

UNIVERSIDAD IBEROAMERICANA
INCORPORADA A LA U. N. A. M.
FACULTAD DE QUIMICA BERZELIUS

*Reacción de Inhibición de Hemo-
aglutinación para la Investigación
de Antígenos Somáticos 9.12 en
Materias Fecales*

TESIS PARA OPTAR AL TITULO DE
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

MARGARITA DEL REAL OÑATE

MEXICO, D. F. - 1959



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.

DEDICO ESTE TRABAJO
A MIS PADRES, con gratitud y cariño.

Al Sr. Profesor Dn **JULIO CARRILLO**.

Al Sr. Dr. Dn. **MANUEL IGNACIO PEREZ ALONSO.**

Al Sr. Dn. **LUIS M. VERA**

AL HOSPITAL INFANTIL

A MI ESCUELA

A MIS MAESTROS.

A MIS COMPAÑEROS.

Agradezco a los Sres. Doctores
Don **JESUS KUMATE**
Don **JOAQUIN CRAVIOTO**, y al
Sr. Profesor Don **JORGE OLARTE**
su ayuda en la elaboración de esta Tesis.

SUMARIO

| | Pág |
|--------------------------|-----|
| INTRODUCCION | 11 |
| MATERIAL Y METODOS | 13 |
| RESULTADOS | 19 |
| DISCUSION | 29 |
| RESUMEN | 31 |
| REFERENCIAS | 33 |

Reacción de inhibición de Hemoaglutinación para la investigación de antígenos somáticos 9.12 en materias fecales.

INTRODUCCION

Después de las investigaciones básicas de hemoaglutinación en virus hechas por Hirst (1) McClellan y Hare (2), demostrando que el virus de la influenza, puede producir hemoaglutinación de los glóbulos rojos y que ésta se puede inhibir por anticuerpos específicos. Keogh y col. en 1947 (3) descubren un tipo fundamentalmente diferente de hemoaglutinación, consistente en absorber el antígeno obtenido de **Hemophilus influenza** sobre la superficie del glóbulo rojo y aglutinación subsecuente al adicionar e antisuero bacteriano homólogo.

Esta reacción de hemoaglutinación indirecta, condicionada o pasiva y su modificación hemolítica por medio del complemento, se ha demostrado con otros antígenos bacterianos, resultando extraordinariamente sensible para encontrar y titular anticuerpos.

En un resumen reciente Neter (4) analizando los tipos de hemoaglutinación bacteriana, reconoce las diferentes modalidades de estas reacciones como la inhibición de hemoaglutinación, la modificación de los glóbulos rojos por ácido tánico y subsecuente absorción del antígeno, la absorción de sustancias proteicas por enlaces químicos, el uso de anticuerpos incompletos que sirven como portadores (schleppers), enzimas que alteran la superficie del glóbulo rojo, y finalmente la capacidad que tienen algunas bacterias para producir cambios en el suero normal y adquirir éste una nueva capacidad hemoaglutinante.

Aprovechando todas estas formas de hemoaglutinación otros autores han hecho diversos estudios para conocer problemas inmunológicos tales como la investigación de anticuerpos completos e incompletos para la albúmina de huevo (5), las propiedades aglutinantes de *Escherichia coli* (6). **Hemophilus aegyptius** (7) y hongos (8), la investigación de anticuerpos para diferentes lipopolisacáridos y antígenos bacterianos (9). (10), (11), (12), (13), (14), (15), (16), la investigación de antígenos en la orina (17), anticuerpos contra el bacilo tuberculoso (18), etc., etc.

El interés principal de todos estos trabajos ha sido dirigido fundamentalmente, hacia la investigación de anticuerpos a fin de ayudar a establecer el diagnóstico de diferentes enfermedades. Sin embargo, poco se ha hecho para buscar por inhibición de hemoaglutinación o por otras técnicas, la presencia de antígenos que pudiesen servir para diagnosticar rápida o precozmente algunos padecimientos infecciosos.

Como es sabido uno de los recursos de laboratorio para el diagnóstico de la fiebre tifoidea es el aislamiento de **Salmonella typhosa** de materias fecales; sin embargo, este procedimiento requiere de cierto número de días para obtener resultados, por otra parte, como la generalidad de los enfermos ha recibido terapéutica por antibióticos previa a la toma de producto, la oportunidad de aislar **Salmonella** disminuye notablemente por la acción bacteriostática del medicamento.

Considerando lo anterior en el presente trabajo, se comparan la técnica de inhibición de hemoaglutinación con el coprocultivo para la investigación de antígenos somáticos 9.12 en materias fecales.

