientemente en Latinoamérica y declaró que la incidencia de la fiebre reumática observada en Bogotá, México y Santiago era superior a la de otras ciudades.

En México, las cifras basadas en estudios cuidadosos de la población son pocas, y la mayoría de las estadísticas se basan sólo en reportes hospitalarios.

En México, las cifras basadas en estudios cuidadosos de la población son pocas, y la mayoría de las estadísticas se basan sólo en reportes hospitalarios.

La fiebre reumática es una enfermedad aguda, recurrente y crónica del tejido conjuntivo, caracterizada por la presencia de inflamaciones focales múltiples en diversas partes del cuerpo, especialmente corazón, vasos sanguíneos y articulaciones, sin supuración; dicha enfermedad también puede afectar otros órganos como los pulmones, los ojos, los riñones, el cerebro, la piel con erupciones eritematosas, púrpura o nódulos periarticulares; pero estas alteraciones son pasajeras y pueden sanar por completo. 5

En la forma aguda ataca principalmente a los niños, aunque las personas mayores no están exentas de padecerla. La forma crónica se caracteriza por afectar el corazón de manera irreversible, dando lugar a diferentes grados de limitación en la capacidad física de los enfermos y terminan en insuficiencia cardíaca con mucha frecuencia.

cia.

Las manifestaciones clínicas suelen ser -- muy variadas, tanto en lo que se refiere a la diversidad como a la intensidad con la que se presentan. El clásico ataque de fiebre reumática se presenta como poliartritis aguda migratoria, y se acompaña de signos y síntomas de proceso febril; las articulaciones grandes de los miembros son -- las afectadas con más frecuencia; el carácter migratorio es característico y la respuesta clínica es según los signos articulares presentes. En una articulación afectada, la piel que la cubre es roja, caliente, hay derrame sinovial que modifica -- el aspecto normal y los movimientos activos y pasivos producen dolor intenso.

En niños de 4 a 6 años la poliartritis es poco frecuente y en ocasiones las manifestaciones articulares se presentan como artralgi<sup>as</sup> o mialgi<sup>as</sup> generalizadas y suele haber fiebre ligera; -- pero a pesar de tales síntomas es habitual que -- existen alteraciones cardíacas graves. En niños -- mayores y en adultos jóvenes, la poliartritis migratoria clásica es más frecuente.

En pacientes no tratados, las manifestaciones articulares suelen durar hasta ocho semanas, -- casi siempre hay desaparición completa de la artritis sin daño residual; sin embargo, en casos -- especiales, en los que el ataque articular ha sido frecuente y prolongado, se produce fibrosis de la cápsula articular en las articulaciones de la mano y se provoca artropatía residual, con desviación cubital de los dedos.

La carditis puede presentarse con signos -- clínicos mínimos, los cuales pueden desaparecer y

la enfermedad seguir un curso benigno; en los casos graves hay datos de pericarditis e insuficiencia cardíaca, estas últimas manifestaciones son más raras en ausencia de lesiones valvulares.

En casos leves suele observarse sólo taquicardia en los más graves puede haber cardiomegalia, taquicardia, ruidos apicales apagados. Los soplos que aparecen en la etapa aguda suelen ser sistólicas; estos pueden desaparecer por completo al mejorar el proceso, por lo cual su importancia clínica real será precisada con exámenes repetidos durante la convalecencia o después de ella.

La enfermedad cardíaca residual varía según las condiciones socioeconómicas; en países industrializados llega a ser del 40-50% y en países con bajo nivel de vida la frecuencia aumenta al 80%.

En las carditis, con frecuencia se observan recurrencias con tendencia a la progresión, en pacientes en quienes la complicación cardíaca se presentó desde el ataque inicial, en contraste con los casos en los cuales aquella no se presentó desde el principio.

La corea es un desorden neurológico que se caracteriza por movimientos involuntarios, debilidad muscular y labilidad emocional, es más frecuente en mujeres, excepcional después de la pubertad y muy rara vez después de los 20 años de edad. Puede ocurrir en combinación con otros síntomas de fiebre reumática, pero con más frecuencia ocurre como manifestación única; se piensa que el período de latencia entre la infección estreptocócica y su aparición es más prolongado si se le compara con la poliartritis y carditis; la

frecuencia de carditis y corea llega a ser del -- 25%.

El principio puede ser insidioso; comienza con torpeza de movimientos y tendencia a que los objetos se caigan fácilmente de las manos; conforme progresa la enfermedad los movimientos anormales se hacen más notorios y abarcan todo el cuerpo y pueden producir en el paciente incapacidad total.

Los nódulos subcutáneos se consideran como manifestación importante en relación a un proceso activo y en especial a la presencia de carditis severa; su detección varía según las zonas geográficas, fluctuando entre el 7.4 y el 21.7%; los nódulos aparecen después de varias semanas de actividad, son duros, indoloros y desplazantes, la piel subyacente no sufre modificaciones se localizan especialmente en codos, metacarpofalángicas, rodillas y tobillos; también se observan en el cuero cabelludo y a lo largo de la columna vertebral; tardan en desaparecer varias semanas y su presencia casi siempre es incidioso de lesiones cardíacas graves, por lo tanto los pacientes con nódulos tienen pronóstico grave.

Se ha informado de alteraciones valvulares residuales en el 91% de pacientes con nódulos subcutáneos; en ocasiones la artritis reumatoide juvenil puede producir nódulos semejantes, pero la ausencia de valvulopatía residual y la artropatía crónica definen el diagnóstico.

En aproximadamente 25% de los pacientes -- con fiebre reumática activa se presentan lesiones cutáneas; la más peculiar es el llamado eritema marginado o circinado que se caracteriza por le--

siones circulares localizadas preferentemente en extremidades y tronco y de manera ocasional en la cara; las lesiones tienden a extenderse en sentido centrífugo dejando un centro claro, tienen tendencia a confluir y pueden llegar a desaparecer con la presión digital; en ocasiones las lesiones pueden estar ligeramente elevadas semejando pápulas y pueden producir prurito intenso. La presencia de eritema marginado puede precisar el diagnóstico de fiebre reumática en pacientes en los cuales la existencia de las otras manifestaciones no son evidentes; por otra parte no es patognomónico de fiebre reumática, ya que se puede observar también como reacción a drogas.

La presencia de eritema marginado no constituye signo de mal pronóstico; por su carácter transitorio es difícil de observar, y se puede localizar con más facilidad cuando los pacientes han estado en contacto con calor húmedo. El eritema nudoso se puede observar en pacientes con fiebre reumática activa y el cuadro clínico es semejante al que se ve como secuela de infección por estreptococo.

Existen otros síntomas clínicos que por su relativa especificidad se han clasificado como síntomas menores: fiebre, artralgias, aumento del espacio PR o QT en el electrocardiograma, aumento de la velocidad de sedimentación, presencia de PCR, leucocitosis.

La fiebre suele observar en todos los casos de inicio súbito y no presenta características especiales que la distinguan; las artralgias se encuentran con frecuencia en pacientes de fiebre reumática aguda, pero en ausencia de cambios

inflamatorios constituyen una manifestación menor; la intensidad del dolor es variable, suelo ser mayor durante el día y no mejorar con la aplicación de calor local; en ocasiones el dolor referido es de tipo muscular sin haber participación articu--lar.

La epistaxis se ha considerado como mani--festación común de la fiebre reumática; pero debi--do a la frecuencia con que se observa en los ni--ños, no debe dársele gran importancia diagnóstica.

Los pacientes con cuadro agudo de fiebre -reumática pueden presentar crisis abdominales do--lorosas que semejan vientre agudo, secundario a -apendicitis; se ha informado esta relación en un\_5%, por lo que en ocasiones se han extirpado apén--dices normales en el curso de la fiebre reumática aguda.

Se ha descrito una encefalopatía reumática de pronóstico grave, con alteraciones macroscópi--cas del sistema nervioso central consistentes en -hipertensión intracraneana, aplanamiento de cir--cunvoluciones cerebrales, alteraciones en la con--sistencia del tejido; estas alteraciones se han -encontrado con más frecuencia entre los 11 y 20 -años de edad, no hay predilección por sexo. Se han observado junto con otras alteraciones de fiebre\_ reumática aguda, no se ha demostrado relación con insuficiencia cardíaca, ni hay sistematización --neuroológica precisa y su aparición se considera -de pronóstico grave.

Por medio de técnicas de radioinmuno ensa--yo, así como inmunofluorescencia y precipitación, se ha notado que las globulinas del enfermo de --

fiebre reumática tienen afinidad por sus propios tejidos cardíacos especialmente el miocardio; los mismos métodos sirvieron para establecer que el estreptococo posee determinantes antigénicas semejantes con las del sarcolema de las miofibrillas del miocardio, lo que llevó a postular que en la fiebre reumática hay una respuesta inmune en el sujeto predispuesto, de mayor intensidad que la habitual; y debido a que existe reacción cruzada entre el polisacárido de la pared celular del estreptococo y la glucoproteína del corazón, se considera un proceso autoinmune. Esta enfermedad aparece entre 1 y 3 semanas después de ceder completamente la enfermedad estreptocócica, no hay signos de diseminación del germen desde la faringe u otra zona de infección primaria a los órganos internos afectados y se ha observado que cuando aparecen los síntomas, los estreptococos beta hemolíticos ya no pueden obtenerse por cultivo de nariz y faringe; incluso cuando siguen todavía allí al iniciarse la fiebre reumática, la supresión del germen con penicilina no parece modificar sensiblemente las manifestaciones o el curso de la enfermedad.

La fiebre reumática es un padecimiento de la infancia, con máxima frecuencia entre los 5 y 20 años, pero posible en otras edades.

El proceso es raro en lactantes, y en la vida adulta es cada vez menos frecuente a medida que pasan los años.

Esta enfermedad no hubiera adquirido tanta importancia si no lesionara con frecuencia las válvulas cardíacas y producir, como consecuencia, alteraciones hemodinámicas que conducen progresivamente al individuo a la incapacidad y a la muerte.

te, ya sea en la fase inflamatoria aguda de carditis o en la fase cicatrizante crónica de cardio--valvulopatía. Esto ocurre muchas veces en la época de mayor productibilidad y responsabilidad familiares, además de que es una enfermedad que --- tiende a las recaídas, y con deterioro gradual de la función miocárdica.

Se ha observado que la velocidad de los -- ataques tanto del periodo primario como del recurrente de la fiebre reumática, está de acuerdo -- con la magnitud de la respuesta inmune del individuo hacia la infección estreptocócica, la cual -- está relacionada con la virulencia y epidemiolo--gía de la cepa infectante, así como con la fre---cuencia de la recurrencia de los ataques y la velocidad de formación de anticuerpos. Se ha notado que 2/3 partes de infecciones estreptocócicas -- asociadas con la velocidad de formación de los anticuerpos pueden ocurrir como infecciones subclínicas. El número de anticuerpos que existen están relacionados con el segundo ataque de fiebre reumática y la magnitud de la respuesta inmune hacia el estreptococo. Se ha observado que en personas con fiebre reumática, que tienen un título elevado de ASTO, este hecho está asociado con un 65% - de recurrencias en enfermos reumáticos y con enfermedad del corazón, comparado con un 36% de sujetos reumáticos con corazones normales; se ha observado que las recurrencias pueden ocurrir 5 años o más después del episodio reumático y aunque se siga la profilaxis existe un alto riesgo a tenernuevos ataques de fiebre reumática debido a la -- susceptibilidad de contraer infecciones estreptocócicas; se ha visto que aún llevando una profilaxis adecuada pueden haber hasta 8 recurrenciasen adolescentes y una en adultos. 57

Dentro de los factores que contribuyen a la presencia de fiebre reumática están: 1) El medio externo o predisponente; 2). El medio interno y 3) El Agente causal.

Dentro del medio externo ejercen su acción a) La Geografía, (clima, e influencia estacional) y b) Estado económico-social (alimentación, higiene, hacinamiento y pobreza).

#### a) Localización Geográfica

Se ha observado que a 2,000 m sobre el nivel del mar se favorecen las infecciones estreptocócicas; en México, por ejemplo, la enfermedad alcanza su máximo en las regiones con clima predominante "tropical-templado-lluvioso" (Michoacán, Jalisco, Guerrero y Morelos) y es mínimo en las zonas de clima "absolutamente tropical" como Tabasco y Nayarit. En un trabajo hecho por Bazan (41) se observa el marcado contraste que existe entre la frecuencia de la fiebre reumática en la altiplanicie y la rareza de la misma en Veracruz.

Por lo que respecta a las estaciones del año se ve que la incidencia es menor en el verano y máxima en el invierno.

Es indudable que existe relación importante entre el medio geográfico y la fiebre reumática; pero tal concordancia no es sencilla y no han logrado precisarse los factores geo-climáticos -- que, directamente, o a través de las condiciones de habitación y costumbres, sean determinantes.

#### b).- Estado económico social.

Por lo que respecta a la mala alimentación no ha podido demostrarse que favorezca la presentación de la fiebre reumática, ni ha podido encontrarse algún factor alimenticio individual cuyo déficit exponga a contraer el padecimiento, pese a los trabajos de Rinehart, Connor y Mettier (41) que inculpaban al ácido ascórbico y los de Peete, que hacían lo propio con las vitaminas A y D, el calcio y el fósforo. Además, la fiebre reumática afecta a personas perfectamente bien alimentadas, inclusive de modo epidémico, como quedó demostrado en cuerpos del ejército bien nutridos, en las dos guerras mundiales de este siglo. Pero sí hay que tomar en cuenta que las reacciones en la gente mal alimentada son más severas.

La mejor educación higiénica y la posesión de recursos para tener pronta y adecuada atención médica, contribuyen a disminuir el problema de la fiebre reumática en las clases económicamente privilegiadas.

Al parecer, resulta de mucha mayor trascendencia epidemiológica el hacinamiento en las viviendas y en los locales de trabajo.

Así lo demuestra la mayor frecuencia de fiebre reumática en las zonas industrializadas, con gran densidad de población, que en las regiones rurales; el hacinamiento favorece la presentación de la fiebre reumática, porque multiplica las oportunidades de transmisión del estreptococo hemolítico.

Es un hecho que la fiebre reumática castiga mucho más a los núcleos de población de bajo nivel económico, por lo que hay que atacar en ambas direcciones el círculo pobreza-enfermedad-pobreza aunque, sin embargo, interviene la cuestión

de las prioridades, ya que en cualquier sociedad existen otros muchos problemas sanitarios que requieren atención urgente.

Entre los factores comprendidos dentro del medio interno, tenemos: a) Edad; b) Predisposición familiar por factor hereditario; c) Recaídas; d) Factor de hipersensibilidad al estreptococo, no claramente conocido.

a) Edad: La fiebre reumática es una enfermedad predominantemente de la infancia y la adolescencia. La iniciación de la enfermedad alcanza su máximo entre los 5 y los 9 años; en la segunda década de la vida la incidencia todavía es muy alta y declina rápidamente a partir de los 20 años, de acuerdo con estudios hechos por Collins y Schewenker (41). Muy rara vez se presenta antes de los 5 años; sin embargo, ocasionalmente se ha visto hasta en menores de 3 años, y aún de modo más excepcional, también puede ocurrir un primer brote de la enfermedad en la edad madura y en los dinteles de la vejez.

b) Predisposición familiar por factor hereditario.

Son varias las observaciones hechas en este sentido. Los estudios de May Wilson, así como Read, Ciocco y Taussing (41) concluyen que la enfermedad ocurre con particular frecuencia en ciertos grupos familiares, ya que el padecimiento se presenta con frecuencia 4 veces mayor en los hijos de padres reumáticos, que en los descendientes de padres no reumáticos. Esto es debido a una característica hereditaria dependiente de un gene autosómico recesivo, lo que permite hacer un cuadro de predicción de probabilidades: si uno de --

los padres es reumática 50% de los hijos serán -- reumáticos; si ambos lo son, el 100% de los hijos tendrán la susceptibilidad reumática.

### c) Recaídas.

La recaída es una de las características - de la fiebre reumática que le confiere mayor gravedad, I. Chávez (16) decía "Quién es reumático - vivirá reumático y morirá reumático" por ser siempre susceptible, pues quien sufrió una vez cual--quiera de las modalidades del padecimiento está - expuesto a volverlo a presentar, a tal grado que - se justifica designar como "reumático" a todos -- los individuos de una población que hayan padeci--do alguna vez fiebre reumática, aun cuando no tengan lesiones e independientemente del tiempo transcurrido desde que sufrieron el mal, pues se ha observado que hay alto riesgo de recaídas en los -- primeros 5 años que siguen al primer brote reumá--tico. En el estudio hecho por Chávez se vió que - el 74.5% de los enfermos tuvieron recaídas, las - sufrieron en los 5 primeros años, de los cuales - 50% en el primer año y 10%, después de 3 años, -- así también se observa la disminución progresiva\_ de las probabilidades de recaer a medida que transcurre más tiempo, por lo que la profilaxis penici\_ línica es obligatoria cuando menos en este lapso\_ de tiempo. Otros estudios demuestran que hay ries\_ go de sufrirlas inclusive en pacientes que han pasado 5 años asintomáticos (16) (May Wilson, Lingg y Croxford). En otro trabajo hecho por Bland y Jo\_ nes en 1000 reumáticos, seguidos por 20 años, se ve que entre 11 y 15 años después de un ataque todavía recae el 30% (esto corresponde a la era pre penicilínica). Hoy se sabe que el brote se apaga, siempre que se erradique al germen.

d) Factor de hipersensibilidad al estreptococo, - no claramente conocido.

Se consideró que el estreptococo prepara - inmunológicamente al individuo a responder en forma exagerada y con la inflamación, ante ésta u otra agresión del germen. Los argumentos a favor de una respuesta por hipersensibilidad son:

1) Que existe un período de latencia entre el estímulo antigénico y la respuesta reumática; - este corresponde al tiempo de formación de anticuerpos que darán la reacción.

2) El reumático da reacciones cutáneas positivas cuando se le aplican productos del estreptococo y en su sangre se generan anticuerpos anti-estreptocócicos.

3) El reumático da respuesta amplificada - contra toda agresión estreptocócica; mientras -- que una infección estreptocócica produce fiebre reumática en 3% de los individuos atacados (o sea un 97% sin respuesta), la misma infección en un paciente reumático da una respuesta, es decir, -- una recaída en el 60% de los atacados. La agresión estreptocócica en no reumáticos no da respuesta, o sea, que el reumático es hipersensible a ella.

4) La inyección de productos del estreptococo produce experimentalmente lesiones vasculares, - miocárdicas, cutáneas y articulares que son similares, aunque nunca idénticas a las de la fiebre reumática, como si fueran reacciones anafilácticas.

5) Agente causal

Está plenamente demostrado que la fiebre reumática se desencadena en el primer brote y en las recaídas; cuando un individuo "susceptible" - sufre una infección estreptocócica.

No existe duda que tal papel etiológico corresponde al estreptococo beta hemolítico del grupo A de la clasificación de Lancefield.

Se ha visto que la fiebre reumática está relacionada con infecciones de las vías respiratorias altas, especialmente faringoamigdalitis, ya que en muchos casos se han logrado aislar estreptococos hemolíticos de la garganta de personas reumáticas; además, en la sangre de los reumáticos activos existen anticuerpos estreptocócicos específicos. Todo esto sirve para afirmar que existe una íntima relación entre infecciones estreptocócicas del grupo A y la fiebre reumática.

Prevención de la fiebre reumática.

Prevención Primaria.

Se sabe que existe una relación entre la infección por estreptococo beta hemolítico del grupo A y la fiebre reumática; en teoría, si se reconoce la infección estreptocócica y se trata de manera adecuada, no debe existir fiebre reumática. Sin embargo, la infección estreptocócica, que se caracteriza por dolor faríngeo intenso, fiebre, etc., la encontramos en un porcentaje pequeño que no llega al 25% de los casos de infecciones estreptocócicas; afortunadamente todos los estreptococos del grupo A son sensibles a la penicilina, por lo que la prevención se basa en el efecto bactericida de ella o de otros antibióticos como sulfas de acción prolongada si el suje

to es alérgico a la penicilina. Los estreptococos se encuentran en todas partes y no pueden erradicarse en la práctica, por lo que la prevención -- primaria consiste en tratar toda infección estreptocócica tempranamente; pero existe dificultad -- para dicho trabajo ya que en el estudio de pacientes con actividad reumática, la infección estreptocócica precedente se puede manifestar de diferentes formas:

- a) La infección estreptocócica subclínica
- b) La infección con síntomas, que no reciben atención médica.
- c) La infección a la que no se le hace el diagnóstico o que es tratada de manera inadecuada
- d) La infección con diagnóstico y tratamiento adecuados.

Estos cuatro tipos diferentes pueden después desarrollar fiebre reumática.

En las infecciones estreptocócicas subclínicas en las que, por no haber sintomatología alguna, no se efectuó diagnóstico y, por lo tanto, -- no hubo tratamiento se presentó fiebre reumática. En muchos estudios el porcentaje de este tipo de infecciones sobrepasa el 30% y en otros 15.2%. Parece que por causa de este tipo de infecciones estreptocócicas seguiría habiendo fiebre reumática, a pesar de que en las otras infecciones el -- tratamiento fuera correcto. Sin embargo, hay por lo menos dos posibilidades de disminuir y aún abolir este porcentaje: con la determinación de la -- infección estreptocócica y con la vacunación antiestreptocócica. <sup>29</sup> (Esta vacuna no ha probado

su efectividad y no se cuenta con ella.

Lo primero sólo se puede llevar a cabo haciendo cultivos de la nasofaringe a todos los niños que lo requieran constantemente, y por lo que respecta a la vacunación posteriormente se hablará.

La infección con síntomas, que no reciben atención médica, corresponde a casos con niños -- que presentan síntomas clínicos, en algunos casos leves y en otros definidos, en los que los padres consideran que la sintomatología no es importante y administran quizá un antibiótico en dosis inadecuada, un antipirético, o bien ningún medicamento y se presentó la fiebre reumática. En este 50.5% de infecciones, se puede definir la responsabilidad de los padres de familia como factor de causa determinante. Con seguridad, este grupo tan importante de pacientes podrá disminuir si se instruye a los padres de familia a que consideren la importancia de esos cuadros faríngeos.

La infección estreptocócica sin diagnóstico o tratada inadecuadamente.

En este grupo se podría hacer una subdivisión o sea la presencia de 2 subgrupos; el primero en el cual se encuentran pacientes que tienen infección estreptocócica y síntomas clínicos que acuden a la consulta médica, y en que, no se hace el diagnóstico correcto, por lo que no pueden recibir el tratamiento adecuado; y el segundo grupo en el cual se efectúa el diagnóstico correcto pero el tratamiento es incorrecto; estos dos subgrupos abarcan el 34.4% del total de pacientes de -- fiebre reumática.

Hay que tomar en cuenta que para efectuar el diagnóstico deben transcurrir varios días lo cual entorpece la atención de estos pacientes tanto para el diagnóstico como para el tratamiento, así como en múltiples ocasiones aún en presencia de infección estreptocócica el cultivo puede resultar negativo, sea por defectos técnicos o por haber recibido el paciente antibióticos aún en dosis insuficientes; por tanto debe tenerse presente este hecho al tratar de suspender el tratamiento.

La infección con diagnóstico y tratamiento adecuados.

