

PARASITOLOGIA

P— 1

Ultraestructura de la Mitosis en *Leishmania mexicana*

F. Ureña, K. A. Ryan & G. Macaya

Unidad de Microscopía Electrónica y CIBCM, U.C.R.

En los organismos inferiores, la división del núcleo reviste modalidades diversas. Dentro del grupo de protozoarios que presenta un tipo particular de división nuclear, tenemos al género *Leishmania*, que carece de aparato mitótico típico (centríolo y huso). Se usó *Leishmania mexicana*. Las células fueron cosechadas y fijadas con glutaraldehído y tetraóxido de osmio en amortiguador de cacodilato de sodio 0,1 M y pH 7,3. Posteriormente fueron incluidas en resma y cortadas en secciones seriadas de 500 Å y examinadas con el microscopio electrónico HU—12A.

Núcleo interfásico: el núcleo interfásico es redondo, con pequeñas masas de heterocromatina en contacto con la membrana nuclear. Un núcleo grande y esférico se localiza en su interior.

Núcleo en división: Al inicio del proceso, el núcleo se torna homogéneo y su forma redonda cambia por una ovalada. En su interior aparecen unas estructuras conocidas con el nombre de "placas densas" y un haz de microtúbulos muy finos que corren de los polos al ecuador. En un estadio más avanzado de la división, el núcleo presenta una mayor elongación y las fibras del huso se unen a las "placas densas". En el estadio tardío la célula sufre una invaginación en la zona central y el núcleo se presenta bajo la forma de dos grandes masas de cromatina que ocupan los polos de la célula unidos por un pequeño istmo. Las "placas densas" que en un inicio ocupaban la región central del núcleo se distribuyen en dos grupos que se desplazan hacia los polos. Al final del estadio tardío de la división el núcleo se separa en dos núcleos hijos, y el huso mitótico desaparece al igual que las "placas densas". Nuestros resultados demuestran que *Leishmania mexicana* presenta un tipo de división nuclear conocido con el nombre de "mitosis cerrada" dentro del núcleo, indican que esta especie se comporta de una manera similar a la especie *Trypanosoma cruzi*.

P—2

Trypanosoma cruzi: Efecto de los Corticosteroides en la Infección

O. M. Guerrero, M. Chinchilla & E. Portilla

CIDPA, Facultad de Microbiología, U.C.R.

Se hizo una comparación entre el grado de patología por *T. cruzi* en animales tratados y no tratados con corticosteroides, con el fin de determinar el efecto inmunosupresor de la droga sobre la resistencia natural y la inmunidad adquirida contra *T. cruzi*. Ratones C₃H inmunizados y no inmunizados con un antígeno muerto fueron tratados con 2, 10 y 20 mg de acetato de cortisona por 25 gramos de peso corporal.

Tal estudio se hizo usando formas sanguíneas o tripomastigotes obtenidos de cultivo.

La sobrevivencia de los ratones tratados con la droga fue menor, independientemente del tipo de inóculo y del grado de inmunidad de los animales. Sin embargo, las parasitemias más acentuadas en los animales inmunosuprimidos, fueron también mayores en los animales no inmunizados. Igualmente, la diseminación del parásito fue más intensa en animales tratados con corticosteroides y además ligeramente más marcada en los ratones no inmunes. Se confirma una vez más el efecto exacerbante de la cortisona sobre infecciones con *T. cruzi* y además se establece que el efecto inmunosupresor de la droga es más evidente en la resistencia natural que en la inmunidad adquirida para este protozoario intracelular.

P—3

Colonización del *Trypanosoma cruzi* en el Intestino y Aparato Excretor del Insecto Vector

R. Zeledón, K. Ryan & M. Rojas

CIBCM, U.C.R.

Los insectos se infectaron alimentándose en ratones C₃H inoculados con *T. cruzi*. Después de esta comida, se alimentaron en palomas y se efectuaron disecciones a intervalos determinados.

Fue tomada una pequeña porción del intestino medio, el saco rectal y los tubos de Malpighi que se fijaron en solución salina amortiguada con formol al 10 por ciento, por 1 hora. Este material fue incluido en parafina, cortado en serie y teñido con hematoxilina-eosina.

Los 24 insectos observados histológicamente, entre los 122 y 362 días (*T. dimidiata*: 3°, 4° y 5° y adultos infectados desde 1° estadio) mostraron que la colonización de la glándula rectal era constante (19 de ellos) acompañada de presencia de flagelados en el saco rectal (13) y más raramente en ampollas y tubos.

Otro experimento se realizó con 13 ninfas de 1° estadio de *Dipetalogaster maximus*: en este caso se apreciaron infecciones en la glándula rectal y saco rectal a partir del 8° y 9° días respectivamente; sólo en un caso se apreciaron flagelados en las ampollas al día 21 de infección (disecados entre 6 y 22 días después de la comida infectante).

Se efectuó otro experimento con ninfas de 3º estadio de *D. maximus* y fue posible observar flagelados a partir del día 12 en la glándula rectal; 7 insectos no mostraron flagelados adheridos a ninguna porción del intestino o aparato excretor.

Un grupo de 36 insectos adultos (*T. dimidiata*) con infección natural se examinó, encontrándose abundante infección en la glándula rectal en 21, en saco rectal en 10 y en las ampollas sólo en 3.

Parece haber una preferencia por parte del flagelado por el epitelio de la glándula rectal. El aparato excretor jugaría un papel importante durante la expulsión de la orina y su pasaje por la glándula rectal al arrastrar las formas metacíclicas.

P—4

Leishmaniasis Experimental en Perros

R. Zeledón, R. Soto & F.Chaves
INCIENSA y UNA

Un grupo de 5 perros de 2 a 6 meses se inoculó subcutáneamente con cultivos de *Leishmania* en la nariz. El primer animal, inoculado con 66×10^6 parásitos de *L. braziliensis panamensis* (cepa canina), presentó una zona depilada a los 2 meses, positiva al cultivo, que dio lugar a un pequeño nódulo que desaparece a los 9 meses, tornándose el cultivo negativo. A los 10 meses se reinoculó con 80×10^6 flagelados de la misma subespecie (cepa humana), al mismo tiempo que un perro testigo. Este último fue el único que se infectó mostrando a los 19 meses dos pequeños nódulos, positivos al cultivo, que desaparecen y se negativizan a los 25 meses. Un tercer animal se inoculó con 30×10^6 parásitos de *L. mexicana amazonensis* (cepa brasileña), y a los 3 meses mostró una zona despigmentada, positiva al cultivo, que origina un nódulo a los 5 meses. Luego aparecen varios nódulos en la nariz que permanecen activos por 39 meses. Un cuarto perro se inoculó con 11×10^6 flagelados de *L. m. amazonensis* y presentó un pequeño nódulo a los 3 meses, positivo al cultivo, para desaparecer a los 14 meses cuando es reinoculado con 32×10^6 parásitos de *L. M. mexicana* (O-CR), junto con otro perro testigo. Ninguno de estos perros presentó lesiones ni cultivos positivos después de un año y medio.

