

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS MEDICAS

**‘FRECUENCIA DE *HAEMOPHILUS INFLUENZAE* EN
OROFARINGE DE NIÑOS MENORES DE CUATRO AÑOS’**

(Estudio prospectivo sobre la frecuencia de portadores
sanos en una muestra de 118 niños de las guarderías
Bethania, Colón y Pamplona de la Ciudad de
Guatemala, junio y julio de 1984)

NERY FERNANDO QUINONEZ MENENDEZ

C O N T E N I D O

	Página
1.- INTRODUCCION	1
2.- DEFINICION Y ANALISIS DEL PROBLEMA	3
3.- REVISION BIBLIOGRAFICA	5
4.- MATERIAL Y METODOS	21
5.- PRESENTACION DE RESULTADOS	25
6.- ANALISIS Y DISCUSION DE RESULTADOS	33
7.- CONCLUSIONES	37
8.- RECOMENDACIONES	39
9.- RESUMEN	41
10.- ANEXOS	43
11.- REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	45

INTRODUCCION

De acuerdo a los estudios realizados en otras latitudes *Haemophilus influenzae* constituye el agente infectivo muchas veces implicado en procesos infecciosos especialmente en niños de 3 meses a 4 años de edad (2, 7, 8, 12, 17, 25). En nuestro medio, si embargo, existe pocos informes acerca de las infecciones producidas por este microorganismo. En un estudio realizado recientemente en el Departamento de Pediatría del Instituto Guatemalteco de Seguridad Social, se incluye al *Haemophilus sp.* como uno de los agentes frecuentemente aislados del líquido cefalorraquídeo de niños con meningoencefalitis purulenta menores de 2 años de edad (27).

La frecuencia de portadores sanos de *Haemophilus influenzae* según estudios de diferentes países, varía de acuerdo a la edad y los distintos grupos de población (18, 24, 34, 38), informándose un mayor número de portadores entre los contactos intrafamiliares y de guarderías infantiles, de los niños con meningitis y otras enfermedades invasivas producidas por este agente, en quienes se ha determinado que existe un riesgo mucho más elevado, que en la población general, de desarrollar enfermedad (2, 8, 18, 20, 38, 39).

El presente trabajo fué realizado durante los meses de junio y julio de 1984, teniendo como principal objetivo establecer la frecuencia de portadores sanos de *Haemophilus influenzae* en niños de las guarderías de la Ciudad de Guatemala; para lo cual se efectuó cultivo de orofaringe a una muestra de 118 niños asintomáticos, menores de 4 años de edad, que asisten diariamente a las guarderías Bethania, Colón y Pamplona de esta capital. El interés que motivó la realización del estudio, se fundamenta en que las infecciones producidas por *Haemophilus influenzae* afectan especialmente a este grupo etáreo, en quienes la actividad bactericida contra este germen está generalmente ausente en el suero (26), en consecuencia, el estudio de la colonización por este microorganismo, en la población sana, puede reflejar en cierta medida el riesgo de desarrollar enfermedad en los individuos susceptibles (18,26).

Considerando la elevada frecuencia de cepas de *Haemophilus*

influenzae resistentes a la Ampicilina, que según las publicaciones de la literatura internacional puede ser hasta del 35o/o (11, 12, 15, 18, 34, 38), en la presente investigación se efectuó la determinación de los patrones de susceptibilidad de las cepas aisladas, mediante el método de Kirby-Bauer modificado, a los siguientes antimicrobianos: Ampicilina, Cloranfenicol, Eritromicina, Cefalotina y Trimetoprim-sulfametoxazol; encontrando 11.1o/o de cepas resistentes a la Ampicilina y ninguna resistente al Cloramfenicol. Este aspecto del estudio alcanza cierta relevancia dada la repercusión que representa sobre la efectividad terapéutica, el desarrollo de resistencia a los antimicrobianos, especialmente ante las infecciones que comprometen el sistema nervioso central, las cuales pueden tener una mortalidad elevada y dejar secuelas neurológicas permanentes (8, 11, 15, 18, 25, 38).

La investigación bacteriológica fué realizada por mi persona en un laboratorio privado, bajo la asesoría y supervisión del Dr. César L. González Camargo y la T.M. Ana Rosa de González, contando con la colaboración del Laboratorio Multidisciplinario de la Facultad de Ciencias Médicas.

Finalmente, se espera que la información obtenida pueda ser de aplicación clínica y utilizada como referencia para la realización de futuras investigaciones sobre el tema, en nuestro medio.

DEFINICION Y ANALISIS DEL PROBLEMA:

Haemophilus influenzae es responsable de un variado espectro de procesos: desde la colonización asintomática del tracto respiratorio superior, a la enfermedad sistémica grave como meningitis purulenta y epiglotitis aguda que amenazan la vida (2, 7, 12, 17, 25). Es el agente infeccioso más frecuente de otitis media; a menudo implicado en sinusitis, neumonía, empiema, celulitis, artritis séptica y septicemia en niños pequeños (2, 25, 30, 12). La enfermedad invasiva causada por *Haemophilus influenzae* tipo b, es más común en niños de 3 meses a 3 años de edad, sin embargo, puede ocurrir en niños mayores y ocasionalmente en adultos (2, 35). Tanto la enfermedad local del tracto respiratorio superior como los procesos invasivos, se inician con la colonización de la nasofaringe, pudiendo producir la mayoría de las veces una nasofaringitis purulenta, de donde el microorganismo puede pasar a la sangre o extenderse localmente (12, 25). Probablemente, la gran mayoría de las infecciones nasofaríngeas sean leves y eventualmente, se producen infecciones graves, dependiendo de la inmunidad del hospedero (25).

Estudios realizados en el extranjero, acerca de la colonización de la nasofaringe y orofaringe por *Haemophilus influenzae* serotipo b, informan distintos porcentajes de portadores sanos de este microorganismo en diferentes grupos de población: 0.7o/o en niños menores de 6 meses, 2 a 9o/o en niños menores de 5 años de edad y 0.4o/o en adultos. Para las cepas no tipificables, el porcentaje de portadores sanos es hasta el 34.2o/o o más, en niños de 4 a 7 años de edad (18, 24, 34, 38). Por otra parte, se ha establecido que los contactos intrafamiliares de los niños con meningitis y epiglotitis por *Haemophilus influenzae* tipo b, especialmente si son menores de 6 años de edad, tienen un riesgo 585 veces mayor que la población general de desarrollar enfermedad (2, 8, 22, 31, 39). Esta situación ha motivado que actualmente el Comité de Enfermedades Infecciosas de la Academia Americana de Pediatría, recomiende el uso profiláctico de Rifampicina en los contactos de niños con enfermedad invasiva (20).

En nuestro medio, el aislamiento de *Haemophilus influenzae* se ha realizado, desde hace varios años, en especímenes clínicos como

exudados faríngeos, secreciones en casos de otitis media y del líquido cefalorraquídeo, no encontrándose hasta la fecha ningún informe de cepas resistentes a la ampicilina. (*) Sin embargo, no se encontraron estudios publicados sobre la frecuencia de este microorganismo aislado de la orofaringe de niños sanos, en el grupo etéreo en riesgo, comprendido entre los 3 meses y 4 años de edad.

Desde hace algunos años, se ha registrado en el extranjero un incremento de las cepas de *Haemophilus influenzae* resistentes a la ampicilina y a otros antimicrobianos, lo cual ha motivado a realizar investigaciones extensas sobre la susceptibilidad de estas bacterias, considerando la importancia de dicho fenómeno sobre la efectividad del tratamiento prescrito en las infecciones producidas por este agente infeccioso. En ese contexto, se plantea la necesidad de llevar a cabo estudios acerca de la susceptibilidad in-vitro de las cepas de *H. influenzae* aisladas en nuestro medio a los antimicrobianos, con especial interés en Ampicilina y Cloranfenicol, los cuales presentan la ventaja de adecuada penetración en el líquido cefalorraquídeo (11,15,18,21,33,34,38).

(*) Dr. César L. González Camargo, Jefe de Laboratorios Centrales Dirección General de Servicios de Salud. Comunicación personal.

REVISION BIBLIOGRAFICA:

Haemophilus influenzae fue descubierto por Richard Pfeiffer en 1892, considerándolo erróneamente como el agente causal de la influenza. Hasta la pandemia de influenza de 1918-1919 se creía que este cocobacilo era el agente causal primario de esta entidad; posteriormente, se comprobó su papel como invasor secundario del tracto respiratorio previamente dañado por el virus de la influenza (12, 25, 35).

Los métodos de aislamiento y la determinación de los factores accesorios de crecimiento fueron descritos por Zinnemann en 1960 y White en 1963 (6).

Los miembros del género *Haemophilus*, constituido por 19 especies, son parásitos obligados, que de manera característica requieren factores accesorios de crecimiento contenidos en la sangre para su aislamiento in vitro. Son organismos diminutos (0.2 μ a 0.5 μ m por 0.3 a 2.0 μ m), aerobios, bacilos gramnegativos, inmóviles, no esporulados. Algunos forman parte de la microbiota indígena del tracto respiratorio y otros como *Haemophilus influenzae*, son importantes patógenos para el hombre (3, 6, 17).

MORFOLOGIA:

Haemophilus influenzae usualmente tiene apariencia de bacilo gramnegativo de forma cocobacilar. Sin embargo, la morfología depende tanto de la edad como de la composición del medio de cultivo; así, en los medios enriquecidos predominan las formas cocobacilares en 6 a 8 horas de incubación, en cultivos más viejos pueden encontrarse bacilos más largos, bacterias lisadas y pleomórficas (12).