MATERIAL Y METODOS

Se estudiaron materias fecales obtenidas de 65 niños divididos en 3 grupos comprendiendo el 1º 30 niños, 20 del sexo masculino y 10 del femenino, con edades entre 1 mes y 12 años; el 2º 8 niños y 7 niñas con edades entre 1 mes y 2 años; el 3º 12 niños y 8 niñas entre 4 y 12 años de edad.

El criterio seguido para seleccionar las materias fecales del 1er. grupo sin enfermedad entérica, se basó en el estudio bacteriológico de las heces, de las que no se aisló ningún germen reconocido como patógeno.

La demostración bacteriológica de Shigellas y Salmonellas o de coli enteropatógenos (con exclusión de **Salmonella typhosa**) sirvió para aceptar las materias fecales de niños pertenecientes al 2º grupo.

Las muestras de materias fecales del 3er. grupo correspondieron a niños con diagnóstico probable de fiebre tifoidea que se comprobó posteriormente por hemocultivo y/o coprocultivos positivos a **Salmonella typhosa** y reacción de Widal que presentara títulos ascendentes de anticuerpos. Cuatro casos de este grupo (M.A.V.; A.R.C.; A.L.P.; J. C. M.) con estudio bacteriológico consistentemente negativo se aceptaron como fiebre tifoidea por presentar el cuadro clínico sugestivo de esta enfermedad y reacción de Widal positiva. (Ver tabla 7).

El estudio bacteriológico de las heces se practicó en los grupos 1º y 2º en una sola ocasión. Para este último grupo la muestra se tomó durante la etapa en que los niños presentaban signos de enfermedad entérica.

En el 3er. grupo, además de los estudios bacteriológicos de las heces se practicó hemocultivo y reacción de Widal en la siguiente forma: coprocultivo 3 veces por semana durante toda la estancia del niño en el Hospital; 3 hemocultivos durante las primeras 24 horas después de su ingreso y posteriormente uno c/semana durante la etapa aguda de la enfermedad; reacción de Widal semanalmente.

De los 20 niños estudiados en este grupo, 4 ingresaron al Hospital con diagnóstico de perforación intestinal por fiebre tifoidea (L.S.M.; R.M.J.; M.B.L.; R.G.F.).

La terapéutica por antibióticos para los niños infectados con proceso entérico fué la siguiente:

En el 2º grupo, 4 casos recibieron Acromicina a dosis de 50mg/kg/día durante 7 días, 9 casos Neomycina 100mg/kg/día durante 8 días y 2 casos Cloramfenicol 50mg/kg/día durante 8 días.

La terapéutica instituída para el 3er. grupo y los días de evolución del padecimiento previos a su ingreso al Hospital se resumen en la tabla 1.

De los casos no perforados doce recibieron cloramfenicol oral a dosis de 100mg/kg/día durante 14 días y 50mg/kg/día por vía intramuscular durante los 3 primeros días de hospitalización.

Tres recibieron por vía intramuscular tratamiento **A** 3.5ml. c/6 horas, tratamiento **B** 1.7 ml. c/6 hs. y medicamento **C** 1.4 ml. c/6 hs. durante 12 días respectivamente.

Finalmente un último caso no recibió antibióticos.

Los 4 casos de fiebre tifoidea complicados con perforación recibieron Cloramfenicol en las mismas dosis que los casos no perforados, además 2 de ellos (L.S.M.; M.B.L.) recibieron Oleandomicina a dosis de 50mg/kg/día, uno (R.M.F.J.) Sigmamycina 75mg/kg/día y el cuarto Tetraciclina (R.G.F.) 50mg/kg/día por vía intramuscular, durante 3 días.

T A B L A 1

ALGUNAS CARACTERISTICAS, DIAS DE EVOLUCION PREVIA
A SU HOSPITALIZACION Y TIPO DE ANTIBIOTICO EMPLEADO
EN LOS NIÑOS DEL GRUPO III.