Este grupo representa el 9-10% de todos los pacientes con fiebre reumática. Aquí, son pacientes con infección estreptocócica que se diagnosticó y trató adecuadamente, pero dicho tratamiento fue extemporáneo, dado que el inicio de tal infección tenía ya varios días y el tratamiento ya no fue capaz de impedir el cuadro de actividad reumática que estaba por iniciarse.

#### Prevención Secundaria

El segundo problema es prevenir que ocurran de nuevo los ataques de fiebre reumática. A primera vista, este aspecto se vería como más fácil que detener el primer ataque, por lo que los reumáticos deben seguir una quimioprofilaxis para prevenir la repetición de nuevos ataques.

En la República Mexicana desde 1961, se lleva a cabo el Programa de la Campaña Nacional para la Prevención de la Fiebre Reumática, la cual es llevada a cabo por las diversas instituciones médicas. Por indicaciones de la Subdirec-

ción General Médica del IMSS, en ese año, el Departamento de Medicina Preventiva inició el Programa de Prevención de la Fiebre Reumática, en forma experimental, limitado a una zona del Distrito Federal, y poco después extendido a todas las clínicas, tanto del Distrito Federal como de los estados.

El personal que interviene es el de médicos familiares de menores o pediatras y el de medicina preventiva de cada unidad, así como médicos cardiólogos especiales para el programa en el Distrito Federal y los de la Unidad correspondiente en las delegaciones foráneas. Las actividades que incluye este programa contra la fiebre reumática pueden resumirse en: descubrimiento de casos sospechosos, diagnóstico, estudio epidemiológico, tratamiento y vigilancia de los enfermos y, por último, educación higiénica.

Desde el principio del programa en el año de 1961, hasta diciembre de 1970, se han estudiado 419,469 niños en la República Mexicana, habiéndose confirmado un total de 9,297 casos de fiebre reumática. En el Distrito Federal las cifras correspondientes son de 232,323 y 4,273 respectivamente, con una prevalencia de 1.8% (31)

Predominan ligeramente las mujeres, con un 53%. En el momento en que los pacientes fueron descubiertos, el 53% estaba en actividad reumática. El 54% tenía signos de participación cardíaca, ya sea de carditis o de valvulopatía establecida; se dan los porcentajes de lesiones valvulares encontradas, y se menciona la necesidad de continuar el examen de la población infantil, sobre todo de la aparentemente sana e incrementar las medidas encaminadas a evitar las deserciones.

por lo que al tratamiento respecta.

Desde 1961 a 1976 el IMSS ha examinado hasta 2,900,923 personas y descubierto a 29,703 reumáticos, observándose que la mayoría de los casos de fiebre reumática se inician entre los 3 y los 15 años de edad. La incidencia promedio es del 1%, en los niños que se han investigado en este Instituto durante los últimos 16 años. (31)

En la población mayor de 15 años, una de cada 3 cardiopatías es de origen reumático; el 25% de los cardiopatas reumáticos no tienen antecedentes clínicos de brotes de fiebre reumática. El 25% de los padecimientos transmisibles que notifican anualmente los médicos del IMSS son faringomigdalitis, de las cuales se estima que el 50% son de origen estreptocócico.

Las complicaciones y secuelas de la fiebre reumática contribuyen con el 20% de las defunciones que se inculquen en el rubro de "Enfermedades del Aparato Circulatorio" el cual se ubica en el tercer lugar como causa de mortalidad general desde el año de 1969 hasta la fecha.

El Programa de Prevención no sólo se lleva a cabo en el IMSS sino también en la Secretaría de Salubridad y Asistencia, en el IMAN y en otras instituciones.

Además se practica no solamente en los derechohabientes sino también en los no derechohabientes en virtud de que se considera de vital importancia la erradicación estreptocócica del medio familiar.

Las personas que ya perdieron sus derechos

en el IMSS siguen su tratamiento ya sea en el --- IMAN, Instituto Nacional de Cardiología o SSA.

En el IMAN se han atendido durante los últimos años un promedio de un caso nuevo cada 10 días. Y prácticamente, todos los que llegan a nivel hospitalario, se presentan con carditis y muchos de ellos con insuficiencia cardíaca. La pérdida económica y las consecuencias sociales se incrementan cuando el caso se complica, ya no puede ser controlado médicamente y tiene que ser sometido a una intervención quirúrgica, por lo que en dicho hospital ya se han implantado más de 35 -- válvulas cardíacas.

Ahora también se han hecho estudios, aunque pocos, en las escuelas y en ciertas comunidades. Por ejemplo, en 1971 el Departamento de Medicina Preventiva de la Escuela Superior de Medicina del IPN creó una zona de vigilancia médica -- que denominó "Plan Zomeyucan" que atiende 10 comunidades suburbanas del Municipio de Naucalpan de Juárez, Estado de México. Las diez comunidades en que se dividió la zona de estudio tienen una población de 68,418 de habitantes, con una pobla---ción escolar de 16,761 niños (24.4% de la pobla---ción total), es de tipo suburbano, con grandes -- problemas de insalubridad, de falta de recursos -- económicos y carencia de servicios públicos.

Las comunidades que entraban en este plan\_ eran San Luis Tlatilco, San Antonio, Zomeyucan,-- San Agustín, Benito Juárez, San Rafael Chamapa -- (ejidal), San Rafael Chamapa (urbana), Río Hondo, Altamira y San Lorenzo. Se practicaron 1,281 cultivos de exudados faríngeos en la población escolar de las diez comunidades. La comunidad que tie

ne mayor número de escolares es la correspondiente a San Luis Tlatilco, seguida por las de San Antonio y San Agustín. De los 1,281 niños estudiados se aislaron 137 cepas de estreptococo beta hemolítico del grupo A que corresponden al 10.7% de positividad global. El porcentaje más elevado de cultivos positivos se observó en las comunidades de Zomeyucan 14.3%, San Agustín 14.2% y San Antonio 14.1%.

Al efectuar examen clínico de los niños estudiados se logró localizar de los 137 niños 2 enfermos (1.4%) con fiebre reumática activa: existe uno más con cardiopatía congénita del cual no se pudo deslindar si corresponde a un cuadro típico de fiebre reumática. <sup>25</sup>

En 1975 en un Municipio de Calpulalpan, -- Tlaxcala se aplicó el programa preventivo de fiebre reumática en los obreros de las fábricas durante los meses de marzo y abril de 1975, en donde se realizó la prevención primaria en su aspecto educativo en 762 asegurados y la detección individual en 629. Hubo con frecuencia faringitis, amigdalitis, o ambas, obteniéndose 43% en las mujeres y 28.7% en los hombres. Se encontraron dos casos de fiebre reumática, una activa y otra inactiva con cardiopatía, ambos del sexo femenino --- (0.32%) y se aplicaron 102 tratamientos de erradicación con penicilina. (23)

En septiembre de 1975 se hizo un trabajo en la Magdalena Contreras que consistió en investigar a 11,314 escolares entre los 5 y 12 años, -- entre los cuales se localizaron 777 infectados -- por estreptococo beta hemolítico. Los pequeños recibieron el sencillo y barato tratamiento de penicilina común; y se impidió un nuevo brote de fie-

bre reumática. 51

En enero de 1977 el Director de la Campaña Nacional contra la Fiebre Reumática, Dr. Víctor - Manuel Espinosa de León manifestó que, a pesar de la campaña, hay en el país una elevada incidencia de la enfermedad y sin precisar la tasa de ella - explicó que el problema no se puede erradicar totalmente debido a que los padres de familia dan - muy poca importancia cuando sus hijos padecen de alguna enfermedad en la garganta y que si no son sometidos a un tratamiento que a lo máximo dura - 10 días, el estreptococo ocasiona secuelas que de sembrocan en fiebre reumática.

El Dr. Espinosa de León hizo notar que en México, la fiebre reumática ataca especialmente - en zonas frías y de grandes hacinamientos humanos, predomina en el sexo masculino y afecta directamente a las personas de recursos económicos limitados.

La vigilancia de dicha campaña necesita de la cooperación del enfermo y de sus familiares -- por un lado, por el otro requiere del establecimiento de un programa en el cual se señalen las - prioridades que deben exigirse para que se pueda - sostener el tratamiento y vigilancia de los enfermos y portadores. De esto se han preocupado varios investigadores; en México: Amezcua y Aranda, Trimmer; en Venezuela García Barrios y col; en Perú Mispireta; en Chile Guash y Col. 24

Diagnóstico Clínico de la fiebre reumática.

Para el diagnóstico de la fiebre reumática

se utilizan los criterios de Jones, que se publicaron en Boston en 1944 y desde entonces se han empleado en forma modificada. Estos criterios representaron un avance importante y desde su introducción no ha habido otros adelantos importantes en los procedimientos para el diagnóstico más que las técnicas mejoradas para detectar las infecciones estreptocócicas precedentes.

Se consideró como fiebre reumática activa a todo cuadro patológico que, coexistiendo con otra enfermedad bien caracterizada que tuviera gran repercusión general, presentaran al menos dos de los datos mayores o uno de los mayores y dos de los menores que se señalan en seguida.

#### Datos mayores.

1.- Carditis reconocida por taquicardia, soplos orgánicos apicales que traducen la lesión mitral; o soplo basal diastólico que traduce la insuficiencia aórtica; galope, aumento del tamaño de la silueta radiológica del corazón durante el período de estudio, insuficiencia cardíaca sin explicación clara y diferente, pericarditis que se manifiesta por frotos, derrame o cambios electrocardiográficos.

2.- Poliartritis, migratoria, delitesciente que generalmente ataca a las grandes articulaciones.

3.- Corea de Sydenham.

4.- Nódulos de Meynet.

5.- Eritema marginado, en el caso de ser caracterizado.

Datos menores.

1.- Fiebre con carácter variable.

2.- Alargamiento del PR o del QT en el --- electrocardiograma (corregidos ambos valores de acuerdo con la frecuencia y la edad).

Esta manifestación vale, cuando no se ha diagnosticado la carditis, pues ésta la excluye como tal.

3.- Aumento de la velocidad de sedimentación globular, presencia de la proteína C reactiva, leucocitosis, anemia normocítica sin explicación adecuada fuera de la fiebre reumática.

4.- Cardiopatía valvular del tipo de la insuficiencia o estenosis; la cardiopatía debe expresarse por enfermedad valvular, mitral o aórtica como sigue.

Estenosis mitral: reconocible por el chasquido de apertura y retumbo.

Insuficiencia mitral: reconocible por el soplo holosistólico de la punta.

Estenosis aórtica: reconocible por el soplo sistólico basal.

Insuficiencia aórtica: reconocible por el soplo diastólico en la base.

5.- Historia de ataques de fiebre reumática bien identificada o de insuficiencia cardíaca que no tuviera otra explicación que la de este padecimiento.

6.- Infección estreptocócica previa sospechada por el cuadro clínico (faringitis, amigdalitis, escarlatina, otitis media, mastoiditis, erisipela, impétigo, bacteriológicamente corroboradas y comprobadas, mediante el aumento del título de antiestreptolisinas y el recuento de leucocitos.

7.- Astenia, fatiga, pérdida de peso, sin otra explicación satisfactoria.

Se considerara como probable reumática a toda la persona que tengan manifestaciones clínicas sugestivas, pero no concluyentes del padecimiento. El mismo Jones dijo que uno de los inconvenientes de los criterios diagnósticos, era, lo inadecuado de su aplicación para pacientes con fiebre reumática leve. Más aún en muchos casos el diagnóstico sólo se aclara después de exámenes clínicos repetidos.

Aparte, el diagnóstico se ve auxiliado por varias pruebas de laboratorio, como son la determinación de ASTO, la antihialuronidasa, la antiDN Asa B, la antidifosfopiridin-nucléotidasa. Así como las pruebas de investigación de anticuerpos anticarbohidrato del estreptococo beta hemolítico, la prueba de antígeno cardíaco de reacción cruzada, por lo que respecta a esta última prueba es una nueva aportación de laboratorio al diagnóstico en pacientes sospechosos de fiebre reumática - las pruebas en las que se usan extractos del corazón como antígenos como la prueba sarcolémica y subsarcolémica (SSL) así como la intermiofibrilar muestran algo de especificidad para fiebre reumática especialmente cuando se asocia con carditis, que se trataba de una enfermedad autoinmune. Sin embargo, los cuadros SSL a IMF no fueron más fre-

cuentas en presencia de carditis activa que en la cardiopatía reumática inactiva. Rutinariamente -- las pruebas que se aplican son: velocidad de sedimentación, PCR y ASTO que no son específicas.

Hay que tomar en cuenta que la fiebre reumática puede semejarse a otras enfermedades tales como el lupus eritematoso diseminado, endocardi--tis bacteriana, artritis séptica, así como la drepanocitemia, (esta última puede presentar dolores articulares, fiebre y soplos cardíacos y remedar fiebre reumática en el sujeto de raza negra, sin embargo no está aumentada la velocidad de sedimentación), pericarditis inespecífica con derrame, - la enfermedad del suero, leucemia y otras.

La estimación de anticuerpos estreptocóc--cos es útil, porque alcanzan el máximo poco después de aparecer la fiebre reumática y porque son indicación más definida de infección reciente; en cambio el cultivo de material faríngeo, puede seguir siendo débilmente positivo durante meses o - tornarse positivo sin reacción demostrable de anticuerpos, lo cual denota estado de portador y no infección verdadera reciente.

En un tiempo se utilizó erróneamente a la velocidad de sedimentación, como prueba específica para la fiebre reumática. Cuando la PCR se popularizó, se le asignó un lugar especial en el -- diagnóstico de la fiebre reumática; en el momento actual las pruebas de anticuerpos estreptocóc--cos son las que se usan. La prueba de ASTO se usa muchas veces sin criterio alguno; ciertamente es necesario buscar evidencia de una infección es--treptocócica precedente, en todo paciente en que se sospecha el diagnóstico de fiebre reumática en el diagnóstico. Aproximadamente el 75% de los pa-

**QUINIOA**

cientes con fiebre reumática tienen un título de ASTO elevado. Más aún, si se realizan pruebas seriadas, esta cifra llega a ser de 95%. Debe enfatizarse, sin embargo, que un título de ASTO elevado no constituye por sí mismo una garantía para el diagnóstico de fiebre reumática. Algunas veces se ha encontrado en niños asintomáticos, que ---- aproximadamente un 20% de ellos tiene un título elevado de ASTO. No debe sorprender, por lo tanto que pacientes que padezcan una enfermedad que simule a la fiebre reumática puedan tener por casualidad un título elevado, particularmente cuando exista en la comunidad una alta incidencia de infecciones estreptocóccicas. Cuando hay epidemia, en más del 10% de pacientes hay incremento en el título de 250 UI y se observa que el incremento -

del título entre la fase aguda y fase convalescente se debe a la respuesta inmune, lo cual está relacionado con el desarrollo de fiebre reumática. En estudios hechos, se ha observado que el título de ASTO excedió de 200 U en 92% de los pacientes de fiebre reumática, observados en etapa temprana del ataque; en otro grupo el título de ASTO excedió de 200 U en 78% de los niños estudiados en el término de 2 meses desde el momento en que presentaron los síntomas de fiebre reumática. La probabilidad de descubrir un título aumentado de ASTO en un sujeto normal, varía según la epidemiología local de las infecciones estreptocóccicas y la edad del paciente, algunos clínicos consideran importantes únicamente los títulos de ASTO de 400 o más, o bien el título de 250 UI o más si está elevado en adultos y el de 333 o más si está elevado en niños mayores de 5 años de edad. En casos poco frecuentes, los títulos altos engañosos pueden depender de inhibidores que suelen presentarse en caso de hepatitis, obstrucción bi-

liar y necrosis o contaminación del suero. (Esto no sucede con la prueba en la Tex).

Cuando el título de ASTO no está aumentado en pacientes de fiebre reumática, a menudo se descubre aumento en el título de uno de los demás anticuerpos estreptocócicos. Ello se aplica en especial, a pacientes observados en etapa temprana del curso del ataque reumático, y se ha visto que el título de ASTO y antiestreptoquinasa o el de antihiialuronidasa excedió de 200 en 90-95% de los casos observados en el término de 2 meses desde el comienzo. La probabilidad de descubrir un aumento en el título de cualquiera de estos anticuerpos es máxima unas 2 semanas después de comenzar el ataque y disminuye ulteriormente. Pueden encontrarse títulos bajos en pacientes que presentan el cuadro de Corea probablemente a causa del mayor período de latencia de esta manifestación.

La prueba antiDNasa B es particularmente interesante porque parece seguir elevada mayor tiempo que otros anticuerpos estreptocócicos. Esta peculiaridad puede aprovecharse en el estudio de pacientes de Corea o de carditis aislada.

Se ha observado que las personas con fiebre reumática muestran niveles elevados de anticuerpos contra el carbohidrato de grupo específico en el suero de dichos pacientes; las personas que siguen una profilaxia disminuyen los anticuerpos, y dichos anticuerpos en pacientes con enfermedad reumática del corazón permanecen elevados durante 30 años y los títulos vuelven a lo normal a los 50 años de edad. <sup>13</sup> Debido a la prolongada persistencia de estos anticuerpos, se considera que están relacionados con la valvulitis en enfermedad reumática inactiva. En un rango normal, los

niveles de anticuerpos contra el carbohidrato declina en 5-12 meses en personas con fiebre reumática quienes no presentan complicaciones valvulares.

Se han hecho estudios de personas que padecen enfermedad valvular reumática crónica y enfermos de las coronarias, así como cardíacos no reumáticos y se ha observado que existen títulos similares de ASTO, antiDNasa B, pero se observa un título significativamente alto en pacientes reumáticos, después de 8 semanas o más; hay una baja significativa del título de anticuerpos contra el carbohidrato específico de grupo en estos pacientes reumáticos. Eso explicaba la relación en la patogénesis entre la presencia de anticuerpos contra el carbohidrato y el daño reumático valvular. Para evidenciar más esto, se examinaron los efectos de la valvulopatía y valvectomía sobre los niveles de anticuerpos contra el carbohidrato en el suero de pacientes reumáticos, observándose disminución de dichos títulos.

Los anticuerpos contra el carbohidrato, -- así como ASTO, y antiDNasa B, después de 4 semanas de la enfermedad siguen elevados, después de 8 semanas declinan un poco los niveles y para un tiempo de 5 años declinan todavía más; sobre todo en la convalecencia.

Los anticuerpos específicos de tipo contra el antígeno M, persisten mucho tiempo.

En la actualidad se están investigando las estimaciones de anticuerpos cardíacos y la transformación de linfocitos, así como datos electrocardiográficos.

Se podría decir que la mayoría de los errores en diagnóstico son causados por su fracaso en la aplicación del criterio de Jones o por una --- aplicación incorrecta de ellos. En muchos aspectos las alteraciones químicas que se observan en el curso de la fiebre reumática son parecidas a las que ocurren en otras enfermedades febriles -- agudas.

Esto es particularmente cierto para gran número de cambios que existen en la sangre periférica. Se ha comprobado por análisis electroforéticos y clínicos, que aumentan la concentración en diversas fracciones proteínicas de la sangre, incluyendo fibrinógeno y globulinas alfa y gamma, observándose concentraciones elevadas de constituyentes como complemento, mucoproteína e inhibidor no específico de la hialuronidasa, así como la velocidad de sedimentación que está acelerado.

Durante la enfermedad, se han demostrado anticuerpos contra diversos productos extracelulares, por lo que dichos métodos serológicos forman la base para el diagnóstico de las infecciones estreptocócicas y sus secuelas y para el establecimiento de un programa de profilaxis contra ellas en los individuos reumáticos o en grandes grupos de población.

El Centro Internacional de referencia de la OMS para la Tipificación de Estreptococos, que se estableció en el Instituto de Higiene y Epidemiología en Praga en 1966, en los cinco últimos años, ha mantenido una colección de cepas de referencia para la preparación de sueros destinados a determinar el grupo y el tipo y para la producción de productos estreptocócicos extracelulares.

Además hay que tomar en cuenta que el fac-

tor decisivo en el diagnóstico es el cuadro clínico.

Aunque no existe evidencia de que la penicilina o cualquier otro antibiótico ejerzan un efecto favorable sobre las manifestaciones agudas de la enfermedad, o que disminuyan la incidencia del daño cardíaco, se ha llegado a hacer costumbre aplicar un tratamiento a base de penicilina a aquellos pacientes en que se hace el diagnóstico de fiebre reumática.

La penicilina es un agente antiestreptocócico que viene a ser efectivo en una población con altos riesgos de contraer los ataques de fiebre reumática. (29). Se han hecho estudios sobre profilaxis con penicilina oral y el objetivo mayor era determinar con que exactitud seguían las recomendaciones los pacientes en un régimen profiláctico, vigilando que no hubiera complicaciones y con simple análisis de orina se detectaba la penicilina; además a los niños se les indicó tomar 200,000 U de penicilina G antes de desayunar y cada semana se colectaban los especímenes de orina por las mañanas, en las escuelas.

Como ya se mencionó antes, el antibiótico de elección es la penicilina; la dosis terapéutica debe mantenerse durante 10-14 días, en infecciones de la faringe y durante años, en casos de fiebre reumática. A más de 20 años de uso, la penicilina sigue siendo el arma más eficaz. En casos de alergia a este antibiótico se puede emplear la eritromicina, pero no debe usarse la tetracilina ni las sulfonamidas, ya que el número de cepas resistentes a estos ha ido en aumento.

Se logra alivio sintomático impresionante de la faringitis estreptocócica, tras emprender la penicilinoterapia, y con una rapidez suficiente como para ser auxiliar diagnóstico retrospectivo útil, cuando no se dispone de resultados de cultivo.

Se afirma que la faringitis estreptocócica debe tratarse en un término de 48 horas desde el comienzo, para lograr profilaxia óptima de la fiebre reumática. Los informes acerca del período de latencia promedio, desde el comienzo de la infección respiratoria hasta los primeros signos de fiebre reumática han variado desde 14 hasta 18.6 días. Cuando el período de latencia es menor de 6 días, quizá a menudo sea imposible impedir las secuelas por la dilación de buscar atención médica. La penicilina-terapia en cualquier momento durante el período de lactancia, puede ser eficaz para impedir la fiebre reumática.

Catanzaro, (50) en un estudio que hizo, comparó los resultados del tratamiento en 4 grupos, a saber: 2 grupos semejantes en los cuales se comenzó a administrar penicilina 9 días después de aparecer la infección estreptocócica advirtiéndose en ellos, 1-2 casos de fiebre reumática. En un grupo de sujetos a quienes se instituyó inmediatamente tratamiento con sulfadiazina se presentaron 12 casos de fiebre reumática y en un grupo testigo no tratado hubo 9 casos del mismo padecimiento.

En una estadística de 331 pacientes (50) que presentaron faringitis estreptocócica, más de 90% tenían amígdalas y todos los fracasos terapéuticos ocurrieron en este grupo, es posible que las criptas amigdalinas cicatrizadas brinden

refugio para los estreptococos, incluso durante el tratamiento. En fechas recientes, Funstein comprobó que el volumen de las amígdalas está en razón directa con la recurrencia de fiebre reumática en pacientes que no siguen estrictamente la profilaxis penicilínica, pero que el volumen no guarda relación con la frecuencia de recidiva en quienes toman los medicamentos en forma correcta.

En la fiebre reumática activa se recomienda el siguiente tratamiento.

Los corticoesteroides, como anti-inflamatorio; al principio de la enfermedad se usan en dosis altas, también suelen usarse salicilatos o ácido acetilsalicílico. Estos anti-inflamatorios son las drogas más comúnmente usadas en el tratamiento del ataque agudo; los esteroides son más efectivos que los salicilatos.