Las bacterias provenientes de cultivos jóvenes (6 a 18 horas), en medios enriquecidos tienen una cápsula de polisacáridos bien definida, la cual puede lisarse por la acción de enzimas autolíticas, de tal manera que se observa mal en microorganismos de cultivos viejos. Los microorganismos provenientes de cepas no encapsuladas tienen aspecto pleomórfico o filamentoso (3, 12, 17). Las tinciones de Gram

de frotos de material normalmente estéril como el líquido cefalorraquídeo y líquido pleural, particularmente en el grupo de edad en que *Haemophilus influenzae* es patógeno común, pueden ser una guía útil; debiendo tenerse cuidado en la decoloración, en especial en las áreas densas del frote, ya que las formas cocobacilares pueden confundirse algunas veces con los neumococos, si esta no se efectúa adecuadamente (17).

CULTIVO Y AISLAMIENTO:

Haemophilus influenzae requiere medios de cultivo enriquecidos con sangre o hemoglobina. En agar chocolate se produce un crecimiento exuberante en 18 a 24 horas de incubación; este medio se prepara añadiendo sangre o hemoglobina al agar y calentándolo hasta que tome un color castaño o chocolate (3). La sangre humana y la de oveja contienen inhibidores termolábiles para este microorganismo, pero al preparar el agar chocolate, estos son destruidos por el proceso de calentamiento (17).

Haemophilus influenzae necesita 2 factores esenciales para su crecimiento in vitro, estos son:

1. FACTOR X, conocido también como *Hemina*, sustancia termoestable asociada con la hemoglobina y que es necesaria para la síntesis de enzimas respiratorias (3, 12, 17).
2. FACTOR V, coenzima I ó II, la Nicotinamida Adenina Dinucleótido (NAD), que puede obtenerse de otras bacterias (estafilococos, neisserias, neumococos) y del extracto de papa, además de su presencia en la sangre (3, 12, 17).

Varios métodos han sido utilizados para determinar la presencia de estos factores en suficiente cantidad en los medios de cultivo primarios; y, el requerimiento de uno o de ambos factores para el crecimiento in vitro, es un auxiliar para la diferenciación de las especies del género *Haemophilus*. Ambos factores pueden ser añadidos directamente en los medios de acuerdo a las recomendaciones del fabricante (17). Asimismo, los factores X y V pueden prepararse en el laboratorio siguiendo el procedimiento recomendado por Stockes (26).

En la tabla No. 1 se presenta los requerimientos de factores X y V de algunas especies del género *Haemophilus* y su actividad hemolítica. Obsérvese que *Haemophilus influenzae* requiere ambos factores y no produce hemólisis en agar sangre.

TABLA No. 1
REQUERIMIENTO DE FACTORES "X" y "V" DE ALGUNAS ESPECIES DEL GENERO *HAEMOPHILUS* Y ACTIVIDAD HEMOLITICA:

Microorganismo:	Factores de crecimiento		Hemólisis
	X	V	
<i>H. influenzae</i>	+	+	—
<i>H. parainfluenzae</i>	—	+	—
<i>H. haemoliticus</i>	+	+	+
<i>H. aphrophilus</i>	+	—	—
<i>H. aegyptius</i>	+	+	—
<i>H. ducreyi</i>	+	—	+

Fuente: Manual of Clinical Microbiology, A.S.M. (17).

En cajas de agar-sangre de caballo o de conejo, *Haemophilus influenzae* crece poco, produciendo colonias diminutas, sin embargo, cuando es sembrado en agar-sangre junto a otras bacterias como *Staphylococcus*, capaz de sintetizar factor V, crecen colonias grandes de *Haemophilus influenzae* alrededor de las colonias de estafilococo, produciendo el fenómeno conocido con el nombre de "Satelitismo" (3, 17, 36), o fenómeno del "Satélite" (12). Cuando la apariencia de las colonias y el aspecto del "satélite" son característicos, no se necesitan pruebas adicionales, pudiendo identificar este microorganismo como *Haemophilus sp* (36). Si el medio es rico en factor V o si el microorganismo necesita relativamente poco del mismo, el satelitismo puede fallar (36).

IDENTIFICACION:

Las colonias típicas de *Haemophilus influenzae* en agar-sangre, tienen apariencia de gotas de rocío, son muy pequeñas y tienen un brillo azulado a la luz transmitida oblicuamente. En agar-chocolate el crecimiento es aparente en 18 a 24 horas de incubación como pequeñas colonias de 1 a 2 mm. de diámetro, húmedas, incoloras, transparentes y con un distintivo "olor a rata" (3, 17).

Otras especies de *Haemophilus* son similares en apariencia, con excepción de que *H. aegyptius* crece más lentamente. *H. parainfluenzae* y *H. Aphrophilus* tienden a ser más opacos y las colonias de *H. haemoliticus* producen zonas de hemólisis en la sangre de caballo o de conejo, mientras que *H. ducreyi* es apenas hemolítico (17).

La diferenciación de las especies del género *Haemophilus* está basada en gran medida en la habilidad para producir hemólisis, en los factores accesorios de crecimiento y en el aumento del crecimiento bajo cierta tensión de CO₂ (6, 17).

La determinación de los requerimientos de factores accesorios puede ser evaluada mediante diferentes métodos. El método más simple consiste en colocar tiras de papel filtro conteniendo factor X, V y ambos en cajas de agar-soya-tripticasa previamente inoculadas con el microorganismo a identificar. Las cajas deben ser incubadas aeróbicamente a 37°C. En aquellos casos en que se obtenga resultados equívocos, o no parezca requerirse el factor de crecimiento, debe repetirse el examen después de subcultivo adicional de la cepa de *Haemophilus sp* (17). Se recomienda la adición de Isovitalex (medio de enriquecimiento) a las cajas de agar-chocolate para favorecer el crecimiento de *Haemophilus influenzae*. De manera similar, en los medios enriquecidos de Levinthal y de Fildes se produce colonias grandes y fáciles de observar (3, 12, 17).

Las muestras de esputo, líquido cefalorraquídeo, exudados purulentos y frotis de la nariz y orofaringe, deben inocularse directamente en la superficie de cajas de agar-sangre o bien en agar-chocolate, diseminándolas adecuadamente (17).

Debe tenerse especial cuidado cuando se trate de aislar colonias de cultivos de microbiota indígena, bajo esas circunstancias, el crecimiento de *Haemophilus* puede ser realmente denso o por el contrario inhibirse. Varias sustancias pueden utilizarse para suprimir el crecimiento de los otros microorganismos, recomendándose la adición de 300 microgramos de Bacitracina a las cajas de agar-chocolate. Esto aumenta la reproducción de *Haemophilus* en las muestras de microbiota indígena provenientes de orofaringe y nasofaringe (17).

Las placas deben incubarse bajo oxígeno atmosférico y la presencia de CO₂ al 10o/o. El crecimiento es aparente a las 24 horas de incubación, sin embargo, deberá reexaminarse las placas después de 48 horas a 37°C. En agar-peptona, el cual no contiene factores accesorios de crecimiento, sembrado junto con una cepa de *Staphylococcus aureus* (para suplir el factor V), así como el agar peptona conteniendo sangre pasada por autoclave (factor X), también pueden ser utilizados para determinar los requerimientos de factores accesorios (17).

Existen otras pruebas para identificación, las cuales tienen algún valor para diferenciar las especies, estas son: la producción de indol, la reducción de nitrato y la fermentación de azúcar. Welch informa que hasta el 93o/o de las cepas de *H. influenzae* aisladas del líquido cefalorraquídeo y el 60o/o de las aisladas del tracto respiratorio son indol positivas; mientras que *H. parainfluenzae* dan reacción positiva al indol solo el 3o/o (17, 40).

El ácido es producido a partir de la glucosa por todas las especies. No fermentan el manitol, los polisacáridos son fermentados únicamente por *H. aphrophilus*, *H. parainfluenzae* y *H. parahaemoliticus*. Todas las especies del género *Haemophilus* reducen los nitratos a nitritos (17).

Tebbutt, efectuó una evaluación de 5 métodos para la identificación de *Haemophilus influenzae* en el laboratorio; el satelitismo, la síntesis de porfirinas, la producción de ácido a partir de la sucrosa y la actividad de B-galactosidasa, así como la producción de indol. Este autor reporta que un 6o/o de cepas de *H. influenzae* fueron identificadas erróneamente como *H. parainfluenzae*

por el método del satelitismo usando papel filtro impregnado con factores X y V aplicados al agar Columbia; concluyendo, que el test de la porfirina y el test de la sucrosa, combinados con la identificación del género son útiles para identificar exactamente a *Haemophilus influenzae* (37).

ESTRUCTURA ANTIGENICA:

Las cepas encapsuladas de *H. influenzae*, presentan polisacáridos capsulares, los cuales pueden ser de alguno de los 6 distintos serotipos descritos por Pittman: a, b, c, d, e y f. Dichos polisacáridos tienen un peso molecular mayor de 150,000 presentando similitud a los de los neumococos (12, 35, 36).

Las cepas no encapsuladas son no tipificables, sin embargo, al efectuar resiembras puede aumentar el número de cepas serotipificables (38). La identificación serológica puede ejecutarse mediante procedimientos de aglutinación o por la prueba de hinchazón capsular (Quellung), estando disponibles antisueros poli o monovalentes (17, 32). Para los procedimientos de aglutinación se recomienda utilizar una suspensión densa de microorganismos (27).

La reacción de Quellung es rápida y exacta, teniendo la ventaja de que puede ser utilizada directamente en la tipificación de microorganismos en el líquido cefalorraquídeo y exudados. Cuando el test se efectúa en bacterias cultivadas, debe utilizarse cultivos jóvenes, de preferencia en la fase leñosa de crecimiento (17).

La determinación del tipo serológico es de gran utilidad, ya que es ampliamente conocido el papel de *Haemophilus influenzae* tipo b como agente infectivo de enfermedad invasiva (2, 12, 25, 30, 21). Por otra parte, las cepas no encapsuladas, no tipificables, son algunas veces parte de la microbiota indígena del tracto respiratorio superior y responsables muchas veces de enfermedad local en el mismo, pero muy raramente implicadas en procesos invasivos (2, 8, 12, 25, 30).