| Niño | Edad | Sexo | Días de Evo- lución previa | Tipo de antibiótico empleado en en Hospital. |
|----------|---------|-------|-------------------------------|---|
| C.C.P. | 11 años | Fem. | 30 | Cloramfenicol |
| A.A.A. | 10 " | Masc. | 13 | A * |
| G.C.J. | 6 " | Masc. | 10 | Cloramfenicol |
| S.R.J. | 8 " | Fem. | 30 | Cloramfenicol |
| M.L.I. | 4 " | Fem. | 23 | Cloramfenicol |
| I.S.M. | 7 " | Masc. | 15 | Cloramfenicol! Oleandomycina |
| C.G.M. | 9 " | Masc. | 15 | Cloramfenicol |
| P.T.E. | 8 " | Masc. | 16 | Cloramfenicol |
| G.V.I. | 6 " | Fem. | 20 | Cloramfenicol |
| V.M.A. | 5 " | Masc. | 60 | Sin tratamiento |
| R.M.F.J. | 3 " | Masc. | 11 | Cloramfenicol Sigmamycina |
| S.C.C. | 6 " | Fem. | 37 | Cloramfenicol |
| A.T.E. | 4 " | Fem. | 6 | Cloramfenicol |
| M.B.L. | 4 " | Fem. | 20 | Cloramfenicol Oleandomycina |
| C.F.J. | 4 " | Masc. | 13 | Cloramfenicol |
| M.C.J. | 3 " | Masc. | 8 | Cloramfenicol |
| R.G.F. | 5 " | Masc. | 15 | Cloramfenicol Tetraciclina |
| O.B.J. | 4 " | Masc. | 15 | C * |
| P.C.J. | 6 " | Masc. | 7 | B * |
| A.L.C. | 9 " | Fem. | 20 | Cloramfenicol |

* Los medicamentos designados con las letras A, B, C, son antibióticos desconocidos por los autores y que están en estudio en la Sala de Contagiosos IV del Hospital Infantil.

Para la investigación de antígeno 9.12 se siguió la técnica de Neter (11), con algunas modificaciones:

Antisuero.—Se inmunizaron conejos por vía intravenosa, con antígeno hervido de *Salmonella typhosa* 0901 * siguiendo la técnica descrita por Kauffmann (20).

* La cepa 0901 fué proporcionada por el Dr. Williams Ferguson del Michigan Department of Health, U.S.A.

Antígeno.—Para sensibilizar los glóbulos de carnero, se usó la cepa 0901. El crecimiento obtenido de tres tubos de gelosa simple se recogió en suero fisiológico, se mantuvo por una hora en baño de agua hirviendo, se centrifugó en frío a 3000 rpm por 10 minutos, y el sobrenadante se ajustó a densidad óptica de 0.200 empleando una longitud de onda de 6300 Å, en el espectrofotómetro Coleman. (9×10^8 gérmenes por ml.).

Glóbulos rojos de carnero.—Las células preservadas en solución de Alsever (19), se lavan tres veces con suero fisiológico, después del último lavado, a las células empaquetadas se les adiciona el antígeno para hacer una concentración celular de 2.5%, se incuba la suspensión por una hora a 37°C, con agitación constante. Al finalizar la sensibilización, se lavan los glóbulos rojos con suero fisiológico por tres veces, para quitar el exceso de antígeno, ajustándose nuevamente el volumen a 2.5% con suero fisiológico.

Materias fecales.—Se pesa 1 gramo de materias fecales recién emitidas, a las que se adiciona 20 ml. de suero fisiológico, se homogenizan perfectamente, se filtra a través de gasa, el filtrado se hierve en B. M. por una hora, se deja enfriar y se centrifuga en frío a 3000 rpm durante 20 minutos, se desecha el residuo y el sobrenadante se divide en dos porciones, a una de las cuales se le adiciona el antígeno, ajustado a la densidad óptica de 0.066 y dilución posterior 1:10 con suero fisiológico, en proporción de 3:1.

Técnica de la reacción.—En una hilera de tubos de 10 por 75mm. se adicionan 0.2 ml. de antisuero 0901 en diluciones crecientes con módulo de 2 y 0.2 ml. del sobrenadante de las materias fecales. Se agitan los tubos y se incuba en baño Wassermann a 37°C, durante media hora. Se añade 0.2 ml. de la suspensión de glóbulos rojos sensibilizados, se incuba nuevamente por 2 horas, se centrifugan en frío a 1500 rpm durante 1 minuto. Se leen los resultados.

CUADRO NUMERO 1

METODO DE LA REACCION DE INHIBICION DE HEMOAGLUTINACION.

