

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

UNIVERSIDAD MOTOLINIA.

FACULTAD DE QUÍMICA.

"VALORACION DE ALGUNOS METODOS
DE LABORATORIO UTILIZADOS PARA EL
DIAGNOSTICO DE LA FIEBRE REUMATICA"

TESIS

Que para obtener el título de:

QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

Presenta:

GUADALUPE DEL CARMEN BAÑOS MARHABER

MÉXICO, D. F.

1957



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.

A mis Padres.

Agradezco a los Sres. Dres. Mario Salazar Mallén,
Jefe del Servicio de Alergia del Hospital General,
Guillermo Chávez Max, del Instituto Nacional de
Cardiología y Mario Arenas D. G., Jefe del Labora-
torio de Microbiología e Inmunología del mismo Instituto,
su valiosa cooperación para el desarrollo de esta tesis.

A todos mis maestros, con sincero reconocimiento.

Expreso mi gratitud al Instituto Nacional de
Cardiología por las facilidades proporcionadas para
realizar esta investigación.

CAPITULO I.

Generalidades.

La fiebre reumática es un padecimiento causado por el estreptococo hemolítico, y desde los hallazgos de Swift en 1917, Collins en --- 1931, Glover y Griffith en 1931, Coburn y Pauli en 1932 (1), la mayoría de los autores está de acuerdo en que los componentes de esta bacteria son los causantes, directa ó indirectamente, de la multitud de reacciones tisulares y celulares que son observadas en el organismo, - en el curso del padecimiento que nos ocupa.

Se debate, como lo señala Mc Carty (2), la idea de que para obtener la respuesta inmunológica sea necesaria la presencia simultánea - del germen, como acontece en el caso de la tuberculosis y de la sífilis, pero hay autores como Mc Carty mismo (2), que piensan que esto - no es requisito indispensable, actuando el estreptococo como una primera-infección, y siendo las respuestas ulteriores de tipo reumático, - bien provocadas por el mismo germen, bien por mecanismos inespecíficos, pero de todos modos, como se dijo antes, se concede a la infección por estreptococo A (humano) el papel desencadenante de la reacción reumática propiamente dicha.

Se observa sin embargo, que el germen de que se trata no existe en el organismo enfermo, sino en las primeras etapas del padecimiento (como si actuara sensibilizando los tejidos), y falta, inclusive - si existe actividad reumática, en las secreciones y en los tejidos enfermos, una vez que se han producido los fenómenos patológicos característicos del reuma (nódulos de Aschoff), lo cual plantea el problema del diagnóstico bacteriológico específico de la enfermedad, como - asunto de los más difíciles, ya que en este caso no puede pensarse en el cumplimiento de los llamados postulados de Koch.

De cualquier manera, el reuma cardío-articular ó fiebre reumática-

ca tiene un sustrato anatómico preciso y específico (alteraciones del tejido conjuntivo, formación de nódulos de Aschoff), al cual, según observaciones repetidas, acompañan como una constelación, alteraciones inmunológicas y bioquímicas, que si bien aisladamente no pueden considerarse específicas del padecimiento, sí constituyen en conjunto algo que puede aceptarse como característico y valioso desde el punto de vista práctico, para afirmar la existencia del reuma.

Pero para valorar el resultado de estas pruebas es indispensable tener un conocimiento general de la biología del estreptococo humano y también de las reacciones del organismo reumático frente al estímulo reumatógeno propiamente dicho. El objeto de la presente tesis es precisamente el de examinar críticamente los datos de la literatura reciente, en relación con este tema, contribuyendo al final con ilustrar, mediante ejemplos seleccionados, la bondad de los procedimientos de laboratorio utilizados en el Instituto Nacional de Cardiología.

CAPITULO II.

Estreptococo.

a) Descripción:

Los estreptococos son micro-organismos esféricos ó ovoides, generalmente Gram positivos, cuyo diámetro oscila entre 0.5 y 1 micras. Se disponen en forma de cadenas características, cuya longitud es variable. Algunas veces están encapsulados.

En su mayoría, los estreptococos crecen en medios sólidos, en colonias de 1-2 mm. de diámetro. El crecimiento tiende a ser pobre, a menos que el medio sea enriquecido con sangre o con suero. (3). En caldo, ó en otros medios líquidos, muchas especies de estreptococos dan una germinación granulosa, mientras el medio queda claro y la masa granulosa se reúne formando un depósito pulverulento ó adherente a las paredes del tubo. Aún cuando este tipo de germinación es, por su extremada frecuencia, característico de ciertas especies de estreptococos, especialmente cuando se les aísla por vez primera, no es constante, además, el grado de granulosis varía de modo considerable (1).

Mientras la mayor parte de los estreptococos hemolíticos patógenos crece mejor a 37 grados, el grupo D de enterococos, crece bien desde 15 hasta 45 grados. La mayoría son anaerobios facultativos, pero algunas cepas procedentes de infecciones quirúrgicas son anaerobios obligados (3).

b) Clasificación:

1-Taxonomía.- Según la clasificación de Bergey (4), el estreptococo pertenece al orden Eubacteriales, suborden Eubacteriineae, familia VII Lactobacteriaceae, tribu I Streptococceae, género II Streptococcus.

2- Hemólisis.- Uno de los métodos de clasificación de los estreptococos, original de Brown, se basa en el examen microscópico de las-

colonias profundas en agar- sangre. (8)

Las colonias alfa están circundadas de una zona de hemólisis parcial, de coloración verdosa; vistas a pequeño aumento revelan eritrocitos íntegros en la zona de hemólisis parcial. Refrigerando puede desarrollarse una zona externa, transparente, de hemólisis (*Streptococcus viridans*).

El tipo beta produce una zona transparente de hemólisis, en la que no se hallan eritrocitos íntegros; la zona de hemólisis no aumenta al refrigerar.

El tipo gamma no ejerce acción sobre los eritrocitos del medio.

3- Clasificación serológica.- Lancefield (1), en los estreptococos hemolíticos de diferentes orígenes, ha encontrado cierto número de polisacáridos, serológicamente distintos, lo cual permite la clasificación en diversos grupos, mediante reacciones de precipitación.

En total, se conocen ahora 13 grupos, cada uno con su peculiar antígeno polisacárido, que son los siguientes: A, B, C, D, E, F, G, H, K, L, M, N, O. (3).

La mayor parte de las razas aisladas de lesiones patológicas en el hombre comparten el mismo polisacárido y se clasifican como grupo "A". Las cepas procedentes de la mastitis de las vacas poseen otro polisacárido y se clasifican como grupo "B". Las procedentes de infecciones en los animales inferiores poseen otro polisacárido y se clasifican como grupo "C". En el intestino humano se han encontrado cepas con el polisacárido del grupo "D" (*enterococos*), y así sucesivamente (1).

Los grupos han sido subdivididos posteriormente, en tipos, de acuerdo con el antígeno proteínico H, de tal manera que Lancefield (6) reconoce actualmente, cuando menos, 45 tipos del grupo "A". Para el grupo "B", el antígeno específico de tipo no es una proteína, sino un po-

lisacárido, y Lancefield (1) ha podido definir, en este caso, 4 tipos específicas.

Se han encontrado 17 tipos pertenecientes al grupo C; para el grupo D, Lancefield reconoce 3 tipos y Grunbach y Schnetz 7. Del grupo E, uno identificado por Lancefield. Del grupo F, 4 descritos por -- Bliss, y del grupo K, Lancefield identifica uno (1).

Griffith (6) describió una clasificación de tipos, basándose en la presencia del antígeno proteínico T, y utilizando una técnica de aglutinación en placa, pero su clasificación ha caído en desuso.

4- Características bioquímicas (4):

Especies anaerobias facultativas.

A) Grupo piogénico. (Beta-hemolíticos en general. No crecen a 10 ni a 45 grados). No coagulan la leche tornasolada. Pueden ó no reducir el tornasol. No fermentan el manitol. No crecen en medios con 0.1 % de azul de metileno, 6.5% de NaCl ó pH de 9.6. Producen amoníaco en medios con peptona.

1- No hidrolizan el hipurato de Na.

a) Lactosa (+)

aa) Sorbitol (-), Trehalosa (+): grupo A de Lancefield, ej: St. - pyogenes.

bb) Sorbitol (+), Trehalosa (-): Grupo C de Lancefield, ej: St.-- zoepidemicus.

b) Lactosa (+). Grupo C de Lancefield.

aa) Trehalosa (-), ej: St. equi.

bb) Trehalosa (+). ej: St. equisimilis.

2- Hidrolizan el hipurato de Na. Grupo B de Lancefield, ej: St.-- agalactiae.