Las Dosis por KG. de peso, de salicilato de sodio o ácido acetilsalicílico.

- a) Hasta 130 mg. durante el período de actividad
- b) Hasta 90 mg. durante la primera semana de actividad
- c) Hasta 50 mg. durante la segunda semana de actividad.

Como tratamiento higiénico-dietético.

Se recomienda el reposo en cama durante el período activo.

Posteriormente se evitarán, durante un año,

ejercicios que signifiquen esfuerzos grandes o medianos; y los alimentos ricos en proteínas, y calorías, y líquidos, se darán si no hay insuficiencia cardíaca.

Tratamiento que da el mayor porcentaje de erradicación de estreptococo.

Es de recomendar en aquellas infecciones - estreptocócicas con mayor riesgo de producir fiebre reumática como por ejemplo la escarlatina, en la que se observa con frecuencia que se continúa con la fiebre reumática. Y en los pacientes con amigdalitis estreptocócicas en que se produce -- absceso periamigdalismo o adenciditis y otitis media, una aplicación de 600,000 U.I. (300,000 U.I. de Penicilina G procaína y 300,000 U.I. de penicilina G sódica cristalina) por vía intramuscular - durante 10 días.

Se dice que el tratamiento anterior tiene la desventaja de que con frecuencia no se lleva a cabo en forma completa según las indicaciones dadas, aplicándose sólo las dosis de penicilina suficientes para "curar" los síntomas. Pensando, -- por una parte, en la efectividad del tratamiento y por otra, en la irresponsabilidad del paciente para llevarlo a término, se propone la aplicación en una sola inyección, de una mezcla que contiene 300,000 U de penicilina cristalina, 300,000 U de penicilina procaínica y 600,000 de penicilina benzatínica,

Otra forma es la aplicación parenteral de 800,000 U de penicilina procaínica cada 24 horas durante dos o cuatro días, hasta que desaparecen los síntomas, aplicando al día siguiente 600,000 U de penicilina benzatínica, con lo que se obtie-

nen curaciones clínicas así como bacteriológicas.

Se pueden usar las penicilinas por vía oral, pero habrá que tomar en cuenta el grado de cooperación del paciente, ya que es difícil que se tomen el medicamento con la regularidad requerida durante 10 días, independientemente de que puede haber o no problemas de absorción del medicamento que puedan interferir con los resultados; además, el tratamiento con penicilinas sintéticas, sube el costo del mismo en forma importante.

a) La penicilina G (bencilpenicilina): 200,000 U.I. 4 veces al día durante 10 días.

b) Penicilina V (fenoximetilpenicilina) o fenoxietilpenicilina 100-125 mg. 4 veces al día durante 10 días.

c) Eritromicina 250 mg 4 veces al día durante 10 días. En niños 30 mg/Kg de peso corporal en 24 horas en 4 tomas durante 10 días.

#### Tratamiento profiláctico.

La prevención secundaria es decir de las recaídas, que debe establecerse en todo sujeto clasificado como reumático activo o inactivo a partir de su diagnóstico, consiste en una profilaxis antiestreptocócica continua, generalmente hasta los 18 años de edad si no presenta recaídas en los últimos 5 años o hasta alcanzar este período de libre ataque. Algunos autores recomiendan continuar hasta los 40 años y se usa por vía intramuscular.

Penicilina benzatina, 1,200,000 U.I cada 30 días.

Penicilina benzatina 600,000 U.I. cada 15-días.

Por vía oral.

Penicilina G (200,000 U.I.) 2 veces al día

Penicilina V (100 a 125 mg) 2 veces al día

Sulfadiazina (0.5 g. para niños con peso inferior a 30 Kg y 1.0 g. para los de mayor peso o adultos.

Sulfametoxipiridaxina o sulfadimetoxina -- (0.25 g. para niños con peso inferior a 30 Kg y 0.5 g. para los de mayor peso o adultos).

Las sulfas sólo se usan en caso de alergia a la penicilina.

Tratamiento para la fiebre reumática inactiva o probable.

Aquí no se necesitan los antiinflamatorios, ni el régimen higiénico-dietético; por lo que respecta al tratamiento para la erradicación del estreptococo es igual que en la fase activa, y el sistema del régimen profiláctico es igualmente similar.

El Japón (29) se abordó el tema de la profilaxis de la cardiopatía reumática, y basaron -- las observaciones en el estudio de 83 personas -- con antecedentes de fiebre reumática, a las que -- les administró penicilina de acción prolongada -- (1,500,000 unidades del mes) durante un período -- de tres años. A pesar de la penicilina, 13% de -- los enfermos sufrieron anualmente una infección --

estreptocócica clínicamente manifiesta, y 24% tuvieron una infección subclínica. Sin embargo, en tres de cada cuatro pacientes la infección se produjo hacia las tres o cuatro semanas de administración de la penicilina. Sólo en un paciente hubo recidiva de la fiebre reumática.

Rhor (29) indica que en América se prefiere la administración diaria de 100,000 a 200,000 unidades de penicilina por vía oral.

Una de las causas de fracaso en el tratamiento de la infección estreptocócica, lo constituye la infección estreptocócica intrafamiliar; es sabido que si hay un niño con estreptococo, existe gran probabilidad de que alguien más de la familia lo tenga, llegando aquella a alcanzar el 36%. De ahí la conveniencia, en pacientes tratados adecuadamente y que continúan con la infección, de hacer el estudio correspondiente a las personas con las que conviven ya que, en algunos casos, tendrá que efectuarse tratamiento antiestreptocócico familiar.

Otra causa de fracaso, aunque en un porcentaje menor, lo constituye la presencia, junto con el estreptococo, de estafilococo productor de penicilinas. En estos casos, la atención deberá dirigirse a combatir el estafilococo y una vez logrado esto, si persiste el estreptococo, dar el tratamiento correspondiente con penicilina o eritromicina.

También se deben mencionar las formas "L" de estreptococo, que han perdido su pared celular, no actuando sobre ellas la penicilina. Estas formas "L", es muy probable que tengan como origen

la utilización de antibióticos a dosis insuficientes; una vez suprimiendo el antibiótico recuperan la pared celular y su virulencia. Si el laboratorio informa de su presencia en el cultivo de exudado nasofaríngeo, deberá suspenderse todo tratamiento antibiótico durante una semana aproximadamente y, una vez que hayan recuperado su virulencia, se dará la terapéutica adecuada.

Se espera de que en un futuro se disponga de la vacuna antiestreptocócica. Desde hace más de 10 años, en diversos centros de investigación se ha trabajado en la búsqueda de ella. La vacuna antiestreptocócica no existe por el momento, pero se están realizando, en la actualidad, pruebas tendientes a probar el tipo de estreptococos el cual será conveniente tener inmunidad, aunque ésta dura poco tiempo.

Se sabe que la proteína "M" de cada tipo, es el antígeno que estimula la formación de anticuerpos bactericidas específicos de tipo; estos anticuerpos confieren inmunidad duradera, a menudo de por vida, para el tipo particular que causó la infección y la inmunidad puede reavivarse fácilmente.

Del período inicial de experimentación en animales se ha pasado a la aplicación de dosis -- crecientes de proteína "M" purificada al ser humano con el objeto de obtener inmunidad. En 1969 Masell y colaboradores informaron de la aplicación a 21 años, de proteína "M", tipo 3, parcialmente purificada en uno de los cuales se suspendió su empleo por haber tenido reacción local marcada la respuesta en los otros 20 niños, se calificó como secundaria en siete de ellos y como primaria en -

el resto. (29) Los datos señalados sugieren que es posible obtener una respuesta inmunológica a la aplicación de una preparación de proteína "M"; sin embargo, esta respuesta primaria sólo se obtuvo después de un número grande de inyecciones y de cantidad de sustancia. En consecuencia, cabe esperar que la inmunización con proteína M produzca inmunidad específica y duradera.

Se han reconocido algunas dificultades en la aplicación de la vacuna antiestreptocócica: entre otras, la posibilidad de llegar a producir fiebre reumática o glomerulonefritis aguda. En febrero de 1969 el mismo Masell en Bostón, informó que de los 21 niños vacunados, dos padecieron fiebre reumática comprobada y otro muy probable, hace hincapié en que se tenga mucha precaución en este tipo de estudios. Ya que debe llenar todos los requisitos normalmente exigidos para cualquier vacuna, como el de no ser tóxica, ser inmunógeno y desde luego que no este implicada en la patogénesis de la enfermedad, que trata de prevenir. Existen otros problemas que han retardado el progreso en estas investigaciones; a saber, falta de un método sencillo y exacto para medir los anticuerpos protectores; purificación de las diversas proteínas M, y toxicidad de las vacunas actuales. No se ha justificado la preocupación de que la inmunización con proteína M pudiera producir anticuerpos que presentan reacción cruzada con tejido cardíaco al emplear preparados más puros. Se ha observado que se producen respuestas secundarias con cantidades comparativamente pequeñas de antígeno, pero que las respuestas primarias exigen concentraciones tales de antígenos que producen reacciones locales inaceptables, mediadas por mecanismos inmunológicos celulares, en porcentaje comparativamente alto de niños y adultos.

Es conveniente señalar que existen 57 tipos diferentes de estreptococo beta hemolítico -- Grupo A y muchos, si no todos ellos, guardan relación con fiebre reumática; sólo 5 tipos, entre ellos el 12 (Fox en Chicago modificó la técnica de obtención de la proteína M mejorando su purificación y obtuvo inmunización primaria al tipo 12) explican la mayor parte de las cepas obtenidas en pacientes de faringitis aguda y no es posible pensar que se pueda preparar una vacuna polivalente de tal magnitud. (50) Por lo tanto, hay que iniciar en nuestro medio con carácter urgente, un estudio que lleve a establecer la epidemiología de la infección estreptocócica y conocer la prevalencia de los tipos diferentes de estreptococo en las diversas épocas del año, así como en varios sectores de la ciudad de México, y en otras poblaciones de la República Mexicana, para que en el momento que se disponga de la metodología de la preparación de la vacuna, ésta se pueda hacer polivalente pero sólo para los dos o tres tipos predominantes en esas condiciones.

Continúan los estudios sobre inmunización y sobre purificación ulterior de proteína M y las perspectivas son halagadoras, pero discutibles, y nos permiten esperar que se logrará una vacuna -- eficaz y fácil de aplicar, tan necesaria en nuestro medio, la que se podrá utilizar en la prevención de las infecciones estreptocócicas y por ende de la fiebre reumática.

## REACCIONES CRUZADAS DE ANTICUERPOS HACIA EL MUSCULO CARDIACO.

Para encontrar este concepto se tuvo que -- aclarar primero la génesis de la enfermedad, o sea el saber cuál era el agente causal y las características del mismo.

Kaplan reporta la presencia de una relación inmunológica entre un antígeno estreptocócico y - el tejido miocárdico humano.<sup>34</sup>

Kaplan inmunizó conejos con paredes celulares o con proteína preparada del grupo A Tipo 5 - - Tripp; era esencial para este experimento que las células estreptocócicas fueran cultivadas en otro medio que aquel derivado de la infusión de tejido - de mamífero, ya que en tales medios (Todd-Hewit) se encuentran antígenos o haptenos que reaccionan en - forma cruzadas con el corazón de mamíferos; de - - acuerdo a esto, los medios empleados, aparte de los de Todd y Hewit, incluyeron caldo de soya tripticasa, derivado de digeridos enzimáticos de caseína y proteína de frijol de soya (TSB) y un medio preparado especialmente, compuesto de un dializado de un - medio de caseína (tripticase) y aminoácidos, vitaminas y sales (CDDS). Este último medio contenía muy - poco antígeno de cualquier otra fuente.

La cepa seleccionada de estreptococo grupo A fué aislada en 1951 de la garganta de un paciente - que murió de fiebre reumática aguda en Boston. Esta cepa había sido liofilizada y almacenada desde su - aislamiento. Las células estreptocócicas fueron -- cultivadas durante 18 horas en lotes de 30 litros - de medio TSB y en lotes de 2 litros de medio CDDS. Se lavaron las células en agua destilada cinco veces y se desintegraron en un aparato Mickel con la

ayuda de perlas de Ballantonio número 13. A los conejos se les dió una inyección inicial intradérmica de 2.5 mg en el cojinete plantar con células lavadas en adyuvante de Freud y seguido un mes después por inyecciones intraperitoneales e intravenosas de 5-10 mg dos veces por semana y sin adyuvante por un mes. Los sueros inmunes fueron probados en secciones de tejido de corazón humano por medio de la técnica indirecta de inmunofluorescencia. Los especímenes de tejido cardíaco se obtuvieron del material de biopsia auricular en individuos reumáticos cuando se hizo cirugía mitral, y se observó que los sueros inmunes de paredes celulares derivadas de dichos cultivos exhibieron una reacción intensa con el tejido cardíaco de individuos reumáticos y no reumáticos y los lugares reactivos fueron localizados en las miofibrillas y las paredes vasculares, así como en el endocardio.

Los extractos fueron tratados con ácido clorhídrico y se fraccionaron con sulfato de amonio, y el antígeno de reacción cruzada, se encontró ser insoluble a una saturación de 0.3 a 0.7. Esta reacción también contenía proteína M, pero no carbohidrato A serológicamente reactivo el antígeno de reacción cruzada en extractos ácidos puede ser reabsorbidos en columnas de celulosa D.E.A.E. equilibradas con un amortiguador de fosfato 0.005 M, pH 8.0 y separado por un gradiente de elución a fosfato 0.3 M, pH 8.0 y estas preparaciones fueron reactivas con los constituyentes de las miofibrillas y de músculo liso de corazón humano por inmunofluorescencia, así como por fijación de complemento. Las membranas citoplasmáticas fueron separadas de las paredes separadas de las paredes celulares por centrifugación diferencial, a 20,000 g de acuerdo con el procedimiento de Freimer, después de lavar dos veces con agua destilada y liofilizadas. La

fracción citoplasmática fué derivada del sobrenadante de la fracción de membrana y se pasó a través de un filtro de vidrio ultrafino de incrustación dializada contra el agua destilada y liofilizada.<sup>35</sup>

Hay que tomar en cuenta que la intensidad de la reactividad del suero de los pacientes varía de acuerdo a la preparación del antígeno estreptocócico. Se ha observado que el antígeno estreptocócico conteniendo es susceptible a enzimas proteolíticas. Las soluciones del antígeno estreptocócico, conteniendo 10 mg de proteína por ml, fueron tratadas con tripsina a una pH 8.0, pepsina a un pH 2.0 y quimotripsina a una pH de 7.4 a una concentración de 10 microgramos de enzima por microlitro. Después de la incubación a 37°C por 12 horas, la acción enzimática se bloqueó por la adición de 1 mg por ml de frijol de soya, que contiene un inhibidor para la tripsina, 0.0001 M diisopropilfluorofosfato para quimotripsina, y ajustando la neutralidad para la pepsina; en los controles, el antígeno fué tratado con amortiguador en lugar de enzima. Cada uno se probó por medio de la prueba de difusión en placas de gel contra suero que previamente había mostrado contener anticuerpos de reacción cruzada por absorción de los antígenos del corazón.

En cada caso, la exposición del antígeno a -- enzima resultó en una completa pérdida de la actividad precipitante con suero de reacción cruzada, --- mientras que los antígenos control, permanecieron - reactivos.

Por lo que respecta a ciertas propiedades -- del suero de reacción cruzada, éste exhibe reacción cruzada con el corazón, como se indica por las pruebas de absorción, frecuentemente muestra una disminución o pérdida de la actividad serológica siguiendo a la inactivación por calor a 56°C o después de --

almacenamiento por más de 2 semanas a 4°C. La reactividad se demostró en el suero que había sido -- guardado en congelación a menos de 20°C en un lapso de 5 años.

De esto se puede decir que el constituyente miocárdico responsable de la reacción cruzada con el antígeno estreptocócico se localiza en el sarco lema, subsarco lema de las miofibrillas cardíacas y no pudo ser identificado ni en el músculo liso, ni en el músculo cardíaco por inhibición de inmuno- -- fluorescencia.

Estos resultados difirieron de aquellos ob-- servados en el suero antiestreptocócico de conejo, el que se encontró reactivo tanto con el músculo li so como con el esquelético, al igual que con miofi- brillas cardíacas; estas diferencias con respecto - a las propiedades de reactividad cruzada del suero de humano y conejo no han sido explicadas; estos es tudios están relacionados con la proteína, pero no con el carbohidrato.

Reportes recientes hechos por Goldstein y -- col. dicen que el carbohidrato específico del grupo A produce reacción cruzada con la estructura glico- proteica de válvulas de corazón de humano y de bovi no. 60

Por medio de reacciones de precipitación, -- por difusión de gel de agar, Lannigan y Zaki descri ben la presencia de gamma globulinas en el endocar- dio de válvulas obtenidas de pacientes con fiebre - reumática. Los hallazgos por Halpern y col. así como por el Dr. Tarante, el cual expone "Estas obser- vaciones tienen que librar a las válvulas del cora- zón del descuido inmunopatológico no merecido; --- después de todo, las válvulas son las característi- cas centrales afectadas en la historia de la fiebre reumática. 60

Los anticuerpos contra el tejido cardíaco - muestran niveles elevados durante los estados agudos de la enfermedad y en pacientes con enfermedad reumática crónica del corazón mantienen elevados -- los anticuerpos durante varios años (hasta 25 o más) después del último ataque de fiebre reumática.

Para demostrar esto, los extractos valvulares fueron preparados por el procedimiento de Robert.

Las válvulas de humanos fueron obtenidas de cadáveres de pocas horas de muertos. Las válvulas - bovinas fueron obtenidas después de matar a los animales y refrigeradas a  $-20^{\circ}\text{C}$ . Las fracciones glicoproteicas de las válvulas del corazón obtenidas por la extracción con urea.

## PROCEDIMIENTOS DE EXTRACCION. 25

Las válvulas del corazón homogeneizado en CTC-buffer ( $\text{CaCl}_2$  1 ml/l más Tris (0.05 ml/l más - ácido cítrico (0.02 ml) ajusta a pH 7.5).

Se hacen 7 extracciones de 24 horas a - - -  
4°C y centrifugar.

Dializar el sobrenadante

El pp que es colágeno soluble (fracción CSC)

Sobrenadante es extracto CTC

Sobrenadante del TCA Extracto (gelatina de colágeno (insoluble)

El sobrenadante del extracto de urea conteniendo estructuras gli coproteicas.

Residuo insoluble calentado por 3 tiempos a 90°C en 3.8% de TCA enfriar y centrifugar.

Residuo insoluble 4-6 extracciones de urea 8M de 24 hrs. a 4°C y centrifugar.

Residuos conteniendo elastina.

El dializado se precipita del extracto de -- ureas y se guarda en lugares fríos y puede ser redissuelto en urea 8 mol y redializado contra 0.9% - - de solución de NaCl para usarse. Las fracciones gli

coproteicas de otros órganos, tales como aorta, - - cartilago y córnea se pueden preparar por otros procedimientos.

Los extractos estreptocócicos fueron obtenidos como sigue:

Una suspensión tripsinizada de estreptococo beta hemolítico del Grupo A, NY 75 fué tratada con 0.5% de la solución de tripsina a pH 8 por 24 horas.

El polisacárido del estreptococo del Grupo A fué preparado y purificado por el medio de Fuller y MacCarty.

El polisacárido del estreptococo del Grupo A por diazoación.

El suero inmune antiválvula de corazón fué obtenido de conejos por inyecciones del extracto -- obtenido (CTC), 3 inyecciones de 1 ml conteniendo - 5 mg de proteína emulsificada en un volumen igual - del adyuvante de Freund y fueron inyectados cada 8 días durante 3 semanas.

Se dejaba descansar 1 semana al animal y se le inyectaba una dosis más y una semana después se sangraba.

El suero inmune antiestreptocócico fué obtenido inyectando por un período de 3 semanas, - - 0.25 ml a 1 ml (en dosis progresivas) de una suspensión de  $10^6$  bacterias con adyuvante de Freund - después de 8 días se sangra al animal y guardar el suero a  $-20^{\circ}\text{C}$ .

Los anticuerpos fueron determinados por pre cipitación cuantitativa, reacciones de hemaglutina

ción y por doble difusión.

Kaplan en 1961 (29) mostró que un factor ligado a las proteína M del estreptococo, era el responsable de una reacción cruzada entre anticuerpos que se producían contra ella ya que también reaccionaban con la membrana del sarcolema cardíaco. Más tarde en 1966, Zabriskie demostró que no era la proteína M la responsable de la reacción cruzada, sino la membrana del protoplasto del germen; el mismo autor demostró la presencia de anticuerpos en el suero de los pacientes con fiebre reumática que podían ser absorbidos con membranas citoplasmáticas del estreptococo o indistintamente con sarcolemas del miocardio. En 1975 en el IMAN con la ayuda de la Universidad Rockefeller de Nueva York se investigó la presencia de estos anticuerpos en el suero de pacientes con la etapa de fiebre reumática; los pacientes, todos ellos con carditis, tenían anticuerpos que disminuían cuando la enfermedad era controlada mediante antiinflamatorios. 29

El verdadero significado de estos anticuerpos no se conoce aún, pero se piensa que pudieran tener que ver con la patogénesis de la enfermedad. La presencia de los anticuerpos explicaría la aparición de miocarditis pero no la inflamación valvular. Para explicar esta última, Goldstein ha descubierto que el carbohidrato del estreptococo reacciona cruzadamente con las válvulas cardíacas y propone que este es el mismo mecanismo por el cual se inflamarían las válvulas al ser atacadas por los anticuerpos primeramente dirigidos contra el carbohidrato.

Sandson y col. explican que la artritis podría ser producida por la reacción cruzada entre la hialuronidasa del estreptococo y el líquido sinovial de los tejidos. 60

Schwab dice que el mucopéptido del estreptococo provoca los nódulos subcutáneos. <sup>59</sup> No se ha -- propuesto ninguna hipótesis para explicar la corea. En relación con la patogénesis de la enfermedad pudiera ser relevante la observación de Stollerman en relación a estreptococos reumatogénicos y no reumatogénicos. Este autor propone según estudios realizados en 1975, que ciertos estreptococos tienen una sustancia ligada a la proteína M que reacciona con las alfa proteínas del suero, produciendo una reacción de opacidad y los denominó REO positivos, mientras que los que no la producían se denominan REO - negativos. <sup>51</sup>

Los primeros serían no reumatogénicos como - los estreptococos del impétigo contagioso que nunca se han relacionado con la producción de fiebre reumática, mientras que los segundos serían los reumatogénicos y directamente los responsables de los casos de fiebre reumática.

A partir de 1973 se han establecido ciertos requerimientos para que se desarrolle la fiebre reumática y estos son:

- 1) Que exista una infección por estreptococo beta hemolítico del Grupo A.
- 2) Que esta infección sea en el tracto respiratorio superior.
- 3) Que exista una buena respuesta en la producción de anticuerpos.
- 4) Que los gérmenes causales persistan en el organismo.

Se ha experimentado la patología de los -- cuerpos de Aschoff y ha sido satisfactoria, pero -- después de muchos años de esfuerzo no se han podido desarrollar modelos de fiebre reumática.