El antígeno capsular de *Haemophilus influenzae* del tipo b está formado por polirribosfato (PRP) (12, 16), con más exactitud llamado *Poliribosil-ribitol-fosfato* (PRRP) (8). El antígeno somático

está formado por la sustancia P que constituye la mayor parte del soma bacteriano y por la sustancia M, la cual es un antígeno superficial lábil; siendo ambas sustancias de naturaleza proteínica. No está aclarada la exactamente la naturaleza antigénica de las exotoxinas filtrables que pueden obtenerse de los cultivos líquidos de *H. influenzae* (12).

Es posible efectuar la serotipificación directa en el líquido cefalorraquídeo mediante inmunofluorescencia, ofreciendo la ventaja de proporcionar información rápidamente para el manejo de pacientes con meningitis (17).

Los antígenos tipo específicos de *Haemophilus influenzae* dan reacciones cruzadas, la más importante de estas, es la reacción cruzada con *Diplococcus pneumoniae* sub-grupo 6 con *H. influenzae* tipo a. *H. influenzae* tipo b reacciona cruzadamente con *D. pneumoniae* grupos 15A y 35B así como con los sub-grupos 6 y 29 (3, 17).

PATOGENICIDAD:

La capacidad de *Haemophilus influenzae* para producir enfermedad, se encuentra explicada básicamente por su invasividad, ya que no produce ningún tipo de exotoxina y no está aclarado el papel de su antígeno somático tóxico. Un factor importante que contribuye a explicar la invasividad lo constituye la cápsula de polisacáridos que protege a la bacteria de la fagocitosis y la destrucción (12).

Es persuasiva la evidencia clínica y de laboratorio en favor de que la cápsula de *Haemophilus influenzae* tipo b es el mayor determinante de su patogenicidad, esta evidencia incluye la relación de las cepas encapsuladas con la letalidad en animales de laboratorio y la diferente susceptibilidad a la bacteriólisis mediada por anticuerpos séricos (17).

Kilian describió un sistema para la diferenciación de *Haemophilus influenzae* en 6 biotipos, basada en las propiedades bioquímicas; la producción de Indol, la actividad de Ureasa y la de

Ornitina descarboxilasa (29, 19), Long y colaboradores efectuaron la biotipificación de *H. influenzae* para determinar su correlación con el estado clínico, el potencial patogénico y la resistencia a los antibióticos; encontrando que los pacientes con enfermedad invasiva usualmente tenían cepas biotipificables en el 80o/o de los casos del biotipo 1 y serotipificables en el 86o/o de los casos. Por otra parte, en los niños sanos, raramente se aislaron cepas del biotipo 1 y únicamente el 1o/o eran serotipificables. Los datos de este estudio, documentan la predictibilidad de los biotipos de acuerdo al estado clínico y confirman una asociación entre el biotipo 1 con la virulencia, independientemente de la encapsulación. El biotipo sugiere que *H. influenzae* involucrado en enfermedad invasiva, es usualmente distinto bioquímicamente de las cepas del tracto respiratorio normal, necesitando estudios adicionales sobre el biotipo 1 para explicar los posibles mecanismos de virulencia (19).

Se ha demostrado que *H. influenzae* tipo b aislado de especímenes clínicos, posee Pili (10, 28). Los pili son proteínas filamentosas, también llamadas fimbrias que se extienden de la membrana externa. Asimismo, se ha demostrado que las bacterias que poseen pili, producen hemaglutinación de los glóbulos rojos humanos y adhesión a las células de la orofaringe, mientras que las bacterias que no poseen pili, no producen ninguno de estos fenómenos. La mayoría, si no todas, las cepas de *H. influenzae* aisladas clínicamente pueden presentar pili, pero la expresión del mismo puede ser inhibida bajo las condiciones de rutina del laboratorio. Estos estudios sugieren que los pili juegan un papel en la adherencia y colonización de la orofaringe por *H. influenzae* (10).

La adherencia mediada por pili de varias especies de bacterias a las células epiteliales y/o a los eritrocitos, es un atributo de cepas virulentas, los anticuerpos directos contra el pili disminuyen la adherencia bacteriana y pueden prevenir la infección (28). Se especula que los pili ofrecen una ventaja para la colonización nasofaríngea, pero pueden hacer a la bacteria más susceptible a la fagocitosis después de su penetración al torrente sanguíneo. La capacidad de *Haemophilus influenzae* de producir variantes sin pili, puede ser así necesaria para la invasión sistémica, estas posibilidades se encuentran actualmente bajo estudio (28).

Mulks y colaboradores, efectuaron un estudio sobre la producción de proteasas contra la IgA por los distintos serotipos de *H. influenzae*. Las proteasas son enzimas proteolíticas altamente específicas que han sido identificadas en ciertas bacterias patógenas para el hombre, como *H. influenzae*, *Neisseria gonorrhoeae* y *N. meningitidis*. Estas enzimas tienen la capacidad única de hidrolizar la IgA humana. Las proteasas IgA pueden estar involucradas en el proceso infeccioso por varias evidencias: 1) las especies bacterianas que producen proteasas son capaces de producir enfermedad en individuos sanos y la mucosa primariamente invadida está defendida por la IgA. 2) Entre las especies de *Haemophilus* y *Neisseria* los no patógenos, no producen proteasas contra la IgA. 3) Las proteasas contra la IgA pueden detectarse en las secreciones de individuos infectados con bacterias productoras de proteasas. 4) La ruptura de la IgA mediada por estas enzimas ha demostrado que afecta la capacidad de la IgA del suero para reaccionar con antígenos y la capacidad de la IgA secretoria para bloquear la adherencia de las bacterias a las mucosas (23).

El estudio de Mulks demuestra que *Haemophilus influenzae* produce 3 tipos de proteasas IgA funcionalmente distinguibles por su especificidad para las uniones peptídicas en la IgA humana. Puesto que *H. influenzae* tipo b, siendo el serotipo más patogénico elabora una proteasa de tipo similar a la de los serotipos a, d, f y algunas cepas no encapsuladas, parece inverosímil que solamente el tipo de proteasa explique por sí mismo que un microorganismo es más o es menos patogénico.

Sin embargo, la virulencia es un fenómeno multifactorial y es posible que la proteasa IgA específica y el serotipo actúen en combinación contribuyendo a la virulencia de *H. influenzae* (23).

IMPORTANCIA CLINICA:

Haemophilus influenzae es el agente infeccioso más frecuentemente aislado en la meningitis en los Estados Unidos de América en niños menores de 4 años de edad y, probablemente, constituya una de las causas más frecuentes de meningitis purulenta en el mundo (8, 25, 35, 39).

Es agente infeccioso importante de otitis media y el más frecuente de epiglotitis aguda; está implicado además en procesos de artritis séptica, celulitis, neumonía y empiema. La enfermedad causada por *Haemophilus influenzae* no puede ser diferenciada clínicamente en la mayoría de los casos de la producida por otros microorganismos. Otras infecciones por *H. influenzae* incluyen pericarditis purulenta, conjuntivitis, sinusitis; jugando un papel importante en las exacerbaciones supurativas de la enfermedad bronquial crónica (2, 7, 8, 12, 25, 30, 35).

La enfermedad invasiva con bacteremia (meningitis, epiglotitis, artritis séptica y celulitis) y la neumonía son causadas por cepas encapsuladas, casi siempre del tipo b. La infección local del tracto respiratorio, como otitis media, sinusitis y bronquitis, usualmente es causada por cepas no serotificables (2, 25, 30).

Dajani efectuó una revisión de las enfermedades sistémicas producidas por *H. influenzae*, presentando una serie de 292 casos. El 51o/o de los pacientes presentaba meningitis, el 17o/o epiglotitis aguda, 14.6o/o neumonía y menos frecuentemente, artritis séptica (7.8o/o), celulitis (6o/o) y bacteremia (1.9o/o). La mayoría de los pacientes con meningitis eran menores de 2 años, mientras que el 76o/o de los niños con epiglotitis tenían más de 2 años de edad. La edad promedio para las otras entidades estuvo comprendida entre los 11 y 18 meses (7). En la literatura también se reporta otros procesos poco comunes como osteomielitis, pericarditis y 2 casos de infección urinaria. La infección neonatal es relativamente rara, reportándose únicamente 44 casos, producidos por cepas no encapsuladas (1, 7).

Mediante observaciones clínicas se ha llegado a la conclusión de que las infecciones empiezan en la nasofaringe y que a partir de allí se extienden ya sea localmente, o por el torrente sanguíneo (25).

INMUNIDAD:

En 1933 Forthergill y Wright describieron una relación inversa entre la ocurrencia de meningitis por *Haemophilus influenzae* y la presencia de actividad bactericida en la sangre contra ese microorganismo. Ellos demostraron la alta incidencia de meningitis en

niños de 2 a 36 meses de edad y que la enfermedad es rara en neonatos, niños mayores y adultos. En una investigación de 132 personas observaron que la actividad bactericida estaba usualmente presente en la sangre al nacimiento, declinaba a los 2 meses y se mantenía relativamente ausente hasta los 3 años de vida; los niños mayores de 3 años de edad adquirirían esta actividad bactericida (26).

Después de las observaciones de Forthergill algunos otros autores describieron la prevalencia de la actividad bactericida contra *Haemophilus influenzae* en poblaciones seleccionadas. Norden efectuó la determinación de la actividad bactericida en el suero de 1,205 personas, encontrando la más baja prevalencia de anticuerpos en niños de 1 a 4 años de edad y entre adultos de más de 80 años; no observó relación entre la prevalencia de anticuerpos y la raza, embarazo, ni estado socioeconómico. La mayor prevalencia se detectó en los padres de niños que habían tenido epiglotitis (26).