B) Grupo viridans. (No crecen a 10 grados, sí a 45, a excepción - de St. mitis). Reducen el tornasol después de coagular la leche tor

nasolada. En general no fermentan el sorbitol ni el glicerol, raramente el manitol. No crecen en medios con 0.1 % de azul de metileno 6.5 % de NaCl ó pH de 9.6. No producen beta-hemólisis. No forman amoniaco en peptona, excepto el *St. mitis*.

1- Lactosa (+).

a) No crecen a 50 grados, hemólisis alfa o gama. Fermentan la rafinosa, inulina, salicina y dextrina. Crecen en medios con 2 % de NaCl.

b) No sobreviven a 60 grados por 3 minutos. No hidrolisan el almidón. No hay crecimiento en bilis.

c) Colonias succides en medios con sucrosa y rafinosa. Rj: *St. salivarius*.

cc) No producen colonias succoides en sucrosa y rafinosa. No fermentan la inulina. ej: *St. mitis*.

bb) Sobreviven a 60 grados por 3 minutos. Hidrolisan el almidón excepto la variedad inulinócea. Crecen en bilis. ej: *St. bovis*.

aa) Crecen a 50 grados. Producen gama hemólisis. No fermentan la rafinosa, inulina, salicina, ni dextrina. No crecen en medios con 2 % de NaCl. ej: *St. thermophilus*.

2- Lactosa (-). Crecen en bilis, ej: *St. equinus*.

C) Grupo láctico. (Crecen a 10 grados, no a 45). No producen beta-hemólisis. Reducen el tornasol antes de coagular la leche tornasolada. No fermentan el sorbitol ni glicerol. Crecen en medios con 0.1 % de azul de metileno. No en medios con 6.5 % de NaCl, ni pH 9.6.

1- Maltosa y dextrina (+), producen amoniaco en peptona. Crecen a 40 grados, ej: *St. lactis*.

2- Maltosa y dextrina (-), no producen amoniaco en peptona. No crecen a 40 grados. ej: *St. cremoris*.

D) Grupo enterococos. (Crecen de 10 a 45 grados, pueden ó no pro-

ducir beta-hemólisis. Reducen el tornasol antes de coagular la leche tornasolada. Fermentan el sorbitol, glicerol y manitol. Crecen en medios con 0.1 % de azul de metileno, 6.5 de NaCl ó pH 9.6. Pertenecen al grupo D de Lancefield.

1- No producen beta-hemólisis.

a)- No licúan la gelatina. ej: St. fecalis.

b)- Licúa la gelatina, ej: St. liquefaciens.

2- Producen beta-hemólisis.

a)- Manitol y sorbitol (+) ej: St. zymoganes.

b)- Manitol y sorbitol (-) ej: St. durans.

Especies anaerobias.

A) Estrictas.

1- Gas y olor fétido.

a)- No hay turbidez en caldo. Acidifican la maltosa. ej: St. anaerobius.

aa)- No hay turbidez en caldo. No acidifican la maltosa. ej: St. foetidus.

b)- Turbidez en caldo. No producen gas en agar semi-sólido de Veillon, ni en peptona-agua. ej: St. putridus.

bb)- Turbidez en caldo. Producen abundante gas en agar semi-sólido de Veillon y en peptona-agua ej: St. lanceolatus.

2- No producen gas ni olor.

a)- Coagula la leche. Sedimento viscoso en caldo. En agar semi-sólido las colonias se ennegrecen. ej: St. parvulus.

aa)- Coagula la leche. No hay sedimento viscoso, ni ennegrecimiento de las colonias, ej: St. intermedius.

b)- No coagula la leche. ej: St. micros.

B) Microaerofílicas.

1- Estricta anserobiosis en aislamiento, después micro-aerofilia -

ej: St. evolutus.

a) Antígenos del estreptococo:

Encontramos dos tipos de antígenos, los celulares y los solubles. De acuerdo con Lancefield (6), los componentes celulares del estreptococo grupo A, en relación con su antigenicidad y virulencia, son los siguientes:

Polisacárido C.- Componentes estructural de la pared celular, se obtiene por hidrólisis con ácidos ó álcalis fuertes ó por la lisis -- enzimática con líquido de cultivo de Streptomyces albus. Es antígeno de grupo y tiene papel protector para la célula bacteriana.

Proteína H.- Se encuentra totalmente localizada cerca de la superficie celular. Se obtiene por hidrólisis ácida. Está relacionada con la virulencia del grupo A. Es antígeno de tipo y produce anticuerpos protectores.

Proteína I.- Se obtiene por acción de enzimas proteolíticas. Es un antígeno incompleto ó hapteno, que no tiene relación con la virulencia y se desconoce su papel en la bacteria. Es específica de tipo.

Proteína R.- Característica del tipo 28, es obtenida por ultracentrifugación.

Polisacárido capsular mucida. Acido hialurónico.- No es antigénico, pero tiene papel protector para la bacteria.

También el estreptococo produce una variedad de sustancias extracelulares y enzimas (3), que son las siguientes:

Estreptoquinasa (fibrinolisisina).- Producida por estreptococos hemolíticos. Transforma el plasminógeno del suero humano a plasmina, enzima proteolítica que digiere la fibrina y otras proteínas, esta digestión puede ser interferida por inhibidores del suero, no específicos, y por un anticuerpo específico, la antiestreptoquinasa, que se forma como respuesta a una exposición previa a la estreptoquinasa.

Estreptodornasa.- (Desoxiribonucleasa estreptocócica).- Es una enzima que despolimeriza la desoxiribonucleoproteína y el ácido desoxiribonucleico.

Hialuronidasa.- Es una enzima que actúa sobre el ácido hialurónico, un componente importante de la sustancia fundamental del tejido conectivo, y facilita la propagación de los micro-organismos infectantes (factor de difusión). La hialuronidasa es antigénica y específica de cada fuente bacteriana. Después de una infección por organismos -- productores de hialuronidasa, pueden encontrarse anticuerpos específicos en el suero.

Toxina eritrogénica.- En las infecciones por estreptococo hemolítico, de los grupos A y C, produce el exantema eritematoso característico de la escarlatina y la erisipela.

Estreptolisina O.- Como señala Berahaimer (7): "Fue Todd el primero en demostrar la capacidad del Streptococcus pyogenes para producir dos distintas hemolisinas, la estreptolisina O y la S.

La estreptolisina O puede definirse como una exotoxina, de constitución proteica, que se encuentra en los cultivos estreptocócicos, y puede ser hemolítica y no hemolítica, pues en presencia de oxígeno la forma hemolítica se convierte en no hemolítica. Este proceso puede ser rápidamente reversible por una variedad de compuestos con radicales sulfhidrilo (-SH).

La estreptolisina O es más fácilmente identificada que la S, con sueros que contengan anticuerpos específicos. Se forma "in vivo", en infecciones naturales, así como en las inducidas, e "in vitro", durante el crecimiento de copas hemolíticas en infusión peptona-carné y en medios químicamente definidos.

La estreptolisina O es antigénica y permite la formación del anticuerpo neutralizante, llamado antiestreptolisina O (7). Los títulos -

de antiestreptolisina O en el suero humano se elevan durante ó siguiendo a la infección por estreptococo hemolítico de los grupos A, C humano) y G (1).

Estreptolisina S.- Es una sustancia hemolítica, probablemente proteica, que se encuentra en los cultivos de estreptococo. A diferencia de la estreptolisina O, no sufre inactivación oxidativa reversible y no puede identificarse por una característica simple, sin embargo, -- puede señalársele una serie de propiedades que sirven para diferenciarla de la estreptolisina O y de otras hemolisinas. La beta-hemólisis que se observa alrededor de las colonias que crecen en la superficie de agar-sangre, aeróbicamente, se debe exclusivamente a la estreptolisina S (7). La lisina S parece formarse por cepas de todos los -- grupos, pero el tipo de lisina producida es grupo-específico; un anti suero para la lisina S de cepas del grupo A no neutraliza la lisina -- formada por otros grupos (1). La estreptolisina S se forma en medios de cultivo que contienen suero y también en sistemas donde los estreptococos lavados se encuentran simplemente suspendidos en suero ó lecitovitulina.

Hay un acuerdo general en señalar que aparentemente carece de antigenicidad, sin embargo, con frecuencia el suero humano y animal con tiene un inhibidor no específico de esta hemolisina (7).

CAPITULO III.

Importancia de los procedimientos de laboratorio en el diagnóstico de la fiebre reumática.

