

**DETERMINACION DE ANTICUERPOS HOMOLOGOS
ANTIBACTERIANOS EN PACIENTES CON BACTERIURIA
SIGNIFICATIVA**

**DETERMINATION OF ANTIBACTERIAL HOMOLOGOUS
ANTIBODY IN PATIENTS WITH SIGNIFICATIVE
BACTERIURIA**

*A. Villalobos de Roldán**
*Y. González de Pirela***

RESUMEN

En un grupo de 25 pacientes a quienes se les encontró un contejo significativo de unidades formadoras de colonias por ml. de orina, se estudió la respuesta de anticuerpos dirigidos contra el antígeno "O" termoestable del germen que se les aisló con el fin de conocer la respuesta inmune del huésped ante este tipo de infecciones, encontrándose que el 68% de ellos mostraron títulos por debajo de 1:80 en la primera muestra, de éstos, el 35,3% elevó sus títulos en la segunda muestra, mientras que en algunos de ellos estos títulos descendieron o se mantuvieron estables en la tercera muestra. En el 32% de los casos encontramos títulos por encima de 1:80 en la primera muestra, éstos se mantuvieron iguales o se

Recibido 10-07-92
Aceptado 24-11-92

Received 10-07-92
Accepted 24-11-92

- * Profesora Titular - Cátedra de Microbiología. Escuela de Medicina. Facultad de Medicina. Universidad del Zulia. Maracaibo. Venezuela.
- ** Profesora Titular. Cátedra de Microbiología e Inmunología General. Escuela de Bioanálisis. Facultad de Medicina. Universidad del Zulia. Maracaibo-Venezuela.

elevaron en la segunda muestra, para conservarse iguales o descender en la tercera muestra.

En 11 de los casos estudiados no fue posible detectar anticuerpos en ninguna de las tres muestras analizadas en estos casos al igual que otros autores, suponemos que la falta de respuesta inmune se debió a que la infección estaba localizada en el tracto urinario bajo.

En el grupo de sujetos aparentemente sanos usados como testigos, los títulos de anticuerpos para antígenos de *E. coli* y *Ps. aeruginosa* no fueron significativos.

PALABRAS CLAVES: Bacteriuria significativa. Anticuerpos homólogos.

ABSTRACT

In a 25 patients group whom were found a significative count of colonies forming unite by milliliter of urine, the antibody response was studied direct against to the antigen "O" thermostable of the germ which was isolated, in order to know the immune response from the lodger before this type of infection; finding that the 68% of them demonstrated titles under 1:80 in the first sample, from them, the 35,3% elevated its titles in the second sample, meanwhile in some of them this titles descended or kept up stable in the third sample. In the 32% of the cases we found titles above 1:80 in the first sample, these kept up equal or elevated in the second sample, to conserve equal or descend in the third sample.

In the 11 studied cases, was not possible to detect antibody in any of the three analyzed samples, in these cases we assume as well as others authors in want of immune response was by reason of the infection was located in the low urinary tract.

In the group of persons apparently healthy taking as witness, the antibody titles for *E. coli* antigen and *Ps. aeruginosa* was not significative.

KEYWORDS: Significative bacteriura. Homologus antibody.

INTRODUCCION

Las infecciones del tracto urinario representan una de las patologías más frecuentes encontradas en la práctica médica, no sólo por su frecuencia y ocurrencia en pacientes de todas las edades, sino también porque ellas pueden constituir el sitio de invasión de bacterias o sus productos a la circulación y otros tejidos, sobre todo en las adquiridas en el medio hospitalario, donde las bacterias se hacen resistentes a un gran número de agentes antimicrobianos por el uso de cada vez más frecuente e indiscriminado de éstos.^{2, 5, 6, 7, 14, 16, 17}

En la actualidad existen varios métodos para diferenciar las infecciones urinarias donde existe afectación del parénquima renal: (métodos radiológicos, instrumentales, analíticos, etc.); de aquéllas localizadas en vías urinarias inferiores, fundamentalmente la cistitis; sin embargo en las etapas iniciales de la enfermedad algunas o todas estas pruebas pueden dar resultados negativos, a pesar de haber lesión del parénquima renal.

Hoy día se han desarrollado algunos métodos inmunoserológicos con el fin de poder establecer precozmente el diagnóstico y la localización de las infecciones urinarias. Dentro de estos métodos se han destacado algunas pruebas, como la hemaglutinación pasiva^{4, 9, 11, 12, 15} que determina y cuantifica anticuerpos circulantes dirigidos contra antígenos de bacterias.