P—5

Cortisona como Inductor de Lesiones Internas por Leishmaniasis del tipo Mucocutáneo

O. M. Gerrero, M. Chinchilla & E. Portilla
CIDPA, Facultad de Microbiología, U.C.R.

Lesiones internas causadas por *Leishmania* del tipo mucocutáneo fueron aparentemente inducidas por el tratamiento con acetato de cortisona. Un alto porcentaje de los hamsters infectados con *L. mexicana* (tipo "mexicana") tenían gran cantidad de formas de amastigoto en los ganglios linfáticos en donde además se observaron algunas zonas de necrobiosis. También algunos parásitos fueron observados en el bazo. En 1 animal infectado con *L. braziliensis* también se observó el mismo fenómeno. Estos hallazgos podrían explicarse como resultado de una variación en la inmunidad celular debida al efecto de los corticosteroides,

P—6

Leishmaniasis Visceral y Cutánea en Caninos

L. Mendoza, M. Podetti, E. Pérez & C. Morales
Escuela Medicina Veterinaria, UNA

El presente trabajo es un reporte de dos casos separados: el primero un perro procedente de Alicante, España, el cual presentó en junio de 1980 tras deieciocho meses de permanecer en el país, un cuadro de hipertermia, anorexia, adinamia, pérdida de peso y adenopatía generalizada. El examen radiológico reveló una moderada hepatoesplenomegalia.

Aprovechando una laparotomía exploratoria, se tomó biopsias de hígado, bazo y linfonódulo popliteo. Improntas de los mismos teñidos con Wright, revelaron formas ovales pertenecientes al género *Leishmania*.

En junio de 1981 tras cura aparente después de tratamiento con Glucantine, el paciente fue nuevamente remitido con lesiones cutáneas en orejas y nariz. Un raspado de las mismas mostró la presencia de leishmanias intracelular y extracelularmente.

Creemos que este hallazgo es importante epidemiológicamente porque es posible que esta enfermedad pueda ser introducida en Costa Rica con perros importados, ya que *Lutzomia longipalpis* vector del Kala-azar ha sido reportado por Zeledon *et al.*, en la provincia de Guanacaste.

El segundo caso, un perro de cacería procedente de San Ramón de Alajuela, presentaba lesiones dérmicas ubicadas en la nariz y en la oreja izquierda; la lesión de la nariz de aspecto ulceroso, estaba cubierta por una costra que al ser removida presentó una superficie sangrante. Una muestra tomada del borde de la lesión reveló la presencia de leishmanias intra y extracelulares. Se instauró tratamiento con antimoniales cediendo las lesiones.

P—7

Toxoplasmosis: Mediadores de Inmunidad Celular para Células no Fagocíticas

M. Chinchilla & J. K. Frenkel

*CIDPA, Facultad de Microbiología, U.C.R. y Departamento de Patología
Universidad de Kansas, U.S.A.*

La mayoría de los trabajos de inmunología celular *in vitro* han sido realizados usando macrófagos como célula a la que se protege y linfocitos o productos de estos como los elementos protectores. Sin embargo, no existen estudios en donde se trate de encontrar mecanismos de protección para células no fagocíticas. En este trabajo se informa de un nuevo mediador o linfoquina capaz de proteger *in vitro* células somáticas de ratón blanco y C₃H contra la infección por *Toxoplasma gondii*.

Este mediador es especie y huésped específico, y al compararlo con un factor de transferencia obtenido de linfocitos inmunes, se observa gran similitud en la acción de ambos.

Esta linfoquina tiene presente un tiempo de absorción óptima de 16 y 24 horas y aunque la secreción de la misma se comienza a notar 1 hora después, la secreción máxima sucede a las 16 y 24 horas.

Se compara este mediador con el obtenido en hamsters por los autores en 1978, ya que aparentemente estos informes son únicos en la literatura en cuanto a la protección *in vitro* de células no fagocíticas contra el *T. gondii*.

P—8

Prevalencia de Toxoplasmosis en el Cantón de Pococí

A. Quesada, M. Barquero, A. Cornavaca & G. Venegas

Hospital de Guápiles y Departamento de Farmacología, U.C.R.

Durante el curso lectivo de 1981, se estudió la prevalencia de anticuerpos para *Toxoplasma* en 390 mujeres con edades comprendidas entre 15 y 40 años, alumnas del Colegio Nocturno de Guápiles, cantón de Pococí, provincia de Limón.

A todas las estudiadas se les efectuó la intradermorreacción para *Toxoplasma* y a los sueros se les hizo la prueba indirecta de anticuerpos fluorescentes para *Toxoplasma gondii*.

Con el método serológico la prevalencia de infección fue de 89,7 por ciento, mientras que con la intradermorreacción fue de 62,8 por ciento, notándose la ventaja de usar el primer método.

P—9

Algunas Consideraciones sobre la Adaptación Natural de la Rata Blanca al *Toxoplasma*

O. M. Guerrero, M. Chinchilla, M. Alfaro & E. Solano

CIDPA, Facultad de Microbiología, U.C.R.

Se estudiaron algunos factores que podrían explicar la adaptación natural (para algunos autores, resistencia) que presenta la rata blanca a infecciones con la cepa RH de *Toxoplasma gondii*. Tal adaptación se confirmó al observar que los animales soportaron un inóculo de 3×10^7 taquizoitos vía intraperitoneal o subcutánea. La susceptibilidad fue dependiente de la edad pues la sobrevivencia a 10^4 ó 10^6 organismos inoculados fue más alta en ratas de 10 y 15 días de nacidas. El lisado de las células presentes en un exudado peritoneal completo afectaron ostensiblemente a los taquizoitos ya que su capacidad infecciosa fue reducida. El exudado peritoneal que mostró un efecto más fuerte fue el de ratas con una infección de 5 días. Después de 10 días el efecto comenzó a ser menor hasta casi desaparecer a los 15 días de infección. Es posible, entonces, suponer que la edad y la actividad de los macrófagos son factores muy importantes en la adaptación natural de la rata blanca al *T. gondii*.

P—10

Relación entre la Infección Oral con *Toxoplasma* y el Número de Quistes presentes en el Cerebro

M. Chinchilla, O.M. Guerrero

CIDPA, Facultad de Microbiología, U. C. R.

El ciclo de *Toxoplasma gondii* se lleva a cabo fundamentalmente en la naturaleza entre el gato y roedores tales como ratones y ratas. Estos se infectan al ingerir los ooquistes eliminados en las heces por el gato. Estos ooquistes liberan los esporozoitos en el intestino del ratón cuya mucosa invaden pudiendo causar la muerte del animal o si la infección es baja el animal tiene tiempo de defenderse por reacciones de tipo inmune. En este caso las formas de rápida multiplicación del *Toxoplasma* invaden otros órganos localizándose en ellos y entrando en una fase crónica en la cual las formas observadas son las de bradizoitos dentro de los quistes. Como estas estructuras sedan con mayor regularidad en el cerebro del roedor, se ha hecho un estudio comparando el número de ooquistes inoculados vía oral con el número de quistes encontrados en el cerebro. También se informa de la LD₅₀, obtenida para la ingestión de ooquistes en estos animales en comparación con la LD₅₀, observada al inocularlos vía intraperitoneal o subcutánea con la cepa RH de gran virulencia. Se hace un análisis sobre los alcances epidemiológicos de estos estudios.