Desde 1899, Westphal, Wasserman y Malkoff (1), aislaron estreptococos de la sangre de pacientes afectados de endocarditis reumática, asociada con coras. En los años siguientes Poynton y Paine, en 1900 y 1913 (1), publicaron la primera de su serie de trabajos, en la cual a base de extensos estudios bacteriológicos en el hombre y de numerosos experimentos en el conejo, llegaban a concluir que el reumatismo agudo es el resultado de una infección con una variedad particular de estreptococos ó con un grupo de razas estreptocócicas íntimamente relacionadas entre sí. Desde que aparecieron estos trabajos, los bacteriólogos han realizado repetidas tentativas, principalmente para determinar la naturaleza real de la asociación entre ciertos tipos de estreptococos y el reumatismo.

La posibilidad de que esta enfermedad sea una de las manifestaciones de una infección con estreptococos hemolíticos ha sido propuesta en forma definitiva por los estudios de Coburn y Pauli (1). El punto de partida de estos estudios fué la observación de las íntimas relaciones epidemiológicas, en espacio y tiempo, entre la infección de la faringe por estreptococo hemolítico y la aparición de infecciones reumáticas agudas. Collins (1), en 1931, observó la existencia de padecimientos ocasionados por el estreptococo hemolítico, precediendo al reuma. Clover y Griffith en 1931 (1), describen epidemias de amigdalitis escolares, debidas a una infección por estreptococo hemolítico, y en las cuales una proporción de los niños afectados presentaron todos los síntomas de un reumatismo agudo. Green, en 1938 (1), afirmó que de 200 reumáticos admitidos en el hospital, 50.5 % llevaban estreptococo del grupo A en su faringe, sin relación con ningún signo de in--

sección faríngea; la proporción en 209 pacientes no reumáticos fué igualmente de 12.5 %, aunque la frecuencia de una historia reciente de infecciones faríngeas en ambos grupos fué aproximadamente la misma.

Por otra parte, es importante señalar cambios en el poder patógeno de los diferentes tipos de estreptococo humano, aún cuando se ha hablado de ciertas relaciones específicas patógenas entre grupo, tipo y manifestaciones clínicas. Teniendo un conocimiento en la actualidad, más preciso acerca de la estructura antigénica del estreptococo, podemos enfatizar que si éste es germen que origina la fiebre reumática no es un solo tipo el que interviene como el causante (8). Además, en estudios recientes se ha encontrado que algunos tipos de estreptococos se relacionan con la enfermedad más frecuentemente que otros, así Ravensway (9) concluye que son los tipos 19, 30, 36 y 6 de Lancefield los más comúnmente aislados en la faringe de los enfermos que posteriormente presentaron reumatismo. El mismo autor, en un estudio practicado a 38 enfermos, a los que se hicieron cultivos faríngeos antes y después de las manifestaciones reumáticas, observó que en 28, el estreptococo hemolítico aislado después de pasado el cuadro activo de fiebre reumática, era de un tipo diferente al encontrado antes de que ésta se manifestara; en 4 casos no se obtuvieron gérmenes en el período post-reumático, y en 6 casos únicamente se halló que el tipo precedente era el mismo que se obtuvo con posterioridad. En Buckley Field (9) se hicieron estudios similares y solo en un caso apareció el mismo tipo de estreptococo antes y después del brote de reumatismo.

Se ha encontrado que en la época de mayor incidencia de la actividad reumática aparecen las infecciones respiratorias ocasionadas por estreptococo hemolítico (9). Wilson (10) ha encontrado que la incidencia de estreptococo hemolítico en reumáticos no es mayor que la de pacientes con faringitis ó simple resfriado. Además observa que el 54 %

de las infecciones respiratorias están asociadas al estreptococo hemolítico; y que en los meses de marzo, abril y mayo es cuando el germen aparece en la flora faríngea en el 50 % de individuos sanos; en 40 % durante las infecciones respiratorias, y sólo en el 10 % de pacientes con actividad reumática.

Son interesantes las observaciones de Isaacs (11), que sugieren la posible relación entre el estreptococo hemolítico y el viridans. Estos dos tipos son considerados frecuentemente como especies distintas, pero algunos investigadores como Todd (11) y Coburn (11) reportan que las dos formas pueden ser intercambiables, lo cual constituye un tema al que sería interesante estudiar con detenimiento.

Por otra parte, las investigaciones de Todd (12), establecieron una clara relación entre la infección estreptocócica y la estreptolisina. Este autor presentó pruebas de que la reacción del organismo animal a la infección estreptocócica podía ser descubierta y medida por la presencia, en el suero, de anticuerpos contra la estreptolisina. Sugirió que el aumento de esta antiestreptolisina en el suero del paciente reumático daba prueba de que esta enfermedad era precedida de una infección por estreptococo hemolítico. Estos estudios motivaron una investigación cuidadosa, cuyo propósito fué encontrar la relación inmunológica del proceso estreptocócico y la fiebre reumática.

En efecto, Coburn y Pauli (13), en una larga serie de estudios, encontraron que la presencia de un título alto de antiestreptolisinas en el suero del paciente reumático era una expresión directa de una relación inmunológica entre la infección estreptocócica y la fiebre reumática. La capacidad del organismo para producir este anticuerpo era un requerimiento esencial para la evolución del proceso reumático. La persistencia de títulos altos indicaba estímulo antigénico continuo del estreptococo.

Bertheimer (7) señala que los pacientes con fiebre reumática tienden a aumentar más los títulos de antiestreptolisinas O, que personas no reumáticas convalescentes de faringitis estreptocócica, y esta diferencia puede atribuirse a una exagerada capacidad para la formación de anticuerpos inherentes, por parte del individuo reumático. Igualmente parece posible, que los pacientes reumáticos constituyen un grupo de individuos que han sufrido más repetidas infecciones estreptocócicas que los normales, y que el aumento de los títulos de anticuerpos a la estreptolisina O y a otros antígenos estreptocócicos, simplemente refleja mayor número de ocasiones de exposición al antígeno.

Moto y Jones (12) en un minucioso estudio inmunológico no encontraron diferencias de importancia entre la respuesta de anticuerpos de reumáticos y no reumáticos, para los productos del estreptococo hemolítico y sí encontraron que, clínicamente, había relación de secuencia entre las infecciones estreptocócicas de las vías respiratorias altas y la fiebre reumática, pero la respuesta inmunológica, según estos estudios no demostró que esta relación fuera característica de la fiebre reumática.

Longcope (13) no halló relación entre la severidad del proceso reumático y la elevación del título de antiestreptolisinas; tomando como base esta observación, sugirió que la reacción de los diferentes individuos no correspondía en la misma forma, cualitativa ó cuantitativa, a un estímulo antigénico similar, deduciendo que las diferencias de esta reacción dependían más de la respuesta peculiar del individuo a esa infección, que de la forma de ella.

Myers y Keifer (12) encontraron que los individuos normales podían tener antiestreptolisinas en su suero en cantidades variables, y algunos tenían títulos altos por largos periodos, sin ningún indicio de -

infección estreptocócica anterior, además en caso de existir ésta, - la duración del título elevado estaba más en relación con el indivi-- duo, que con la duración o severidad de la infección misma. Estos ha-- llazgos plantean la pregunta de que si el ataque de fiebre reumática depende por necesidad de una infección precedente por estreptococo ha-- mifítico, ¿ en qué medida la infección puede ser inaparente.

Wilson y asociados (12) concluyen de sus trabajos que los títulos de antiestreptolisinas en niños reumáticos no difieren de los no reu-- máticos y no encuentran ninguna relación significativa entre el títu-- lo y la actividad reumática.

Finalmente, Taran (13) presenta datos sobre títulos de antiestrep-- tolisinas encontrados en niños con fiebre reumática activa e inactiva, recurrencias reumáticas con ó sin infección estreptocócica preceden-- te, e infecciones por estreptococo durante el curso de la fase inac-- tiva de la enfermedad. En 460 niños estudiados, se observan 9 diferen-- tes tipos de curvas. Estas formas parecen no tener relación con las - fases evolutivas del proceso reumático. La forma "clásica" de la curva de antiestreptolisinas se muestra en un pequeño grupo de niños con -- recurrencias reumáticas, asociada a una infección respiratoria strep-- tocócica.

Por lo que a otros exámenes de laboratorio se refiere, encontramos que en la carditis reumática, el estudio de la velocidad de sedimenta-- ción de los hemáticos es frecuentemente una guía útil del estado de re-- cuperación, permaneciendo acelerada cuando la temperatura, la cuenta - leucocitaria y aún el pulso, son normales, y presagia una recaída -- cuando otros signos son negativos.(13).