| TUBO | Materias fecales problema | 0.2 ml. de antisuero diluido a | Glóbulos rojos sensibilizados al 2.5% | Glóbulos ro- jos normales al 2.5% | Materias fecales con antígen- o 0901 | Sol. fisioló- gica de Na Cl |
|------|---------------------------------|--------------------------------------|---|---|---|-----------------------------------|
| 1 | 0.2 ml | 1:40 | 0.2 ml | | | |
| 2 | 0.2 | 1:80 | 0.2 | | | |
| 3 | 0.2 | 1:160 | 0.2 | | | |
| 4 | 0.2 | 1:320 | 0.2 | | | |
| 5 | 0.2 | 1:640 | 0.2 | | | |
| 6 | 0.2 | 1:1280 | 0.2 | | | |
| 7 | 0.2 | 1:2560 | 0.2 | | | |
| 8 | 0.2 | 1:5120 | 0.2 | | | |
| 9 | | 1:640 | 0.2 | | | 0.2 ml |
| 10 | | 1:1280 | 0.2 | | | 0.2 |
| 11 | | 1:2560 | 0.2 | | | 0.2 |
| 12 | | 1:5120 | 0.2 | | | 0.2 |
| 13 | | 1:10240 | 0.2 | | | 0.2 |
| 14 | | 1:40 | 0.2 | | 0.2 ml | |
| 15 | | 1:80 | 0.2 | | 0.2 | |
| 16 | | 1:160 | 0.2 | | 0.2 | |
| 17 | | 1:320 | 0.2 | | 0.2 | |
| 18 | | 1:640 | 0.2 | | 0.2 | |
| 19 | | 1:1280 | 0.2 | | 0.2 | |
| 20 | | 1:2560 | 0.2 | | 0.2 | |
| 21 | | 1:5120 | 0.2 | | 0.2 | |
| 22 | | | 0.2 | | | 0.4 |
| 23 | 0.2 | | 0.2 | | | 0.2 |
| 24 | | | | 0.2 ml | | 0.4 |
| 25 | | 1:40 | | 0.2 | | 0.2 |
| 26 | 0.2 | | | 0.2 | | 0.2 |

Como testigo positivo del antisuero, se usan las diluciones de éste, adicionadas de glóbulos rojos sensibilizados.

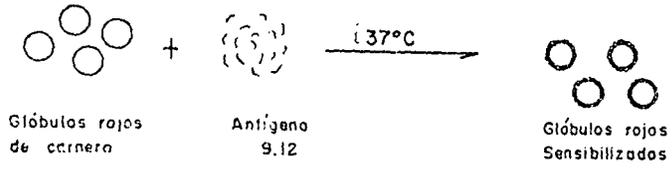
Como testigo positivo de la reacción, se emplea el sobrenadante de las materias fecales adicionadas del antígeno, las diluciones del antisuero y glóbulos rojos sensibilizados.

Testigos negativos: Glóbulos rojos sensibilizados más suero fisiológico; glóbulos rojos sensibilizados más sobrenadante de materias fecales; glóbulos rojos normales más suero fisiológico; glóbulos rojos normales más antisuero 0901; glóbulos rojos normales y sobrenadante de materias fecales. La intensidad de la reacción se mide por una aglutinación total de los glóbulos rojos (tres o cuatro cruces).

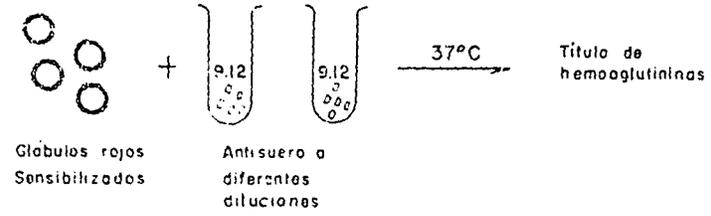
Interpretación.—Se considera positiva la reacción, cuando las materias fecales problema, muestran más del 50% de inhibición en relación con el título de Hemoaglutinación del antisuero usado como testigo positivo.

REACCION DE INHIBICION DE HEMOAGLUTINACION,
CON ANTIGENOS 9.12 EN M.F.

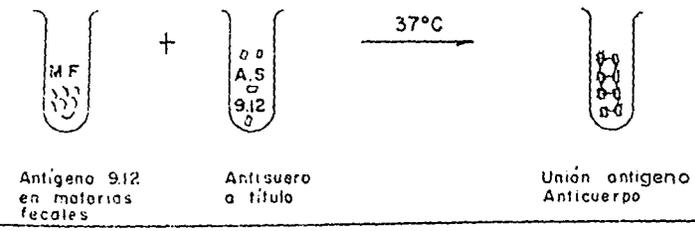
I



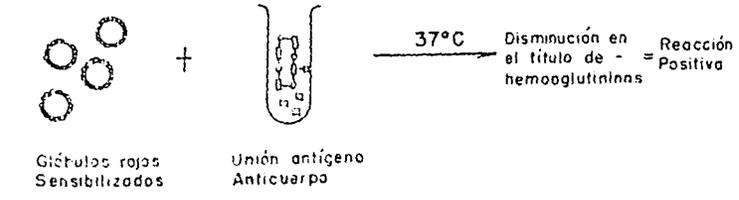
II



III



IV



R E S U L T A D O S

La investigación de antígenos 9.12 en materias fecales del grupo I (sin padecimiento entérico) resultó siempre negativo. En la tabla 2 se presentan los resultados de la inhibición de hemoaglutinación y los resultados del coprocultivo con y sin la adición de *Salmonella typhosa* se anotan en la tabla 3.