Los niños menores de 4 años de edad generalmente carecen de actividad bactericida contra *Haemophilus influenzae*, presumiblemente porque ellos no han sido colonizados por este microorganismo o por ninguna otra bacteria con reacción cruzada que pueda inducir la producción de anticuerpos. El hallazgo de elevada actividad bactericida en los padres de niños con epiglotitis, sugiere que la infección asintomática en los padres, durante o después de la enfermedad aguda en el niño, es responsable del desarrollo de anticuerpos (26).

Otra observación que soporta la importancia del contacto con pacientes portadores de *H. influenzae* en el desarrollo de anticuerpos, fue demostrada por Feigin quien notó una alta prevalencia de actividad bactericida contra este microorganismo entre el personal de hospitales pediátricos en relación a los adultos sanos no empleados en hospitales (26).

El estudio de Norden junto con los estudios de Graber y Feigin, sugieren que el número de individuos que poseen actividad bactericida sérica contra *H. influenzae*, ha disminuido. Bajo ciertas circunstancias, la actividad bactericida puede no tener mucha importancia en la protección contra la infección por esta bacteria.

En el modelo experimental de Smith y colaboradores se demostró que no había relación entre la actividad bactericida y meningitis por *H. influenzae*, siendo evidente que se necesitan estudios adicionales para definir los factores que proporcionan protección contra este agente (26).

Chad sugiere que la susceptibilidad del huésped para *H. influenzae* está controlada genéticamente y que las células T, pueden jugar un papel importante (5).

Desde 1970 se ha dirigido la atención al Polirribosil-ribitol-fosfato, el componente de la cápsula, como base para desarrollar una vacuna contra *Haemophilus influenzae* tipo b. Sin embargo, la vacuna de polisacáridos capsulares (PRP), fracasó en provocar la producción de anticuerpos en niños menores de 18 meses de edad; concluyendo algunos investigadores que el PRP purificado no provoca inmunidad humoral en niños pequeños y que por lo tanto no debe ser considerado un gran candidato para vacunas (8, 14).

Sin embargo, en niños de Jamaica de 2 a 3 meses de edad, se observó un incremento de 2 o más veces en los títulos anticuerpos contra el PRP en el 70o/o de los niños que recibieron 3 dosis de PRP más *Bordetella pertusis* como coadyuvante, mientras que solamente el 10o/o de niños que recibieron PRP solo, mostraron dicho incremento (8, 16).

El antígeno somático de *E. coli* K-100 es química y serológicamente casi idéntico al PRP, y los niños colonizados naturalmente con *E. Coli* K-100 adquieren anticuerpos anti-PRP; sin embargo, gran porcentaje de niños con infecciones graves por *H. influenzae* tienen anticuerpos contra *E. coli* K-100 en las heces, de tal manera que este antígeno no ha tenido mayor utilidad para el desarrollo de vacunas (8).

Recientemente se ha dirigido los esfuerzos hacia las proteínas de la membrana externa (OMPs) de *H. influenzae* para el desarrollo de vacunas, ya que según observaciones experimentales, los infantes pueden producir anticuerpos contra estas proteínas a la edad en que son incapaces de responder al PRP (8).

SUSCEPTIBILIDAD IN VITRO:

La mayor parte de cepas de *Haemophilus influenzae* son sensibles a la ampicilina, sin embargo, numerosos reportes desde 1973 indican que está aumentando la frecuencia de cepas resistentes a este antimicrobiano. La resistencia a la ampicilina se debe a la producción de B-lactamasa controlada por un plasmidio transmisible (11, 12, 15, 33). Actualmente se estima que del 10 al 18o/o de las cepas son productoras de B-lactamasa (11, 38). Otros autores consideran un rango de 3 a 35o/o de cepas resistentes (15). El ADN del plásmidio del gonococo productor de B-lactamasa procedente de las cepas de Asia Oriental, tiene un 90o/o de homología en la secuencia del ADN del plasmidio RSFO85 procedente de la cepa 632 de *H. influenzae* productora de B-lactamasa. (*)

El Centro de Control de las Enfermedades Infecciosas de Atlanta, E.E.U.U., ha estudiado la amplia distribución de las cepas de *H. influenzae* resistentes a la ampicilina en ese país y ha recomendado el uso del cloranfenicol para el manejo inicial de las infecciones probables o definitivamente producidas por esta bacteria.

Trejo y colaboradores, reportan 14o/o de cepas resistentes a la ampicilina de *H. influenzae* tipo b, en niños de la Ciudad de México, recomendando el cloranfenicol para las infecciones por este agente, excepto para la otitis media (38).

Existe reportes recientes de cepas de *Haemophilus influenzae* tipo b resistentes al cloranfenicol y ampicilina. La resistencia al cloranfenicol es rara y depende de la producción de una acetiltransferasa mediada por plásmidios (15).

El cambio en los patrones de susceptibilidad a los antimicrobianos, ha motivado a efectuar investigaciones clínicas sobre el uso de nuevos antibióticos para el tratamiento de las infecciones producidas por cepas del serotipo b, tal es el caso del moxalactam (13). Asimismo, se ha recomendado establecer programas permanentes de control sobre los patrones de sensibilidad de esta bacteria (34, 38).

(*) Informes Técnicos, 616, OMS, 1978. (pp 144).

EPIDEMIOLOGIA:

La colonización asintomática de la orofaringe y nasofaringe por *H. influenzae* en niños y adultos ha sido estudiada por varios investigadores, quienes reportan diferentes porcentajes de portadores sanos, en distintos grupos de edad (18, 24, 34, 34, 38).

Las especies más frecuentes de *Haemophilus* aisladas de la faringe son *H. influenzae* y *H. parainfluenzae*. Aproximadamente el 97o/o de las cepas aisladas de niños sanos son no tipificables y únicamente 2 a 3o/o corresponden al serotipo b (34).

Michaels estudió 1,300 niños menores de 12 años de edad, investigando los factores que afectan la colonización faríngea de *H. influenzae* tipo b, encontró baja frecuencia de colonización en niños asintomáticos menores de 6 meses (0.7o/o), mientras en los otros grupos de edad la frecuencia de portadores varió de 3 a 5o/o; no detectando ninguna relación entre la frecuencia de colonización y el sexo, raza, estado socioeconómico o con infecciones comunes en niños como coriza u otitis media. Por otra parte, determinó que los hiopados faríngeos son más eficaces que los nasofaríngeos para detectar colonización, especialmente en niños mayores (24).

Algunos reportes indican que el porcentaje de portadores disminuye con la edad. En un estudio extenso en Londres, se encontró una frecuencia de 3o/o de portadores de *H. influenzae* en niños menores de 5 años, 0.8o/o en niños mayores y de 0.4o/o en adultos (24). En Uganda se reporta tasas más altas en preescolares que en niños de edad escolar. En Jamaica, se encontró *Haemophilus influenzae* tipo b en el 2o/o de niños de 3 meses a 2 años de edad y en el 3.5o/o de una muestra de 200 niños escolares (24).

El estudio de Michaels contrasta con el de Sell y colaboradores quienes encontraron, tanto cepas tipificables como no tipificables, más frecuentemente en niños con enfermedad del tracto respiratorio superior que en niños sanos. Estudios menos recientes sugieren que *H. influenzae* no tipificable es más prevalente varios días después del inicio de la coriza (24).

Los niños de guarderías ocasionalmente tienen porcentajes elevados de portadores. En poblaciones más abiertas, sin embargo, el porcentaje es bajo, usualmente menor del 5o/o (24).

Lerman efectuó un estudio de portadores nasofaríngeos de *Haemophilus influenzae* resistente a la ampicilina en 1,084 niños sanos de 4 a 7 años de edad, encontrando que el 34.2o/o de los mismos eran portadores de cepas no tipificables, mientras que el 2.0o/o portaba *H. influenzae* tipo b. No encontró ninguna relación entre el estado de portador y el número de miembros de la familia, enfermedad respiratoria reciente, ni entre el número de personas que compartían la misma habitación. La prevalencia de *H. influenzae* resistente a la ampicilina en la muestra fué de 0.9o/o para las cepas no tipificables y 0.4o/o para las del tipo b; no habiendo diferencias significativas entre los diferentes grupos de niños y aquellos que recientemente habían recibido antibióticos B-lactámicos. Entre las cepas aisladas de la nasofaringe de niños sanos, el 2.7o/o de cepas no serotipificables y el 18o/o de cepas del serotipo b, fueron resistentes a la ampicilina. En este estudio se empleó la técnica de difusión de discos, en placa, con control del tamaño del inóculo para las pruebas de susceptibilidad (34).

De manera similar, Schwartz y colaboradores estudiaron la prevalencia de *H. influenzae* resistente a la ampicilina en una muestra de 249 niños de 6 meses a 4 años de edad, divididos en 3 grupos de estudio: el grupo A de 90 niños sanos, el grupo B constituido por 79 niños que finalizaron tratamiento de 10 días con amoxicilina para otitis media aguda; y el grupo C de 80 niños con nasofaringitis purulenta. Aproximadamente el 60o/o de los niños en cada grupo de edad eran portadores de *Haemophilus sp.* en la orofaringe. *Haemophilus parainfluenzae* fué la especie predominante en la orofaringe de niños sanos, mientras que *H. influenzae* predominó en los otros 2 grupos. Se recuperaron cepas resistentes a la ampicilina en el 16o/o de niños del grupo A, 25o/o en el grupo B y 17o/o en el grupo C; sugiriendo que la reciente exposición a la amoxicilina se asocia con un incremento de las cepas recuperadas de *H. influenzae* resistentes a la ampicilina. En este estudio también se utilizó la técnica de difusión de discos en placas de agar-chocolate enriquecidas con Isovitalex (34).

En niños de la Ciudad de México, Trejo y colaboradores detectaron 150/o de niños portadores en una muestra de 828 niños menores de 5 años de edad; reportando además mayor frecuencia de portadores sanos entre los contactos intrafamiliares de niños con infecciones por *H. influenzae* tipo b. El porcentaje de aislamiento de cepas del serotipo b fué del 90/o, mucho mayor a lo reportado por Lerman, este resultado obedeció a que se efectuó la resiembra intencionada de las cepas que inicialmente fueron no tipificables. Se realizó pruebas de sensibilidad mediante el método de dilución en tubo, detectando un 140/o de cepas resistentes a la ampicilina y ninguna resistente al cloranfenicol (38).