Según Kolmer (5): "No se conoce bien todavía la verdadera naturalo-- ra ni el exacto mecanismo de la sedimentación de los hemáticos. La vo-- loidad de sedimentación aumenta en el embarazo y en muchos estados -

patológicos. El aumento parece deberse en gran parte a alteraciones del plasma, sobre todo a un aumento del fibrinógeno ó de ciertas fracciones de las globulinas. La sedimentación se produce porque la densidad de los eritrocitos es mayor que la del plasma exalutado ó citratado. El más importante de los factores que afectan a la sedimentación de los hematíes es su agregación ó su disposición en pilas de monedas. Cuanto mayor sea la agregación, más intensa y rápida será la sedimentación de los hematíes en el plasma. La causa por la cual los hematíes se disponen en pilas de monedas no se conoce bien, pero se cree que este fenómeno se debe, en gran parte, a alteraciones de las proteínas plasmáticas que modifican la deshidratación superficial ó el equilibrio del agua en la superficie de los hematíes".

Layani, Fenguí y de Wende, en su estudio sobre el papel de las globulinas en la V. de S. (14), señalan que la constancia del paralelismo entre la severidad de la poliartritis y la aceleración de la V. de S., les llevó a comparar, en 20 enfermos, la curva de la V. de S., en la primera hora y la concentración de las diferentes globulinas.

Las gráficas mostraron que el paralelismo se rompía 8 veces en 20 entre la velocidad de sedimentación y la concentración de las fracciones alfa, 4 veces en 20 para la fracción beta y 4 veces en 20 para la fracción gama. Esto llevó a pensar que los factores de aceleración de la V. de S. serían transportados por las beta y las gama globulinas. El paralelismo, en efecto, era casi perfecto cuando se comparó la curva de la V. de S. y la suma aritmética beta + gama. Esta suma beta + gama se mostró superior a lo normal en los casos estudiados.

Podría objetarse el hecho de que en los casos de hiperglobulinemia electiva y notoria, sobre todo por la alfa, beta ó gama globulina, tales como las que se encuentran en ciertas variedades de mielomas,

la V. de S. está en cualquier tipo, acelerada.

Por otra parte, según Wintrobe (13): "La prueba de sedimentación es una reacción no específica, comparable a la temperatura corporal, el pulso y la cuenta leucocitaria, por los datos que proporcionan sobre el estado general. Es una medida de la presencia e intensidad de un proceso patológico en el organismo. La prueba es un complemento útil de los métodos clínicos, porque puede estar acelerada, cuando la temperatura, el pulso y aún la cuenta leucocitaria -- están normales, particularmente en los procesos crónicos y en las enfermedades inflamatorias.

Por lo tanto, la V. de S. está acelerada en todas las infecciones generales, mientras que en condiciones agudas localizadas, inflamatorias, las variaciones en la V. de S. dependen de la naturaleza y severidad del proceso. Así, en inflamación catarral aguda, la V. de S. tiende a ser normal, mientras que en supuraciones agudas localizadas, como inflamación pútrida, puede haber aceleración pronunciada, aún cuando el pulso y la temperatura sean normales.

Debe hacerse notar que la V. de S. normal, no necesariamente indica salud y ocasionalmente, en especial en la caquexia, la V. de S. puede estar normal aún en presencia de una enfermedad seria, también puede encontrarse normal en las neoplasias del hígado, en la cirrosis y en la congestión pasiva crónica del mismo órgano (13).

En cuanto al estudio de los elementos sanguíneos, éste ha sido desde hace tiempo, objeto de especial atención, por el valor que puede tener en el diagnóstico de los padecimientos ocasionados por estreptococo. Este estudio no se abocará al problema de los padecimientos originados por otros estreptococos que no sean hemolíticos, cuyas infecciones producen cambios muy conocidos en los leucocitos: En los brotes agudos de faringo-amigdalitis estreptocócica, es de-

reala una leucocitosis con neutrofilia (13), y las modificaciones globulares podrán informarnos de la infección misma pero no de la actividad o evolutividad del proceso hacia el reuma.

Es interesante conocer el valor de la investigación de la proteína C reactiva en el diagnóstico de la fiebre reumática.

Avery (14), por una serie de investigaciones llevadas a cabo en el Instituto Rockefeller, encontró una sustancia que normalmente no se hallaba en la sangre, sino que solo aparecía en la fase aguda de las enfermedades infecciosas, desapareciendo al presentarse la mejoría clínica; además observó que esta sustancia era de naturaleza proteínica, llamándole "Proteína C reactiva", ya que podía ser precipitada, en el suero del enfermo por el polisacárido somático "C" obtenido de neumococos.

Las reacciones del tipo descrito se caracterizan por su inespecificidad y no ocurren sólo durante las enfermedades infecciosas sino también, durante la fase aguda de muchos estados patológicos.

La PCR puede estar presente en el suero de pacientes con glomérulo-nefritis, dermatomiositis, periarteritis nodosa, esclerodermia, lupus eritematoso, artritis reumatoide, endocarditis bacteriana -- en la aguda y varias enfermedades infecciosas y malignas, aunque siempre asociada a procesos inflamatorios.

Anderson y Mc Carty (15) establecieron el uso clínico de la determinación de la PCR en el suero de enfermos con fiebre reumática en su fase aguda, utilizando un método altamente sensible, para la determinación semi-cuantitativa de esta proteína, por medio del suero de conejo anti-proteína C. Hicieron su estudio en 45 casos de fiebre reumática comparando las manifestaciones clínicas de la enfermedad, la velocidad de sedimentación, la cuenta leucocitaria, la temperatura, el título de anticuerpos estreptocócicos y la concen-

tración de PCR. en el suero, y llegando a las siguientes conclusiones:

1- La PCR está presente en el suero sanguíneo durante la actividad reumática y desaparece en la mejoría clínica.

2- La determinación de la PCR en el suero de reumáticos es uno de los más precisos índices de la actividad reumática que hay en la actualidad, sobre todo en la fase inflamatoria.

3- La presencia de la PCR tiene relación con el aumento en la velocidad de la sedimentación.

4- La PCR puede estar ausente del suero en pacientes con corea, cuando no se presentan otras manifestaciones reumáticas.

Uno de los hechos que le da más valor a la presencia de la PCR, es su ausencia completa del suero de niños y adultos sanos (25). La PCR presente en el suero es señal de enfermedad, aunque bien es cierto que el hallazgo de la proteína en cuestión no resuelve completamente el problema del diagnóstico diferencial con otras condiciones patológicas, ya mencionadas.

Por último, citaré otros métodos utilizados en el diagnóstico de infecciones estreptocócicas y fiebre reumática, y aunque en el presente estudio no están empleados, es conveniente recordarlos. Las técnicas más usuales se describen posteriormente.

En primer lugar, la medida ó cuantico de anticuerpos neutralizantes para la hialuronidasa estreptocócica, presentes en el suero de pacientes infectados por estreptococo hemolítico (17). Duran - - - Reynala (17) describe originalmente la presencia de un factor en extracto testicular que facilita la difusión de los virus a través de tejidos de animales de experimentación, seguidamente de la observación de que en los cultivos en caldo de algunos gérmenes, se obtienen sustancias con propiedades semejantes. Poco después Meyer (17)-

describe una enzima que hidrolisa el ácido hialurónico y que se obtiene de humor vítreo, cordón umbilical y estreptococo hemolítico.- La enzima es antigénica, por consiguiente la infección de un ser humano con alguno de los micro-organismos productores de hialuronidasa (*Clostridium welchii*, *Staphylococcus aureus*, *Diplococcus pneumoniae*, *Streptococcus hemolyticus*) provoca la formación de un anti-cuerpo específico, la anti-hialuronidasa.(17).

Como se ha sugerido que la hialuronidasa estreptocócica interviene en la patogenia de la fiebre reumática, la reacción cuantitativa para determinarla se emplea mucho en la actualidad para estudiar enfermedades de la colágena. Los valores para los títulos de anti-hialuronidasa en diferentes estados, normal y patológicos, difieren, debido a la diversidad de métodos empleados, pero en general, se demuestra un aumento en los títulos durante las infecciones estreptocócicas (18) (19) (20).

El hecho de que el estreptococo hemolítico grupo A, produce la enzima desoxirribonucleasa, fué descubierto simultáneamente en dos diferentes laboratorios, por Mc Carty (21) y Tillot (22). El primero en un estudio practicado en 90 pacientes, después de una infección estreptocócica (23), reporta que los valores obtenidos para títulos de anti-desoxirribonucleasa, en algunos pacientes, fueron muy altos, aunque, en general, la relación con el alza de otros anticuerpos, como antiestreptolisina C y antiestreptoquinasa, pareció ser menor.