#### MODELOS DE MURPHY-SWIFT.

Los estudios más intensivos de las lesiones estreptocócicas del corazón, fueron iniciados en 1940 por Murphy y Swift. Estos trabajos demostraron en conejos, el desarrollo de lesiones cardíacas de inflamación aguda y crónica siguiendo a la infección de los estreptococos beta hemolíticos -- del grupo A, se ha observado que -- y conejos más -- vulnerables que otros y las infecciones repetidas -- con diferentes tipos serológicos inoculados por vía intradérmica son más capaces de causar lesiones. -- Aunque las lesiones incluyen inflamación focal y -- formación de agregados de células y algunas veces -- necrosis de miofibrillas, así como de músculo liso de endocardio y de paredes vasculares, Murphy -- (1960) considera -- todo esto -- como la base para -- las células multinucleadas de los cuerpos de Aschoff. Pero no se puede estar seguro del todo, que las lesiones en los conejos, son en algún sentido específicas de los estreptococos, hasta estudiar la similitud y comparar la duración y la intensidad. 60

#### ARTERITIS EXPERIMENTAL.

La arteritis experimental la cual se ha estudiado por su relación con la fiebre reumática, la cual puede ser producida en el corazón de conejo y otros animales por una variedad de métodos, pero -- los resultados obtenidos todavía no tienen un particular enfoque para la fiebre reumática.

En suero de enfermos se han encontrado complejos Ag-Ac produciendo arteritis y los cuales han sido estudiados por Dixon, Cochrane y col. 60

La necrosis fibrinoide de las arterias coronarias es una parte de la reacción generalizada de Schwartzman en conejos.

Aunque pocos investigadores tienen reportada la producción de lesiones inflamatorias miocárdicas y necrosis miofibrilar seguida de la inmunización con antígeno del corazón o productos estreptocócicos en compañía del adyuvante de Freund para los experimentos, falta reproducibilidad en dichos experimentos y las maniobras inmunológicas han sido negativas, lejos de producir lesiones cardíacas.

#### F.- PRUEBAS DE LABORATORIO

Como se mencionó antes, entre los productos extracelulares del estreptococo se encuentran la estreptolisina O y la S, enzimas como la hialuronidasa, estreptoquinasa, desoxirribonucleasa, difosfopiridinnucleotidasa, etc. Todas las anteriores excepto la estreptolisina S, son antigénicas y capaces de inducir la formación de anticuerpos que se pueden descubrir en el suero de los pacientes y por lo tanto son de gran utilidad clínica y diagnóstica para determinar una infección estreptocócica reciente, así como para descubrir un estado inflamatorio y que ayudaría al diagnóstico de la fiebre reumática. Las pruebas utilizadas para detectar al estreptococo beta hemolítico del Grupo A, así como sus productos extracelulares, se mencionan enseguida.

## 1) EXUDADO FARINGEO, 50, 60

Esta prueba se utiliza para el diagnóstico de faringitis estreptocócica, que en la actualidad tiene gran importancia debido a que se ha comprobado que eliminar los estreptococos de la garganta puede llegar a impedir la fiebre reumática.

Por desgracia las manifestaciones clínicas de faringitis estreptocócica (nombre con el cual se conoce a la faringitis causada por estreptococo beta hemolítico del Grupo A de Lancefield) son inespecíficas; en consecuencia, para el diagnóstico exacto, es indispensable demostrar el microorganismo valiéndose del cultivo del material de la garganta. El diagnóstico preciso conviene para limitar el tratamiento (y los posibles efectos secundarios), a los pacientes que pueden beneficiarse con el mismo.

La faringitis y la amigdalitis estreptocócica deben distinguirse de la difteria, de la faringitis exudativa no estreptocócica (generalmente por adenovirus, virus coxsackie o virus influenza) y de la mononucleosis infecciosa.

Es posible, sin embargo, excluir el diagnóstico de enfermedad estreptocócica en más de la mitad de los pacientes estudiados que sufren faringitis esporádica, empleando cultivos del exudado de la faringe.

Es evidente, por lo tanto, que sin confirmación bacteriológica, el diagnóstico clínico de la faringitis estreptocócica resulta muy difícil. La duda en el diagnóstico es aún mayor en los casos benignos de faringitis estreptocócica, la cual, a pesar del carácter clínicamente benigno, también pue-

de causar fiebre reumática, aunque en menor frecuencia. Además, los signos clínicos de faringitis estreptocócica pueden modificarse en el curso de la enfermedad, de modo que por ejemplo, un niño puede no tener exudado en un día y presentarlo al día siguiente.

Por último, el porcentaje de casos de faringitis producidos por estreptococos varía en distintas fechas y en diferentes sitios.

Por estos motivos, es costumbre adecuada efectuar cultivo de material faríngeo en todos los pacientes de faringitis aguda, obsérvense o no otros síntomas y signos. También conviene efectuar el cultivo de material faríngeo en contactos familiares asintomáticos (o en otros contactos cercanos) de pacientes sintomáticos. Sin embargo no se justifica el cultivo masivo en niños, sean cuales los síntomas o los signos, a menos que se sospeche epidemia y se planea profilaxia en masa. No es necesario identificar todas las especies bacterianas obtenidas de cultivo de material faríngeo, pues parecen ser capaces de causar faringitis estreptococos beta hemolíticos, Corynebacterium diphtheriae y Staphylococcus aureus por lo que se deben efectuar pruebas específicas para comprobación del microorganismo causante.

#### TECNICA.

Antes de administrar algún tratamiento antimicrobiano hay que preparar un frotis de la región faríngea, debido a que el principal objetivo es el detectar la presencia del estreptococo del grupo A y cuantificar a los microorganismos, también hay que tomar en cuenta a los microorganismos que for-

man parte de la flora normal, por lo que la muestra se toma de la región que debe estar perfectamente alumbrada y claramente visible.

a) Toma de la muestra faríngea.- El cultivo de material de la garganta deberá tomarse con un aplicador con punta de algodón o de dacrón (hisopos) que se frota enérgicamente contra las 2 regiones amigdalinas y la pared posterior de la faringe. La lengua deberá bajarse con un abatelenguas, evitando tocarla así como a los carrillos, con la punta del aplicador, para que no se contamine con microorganismos no faríngeos que pueden diluir la flora o disimularla en el cultivo.

b).- Transporte del hisopo.- El material en el hisopo puede sembrarse en placas de gelosa sangre inmediatamente después de obtenerlo, ahora que si las muestras tomadas se tienen que enviar a un laboratorio directamente o por correo, pueden colgarse en un tubo con 2 ml de caldo tripticosa soya (BBL) o en 2 ml de caldo Todd Hewitt (Difco), o bien se coloca el hisopo dentro de una envoltura de papel aluminio que posea un agente desecante (indicador de gel de silicio) incluso en un sencillo envoltorio para píldoras, este último método puede ser menos fidedigno en tiempo húmedo y caliente. Los estreptococos sobreviven adecuadamente días, incluso semanas, en los hisopos desecados; en realidad, ocurre algo de enriquecimiento porque otros microorganismos no sobreviven.

Se ha observado que si a los medios de gelosa sangre se les agrega neopeptona, la cual se recomienda para el desarrollo de estreptococo del grupo A tipo M, ya que dicha sustancia contiene un inhibidor para una enzima proteolítica producida por algunos estreptococos del grupo A, entonces la pre---

sencia de este inhibidor en el medio permite que -- la proteina M pueda ser sintetizada y permite preparar extractos para la tipificación de dicha proteina.

c).- Siembra de la placa.- Se discute si los hisopos que han estado en camino más de unas horas dentro de una envoltura de papel aluminio deben cultivarse en caldo antes de sembrarlos en placas o -- si se siembran directamente. Algunos autores consideran que la preincubación es innecesaria y posiblemente motive confusión porque puede revelar estreptococos que se presentan en la muestra original en pequeño número y que guardan relación con estado de portador y no con infección activa. En algunos laboratorios los hisopos con material de la garganta se cultivan incluso 2 horas en caldo a 37°C si las -- muestras han estado en camino de 2 a 4 horas, y según el tiempo disponible que reste en el día de trabajo; si han tardado 4-8 horas, se cultivan en caldo 2 horas por lo menos; si han estado en camino -- más de 8 horas, se incuban en caldo 4-5 horas.

Se obtienen resultados óptimos en la diferenciación de estreptococos beta hemolíticos valiéndose de placas de gelosa con 5% de sangre de ovejas. Al medio de gelosa sangre para el aislamiento primario no debe adicionar glucosa adicional, la -- cual puede inhibir la producción de estreptolisina S. Sin embargo, Brown demostró que pequeñas cantidades de glucosa (0.05%) en el medio tenía un marcado efecto sobre la extensión de la hemólisis. La capa de gelosa sangre debe tener aproximadamente 6 mm. -- de grueso, pues es difícil diferenciar las clases de hemólisis en placas demasiado delgadas ó gruesas.

Las placas deberán conservarse en refrigeración y la superficie de la placa deberá conservarse húmeda.

La sangre de oveja inhibe el crecimiento de Haemophilus haemolyticus cuyas colonias pueden confundirse con las de estreptococo beta hemolítico. - En ciertos laboratorios se usa sangre de banco de caducidad vencida o sea sangre humana, debido a que se dispone fácilmente de ella, pero dicha economía es inconveniente y debe descartarse pues se ha visto que el uso tanto de sangre humana como de caballo muestran un número significativo de colonias, -- las cuales son beta hemolíticas en tales placas y -- son alfa hemolíticas en placas de sangre de oveja, -- además son contraproducentes porque en ellas existen anticuerpos, especialmente antiestreptolisina - O.

Los medios que sirven para el aislamiento -- del estreptococo del grupo A son:

Infusión de cerebro y corazón.

Caldo de infusión.

Medio de fosfato-triptosa.

Medio de tripticasa-soya.

Base para agar-sangre. (Su composición puede obtenerse consultando el manual de BBL o el manual de Difco).

En la siembra, la finalidad es obtener colonias bien aisladas y crecimiento debajo de la superficie al igual que en la superficie.

Para este fin, el hisopo se frota y se le da un movimiento de torsión sobre el borde de la placa, abarcando solo una sexta parte de la superficie; el crecimiento en esta zona será confluyente, y, en consecuencia, no será adecuado para la identificación y el aislamiento apropiados. Con un asa estéril de platino, se siembra el inóculo primario hasta - - - aproximadamente la mitad de la placa en 10 ó 20 movimientos en un sentido y en otro. Sin volver a entrar en el sitio de inoculación primaria, el asa se pasa por esta área de inoculación secundaria hasta el resto de la placa; por último se hacen varias - - - punciones en el agar para observar hemólisis debajo de la superficie, pues así fue hecha la clasificación original de los estreptococos alfa, beta y - - - gamma hemolíticos. Sin embargo, el tomar una colonia debajo de la superficie para cultivo y estudio ulterior es engorroso por lo que las colonias se estudian de acuerdo a sus características en la superficie del medio.

d).- Incubación de la Placa.- La incubación de las placas de 18 a 24 y hasta 48 hs. suele efectuarse en una incubadora estándar a 37°C en aire atmosférico. La disminución de la presión parcial de - - - oxígeno facilita identificar las cepas poco frecuentes que no producen estreptolisinas S y en consecuencia que son no hemolíticas en presencia de oxígeno. La otra hemolisina, estreptolisina O, es lábil en presencia de oxígeno.

Además algunas cepas del Grupo B producen colonias pigmentadas cuando la presión parcial de - - - oxígeno está disminuida; de esta manera pueden - - - identificarse a simple vista como no pertenecientes al grupo A, lo cual ahorra trabajo adicional. Algunas cepas de estreptococos se desarrollan mejor en atmósfera que posea 5-10% de CO<sub>2</sub>, que a veces faci-

lita la hemólisis. Por todos estos motivos está ganando popularidad el sistema de incubar las placas en 90% de Nitrógeno y 10% de CO<sub>2</sub>.

Se ha informado que la incubación a temperatura ambiente durante 24 horas adicionales, aumenta de manera importante el porcentaje de estreptococos del grupo A obtenidos.

#### Observaciones:

Lectura de la placa o caja. El carácter más importante de la colonia beta hemolítica es el halo de hemólisis que la rodea.

El aspecto de la colonia es importante y como se mencionó antes son lisas, redondas, convexas por lo regular incoloras o un poco blanquesinas y algo translúcidas. Suelen tener un diámetro de 1 a 2 mm aunque pueden ser muy pequeñas como puntas de alfiler (estreptococo diminuto).

#### Clases de hemólisis.

Las colonias de estreptococos pueden producir tres tipos principales de hemólisis y uno o dos subtipos adicionales; como se mencionó antes, la clasificación se funda principalmente en el aspecto microbiológico de la zona inmediata adyacente a las colonias que se desarrollan profundamente en placa de gelosa-sangre. Aunque este método se aconseja, para exactitud óptima puede obtenerse una aproximación adecuada al examinar las colonias de la superficie a simple vista o con una lupa. De cuando en cuando, las zonas de hemólisis son muy angostas y la inspección puede hacerse de manera más adecuada

después de hacer a un lado el crecimiento estreptocócico. El examen de las colonias debajo de la superficie valiéndose del microscopio de disección -- con amplificación 2X o con el objetivo de 16 mm de un microscopio estandar, es un procedimiento adecuado para precisar la clase de reacción hemolítica -- que ha ocurrido y para valorar la reacción debe de enfocarse cuidadosamente el borde de la colonia debajo de la superficie. La mayoría de los estreptococos del grupo A presentan una hemólisis del tipo beta tanto en la superficie como en el fondo del medio, debido a la liberación de estreptolisinas O y S. Sin embargo, algunas solamente producen estreptolisina O y la hemólisis beta sólo podrá demostrarse si la cepa se desarrolla bajando la tensión del oxígeno.

#### Hemólisis alfa y alfa<sup>1</sup>.

Se observa que la colonia se rodea de una zona que puede ser muy angosta, pero que adquiere color verde o verde parduzco.

Fuera de la zona de cambio de color, en ocasiones se advierte una zona de hemólisis más pálida; esta porción puede ser tan angosta que sea casi invisible o alcanzar anchura importante (colonias - alfa prima o alfa con zona amplia); la incubación o la refrigeración continuadas por lo regular ensanchan esta zona, lo cual puede ocasionar errores. Estas colonias con facilidad se confunden con colonias de tipo beta a simple vista cuando la zona de hemólisis es ancha y la zona interna de color verde es angosta. En este último caso, para identificación -- exacta quizá se necesite examen microscópico de las colonias del desarrollo profundo en el medio. Las cepas caracterizadas por colonias hemolíticas alfa

de grupo C, D y así sucesivamente.

#### Hemólisis beta.

Las colonias de estreptococo beta hemolítico en placas de gelosa-sangre están rodeadas de una zona transparente en la cual se advierten eritrocitos intactos escasos o nulos. Una subdivisión de este tipo es el hemolítico beta con zona doble. Esta clase de colonias después de producir una zona de hemólisis semejante a las de otras cepas de tipo beta, al dejarla cierto tiempo a la temperatura ambiental o a la refrigeración, forma un segundo anillo de hemólisis, separado del primero por una zona de eritrocitos íntegros.

Todas las cepas hemolíticas beta de zona doble que se han mencionado pertenecen al grupo B, pero no todas las cepas del grupo B producen zona doble.

Algunas cepas del grupo C producen una zona de hemólisis particularmente extensa y brillante; lo mismo se aplica a algunas cepas del grupo D, cuyas zonas de hemólisis tienden a fusionarse de manera característica. En la mayor parte de los grupos hay cepas hemolíticas alfa y no hemolíticas, - sobre todo en los grupos C, D, G, H y K pero también de vez en cuando en el grupo A.

También se han llegado a observar cepas que producen hasta triple zona de hemólisis, especialmente después de refrigerar las cajas.

## Hemólisis tipo gamma.

Este tipo se observa en las cepas cuyas colonias no producen cambio demostrable en la sangre que las rodea y que más propiamente se llamarían tipos indiferentes o no hemolíticos.

Pocas cepas de estreptococos pertenecientes al grupo A son hemolíticas, solamente bajo condiciones anaeróbicas, sin embargo algunas son francamente no hemolíticas cuando crecen bajo condiciones reducidas de tensión de oxígeno.

James y McFarland describen recientemente una epidemia de faringitis ocasionada por estreptococos no hemolíticos del grupo A ocurrida en la base de la Fuerza Aérea de Lowey, seis casos de fiebre reumática fueron producto de esta epidemia. Estos microorganismos presentaron colonias mucoides con ausencia de hemólisis del tipo beta. Esto motivó que se reconociera la posible importancia de un estreptococo atípico del grupo A partícipe de infecciones humanas.

Puede llegar a existir confusión entre los estreptococos beta hemolíticos y otros microorganismos en el cultivo de gelosa sangre de carnero tales como estafilococos hemolíticos, estreptococos viridans y cocos gram negativos. Los cocos Gram negativos pueden diferenciarse por coloración de Gram y a menudo por la morfología de la colonia.

Los estafilococos pueden diferenciarse por una sencilla prueba de catalasa, que se efectúa al añadir 0.5 ml de solución de  $H_2O_2$  al 0.3% al crecimiento bacteriano en la placa de agar. Los estafilococos producen la formación de burbujas y los estreptococos no dan esta reacción.

La lectura de la prueba se facilita al añadir unas gotas de solución saturada de laurilsulfato -- de sodio a la mezcla de reacción que hace que las burbujas persistan en forma de espuma.

Los estreptococos verdes en ocasiones son -- difíciles de diferenciar de los estreptococos beta hemolíticos, especialmente en placas que se han cul tivado más de 24 horas.

En placas de gelosa sangre de caballo, humana o de conejo, las colonias de H. haemolyticus pueden guardar semejanza con la de estreptococos beta hemolíticos, aunque las colonias de Haemophilus suelen ser más translúcidas. Para la diferenciación -- definitiva se necesitan Tinciones de Gram, en las que se observará que este microorganismo es Gram -- negativo; además hay que tomar en cuenta que dicho microorganismo no se desarrolla en gelosa sangre de carnero y de oveja.

Después de haber identificado el tipo de -- hemólisis que presentó el microorganismo hay que -- determinar a que grupo serológico pertenece, ya -- que el que nos interesa es el estreptococo beta -- hemolítico del Grupo A, indicándose así un diagnós tico completo y un tratamiento adecuado, pues los estreptococos de otros grupos que pueden obtenerse en 10 a 20% de pacientes de faringitis no parecen -- causar ni fiebre reumática ni glomerulonefritis, -- incluso cuando la infección es comparativamente -- grave y se acompaña de reacción de anticuerpos; -- (una excepción de esta afirmación es el informe de una epidemia de faringitis por estreptococo del -- Grupo C seguida de glomerulonefritis en 33% aproximadamente de los sujetos infectados.)<sup>50</sup>

Para estimar el grupo se usa el método utilizado inicialmente por Lancefield que consiste en -- extraer el carbohidrato específico, otro método puede ser también el de Rantz y Randall, así como el método de la enzima (Maxted), los cuales se describen brevemente en seguida:

Método de Lancefield.- Se cultivan los organismos durante 18 a 24 horas en el caldo de Todd---Hewitt. Se centrifuga el cultivo y se deshecha el sobrenadante, después de lo cual el sedimento se -- suspende en 5 ó 7 gotas de HCl 0.2  $\frac{\text{mol}}{\text{l}}$ . La suspensión se coloca en un baño de agua en ebullición, -- durante 10 minutos, se deja enfriar durante otros -- 10 minutos y se vuelve a centrifugar. Se deshecha -- el sedimento y se añade 1 gota de rojo de fenol al 0.01% al líquido claro del sobrenadante. Se añade -- una solución amortiguadora ( 1 g de fosfato ácido -- sódico en 100 ml. de NaOH 0.2 N) gota a gota hasta -- que se produzca un color rosa. Después de esta últi -- ma centrifugación, el líquido sobrenadante claro -- se empleará como antígeno para la prueba de precipi -- tación. 18

Método del autoclave de Rantz y Randall.- Los estreptococos cuyos grupos se desean determinar se cultivan durante una noche entera en 50 ml de -- caldo de tripticasa y soya o de triptosa fosfato.

Se centrifuga los cultivos y se suspende el -- sedimento en una pequeña cantidad de solución salina estéril. A continuación se coloca el tupo de au -- toclave a 7.5 atmósferas de presión, durante 15 mi -- nutos a 120°C y se vuelve a centrifugar. El líquido -- sobrenadante claro se emplea como antígeno.

Método de la enzima de Maxted.- Se toma una --

asada del cultivo de los estreptococos en los que se va a determinar el grupo, se coloca en 0.25 ml de enzima. La enzima está formada por una poderosa sustancia proteolítica aislada de Streptomyces albus, los tubos se colocan en baño de agua a 50° C durante 90 minutos; se obtiene una solución clara que contiene el antígeno soluble que se empleará en la prueba.

Por estos métodos se suele lograr la liberación del carbohidrato soluble en forma que retenga su reactividad antigénica.

Prueba de la precipitina en capilares.- Esta prueba se usa para la demostración del carbohidrato específico del grupo para la mayoría de los grupos estreptocócicos, así como la proteína M del grupo A. El carbohidrato puede demostrarse por pruebas de precipitación llevadas a cabo con extractos preparados por el método de Fuller. Dicha prueba está hecha para la identificación final o como un paso necesario en la identificación del grupo A, y se realiza de la siguiente manera.

Se siembra en 10 ml de caldo nutritivo, conviene especialmente el caldo de infusión de Todd-Hewitt, se centrifuga el cultivo de 18 horas a 2500 rpm, durante 15 minutos, y se desecha el líquido.

El sedimento se mezcla con 0.2 ml de formamida, se agita y se calienta el tubo en baño de aceite a 160°C, durante 15 minutos para desnaturalizar las proteínas. Se enfría y se agrega 0.5 ml de alcohol ácido (95 partes de alcohol etílico absoluto y cinco partes de ácido clorhídrico 2 mol o sea

HCl concentrado, diluido 1:5) así se precipitan --- las proteínas.

Se agita y se centrifuga a 2500 rpm durante 10 minutos. Se pasa el líquido sobrenadante a un -- pequeño tubo de ensayo y se tira el sedimento. Se -- agrega 1 ml de acetona. Se agita y se centrifuga a 2500 rpm durante 10 minutos, se tira el sobrenadante. El precipitado es muy escaso pero contiene el -- grupo antigénico. Se agregan 2 ml de solución salina isotónica y una gota de rojo de fenol o de azul de bromotímol al sedimento y se ajusta el pH a 7.0 con solución de carbonato sódico al 1%. Este es el antígeno.

Se preparan tubos capilares de unos 2 mm de diámetro externo y se cortan en trozos de 8.0 cm de longitud, con uno de estos tubos se toma el suero -- inmune el cual se deja que ascienda como 1 cm de -- largo, se seca el capilar, después se sumerge la -- punta del capilar en antígeno estreptocócico por -- tipificar y se deja que ascienda una cantidad -- igual a la anterior, hay que evitar las burbujas de aire, después se invierte el capilar y se coloca en una barra de plastilina.