P—11

Posibilidades de Existencia de Kala-Azar en Costa Rica

R. Zeledón, F. Chaves, J. Murillo & H. Gutiérrez
INCIENSA y UNA

Lutzomyia longipalpis, vector de la leishmaniasis visceral en varios países americanos, había sido encontrado esporádicamente en Costa Rica. Durante una encuesta epidemiológica sobre la leishmaniasis cutánea, encontramos varias localidades de Guanacaste donde esta especie es abundante. La zona donde capturamos el mayor número de ejemplares corresponde al distrito Tempate, cantón de Santa Cruz (18.099 flebotomos capturados), la cual es semi-árida y pedregosa; se encuentra próxima a la costa pacífica a 60 metros sobre el nivel del mar. Este tipo de región reúne todas las características de las zonas de nuestro continente en donde el Kala-azar es endémico. Los insectos son muy numerosos, especialmente durante la estación seca, alrededor de habitaciones humanas, alimentándose por la noche con sangre de animales domésticos (caballo, cerdo, ternero, perro) y ocasionalmente del hombre (un 5,4% del total de hembras capturadas alimentándose, lo hacían sobre humano). Su densidad disminuye notablemente durante los meses de lluvia y la especie no es atraída por la luz como sí sucede con otras especies del lugar.

Este hallazgo abre la posibilidad de la existencia de Kala-azar en esta zona en vista de que se han presentado casos en México, Guatemala, Honduras, El Salvador y en algunos países sudamericanos. Además, recientemente se produjo el ingreso a nuestro país de una perra infectada con *Leishmania infantum* proveniente del sur de España, lo que señala otro posible mecanismo de introducción a nuestro territorio y vendría a reforzar la hipótesis de que al menos parte de los casos humanos de Kala-azar americano sean producidos por cepas europeas del parásito. Una encuesta preliminar nos permitió analizar, por técnica de inmunofluorescencia para Kala-azar, 25 sueros de habitantes de la zona con resultados negativos.

P—12

Tratamiento Exitoso de Kala-Azar Canino con Antimoniato de N-Metil-Glucamina (Glucantime)

M. Podetti L. Mendoza & R. Zeledón
Escuela de Medicina Veterinaria, UNA

Es un hecho conocido en la literatura mundial que el tratamiento del Kala-azar canino está destinado al fracaso en prácticamente todos los casos. Con frecuencia se observa cura clínica o mejoría del animal y luego ocurren las recidivas.

Recientemente tuvimos oportunidad de diagnosticar un caso de Kala-azar en una perra introducida al país, traída de Alicante, España. Los síntomas aparecieron 18 meses después de haber permanecido en Costa Rica, y una vez establecido el diagnóstico se instituyó el tratamiento de la siguiente manera. El animal recibió una inyección diaria (5 ml) de glucantime (Specia) por 33 días en setiembre de 1980. En abril de 1981 aparecen lesiones cutáneas de las orejas y nariz que revelaron parásitos. Se establece un nuevo tratamiento igual por 37 días. Las lesiones mejoraron, un cultivo y frotis de un ganglio poplíteo fueron negativos. Un tercer tratamiento se dio entre noviembre de 1981 y febrero de 1982, de 80 inyecciones adicionales. Al comenzar el tratamiento, la perra tenía queratoconjuntivitis bilateral e hiperemia de la mácula densa por lo que se agregaron corticosteroides. Finalmente el animal se dio por curado clínicamente y hasta hoy no presenta ningún síntoma o signo atribuible a la enfermedad.

P—13

Efecto del Ayuno del *T. dimidiata* en la Infección Intestinal por *T. cruzi*

L. G. Vargas & R. Zeledón
INCIENSA & UNA

Un total de 266 insectos (61 de 4° y 122 de 5° estadios, y 83 adultos) fueron escogidos de aquellos traídos de casas, con formas de *T. cruzi* en sus heces. Los insectos que murieron (68) antes de 30 días, fueron eliminados de la experiencia. Los 198 restantes se dividieron en dos grupos: uno de 103 que permaneció en ayunas, y el otro de 95 que fueron alimentados periódicamente en palomas.

Hasta esta fecha han muerto 167 insectos (88 en ayunas y 79 testigos) que fueron examinados al morir, revisando todo su aparato digestivo en busca de flagelados. Se pudo observar que 21 insectos estaban negativos al morir y que 17 de ellos (81%) pertenecían al grupo en ayunas; y los 4 restantes (19%) al grupo testigo. Estos insectos negativos representan un 12,6 por ciento del total de muertos, en donde el 10,2 por ciento pertenece al grupo en ayunas y el 2,4 por ciento al testigo. Los 17 ejemplares del grupo en ayunas representan el 19,3 por ciento de los muertos de ese grupo, y los 4 testigos el 5,1 por ciento de su grupo. Los 71 insectos positivos muertos en ayunas, tenían en promedio 115,6 días de ayuno, y los 17 negativos 151,4 días.

Estos resultados parecen confirmar la hipótesis de que insectos infectados con *T. cruzi*, que se mantienen en un período largo de ayuno, tienden a negativizarse. Esto se puede explicar debido a que el insecto al agotar sus reservas alimentarias no ofrece las condiciones adecuadas para que el flagelado pueda mantenerse. No obstante un número muy pequeño de insectos que recibieron una alimentación adecuada llegan a negativizarse, lo que viene a contradecir el concepto de que los triatomos infectados nunca llegan a perder la infección.

P—14

La Contaminación por Parásitos en Frutas y Verduras de Costa Rica

R. Marín & M. Chinchilla
CIDPA, U.C.R.

Con el fin de determinar la contaminación existente en frutas y hortalizas que pueden ser fuente de transmisión de parásitos en Costa Rica, debido a que se comen crudas, se obtuvieron muestras de vegetales quincenalmente durante un año de los mercados de San José, Alajuela, Heredia, San Carlos y Cartago. En ellos se compraron varios tipos de frutas y hortalizas. Estos alimentos se lavaron adecuadamente en el la ratono, y los lavados fueron centrifugados para obtener un sedimento que fue observado al micro opio y cultivado en medios para protozoarios. La presencia de coliformes totales y fecales fue determinada en el agua de lavado sin centrifugar. Se estudió un total de 1.213 muestras vegetales y se comprobó que bacteriológicamente presentaban un alto porcentaje de coliformes fecales.

En cuanto a parásitos se pudo comprobar la presencia de *Ascaris lumbricoides*, *Ancylostoma* o *Necator*, *Strongyloides stercoralis*, *Entamoeba histolytica*, *Balantidium coli* y otros protozoarios que crecieron en los medios de cultivo correspondientes. Se analizó también la correlación existente entre la presencia de estos parásitos en las muestras y la época del año.

Colateralmente se aislaron cepas de amebas de vida libre del género *Acanthamoeba* en el 95 por ciento de las muestras. Un 5 por ciento de tales amebas fueron patógenas para el ratón.

Este es el primer estudio sobre contaminación de vegetales que se hace en nuestro país al final de la cadena total de contaminación. Estamos llevando a cabo estudios adicionales con el fin de determinar el momento en que los vegetales indicados se contaminan.

P—15

Mal de Cruz en Equinos Causada por *Onchocerca cervicalis*

J. Velázquez, M. Estrada & L. Mendoza
Escuela Medicina Veterinaria, UNA

Un equino hembra de tres años de edad procedente de Esparza, Puntarenas, que luego fue trasladado a Alajuela, se le recolectó por punción con jeringa estéril un material líquido color ámbar, de una lesión tumoral localizada en la región de la cruz. La muestra fue remitida a la Escuela de Medicina Veterinaria, UNA, con el diagnóstico presuntivo de *Brucella*.

Al examen microscópico directo se observó cantidad moderada de eritrocitos y polimorfonucleares neutrófilos, y gran cantidad de microfilarias con movimientos activos. El diagnóstico diferencial fue practicado a través de cultivos y pruebas serológicas, para descartar otras posibles etiologías, los cuales resultaron negativos.