Tillot y Garner (5) indican que el plasma coagulado puede presentar resistencia a la lisis (fibrinolisis) por la fibrinolisis o estreptoquinasa, lo cual puede ser considerado como una respuesta inmunológica a una infección por estreptococo beta-hemolítico. En consecuencia, la medida de la resistencia del plasma coagulado, durante la convalecencia, ha sido usada como una reacción-

de diagnóstico para las enfermedades estreptocócicas. Sin embargo, Kaplan [24] hace notar que la resistencia a la fibrinólisis ha sido también observada en individuos sin pruebas de infección estreptocócica, así, se han reportado casos positivos en 15% de individuos normales, en varios estados patológicos como neumonía lobar, artritis gonocócica, fiebre tifoidea y artritis aguda, y en recién nacidos. Estos hallazgos ponen en duda la especificidad de la respuesta antifibrinolítica.

En 1934, cuando, el mismo Kaplan [24] encontró un contenido bajo de antiestreptocinasa, en sujetos normales, y sólo en el 12% de éstos el título fue de más de 100. Un incremento fue indicio de infección previa y apareció en un 24% de pacientes con tonsilitis exudativa por estreptococo A.

Anderson y Mc Party [25] reportan un método cuantitativo para determinar antiestreptocinasa, aplicándolo en pacientes con escarlatina, incluyendo los que desarrollan fiebre reumática; los títulos se comparan con los de antiestreptolisina y gama-globulina. Hay pruebas de que la presencia de los 3 más tipos de estreptococo durante la infección produce una respuesta de anticuerpos mayor que la tala para un solo tipo. Además, la terapia con penicilina, prematura y eficaz para hacer desaparecer el germen de la nasofaringe, muestra una disminución en la respuesta de la antiestreptolisina y de la antiestreptocinasa, pero no del total de los anticuerpos, el se mide como gama-globulina.

Por último, señalaré la determinación del anticuerpo específico de tipo M, por reacción fagocitaria, por aglutinación ó por precipitación. Este antígeno M, como se acepta actualmente (6), está relacionado íntimamente con la virulencia del estreptococo hemolítico A, y se han demostrado anticuerpos específicos de tipo M en sueros humanos de adultos, convalescentes de infección estreptocócica A del tracto respiratorio superior (26), variando el tiempo de aparición de los mismos de 3 a 5 semanas después del contacto con el germen.

CAPITULO IV.

Diagnóstico de la infección estreptocócica en el organismo humano.

La investigación de la infección por estreptococo en el organismo humano puede hacerse directa ó indirectamente; de la primera forma, investigando en distintos sitios la presencia del estreptococo ó sea el diagnóstico bacteriológico, e indirectamente, sabiendo de las reacciones que provoca en el organismo, y haciendo objetivable esta respuesta, es el diagnóstico inmunológico.

a) Diagnóstico bacteriológico:

Se basa principalmente en dos estudios, el examen microscópico directo, por frotis teñidos de las muestras y el cultivo de las mismas.

Las muestras pueden ser obtenidas directamente de diferentes sitios, dependiendo de la naturaleza de la infección estreptocócica. De los exudados faríngeos pueden ser obtenidos productos para cultivo y frotis. Habitualmente se le da un valor muy elevado a este tipo de estudio, y es conveniente hacer una correcta valoración de la flora bacteriana que llega a ser aislada en este sitio.

La investigación de la bacteria, también por frotis y cultivo, puede ser efectuada en los sitios sospechosos en que exista una posible infección de esta naturaleza, por ej. abscesos de diferentes sitios, sean óseos ó de partes blandas, como también de mucosas e, inclusive, de endocardio, como suele hacerse en la actualidad, cuando se interviene quirúrgicamente en los casos de reumatismo. También la valoración, en estos casos, del hallazgo de la bacteria, es motivo de polémicas, que aún en la actualidad no han podido ser definidas, pero es necesario enfatizar que una prueba de esta índole siempre debe estar sujeta a la valoración en común, que el laboratorio

rio pueda aportar y la clínica justificar.

El laboratorio tiene obligación de precisar los caracteres bacteriológicos de la flora encontrada en los frotis, y siempre debe ser cultivada, sobre todo si en el examen anteriormente señalado -- hay la sospecha de una bacteria con características morfológicas y tintoriales de ser patógena. En estas condiciones los cultivos son indispensables, utilizando siempre los medios de acuerdo con la identificación previa de la bacteria sospechosa.

El cultivo, siempre que exista un posible proceso generalizado, debe ser hecho con sangre y médula. La dificultad técnica para el cultivo de sangre arterial y producto medular óseo, hace que estas técnicas sean casi exclusivas de la investigación, pero en particular para el estreptococo, como lo han demostrado varios autores, entre ellos Balazar Mallón (27), la diferencia en positividad, en relación con el producto obtenido de la sangre venosa, es de poca con sideración con valor diagnóstico práctico, por lo que es adoptado por la mayoría para esta investigación con sangre venosa.

La muestra se toma en condiciones de asepsia y se siembra en medio para hemocultivo, que puede ser caldo corazón-cerebro, agregado de penicilinas y ácido para-amino-benzoico, por si fuera necesario inhibir la acción de penicilinas ó sulfas administradas anteriormente. Se incuba a 37 grados y se examina a diario, vigilando si el medio se enturbia, si hay cambios de color en la sangre, etc. Cuando se cree iniciado el desarrollo, se toman muestras para frotis y se siembran en agar-sangre. Si el examen resulta negativo, al cabo de 15 días de incubación se repiten los frotis con el sedimento, se ti ñen por Gram, aunque el cultivo parezca negativo, y se examinan cu idadosamente. El resultado positivo debe estar sujeto a la cl asificación.

ción serológica de grupo y a la tipificación.

b) Diagnóstico inmunológicos

Hatevan (28) establece que las contribuciones de la inmunología al estudio de la fiebre reumática han tendido a caer en dos categorías: la investigación de pruebas que señalen la etiología estreptocócica de la enfermedad, y la búsqueda de diferencias definitivas aunque sutiles, en la respuesta del reumático, con la de individuos no reumáticos. Las disciplinas básicas de la inmunología han permitido encontrar más prontamente diferencias de clase, que diferencias de grado. Así, ha sido posible establecer el hecho de que - virtualmente, los pacientes con fiebre reumática aguda muestran signos serológicos de una infección estreptocócica pura, relacionándose con este hecho con los datos clínicos y epidemiológicos existentes - que sostienen este punto. Ha sido considerablemente más difícil, -- sin embargo, obtener e interpretar los datos relativos a las diferencias cuantitativas en la respuesta de anticuerpos dada por sujetos reumáticos y no reumáticos. En estos grupos se encuentra que desarrollan respuestas de anticuerpos usualmente altas ó bajas, y no ha sido posible por las técnicas inmunológicas existentes, establecer el diagnóstico de fiebre reumática en un paciente dado, basándose en la magnitud de la respuesta serológica a la infección estreptocócica precedente. Esto de ninguna manera permite ignorar el significado teórico de la diferencia real que se encuentra cuando se comparan los títulos de anticuerpos en los dos grupos de pacientes - antes dichos. Estas diferencias han sido consideradas, por algunos autores, como una guía del mecanismo de la fiebre reumática. Es de algún interés por lo tanto, examinar íntimamente estas diferencias - y ciertas hipótesis que se han intentado para explicarlas.

Como señala Mc Carty (29), se ha trabajado muy poco sobre los anticuerpos estrepptocócicos, usando técnicas inmunológicas cuantitativas modernas, puesto que existe una multiplicidad de anticuerpos en el suero humano y los antígenos no pueden obtenerse en estado -suficientemente puro, para justificar el uso de métodos de precipitación cuantitativa, como un simple examen para un solo anticuerpo.

Actualmente, los anticuerpos que mejor pueden determinarse son cinco: 1)- Antiestreptolisina O, por lisis de glóbulos rojos. 2)-Antiestreptocinasa, ó antifibrinolisis, por estudio de la lisis del coágulo de fibrina, mediante plasmina. 3)- Antihialuronidasa, por hidrólisis de ácido hialurónico polimerizado. 4)- Antidesoxiribonucleasa, por hidrólisis del ácido desoxiribonucleico y 5)- Determinación del anticuerpo específico de tipo M, por reacción fagocitaria.

La desafiación de antiestreptolisina O es una de las primeras y la más ampliamente usada; en muchos aspectos es el procedimiento mejor para una rutina. No sólo por el porcentaje de pacientes - que muestran una reacción de anticuerpos tan alta para un solo antígeno, sino por que los métodos de titulación empleados, están razonablemente estandarizados, y aunque hay diversidad en los datos - reportados por los diferentes laboratorios, hay bases para comparar los resultados de las investigaciones separadas.