T A B L A 2

INVESTIGACION DE ANTIGENOS 9.12 EN MATERIAS FECALES DEL GRUPO I

| Diagnóstico clínico | Nº de casos | Porcentaje de Inhibición de Materias fecales | Hemoaglutinación Materias fecales adicio- nadas de antígeno 0901 |
|---|----------------|---|--|
| Meningitis purulenta | 8 | 0% | 87.5% |
| Desnutrición 3er. grado | 12 | 0% | 87.5% |
| Problemas Quirúrgicos | 8 | 0% | 87.5% |
| Otros procesos infecciosos no enterales | 4 | 0% | 87.5% |

Los resultados mostrados en la tabla señalan que el porcentaje de inhibición encontrado en este grupo fué de cero y que la adición intencionada de antígeno 0901 produce inhibición superior al 50% en el título de hemoaglutinación.

T A B L A 3

RESULTADOS DEL COPROCULTIVO EN NIÑOS DEL GRUPO I.

| Diagnóstico clínico | Nº de casos | Porcentaje de positividad a Salmonella typhosa en coprocultivo | |
|---|-------------|---|---|
| | | Materias fecales | Materias fecales adicionadas de S. typhosa |
| Meningitis purulenta | 8 | 0% | 75 % |
| Desnutrición 3er. grado | 12 | 0% | 41.7% |
| Problemas Quirúrgicos | 8 | 0% | 87.5% |
| Otros procesos infecciosos no enterales | 4 | 0% | 100 % |

En la tabla 3 se muestra que con las técnicas habituales de coprocultivo, no se encontró **Salmonella typhosa** en materias fecales del grupo I, por otra parte que la adición intencionada de **Salmonella typhosa** a las heces demostró positividad variable del 42 al 100%.

T A B L A 4

**INVESTIGACION DE ANTIGENO 9.12 EN MATERIAS
FECALES DEL GRUPO II.**

| Caso | Diagnóstico clínico | Porcentaje de inhibición de hemoaglu- tinación. | |
|--------|-------------------------------|--|---|
| | | Materias fecales sin adición alguna | Materias fecales adi- cionadas de antígeno 0901 |
| C.L. | diarrea enteral infecciosa | 50% | 75% |
| C.M.M. | " " | 0% | 75% |
| D.M. | " " | 50% | 75% |
| S.C.J. | " " | 50% | 75% |
| M.D.M. | " " | 50% | 75% |
| S.L.P. | " " | 0% | 75% |
| F.S. | " " | 50% | 75% |
| C.H.H. | " " | 50% | 75% |
| D.D.J. | " " | 50% | 75% |
| S.S. | " " | 50% | 75% |
| G.H. | " " | 0% | 75% |
| A.C. | " " | 0% | 75% |
| M.R. | " " | 0% | 75% |
| M.L.S. | " " | 0% | 75% |
| G.P.O. | " " | 0% | 75% |

En la tabla 4 se puede apreciar que en 8 casos, el por ciento de inhibición fué de 50, y en 7 fué de cero, sin embargo, la adición intencionada del antígeno 0901 produjo una inhibición de 75% en todos los casos.

T A B L A 5

RESULTADO DE COPROCULTIVO EN EL 2º GRUPO.

| Caso | Diagnóstico clínico | Sexo | Resultado del coprocultivo |
|------------|----------------------------|-------|---|
| C.L. | Diarrea enteral infecciosa | Fem. | <i>Shigella flexneri</i> |
| C.M.M. | " | Fem. | <i>E. coli</i> 0126 |
| D.M. | " | Fem. | <i>E. coli</i> 0111 |
| S.C.J. | " | Masc. | <i>E. coli</i> 0111 |
| M.D.M.d.R. | " | Fem. | <i>S. flexneri</i> <i>E. coli</i> 0111 y 0113 |
| S.L.P. | " | Masc. | <i>E. coli</i> 0127 |
| F.S. | " | Fem. | <i>S. flexneri</i> |
| CH.H. | " | Masc. | <i>E. coli</i> 0127 |
| D.D.J. | " | Masc. | <i>Salmonella</i> grupo E |
| S.S. | " | Masc. | <i>S. typhimurium</i> |
| G.H. | " | Masc. | <i>E. coli</i> 0127 |
| A.G. | " | Masc. | <i>E. coli</i> 0127 |
| M.R. | " | Fem. | <i>E. coli</i> 0114 <i>E. coli</i> 0112 |
| M.L.S. | " | Fem. | <i>E. coli</i> 0127 |
| G.P.O. | " | Masc. | <i>S. flexneri</i> |

La tabla 5 muestra que en 3 casos fué posible aislar **Shigella flexneri**, en 8 colis enteropatógeno, en 2 *Salmonellas* de origen animal, y en uno **Shigella flexneri** y coli enteropatógeno.