Al estudio parasitológico las microfilarias encontradas fueron identificadas como *Onchocerca cervicalis*.

El presente reporte añade una etiología más del mal de cruz en equinos de Costa Rica, a la par de *Streptococcus equi* el cual había sido aislado anteriormente en dos oportunidades.

P—16

Toxocariasis Humana en Costa Rica y su Diagnóstico Serológico

S. Silva, M. Vargas, F. Pérez & R. Zeledón
U.C.R., Hospital Nacional de Niños "Dr. Carlos Sáenz Herrera", Hospital San Rafael,
UNA e INCIENSA

La diferenciación entre Larva Migrans Ocular (LMO) y retinoblastoma es de importancia crítica, puesto que muchos ojos con lesiones inflamatorias causadas por *Toxocara canis* han sido innecesariamente enucleados.

En la práctica, el diagnóstico definitivo depende de la demostración de anticuerpos específicos contra *Toxocara* en suero o fluido ocular.

Para este fin, fue usada la microtécnica de ELISA indirecta en 182 muestras procedentes de varios centros de salud del país. De estos sueros 49 fueron reactivos a diluciones mayores o iguales a 1/64, título considerado como significativo para Costa Rica. De estos sueros tenemos información de 7 niños con lesiones oculares semejantes al examen fundoscópico. Las primeras manifestaciones oculares se dieron entre los 3 y medio y los 8 años de edad de los pacientes. Los casos fueron seguidos por un período de dos meses a 6 años y ninguno modificó su cuadro clínico durante el seguimiento. Por la prueba de ELISA, 4 dieron títulos significativos mayores o iguales a 1/64 y 3 por debajo de este valor.

Además se estudiaron con mayor detalle 13 casos con síndrome de Larva Migrans Visceral, caracterizado por alta eosinofilia (entre 15 y 80%), fiebre, dolor abdominal y a veces hepatoesplenomegalia. En todos ellos, menos en dos (1/32), el título por toxocariasis fue mayor de 1/64. Un caso dio un título mayor de 1/4096.

Estos datos sugieren que la prueba de ELISA puede ser útil para detectar infecciones oculares viejas, cuando las características de la fase aguda han desaparecido. La técnica también es de valor en la detección de la fase aguda de este síndrome, cuando el empleo de drogas antihelmínticas convencionales podrían prevenir daños oculares posteriores.

P—17

Efecto de los Corticosteroides en la Infección Experimental con *Angyostrongylus costaricensis*

B. Rodríguez, M. Chinchilla & E. Monge
CIDPA, Departamento de Parasitología, U.C.R.

Este trabajo tiene como fin el determinar el efecto de la cortisona en ratas *Sigmodon hispidus* infectadas con *A. costaricensis*. Se usó con 3 grupos de ratas, uno de los cuales recibió una dosis de 40 mg/100 g de peso durante 15 días previos a la infección con larvas de tercer estadio de *A. costaricensis* y durante 30 días posteriores a la infección.

Un segundo grupo recibió únicamente cortisona en la dosis indicada y un tercero solo las larvas de *A. costaricensis*.

Al momento, se ha establecido en el 1er grupo la presencia de huevecillos, larvas y adultos de *A. costaricensis* en sitios no usuales y variaciones de peso en los grupos que recibieron cortisona lo que podría tener importancia en el desarrollo y acción de los parásitos.

P—18

Transmisión de *Trypanosoma cruzi* por canibalismo entre Insectos Triatóminos

O. Zeledón & R. Zeledón
Escuela de Medicina Veterinaria, UNA

Nos propusimos dilucidar si el canibalismo puede ser un mecanismo por el cual se puede transmitir el *T. cruzi* de un insecto a otro, usando insectos de 6 especies de nuestras crías de laboratorio. Alimentamos, en el total de los experimentos, entre 4 y 19 insectos de 5° estadio o adultos, en ratones C₃H infectados con la cepa CR₄ de *T. cruzi*. Inmediatamente después de alimentados fueron colocados en cajas de Petri grandes con compañeros hambrientos de 1° a 5° estadio. Los insectos alimentados estuvieron expuestos a un número de ninfas hambrientas que varió entre 10 y 92. En todos los casos se observaron esfuerzos de ataque por parte de estas ninfas a sus compañeras llenas de sangre, excepto en el caso de *Triatoma infestans* y *Panstrongylus megistrus*. No obstante, sólo unas pocas ninfas lograron introducir el pico en el abdomen de sus compañeras y llenarse de sangre (no de hemolinfa). Al ser examinadas estas ninfas un tiempo después, logramos confirmar que se habían infectado con *T. cruzi* en la siguiente forma: 2 ninfas de 3° estadio de *Rhodnius prolixus*; 3 de 1° estadio *Dipetalogaster maximus* una de 1° y una de 2° estadio de *T. dimidiata* y una de 3° estadio de *P. herreri*. Estas experiencias muestran que el canibalismo parece ser un fenómeno común entre varias especies de triatóminos pero no se da o es muy raro en otras; que al menos cuando la víctima está recién comida, la compañera hambrienta puede ingerir sangre directamente del estómago sin ninguna consecuencia para aquella; y que es posible que en esta forma se transmita el *T. cruzi* de un insecto a otro, lo cual, de ocurrir en condiciones naturales, aunque sea ocasionalmente, facilita la persistencia del parásito entre los transmisores de la enfermedad de Chagas, con las consecuentes implicaciones epidemiológicas.

P—19

Infección de Gatos con *Trypanosoma cruzi* por la Vía Bucal

R. Zeledón & L. G. Vargas
INCIENSA y UNA

Se trató de infectar 16 gatos adultos de la siguiente forma: 6 fueron alimentados con ninfas de 5° estadio de *Triatoma dimidiata*, infectadas con *T. cruzi* (4 con la cepa "y" brasileña y 2 con la CR No. 4); otros 2 gatos comieron adultos de *T. dimidiata* traídos del campo con infección natural; los 8 restantes se alimentaron con ratones C₃H parasitados (3-30 trips. x450x), 2 con la CR No. 3, 4 con la "y" y 2 con la cepa CR No. 4. A todos los gatos se les practicó un examen de sangre a fresco y un xenodiagnóstico antes de la inoculación, para eliminar una posible infección previa. Posteriormente se les practicó un promedio de 10 exámenes a fresco y 5 xenodiagnósticos. Sólo un gato se infectó al comer una ninfa de 5° estadio de *T. dimidiata* infectada con la cepa CR No. 4.

De los 16 gatos, el positivo murió accidentalmente, 4 fueron sacrificados y los 11 restantes fueron reinoculados subcutáneamente con formas metacíclicas obtenidas de triatóminos infectados con las respectivas cepas homótopas.

De estos, 4 sufrieron infección por *T. cruzi*, 3 inoculados con la cepa "y" y 1 con la CR No. 4 (detectados por xenodiagnóstico a los 30 días). A los 7 gatos negativos restantes se les practicó un promedio de 4 exámenes de sangre a fresco y 2 xenodiagnósticos mensuales o bimestrales antes de sacrificarlos.

Podemos concluir que los gatos presentan resistencia al parásito de la enfermedad de Chagas, especialmente por vía bucal, por lo que no parecen muy importantes como reservorios dentro del ciclo natural. Esto hace pensar que la hipótesis de que los gatos se infectan en la naturaleza comiendo insectos es poco factible y que estos animales con incapaces de adquirir el parásito cuando comen ratones infectados con *T. cruzi*.