En cuanto a los valores para el resto de las titulaciones de - anticuerpos, existe una gran discrepancia, debido a la diversidad - de métodos utilizados.

Además de los exámenes de laboratorio anteriormente citados y - que pueden considerarse "específicos" para el reumatismo, deben tomarse en cuenta, por la utilidad que han mostrado, las que podrían llamarse reacciones "no específicas" del sujeto reumático, que son:

1)- Cuenta y fórmula leucocitaria. 2)- Velocidad de sedimentación - globular. 3)- Investigación de proteína C reactiva. 4)- Electroforesis de las proteínas séricas.

Después de la valoración de los diferentes medios que se han ideado para el estudio de los enfermos con fiebre reumática, he creído conveniente hacer la selección de los elementos diagnósticos que a continuación se señalan:

1- Cultivo de exudado faríngeo. 2- Dosificación de antiestreptolisina O. 3- Cuenta y fórmula leucocitaria. 4- Velocidad de sedimentación globular. 5- Investigación de proteína C reactiva.

En cada enfermo, se procuró practicar los exámenes el mismo día con objeto de tener hasta donde fuera posible, igualdad de circunstancias y poder así relacionar los resultados que se obtuvieran.

CAPITULO V.

Técnicas empleadas y valores normales.

1- Cultivo de exudado faríngeo, para investigar la presencia de estreptococo hemolítico.

El exudado se tomó con iodo estéril, sembrándose superficialmente en placas de agar-sangre de carnero. La observación se hizo a las 24 y 48 horas, primero macroscópicamente de las colonias desarrolladas, y luego microscópicamente, en extensiones teñidas por el método de Gram.

2- Posificación de antistreptolisina O.

Se utilizó el método descrito por Todd y modificado por Hodge y Swift (30) que es el siguiente:

La estreptolisina se obtuvo por siembra en caldo-corazón de una copa de estreptococo hemolítico grupo A, en este caso el "C-203", después de incubar 18 horas, se filtró por filtro Seitz para obtener la toxina libre de cuerpos bacterianos. Se determinó su poder hemolítico y la unidad de combinación.

a) Medida del poder hemolítico:

Material: Toxina reducida con hidrosulfito de Na. (1 mg. por -- c.c.) por lo menos 20 minutos antes de ser utilizada.

Suspensión reciente, al 2%, de glóbulos rojos de conejo, desfibrinados y lavados con solución salina fisiológica al 0.9%, hasta que el líquido sobrenadante no presentara huellas de hemólisis.

Método: En una serie de cinco tubos de ensayo se pusieron cantidades crecientes de toxina reducida: 0.05, 0.1, 0.15, 0.20 y 0.25 - c.c.; se completó el volumen a: 1.5 c.c. con solución salina. Se agregó 0.5 c.c. de suspensión de glóbulos rojos a todos los tubos y se incubó a B.M. a 37 grados, por espacio de una hora. El poder hemolítico fué dado por la menor cantidad de toxina que produjo hemó-

titula de los glóbulos rojos.

b)-Determinación de la unidad de combinación:

Materiales: Toxina reducida.

Suspensión de glóbulos rojos de conejo, al 2%.

Suero testigo conocido.- El suero tenía 100 u/c.c. de antiestrepptolisina y fue proporcionado por el Laboratorio de Microbiología del I.M.C. Después de inactivarlo por 30 minutos a 56 grados, se preparó una solución de éste, al 1% en solución salina (0.1 c.c. de suero y 9.9 c.c. de S. salina). De esta dilución se tomó 0.5 c.c. ó sea media unidad de antiestrepptolisina, para cada tubo.

Método: En una serie de 10 tubos se pusieron cantidades crecientes de toxina reducida: 0.05, 0.1, 0.15 c.c., etc. Se les agregó a todos 0.5 c.c. de la dilución al 1% del suero testigo y se completó el volumen a 1.5 c.c. con solución salina. Se incubaron durante 15' en B.M. a 37 grados; pasado este tiempo se les agregó 0.5 c.c. de la suspensión de glóbulos rojos y se incubaron por 45' a la misma temperatura. La unidad de combinación (en este caso la mitad de ella, puesto que se puso media unidad de antiestrepptolisina), está dada por la mayor cantidad de toxina que se combina con 100 U. de antiestrepptolisina y, por lo tanto, en el tubo no se observan ni huellas de hemólisis. Con objeto de facilitar la observación, los tubos se centrifugaron. En este caso se obtuvo como unidad de combinación (para 50 U. de antiestrepptolisina), 0.3 c.c. ó sea en el tubo que contenía 0.3 c.c. de toxina no hubo huellas de hemólisis, en tanto que en el siguiente, con 0.35 c.c. se presentó ésta.

c) Titulación de los sueros problema:

Los sueros se inactivaron a 56 grados por 30' a 60 grados por 3'. Se hicieron diluciones iniciales de ellos al 1% en solución salina.

En una serie de 10 tubos de ensayo, y en volúmenes de 0.5 c.c. -
posteriormente las siguientes diluciones del suero:

Tubo # 1 - 1:1000.

Tubo # 2 - 1:2000

Tubo # 3 - 1:4000

Tubo # 4 - 1:8000

Tubo # 5 - 1:16000

Tubo # 6 - 1:32000

Tubo # 7 - 1:64000

Tubo # 8 - 1:128000

Tubo # 9 - 1:256000

Tubo #10 - 1:512000

Se les agregó a todos 1 c.c. de solución salina y luego la uni-
dad de combinación de la toxina, ya determinada, de 0.5 c.c., pre-
viamente reducida. Se incubaron durante 15', se agregó 0.5 c.c. de
suspensión de glóbulos rojos y se incubó por 45'. El título de anti-
estreptolisina de cada suero fue dado directamente en unidades por
c.c. por la recíproca de la dilución mayor de éste en que no se ob-
servaron ni huellas de hemólisis.

Salazar Mallén, Evans y Balcázar (31) determinaron el título --
normal de antiestreptolisinas en personas normales de Tapachula y --
de la ciudad de México. En la primera encontraron que el porcentaje
mayor correspondió a títulos de 200 U/c.c. en tanto que en la ciu-
dad de México, el porcentaje mayor fué de 100 U/c.c., siguiéndole
el de 100 U/c.c.

Se considera que un contenido de antiestreptolisinas en suero --
mayor de 200 U/c.c. sugiere una infección reciente por estreptococo
(3). Green (32) reportó las siguientes cifras: 79 U/c.c. en indivi-
duos sanos, 210 en fiebre reumática inactiva, 263 U/c.c. en faringí

tis, 300 U/c.c. en escarlatinas y 404 U/c.c. en formas activas de fiebre reumática.

Harrie S. y Harrie T. (20) dan los siguientes datos: el incremento del título normal fué de 12 U/c.c. en infección aguda por estreptococo, 38 U/c.c. en convalescentes de infección estreptocócica y 296 U/c.c. en fiebre reumática aguda. En los mismos estados patológicos, Anderson (25) encuentra los títulos siguientes respectivamente: 04 U/c.c.; 718 U/c.c. y 417 U/c.c.

Rantz y Randall (33) reportan un incremento de 210 U/c.c. en infecciones estreptocócicas no complicadas, 344 U/c.c. en fiebre reumática con carditis y 306 U/c.c. en fiebre reumática con artritis.

3- Cuenta y fórmula leucocitaria.

Para la cuenta de leucocitos se utilizó el método habitual descrito por Kolmer (9) y que consiste en diluir la sangre 1:20 con toda exactitud, usando la pipeta de Thoma, en un líquido que al producir la hemólisis completa de los hemáticos no ataca los leucocitos.- Utilizando una cámara especial se cuentan los leucocitos contenidos en 0.4 mm. cúbicos de sangre diluida y la cifra hallada se multiplica por 50, obteniendo así el número de glóbulos blancos por un mm. cúbico de sangre no diluida.

Wintrobe (13) acepta que el número normal de leucocitos es de 7 000 por mm. cúbico, con un mínimo normal de 5 000 y máximo normal de 10 000.

La fórmula leucocitaria fué determinada en extensiones teñidas por el método de Wright. Los valores normales señalados por Wintrobe (13) son los siguientes:

Mielocitos	0%
Juveniles	3-5%
P. Neutrófilos	54-62%

E. Eosinófilos	1-3 %
E. Basófilos	0-0.75 %
Linfocitos	25-37 %
Monocitos	3-7 %

4-Velocidad de sedimentación:

Se determinó utilizando el método de Westergren (5): se llena un tubo de Westergren hasta la señal 0, con sangre citratada y se coloca en un soporte. Se lee el volumen en mm. de la columna de plasma, a los 30, 60, 90 y 120 minutos.