En el presente trabajo, quisimos determinar y cuantificar los anticuerpos hemaglutinantes dirigidos contra antígenos termoestables obtenidos de la ó las bacterias aisladas de la orina del propio paciente, con el fin de poder establecer comparaciones de estos últimos en tres muestras seriadas.

MATERIALES Y METODOS

El material estuvo constituido por 25 pacientes de ambos sexos, provenientes de los diferentes servicios de hospitalización del Hospital Central "Dr. Urquinaona" de Maracaibo, a quienes les habían practicado urocultivo y éste mostró contaje significativo (100.000 o más unidades formadoras de colonias por ml. de orina). Simultáneamente se estudiaron 10 sujetos aparentemente sanos, de ambos sexos, con edades similares al

grupo estudiado, provenientes de estudiantes, personal administrativo y obrero de la Facultad de Medicina de la Universidad del Zulia, los cuales sirvieron como testigos y a quienes se les practicó también urocultivo y determinación de anticuerpos séricos dirigidos contra todas las bacterias aisladas en el presente estudio.

A los 25 pacientes se les tomó tres muestras de sangre por venipuntura, colectándose éstas en tubos sin anticoagulante. Los sueros fueron guardados a -20°C hasta el momento de ser procesados. De las tres muestras, una se tomó el mismo día en que la Sección de Bacteriología del Hospital reportó el aislamiento del germen, otra 7 a 10 días después y una tercera fue tomada 20–22 días después de la primera.

En todas las muestras de suero se determinó la presencia y títulos de anticuerpos dirigidos contra antígenos termoestables obtenidos por nosotros a partir de la cepa aislada a cada paciente en su propia orina. La titulación de anticuerpos se hizo siguiendo la técnica de hemaglutinación en tubos.^{4, 9, 11, 12, 15}

El microorganismo aislado a cada paciente fue sembrado en placa de Petri conteniendo agar soya triplicasa (B.B.L.), incubándose a 37°C . durante 18 horas, posteriormente el crecimiento bacteriano fue recogido en amortiguador fosfato ph. 7.3. La suspensión fue calentada a 100°C . durante 2 horas en baño de maría al final de la cual se centrifugó a 6.000 r.p.m. en frío durante 20 minutos.

El sobrenadante claro conteniendo el antígeno "O" (termoestable), fue separado por decantación y se ajustó espectofotométricamente a una longitud de onda de $630\ \mu\text{m}$. para trabajar con una densidad óptica de 0.65. Este sobrenadante mostró que 1 ml. del mismo con esa densidad óptica fue equivalente a 5×10^{13} bacterias y ésta resultó ser el ideal para forrar o cubrir los glóbulos rojos.

La titulación de anticuerpos se realizó mediante la prueba de hemaglutinación en tubos^{4, 9, 11, 12, 15} utilizando eritrocitos humanos del grupo "O", los cuales fueron lavados 3 veces con amortiguador fosfato ph. 7.3. Luego se sensibilizaron mezclándose volúmenes iguales de antígeno "O" (termoestable) de las bacterias aisladas y paquete globular, se incubaron a 37°C . durante 30 minutos en baño de maría, con agitación constante, posteriormente se lavaron nuevamente 3 veces, para eliminar el exceso de

antígeno y finalmente se preparó una suspensión de glóbulos rojos así sensibilizados al 2% con amortiguador fosfato ph. 7.3.

A partir del suero inactivado por calentamiento a 56°C. por 30 minutos, se realizaron diluciones crecientes del mismo con módulo 2X, comenzando con una dilución de 1:10 hasta una dilución de 1:2560, en un volumen total de 0,5 ml. Luego se les adicionó 0.05 ml. de la suspensión al 2% de glóbulos rojos sensibilizados con el antígeno obtenido a partir de la cepa aislada al paciente y se incubaron a 37°C. durante 30 minutos en baño de María. Al cabo de este tiempo se centrifugaron a 1.500 r.p.m. durante tres minutos y se procedió a la lectura.

El criterio de lectura fue el siguiente: **positivos:** aquellos tubos donde se apreció una aglutinación completa (+++ ó ++++) en el fondo del tubo y un sobrenadante claro y como **negativo:** aquéllos donde el líquido sobrenadante, quedó claro con glóbulos rojos aglutinados en el fondo del tubo, en forma de botón determinándose de esa forma la mayor dilución del suero que fue capaz de dar aglutinación franca, reportándose como título el recíproco de la dilución.

A los diez sujetos utilizados como testigos normales, se les practicó urocultivo y se les determinó y cuantificó la presencia de anticuerpos séricos, dirigidos contra las dos bacterias aisladas a la población estudiada.