P—20

Criptosporidiosis: Datos sobre su Biología y Presencia en Costa Rica

M. Chinchilla

CIDPA, Facultad de Microbiología, U.C.R

Debido a que en los últimos años empieza a hacerse evidente la presencia del esporozoario *Cryptosporidium* sp. como causa de diarrea en el hombre se hace un análisis histórico del parásito, se dan algunos datos sobre su morfología y ciclo y un informe sobre algunos casos humanos encontrados en Costa Rica. También se informa de algunos trabajos experimentales de dos cepas de *Cryptosporidium* en animales de laboratorio ya que aparentemente este organismo no tiene especificidad de huésped alguna.

P—21

***Sarcocystis bovicanis* en Bovinos de Costa Rica**

A. Berrocal, O. Zeledón & R. Zeledón

Escuela de Medicina Veterinaria, UNA

Con el fin de determinar la existencia y prevalencia de *Sarcocystis bovicanis* (*S. cruzi*) en bovinos, recurrimos al material de autopsias de la Cátedra de Patología de nuestra Escuela de Medicina Veterinaria. Logramos observar músculo esquelético (89 muestras), músculo cardíaco (86 muestras) y lengua (9 muestras) de 160 animales de varias razas, incluyendo *Bos taurus* y *B. indicus*. De estos, 58 presentaban quistes polizoicos: 17 sólo en músculo esquelético, 34 sólo en músculo cardíaco, 3 sólo en lengua, 3 en músculo esquelético y corazón y uno en corazón y lengua.

La mayor parte de los animales (47) paseían infecciones ligeras de menos de un quiste por campo de 125 X (promedio de 10 campos). No obstante logramos observar infecciones de 1 a 9 quistes por campo en 11 animales y en 1 caso la infección sobrepasó los 30 quistes por campo en músculo esquelético y alcanzó a 5 quistes por campo en el corazón. De los animales positivos, 8 eran menores de un año, 24 mayores de un año y 26 no tenían registro de edad. El animal más joven infectado tenía 5 días y el más parasitado 8 meses.

P—22

Datos Epidemiológicos sobre las Amebas de Vida Libre Potencialmente Patógenas para el Hombre

M. Chinchilla, R. Marvin, O. M. Guerrero, E. Castro & M. Alfaro

CIDPA, Facultad de Microbiología, U.C.R.

El Dr. Pedro Morera ha mencionado el hallazgo de un caso humano de meningoencefalitis causado por amebas de vida libre en Costa Rica. Esta comunicación nos indujo a diseñar algunos estudios epidemiológicos. En el primero de ellos analizamos las heces y el moco nasal de 207 estudiantes universitarios encontrando 19 cepas de las cuales 8 eran del género *Hartmannella*, 9 del género *Acanthamoeba* y 2 del género *Naegleria*. Ocho de todas estas cepas fueron patógenas para ratones en donde se produjeron infecciones de tipo agudo y crónico con lesiones cerebrales y pulmonares.

Un estudio similar se hizo con 635 pacientes del Hospital San Juan de Dios, pudiéndose aislar estas amebas en las heces de 30 casos y en el moco nasal de 2 de los casos. Catorce cepas crecieron a 41°C y de ellas 2 fueron patógenas para ratones.

En piscinas de Costa Rica pudimos comprobar la presencia de amebas patógenas para ratones en 8 de 29 cepas aisladas. La presencia de las amebas fue independiente del tratamiento de las aguas, lo cual es importante ya que el sistema de infección más probable es vía nasal al absorber agua con las formas evolutiva de las amebas.

Aunque en 5 de 590 líquidos cefalorraquídeos estudiados en varios hospitales del país se aislaron amebas de este tipo, la prueba de patogenicidad en ratón no fue confirmada por lo que mas estudios son necesarios.

Aunque no se haya informado de casos clínicos agudos, no se debe descartar la posibilidad de infecciones crónicas como ha sido comprobado en otros países.

P—23

***Cryptosporidium* en Diarreas de Niños de Costa Rica**

L. Mata, H. Bolaños & M. Vives

INISA, U.C.R.

Como parte de estudios que el INISA realiza sobre la etiología de las diarreas en el medio costarricense, se inició, en marzo del corriente año, la investigación de *Cryptosporidium* en excretas de niños con diarrea y de niños sanos. Para ello se buscaron ooquistes del parásito mediante examen microscópico de frotis fijados con alcohol metílico y coloreados con Giemsa. El material clínico consistió de 101 casos de diarrea aguda y de 10 casos de diarrea crónica en niños admitidos en el Hospital Nacional de Niños. Además, se investigaron 58 niños con diarrea y 40 niños sin diarrea, equiparados por edad y localidad, del área rural de Puriscal. Los pacientes hospitalizados presentaron diarrea severa requiriendo ser rehidratados, los casos del área rural fueron leves. Nueve niños entre 101 con diarrea aguda (8,9%) presentaron ooquistes de *Cryptosporidium*, mientras que solo uno de 58 niños diarreicos de Puriscal presentó el parásito. No se encontró *Cryptosporidium* ni en los testigos ni en los casos de diarrea crónica. El diagnóstico de los ooquistes de 2 a 4 μ fue relativamente sencillo y no hubo dificultad en diferenciarlo de levaduras,

Blastocystis y otros microorganismos que habitan en el intestino. Espacios vacíos de igual forma y tamaño al de los ooquistes sugirió la presencia del parásito. Los ooquistes fueron abundantes y en ocasiones aparecieron en grupos dentro de materia mucosa. Las excretas de los pacientes con *Cryptosporidium* no presentaron células de tipo inflamatorio.

Los estudios en marcha tratan de establecer la importancia relativa de este agente en comparación con rotavirus, *Escherichia coli* enterotoxigénica, *Campylobacter* y otros más.

P—24

Cultivo in vitro de *Blastocrythidia triatoma*

S. Silva, L. G. Vargas & R. Zeledón
U.C.R., UNA e INCIENSA

El cultivo se inició a partir de una suspensión de heces de adultos de *Triatoma infestans* infectados. Se sembraron por duplicado 10, 20 y 50 μ l de la suspensión en tubos con medio de Warren, Grace (Gibco), *Drosophila* de Schneider (Gibco) y Senekjje (SNK) con antibióticos. Se incubaron a temperatura ambiente y se revisaron cada tres días.

El crecimiento de flagelados se observó a los doce días, únicamente en el medio de SNK. De este cultivo se hicieron subcultivos de SNK, Warren LIT; nuevamente, fueron positivos solamente en SNK, (pasaje 1). Al transferir por tercera vez, no se obtuvo crecimiento. Posteriormente se sembraron con el pasaje 2, una serie de tubos con SNK y diferentes cantidades de un extracto de *T. infestans*; se obtuvo en algunos crecimiento abundante. Esto pareció indicar que existía un factor necesario y una concentración óptima para el crecimiento.

Se repitió el experimento con un extracto de *T. dimidiata*; los tubos fueron sembrados con el pasaje 3 del experimento anterior. A los 10 días se observaron cultivos abundantes con flagelados en rosetas (pasaje 4), mientras los controles sin extracto fueron negativos. Los cultivos se continuaron sin extracto y se hicieron curvas de crecimiento para observar el comportamiento de la cepa. Actualmente se mantiene en medio de Senekjje con un crecimiento lento y poco abundante (fase "lag" de 16 días y crecimiento máximo a los 35 días). Lleva 12 subcultivos y aún conserva sus quistes característicos en el flagelo, de manera que el medio de Senekjje se puede considerar adecuado para el aislamiento y mantenimiento de *B. triatoma* aunque la adición del extracto de triatóminos fue clave para el establecimiento del cultivo.