Los valores normales, por este método son: hombres, de 0 a 15 mm. a los 60'; mujeres, de 0 a 20 mm. (5).

5-Investigación de proteína C reactiva:

Se usó el método descrito por Anderson y Mc Carty (16).

Materiales: Suero anti-PCR, tubos capilares de 1-1.5 mm. de diámetro, gradilla de plastilina.

Se tomaron con los capilares, columnas de antisuero aproximadamente de 1-1.5 cm. de largo; la parte inferior del tubo se sumergió en el suero problema y se tomó un volumen igual que del anti-suero, evitando la formación de burbujas entre ambas partes. Se dejó correr la columna. Después de cerrar un extremo de los tubos, por calentamiento, se insertaron en la gradilla. Se incubaron en la estufa a 37 grados, por dos horas y luego se colocaron en el refrigerador a 4 grados, toda la noche, antes de la lectura. Si no hubo ninguna reacción visible se dió como negativa, y cuando hubo precipitado, por cada mm. se reportó una cruz, tomando como máximo 7 cruces, si la precipitación llenó completamente los tubos capilares.

A continuación, citaré los métodos que se utilizan para la investigación de otros anticuerpos estreptocócicos, y que, como anteriormente he dicho, no se practicaron en este estudio, pero creo

de utilidad hacer mención de ellos.

En primer lugar, la reacción de la fibrinolisisina ó antiestreptoquinasa, original de Tillet y Garner (5), método cualitativo en que se indica por medio de cruces el tiempo más o menos largo en que se presenta la fibrinólisis del coágulo plasmático. Kaplan (24) y Anderson y Mc Carty (25) también han reportado un método cuantitativo para la determinación de antiestreptoquinasa. Los valores dados por Kaplan (24) como en 12000 casos estudiados se encontró un contenido bajo en los sujetos normales y sólo en el 12 % el título fué de más de 150. En un 4 % de patientes con tenositis exudativa por estreptococo beta-hemolítico se presentó un incremento.

Para la dosificación de antihialuronidasa, el método original de Mc Clean (34), una simple reacción para determinar la inhibición específica de la enzima por anticuerpos apropiados, llamada --- prueba de la prevención de la coagulación de la mucina. Otro método es el viscosimétrico, descrito por Mc Clean y Hale (35). El más empleado en la actualidad es el método turbidimétrico de Kass y Seastone (36), modificado por Harris y Harris (37) y que se basa en la turbidez que se produce al poner en contacto ácido hialurónico y suero de caballo ó conejo, a un pH de 5.4, en presencia de la enzima hialuronidasa, y al agregar suero humano problema, que contenga el anticuerpo, éste inhibe a la enzima y no aparece la turbidez.

Los títulos encontrados para diferentes estados patológicos, como ya se dijo en capítulos anteriores, difieren grandemente, así --- Frieu (16) reporta 29.6 unidades de enzima inhibidas por dilución simple del suero, en infecciones agudas por estreptococo, 40 U. en convalescientes de infección estreptocócica y 76.6 U. en fiebre reumática aguda. Quinn (19) da títulos de 2048 unidades en convalescientes y 6000 en fiebre reumática aguda.

Harris y Harris (37), utilizando comparativamente los métodos de provocación de la coagulación de la mucina y su modificación turbidimétrica, reportan los siguientes datos: por el primer método, -- para niños normales de 3 - 12 años, 35 unidades, 52 para fiebre reumática inactiva y 180 en fiebre reumática aguda. Por el segundo método, en los mismos estados, 51; 102 y 1020 respectivamente.

La desintegración de anti-desoxiribonucleasa ha sido reportada -- por Mc Carty (21) y Tillet (22) y se basa en la hidrólisis del ácido desoxiribonucleico, de una manera semejante a la de la anti-hialuronidasa.

Para la determinación del anticuerpo específico de tipo M se -- han utilizado métodos agglutinarios, directo e indirecto (26).

CAPITULO VI.

Observaciones clínicas y datos de laboratorio.

En este capitulo se anotan los datos de: nombre ó número de registro, cultivo de exudado faríngeo, dosificación de antiestreptoliasina C (A.E.L.), investigación de proteína C reactiva (P.C.R.), velocidad de sedimentación globular (V.S.G.), cuenta de glóbulos blancos (G.B.), fórmula leucocitaria, diagnóstico clínico y grado de actividad en 15 casos de enfermos reumáticos, además de algunos datos interesantes de los mismos exámenes, practicados en 5 personas no reumáticas.

Comparación de los procedimientos en uso para el estudio de la fiebre reumática.

Caso No.	Nombre	Cultivo far.	ACT. úvee	P.P.P.	V. V. GG'	G. Rl.	Fórm. leucocitaria	Diagnóstico y actividad.
1	H. L. L.	Neg.	-100	Neg.	17	8600	Linfocitos 16% Monocitos 6% En banda 2% P. Neutrófilos 72% P. Eosinófilos 4%	Cardiopatía reumática. No hay actividad.
2	H. E. D.	Neg.	300	Neg.	3	7300	Linfocitos 23% Monocitos 8% En banda 1% P. Neutrófilos 62% P. Eosinófilos 1%	Cardiopatía reumática. Actividad media y.
3	E. R.	Neg.	800	3y	17	6800	Linfocitos 33% Monocitos 4% P. Neutrófilos 62% P. Eosinófilos 1%	Cardiopatía reumática. Fiebre reumática activa y.
4	H. L. J.	Neg.	-100	Neg.	5	11200	Linfocitos 14% Monocitos 4% En banda 5% P. Neutrófilos 76% P. Eosinófilos 1%	Cardiopatía reumática. Actividad media y.
5	C. I.	Neg.	600	Neg.	17	6100	Linfocitos 35% Monocitos 4% En banda 1% P. Neutrófilos 57%	Cardiopatía reumática. Actividad dudosa.
6	M. H. K.	Neg.	400	2y	8	6600	Linfocitos 28% Monocitos 3% En banda 1% P. Neutrófilos 66%	Cardiopatía reumática. Actividad media y.
7	S. I.	Neg.	300	Neg.	65	10400	Linfocitos 15% Monocitos 4% En banda 3% P. Neutrófilos 78%	Cardiopatía reumática. No hay actividad.
8	M. M.	Neg.	100	Neg.	4	6400	Linfocitos 24% Monocitos 7% En banda 2% P. Neutrófilos 65% P. Eosinófilos 2%	Miocarditis inespecífica.

Caso No.	Nombre	Cultivo Far.	GL. a/cc	PCU.	G. de G. 60'	G.Hl.	Fórm. leucocitaria	Diagnóstico y actividad.
9	B.B.	Neg.	1200	3+	76	6100	Linfocitos 25% Monocitos 7% En banda 1% P. Neutrófilos 65% P. Eosinófilos 2%	Cardiopatía reumática. Actividad ??. Glomérulo-nefritis evolutiva.
10	A.S.	Neg.	1400	3+	66	15600	Linfocitos 18% Monocitos 6% En banda 2% P. Neutrófilos 73% P. Basófilos 1%	Cardiopatía reumática. Fiebre reumática aguda ???.
11	B.M.D.	Neg.	400	4+	60	6600	Linfocitos 26% Monocitos 7% En banda 2% P. Neutrófilos 65%	Cardiopatía congénita. No hay actividad.
12	B.B.	Neg.	400	Neg.	24	10100	Linfocitos 17% Monocitos 9% En banda 3% P. Neutrófilos 68% P. Eosinófilos 1% P. Basófilos 2%	Cardiopatía reumática. Actividad reumática estacionaria ???.
13	J.R.	Neg.	100	3+	33	5200	Linfocitos 26% Monocitos 8% En banda 1% P. Neutrófilos 63% P. Eosinófilos 1% P. Basófilos 1%	Cardiopatía reumática. No hay actividad.
14	G.C.	Neg.	300	Neg.	3	5000	Linfocitos 25% Monocitos 7% En banda 2% P. Neutrófilos 65% P. Eosinófilos 1%	Miocarditis. Reactivación reumática (?).
15	J.D.V.	Neg.	200	3+	42	9200	Linfocitos 22% Monocitos 9% En banda 1% P. Neutrófilos 65% P. Eosinófilos 3%	Cardiopatía reumática. No hay actividad.

Caso No.	Registro	P.C.R.	G. Blancos	V. de S.	Diagnóstico
16	43326	5 +			Diabetes-Hipertensión
17	44428	2 +	8400	20	Artritis Reumatoide
18	44239	6 +			Hiponutrición.-Esclerosis aórtica.
19	43243	Neg	12800	138	Síndrome nefrónico típico.
20	45536	1 +	9200	112	Lupus eritematoso.