La reacción de precipitación ocurre en 5 a -- 10 minutos. Las reacciones débiles se desarrollan -- más despacio. Esto es importante para leer las reac -- ciones a ciertos intervalos dentro de un tiempo de 1 a 30 minutos puede suceder que se debilite la --- reacción o que aparezca una reacción falsa positiva. Se observará un anillo de precipitación en la super -- ficie de separación de suero y antígeno. Los extrac -- tos ácidos pueden usarse para tipificar y para la -- determinación del grupo. <sup>36</sup>

Inmunofluorescencia.- Esta prueba ha dado resultados óptimos y ha servido para la identificación de los estreptococos del Grupo A, (aunque muchos autores afirman que da muchas reacciones cruzadas con microorganismos saprófitos) esta prueba es rápida y exacta, los resultados óptimos se obtuvieron con suspensiones del desarrollo en la superficie del medio o con bacterias que hayan estado en caldo de 2 a 4 horas que hayan sido inoculadas directamente del cultivo de garganta o sea de cultivos jóvenes, el reactivo de prueba para la tinción de estreptococos del grupo A (anticuerpo fluorescente) consiste en una globulina anti-estreptococo Grupo A marcada con isotiocianato de fluoresceína, y globulina antiestreptococo Grupo C no marcado o suero, y globulina "normal" no marcada o suero. El control negativo consiste en una mezcla de globulina normal marcada y suero "normal" no marcado.

#### Técnica.

1.- Si los frotis van a hacerse de colonias beta hemolíticas aisladas o de crecimiento de placas de gelosa sangre, se procede de la siguiente manera:

a) Con el asa se escogen colonias aisladas que se toman y se emulsionan en una gota de solución salina amortiguada sobre un porta-objetos, se secan al aire los frotis hechos por duplicado, se fijan y se realiza la tinción de la forma que se indicará adelante.

b) También se pueden tomar las colonias hemolíticas, o el crecimiento y se transfieren a 1 ml. de caldo Todd-Hewitt y se incuban de 2 a 5 horas a

35°C, la tinción se realiza entonces sobre frotis - hechos de sedimentos del cultivo en caldo.

2.- Si los frotis van a hacerse con cultivos de caldo reciente, puede seguirse este procedimiento.

a) Colocar la torunda con la muestra tomada de la garganta, en 1 ml de caldo e incubarlo de 2 a 5 horas a 35°C, con la torunda sumergida en el caldo.

Si la torunda llega a última hora de la tarde, se pone en el caldo se refrigera durante la noche y se incuba a la mañana siguiente.

b) Se escurre la torunda haciendo presión -- contra el interior del tubo y se transfiere a un -- tubo esterilizado.

c) El caldo y la torunda pueden emplearse para inocular otros medios como placas de agar sangre.

d) Centrifugar los cultivos de caldo para -- concentrar las células, a 2000 rpm por 5 min.

e) Se vuelven a resuspender las células en -- aproximadamente 1 ml de solución salina amortiguada estéril usada como amortiguador a pH 7.5 y re-centrifugar descartando la mayor cantidad posible del sobrenadante, sin pérdida de sedimento.

f) Mezclar las células con la solución salina residual y estas células se colocan por medio de una pipeta capilar en un portaobjetos. Debe tratarse de transferir la mayor parte del sedimento a los portaobjetos, realizando una concentración de los --

microorganismos.

Se tapa el tubo que contiene el sedimento -- restante, con un tapón recubierto de cera poniéndolo en refrigeración por si se requieren frotis adicionales.

g) Dejar secar los frotis al aire, fijar durante un minuto en etanol al 95% o por aire seco, -- como por ejemplo pasándolo sobre la llama de un mechero Bunsen.

3.- Dejar reposar los frotis durante 30 minutos a la temperatura ambiente en un aparato en donde haya una atmósfera húmeda después de agregar el reactivo, de prueba y los controles a cada frotis. Una tinción más brillante de estreptococos del -- Grupo A se logra incubando los portaobjetos de 35 a 37°C en una cámara húmeda y/o aumentando el tiempo de tinción a 40 minutos.

4.- Quitar el exceso de reactivo sobre una toalla, enjuagar momentáneamente con solución salina amortiguada y dejarlo en esta solución durante diez minutos. Finalmente se enjuaga unos momentos con agua destilada para impedir la formación de --- cristales de sales sobre los frotis, durante el secado.

5.- Secar suavemente los frotis con papel poroso y agregar una gota de glicerol amortiguado y poner un cubreobjetos.

6.- Examinar los frotis con un microscopio fluorescente recomendándose el objetivo de inmersión en aceite con condensador de campo oscuro.

Los estreptococos del Grupo A flourecen en color verde amarillo brillante con bordes bien definidos.

Ocasionalmente los Grupos C o G así como el estafilococo dorado pueden presentar hasta una --- fluorescencia verde amarilla opaca con bordes mal definidos o sea una fluorescencia moderada, en tales casos se verifica el Grupo con pruebas de precipitina.<sup>6</sup>

Hasta ahora para determinar el grupo se utilizaba el método de extrser el carbohidrato específico de grupo con ácido caliente utilizado inicialmente por Lancefield, que sigue siendo el procedimiento estandar para estimar el grupo, pero el método de anticuerpo fluorescente lo está sustituyendo en muchos laboratorios por la mayor rapidez y a la larga, mayor economía.

El método de anticuerpo marcado exige, claro está, un gasto inicial elevado por el microscopio de fluorescencia. El método de Lancefield exige tiempo algo mayor porque tiene que trabajarse con un cultivo en caldo de una colonia aislada, lo cual no es obligado en el caso de la inmunofluorescencia. Con cualquiera de estos procedimientos el tiempo para la identificación definitiva del grupo, se abrevia en 12 a 18 horas, lapso necesario para desarrollar un cultivo puro de una colonia aislada de estreptococo beta hemolítico, que se centrifuga y extrae con ácido caliente, neutralizando el extracto para efectuar la prueba de precipitina en tubos capilares.

Se ha intentado repetidamente aplicar las técnicas de inmunofluorescencia directamente a la -

muestra obtenida de la garganta sin incubación previa. Los resultados han sido desalentadores, en términos generales, quizá porque los estreptococos según se obtienen de la garganta, están revestidos de globulinas humanas que impiden cualquier reacción con suero marcado con fluoresceína.

Se ha informado haber tenido éxito en los ensayos para separar los estreptococos de estas globulinas, por tratamiento con alcalinos.

La estimación del tipo de estreptococos, sobre todo la del tipo M puede hacerse con el mismo extracto obtenido con ácido y calentando, utilizado para la estimación del grupo, valiéndose de la prueba de precipitación en tubo capilar, al utilizar suero inmune adecuadamente absorbido.

El tipo T puede precisarse por aglutinación en portaobjetos.

Los dos métodos son útiles para la investigación epidemiológica; desde el punto de vista clínico estimar el tipo M puede ser útil para precisar si los estreptococos de pacientes de nefritis son de tipo nefritógeno.

Otra forma para identificar a los estreptococos del Grupo A es la Prueba de la Sensibilidad a la Bacitracina.- Esta substancia es un polipéptido obtenido de una cepa de Bacillus subtilis y de Bacillus licheniformes, este último fue el primer microorganismo que se observó que producía dicha substancia en 1949, que suprimía la síntesis de la pared celular en la etapa de polimerización de polisacáridos para la formación de mucopéptidos. La bacitracina es principalmente un bactericida para las

bacterias grampositivas, incluyendo los organismos penicilino-resistentes. 13

Esta prueba fue descrita por Maxted y puede hacerse la identificación provisional o presuntiva de estreptococos del Grupo A por la inhibición selectiva de estas cepas por la bacitracina. La mayor parte de las cepas que no pertenecen al Grupo A se desarrollan en presencia de una concentración de bacitracina que inhibe el crecimiento de cepas de Grupo A. Los discos con bacitracina pueden aplicarse directamente en la placa primaria en la cual se inoculó el material faríngeo; si crecen en la placa muchas colonias de estreptococos beta hemolíticos, podrá precisarse la sensibilidad por inspección de la zona inmediata adyacente al disco de bacitracina.

Este método no tiene éxito si el número de colonias de estreptococos beta hemolíticos en la placa es pequeño. Como alternativa, puede investigarse la resistencia a la bacitracina en una placa secundaria inoculada con una colonia de estreptococos beta hemolíticos, estos discos que poseen 0.02 unidades de bacitracina, en cambio los discos para sensibilidad utilizados para otros fines poseen 2 a 10 unidades.

Los discos deberán valorarse con cepas de sensibilidad y resistencia comprobada antes de utilizarlos para fines diagnósticos.

Los resultados obtenidos son basándose en la observación hecha sobre la sensibilidad al antibiótico, más bien que en las pruebas serológicas.

Los resultados de la prueba de sensibilidad a la bacitracina pueden ser inexactos, o motivar -

errores y aproximadamente 4% de resultados negativos falsos (microorganismos del Grupo A identificados como pertenecientes a otro grupo) y positivos falsos de 20% (microorganismos que no son del Grupo A identificados como del Grupo A).

## 2) ANTIBIOGRAMA

Este método consiste en medir la sensibilidad y la resistencia que los gérmenes tienen a determinados antibióticos.

Inicialmente estas pruebas se hacían colocando un vaso poroso o un cilindro sobre la placa de cultivo. El antibiótico difundía al medio e impedía el desarrollo de los gérmenes, cuando éstos resultaban sensibles.

En la actualidad se utiliza un método semejante pero que es a base de discos de papel absorbente ó algún otro material inerte impregnado de antibiótico, que se pueden obtener en el comercio y los cuales tienen distintas concentraciones.

Este método de los discos de papel, desarrollado por Bondi (36) y otros, no provee de resultados exactos, pero es un método rápido y simple para apreciar aproximadamente la sensibilidad. Los discos esterilizados se preparan con papel filtro - - Whatman Nº 2 de 6.5 mm de diámetro; y se esterilizan a calor seco dentro de una caja Petri.

Los reportes hechos por Eickhoff y Finland en 1965 demostraron que los microorganismos pertenecientes al Grupo A mostraban gran sensibilidad a la penicilina en un 90% a la concentración de 0.01

u/ml así como también un 90% a la eritromicina con una concentración de 0.015 microgramos/ml, los cuales podían administrarse oralmente y aunque los estreptococos beta hemolíticos muestran una uniforme sensibilidad a la mayoría de los antibióticos -- tales como clindamicina, dicloxacilina, meticilina, kanamicina, neomicina, estreptomina, mostraron -- también ser resistentes a el aminoglicosida y gentamicina, y solo en ciertos casos a las tetraciclinas. 60

Pero como se ha visto que hay mejores resultados con la administración de penicilina para el -- mejoramiento de las infecciones estreptocócicas -- pertenecientes al Grupo A, dicho medicamento es el -- que se usa rutinariamente con excepción de las personas alérgicas a dicho antibiótico, como ya se vió en el inciso referente a la fiebre reumática y su -- tratamiento.

### 3) DETERMINACION DE ANTIESTREPTOLISINAS.

Como se mencionó antes, el cultivo de material faríngeo es útil si se descubren estreptococos beta hemolíticos del Grupo A, y se ha observado que en pacientes con síntomas de fiebre reumática, el cultivo de material faríngeo suele ser negativo, sobre todo si se han administrado antibióticos. La estimación de anticuerpos estreptocócicos es más útil, porque alcanzan el máximo poco después de aparecer la fiebre reumática y porque son -- indicación más definida de infección reciente. En -- cambio el cultivo faríngeo puede seguir siendo -- débilmente positivo durante meses o tornarse positivo sin reacción demostrable de anticuerpos, lo -- cual denota estado de portador y no infección reciente verdadera.

El título de antiestreptolisinas O (ASTO) -- excedió de 200 U en 92% de los pacientes con fiebre reumática aguda observados en etapa temprana del ataque; dos de los pacientes con título bajo -- tenían menos de 5 años de edad.

En otro grupo el título de ASTO, excedió de 200 U en 78% de los niños estudiados en el término de 2 meses. Como se mencionó antes, las infecciones estreptocócicas son relativamente frecuentes sobre todo en niños escolares y en especial entre los de clase pobre.

La probabilidad de descubrir un título aumentado de ASTO en un sujeto normal, varía según la -- epidemiología local de las infecciones estreptocócicas y la edad del paciente. Para estar en el lado protegido, algunos clínicos consideran importantes únicamente los títulos de 400 ó más unidades.

En E.E.U.U. la Asociación de Cardiología, -- aconseja tomar en cuenta tanto la edad del paciente como el título de 250 unidades ó más si está elevado en adultos y el de 333 ó más si está aumentado -- en niños mayores de 5 años de edad.

En casos poco frecuentes, títulos altos engañosos pueden depender de inhibidores y no de anticuerpos de estreptolisina O como en los casos de hepatitis, obstrucción biliar y nefrosis o de contaminación intensa del suero. Esta prueba es útil para el diagnóstico y el pronóstico de la fiebre reumática, la glomerulonefritis aguda y otras infecciones por estreptococo beta hemolítico del Grupo A, ya -- que los anticuerpos aparecen en el suero y se pueden neutralizar invitro añadiendo estreptolisina purificada y usando como indicador la suspensión de eritrocitos (estreptolisina más anticuerpos ----- neutralización), y los eritrocitos permanecen intactos

tos.

El procedimiento que se describen en seguida es el de Rantz y Randall.

#### PREPARACION DE LA LISINA

1.- Hay que obtener una cepa de estreptococo del Grupo A que produzca grandes cantidades de estreptolisina. Se preparan matraces con 500 ml de infusión de cerebro corazón, con 0,2% de glucosa y 2% de proteosa peptona. Después de calentar en autoclave a 120°C durante 15 minutos, se agregan como amortiguador de la reacción, 10 ml de solución estéril al 10% de bicarbonato sódico a cada uno de los matraces.

2.- Se hace una siembra abundante, tomada de un cultivo reciente en pleno desarrollo activo, y se incuba a 37°C durante 18 horas.

Se centrifuga a 3000 rpm durante 20 minutos, se separa el líquido sobrenadante.

3.- Para concentrar la lisina se añaden 429 g de sulfato amónico por cada 1000 ml del líquido centrifugado, transparente, a la temperatura de 20°C. Se separa el precipitado por centrifugación y se disuelve en solución de fosfatos estabilizada a pH 7.0 ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12 \text{H}_2\text{O}$ , 14.2 g;  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 3.6 g en 1000 ml de agua destilada). El volumen definitivo será un 4% del volumen de cultivo original.

4.- Se transfiere la solución viscosa y parda a sacos de celofán, que se dializan 18 horas, contra agua corriente de la llave. El volumen se aumenta.

5.- Se agregan 9 g de NaCl por litro de material dializado y se esteriliza por filtración con Seitz.

#### Determinación de la Unidad de Reacción.

1.- La lisina debe estar en forma reducida - para que sea activa. Se preparan soluciones amortiguadoras isotónicas a pH 6,5, de la manera siguiente: se disuelven 4,2 g de NaOH, 317 g de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  y 3,58 g de  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12 \text{H}_2\text{O}$  por litro de agua destilada. Se prepara solución M/ 25 de clorhidrato de cisteína, disolviendo 0,15 g en  $25 \text{ cm}^3$  de solución amortiguadora.

2.- Se preparan diluciones seriadas de lisina, desde 1:2 a 1:12, con la solución de cisteína. Se disponen muestras de cada dilución en 6 pequeños tubos de ensayo de la siguiente manera:

Lisina diluida (ml)...	0.35	0.30	0.35	0.20	-
	0.15	0.10			

Cisteína amortiguada (ml) ...	0.15	0.20	0.25		
	0.30	0.35	0.40		

Se deja durante 10 minutos.

3.- Es necesario en este momento disponer de una muestra de antiestreptolisina valorada. Se agrega 1 ml de la dilución patrón valorada a una unidad por ml. Se mezcla bien y se incuba a 15 minutos a  $37^\circ \text{C}$ .

4.- Se pone en cada tubo 0,5 ml de suspensión al 5% de hematíes de conejo lavados 3 veces. -

La suspensión se prepara en la solución amortiguada, a pH 6.5 que ya se mencionó, pero sin añadir NaOH.

5.- Se incuba a 37°C durante minutos, se sacan los tubos y se centrifugan. La unidad de reacción es la dilución de lisina que ya no produce hemólisis (generalmente 0.15 ml de 1:8). La lisina -- concentrada, así titulada, es ahora el patrón y se conserva en el refrigerador.

#### Determinación del Título de Antiestreptolisinas.

1.- Se preparan diluciones 1:10, 1:100 y - - 1:500 del suero problema en solución isotónica amortiguada.

2.- Se diluye la lisina patrón en forma tal que una unidad de reacción esté contenida en 0.5 ml de solución amortiguada de cisteína recién preparada. Se deja reposar 10 minutos.

3.- Se ponen los reactivos en 12 tubos pequeños en la forma que sigue:

	1:10			1:1000					1.:500			
Suero diluido	0.8	0.2	1.0	0.8	0.6	0.4	0.3	1.0	0.8	0.6	0.4	0.2
Solución isotónica amortiguada	0.2	0.8		0.2	0.4	0.6	0.7		0.2	0.4	0.6	0.8
Lisina reducida	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
Valor de la unidad	12	50	100	125	166	250	333	500	625	833	1250	2500

4.- Se incuba 15 minutos a 37°C. Se agrega - 0.15 ml de suspensión de hematies de conejo que antes se mencionó y se vuelve a incubar durante 45 minutos.

5.- La última dilución del suero problema en que no hay hemólisis señala el título de antiestrep tolisina de tal suero.

6.- Hay que hacer siempre un suero humano -- estandarizado de título conocido.

En la actualidad se sigue haciendo la misma técnica con modificaciones mínimas, los reactivos - ya vienen preparados de los laboratorios Difco o de BBL.

La solución amortiguada para la estreptolisina O, se utiliza para diluir el suero y preparar la suspensión de glóbulos rojos al 5%.

La suspensión de glóbulos rojos humanos o de conejo, de una muestra fresca defibrinada; el lavado final se efectúa a 2000 rpm durante 15 minutos.

Los glóbulos rojos que después de tres lavados muestran sobrenadante con hemólisis ligera no deben utilizarse.

Se suspenden los eritrocitos en solución - - amortiguada para estreptolisina O formando una suspensión al 5%.

El reactivo de estreptolisina O se hidrata - añadiendo la cantidad indicada de agua destilada al frasco, según las indicaciones del fabricante, y -- mezclando varias veces por inversión. Este reactivo sólo debe hidratarse en el momento del uso.

El suero del paciente puede conservarse - en el congelador hasta el momento del uso, y se recomienda no usar sueros contaminados, ictéricos, hemolizados o hipercolesterolémicos, pues pueden inhibir las estreptolisinas, además, el suero problema debe de inactivarse (20 minutos a 56°C) para evitar posibles hemolisinas solubles.

En individuos sanos los valores normales son hasta de 200 UI/ml. Los títulos de 500 unidades o más, son muy sugestivos de infección reciente y activa por estreptococo. Lo mejor es llevar a cabo -- dos pruebas con una semana de intervalo, para ver -- si el título está aumentado o disminuyendo; una determinación única generalmente tiene un valor más limitado.

El suero estandar es tratado igual que el -- suero problema y la concentración de antiestreptolisina O en el suero del paciente se saca de la siguiente tabla:

Tubos con Suero Estándar que contienen	Números de los tubos con las diluciones del suero problema								
	1:50	1:75	1:100	1:150	1:200	1:300	1:400	1:600	1:800
1.5 UI/ml	75	110	150	225	300	450	600	900	1200
1.0 "	50	75	100	150	200	300	400	600	800
0.75 "	40	55	75	110	150	225	300	450	600
0.5 "	25	40	50	75	100	150	200	300	400
0.38 "	20	30	40	55	75	110	150	225	300

## 4) ANTIHIALURONIDASA.

El fundamento de esta prueba es que en el suero se encuentran los anticuerpos contra la hialuronidasa, se agregan a las diluciones del suero cantidades fijas de la enzima; luego se añade el sustrato (hialuronidato), se incuba la mezcla y se busca después el sustrato restante, mediante precipitación con ácido acético.

Normalmente el título de 1 a 250 se considera dentro del margen de lo normal; un título en aumento en un período de tres a cinco semanas es significativo. (30 39)

Esta prueba serológica sirve para obtener pruebas de la infección de estreptococo beta hemolítico del Grupo A.

Como se mencionó antes, la hialuronidasa es una enzima o conjunto de enzimas que actúan despolimerizando el ácido hialurónico, un mucopolisacárido del cemento del tejido conjuntivo. El ácido hialurónico está ampliamente distribuido en los tejidos y se encuentra en alta concentración en el cordón umbilical, la enzima es antigénica y provoca la formación de un anticuerpo específico, la antihialuronidasa.

Como se ha supuesto que hialuronidasa estreptocócica interviene en la patogenia de la fiebre reumática, la reacción que se hace en la actualidad es para estudiar las enfermedades de la colágena.

Existen tres métodos para determinar este anticuerpo, como son el turbidimétrico, el viscosí-

metro y la prueba de la prevención de la coagulación de la mucina, ésta última es la que más se usa por ser más práctica.

Preparación del Acido Hialurónico. Este método originalmente fué descrito por McClean y otros, pero se recomienda ahora la modificación de Harris y Harris que es la que realmente se realiza y la que se describe en seguida.<sup>36</sup>

a) Se trata de una suspensión de cordón umbilical desmenuzado en la licuadora.

b) Se vierte la suspensión de hialuronato sobre solución alcohólica de acetato potásico, y no al contrario. De esta manera es posible sustituir el alcohol absoluto por alcohol de 95%.

c) Se desmenuza el coágulo de ácido hialurónico con las tijeras y se deja secar al aire, en una capa delgada. El rendimiento aproximado es de 0.9%.

#### Preparación de la Hialuronidasa.

1.- Ha de disponerse de una cepa buena productora de enzima como la H-44 de estreptococo del Grupo A.

2.- Se preparan 1000 ml de caldo nutritivo, por ejemplo de cerebro y/o corazón, o la infusión de Todd-Hewitt. El medio debe contener glucosa en proporción de 0.2 a 0.3%. Se pone en un matraz.

3.- Se siembra con 100 ml de un cultivo de 6 horas en crecimiento activo tras 18 horas de incubación, se centrifuga a 3000 rpm durante 30 minutos

y el líquido se recoge en un matraz estéril.

4.- Se concentra el líquido a un décimo de su volumen, evaporándolo durante la noche. Para ello se distribuye el líquido en sacos de celofán, que se cuelgan al aire libre o frente a un ventilador.

El líquido a de mantenerse frío, si es posible.

5.- El concentrado se esteriliza a través de filtro de vidrio poroso o del filtro de Selas.

6.- Se pone el filtrado en saco de celofán y se dializa toda la noche contra agua corriente. Finalmente, se dializa contra agua destilada, durante dos o tres horas. Para conservar el producto hay que liofilizarlo, los recipientes se sellan y deben conservarse a  $-10^{\circ}\text{C}$ . Otro procedimiento más simple y conveniente para el trabajo ordinario es distribuir el material dializado en pequeños tubos (0.5 ml por tubo), los cuales, después de taparlos herméticamente, se conservarán en congelación. Cada vez que se necesite, se sacará un tubo, pero el reactivo no debe usarse transcurrido más de un día.

#### Titulación de la Hialuronidasa.

1.- Se dispone una serie de tubos de 13 X 100 mm, se miden 0.2 ml de solución salina en cada uno de ellos; se añade al primer tubo 0.2 ml de la dilución 1:10 de la solución concentrada de la enzima y se procede a diluir, en progresión, el contenido de cada tubo, transfiriendo 0.2 ml de cada uno de ellos al que le sigue.

2.- A cada uno de los tubos se agrega 0.2 ml de la mezcla preparada de la siguiente manera: se disuelven 40 mg de ácido hialurónico seco en 10 ml de agua destilada y se agrega un volumen igual de dilución al 1:16 de suero normal de caballo o de conejo.