Se ha establecido que los contactos intrafamiliares de niños con meningitis y enfermedad invasiva por *Haemophilus influenzae* tipo b, tienen un riesgo varios cientos de veces mayor que la población general de desarrollar casos secundarios (2, 8, 22, 39). Esta evidencia ha motivado que actualmente se recomiende la administración profiláctica de Rifampicina a dosis de 20mg/kg/día oralmente por 4 días en todos los contactos de niños con enfermedad invasiva (2, 22, 31, 41). Sin embargo, algunos autores ponen en duda el valor de esta medida de control (20, 22).

Dajani reporta que las infecciones sistémicas por *H. influenzae* presentan una alta incidencia en los meses de mayo y junio y un segundo pico, menor, en noviembre y diciembre (7). Otros autores indican que en noviembre, diciembre y enero hay mayor frecuencia de meningitis por este microorganismo (25).

Baremkamp describió un método para la sub-clasificación de *Haemophilus influenzae* tipo b, basada en los patrones electroforéticos de las proteínas de la membrana externa. Los estudios preliminares epidemiológicos sugieren la utilidad de esta sub-clasificación en el control de la transmisión de este microorganismo entre los contactos de pacientes con enfermedad invasiva. El sub tipo 1-H parece ser la causa predominante de los casos endémicos en los Estados Unidos y se asocia a un incremento de la diseminación secundaria de la enfermedad. Esto puede explicar la ausencia de enfermedad en poblaciones cerradas que muestran altas tasas de portadores de *Haemophilus influenzae* serotipo b, especialmente si las cepas involucradas no son del sub-tipo 1-H. El sub-tipo 1-H ha demostrado que presenta una mayor infectividad y patogenicidad (4).

MATERIAL Y METODOS:

Población de Estudio:

Constituida por 281 niños menores de 4 años de edad que asisten a las guarderías Bethania, Colón y Pamplona de la Ciudad de Guatemala. Se seleccionó estas guarderías considerando que son las que tienen mayor número de niños inscritos y además están incluidas en el Programa de Atención Ambulatoria, Fase III, de la Facultad de Ciencias Médicas. Mediante la fórmula para muestreo aleatorio simple, enunciada abajo, se obtuvo una muestra de 118 niños, con un límite de estimación del error de 0.07.

$$n = \frac{N (p) (q)}{(N-1) (LE)^2 + (p) (q)}$$

Dicha fórmula se aplicó a cada una de las guarderías (estrato), obteniendo así el número de niños que fueron estudiados en las 3 guarderías:

Guardería	Colón	$n_1 = 39.547$
"	Pamplona	$n_2 = 35.76$
"	Bethania	$n_3 = 42.91$
Total		$n = 118.22 = 118$ individuos.

Obtención de la Muestra:

Se elaboró un listado del total de niños menores de 4 años de cada guardería, asignándoles un número en orden correlativo. Seleccionando en forma aleatoria los individuos de la muestra, utilizando para el efecto una tabla de números aleatorios.

METODOLOGIA:

En una boleta diseñada para el efecto (ver anexo No. 1), se recolectó la información necesaria de cada individuo de la muestra (edad exacta, sexo), mediante entrevista con la madre o encargado;

investigando los antecedentes familiares del niño, específicamente antecedentes de meningitis, otitis media y faringitis en los miembros de la familia (especialmente en hermanos), durante el presente año, es decir en los 5 meses previos al estudio. Se excluyó de la investigación a todos aquellos niños que habían recibido antimicrobianos de cualquier tipo y/o que hubiesen presentado sintomatología de enfermedad respiratoria, en las 2 últimas semanas previas a la toma de la muestra.

Se procedió seguidamente a efectuar cultivo de orofaringe a la muestra de niños ya seleccionada, mediante hisopado faríngeo (pilares amigdalinos derecho e izquierdo y pared posterior de la orofaringe), utilizando para ello hisopos estériles de algodón. Inmediatamente después de tomada la muestra se sembró directamente en cajas de agar-chocolate y agar-sangre de carnero; transportándose al laboratorio en plazo no mayor de 1 hora, a partir del momento de la toma de la muestra. Se colocó a cada caja de agar-chocolate 2 discos de Bacitracina de 10 UI (DIFCO) con una separación de 0.5 cm. para inhibir el crecimiento de otros microorganismos de la microbiota indígena (17). Las cajas de agar-chocolate y agar-sangre fueron incubadas a 37°C bajo 10o/o de tensión de CO₂ (mediante la colocación en jarra de metal con vela encendida), y su lectura se efectuó a las 24 y 48 horas de incubación, registrando los resultados en la boleta de recolección de datos.

Se identificó como probables *Haemophilus sp.* a todas aquellas colonias de 1 a 2 mm de diámetro, húmedas, incoloras que crecieron alrededor de los discos de Bacitracina en las cajas de agar-chocolate y que al frote de Gram mostraron cocobacilos gramnegativos pequeños y/o pleomorfismo. Los microorganismos que se identificaron presuntivamente como *Haemophilus sp.* fueron sembrados en cajas de agar Muller-Hinton conteniendo tiras de papel filtro impregnadas con los factores X, V y XV. Las colonias que crecieron únicamente alrededor de las tiras conteniendo *ambos* factores y que mostraron ausencia de hemólisis en agar-sangre, fueron identificadas definitivamente como *Haemophilus influenzae*. La identificación de las otras especies del género se realizó en base a la tabla No. 1 (17).

Las cepas aisladas fueron sometidas a pruebas de

susceptibilidad in-vitro, mediante el método de Bauer-Kirby modificado (17, 18, 34), a 5 agentes antimicrobianos: Ampicilina, Cloranfenicol, Eritromicina, Cefalotina y Trimetoprim-sulfametoxazol, procediendo de la siguiente manera:

1) De un cultivo puro de *Haemophilus influenzae* se picó 5 colonias con hilo bacteriológico, transplantándolas a una caja de agar-chocolate (100mm) de 4mm de espesor. 2) Se procedió luego a diseminar el inóculo utilizando un hisopo estéril de algodón, en tres direcciones. 3) Se colocó los discos de antimicrobianos (DIFCO), incubando a 37°C con 10o/o de tensión de CO₂ durante 24 horas. 4) Lectura de los diámetros del halo de inhibición, en milímetros, evaluando los resultados de acuerdo a los criterios de interpretación basados en el método de Bauer-Kirby, proporcionados por el Comité de Expertos de la OMS en Patrones Biológicos (Informes Técnicos, 610, OMS, 1977).

MATERIAL DE ESTUDIO:

Muestra de exudado faríngeo, de cada individuo, obtenida con hisopo estéril.

MATERIALES UTILIZADOS EN LA INVESTIGACION:

1. Hisopos estériles de algodón.
2. Cajas de Petri de 100 mm conteniendo agar-chocolate y agar-sangre de carnero,
3. Láminas porta-objetos,
4. Colorantes para tinción de Gram,
5. Discos de Bacitracina de 10 UI (DIFCO),
6. Tiras de papel filtro impregnadas con factores XV (BBL),
7. Cajas de Petri de 100mm conteniendo agar de Muller-Hinton,
8. Discos para pruebas de susceptibilidad (DIFCO);
 - a) Ampicilina de 10 microgramos,
 - b) Cloranfenicol de 30 microgramos,
 - c) Eritromicina 15 UI,
 - d) Cefalotina 30 UI,
 - e) Cotrimaxozol 1.25 microgramos/23.75 microgramos.
9. Asa bacteriológica e hilo bacteriológico,

10. Incubadora,
11. Microscopio,
12. Jarra de metal para ambiente de CO₂.
13. Hielera pequeña para transporte de las muestras.

PRESENTACION DE RESULTADOS

CUADRO No. 1:

DISTRIBUCION POR EDAD Y SEXO DE LA MUESTRA DE NIÑOS DE LAS GUARDERIAS BETHANIA, COLON y PAMPLONA, A QUIENES SE EFECTUO CULTIVO DE OROFARINGE, ESTUDIO PROSPECTIVO JUNIO Y JULIO 1984.

EDAD (meses)	SEXO				TOTAL	
	Masculino No.	o/o	Femenino No.	o/o	No.	o/o
0 - 5	2	1.69	2	1.69	4	3.38
6 - 11	6	5.08	7	5.93	13	11.01
12 - 17	7	5.93	8	6.77	15	12.71
18 - 23	1	0.84	3	2.54	4	3.38
24 - 29	7	5.93	9	7.62	16	13.55
30 - 35	11	9.32	13	11.01	24	20.33
36 - 41	10	8.47	8	6.77	18	15.25
42 - 47	11	9.32	13	11.01	24	20.33
TOTAL:	55	46.58	63	53.34	118	100.00

Fuente: Datos obtenidos en el trabajo de campo registrados en boleta (anexo No. 1).

En el cuadro anterior se observa, que la muestra de niños del estudio estuvo constituida por 55 individuos de sexo masculino (46.58o/o y 63 de sexo femenino (53.34o/o). Por otra parte, el mayor número de niños de ambos sexos estaba comprendido entre los 2 años y 3 años 11 meses de edad (24 a 47 meses), constituyendo el 69.49o/o de la muestra, mientras el 30.48o/o fueron niños de 0 a 23 meses al momento de efectuar el cultivo de orofaringe. La menor edad fué 4 meses y la mayor 3 años 11 meses (47 meses).

CUADRO No. 2:

ESTADO DE PORTADOR DE *HAEMOPHILUS INFLUENZAE* EN OROFARINGE Y EDAD DE LA MUESTRA DE NIÑOS ESTUDIADA EN LAS GUARDERIAS BETHANIA, COLON Y PAMPLONA, JUNIO Y JULIO 1984.