En la tabla 6 se dá el porcentaje de inhibición de hemoaglutinación obtenido en las materias fecales de los niños del Grupo III (niños con fiebre tifoidea).

T A B L A 6

**INVESTIGACION DE ANTIGENO SOMATICO 9.12 EN
MATERIAS FECALES DEL GRUPO III**

| Caso | Sexo | Diagnóstico clínico | Porcentaje de inhibición de hemo- aglutinación. | |
|----------|-------|---------------------------|---|---|
| | | | Materias fecales sin adición de an- tigeno 0901 | Materias fecales adicionadas de antígeno 0901 |
| C.C.P. | Fem. | Fiebre tifoidea | 50 | 75 |
| A.A.A. | Masc. | " | 75 | 87.5 |
| G.C.J. | Masc. | " | 87.5 | 93.5 |
| S.R.J. | Fem. | " | 75 | 87.5 |
| M.L.I. | Fem. | " | 75 | 93.5 |
| L.S.M. | Masc. | Perforación p/tifoidea | 75 | 87.5 |
| C.G.M. | Masc. | Fiebre tifoidea | 87.5 | 96.9 |
| P.T.E. | Masc. | " | 50 | 75 |
| G.U.I. | Fem. | " | 75 | 93.5 |
| V.M.A. | Masc. | " | 96.9 | 100 |
| R.M.R.J. | Masc. | Perforación p/tifoidea | 87.5 | 100 |
| S.C.C. | Fem. | Fiebre tifoidea | 75 | 87.5 |
| A.T.E. | Fem. | " | 75 | 93.5 |
| M.B.L. | Fem. | Perforación p/tifoidea | 75 | 93.5 |
| C.F.J. | Masc. | Fiebre tifoidea | 75 | 93.5 |
| M.C.J. | Masc. | " | 87.5 | 96.9 |
| R.G.F. | Masc. | Perforación p/tifoidea | 97.5 | 100 |
| O.B.J. | Masc. | Fiebre tifoidea | 75 | 93.5 |
| P.C.J. | Masc. | " | 50 | 75 |
| A.L.G. | Fem. | " | 75 | 87.5 |

Puede verse que de los 20 casos estudiados en 17 la reacción de hemoaglutinación mostró inhibición superior al 50% y la adición intencionada de antígeno 0901 produjo un mayor título de inhibición.

La tabla 7 expresa los resultados correspondientes al estudio bacteriológico y serológico (Reacción de Widal).

T A B L A 7

RESULTADOS BACTERIOLOGICOS Y DE REACCION DE WIDAL EN EL GRUPO III.

| Caso | Sexo | Diagnóstico clínico | Coproactivo | Hemo-cultivo | R. de Widal | |
|----------|-------|------------------------|-------------------|-------------------|-------------|------|
| | | | | | H | O |
| C.C.P. | Fem. | Fiebre tifoidea | Negativo | Negativo | 1280* | 320 |
| A.A.A. | Masc. | " | S. typhosa | Negativo | 2560 | 320 |
| G.C.J. | Masc. | " | Negativo | Negativo | 320 | 640 |
| S.R.J. | Fem. | " | S. typhosa | S. typhosa | 1280 | 1280 |
| M.L.I. | Fem. | " | S. typhosa | S. typhosa | 20 | 320 |
| L.S.M. | Masc. | Perforación p/tifoidea | S. typhosa | S. typhosa | 160 | 320 |
| C.G.M. | Masc. | Fiebre tifoidea | S. typhosa | Negativo | 160 | 320 |
| P.T.E. | Masc. | " | Negativo | Negativo | 2560 | 640 |
| G.U.I. | Fem. | " | S. typhosa | Negativo | 1280 | 640 |
| V.M.A. | Masc. | " | S. typhosa | Negativo | Neg. | 160 |
| R.M.F.J. | Masc. | Perforación p/tifoidea | S. typhosa | Negativo | Neg. | 160 |
| S.C.C. | Fem. | Fiebre tifoidea | Negativo | S. typhosa | 640 | 320 |
| A.T.E. | Fem. | " | Negativo | S. typhosa | 80 | 640 |
| M.V.L. | Fem. | Perforación p/tifoidea | Negativo | Negativo | 160 | 320 |
| C.F.J. | Masc. | Fiebre tifoidea | Negativo | S. typhosa | 160 | 320 |
| M.C.J. | Masc. | " | S. typhosa | S. typhosa | 1280 | 1280 |
| R.G.F. | Masc. | Perforación p/tifoidea | S. typhosa | S. typhosa | Neg. | 160 |
| O.B.J. | Masc. | Fiebre tifoidea | Negativo | S. typhosa | 1280 | 640 |
| P.C.J. | Masc. | " | Negativo | S. typhosa | 640 | 640 |
| A.L.G. | Fem. | " | Negativo | S. typhosa | 1280 | 640 |

* Recíproco de la dilución.