RESULTADOS

En la Tabla No. 1 se presenta el número y porcentaje de gérmenes aislados en los cultivos de orina de la población estudiada, en ella se observa que en 9 casos (36%) se aisló *Pseudomonas aeruginosa* y en 16 de ellos (64%) se aisló *Escherichia coli*.

En la Tabla No. 2 se muestra los títulos de anticuerpos hemaglutinantes dirigidos contra el antígeno "O" termoestable de las bacterias aisladas; *Escherichia coli* y/o *Pseudomonas aeruginosa*, en tres muestras seriadas de suero de 25 pacientes a quienes se les aisló dichos microorganismos. En ella podemos observar que 11 de los pacientes estudiados mostraron títulos inferiores a 10 en las tres muestras que se les tomó. La gran mayoría de ellos

mostraron títulos de 1:40 ó más en la primera muestra, éstos se elevaron en la segunda y tercera muestra. Sólo dos de los pacientes mostraron títulos elevados (1:640) en la primera muestra y éstos fueron descendiendo en las muestras subsiguientes.

En la Tabla No. 3 se muestra la distribución de los títulos de anticuerpos vs. *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa* en 10 sujetos aparentemente sanos. En la misma se observa que el 100% de ellos mostraron títulos de 1:40 para *Escherichia coli* y títulos menores de 1:10 para *Pseudomonas aeruginosa*. Esto se representa en la Gráfica No. 1.

TABLA No. 1

**PACIENTES CON BACTERIURIA POSITIVA
GERMENES AISLADOS. ANALISIS PORCENTUAL
Maracaibo 1989-1991**

GERMENES AISLADOS	NUMERO DE CASOS	PORCENTAJE
PSEUDOMONAS AERUGINOSA	9	36.00
ESCHERICHIA COLI	16	64.00
TOTAL	25	100.00

F. de I.: Hospital Central "Dr. Urquinaona"
Maracaibo 1989-1991

TABLA No. 2
PACIENTES CON BACTERIURIA POSITIVA
TITULOS DE ANTICUERPOS HEMAGLUTINANTES VS.
GERMENES AISLADOS, EN MUESTRAS SERIADAS DE 25 PACIENTES
Maracaibo 1989-1991

PACIENTE	RECÍPROCO DEL TÍTULO		
	1ra. MUESTRA	2da. MUESTRA	3ra. MUESTRA
1	160	160	640
2	< 10	< 10	< 10
3	160	640	640
4	80	160	160
5	< 10	< 10	< 10
6	640	160	80
7	80	320	640
8	160	320	320
9	< 10	< 10	< 10
10	640	160	40
11	160	320	640
12	< 10	< 10	< 10
13	< 10	< 10	< 10
14	160	320	320
15	< 10	< 10	< 10
16	80	320	320
17	< 10	< 10	< 10
18	160	160	320
19	< 10	< 10	< 10
20	80	320	640
21	< 10	< 10	< 10
22	40	80	320
23	40	160	320
24	< 10	< 10	< 10
25	< 10	< 10	< 10

F. de I.: Hospital Central "Dr. Urquinaona"
 Maracaibo 1989-1991

TABLA No. 3

**TITULOS DE ANTICUERPOS HEMAGLUTINANTES VS.
ANTIGENO "O" TERMOESTABLE DE E. COLI Y PS. AERUGINOSA
EN 10 SUJETOS APARENTEMENTE SANOS
Maracaibo 1989-1991**

ANTICUERPOS Vs.	RECIPROCO DEL TITULO	NUMERO DEL TITULO	PORCENTAJE
ESCHERICHIA COLI	1:40	1:40	100.00
PSEUDOMONAS AERUGINOSA	< 1:10	< 1:10	100.00