CAPITULO VII.

Discusión y conclusiones.

Caso 1- Valores normales para A.E.L.; P.C.R.; V.de S. y cuenta ley cocitaria. En la fórmula hay neutrofilia (72 %), que sugiere una infección estreptocócica precedente. Los datos de laboratorio confirman el diagnóstico clínico de inactividad. En éste, como en todos los demás casos, el cultivo del exudado faríngeo, para investigar estreptococo hemolítico, fue negativo.

Caso 2- Valores normales para P.C.R.; V.de S.; cuenta y fórmula - leucocitaria (neutrófilos). Hay ligera elevación en el título de A.E.L. (300), que coincide con el dato clínico de actividad media (+).

Caso 3- Valores normales para V.de S.; cuenta y fórmula, pero hay aumento para A.E.L. (800) y presencia de P.C.R. (3 +), confirmando la actividad (+ +) de la fiebre reumática.

Caso 4-Valores normales para A.E.L.; P.C.R.; y V.de S. Hay leucocitosis (11200) y neutrofilia (76 %), de acuerdo con el diagnóstico de actividad media (+).

Caso 5- Valores normales para P.C.R.; V.de S., cuenta y fórmula, - pero hay gran elevación del título de A.E.L. (800). El diagnóstico, - actividad dudosa, pero la infección estreptocócica es segura.

Caso 6-Valores normales para V.de S., cuenta y fórmula. Aumento de A.E.L. (400), presencia de P.C.R. (2 +), que confirma el diagnóstico - de actividad media (+ e).

Caso 7-Valores normales sólo para P.C.R. Hay ligero aumento de -- A.R.L. (300), V.de S. (65), leucocitosis (10400) y neutrofilia (78 %) estos datos no concuerdan con el diagnóstico de inactividad, solo aparente, probablemente.

Caso 8-Valores normales en todos los exámenes. Los datos pueden - ayudar a descartar la posibilidad de reumatismo activo.

Caso 9-Valores normales para cuenta y fórmula. Aumento en A.E.L.- (1700), P.C.R. (3+) y V.de S. (26), que coinciden con el dato clínico de actividad (+ +).

Caso 10-Todos los datos, A.E.L. (1400); P.C.R. (3 +); V.de S.(66) leucocitosis (15600) y neutrofilia (73 %) confirman la actividad (+ + +) de la fiebre reumática.

Caso 11-Valores normales para cuenta y fórmula, aumento de A.E.L. (400), P.C.R. (3 +) y V.de S. (40) en desacuerdo con el diagnóstico de inactividad.

Caso 12-Valores normales para P.C.R. y fórmula. Aumento de A.E.L.- (400); V.de S. (24) y leucocitos (10100), coincidiendo con la actividad (+ + +) del reuma.

Caso 13-Valores normales de A.E.L., cuenta y fórmula. Pero la P./C.R. (3 +) y la V. de S. (33) no concuerdan con el diagnóstico de inactividad.

Caso 14-Valores normales para P.C.R.; V.de S.; cuenta y fórmula - La ligera elevación de A.E.L. (300) puede ayudar al diagnóstico de reactivación reumática, en duda.

Caso 15-Valores normales para cuenta y fórmula. Los datos de A.E.L. (600); P.C.R. (3+) y V.de S. (42); en discordancia con el diagnóstico de inactividad.

Caso 16-Enfermo diabético, con el dato de P.C.R. de 5 +; indicando la inespecificidad de la prueba.

Caso 17-También la P.C.R. (2+) aparece inespecíficamente, lo mismo que el aumento en la V.de S. (20).

Caso 18-Dato de P.C.R. de 6 + en hiponutrición, concluyéndose lo mismo que en los casos 16 y 17, respecto a esta prueba.

Caso 19-Valores muy elevados para cuenta leucocitaria (12800) y V.

de S. (138) en síndrome nefrótico. Se deduce la inespecificidad que tienen estos exámenes.

Caso 20-La presencia de P.C.R. (1+) y aumento de la V.de S. (112) permite, como en los casos 16, 17 y 18, considerarlas como reacciones no específicas.

CONCLUSIONES:

1- Se investigó el valor de los exámenes de laboratorio que pueden llamarse "específicos" y "no específicos", utilizados en el Instituto Nacional de Geriología, para el diagnóstico del reumatismo. Del primer grupo se escogieron el cultivo de exudado faríngeo, para investigar -- estreptococo hemolítico y la dosificación de antiestreptolisina O; -- del segundo grupo, la velocidad de sedimentación, la cuenta y la fórmula leucocitaria y la investigación de proteína C reactiva.

2- El estudio se hizo en 19 enfermos con diversos grados de actividad reumática, según observación clínica, y en 5 personas no reumáticas.

3- La inespecificidad de todas las pruebas, sugerida por la revisión bibliográfica, se comprobó prácticamente al no encontrarse ninguna alteración específica y notoria que predominara en los casos de reumatismo, y fuera índice del grado de actividad.

4- Por los datos de laboratorio obtenidos, se concluye que dichos exámenes, considerados en forma aislada, no tienen gran valor, pero en conjunto, y teniendo en cuenta las observaciones clínicas, pueden ser útiles al médico para diagnosticar la fiebre reumática.

CAPITULO VIII.

Bibliografía:

- 1- Topley, Wilson, Miles. Bacteriología e Inmunología. II edición.
- 2- Mc Carty M. Circulation. XIV, No. 6. Dic. 1956.
- 3- Review of Medical Microbiology. Pág. 135, 1954.
- 4- Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, by R.S. Breed. VI ed. 1948.
- 5- Kolmer. Métodos de laboratorio. V edición, 1955.
- 6- Lancefield K. "Streptococcal Infection", a Symposium. Edit. by Mc Carty. 1954. pág. 3.
- 7- Fernheimer A. "Streptococcal Infection" ed. by Mc Carty, 1954, pág. 22.
- 8- Salazar Mallón M. Arch. Inst. Mal. Card. Méx. XIX, :298, 1949.
- 9- Gurría Davé J. Tesis. Capítulo II.
- 10- Rants, Balavert y Spink. Arch. of Int. Med. 79, : 401, 1947.
- 11- Isaacs A. J. of Path. Bact. 59, :487, 1947.
- 12- Taran L. J. Immunol. 53, :341, 1946.
- 13- Wintrobe. "Clinical Hematology". II edition.
- 14- Layani, Bengui y de Vende. La semaine des hopitaux. 28a. année, número 50, oct. 1952.
- 15- Good E. "Pneumatic fever" a Symposium ed. by Lewis & Thomas, 1951.
- 16- Anderson, Mc Carty M. Am. J. of Med. 8, : 44b, 1950.
- 17- Friou G. J. Infect. Dis. 80, :185, 1947.
- 18- Friou G. J. Infect. Dis. 84, :240, 1949.
- 19- Quinn. J. Clin. Invest. 27, : 71, 1948.
- 20- Harris S. J. Clin. Invest. 29, : 351, 1950.
- 21- Mc Carty M. J. Exp. Med. 88, :181, 1948.
- 22- Tillet. Proc. Soc. Exper. Biol. Med. 68, : 184, 1948.

- 23- Mc Carthy M. J.Exp.Med. 90.: 843, 1949.
- 24- Kaplan M. J.Clin.Invest. 25.:1247, 1946.
- 25- Anderson. Mc Carthy. J.Clin.Invest. 27.: 425, 1948.
- 26- Reichard S. J.Exp.Med. 82.: 93, 1945.
- 27- Salazar Mallén M. Arch.Inst.Nal.Card.Méx. XVII, 229, 1947.
- 28- Astetson Ch. "Streptococcal Infection" ed. by Mc Carthy, 1954.
- 29- Mc Carthy M. "Rheumatic fever" a Symposium ed. by Lewis & Thomas, 1951.
- 30- Swift. Hodges. Proc.Soc.of Exp.Biol.Med. 30.: 1022, 1933.
- 31- Salazar Mallén M., Evans, Balcázar. Am.Heart J. 53.No.5.:676, 1957.
- 32- Green. J.Path.Bact. 53.: 223, 1941.
- 33- Rank and Randall. Am.J.Med. 5.: 3, 1948.
- 34- Mc Clean and Hale. Bloch.J. 35.:159, 1941.
- 35- Mc Clean. Lancet, 1:1355, 1943.
- 36- Ross and Heastone. J.Exp.Med. 79.:319, 1944.
- 37- Hattie S. and Hattie T. J.Immunol. 63.: 233, 1949.