De los 20 niños estudiados se aisló *Salmonella typhosa* por hemocultivo y/o coprocultivo en 16 casos. Los cuatro restantes no obstante la bacteriología negativa, se aceptaron como tifoideas por el cuadro clínico sugestivo de la enfermedad y reacción de Widal positiva a títulos elevados.

La tabla 8 resume los datos individuales que se presentaron en la tabla 7.

T A B L A 8

RESULTADO DE HEMOCULTIVO, COPROCULTIVO Y REACCION DE WIDAL EN 20 NIÑOS CON DIAGNOSTICO CLINICO DE FIEBRE TIFOIDEA.

| Examen | Positivo | Negativo |
|-------------------|-----------|-----------|
| Hemocultivo | 11 | 9 |
| Coprocultivo | 6 | 14 |
| Reacción de Widal | 17 | 3 |
| T O T A L | 33 | 27 |

Para conocer la relación entre la positividad de la reacción de Widal, estudios bacteriológicos y reacción de inhibición de Hemoaglutinación, tomados como casos individuales, se practicó el análisis de χ^2 para muestras pequeñas, por medio de logaritmos de factoriales (21). En las tablas 9, 10, 11 y 12 se muestran los resultados.

T A B L A 9

RELACION ENTRE COPROCULTIVO Y REACCION DE
INHIBICION DE HEMOAGLUTINACION EN LOS
20 NIÑOS CON FIEBRE TIFOIDEA.

| Inhibición de hemoaglutinación | COPROCULTIVO | | TOTAL |
|-----------------------------------|--------------|----------|-------|
| | Positivo | Negativo | |
| Positiva | 10 | 7 | 17 |
| Negativa | 0 | 3 | 3 |
| TOTAL | 10 | 10 | 20 |

P = 0.6052

T A B L A 10

CORRELACION ENTRE HEMOCULTIVOS Y REACCION DE
INHIBICION DE HEMOAGLUTINACION EN 20 NIÑOS
CON FIEBRE TIFOIDEA

| Inhibición de hemoaglutinación | HEMOCULTIVO | | TOTAL |
|-----------------------------------|-------------|----------|-------|
| | Positivo | Negativo | |
| Positivo | 10 | 7 | 17 |
| Negativo | 1 | 2 | 3 |
| TOTAL | 11 | 9 | 20 |

P = 0.5008

T A B L A 11

**CORRELACION ENTRE HEMOCULTIVOS Y/O COPROCULTIVOS
Y REACCION DE INHIBICION DE HEMOAGLUTINACION
EN 20 NIÑOS CON FIEBRE TIFOIDEA**

| Inhibición de hemoaglutinación | Hemocultivo y/o coprocultivo | | TOTAL |
|-----------------------------------|------------------------------|----------|-------|
| | Positivo | Negativo | |
| Positivo | 15 | 2 | 17 |
| Negativo | 1 | 2 | 3 |
| TOTAL | 16 | 4 | 20 |

P = 0.050

T A B L A 12

**CORRELACION ENTRE EL ESTUDIO BACTERIOLOGICO Y
SEROLOGICO (WIDAL) Y LA REACCION DE INHIBICION
DE HEMOAGLUTINACION**

| Inhibición de hemoaglutinación | Hemocultivo y/o coprocultivo y Reacción de Widal | | TOTAL |
|-----------------------------------|---|----------|-------|
| | Positivo | Negativo | |
| Positivo | 17 | 0 | 17 |
| Negativo | 3 | 0 | 3 |
| TOTAL | 20 | 0 | 20 |

No existe diferencia de significación estadística entre los resultados proporcionados por el estudio bacteriológico y serológico (reacción de Widal) y la reacción de hemoaglutinación. Tampoco se encontró diferencia cuando se combinaron los datos de coprocultivo y hemocultivo y se compararon con la reacción de hemoaglutinación.