F. de I.: Facultad de Medicina. Universidad del Zulia
Maracaibo 1989-1991

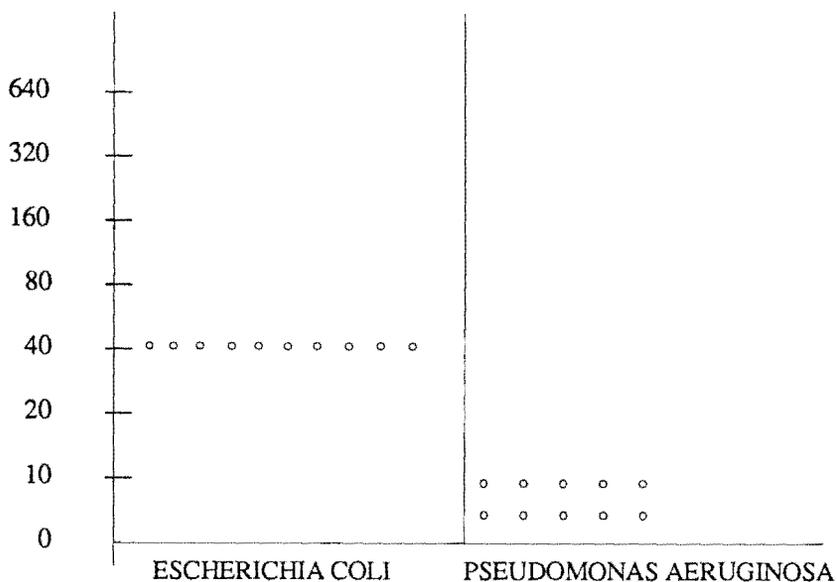
DISCUSION

Dada la alta incidencia de infecciones urinarias en nuestro medio, sobre todo en pacientes hospitalizados^{2,4,7,9,11,12,14,18} quisimos estudiar en un grupo de 25 pacientes a quienes se les encontró un contaje significativo de unidades formadoras de colonias por mililitro de orina, la respuesta de anticuerpos dirigidos contra el antígeno "O" termoestable del germen que se les aisló, con el fin de conocer la respuesta inmune del huésped ante este tipo de infecciones.

Como puede apreciarse en los resultados obtenidos en el presente estudio, la frecuencia etiológica encontrada es similar a la reportada por otros autores,^{1,13,16,20} donde miembros de la familia Enterobacteriácea y los bacilos Gram negativos no fermentadores, son los principales causantes de bacteriurias significativas; llama la atención la frecuencia de aislamiento de *Pseudomonas aeruginosa* (36%), lo cual pudiera estar relacionado con la propiedad que tiene esta bacteria de producir infecciones nosocomiales del tracto urinario.^{2,19}

GRAFICO No. 1

TITULOS DE ANTICUERPOS HEMAGLUTINANTES VS. ANTIGENO "O" TERMOESTABLE DE E. COLI Y PS. AERUGINOSA EN 10 SUJETOS APARENTEMENTE SANOS Maracaibo 1989-1991



F. de I.: TABLA No. 3

Al realizar la determinación de anticuerpos dirigidos contra la especie bacteriana aislada a cada paciente, nos encontramos que el 68% de las primeras muestras mostraron títulos de 1:80 o por debajo de ésta, lo cual coincide con lo encontrado por otros autores⁸ en la población normal por ellos estudiados; de estos pacientes 6 (35.3%) elevaron sus títulos en la segunda muestra, mientras que en algunos de ellos estos títulos descendieron o se mantuvieron estables en la tercera muestra.

En el 32% de los casos encontramos títulos por encima de 1:80 en la primera muestra y ésta se mantuvo igual o se elevó en la segunda, para conservarse igual o descender en la tercera muestra. En estos últimos casos podría pensarse, que los títulos encontrados en la primera muestra, fueron debidos a que el paciente tenía antecedentes de infección clínica o sub-clínica anterior y que en este caso la respuesta era de tipo anamnésica, o que el paciente tenía 1 ó más semanas con la infección que ésta era de tracto urinario alto y por tanto la muestra fue tomada tardíamente.

En once de los casos estudiados no fue posible detectar anticuerpos en ninguna de las tres muestras analizadas, por lo que suponemos al igual que otros autores,^{3,10} que la falta de respuesta inmune podría ser debida a que la infección en estos casos estaba localizada en el tracto urinario bajo, ya que según dichos autores^{3,10} sólo han encontrado títulos significativamente elevados en aquellos casos de infección urinaria con afectación renal (pielonefritis), por lo que nosotros al igual que ellos nos atrevimos a recomendar la utilización de esta técnica inmunológica como método diagnóstico indirecto, ya que ella permite establecer con bastante exactitud la localización de la infección urinaria, lo cual sería de especial interés en los casos en que por otros métodos analíticos o radiológicos no podamos establecer dicha localización.