P—25

Nueva Información sobre la Tricomoniasis Intestinal

M. Chinchilla, B. Rodríguez & L. Reyes
CIDPA, Facultad de Microbiología, U.C.R.

La transmisión de la tricomoniasis bucal así como de la vaginal es fácilmente explicable por los mecanismos de contacto directo conocidos. Sin embargo, el sistema de transmisión en la *Pentatrichomonas hominis* parásito normal del intestino grueso, resulta difícil de comprender debido a la ausencia aparente de quistes que sí se encuentran en otros flagelados intestinales y en las amebas. Estudios conducentes a explicar tal transmisión indican que la *P. hominis* es sumamente resistente a concentraciones considerables de jugo gástrico artificial y natural. En efecto se observó cierta tendencia a un arrendamiento de las formas tendientes a formar una estructura semejante a los pseudoquistes encontrados en *Tritrichomonas muris* por Mattem & Daniel en 1980 y con firmado por nosotros en el laboratorio. Se presenta información sobre formas arredondadas similares presentes en heces humanas y algunos estudios tratando de dilucidar la resistencia a factores físicos y químicos de estos pseudoquistes, aspectos no informados antes en la literatura científica.

P—26

Flebotomos Antropofílicos y su Relación con la Leishmaniasis

R. Zeledón, J. Murillo & H. Gutiérrez
INCIENSA y UNA

Durante una encuesta epidemiológica realizada en 88 localidades de todo el país (53 endémicas para leishmaniasis cutánea) capturamos e identificamos 50.000 flebotomos de 56 especies, 14 de ellas sorprendidas picando a humano: *Lutzomyia ylephiletor*, *L. shannoni*, *L. trapidoi*, *L. cruciata*, *L. sanguinaria*, *L. Panamensis*, *L. carrerai*, *L. volcanensis*, *L. geniculata*, *L. longipalpis*, *L. evansi*, *L. hartmanni*, *L. gomezi* y *Warileya rotundipennis*, *L. shannoni* apareció en 65 de las localidades (47 endémicas); *L. ylephiletor* en 53 (43 endémicas) y *L. trapidoi* en 33 (20 endémicas), constituyéndose estas tres especies en las más comunes en un mayor número de zonas endémicas. Del total de especies antropofílicas, 5 de ellas (descartando *L. longipalpis*), constituyen el 87 por ciento de todas las capturas hechas picando a humano. En orden de frecuencia son: *L. ylephiletor*, *L. sanguinaria*, *L. geniculata*, *L. evansi* y *L. panamensis*. De 919 hembras de 11 especies, encontramos flagelados en tres de ellas: *L. trapidoi*, *L. ylephiletor* y *L. shannoni*. En las dos primeras demostramos la presencia de *Leishmania braziliensis*, agente causal de la leishmaniasis cutánea, aislada también de los desdentados *Choloepus hoffmanni* y *Bradypus griseus*. Pruebas de precipitinas

comprobaron la ingestión de sangre humana y de perezoso por parte de *L. ylephiletor* y *L. trapidoi*. *L. cruciata*, *L. sanguinaria* y *L. geniculata* mostraron preferencia casi exclusiva por sangre humana y *L. shannoni* por la de roedores y perezosos. *Lutzomyia ylephiletor* y *L. trapidoi* se vislumbran como los principales vectores de la Leishmaniasis cutánea en Costa Rica; sin embargo no descartamos la posibilidad de que especies como *L. gomezi*, *L. sanguinaria*, *L. shannoni*, *L. panamensis* y *L. cruciata*, estén jugando algún papel en la transmisión del parásito en algunas zonas del país.

P—27

Observaciones sobre los Efectos de *Styloshanthes* (Leguminosae) en Larvas de *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae)

M. Vargas & F. Fallas

Departamento de Parasitología, Facultad de Microbiología, U.C.R.

El control químico de la garrapata es cada vez más problemático por su elevado costo y por la amplia distribución de individuos resistentes a los acaricidas.

Recientemente la estrategia de control tiene otra perspectiva. Algunas leguminosas tropicales, altamente productivas, y de variedades nutritivas, corrientes en pastizales, están cubiertas de tricomas glandulares que secretan un líquido viscoso que inmoviliza las larvas de la garrapata del ganado *Boophilus microplus*. Los experimentos llevados a cabo en Australia tienden a reducir las poblaciones de garrapatas. En Costa Rica se han encontrado cinco especies de *Styloshanthes*, y se investigan los efectos de tales plantas bajo las condiciones locales para establecer sus posibilidades como control biológico.

P—28

Domiciliación de Flebotomos en Areas de Costa Rica y su Importancia Epidemiológica

R. Zeledón, J. Murillo, F. Chaves, H. Gutiérrez & C. Rivera
INCIENSA y UNA

Durante un estudio sobre los vectores de la leishmaniasis cutánea en Costa Rica capturamos 600 flebotomos frecuentando domicilios humanos, fenómeno muy importante principalmente en aquellas regiones donde esta enfermedad es endémica. Encontramos especies antropofílicas picando a humanos dentro de habitaciones en regiones endémicas como Puerto Viejo de Sarapiquí, provincia de Heredia; Tiquires, Cangrejal de Acosta y Corralar, Tabarcia de Mora, provincia de San José y en Tukurrique de Jiménez, provincia de Cartago. En esta última localidad practicamos una determinación de la frecuencia nocturna dentro de habitaciones por un período de 2 años. Capturamos un total de 15 especies, 8 de ellas antropofílicas y entre estas 6 picando a humano dentro y fuera de los domicilios siendo estas en orden de frecuencia: *Lutzomyia gomezi*, *L. sanguinaria*, *L. panamensis*, *L. ylephiletor*, *L. trapidoi* y *L. geniculata*.

Todas estas localidades están situadas en zonas donde antiguamente predominaba vegetación selvática. Actualmente la flora existente consiste en plantaciones de cítricos, café y algunos cultivos menores, lo cual demuestra que el hombre introduce modificaciones cada vez mayores que han llevado a algunas especies a adaptarse a nuevas condiciones y aproximarse cada vez más al medio humano. La presencia de casos (especialmente de niños menores de un año) en habitaciones donde han sido capturados estos flebotomos, puede significar una transmisión domiciliar de la leishmaniasis cutánea y que estas especies antropofílicas pueden ser a la vez fuente de infección para animales domésticos con la complicidad de algunos mamíferos selváticos peridomiciliares.

P—29

Hallazgo en Costa Rica de Piemótidos (Acari: Pyemotoidea) en Arroz y su Relación con Problemas Alérgicos en Humanos

M. Vargas, F. Fallas, S. Quesada & M. Ramírez

Departamento de Parasitología, Facultad de Microbiología, U.C.R.

Los piemótidos son ácaros que tienen interés como depredadores de insectos y por su importancia médica. Algunas de las especies se les encuentra asociadas a alimentos almacenados. La ingestión o contacto con tales ácaros resulta en problemas alérgicos de variada importancia tales como severas lesiones en piel, asma, náuseas y otros síntomas. Otros producen toxinas. Se destaca el hallazgo en Costa Rica, en arroz almacenado, de este grupo de ácaros.

Se estudia la taxonomía, frecuencia, distribución y carga por grano para evaluar su potencial como alérgeno al hombre.