EDAD (meses)	PORTADORES DE <i>H. influenzae</i>		NO PORTADORES		TOTAL	
	No.	o/o	No.	o/o	No.	o/o
0 - 5	0	0.0	4	3.38	4	3.38
6 - 11	2	1.69	11	9.32	13	11.01
12 - 17	6	5.08	9	7.62	15	12.71
18 - 23	1	0.85	3	2.54	4	3.38
24 - 29	3	2.54	13	11.01	16	13.55
30 - 35	2	1.69	22	18.64	24	20.33
36 - 41	1	0.85	17	14.40	18	15.25
42 - 47	3	2.54	21	17.79	24	20.33
TOTAL:	18	15.25	100	84.74	118	100.00

Fuente: Resultados de laboratorio recolectados en la boleta respectiva (anexo No. 1).

$$\chi^2_7 = 5.118$$

Se observa en este cuadro, que un total de 18 niños son portadores de *Haemophilus influenzae* en la orofaringe, constituyendo el 15.25o/o de la muestra. El mayor número de portadores se encontró en los niños comprendidos en el intervalo de 12 a 17 meses de edad, mientras que en el grupo de menores de 6 meses no se encontró portadores.

CUADRO No. 3:

ESTADO DE PORTADOR DE *HAEMOPHILUS INFLUENZAE* EN OROFARINGE Y SEXO DE LA MUESTRA DE NIÑOS ESTUDIADA EN LAS GUARDERIAS BETHANIA, COLON Y PAMPLONA, JUNIO Y JULIO 1984.

	SEXO				TOTAL	
	Masculino No.	o/o	Femenino No.	o/o	No.	o/o
PORTADORES DE <i>H. influenzae</i>	7	5.93	11	9.32	18	15.25
NO PORTADORES	48	40.67	52	44.06	100	84.74
TOTAL:	55	46.6	63	53.38	118	100.00

Fuente: Datos de laboratorio recolectados en boleta.

$$\chi^2_1 = 0.51$$

Observamos en este cuadro que se encontró 7 portadores de *Haemophilus influenzae* en la orofaringe, en individuos de sexo masculino y 11 de sexo femenino. Sin embargo, aplicando la prueba del Chi cuadrado, en general, no hay diferencia significativa entre el número de portadores de sexo masculino o femenino, ya que para el cuadro anterior $\chi^2=0.51$ ($P 0.05=3.841$).

CUADRO No. 4:

RESULTADO DEL CULTIVO DE OROFARINGE EN LA MUESTRA DE NIÑOS DE LAS GUARDERIAS BETHANIA, COLON Y PAMPLONA, ESTUDIO PROSPECTIVO, JUNIO Y JULIO 1984.

Microorganismo aislado	Frecuencia:	Porcentaje:
<i>Haemophilus influenzae</i>	18	15.25
<i>Haemophilus parainfluenzae</i>	11	9.32
<i>Haemophilus arophilus</i>	1	0.84
Estreptococo B-hemolítico, Grupo A	2	1.69
<i>Diplococcus pneumoniae</i>	1	0.84
Microbiota indígena	85	72.03

Fuente: Datos de laboratorio.

En el presente cuadro observamos que *Haemophilus influenzae* fué la especie más frecuentemente aislada, del género *Haemophilus*, alcanzando el 15.25o/o. Por otra parte, el 72.03o/o de los niños de la muestra presentaba microbiota indígena y únicamente se encontró 1.69o/o (2 niños) portadores sanos de Estreptococo B-hemolítico del grupo A.

CUADRO No. 5:

ESTADO DE PORTADOR DE *HAEMOPHILUS INFLUENZAE* Y ANTECEDENTES FAMILIARES DE MENINGITIS, OTITIS MEDIA Y FARINGITIS, EN LA MUESTRA DE NIÑOS ESTUDIADA, DURANTE LOS MESES DE JUNIO Y JULIO 1984.

	PORTADORES DE <i>H. influenzae</i> No. o/o		NO PORTADORES No. o/o		TOTAL No. o/o	
Con antecedentes	3	16.66	4	4	7	5.9
Sin antecedentes	15	83.33	96	96	111	94.06

Total: Datos obtenidos en el trabajo de campo y resultados de laboratorio, registrados en boleta.

$$\chi^2_1 = 2.3391$$

En este cuadro se observa, que únicamente 3 de los 18 niños portadores de *Haemophilus influenzae* (16.66o/o) tenían antecedentes familiares de los procesos infecciosos investigados; y por otra parte, solo 4 (4o/o) de los niños no portadores presentaban antecedentes familiares de dichos procesos. Es decir, que el mayor porcentaje tanto de portadores (83.33o/o) como de no portadores (96o/o) no tenían ningún antecedente familiar. No se encontró diferencias significativas en cuanto a la presencia de dichos antecedentes entre el grupo de portadores como en el de no portadores ($\chi^2_1 = 2.3391$ vrs. χ^2_1 teórica = 3.481).

CUADRO No. 6:

ANTECEDENTES FAMILIARES Y ESTADO DE PORTADORES DE *HAEMOPHILUS INFLUENZAE* EN LA MUESTRA DE NIÑOS ESTUDIADA EN LAS GUARDERIAS BETHANIA, COLON Y PAMPLONA, JUNIO Y JULIO 1984.

ANTECEDENTES	PORTADORES DE <i>H. influenzae</i>	NO PORTADORES	TOTAL:
Meningitis	0	0	0
Otitis Media	1	0	1
Faringitis	2	4	6
Ninguno	15	96	111

Fuente: Resultados de laboratorio y entrevista con la madre o encargado del niño, por medio de boleta.

En el cuadro anterior se muestra que ninguno de los niños del estudio presentaba antecedentes intrafamiliares de meningitis, según lo referido por la madre o encargado en la entrevista. Observándose que tanto en el grupo de portadores como en el de no portadores, la mayoría de individuos no tenía ningún antecedente familiar de los procesos investigados.

CUADRO No. 7:

SUSCEPTIBILIDAD A CINCO ANTIMICROBIANOS DE LAS CEPAS DE *HAEMOPHILUS INFLUENZAE* AISLADAS DE LA OROFARINGE DE NIÑOS SANOS EN LAS GUARDERIAS BETHANIA, COLON Y PAMPLONA, JUNIO Y JULIO 1984.
(METODO DE BAUER-KIRBY MODIFICADO).

ANTIMICROBIANO	SUSCEPTIBLE		RESISTENTE:	
	No.	o/o	No.	o/o
Ampicilina	16	88.8	2	11.11
Cloranfenicol	18	100.0	0	0.0
Eritromicina	12	66.66	6	33.33
Cefalotina	13	72.22	5	27.77
Cotrimoxazol	12	66.66	6	33.33

Fuente: Resultados de laboratorio.

En el cuadro anterior se advierte que del total de 18 cepas de *Haemophilus influenzae* aisladas, únicamente 2 fueron resistentes a la Ampicilina, lo que representa el 11.11o/o. Por otra parte, la Eritromicina y el Cotrimoxazol (Trimetoprim-sulfametoxazol) fueron los antimicrobianos para los cuales se observó mayor frecuencia de cepas resistentes (33.33o/o). No se aisló ninguna cepa resistente al Cloranfenicol.

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS:

La presente investigación fué diseñada con el propósito de estudiar la colonización de la orofaringe por *Haemophilus influenzae* en una muestra de 118 niños asintomáticos de las guarderías Bethania, Colón y Pamplona de la Ciudad de Guatemala.

El aislamiento de *H. influenzae* de la orofaringe en niños guatemaltecos se ha venido efectuando desde hace varios años, encontrándose con cierta frecuencia en casos de enfermedad respiratoria aguda, como traqueobronquitis y de secreciones en algunos casos de otitis media, no habiéndose observado hasta la fecha, ninguna cepa resistente a la ampicilina; ya que se ha estudiado al mismo tiempo, los patrones de susceptibilidad de las cepas aisladas. (*) Sin embargo, no encontramos informes publicados acerca de la colonización asintomática por este microorganismo en niños guatemaltecos.

De acuerdo a observaciones clínicas, se ha comprobado que las infecciones producidas por *Haemophilus influenzae* tienen como puerta de entrada el tracto respiratorio superior, produciendo la mayoría de las veces una nasofaringitis leve que finalmente puede estimular los mecanismos inmunológicos, evitando así el desarrollo de infecciones graves (12,25).

En este contexto, es importante señalar que el desarrollo de enfermedad está íntimamente relacionado con la interacción de varios factores: a) la virulencia de las cepas, relacionada con el serotipo y biotipo de las mismas, ya que es bien conocido el papel de *H. influenzae* serotipo b como agente infeccioso de meningitis, purulenta y epiglotitis aguda, así como de la mayoría de procesos graves (2,12,17,25,30).

b) La inmunidad humoral y celular del hospedero, la cual juega un papel importante en cuanto al curso que puede tomar la entrada y

(*) Dr. César L. González Camargo, Jefe de Laboratorios Centrales D.G.S.S., comunicación personal.

colonización de *H. influenzae* al tracto respiratorio. A partir de los estudios de Forthergill y Wrigth se sabe que la actividad bactericida contra este microorganismo está ausente en el suero entre los 3 meses y 4 años de edad (5,8,26).

La frecuencia de portadores sanos de *H. influenzae* en la muestra de niños estudiada fué del 15.25o/o, dato que es similar a lo observado por Trejo y colaboradores, quienes estudiaron 828 niños menores de 5 años en guarderías de la Ciudad de México, encontrando 15o/o de portadores (38). Por el contrario, la frecuencia de portadores sanos observada en la presente investigación es sensiblemente inferior a la informada en estudios de niños norteamericanos, en quienes se encuentran porcentajes más elevados, hasta del 36o/o o más, para las cepas no tipificables (18,34,24).