3.- Se agrega 0.4 ml de suero fisiológico y se mezcla el contenido. Se incuban los tubos a 37°C durante 20 minutos. Inmediatamente se ponen los tubos en baño de agua con hielo.

4.- Pasados 5 minutos, se agrega 0.2 ml de solución 2 N de ácido acético a cada uno de los tubos y se agita enérgicamente, cada tubo por separado. Se examinan los tubos en seguida investigando:

a) Si hay coágulo de mucina, lo que indicaría ausencia de actividad enzimática.

b) La presencia de un coágulo fibroso pequeño y único parcialmente digerido.

c) Precipitación de flóculos, lo que se toma como prueba de plena actividad enzimática. El título es el de la dilución de la enzima que produce digestión parcial; la cantidad de enzima correspondiente se toma como unidad.

#### Preparación de Muestras de Suero.

Bastan 5 ml de sangre, suele usarse suero o plasma. El suero ha de usarse en seguida o guardarlo en congelación hasta el momento de hacer la prueba.

### Técnica.

1.- En tubos de 13 x 100 mm se preparan diluciones progresivas en suero fisiológico, transfiriendo de tubo en tubo 0.4 ml.

2.- Se agrega 0.2 ml (3 unidades) de la solución de hialuronidasa a cada uno de los tubos.

3.- Se incuba durante 20 minutos a la temperatura ambiente.

4.- Se agrega 0.2 ml de la mezcla de solución del sustrato (ácido hialurónico) con suero de caballo o conejo, en la forma descrita, y se sigue la reacción exactamente como para titular la enzima, comenzando con la incubación durante 20 minutos a 37°C.

5.- El último tubo que presenta coagulación completa se toma como fin de la reacción y la dilución correspondiente del suero problema es el título. En el tubo siguiente debe observarse precipitado en flóculo si en lugar de ello se observa un pequeño coágulo de mucina, el título sería la media aritmética entre las diluciones de este tubo y el tubo anterior.

En la actualidad se le hacen ciertas modificaciones y se realiza de la siguiente manera.

1.- Se prepara una serie de tubos que se numeran del 1 al 7 para cada suero problema. Detrás de esta hilera de tubos, se prepara otra hilera con números del 8 al 14.

2.- El suero del paciente debe estar estéril, si es posible, y se conservará en el refrigerador - hasta usarlo. Las muestras contaminadas, quillosas o hemolisadas no son adecuadas. Puede trabajarse con suero fresco o suero inactivado.

Las diluciones del suero se preparan como sigue: en los tubos 2 al 7 y 9 al 13, se pone 0.25 de agua destilada.

Se pone 0.5 ml de agua destilada en el tubo 14. Se prepara una dilución 1:32 del suero problema, añadiendo 0.1 ml de suero a 3.1 ml de agua destilada, y se mezcla. Se pone 0.25 ml de dilución 1:32 - en los tubos 1 y 2; se mezcla el contenido del tubo 2, y se pasa 0.25 ml al tubo 3; se siguen preparando diluciones dobles de esta manera hasta el tubo 7 del cual se deshecha 0.25 ml.

3.- El patrón de antihialuronidasa se prepara rehidratando un frasco de reactivo con 1 ml de agua destilada, y disolviendo por rotación e inversión suaves. Se pone 0.25 ml de solución en los tubos 8 y 9 de la segunda serie.

Luego se pasa 0.25 ml del tubo 9 al 10 etc. hasta el tubo 12, del cual se descartan 0.25 ml.

4.- La enzima hialuronidasa se rehidrata inmediatamente antes de usarse, se añaden 4 ml de agua destilada a un frasco y se disuelve en la misma forma que el patrón. Se ponen 0.25 ml en todos los tubos, del 1 al 13.

5.- Se mezclan los tubos por agitación y se incuban a 37°C en baño de agua 15 minutos.

6.- Se deja enfriar 10 minutos en el refrigerador entre 6 y 10°C.

7.- El sustrato de la hialuronidasa se obtiene rehidratando un frasco con 8 ml de agua destilada, agitando hasta disolución completa. Se conserva en el refrigerador hasta el momento de usarlo. Se ponen 0.5 ml en todos los tubos, y se agita.

8.- Se incuba durante 20 minutos.

9.- Se enfría entre 6 y 10°C durante 30 minutos.

10.- Se añade 0.1 ml de ácido acético 2 N a todos los tubos y se agita fuertemente.

11.- Se observan todos los tubos, buscando un coágulo. No debe haber coágulo en el tubo 13, -- que es el testigo enzimático. El testigo del sustrato que es el tubo 14, debe mostrar un coágulo.

		Dilu- ción	ml suero	ml enzima	ml de H <sub>2</sub> O dest.	ml de sus. trato	ml de ácido acético
Suero del Paciente	1	1/32	0.25	0.25	--	0.5	0.1
	2	1/64	"	"	"	"	"
	3	1/128	"	"	"	"	"
	4	1/256	"	"	"	"	"
	5	1/512	"	"	"	"	"
	6	1/1024	"	"	"	"	"
	7	1/2048	"	"	"	"	"
Patrón AHT	8	1/32					
	9	1/64	"	"	"	"	"
	10	1/128	"	"	"	"	"
	11	1/256	"	"	"	"	"
	12	1/512	"	"	"	"	"
Testigo de enzima AHT	13	-	-	0.25	0.25		
Testigo de sustrato AHT	14	-	-	-	0.5		

## 5) DETERMINACION DE ANTIESTREPTOENZIMAS.

Como el estreptococo beta hemolítico del --- Grupo A presenta diferentes sustancias antigénicas y tiene unas 20 exotoxinas y enzimas antigénicas, -- hasta ahora muchas veces se basa el diagnóstico inmunológico en la prueba de antiestreptolisina O que solo alcanza un 80% de sensibilidad, con la prueba\_ de antihialuronidasa alcanzamos un 90%, y con la -- prueba de antiestreptoenzimas, la sensibilidad aumenta a un 97-99% pues esta prueba contiene 5 exo-- productos (Estreptolisina O, Estreptoquinasas, Hialuronidasa, estreptodornasa (DNA-sa), y una NAD-sa). Esta prueba es de selección rápida y sirve para --- diagnosticar fiebre reumática, endocarditis bacteriana y glomerulonefritis, debido a que en estas en\_ fermedades se forman anticuerpos contra estas sustancias desarrolladas por el estreptococo, se sabe\_ bien que una sola determinación no es tan significativa como una titulación seriada realizada a intervalos semanales o bisemanales después de las seis - semanas de la infección estreptocócica. Las frac-- ciones antigénicas que se mencionaron antes, se pue\_ den absorber en partículas inertes; las mejores par\_ tículas, por su efecto sobre la sensibilidad y espe\_ cificidad, son los eritrocitos fijados con formol, los que recubiertos con las 5 enzimas antes mencionadas, nos permiten visualizar macroscópicamente la aglutinación en presencia de los anticuerpos co-- rrespondientes.<sup>32</sup>

## Técnica.

1.- El suero problema se diluye 1:100 con -- solución salina.

2.- En una placa de aglutinación poner 0,05 ml de la dilución de suero a temperatura ambiente.

3.- De la suspensión de eritrocitos (que -- contienen las 5 enzimas) y que es estable de 2 a - 8°C se homogeniza y a temperatura ambiente se añade 1 gota (0,05 ml).

4.- Mezclar con palillo limpio y rotar suavemente por dos minutos.

5.- Con transiluminación, observar la aparición de flóculos.

Se considera positivo si hay aglutinación -- (más de 166 U.T.) y si no hay aglutinación (menos de 166 U.T). En casos positivos, conviene practicar una titulación, la prueba se menciona en seguida.

1.- Del suero positivo se hacen las siguientes diluciones con solución salina, 1:100, 1:150, - 1:200, 1:300, 1:400, 1:500, 1:600, 1:700, 1:800.

2.- De cada dilución poner 1 gota (0.05) ml en la placa de aglutinación y añadir una gota de - suspensión de eritrocitos (0.05 ml).

3.- Mezclar y rotar la placa suavemente 2 - minutos.

4.- Con transiluminación observe hasta qué dilución presenta aglutinación, para determinar el título.

Se puede correlacionar esta prueba con la de antiestreptolisinas, siendo el equivalente de las -

diluciones en unidades Todd el siguiente: dilu -  
 ción 1:100 -- 166 U.T., 1:150 -- 250 U.T., 1:200 -  
 333 U.T., 1:300 -- 500 U.T., 1:400-- 664 U.T., - -  
 1:500--883 U.T., 1:600--1000 U.T., 1:700--1164 U.T.  
 1:800--1328 U.T.

La repetición de esta prueba, a intervalos,  
 nos permite observar la evolución del padecimiento  
 (fiebre reumática, glomerulonefritis, endocarditis)  
 esta prueba puede hacerse con sangre total, 0.1 ml  
 obtenido hasta por punción en dedo u oreja, la que  
 inmediatamente se diluye lo que evita la coagula--  
 ción. Sobre la base de un 50% de hematocrito la di-  
 lución de sangre final representa la mitad de la di-  
 lución de suero, o sea que la dilución 1:100 de la  
 sangre, equivale a una dilución del suero de 1:200.

Se considera normal un título de 166 U.T. Es  
 muy posible que un paciente muestre un título de -  
 antiestreptoenzimas significativo y un título de --  
 ASTO negativo, se considera que un título elevado -  
 de anti-estreptoenzimas elevado, es probable que --  
 ocurra en un 20% de los pacientes que muestran un -  
 título elevado de antiestreptoenzimas, tiene un tí-  
 tulo de ASTO por encima de 166.

Prácticamente ningún suero con título eleva-  
 do ASTO puede dar resultados falsos por la prueba  
 de antiestreptoenzimas.

El colesterol y las beta proteínas pueden --  
 causar títulos falsos positivos con la clásica prue-  
 ba de antiestreptolisina, pero no intervienen en es-  
 ta prueba mientras se usen partículas de eritrocí-  
 tos de carnero como soporte de los antígenos.<sup>32</sup>

6) DETERMINACION DE ANTIDESOXIRIBONUCLEASA  
B ESTREPTOCOCCICA.

1.- Solución sustrato.- (0.1% DNA más 0.005% de verde de metilo).

a).- Solución DNA.- 100 mg de DNA de timo de ternera altamente purificado y seco (6-7% fosfatos) Se disolvió en agua destilada, con agitación toda la noche a 4° C, seguido por la adición de 50 ml de amortiguador de imidazol 0.1 mol/litro en agua - -- (pH 7.7) conteniendo 120 mg de MgSO<sub>4</sub> anhidro.

b) - Colorante.- Verde de metilo (Certified Fisher reagent C.I. Núm. 43590 el colorante total - contiene 86%)

Un gramo de colorante en 100 ml de amortiguador de acetatos 0.02  $\frac{\text{moles}}{\text{litro}}$  pH 4.2 se extrae con cloroformo hasta que no hay color en la capa de cloroformo.

La solución sustrato final se prepara por -- adición de 0.5 ml de solución verde de metilo (5 mg) a 100 ml de solución DNA con 0.7% de cloroformo la mezcla se coloca a temperatura ambiente 48 horas y después se guarda a 4°C.

2.- Caldo neopeptona dializado.- Usando un - amortiguador y 5 Kg de corazón de res desprovisto - de grasa, tejido fibroso, extraído toda la noche a 4°C en 2 litros de agua fría, se tapa y al día siguiente se calienta a 85°C por 30 minutos se enfría y se filtra por papel filtro, el extracto se concentra por vacío hasta un volumen de 300 ml aproximadamente y se dializa a 4°C contra agua, cambiándose -

3 veces. c/12 horas.

Para dializar se utiliza tubo 24/32. Después de dializar 3 veces se concentra a 400 ml, por vacío guardando en congelación. Se usa la vigésima parte de un lote (20 ml) para 1 litro de medio completo.

3.- Medio completo.- (para 5 lts). Se requiere 208 gr de peptona más 416 gr. de ácido casamino más 25 gr de carbón activado que son calentados en 1 litro de agua destilada a 80°C por 15 minutos. Ya tibio, se filtra a través de filtro Cel. Al enfriarse se forma un precipitado que desaparece con la diálisis pues la suspensión es dializada contra 2 lts. de agua destilada a 4°C por 18 horas.

El dializado se remueve y la diálisis se repite contra 2 lts de agua fresca, y entonces se agregan 7.5 gr. de  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ , 6.4 gr de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 25 gr de dextrosa, 10 gr de  $\text{NaHCO}_3$  y una cuarta parte del lote de infusión concentrado y dializado.

El pH se ajusta a 7.8 con NaOH 5 mol/l, el medio completo se esteriliza a través de filtros Coors P 3, 50 ml de medio completo se llevan a 0.8 de saturación con la adición de 25 gr de sulfato de amonio.

4.- DNASA B estreptocócica.- Se prepara a partir de productos extracelulares de estreptococo Grupo A concentrados, que son objeto de separación por electroforesis zonal, en cromatografía de columna.

Preparación del concentrado de productos extracelulares.

El estreptococo A seleccionado, crece toda la noche en medio de gelosa sangre inoculándose 0.1 ml de cultivo fresco en 40 ml de caldo, después de 18 horas a 37°C, el cultivo se centrifuga y los fluidos del sobrenadante se decantan, las células de estreptococo se lavan dos veces en solución salina estéril, y se resuspenden en 5 ml de solución salina se inocula en 250 ml de caldo después de 6 horas a 37°C el cultivo se inocula en cantidades de 50 ml en frascos con 1 1/2 lts. de caldo, a 37°C por 16 horas.

Los cultivos se colocan en baño de hielo y los procesos se efectúan a 4°C. El paquete celular se remueve por centrifugación a 2000 rpm/1 hr y los sobrenadantes se decantan. Se agrega 0.7% de cloroformo, después se mezcla el exceso de cloroformo se remueve decantando.

El volumen se mide y el fluido se lleva a 0.8 de saturación por adición de 560 gr de sulfato /1 lt.

El precipitado resultante a las 12 horas se remueve por filtración por succión y se redisuelve y lava 3 veces en amortiguador de glicina con pH 9.0, 0.01 ml en un volumen total aproximado de una centésima del volumen del sobrenadante original.

La solución de productos extracelulares es colocada en bolsa de colodión y dializada al vacío (40-50 mm Hg) contra amortiguador de glicina pH 9.0 a 0.01 después de concentrar a un volumen final de 1 ml, que se efectúa en la bolsa de colodión al vacío.

El concentrado se examina por electroforesis zonal y es congelado y secado al vacío, al ser seca

do en presencia de sales es más fácil redisolverse.

#### Electroforesis Zonal. Método de Kinkel y Slater.

El almidón de papa se lava 2 veces en agua - destilada y una vez en el amortiguador apropiado -- antes de colocarlo en el block.

Para concentrar un dializado se usa un amortiguador colocado en el block de almidón. Usando - para la diálisis un dializador de paredes delgadas 20/30.

Los tubos de diálisis fueron enjuagados con versenato de sodio pH 7.6 y en mezcla de agua destilada amortiguada. Se colocó el concentrado en el tubo de diálisis y se dializa contra el buffer con -- movimientos mecánicos por 6 horas a 4°C. El con- -- centrado dializado se centrifuga en amortiguador - frío a 2500 rpm por 30 minutos para remover cual--- quier residuo insoluble, y es colocado en un block\_ de almidón de 45 cm.

Se aplica una corriente directa con dif. de pot. de 400 v.

La electroforesis se lleva a cabo en un aparato refrigerado en el cual haya una temperatura en tre 2-4° C, el tiempo empleado en la separación es\_ de 3-24 horas.

El block de almidón se secciona en fragmentos de 1 cm y los segmentos se eluyen con amortiguador, haciéndose examen para proteínas y enzimas.

La recuperación es facilitada por el uso de un filtro de vidrio de medio poroso.

#### Técnica.

1.- LA DNasa previamente preparada, liofilizada y guardada en desecador a 4°C (una dilución -- stock 1 mg/ml en caldo neopeptona es estable a 4°C) se diluye 1:100 partiendo de la dilución stock y -- efectuándolo en condiciones estériles, en caldo neopeptona que contenga 0.7% de cloroformo (debe usarse no más de 10 días). Las diluciones posteriores -- de la enzima son hechas a partir de la dilución -- 1:100 ya preparada.

#### 2.- Determinación de la concentración de la DNasa B.

Partiendo de la dilución 1:100 y usando dilu- tores con 0.025 ml de volumen, se efectúan una serie de diluciones por duplicado en placas Plexiglas, los pozos de dicha placa deben contener 0.025 ml de diluyente neopeptona, se agrega 0.025 ml de las diluciones y 0.05 ml de INA-verde de metilo (sustrato).

Las placas son tapadas, selladas e incubadas por 19 o 25 horas con agitación para mezclar después de los 15 minutos.

El punto final de reacción de la enzima se -- define como la dilución de la enzima que muestre un color definido (3+) en el pozo de reacción.

Cuatro veces la concentración de este punto final, será aproximadamente la dilución de trabajo usada para la determinación de la titulación del -- anticuerpo. La dilución exacta de enzima para conti

nuar, se determina finalmente por la prueba de esta dilución con el suero inmune control y, si se requiere, ajustando la dilución a una a la cual se le halla obtenido el título exacto de anticuerpos en titulaciones previas.

### 3.- Cuantificación de DNAsa B.

Diluciones del suero.- Todos los sueros se inactivan por calentamiento de 1 ml de la dilución 1:10 a 65°C/30 minutos antes de efectuar las diluciones para el ensayo.

El esquema de diluciones empleado, es la modificación del método de determinación o micrométodo de ASTO. Las diluciones iniciales de 1:50, 1:60 y 1:80 se hicieron de la dilución 1:10 inactivada, pueden hacerse diluciones más bajas (1:25, 1:30, 1:40).

### Adición del antígeno DNAsa B.

Se efectúan diluciones adecuadas de la enzima (dilución de trabajo) en neopeptona fría y se coloca un volumen de 0.025 ml en los pozos (excepto en el control del sustrato diluyente). Los pozos -- previamente deben tener las diluciones adecuadas del suero.

Las placas se tapan para mezclar con cuidado pero vigorosamente cubriéndose con parafilm ó otra placa e incubadas por 15 minutos a 37°C.

#### 4.- Adición del sustrato.

Inmediatamente después de 15 minutos de incubación, se agregan a cada pozo 0.05 ml de DNA-verde de metilo frío usando pipeta goteadora. Las placas son tapadas y selladas, se agitan vigorosamente e incubán a 37°C por 19-24 horas, con agitación solo después de los 15 minutos.

#### Controles.

Cada prueba incluye:

1) Control de enzima: 0.025 ml de diluyente más 0.025 ml de dilución de trabajo de la enzima -- más 0.05 ml sustrato.

2) Control del sustrato: 0.05 ml del diluyen te más 0.05 ml del sustrato.

3.- Suero control: (Usando un suero de título conocido preferentemente del rango 400 U.

#### Lecturas.

El complejo DNA-verde de metilo (sustrato) muestra un color verde, cuando está intacto, y el color baja en proporción relativa a la digestión de DNAsa, así que la digestión completa se muestra en la baja casi total del color.

La graduación de la intensidad del color es inversamente proporcional a la actividad de la enzima la cual puede ser arbitrariamente graduada -- desde 0 (digestión completa) hasta 4 + (no digestión).

El título en el suero en ensayo, se lee como el recíproco de la dilución del suero, que muestre una inhibición definida de la actividad de la enzima (3 +, 4+).

Uno de los problemas en la interpretación de las lecturas, se encontró cuando en algunas corridas se presentaba algo de color en el pozo que contenía el control de enzima. Este problema se investigó recientemente y resultados preliminares mostraron que con la adición de 0.01% de suero bovino al caldo de neopeptona, se presentaba la desaparición del color de la enzima control.<sup>42 61</sup>

Los resultados se reportan en cruces.

#### 7) PRUEBA DE LA DNasa.

Como se mencionó antes, el estreptococo produce una enzima llamada desoxirribonucleasa. El mecanismo es la detección de la destrucción de DNA.

Método estándar.

1.- Se prepara una placa que contenga 0.2% de DNA agar.

2.- Los reactivos son HCl 1 N; originalmente este ácido era al 10%.

3.- Se escoge la colonia que se va a sembrar o sea la que va a ser probada.

4.- Se tiene una colonia conocida como positiva que nos sirva como control.

## Método.

## 1.- Inoculación.

2.- Incubar 24 horas antes de reportarla como negativa.

## Interpretación.

Positivo.- Si se observa una zona de color rosa claro alrededor cuando el medio contiene azul de toluidina o si se observa una zona clara si el medio contiene verde de metilo.

Negativo.- Si no hay cambio de color en el medio. 10

### 8) DETERMINACION DE ANTINICOTINAMIDA ADENINDINUCLEOTIDO ESTREPTOCOCCICA.

Esta prueba está basada en una medición fotométrica y consiste en medir que cantidad de NAD antes conocida como DPN (difosfopiridinucleótido) es inhibida por la antiNADsa, esta reacción es catalizada por el alcohol deshidrogenasa (ADH).

1.- Se hacen diluciones del suero usando solución salina de 1:2 hasta 1:24.

2.- Se le agrega a cada tubo 1 ml de amortiguador de fosfatos pH 7.3.

3.- Agregar 0.1 ml de NADsa y se incuban los tubos a 37°C durante 30 minutos.

4.- Se agrega de NAD9 sustrato) 0.1 ml y durante 7.5 minutos se deja en un baño de agua a 37 C y después durante 3 minutos en un baño de agua a - 60-70°C.

5.- Adicionar 2 ml de solución amortiguadora de fosfato de sodio 0.1 mol/l y etanol 20 ml/l con semicarbazida 0.5 g/l; pH 9.0:

6.- Agregar 0.005 ml de ADH, se deja reposar durante 10 minutos y leer a 366 nm en el fotómetro.

#### Interpretación.

Se hacen las lecturas de las diluciones de suero, las U/ ml de antiNADsa de acuerdo a las diluciones son:

1:2--50, 1:3--76, 1:4--100, 1:6--150, 1:8--200, -- 1:12--300, 1:16--400, 1:24--600.

Si una dilución da una lectura en densidad óptica de 0.25 esto equivale a 150 U/ ml, los valores normales son hasta 200 unidades de antiNADasa por ml.

#### 9) DETERMINACION DE ANTICUERPOS ANTICARBOHIDRATOS DEL ESTREPTOCOCCO BETA HEMOLITICO POR INMUNODIFUSION RADIAL.

1.- Obtención de antígeno.- A un cultivo de 18 horas en caldo neopeptona dializado de volumen 250 ml; se recoge el sedimento por centrifugación del estreptococo beta hemolítico del grupo A y se coloca en 5 ml de solución salina fisiológica, a este se agrega HCl suficiente para llegar a un pH -

3.1 hasta que el papel rojo congo cambie a azul.

Se coloca el tubo invertido en baño de agua hirviendo por 10 minutos y se enfría al chorro de agua. Se centrifuga y se recoge el sobrenadante; se neutraliza con NaOH 1.0 ml y el precipitado que se forma se descarta; el fluido claro es el que contiene carbohidrato.