En el grupo de sujetos aparentemente sanos, usados como testigos, encontramos que en todos ellos el urocultivo fue negativo y al cuantificarles los anticuerpos dirigidos contra el antígeno "O" de las dos bacterias aisladas en la población estudiada, observamos títulos de 1:40 para los antígenos de *Escherichia coli* y menores de 1:10 para *Pseudomonas aeruginosa*, los cuales cuando los comparamos con nuestro grupo en estudio no tienen un nivel significativo.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. BARRY A.; SMITH P.; TURCH M. Laboratory Diagnosis of Urinary Tract Infections. Washington D.C. American Society of Microbiology. 1975 (Cumitech 2).
2. CLUFF L.; JOHNSON J. Infecciones de Vías Urinarias. En: Enfermedades Infecciosas. México. Nueva Editorial Interamericana S.A. 247-256, 1974.
3. CROWDER J.; WHITE A. A serologic response in human Pseudomonas infection. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine*. 75: 128-136, 1970.
4. DIAZ F.; NETER E. Pseudomonas Aeruginosa: Serogroups and Antibody Response in Patients with Neoplastic Diseases. *The American Journal of the Medical Sciences*. 259: 340-345. 1970.
5. FINLAND M. Changing Ecology of Bacterial Infections as Related to Antibacterial Therapy. *The Journal Infections Diseases*. 122:419-431, 1970.
6. FINLAND M. Nosocomial epidemics seriatum. Multigning resisten bacteria an R. factors. *Archives of internal Medicine*. 137:585-587, 1977.
7. FREID M.; VOSTI K. The Importance of Underluing Diseases in Patiens with Gram Negative Bacteriuria. *Archives of internal Medicine*. 121:418-423, 1968.
8. FUENMAYOR-CORVAIA I.; VILLALOBOS-ROLDAN A.; LLERAS-TORRES A.; VILLALOBOS A. Anticuerpos Hemaglutinantes para la Fracción Lipopolisacárida de Pseudomonas Aeruginosa. Frecuencia y Títulos en Población Normal de Maracaibo. *Revista de la Facultad de Medicina*. 9:42-47, 1977.
9. GAINER S.; LANDY M. Prevalence of Antibody to Pseudomonas in Normal Human Sera. *Journal of Bacteriology*. 69:628-633, 1955.
10. GUTIERREZ M.; SORIANO F.; HERNANDO L.; ALES M.; JIMENEZ F. Valor Clínico de la Determinación de Anticuerpos Homólogos Antibacterianos en el Diagnóstico de Localización y en el Pronóstico de Infecciones Urinarias. En: REIMEIN A.; ARIAS J.; CATELL A.; CIFUENTES W.; HERNANDO L.; KUNIN L.; LOPEZ C.; O' GRADY E.; RECASENS F.; SENECA E.; NAVANETTE H. eds. *Aspectos Inmunológicos*. Barcelona-España: Salvat, p. 45-41, 1974.
11. LANDY M. On Hemmagglutination Procedures Utilizing Isolated Polysaccharide and Protein Antigens. *American Journal Of Public Health*. 44:1059-1064, 1954.
12. LANDY M.; LAMB E. Estimation of Vi Antibody Employing Erythrocytes treated with Purified Vi Antigen. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*. 82:593-598, 1953.
13. MAHERZI M.; GUIGNARD J.; TORRADS A. Urinary tract infection in high risk newborn infants. *The Journal of Pediatrics*. 62:521-523, 1978.

14. MULVIHILL A.; MONTGOMERIE J. Correlation of Tissue Infections with Bacteriuria. *The Journal of Infections Diseases*. 145:917, 1982.
15. NETER E.; WETHPHAL O.; LUDERITZ O.; GORZYNSKI E. The Bacterial Hemmagglutination Test for The Demonstration Antibodies to Enterobacteriaceae. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 66:141, 1956.
16. OLARTE J. Etiología de las Infecciones Urinarias. *Boletín Médico del Hospital Infantil de México*. 33:1197-1201, 1976.
17. SCHABERG D.; WEINSTEIN R.; STAMM W. Epidemics of Nosocomial Urinary Tract Infections Caused by Multiply Resistent Gram Negative Bacilli. *Epidemiology and control. The Journal of Infections Diseases*. 133:363-366, 1976.
18. TRUCK M.; STAMM W. Nosocomial Infections of the Urinary Tract. *The American of Journal of Medicine*. 70:651-654, 1981.
19. VILLASMIL M.; HARRIS-REYES B.; ALVAREZ N.; CAZORLA M.; ECHEVERRIA M. Frecuencia Etiológica de Bacteriurias en el Hospital Central "Dr. Urquinaona". Susceptibilidad de los Microorganismos Aislados a los Agentes Antimicrobianos. *Kasmera*, 13: 11-33, 1985.
20. VILLASMIL M.; VILLALOBOS A.; HARRIS-REYES B.; CASTRO-CRIOLLO N. Frecuencia Etiológica de las Bacteriurias Significativas en el Hospital "Dr. Urquinaona". Susceptibilidad de los Microorganismos Aislados a los Agentes Antimicrobianos. *Kasmera*. 13: 46-66, 1985.