P—30

Cultivo *in vitro* de la Larva Parásita del Tórsalo (*Dermatobia hominis*)

R. Zeledón & S. Silva
UNA, U.C.R. e INCIENSA

Un grupo de 314 larvas fue obtenido en el laboratorio a partir de adultos que hicieron sus posturas sobre *Musca domestica*. Fueron lavadas en una solución de antibióticos (penicilina 1000 U/ml, estreptomycin 1000 U/ml y nistatina 250 U/ml) y colocadas en el medio de cultivo en pequeños frascos. Con estos ensayos se lograron determinar los requerimientos que dieron el mejor desarrollo de las larvas: 50 por ciento de Medio Mínimo Esencial (MEM, Gibco), 40 por ciento de suero bovino, 10 por ciento de extracto de levadura (Difco), 36°C y una atmósfera de 5 por ciento de CO₂ con alta humedad relativa. Se obtuvo un 30 por ciento de mudas a segundo estadio en un tiempo promedio de 10,3 días (ámbito: 7-12 días) que corresponde a lo conocido en la infección natural de la piel. Con este sistema las larvas han aumentado hasta 10,7 veces su tamaño y han sobrevivido un promedio de 15,7 días, con extremos de 7 y 44 días. Cabe resaltar que entre las larvas cultivadas bajo estas condiciones, se obtuvo en un caso un ciclo completo desde huevo hasta larva de tercer estadio, pero murió al día siguiente de la muda.

También se hicieron pruebas de mantenimiento con 80 larvas de segundo estadio (L₂) y 152 de tercero (L₃), provenientes de bovinos infectados. Para L₂ se logró una sobrevivencia de 15 días, con extremos de 3 a 53 días y un 30 por ciento de muda de L₂ a L₃. En L₃ se observó una sobrevivencia de 14,9 días con extremos de 3 y 43 días. De larvas L₃ que habían permanecido de 3 a 28 días en cultivo, el 1,4 por ciento dieron adultos y sus períodos pupales oscilaron entre 25 y 34 días.

Los datos obtenidos sugieren que el medio de cultivo es adecuado para exigencias nutricionales del primer estadio, pero solo lo es parcialmente para el segundo y el tercero, que se muestran más exigentes para su maduración, por lo que se hace necesario hacer modificaciones en los componentes del medio o en las condiciones físicas del cultivo.

P—31

Importancia Epidemiológica de *Ornithodoros kelleyi* (Acari: Argasidae) en Costa Rica

M. Vargas
Departamento de Parasitología, Facultad de Microbiología, U.C.R.

Los ixódidos son las garrapatas más comunes en Costa Rica. Por el contrario, sólo dos especies de argásidos han sido encontradas en nuestro medio y al estado larval: *Ornithodoros casebeerii* y *O. hasei*.

En 1979 y 1980 se presentan dos casos humanos con importantes lesiones en piel y fuerte reacción alérgica, causadas por picaduras de garrapatas. Ambos pacientes requirieron atención médica. La investigación epidemiológica efectuada reveló dos importantes criaderos de argásidos en un habitat caracterizado por casas de madera con ático, la presencia de murciélagos y abundante guano. El estudio de laboratorio incluyó el ciclo de vida, taxonomía, conducta alimentaria y respuesta a la picada en ratones.

Ornithodoros kelleyi es identificada y estudiada por primera vez en Costa Rica. Este hallazgo tiene especial interés ya que los argásidos son importantes no sólo como vectores sino por su picada que puede resultar en choque anafiláctico.

P—32

Aspectos de la Pupación Experimental de *Dermatobia hominis* y sus Implicaciones en la Distribución Climática de esta Mosca

G. Lobo & R. Zeledón
INCIENSA y UNA

Se utilizaron 3611 larvas de tercer estadio separadas en grupos según el peso y colocadas en pequeños frascos sin tapa que contenían arena de río con diferentes cantidades de agua (0%, 25% y 100% de saturación). Los frascos correspondientes a cada humedad fueron colocados en recipientes cerrados a 25±0,5°C. Una variable se hizo con larvas colocadas en frascos con sólo 0 por ciento y 100 por ciento de humedad del sustrato en recipientes que permanecieron destapados en estofas con 10 por ciento, 37 por ciento y 66 por ciento de humedades relativas ambientales.

En los frascos cerrados no hubo diferencias en la formación de pupas ni en la obtención de adultos. La pupación fue afectada cuando la humedad del sustrato y ambiental eran muy bajas. Al cabo de un tiempo, debido a la constante evaporación, la tasa de mortalidad de las pupas fue de 100 por ciento. Esta tasa bajo sólo si la H.R. del aire aumentaba.

No hubo diferencia en el porcentaje de peso perdido al pupar, en las larvas de distintos ámbitos de peso, en arena húmeda o seca cuando el recipiente permaneció cerrado; la humedad atrapada en el recipiente fue suficiente para una correcta pupación. Hubo una mayor pérdida de peso cuando las larvas puparon en arena seca y el frasco permaneció destapado en ambiente con baja H.R. Este es posiblemente el factor principal que impide o hace más difícil el desarrollo de la *D. hominis* en climas secos.

Las larvas penetran cuando hay humedad en el sustrato; si este es seco no penetran del todo y en este caso el porcentaje de adultos que emergen es muy bajo o nulo. En sustratos húmedos el número de adultos emergidos de larvas que pupan, penetrando o permaneciendo en la superficie, es semejante.

P—33

**Histopatología de la Infección Experimental por Tórsalo
(*Dermatobia hominis*)**

S. Silva, G. González, E. Portilla & R. Zeledón
U.C.R., Hospital Escalante Pradilla, UNA e INCIENSA

En este estudio se infectaron 20 ratones blancos con larvas de primer estadio de *D. hominis* en el lomo previamente rasurado. Se colocaron de 2 a 4 larvitas por ratón y se obtuvieron muestras de todas las lesiones cada 24 horas desde el día 1 al 10 y posteriormente a los 12, 14, 17, 20, 21, 25 y 31 días. Todas las piezas de tejido se conservaron en formalina al 10 por ciento para hacer cortes histológicos.

Se determinaron cronológicamente los eventos histológicos del proceso inflamatorio. Durante las primeras 24 a 72 horas se encontró al inicio una costra formada por detritus celulares, material acidófilo laminar de tipo queratínico y leucocitos polimorfonucleares: en la dermis y tejido subcutáneo alrededor de la larva se encontró edema, congestión vascular y abundantes leucocitos neutrófilos. Después de 24 horas comenzaron a aparecer algunas células inflamatorias mononucleares (macrófagos, linfocitos y células plasmáticas), que fueron aumentando en número entre el 3° y 5° días. Conjuntamente aparecen yemas vasculares activas de neoformación y discreta proliferación de fibroblastos. Después de los primeros 3 días, la población celular inflamatoria esta organizada en dos estratos: uno profundo adyacente a la larva, formado en su mayor parte por polimorfonucleares, detritus celulares y escasos macrófagos y otro estado superficial a su vez formado por abundantes macrófagos, linfocitos y células plasmáticas soportados por un estroma de fibroblastos y vasos sanguíneos de neo-formación. Al final del experimento siempre persiste el proceso inflamatorio agudo alrededor de la larva que ha ido creciendo y se encuentra atojada en las capas musculares profundas. La cantidad de detritus ha aumentado considerablemente y alrededor de estos, los fibroblastos se han organizado en forma de una pseudo-cápsula que tabica el proceso circunscribiendo a la larva.