2.- Preparación del agar.- A 100 ml de amortiguador de barbiturato con pH 8.6 y fuerza iónica 0.1 (hecho con 9 gr de dietil barbiturato de sodio, 65 ml de HCl 0.1  $\frac{\text{mol}}{\text{l}}$  y como conservador 0.5 g de azida de sodio llevada a un volumen de 1 l ml de agua) se adicionan 3 g de agar noble Difco. Esta suspensión es puesta a calentar en baño de agua hasta la disolución total del agar. Se adiciona agua destilada para restablecer el volumen. La solución concentrada de agar se distribuye en tubos y se guarda en refrigeración.

3.- Preparación de la mezcla antígeno-agar.- La cantidad requerida de la muestra del gel de agar al 3% solidificado, se pone a fundir en B.M. y después cuando está a de 60°C. se le adiciona 0.4 ml del antígeno obtenido por ml de agar. Se mezcla perfectamente evitando la formación de burbujas.

4.- Preparación de las placas antígeno-agar. Las placas de antígeno-agar, deben ser de un espesor estrictamente uniforme; se utilizaron placas en forma de corona con un diámetro exterior de 8 cm y un diámetro central de 4.5 cm, que serán llenadas con 3.44 ml de mezcla antígeno-agar sobre la superficie de una parrilla a 60°C con el objetivo de que la distribución del gel sea uniforme en toda el área, quedando finalmente de un espesor de 1 mm.

La adición del gel se hace con una pipeta precalentada, todo a 60°C. El antígeno debe ser de potencia conocida.

5.- Aplicación de la muestra.- Se hacen pozos circulares en el gel puncionando dicho gel con una aguja de 2 mm de diámetro, los pequeños cilindros cortados en el gel son removidos por succión. Cada uno de los pozos recibe 2 ml de suero del paciente por medio de una microjeringa, las placas se colocan en posición estrictamente horizontal en una cámara húmeda hasta que se difunde el anticuerpo -- haya sido absorbida por el gel (10 a 30 minutos).

6.- Medición de los halos de precipitación.- Los halos de precipitación se forman alrededor del pozo que tiene el suero inmune después de unos -- cuantos días al cabo de los cuales ya no se observe incremento de las dimensiones.

El aceite se elimina por un leve lavado con éter de petróleo.

Las siluetas del anillo de precipitación se proyectan sobre un papel y sus perímetros son dibujados, los círculos se miden y pesan, como medio para evitar el posible error cuando la precipitación -- no es en forma estrictamente circular, ya que la -- simple medición de los halos de precipitación conduciría a un error, y después en la curva de calibración leemos la cantidad de anticuerpos presentes en el suero. Cuando los precipitados no son suficientemente claros puede recurrirse a la tinción. Esta es también una ventaja cuando se desea guardar los precipitados para estudios posteriores. Para este -- propósito las placas son lavadas con solución salina en cajas de Petri durante 2 ó 3 días con algunos cambios diarios del líquido de lavado. Los precipi-

tados entonces se sumergen en agua destilada por 1 día, se cambia 3 veces para eliminar las sales, -- después a temperatura ambiente ó bien a 37°C las -- placas se sumergen por 30 minutos en una solución acuosa que contiene un gramo de negro de amido, 4.1 gramos de acetato de sodio y 30 ml de ácido acético por litro.

El color del fondo se elimina por 3 baños sucesivos de una solución acuosa que contenga 50 ml -- de ácido acético y 5 ml de glicerina por litro.  
14, 38, 40.

#### 10) PRUEBA DE HEMAGLUTINACIÓN PASIVA PARA DETERMINAR ANTICUERPOS CONTRA CORAZÓN HUMANO.

##### Técnica.

1.- Se toman 3.2 ml de la solución de antígenos solubles de corazón humano a una concentración de  $5 \frac{\text{mg}}{\text{ml}}$  de proteína, se añaden 0.1 ml de eritrocitos al 50% y 0.1 ml de glutaraldehído  $0.25 \frac{\text{mol}}{\text{l}}$ . La mezcla se deja por 1 hora a temperatura ambiente y después se lavan 3 veces con solución salina, ---- amortiguada con fosfatos centrifugando a 2000 rpm -- por 5 minutos cada vez. Se resuspende finalmente -- en solución reguladora de barbital con gelatina y se deja por toda la noche. Al día siguiente se centrifuga a 2000 rpm durante 5 minutos y se resuspende en 2.5 ml de solución reguladora de barbital con gelatina.

Se usan como control, eritrocitos, pero sin usar ningún antígeno para conjugación.

2.- La prueba de hemaglutinación se realiza en placas de lucita al doble en solución reguladora de barbital. Se añaden 25 ml de los eritrocitos conjugados con el antígeno cardíaco; se incuban a 37°C por 40 minutos y se dejan 3 horas a 24°C y 14 horas a 4°C. La lectura se hace de acuerdo al patrón clásico de hemaglutinación.

#### Prueba de Hemaglutinación Pasiva en Miosina.

Se usará el mismo procedimiento que el señalado para los antígenos cardíacos y además se usará la miosina purificada a partir de corazón humano.

#### 11) PRUEBA DE INMUNODIFUSION RADIAL PARA DETERMINACION DE ANTIMIOSINA.

Se usa miosina purificada obtenida a partir de corazón, se ajusta a 0.44 mg/ml y se usa como estandar. Para la obtención de anticuerpos contra miosina humana; se usan conejos que reciben miosina con adyuvante de Freund, se inyecta en el cojine te plantar y después por vía intravenosa. Se hacen sangrados seriados por 3 meses. Se prueba por inmunodifusión e inmunoelectroforesis, ya que están presentes anticuerpos contra miosina. Este suero inmune será el control estandar para las pruebas de difusión radial.

Se hace mezcla de agar con miosina y después se practican perforaciones en donde se colocan los sueros que contienen anticuerpos contra miosina. El diámetro del anillo de precipitación dará la concentración de anticuerpos presentes en los sueros problemas.

## 12) DETERMINACION DE PROTEINA C REACTIVA.

Es una globulina anormal y su nombre deriva de que puede reaccionar con el polisacárido somático C del neumococo, formando un precipitado "in vitro", pero que comunmente se mide por precipitación con un suero inmune específico preparado en conejos. Esta sustancia se encuentra en el suero de ciertos pacientes debido a la destrucción de tejidos, en personas con procesos inflamatorios en estado febril, necrosante o neoplásicos (como fiebre reumática, artritis reumatoide, infarto de miocardio, infecciones bacterianas, hepatitis, etc.)

No se conoce su función fisiológica, y actúa como antígeno, e inyectada en conejos forma precipitinas, lo que permite investigar la PCR, dato de gran utilidad, ya que aparece muy rápidamente (18 a 24 horas).

Este examen ha dado origen a pruebas de precipitación realizadas en capilares, así como de aglutinación en placa, esta proteína sí se encuentra en sueros normales pero en cantidades no detectables por las técnicas que se emplean para su análisis.

Esta prueba es una reacción inespecífica para demostrar la presencia de inflamación o daño tisular.

El método original utilizado por Anderson y McCarthy utiliza un tubo capilar que contiene partes iguales de suero inmune de PCR y suero del paciente. Tanto el suero problema como el suero anti-PCR deben estar libres de partículas en suspensión, en caso de no ser así, centrifugar unos minutos a 2000 rpm para eliminarlas.

1.- El capilar se introduce en el frasco que contiene el suero antiPCR y se deja que el líquido ascienda por el capilar hasta una altura aproximada de 3 cm, se tapa el capilar con un dedo, se saca del frasco y limpia perfectamente el exterior del tubo con un trozo de gasa. (Esto es para evitar la contaminación del suero del paciente con el suero antiPCR, cuando se van a hacer más investigaciones con el suero problema). Sin quitar el dedo del capilar y evitando que entre aire al tubo, introducirlo dentro del suero problema y dejar que el líquido ascienda otros 3 cm más.

2.- Tapando el capilar con los dedos en ambos extremos, se mezcla perfectamente agitando cuidadosamente. Limpiar el suero y las marcas dejadas por los dedos en el exterior del tubo.

3.- Colocar el capilar en posición vertical sobre un trozo de plastilina dejando unos mm con aire entre la mezcla y la plastilina para evitar que ésta quede en contacto con los reactivos.

4.- Se incuba a 37°C durante dos horas, y luego se observa en posición vertical contra un fondo oscuro. Si existe PCR se encuentra un precipitado blanco en la solución transparente y puede darse la prueba por positiva. Si se requiere un estudio cuantitativo, el tubo se deja en refrigeración a 5°C durante toda la noche, aunque algunos autores recomiendan que se deje toda la noche pero a temperatura ambiente.

La ausencia de precipitado visible es un resultado negativo, mientras que 1 mm equivale a +, 2 mm equivalen a ++, y 3 mm equivalen a +++, debido a que en un capilar de 1.5 mm de diámetro, el pre--

precipitado se acumula durante la noche, y se reporta el número de mm de precipitado (de 1 a 6 mm o más). Si se observa la columna de precipitado "rota", la lectura deberá hacerse sumando las porciones de precipitado, la apreciación del precipitado es más fácil haciendo la observación sobre fondo oscuro y -- con iluminación lateral.

El otro método que se utiliza con frecuencia para la PCR es la prueba de aglutinación en placa; cuando es positiva (aglutinación), es necesario el estudio cuantitativo. Y para esto se preparan diluciones seriadas del suero problema, y se añade a cada dilución de suero sobre una placa, una gota de reactivo de látex antiproteína C reactiva. La mayor dilución de suero que muestra aglutinación a simple vista, se acepta como el título de la proteína C reactiva, en caso de que la prueba sea negativa se diluye el suero problema para eliminar el fenómeno de prozona. La prueba cualitativa consiste en agregar una gota de suero problema en la placa, y después agregar una gota de reactivo de látex, mezclar durante 3-5 minutos y ver si hay aglutinación.

La reacción no se debe leer después de 5 minutos ya que la desecación produce falsas positivas, no se debe usar plasma pues el fibrinógeno también da falsas positivas; el contenido de PCR, varía de un día a otro, las muestras hiperlipémicas (turbias) no pueden usarse en este método de aglutinación en placa. 36.

## 13) DETERMINACION DEL FACTOR REUMATOIDE

Dicho factor consiste en un grupo de macroglobulinas séricas (IgM) de PM de 900 a 950,000 que en conjunto reciben el nombre de factor reumatoide, estas macroglobulinas son diferentes a las macroglobulinas 10 S del suero normal, esta prueba se usa para excluir la presencia de artritis reumatoide, - pues se ha visto que en enfermos de fiebre reumática esta prueba sólo es positiva en el 70% de los casos, este factor se ha observado que reacciona como anticuerpo contra la gamma globulina (IgG), para -- esto existen pruebas como hemaglutinación, fijación de látex o precipitación.

La prueba de aglutinación con partículas de látex.

Se cubren con IgG polimerizada partículas de látex de poliestireno de tamaño uniforme, y se suspenden en un amortiguador conveniente como el de -- glicina en solución salina. Cuando dichas partículas cubiertas de antígeno se ponen en contacto con el anticuerpo específico, se produce una aglutinación visible, esta prueba para la determinación del factor reumatoide contiene látex con globulina, además de un colorante para facilitar la lectura, suero testigo positivo, el cual viene ya diluido 1:20 de los laboratorios, el suero testigo negativo, que es suero normal diluido 20 veces en amortiguador.

Técnica.

1.- Se añade una gota de suero problema - -

(0.5 ml) al ml de diluyente amortiguador (dilución aproximada de 1:20).

2.- Se pone una gota de este suero diluido - en un compartimiento de la placa de aglutinación.

3.- En otro compartimiento se pone una gota de suero testigo positivo (sin nueva dilución).

4.- En el tercer compartimiento, se pone una gota de suero normal diluido, o suero testigo negativo.

5.- A cada muestra se le añade una gota de antígeno de látex, se mezcla con un palillo, se inclina el portaobjetos, y se lee al cabo de un minuto. La reacción positiva consiste en floculación, con agregados de tamaño variable, hasta una masa única.

Las pruebas serológicas han demostrado la presencia de 2 macroglobulinas: una reacciona con globulina gamma humana sola, la otra reacciona tanto con la humana, como con la globulina gamma de conejo.

La prueba de látex con factor 11 demuestra la presencia de cualquiera de esas macroglobulinas. Por otra parte, la prueba con eritrocitos de carnero sensibilizados demuestra la presencia únicamente de la macroglobulina que reacciona con la globulina gamma del conejo, esta técnica se menciona en seguida.

La prueba de látex no es enteramente específica; se conocen resultados falsos, tanto positivos como negativos. Los resultados positivos falsos se deben a varias enfermedades de la colágena, hepati-

tis y algunos casos de artritis degenerativa, esto se debe a que existen 2 tipos de inhibidores, uno asociado con la globulina gamma y el otro con la albúmina y las globulinas alfa y beta. La albúmina tiende a estabilizar el sistema indicador dando títulos más bajos cuando está presente en altas concentraciones. Esto puede explicar las reacciones ocasionales falsas a positivas en pacientes con hepatopatías que tienen albuminemia bajas, con pérdida del factor estabilizador.

Un título de fijación de látex de 1:20 o mayor, indica la presencia de macroglobulina y globulina gamma en la superficie de la partícula de látex. Títulos más altos se encuentran en la artritis reumatoide activa y pueden persistir independientemente de la actividad del padecimiento.

Las negativas falsas son muy raras.

La prueba de los eritrocitos de carnero se realiza de la siguiente manera:

- 1.- Se coloca una gota de suero en la placa de aglutinación (0.05 ml).
- 2.- Añadir 1 gota (0.05 ml) de la suspensión de eritrocitos de carnero con gamma globulina absorbida (conservar de 2 a 8°C), y mezclar con un palillo.
- 3.- Agitar con movimientos rotatorios y suaves por 2 minutos.
- 4.- Observe con transiluminación si hay aglutinación o no (dentro de 1 minuto).
- 5.- Repita lo anterior con sueros control po

sitivo y negativo.

La aglutinación indica la presencia de factor reumatoide en el suero.

Se recomienda no leer después de tres minutos, pues la evaporación puede dar floculación inespecífica, además no se debe usar plasma, pues el fibrinógeno puede dar también floculación inespecífica, así como no usar sueros lipémicos; si en el suero problema hay anticuerpos contra el eritrocito pueden tenerse falsas positivas como en la mononucleosis.

La sensibilidad de las pruebas depende de las partículas que se usen así como la especificidad, el látex es más sensible pero menos específico; el eritrocito es menos sensible pero mucho más específico. 39 48

#### 14) VELOCIDAD DE SEDIMENTACION

Todavía no se conoce bien la verdadera naturaleza, ni el mecanismo exacto de la sedimentación de los hematíes. Normalmente, la velocidad de sedimentación es algo más alta en la mujer que en el hombre.

La sedimentación se produce porque la densidad de los eritrocitos es mayor que la del plasma citratado u oxalatado. El aumento de la velocidad de sedimentación parece deberse en gran parte, a alteraciones del plasma, sobre todo a un aumento del fibrinógeno o de ciertas fracciones de las globulinas, por ejemplo la albúmina plasmática retarda la sedimentación de los eritrocitos, en tanto que -

las globulinas alfa y el fibrinógeno, aumentan la velocidad de sedimentación, las globulinas gamma -- ejercen poco efecto sobre la VSG.

La prueba debe realizarse lo más pronto posible después de la extracción de la sangre, ya que cualquier retardo disminuye la velocidad de sedimentación, otros factores que intervienen en la velocidad de sedimentación son, la temperatura, pues -- cuanto más alta sea ésta, mayor será la velocidad de sedimentación, se recomienda efectuar la prueba a temperatura ambiente entre 22 y 27°C. Si la sangre se conserva en el refrigerador, deberá estar a temperatura ambiente antes de practicar la determinación; los anticoagulantes, con la probable excepción de la heparina, influyen la velocidad de sedimentación, cuando los anticoagulantes se usan en -- concentraciones adecuadas, se elimina esta influencia en forma aceptable.

Deben estar calibrados los tubos para que no haya alteraciones, así como la longitud del tubo y además la inclinación de los mismos.

Existen tres etapas en la VSG: 1.- Un período inicial que dura unos minutos, 2.- Un período de media a dos horas aproximadamente según la longitud del tubo, durante el cual ocurre la sedimentación a la velocidad más o menos constante y 3.- Descenso a menor velocidad durante el cual se concentra la columna de eritrocitos en sedimentación; la segunda fase es la más importante.

## Método de Wintrobe y Landsberg.

1.- En un tubo de ensayo que contenga 2 mg - de mezcla seca de Heller Paul- Wintrobe ( 6 mg de oxalato de amonio más 4 mg de oxalato de potasio -- para 5 ml) por cada ml de sangre, se mezclan por -- inversión suave.

Se puede usar también secuestreno (EDTA, sales de litio o potasio), la heparina no es adecuada ya que disminuye la velocidad de sedimentación.

2.- Con una jeringa o pipeta capilar seca, - se coloca 1 ml de sangre citratada en un tubo de hematocrito de Wintrobe el cual se llena desde el fondo (para evitar la formación de burbujas) hasta la marca de 100 mm y luego se coloca en una posición - estrictamente vertical, se deja a la temperatura -- del laboratorio (22 y 27° C) durante una hora y al final se lee la VSG mediante la longitud de la columna del plasma separada de las células.

## Valores Normales.

	Límites	Promedios
Hombres	0-7 mm	4 mm
Mujeres	0-15 mm	10 mm
Niños	1-15 mm	5-10 mm

Este método tiene las ventajas de que es sencillo, se requiere poca cantidad de sangre, no hay dilución, además, puede calcularse después de calcular la VSG el hematocrito y en el plasma sobrenadante se pueden hacer otras pruebas.

Pero también tiene sus desventajas, debido a lo corto de la columna y al uso del oxalato como -- anticoagulante; el método de Wintrobe, no constituye un índice tan sensible de la actividad de enfermedades, además el exceso de oxalato hace que disminuya.

#### 15) RECUENTO DE LEUCOCITOS

El recuento de leucocitos se efectúa, ya que como existió una infección estreptocócica, el número de leucocitos se halla elevado.

#### 16) PRUEBA DE ESTIMULACION LINFOCITICA.

Se ha informado que la estreptolisina S, que es una toxina hemolítica, hace que los linfocitos humanos de sangre periférica cultivados in vitro, se conviertan en células voluminosas semejantes a leucoblastos que estimulan la mitosis.

Se informó de disminución de este efecto, en pacientes con fiebre reumática o de otros enfermos. Después se comprobó que la estreptolisina S es inactivada en este sentido, pero que los preparados de estreptolisina S siempre están contaminados por -- otro producto estreptocócico del cual depende el estímulo de los linfocitos y que se ha llamado mitógeno estreptocócico. Se ha comprobado la disminución de la transformación de los linfocitos, en --

pacientes con fiebre reumática expuestos a estos - preparados estreptocócicos, pero se ha observado - disminución semejante en otras enfermedades.<sup>50</sup>

#### 17) EXAMEN DE ORINA.

Se recomienda hacer un análisis de orina ya que se ha observado que en los reumáticos agudos -- hay cierta proteinuria y aumenta el número de elementos formes de la orina en la fase álgida de la enfermedad.

Existen pruebas tales como la anti-DPNasa -- (anti-difosfopiridin-nucleotidasa) más recientemente llamada (anti-nicotinamida adenina dinucleotidasa) más recientemente llamada (anti-nicotinamida -- adenina dinucleotidasa y la prueba anti-DNasa (anti-desoxirribonucleasa B), las cuales son útiles y -- tal vez más fáciles de efectuar y más duplicables -- que el título de antihialuronidasa y antiestreptolisina. La prueba anti-DNasa B es particularmente interesante porque parece seguir elevada durante más -- tiempo que los otros anticuerpos estreptocócicos.

Esta peculiaridad puede aprovecharse en el -- estudio de pacientes de Corea de Sydenham o de carditis aislada.

Entre las pruebas de laboratorio se tiene -- que considerar cuáles son los valores normales.

PRUEBA	VALOR NORMAL
Exudado faríngeo	Negativo a la aparición de Streptococcus beta hemolítico.
Antiestreptolisinas. (ASTO)	Valores de 200 U.I. ó <u>menores</u> .
Antihialuronidasa (AH)	Valores de 250 U.I.
Antiestreptoenzimas.	Valores de 166 U.I.
Antidesoxirribonucleasa B estreptocócica.	Desaparición del color.
Antinicotinamida adenindinucleótido estreptocócica.	Valores de 200 U.I./ml
Anticuerpos anticarbohidrato del Grupo A.	Negativa.
Antígeno cardíaco de reacción cruzada.	Negativa.
Prueba de hemaglutinación pasiva para determinar anticuerpos contra miosina.	Negativa.
Prueba de inmunodifusión radial para determinar anticuerpos contra miosina.	Negativa.

PRUEBA	VALOR NORMAL
Proteína C reactiva.	Negativa
Factor Reumatoide	Negativa
Velocidad de Sedimentación	
Wintrobe	
Varones	0-15 mm/hr
Mujeres	0-20 mm/hr
Leucocitos	5000-10.000 mm <sup>3</sup>

## III RESUMEN Y COMENTARIOS

Los estreptococos son microorganismos que -- forman parte del grupo de bacterias piógenas. Estos microorganismos están ampliamente distribuidos en la naturaleza. El microorganismo necesita de medios ricos para su crecimiento, y su capacidad de producir hemólisis en el medio de gelosa-sangre sirvió de base a Brown en 1919 para dividirlos en alfa, -- beta y gamma hemolíticos.

Salton y McCarty fueron los primeros en estudiar el carbohidrato específico del grupo y Lancefield se basó en dicho componente del estreptococo, para la clasificación serológica dividiéndolos en grupos A-O, recientemente se han descrito nuevos grupos llegando al grupo R.

El estreptococo beta hemolítico es el más importante desde el punto de vista médico por las secuelas que ocasiona.

Es uno de los gérmenes más patógenos para el hombre, y elabora más de 20 productos tóxicos extracelulares, principalmente los estreptococos del --- Grupo A; entre los productos extracelulares se encuentran la estreptolisina O y S, enzimas como la hialuronidasa, estreptoquinasa, desoxirribonucleasa, proteinasa, ribonucleasa, amilasa y difosfopiridiny cleotidasa. Todas las anteriores, excepto la estreptolisina S, son antigénicas y capaces de inducir la formación de anticuerpos que se pueden descubrir en el suero de los pacientes y por lo tanto de gran -- utilidad clínica y diagnóstica para determinar una infección estreptocócica.

Se ha observado que los anticuerpos hacia la proteína M (componente de la pared celular) dejan una larga inmunidad y dicha propiedad se ha tratado de aprovechar para la elaboración de vacunas específicas, pero aún existen varios problemas para resolver a este respecto.

Desde hace bastante tiempo se describió por primera vez el estreptococo presente en exudados purulentos, más adelante, en la fiebre puerperal, en abscesos locales, celulitis, etc., y se vió que el microorganismo era responsable de una gran variedad de enfermedades.

Los padecimientos estreptocócicos se presentan en todas las razas, en ambos sexos y en todas las edades ocurriendo en cualquier estación del año y en todo el mundo. Sin embargo, la frecuencia y las manifestaciones clínicas se ven alteradas por algunos factores epidemiológicos.

Los estreptococos penetran al organismo principalmente, a través de las vías respiratorias superiores, se alojan en las mucosas o en otros tejidos y se pueden conservar viables durante períodos cortos.

Dentro de las enfermedades estreptocócicas tenemos a la escarlatina, faringitis, amigdalitis, sinusitis, otitis media, peritonitis, meningitis, erisipela y muchas otras.