El mayor número de portadores sanos de *Haemophilus influenzae* se encontró en los niños comprendidos en el intervalo de 12 a 17 meses de edad, lo cual posiblemente se relacione con la incapacidad de desarrollar anticuerpos contra el componente de la cápsula de *H. influenzae* tipo b, observada en niños menores de 18 meses (5,8,26). No se encontró ningún portador en el grupo de niños menores de 6 meses, este último resultado es acorde con estudios realizados en el extranjero, en los cuales se menciona menor frecuencia de colonización por este agente, en menores de 6 meses (24). Sin embargo, no se encontró diferencias significativas entre la frecuencia del estado de portador y los distintos intervalos de edad, desde los 0 a los 47 meses ($\chi^2_7=5.118$ contra χ^2_7 teórica=14.067).

Se observó que de un total de 18 niños portadores sanos de *H. influenzae*, 11 eran de sexo femenino y 7 de sexo masculino, no encontrando diferencias significativas en cuanto a la frecuencia de portadores en uno u otro sexo ($\chi^2_1=0.51$ contra χ^2_1 teórica=3.841). Dicho resultado es similar a lo informado por otros investigadores (18,24).

Haemophilus influenzae fué la especie más frecuentemente aislada (15.25o/o) del género *Haemophilus*, seguido por *H. parainfluenzae* (9.32o/o), este hallazgo concuerda con estudios

extranjeros los cuales indican que las dos especies ya señaladas son las que se aíslan con mayor frecuencia de la orofaringe (34).

En la muestra estudiada, se aisló únicamente de 2 individuos, *Streptococcus* B-hemolítico del Grupo A, lo que equivale a 1.69o/o de portadores sanos de este germen, lo cual coincide en cierta forma con la baja frecuencia de infección estreptocócica en niños menores de 5 años de edad (12,25,35).

Ninguno de los niños de la muestra estudiada tenía antecedentes familiares de meningitis en los 5 meses previos a la toma del cultivo de orofaringe, mientras que en estudios extranjeros se informa una mayor frecuencia de portadores sanos de *Haemophilus influenzae* entre los contactos intrafamiliares de niños con meningitis por este microorganismo; en el presente trabajo no se encontró dicha relación. Sin embargo, es conveniente tomar en cuenta que dichos antecedentes se investigaron de manera retrospectiva, obteniéndose en base a entrevista con la madre o encargado de cada niño (38,18,39).

El estado de portador de *Haemophilus influenzae* en nasofaringe y orofaringe, de acuerdo a la literatura consultada, debe ser tratado con Rifampicina únicamente en los contactos intrafamiliares y de guarderías infantiles de los niños con meningitis y otras enfermedades invasivas producidas por este microorganismo (2,18,20,22,31,39,41).

Considero conveniente señalar que, lamentablemente, no fué posible realizar la serotipificación de las cepas de *H. influenzae* aisladas, por no encontrarse disponible comercialmente en Guatemala, el antisuero necesario para efectuarla. Consecuentemente, el presente estudio tiene la limitante, que de acuerdo a la información obtenida, no se puede inferir acerca de la virulencia y patogenicidad de las cepas aisladas, las cuales como ya se ha mencionado con anterioridad son mayores en aquellas del serotipo b.

Sin embargo, según la literatura consultada, hasta el 97o/o de las cepas de *Haemophilus influenzae* aisladas de la orofaringe de niños sanos, son no tipificables; y únicamente del 3 al 5o/o del serotipo b. Aunque en niños de la Ciudad de México, se encontró 9o/o de

portadores sanos del serotipo b, lo cual probablemente obedeció a la resiembra intencionada de las cepas en agar chocolate (34,34,18).

En la presente investigación, se encontró que únicamente 2 de las 18 cepas de *Haemophilus influenzae* aisladas de la orofaringe de niños asintomáticos, fueron resistentes a la ampicilina (mediante el método de Bauer-Kirby modificado) lo cual representa el 11.11o/o. Este resultado puede compararse a lo observado en estudios realizados en el extranjero, según los cuales actualmente se estima que del 10 al 18o/o de las cepas muestran resistencia a la Ampicilina (11,38). Los patrones de susceptibilidad de *H. influenzae* aislado de la orofaringe, en el presente trabajo para la eritromicina y trimetoprim-sulfametoxazol, fueron similares; observándose que de las 18 cepas aisladas, 6 mostraron resistencia a ambos antimicrobianos, lo cual representa el 33.33o/o. No se encontró ninguna cepa resistente al Cloranfenicol, dato que coincide con la baja frecuencia de cepas resistentes a este antimicrobiano en otras investigaciones (15,38).

El apareamiento de cepas resistentes a la Ampicilina, de *H. influenzae* aisladas en individuos sanos, debe tenerse en mente y considerar que dicha resistencia es posible encontrarla en las cepas provenientes de especímenes clínicos, como líquido cefalorraquídeo, líquido pleural y otros (12,15,33,11).

CONCLUSIONES

1. La frecuencia de portadores sanos de *Haemophilus influenzae* en orofaringe, en la muestra de niños estudiada fué del 15.25o/o. El mayor número de portadores se encontró en los niños comprendidos entre los 12 y 17 meses de edad, no encontrando ningún portador en los niños menores de 6 meses.
2. No se observó diferencias significativas en cuanto al sexo y frecuencia de la colonización asintomática de la orofaringe por *Haemophilus influenzae*.
3. El 11.1o/o de las cepas de *Haemophilus influenzae* aisladas de la orofaringe en la muestra de niños estudiada, fueron resistentes a la Ampicilina.
4. Ninguna de las cepas de *Haemophilus influenzae* aisladas mostró resistencia al Cloranfenicol.
5. El 33.33o/o de las cepas de *Haemophilus influenzae* aisladas, fueron resistentes tanto a la Eritromicina como al Trimetoprim-sulfametoxazol.
6. La frecuencia de portadores sanos de *Streptococo* B-hemolítico del Grupo A, en la muestra de niños estudiada fué de 1.69o/o.

RECOMENDACIONES:

1. Continuar y promover la Vigilancia Epidemiológica sobre los patrones de susceptibilidad a los antimicrobianos, de las cepas de *Haemophilus influenzae* aisladas en nuestro medio.
2. Continuar la realización de estudios encaminados a determinar la frecuencia de *Haemophilus influenzae* como agente infectivo de entidades clínicas como otitis media, meningitis purulenta y otras infecciones en Guatemala.
3. Realizar estudios prospectivos en base al seguimiento de los portadores sanos de *Haemophilus influenzae* e investigación de contactos, para establecer el curso que puede tomar el estado de portador y su historia natural en niños guatemaltecos.
4. Efectuar la serotipificación de las cepas de *Haemophilus influenzae* aisladas en nuestro medio, especialmente de las provenientes del líquido cefalorraquídeo.
5. Basados en el hallazgo del 11.1o/o de cepas de *Haemophilus influenzae* resistentes a la Ampicilina, aisladas de la orofaringe, considerar la posibilidad de que puedan existir en nuestro medio infecciones por estas cepas, en líquido cefalorraquídeo, oído y tracto respiratorio bajo.
6. Considerar el uso del Cloranfenicol en el manejo inicial de los procesos infecciosos invasivos producidos por *Haemophilus influenzae*.

RESUMEN:

Haemophilus influenzae es el agente infeccioso más frecuente de meningitis purulenta, epiglotitis aguda, otitis media y de otros procesos infecciosos en niños pequeños, generalmente comprendidos entre los 3 meses y los 4 años de edad, de acuerdo a los informes de la literatura internacional (2,7,8,12,17,25). En nuestro medio encontramos pocos estudios publicados sobre infecciones producidas por este microorganismo y sobre la colonización asintomática de la orofaringe por el mismo, en niños guatemaltecos.

El presente trabajo fué realizado durante los meses de junio y julio de 1984, teniendo como principal objetivo determinar la frecuencia de portadores sanos de *H. influenzae* en la orofaringe, en niños de las guarderías de la Ciudad de Guatemala. Para el efecto, se tomó cultivo de orofaringe a una muestra de 118 niños asintomáticos, menores de 4 años de edad de las guarderías Bethania, Colón y Pamplona, seleccionados mediante números aleatorios. Como parte importante de la investigación se incluyó el estudio de la susceptibilidad in-vitro de las cepas aisladas de *H. influenzae*, mediante el método de Bauer-Kirby modificado a la Ampicilina, Cloranfenicol, Eritromicina, Cefalotina y Trimetoprin-sulfametoxazol.

La frecuencia de portadores sanos de *Haemophilus influenzae* en orofaringe, en la muestra de niños estudiada fué del 15.25o/o. El mayor número de portadores se encontró entre los 12 y 17 meses de edad, no observándose ningún portador en los niños menores de 6 meses; sin embargo, no hubo diferencias significativas entre la frecuencia del estado de portador y los distintos grupos de edad desde los 4 a los 47 meses, ni tampoco con relación al sexo.

El 11.1o/o de un total de 18 cepas de *Haemophilus influenzae* aisladas de la orofaringe de niños asintomáticos, fueron resistentes a la Ampicilina. Ninguna de las cepas aisladas mostró resistencia al Cloranfenicol. El 33.33o/o de las cepas de *H. influenzae* fueron resistentes tanto al Trimetoprin-sulfametaxazol como a la Eritromicina.

En base a los hallazgos anteriores, se recomienda continuar y

promover la Vigilancia Epidemiológica sobre los patrones de susceptibilidad a los antimicrobianos, de las cepas de *Haemophilus influenzae* aisladas en nuestro medio y realizar la serotipificación de las mismas, especialmente de las provenientes del líquido cefalorraquídeo. Por otra parte, se hace necesario continuar la realización de estudios encaminados a determinar la frecuencia de este microorganismo como agente infectivo de entidades clínicas como meningitis purulenta, otitis media y otras infecciones en niños guatemaltecos. Finalmente, se recomienda considerar el uso del Cloranfenicol en el manejo inicial de las infecciones graves (meningitis, epiglotitis aguda y otras) producidas por *Haemophilus influenzae* en Guatemala.