DISCUSION

La investigación de antígenos somáticos 9.12 de enterobacteriáceas en materias fecales de pacientes con diagnóstico de fiebre tifoidea por medio de la reacción de inhibición de hemoaglutinación, proporcionó un método rápido para efectuar el diagnóstico presuncional de esta enfermedad. Sin embargo, estos antígenos además de ser comunes a muchas Salmonelas, principalmente a las pertenecientes al grupo D del esquema antigénico diagnóstico de Kauffmann White, también son compartidos con otras enterobacteriáceas, y por lo tanto su hallazgo en materias fecales de pacientes con diagnóstico de esta enfermedad, no puede ser concluyente de un padecimiento por *Salmonella typhosa*, sino solamente indica la posibilidad de él.

En el trabajo presente, se estudiaron las materias fecales de grupos de niños sin padecimiento entérico actual, las de niños en los cuales se aislaron por coprocultivo, diversos gérmenes enteropatógenos y por último las de pacientes con fiebre tifoidea diagnosticada por la clínica y el laboratorio. En el primer grupo de materias fecales estudiadas, el porcentaje de inhibición de hemoaglutinación obtenido fué en todos los casos de cero y en el coprocultivo se aislaron sistemáticamente coliformes que por aglutinación en laminita no revelaron la presencia de antígenos somáticos 9.12.

En el segundo grupo estudiado la reacción de hemoaglutinación mostró en algunos casos inhibición de 50% por lo cual es probable que en estas materias fecales existieran pequeñas cantidades de antígeno 9.12; se pensó que para juzgar una reacción francamente positiva a estos antígenos, ésta debería producir más de 50% de inhibición. Por consiguiente de acuerdo con este criterio la reacción de

inhibición de hemoaglutinación en este grupo se consideró en todos los casos estudiados negativa.

Los resultados obtenidos, en el tercer grupo, indican que cuando se aísla **Salmonella typhosa** por coprocultivo o hemocultivo y en algunas ocasiones cuando la reacción de Widal es positiva, la inhibición de la reacción fué mayor del 50%, en el 85% de los casos.

Por lo expuesto se sugiere que la reacción de inhibición de hemoaglutinación para demostrar antígenos somáticos 9.12 en casos sospechosos de fiebre tifoidea puede ser de utilidad para hacer un diagnóstico presuntivo y rápido de esta enfermedad y que además se pudiese usar como un método de tanteo para localizar portadores de bacilo tífico.

RESUMEN

1.—Usando la reacción de inhibición de hemoaglutinación se investigó la presencia de antígenos somáticos 9.12 en materias fecales de tres grupos de niños: (a).—Sin padecimiento entérico actual. (b).—Con proceso entérico no tifoídico y (c).—En niños con diagnóstico clínico y de laboratorio de fiebre tifoidea.

2.—En las materias fecales del grupo de niños sin padecimiento tifoídico; la reacción de inhibición de hemoaglutinación resultó consistentemente negativa para antígenos somáticos 9.12.

3.—En el grupo de pacientes con diagnóstico de fiebre tifoidea, la reacción de inhibición de hemoaglutinación fué positiva en 85% de los casos.

REFERENCIAS

- 1.—Hirst, G. K. The agglutination of red cells by allantoic fluid of chick embryos infected with influenza virus. *Science*, **94**, 22 (1941).
- 2.—McClellan, L., y Hare, R., The adsorption of influenza virus by red cells and a new *in vitro* method of measuring antibodies for influenza virus. *Can. Public. Health j.*, **32**, 530 (1941).
- 3.—Keogh, E. V., North, E. A y Warburton, M. F., Hemagglutinins of the Hemophilus group. *Nature* **160**, 63 (1947).
- 4.—Neter, E. Bacterial Hemagglutination and hemolysis. *Bacteriological Rev.* **20**, 166 (1956).
- 5.—Coombs, R. R. A. y Fiset, M. L., Detection of complete and incomplete antibodies to egg albumin by means of a sheep red cell egg albumin antigen unit. *Brit. J. Exptl. Pathol.*, **35**, 472 (1954).
- 6.—Rosenthal, L., Agglutinating properties of *Escherichia coli*. *J. Bacteriol.*; **45**, 545 (1943).
- 7.—Davis, D. J., Pittman, M. y Griffiths, J. J., Hemagglutination by the Koch-Weeks Bacillus (*Hemophilus aegyptius*) *J. Bacteriol.*, **59**, 427. (1950).
- 8.—Bernheimer, A. W., y Farkas, M. E., Hemagglutinins among higher fungi, *J. Immuno.* **70**, 197 (1953).
- 9.—Landy, M., On Hemagglutination procedures utilizing isolated polysaccharide and protein antigens. *Am. J. Public Health*, **44**, 1059 (1954) (1954a).