La faringitis es de gran importancia, ya que se ha visto que en personas susceptibles después se produce la fiebre reumática.

Los padecimientos post-estreptocócicos son-

importantes por su alta morbilidad y complicaciones inmediatas, en este grupo tenemos la fiebre reumática, la glomerulonefritis y el escleroderma del adulto (en esta enfermedad no está aclarada su etiología y por lo tanto no se puede decir con certeza -- que la produzca el estreptococo) estas enfermedades son llamadas también secuelas no supurativas.

La fiebre reumática puede ser consecuencia de una infección de vías respiratorias altas causada -- por estreptococos beta hemolíticos del Grupo A (principalmente faringitis, se han visto casos de que es precedida por bronquitis en casos muy raros, así -- como de otitis).

Dentro de las pruebas de laboratorio, se ha visto que el diagnóstico exacto de faringitis estreptocócica, es actualmente de gran importancia -- práctica, principalmente a causa de que se ha comprobado que eliminar los estreptococos de la garganta impide la fiebre reumática. Para esto se hace -- un cultivo del exudado faríngeo para aislar el estreptococo; se utiliza un medio de gelosa-sangre lo cual ayuda a la identificación del estreptococo beta hemolítico; cuando hay duda se recomienda hacer -- la tipificación así como ver a que grupo pertenece -- el estreptococo causante de la enfermedad.

El título de antiestreptolisinas cuando excede de 200 U.I. es indicio de infección estreptocócica activa; se han elaborado un gran número de hipótesis que relacionan la actividad de la estreptolisina O en enfermos de fiebre reumática pero se -- considera que la respuesta en estos pacientes no -- difiere mucho de la que presentan individuos normales o con infecciones agudas. Esta prueba, junto -- con la prueba de la antihialuronidasa, PCR, así co-

mo la velocidad de sedimentación, son las pruebas - que se usan rutinariamente en el diagnóstico de -- fiebre reumática, pero dichas pruebas no son específicas, debido a que se ha observado que durante la fiebre reumática hay una elevación en los niveles - de anticuerpos contra ciertos componentes del es--- treptococo, se recomiendan pruebas como la antideso xirribonucleasa B (DNasa B), la cual es particularmente interesante porque parece seguir elevada ma-- yor tiempo que otros anticuerpos estreptocóccicos, lo cual puede aprovecharse en el estudio de pacien-- tes de Corea de Sydenham o de carditis aislada, es-- tos anticuerpos se desarrollan como respuesta a la desoxirribonucleasa estreptocóccica la cual no es - una enzima que despolimeriza al DNA. Otras pruebas son para determinar anticuerpos contra el polisacárido del grupo A (ACHO), así como las pruebas de hema glutinación pasiva para determinar anticuerpos con-- tra corazón humano, o bien para determinar anticuer-- pos contra miosina; otras pruebas de gran interés - también son las basadas en la inmunofluorescencia, como la sarcolémica y subsarcolémica (SSL) y la in-- termiofibrilar (IMF); estas pruebas se han usado -- para determinar que la fiebre reumática es una en-- fermedad autoinmune y rara vez se usan para el diag-- nóstico de la infección estreptocóccica.

Como ya se mencionó, estas pruebas se comple-- mentan con la determinación del índice de veloci--- dad de sedimentación, el cual está aumentado, sin - embargo una velocidad de sedimentación acelerada - puede estar asociada con tantos y diferentes proces-- sos que producen lesión celular o alteraciones en -- las proteínas sanguíneas, que rara vez es útil como para establecer el diagnóstico preciso de una in-- fección, aunque puede ser útil en la valoración de la respuesta terapéutica, así también la prueba de la proteína C reactiva, (PCR) que es una sustancia

que se encuentra en el suero normal, en cantidades no detectables por las técnicas que se usan para su identificación, pero se encuentra aumentada frecuentemente en el suero de pacientes con procesos inflamatorios, neoplásicos o necrosantes por lo que esta prueba es inespecífica para demostrar la presencia de inflamación o daño tisular, suele ser positiva en todos los pacientes con fiebre reumática. Otra prueba muy utilizada para el diagnóstico de este padecimiento, es la del factor reumatoide, dicho factor es una inmunoglobulina M que semeja un anticuerpo que reacciona con IgG humana. En más de la mitad de los pacientes con endocarditis bacteriana se muestra un título muy alto de tal factor reumatoide.

En la prueba de recuento de leucocitos aparece un número total entre 22,000 y 24,000 por  $\text{mm}^3$  y hay aumento de polimorfonucleares.

En un análisis de orina, se observa que en los pacientes con cuadro reumático agudo hay cierta proteinuria y aumenta el número de elementos formos de la orina en la fase álgida de la enfermedad.

Hay que tomar en cuenta que el diagnóstico de la fiebre reumática está basado, aparte de las pruebas de laboratorio, en el cuadro clínico, tomando como base los Criterios de Jones. Además se ha comprobado que un 60% de casos de fiebre reumática no tienen una infección estreptocócica bien definida.

En varios países muy desarrollados, la incidencia de la fiebre reumática ha disminuido considerablemente durante los últimos decenios.

En algunos países, por ejemplo, apenas si se ven casos esporádicos y como consecuencia de ello, existe ahora la tendencia a menospreciar la importancia sanitaria de este padecimiento, en el supuesto de que la enfermedad puede disminuir o incluso desaparecer espontáneamente al mejorar las condiciones sanitarias.

Sin embargo, incluso en las sociedades con un ingreso medio elevado persiste una incidencia -- relativamente alta de fiebre reumática y otras enfermedades endémicas.

Durante un brote epidémico de faringitis el 3% de la población infectada puede presentar un -- ataque reumático; esta cifra disminuye al 0.33% en escolares tratados durante las épocas endémicas.

Se ha visto que esta enfermedad se presenta sobre todo en la niñez, aunque se ha observado que también ocurre en personas adultas.

Está demostrado que el ataque repetido de -- faringitis en individuos susceptibles, con antecedentes reumáticos, lleva a los enfermos a una -- caída de consecuencias graves. Existe cierta susceptibilidad a la fiebre reumática, la cual es difícil de explicar, y se dice que tal vez se deba a un factor hereditario el cual radica en un gene autosómico, ya que se ha visto, por lo que respecta a México, que a pesar de haber mejorado las condiciones de vivienda en muchos lugares, la incidencia de la fiebre reumática sigue elevada, pero esto todavía -- está por demostrarse totalmente.

Debido a que esta enfermedad es de tipo auto inmune, ya que existe reacción cruzada de ciertos

antígenos del corazón con ciertos componentes del estreptococo, debe controlarse con una terapia adecuada, la cual está basada en penicilina u otros antibióticos si el sujeto es alérgico a ésta. Si una persona ha contraído la fiebre reumática, es fundamental prevenir el desarrollo o el empeoramiento de la cardiopatía reumática, lo cual se hace por medio de la administración de penicilina a intervalos regulares durante períodos prolongados.

Se puede decir que los estreptococos son microorganismos de gran complejidad y de gran interés. La fiebre reumática es una respuesta complicada y todavía "misteriosa" en muchos aspectos del organismo humano hacia la infección estreptocócica, además es difícil demostrar las dificultades envueltas en la prevención de un primer y segundo ataque de fiebre reumática, ya sea por mala evaluación del paciente o por irresponsabilidad de éste existiendo todavía el gran problema de poder desarrollar una vacuna antiestreptocócica.

Los casos de fiebre reumática han disminuido en otros países fundamentalmente por la labor que se ha hecho en el diagnóstico y tratamiento de las infecciones estreptocócicas. En nuestro medio, se siguen viendo actualmente tantos casos de fiebre reumática como hace 5 ó 6 años, a pesar de los esfuerzos hechos por las instituciones médicas, pues aunque se ha tratado de educar a padres, así como a maestros para que no tomen como carente de importancia el que los niños presenten frecuentemente amigdalitis y acudan inmediatamente al doctor, se tiene el problema de que dicha enfermedad a veces se presenta sin que estén claramente definidos los síntomas por lo cual es difícil diagnosticarla.

## IV CONCLUSIONES

El estreptococo beta hemolítico del Grupo A es un microorganismo que forma parte del grupo de bacterias piógenas; ha llamado la atención grandemente por las secuelas que ocasiona.

La clasificación serológica del estreptococo fué basada en el estudio del carbohidrato específico de grupo. Se han hecho intentos por elaborar una vacuna, pero aún existen problemas para llevar a cabo este proyecto.

De las enfermedades estreptocócicas es de gran importancia la faringitis, pues se ha visto que en personas susceptibles después se produce fiebre reumática; esta secuela es de gran trascendencia, debido a que ataca el corazón, es una enfermedad que aparece principalmente en la niñez y es de tipo autoinmune, ya que existe reacción cruzada entre los componentes del corazón y los componentes de la pared celular del estreptococo. Además se ha observado que existe cierta predisposición familiar por lo que se cree que hay un factor hereditario que favorece la presencia de la fiebre reumática.

Se han elaborado pruebas de laboratorio que ayuden al diagnóstico de esta enfermedad, aunque claro está, esto será determinado por el diagnóstico clínico el cual se hace apejándose a los criterios de Jones.

La incidencia de la fiebre reumática en México es elevada y se espera que en un futuro disminuya, para lo cual requiere de la cooperación de los

padres de familia, es decir, que acuda al doctor -- cuando sus hijos tengan una infección en la garganta para prevenir dicha enfermedad, así como elevar las condiciones sanitarias.

## IV DEFINICION DE CONCEPTOS

**Absceso.**- Acumulación de pus en una cavidad anormal formada por la desintegración de los tejidos. - periamigdalino.- referente a los tejidos --- que rodean las amígdalas.

**Angina.**- En general, inflamación del istmo - de las fauces, más comunmente inflamación localizada en las amígdalas o partes adyacentes. //- de - - Ludwig infectivosubmaxilar.

**Artralgia.**- Neuralgia o dolor en una articulación.

**Carditis.**- Inflamación del corazón. MIOCARDITIS, PANCARDITIS. // - interna. Endocarditis.

**Corea.**- Es una de las consecuencias de la -- fiebre reumática; el lugar de la Corea en el ciclo de la infección estreptocócica está situado des---pués del reumatismo articular agudo, 2 a 5 meses -- después de la angina y de la poliartritis.

La corea puede ser también aislada como lo son a veces otras lesiones extraarticulares del reumatismo articular agudo.

**Coriza.**- Afección catarral de la mucosa nasal, asociada con derrame mucoso o mucopurulento por los orificios nasales. Puede ser aguda y crónica.

**Cripta.**- Hueco pequeño o folículo; orificio de este hueco. // - amigdalina. depresiones afractuosas o fositas en la superficie de la amígdala - que penetra a veces hasta la cáula; los cuales contienen células, bacterias, pus, etc.

**Endocarditis.**- Inflamación aguda o crónica - del endocardio; se manifiesta en el curso del reumatismo articular agudo y enfermedades infecciosas; - evoluciona con disnea, palpitaciones y soplo peculiar sistólico, muchas veces pasa al estado crónico.

**Empiema.**- Formación o derrame de pus en una cavidad preexistente, especialmente en la pleura.// Nombre de la operación por la que se da salida a -- este pus.

**Estenosis.**- Estrechez patológica congénita o accidental de un orificio o conducto.

**Exantema.**- Erupción, mancha cutánea.// enfermedad eruptiva y erupción que caracteriza esta enfermedad, especialmente las erupciones que desaparecen por la presión del dedo, como en el sarampión y la escarlatina.

**Edema.**- Acumulación de líquido seroalbuminoso en el tejido celular, debido a diversas causas: disminución de la presión oncótica del plasma por - reducción de las proteínas; aumento de la presión - hidrostática en los capilares, por insuficiencia -- cardíaca; mayor permeabilidad de las paredes capilares, u obstrucción de las vías linfáticas.

La hinchazón producida se caracteriza por -- conservar la huella de la presión del dedo.

**Fiebre reumática activa.**- Esta se define tomando en cuenta el criterio de T.J. Jones quien estableció que a todo cuadro patológico que, no co-- existiendo con otra enfermedad bien caracterizada - que tuviera gran repercusión general, presentará al

menos dos de los datos mayores, o uno de los datos mayores y dos de los menores, (los datos mayores - y menores ya se mencionaron antes).

Fiebre reumática inactiva.- Cuando se tuvo - un cuadro clínico en el pasado que se apegue al criterio de Jones.

Hipertensión.- Aumento del tono o tensión -- en general, especialmente aumento de la presión -- vascular o sanguínea.

Miocarditis.- Inflamación del miocardio. // aguda. afección generalmente consecutiva a las enfermedades infecciosas, caracterizada histológicamente por la degeneración de la fiebre muscular y - clínicamente por el colapso, taquicardia con ritmo fetal y apagamiento de los ruidos cardíacos.

Nódulo.- Pequeña eminencia. // - de Aschoff. Lesión específica de fiebre reumática que consiste en pequeñas zonas de necrosis perivascular descrita en el miocardio.

Pericarditis.- Inflamación del pericardio -- caracterizada por fiebre ligera, dolor precordial, tos, disnea y taquicardia. Al comienzo de la enfermedad se aprecia por auscultación un brote isócrono con los latidos cardíacos; a veces, frémito a la palapación. Al sobrevenir derrame se observa abombamiento de la región precordial y una zona de matidez de base inferior; hay, además apagamiento de los ruidos cardíacos.

Piodermia.- Dermatitis supurativa cualquiera: furúnculo, impétigo, sicosis, etc. // afección de la infancia caracterizada por la formación de --

abscesos múltiples en la piel.

**Poliartritis.**- Inflamación simultánea de varias articulaciones.

**Soplo.**- Ruido de soplo percibido por auscultación// - orgánico. Soplo debido a una alteración física del corazón o de los vasos.

**Taquicardia.**- Aceleración de los latidos -- cardíacos.

## BIBLIOGRAFIA

- 1.- Amezcua, F.C. y S.O. Aranda. La Fiebre Reumática en el escolar, su prevención en el IMSS, Sal. Públ., Méx., 13: 477, 1971.
- 2.- Ayoub, E. M. y Z.W. Wannamaker. Evaluation of the streptococcal desoxyribonuclease B and diphosphopyridine nucleotidase antibody test in rheumatic fever y acute glomerulonephritis. *Pediatrics*. 29: 527, 1968.
- 3.- Ayoub, E.M. y D. Taranta, Effect of valvular surgery on antibody to the Group A Streptococcal carbohydrate. *Circulation*, 50 144, 1974.
- 4.- Bailey, R. W. y E.G. Socott, Diagnostic Microbiology. 4a. Ed. The C. V. Mosby Company Saint Louis, 1974, págs. 55-57, 60-62, 116-125, 333-335.
- 5.- Basila, H. y H. Neri. Algunos Aspectos de la epidemiología de la fiebre reumática en México. *Bol. Méd. Hosp. Infant. (Méx.)* 12: 213, 1960.
- 6.- B.B.L. Manual de Procedimientos de Laboratorio y de Productos. Editores Asociados, S.A. 1974, pág. 6.
- 7.- Beeson, P. B. y W. McDermott. Tratado de Medicina Interna, 13a. Ed. Interamericana, Méx. 1972, págs. 170-186.
- 8.- Beteta, C. Comparación de tres métodos de tratamiento para la erradicación del estreptococo beta hemolítico. Tesis para obtener el título de Médico Especialista en Pediatría.

tría. Hosp. Infantil de México. 1968.

- 9.- Blair, J.E., H. Lennetti y Truant. Manual - of Medical Microbiology. 2a.Ed. American So- ciety for Microbiology. Williams & Wilkins- Co. Maryland, 1970, págs. 345-350
- 10.- Branson, D. Methods in Clinical Bacteriolo- gy. 2a. Ed. Charles C. Thomas Publishers, - Illinois, 1972, págs. 234.
- 11.- Bennington, F. H. El laboratorio en el Diag- nóstico Clínico, 2a. Ed. Prensa Médica Mexi- xicana; 1976, págs. 130.
- 12.- Bodily, L. H., E.L. Updyke y J. O. Mason.-- Diagnóstico Procedures for Bacterial, Myco- tic and Parasitic Infections. 5a. Ed. Ameri- can Public. Health Association Inc. New --- York. 1970, págs. 159-179.
- 13.- Burdon, K.L.R. P. Williams, Microbiología.- la. Ed. Publicaciones Cultura 1974, págs. - 132-530.
- 14.- Burton, A., C.M. Dudding, y M.E. Ayoub, Per- sistence of streptococcal Group A. Antibody in patients with rheumatic valvular disea- - se. J. Exper. Med. 128: 1081, 1968
- 15.- Carol, J. D.M. Baker, L. Dennis, y D. M. -- Kasper. Correlation of maternal antibody de- ficiency w'ith susceptibility to neonatal -- Group B streptococcal infection the New En- gland. Journal of Medicine. 294: 753, 1976.
- 16.- Chávez, R. L. Cardioneumología, Fisiopatolo- gía y Clínica, Vol. I, 1a. Ed. UNAM (Méx.)- 1973, págs. 819-811.

- 17.- Davis, B. D., R. Dulbecco, 4. Eisen, Microbiology, 2a. Ed. Harper & Row Publishers. Maryland. 1973, pág. 356-362.
- 18.- Davidsohn, I. y J.B. Henry. Diagnóstico Clínico por el Laboratorio. 5a. Ed. Salvat. -- 1972, págs. 567.
- 19.- Diccionario Terminológico de Ciencias Médicas. 10a. Ed. Salvat. 1968.
- 20.- Dietmar, G.B., E. Kjems, M. Cramer. Rabbit family of restricted high responders to the streptococcal Group A variant polisaccharide. J. Exp. Med. 138: 645, 1973
- 21.- Difco Manual of Dehydrated Culture Media -- and Reagents for Microbiological and Clinical Laboratory Procedures. 9a. Ed. Michigan USA. 1953.
- 22.- Dodge, B.K., F. R. Badin. Acute Rheumatic fever in children J. Am. Med. As. 224: 1953, 1973.
- 23.- Domínguez, R. G., C.A. Espinosa, J. R. Castillo. Prevención de la fiebre reumática en el Municipio de Calpulalpan, Bol. Méd. Hosp. Infat. (Méx.) 17: 421, 1975.
- 24.- Giono, S. A., S. Barraza, H. A. Castro. El estreptococo y la Fiebre reumática, Rev. Lat. Emer. Microbiol. 16: 111, 1974.
- 25.- Goldstein, I., B. Halpoern, L. Robert Immunological relationship between Streptococcus A polisaccharide and the structural glycoproteins of heart valve. Nature 7: 44, 1967.
- 26.- Guasch, J., E. Correa, J. Sánchez. Preven---

ción de la fiebre reumática. Bol. Méd. Hosp. Infant. 28: 613, 1971

- 27.- Harrison, T. K., D. R. Adams. Medicina Interna, 3a. Ed. La Prensa Médica Mexicana, (Méx) 1970, págs. 1007.
- 28.- Hinojosa, R. H. Aislamiento del estreptococo beta hemolítico en macerado de amígdalas. Tesis para obtener el título de Médico Especialista en Pediatría. Hosp. Infant. de México, 1968.
- 29.- IMSS. Anuario de Actualización en Medicina.- Reumatología, Méx. 1975.
- 30.- IMSS. Manual de Procedimientos. Laboratorio-Clinico, 1971.
- 31.- IMSS. Programa de Prevención y Control de la Fiebre Reumática. Méx. 1977.
- 32.- ISSSTE. Manual de Procedimientos de Bacteriología. 1976.
- 33.- Jawetz, E. J. Melnick. Manual de Microbiología Médica. 5a. Ed. El Manual Moderno, Méx. - 1973. págs. 193-200.
- 34.- Kaplan, M.H., M. Meyeserian. An Immunologi--cal cross-reaction between Group A Streptoco--ccal cells and human heart tissue. Lancet I: 706, 1962.
- 35.- Kaplan, M. H., H.K. Svec. Immunologic, rela--tion of streptococcal and tissue antigens, --and Presence in human sera of streptococcal\_antibody cross-reactivo with heart tissue. - Association with streptococcal infection, --

rheumatic fever, and glomerulonephritis. J.-  
Exp. Med. 119: 651, 1964.

- 36.- Kolmer, J A. H.E. Spaulding, W.H. Robinson. Métodos de Laboratorio, 5a. Ed. Interamericana, Méx. 1955, págs. 424-472.
- 37.- Krause B. M., D.M. Maclyn. Studies on the -  
Chemical structure of the streptococcal cell  
wall. J. Exp. Méd. 114: 127, 1961.
- 38.- Lancefield, C. R. A serological differen--  
tiation of human and other groups of hemoli--  
tic streptococci. J. Exp. Med. 47: 571, ---  
1958.
- 39.- Lynch, M.J. S.A. Raphael. Métodos de Labora--  
torio, 2z. Ed. Interamericana, Méx. 1972, -  
págs. 933-935, 1006-1007.
- 40.- Mancini, G., A.U. Carbonara, J. F. Heremans.  
Immunochemical quantitation of antigens by--  
simple radial inmunodifusión. Immunochemis--  
try, 2: 235, 1965.
- 41.- Mendoza, F., H. R. Neri. Epidemiología de la  
fiebre reumática. Sal. Públ. Méx. 11: 83, --  
1958.
- 42.- Nelson, J., E.M. Ayoub, L.W. Wannamaker. ---  
Streptococcal anti-desoxyribonuclease B; Mi--  
crotechnique determination. J. Lab. Clin. Med.  
71: 867, 1968.
- 43.- Nestlé Anales. Inmunopatología, Méx. 1968, -  
págs. 19-45.
- 44.- Neri, H.R. Epidemiología de las enfermedades  
del corazón en México. Gaceta Médica de Méx.  
9: 183, 1959

- 45.- Neri, H.R. Investigación de la fiebre reumática en 29, 576 escolares de la ciudad de México. Sal.Púb. Méx., 8: 1966.
- 46.- Neri, H. R., W.A. Fujigaki. Programa Nacional de Control de la fiebre reumática. Sal. Púb. Méx. 10: 743, 1962.
- 47.- Onkelins, E., W. Meudermans, M. Joniau, R.-Lontie. Glutaraldehydes a coupling reagent in pasive haemagglutination. Inmunol. 16: 35 1969.
- 48.- Pelayo, C., J. S. Arias, P.R. Tamayo. Texto de Patología, 2a. Ed. La Prensa Médica Mexicana, 1971, págs. 114-116.
- 49.- Philip, A. B. Clínica Pediátrica de Norteamérica. Cardiología. la. Ed. Interamericana. 1971. págs. 484.
- 50.- Philip, A. B. Clínica Pediátrica de Norteamérica. Diagnóstico de Laboratorio. la. Ed. Interamericana. 1971, págs. 145-158.
- 51.- Rodríguez, S. R. Actualización de nuestros conceptos sobre la fiebre reumática, Rev. - Méx. de Pediatría. 45: 271, 1976.
- 52.- Rodríguez, S. R. Algunos problemas en el -- diagnóstico y tratamiento de la fiebre reumática. Bol. Méd. Hosp. Infant. (Méx.), 26: 419, 1969.
- 53.- Rodríguez, S. R. Diagnóstico y Tratamiento de las infecciones estreptocócicas. Bol. - Méd. Hosp. Infant. (Méx.) 25: 493, 1969.
- 54.- Rodríguez, S. R. Errores y Creencias más -- frecuentes en el diagnóstico de la fiebre -