A N E X O No. 1 **BOLETA PARA RECOLECCION DE DATOS:**

Informe No. _____
Cepario No. _____

Nombre: _____ Fecha: _____
Edad: _____ Sexo: _____ Origen: _____ Carnet No. _____
Residencia habitual: _____
Guardería: _____
Especimen: _____ Tomado _____ Hora _____ Recibido _____ Hora _____
Exámenes anteriores: SI _____ NO _____

ANTECEDENTES FAMILIARES: (Durante el presente año)

Meningitis _____ (parentesco) _____ (edad) _____
Otitis media _____ (parentesco) _____ (edad) _____
Faringitis: _____ (parentesco) _____ (edad) _____

EXAMEN DIRECTO: _____

SIEMBRA ORIGINAL

Fecha	Medio	Cepa	Fecha	Transplante	Cepa

Datos para uso del laboratorio

Сера

[illegible]

ANOTACIONES:

DIAGNOSTICO MICROBIOLOGICO:

Responsible

Vo. Bo.

F-1

1. Albriton, W.L. *et al.* Haemophilus influenzae; comparison of respiratory tract isolates with genitourinary tract isolates. *J Clin Microbiol* 1982 Nov; 16(5):826-831
2. American Academy of Pediatrics. *Report of the Committee on Infectious Diseases*. 19th ed. Illinois, 1982. 297p. (pp. 105-107)
3. Bailey, R.W. y E.G. Scott. *Diagnóstico microbiológico*. 3ed. Buenos Aires, Panamericana, 1973. 520p. (pp. 228-232, 387-379)
4. Baremkamp, S.J. *et al.* Outer-membrane protein subtypes of Haemophilus influenzae type b and spread disease in day care centers. *J Infect Dis* 1981 Sep; 144(3):210-217
5. Chad, Z.H. *et al.* Haemophilus influenzae type b meningitis: occurrence in three siblings over a two-year period. *Pediatrics* 1980 July; 66(1):9-13
6. Cowan, S.T. & J.G. Holt. *Bergey's manual of determinative bacteriology*. 9th ed. Baltimore, Williams Wilkins, 1974. 1258p. (pp. 364-368)
7. Dajani, A.S. *et al.* Systemic Haemophilus influenzae disease: an overview. *J Pediatr* 1979 Mar; 94(3):355-364
8. How to prevent Haemophilus influenzae type b disease. (Editorial). *Lancet* 1982 Feb 13; 1(8268):376-377
9. Friedman, G. *Principios de epidemiología*. Buenos Aires, Medica Panamericana, 1975. 279p. (pp. 102-113)
10. Guerina, N.G. *et al.* Adherence of piliated Haemophilus influenzae type b to human oropharyngeal cells. *J Infect Dis* 1982 Oct; 146(4):564

11. Jacobson, J.A. *et al.* Epidemiologic characteristic of infections caused by ampicillin-resistant *Haemophilus influenzae*. *Pediatrics* 1976 Sep; 58(3):388-391
12. Jawtez, E. *et al.* *Manual de microbiología médica*. 9ed. México, Manual Moderno, 1982, 650p. (pp. 151-152, 265-267)
13. Kaplan, S.L. *et al.* Moxalactam treatment of serious infections due primarily to *haemophilus influenzae* type b in children. *Pediatrics* 1983 Feb; 71(2):187-191
14. Käyhty, H. *et al.* The protective level of serum antibodies to the capsular polysaccharide of *Haemophilus influenzae* type b. *J Infect Dis* 1983 Jun; 147(6):1100
15. Kenny, J.F. *et al.* Meningitis due to *Haemophilus influenzae* type b resistant to both ampicillin and chloramfenicol. *Pediatrics* 1980 Jul; 66(1):14-16
16. King, S.D. *et al.* Safety and immunogenicity of a new *Haemophilus influenzae* type b vaccine in infants under one year of age. *Lancet* 1981 Oct 3; 2(8249):705-709
17. Lennette, E.H. *et al.* *Manual of clinical microbiology* 2nd. ed Washington, American Society for microbiology, 1974. 1,225p. (pp. 66-68, 302-306, 418-427)
18. Lerman, S.J. *et al.* Nasopharyngeal carriage of antibiotic resistant *Haemophilus influenzae* in healthy children. *Pediatrics* 1979 Sep; 64(3):287-291
19. Long, S.S. *et al.* Biotype of *Haemophilus influenzae*: correlation with virulence and ampicillin resistance. *J Infect Dis* 1983 May; 147(5):800-5
20. Mann, J.M. *et al.* New *Haemophilus influenzae* type b control strategy: premature commitment to prophylaxis? *Pediatrics* 1983 Jul; 72(1):118-121

21. Mason, E.O. *et al.* Serotype and ampicillin susceptibility of *Haemophilus influenzae* causing systemic infections in children: 3 years of experience. *J Clin Microbiol* 1982 Apr; 15(4):543-546
22. McCracken, G.H. *et al.* Pharmacokinetics of rifampin in infants and children: relevance to prophylaxis against *Haemophilus influenzae* type b disease. *Pediatrics* 1980 Jul; 66(1):17-21
23. Mulks, M.H. *et al.* Relationship between the specificity of IgA proteases and serotypes in *Haemophilus influenzae*. *J Infect Dis* 1982 Aug; 146(2):266-273
24. Michaels, R.H. *et al.* Factors affecting pharyngeal *Haemophilus influenzae* type b colonization rates in children. *J Clin Microbiol* 1976 Nov; 4(5):413-417
25. Nelson, W.E. *et al.* *Tratado de Pediatría*. 7ed. México, Salvat, 1980. Vol I. 962p. (pp. 602-609)
26. Norden, C.W. Prevalence of bactericidal antibodies to *Haemophilus influenzae* type b. *J Infect Dis* 1974 Nov; 130(3):489-494
27. Penagos Noriega, F. *et al.* Meningoencefalitis bacteriana en niños menores de 2 años. *Guatemala pediátrica* 1981 Jul-Sept; 3(3):164-182
28. Pichichero, M.E. *et al.* Do pili play a role in pathogenicity of *Haemophilus influenzae* type b? *Lancet* 1982 Oct. 30; 2(8305):960-2
29. Prober, C.G. *et al.* *Haemophilus influenzae* type b in a nursery school: the value of biotyping. *Pediatrics* 1982 Feb; 69(2):215-218
30. Robbins, S.L. *Patología estructural y funcional*. México, Interamericana, 1975. 1515p. (pp. 367-368)

31. Shapiro, E.D. *et al.* Efficacy of rifampin in eliminating pharyngeal carriage of *Haemophilus influenzae* type b. *Pediatrics* 1980 Jul; 66(1):5-8
32. Shaw, E.D. *et al.* Clinical studies of a new latex particle agglutination test for detection of *Haemophilus influenzae* type b polyribose phosphate antigen in serum, cerebrospinal fluid, and urine. *J Clin Microbiol* 1982 Jun; 15(6):1153-1156
33. Sheifele, D.W. *et al.* Evaluation of a rapid b-lactamase test for detecting ampicillin resistant strains of *Haemophilus influenzae* type b. *Pediatrics* 1976 Sept; 58(3):382-387
34. Schwartz, R.H. *et al.* Ampicillin resistant *Haemophilus* in the oropharynx: prevalence in three groups of young, middle-class children. *Pediatrics* 1983 Oct; 72(4):464-468
35. Smith, A.A. *Microbiology and pathology*. 7th ed. Saint Louis, Mosby, 1976. 585p. (pp. 59-68, 216-218)
36. Stockes, E.J. *Clinical bacteriology*. 4th ed. Chicago, Year Book Medical, 1975. 550p. (pp. 210-228, 153-154, 378)
37. Tebbutt, G.M. Evaluation of some methods of the laboratory identification of *Haemophilus influenzae*. *J Clin Pathol* 1983 Sept; 36(9):991-5
38. Trejo, J.A. *et al.* Sensibilidad de *Haemophilus influenzae* a la ampicilina y al cloranfenicol en niños de la ciudad de México. *Bol Med Hosp Infant Mex* 1981 Ene-Feb; 38(1):79-86
39. Ward, J.I. *et al.* *Haemophilus influenzae* meningitis: a national study of secondary spread in household contacts. *N Eng J Med* 1979 Jul 19; 301(3):122-125

40. Welch, D.F. *et al.* Differentiation of *Haemophilus* spp. in respiratory isolate cultures by an indole spot test. *J Clin Microbiol* 1982 Feb; 15(2):216-219
41. Yogev, R. *et al.* Nasopharyngeal carriage of *Haemophilus influenzae* type b: attempted eradication by cefaclor or rifampin. *Pediatrics* 1981 Mar; 67(3):430-433

no se
Chavez

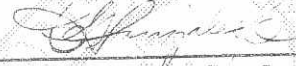
Universidad de San Carlos de Guatemala
FACULTAD DE CIENCIAS MEDICAS
OPCA — UNIDAD DE DOCUMENTACION

CENTRO DE INVESTIGACIONES DE LAS CIENCIAS

DE LA SALUD

(C.I.C.S.)

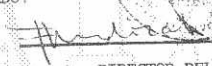
CONFORME:


Dr. César Leonel González Camargo.
ASESOR

SATISFECHO:


Dr. Mario Alejandro Samayoa G.
REVISOR

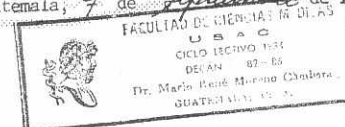
APROBADO:


DIRECTOR DEL CICS

IMPRIMASE:


Dr. Mario René Moreno Cambara
DECANO
FACULTAD DE CIENCIAS MEDICAS
U.S.A.C.

Guatemala, 7 de Septiembre de 1984.



Los conceptos expresados en este trabajo
son responsabilidad únicamente del Autor.
(Reglamento de Tesis, Artículo 44)