P—34

***Linguatula serrata* en Perros de Costa Rica**

J. Velázquez, E. Avalos, J.A. Morales. R. Meléndez & R. Zeledón
Escuela de Medicina Veterinaria, UNA

Linguatula serrata es un parásito cosmopolita, que en su estado adulto se encuentra adherido a la mucosa de las fosas nasales y con menor frecuencia a la faringe, laringe, esófago y oído medio del perro. Ocupa para su desarrollo larvario un hospedero herbívoro u omnívoro. El adulto ha sido encontrado en varios países latinoamericanos; en Costa Rica ya se había encontrado un caso en un perro de cacería que expulsó una hembra por las fosas nasales. Recientemente la larva ha sido observada en autopsia de humano en Costa Rica.

Este año tuvimos la oportunidad de necropsiar un perro Doberman de 5 1/2 años de edad que venía perdiendo peso progresivamente. Al examen general presentó una ligera deshidratación y un reflejo renal marcado, por lo que se diagnosticó nefritis crónica. Luego se evidenció un problema respiratorio crónico, con disnea, tos y epistaxis. La necropsia permitió el hallazgo de una hembra adulta en la región del duodeno, donde se encontraban dos úlceras de 1 cm de diámetro.

En las vías respiratorias no se constató ningún parásito, ni sus huevos en el moco nasal. La presencia de los huevos en las heces hace pensar que el parásito se encontraba allí desde hacía algún tiempo. El perro además presentaba un linfoma en estado avanzado.

Llamamos la atención de que esta parasitosis debe ser bastante común en perros en Costa Rica, sobre todo en aquellos que tienen oportunidad de alimentarse de animales que ellos mismos cazan.

P—35

**Pentastomosis Linfática (*Pentastomida linguatulidae*).
Primer Caso en Costa Rica**

R. Arroyo, M. Vargas & S. Santamaría
Servicio de Patología Hospital Calderón Guardia
y Departamento de Parasitología, Facultad de Microbiología, U.C.R.

Se describe un caso de pentastomosis linfática por *Linguatula serrata* en un paciente masculino de 5 años de edad, vecino de Aquiares, Turrialba. El joven inicia su padecimiento con dolor abdominal continuo e irradiado difusamente a todo el abdomen, con náuseas y vómitos. Se practica una laparotomía exploratoria, encontrándose abundante líquido intraabdominal, de consistencia gelatinosa y múltiples ganglios linfáticos mesentéricos aumentados de tamaño. El examen histológico de uno de estos ganglios, reveló acentuada hiperplasia histiocítica y dos cortes longitudinales de formas inmaduras de un pentastómido. Algunos aspectos clínicos, morfológicos y epidemiológicos sobre este grupo de parásitos, se discuten en el presente trabajo. Este es el segundo caso en Costa Rica de pentastomosis humana y el primero con localización en ganglios linfáticos.

P—36

Paragonimiasis Cutánea en el Hombre en Honduras

R. Brenes, M. D. Little, O. Randaes, G. Muñoz & C. Ponce

*Departamento de Parasitología, U.C.R., Tulane Medical Center, New Orleans, La. U.S.A.,
Hospital Leonardo Martínez, San Pedro Sula y Centro de Investigación y Desarrollo
Tegucigalpa, Honduras*

Paciente masculino de 31 años de edad con diagnóstico clínico de fibroadenoma de glándula mamaria derecha. Una porción de la lesión fue removida quirúrgicamente: 7 cm de largo, 4cm de ancho y 3 cm profundidad. Eosinofilia 29 por ciento. El diagnóstico patológico inicial fue de granuloma alérgico, sin embargo revisando las secciones histológicas, se observa la presencia de un trematodo en la dermis. En cada una de las cinco secciones histológicas examinadas se observa un solo nivel del parásito, cortado a través del acetábulo en un plano transverso oblicuo. Al corte, se observan espinas simples, 2 ciegos, vesícula excretora mediana y porción de útero; no hay evidencia de ovario, testículos ni glándulas vitelinas en el paréquima. La ausencia de huevecillos en el útero indica que es inmaduro. El yermo no se pudo identificar hasta especie porque es inmaduro y bis secciones no favorecen la observación de ovario ni testículo. Este es el segundo caso cutáneo de paragonimiasis en América Latina.

P—37

Hallazgo de una Hembra Adulta de *Ascaridia galli* (Scharant, 1788) Freeborn, 1923 en un Huevo de Gallina

*E. Monge, R. Brenes & R. González
Facultad de Microbiología, U.C.R.*

Recientemente una ama de casa al ingerir un huevo de gallina cocido, criada en su casa, observó la presencia de un verme semejante a un nemátodo, el cual había sufrido los efectos de la cocción. Llevado a nuestro laboratorio fue aclarado con lactofenol y aunque sus características morfológicas eran muy difíciles de determinar se pudo establecer que se trataba de un parásito de 82 mm de longitud que en su extremo anterior presentaba una característica boca trilabiada con un labio dorsal y dos lateroventrales. Al efectuar la disección de sus órganos internos se probó que se trataba de una hembra adulta de un nemátodo, puesto que se logró observar que sus huevecillos presentaban la morfología característica de estos helmintos, los cuales medían 78,2 x 47,0 μm como promedio lo que junto a su típica morfología nos permitió diagnosticar hembra adulta de *Ascaridia galli*.

Se debe señalar que este es el primer reporte de adultos de *Ascaridia galli* en huevos de gallina en América Latina.

P—38

Primer Caso Humano de *Inermicapsifer cubensis* o *Raillietina quitensis* en Costa Rica

*R. Brenes, E. Monge, G. Rodríguez & G. Hangen
Departamento de Parasitología, U.C.R. y Clínica San Rafael, Puntarenas*

Ch. M. H., paciente femenina; edad 2 años y 7 meses; No. exp. 350177 que ingresa el 21-9-81 al Servicio Medicina 3, Hospital Nacional de Niños; procedente de Palmital, Montes de Miramar, Puntarenas.

Historia Clínica: paciente con 4 meses de evolución; dolor abdominal que cede al tratamiento médico, asociado a deposiciones diarreas periódicamente sin moco ni sangre en número de 4 a 5 en 24 horas; a veces febrícula. Ha recibido múltiples esquemas de tratamiento para parásitos. El examen de heces en nuestro laboratorio fue negativo. Previamente al ingreso se nos envió al laboratorio una muestra de heces que fue traída personalmente por uno de nosotros (Rodríguez, G.). La muestra presentaba numerosas formas a modo de "granos de arroz" que se movían y que al examinarlos resultaron ser anillos grávidos o segmentos de un céstodo. Al romperse estos anillos quedaron en libertad numerosas cápsulas ovíferas y huevecillos característicos del género *Inermicapsifer* o *Raillietina*. Durante 1 mes que estuvo internada se le administró 2 dosis de Yomesán 208 mg, pero fue infructuosa la expulsión del parásito. El 12-7-82 se vuelve a internar en el Hospital Nacional de Niños y se trató de intentar de nuevo la expulsión con Mebendazole 100 mg por 4 días en colaboración con el Dr. R. Loría C., también con resultado negativo.

P—39

Reporte de un Caso de Echinocosis Bovina en Costa Rica

*J. Velázquez & J. A. Morales
Escuela de Medicina Veterinaria, UNA*

Un toro Holstein nacido en Los Cartagos de Alajuela (provincia de Alajuela), de 13 años de edad, proveniente de la Estación Experimental Ganadera "El Alto" del Ministerio de Agricultura y Ganadería (MAG) situada en el cantón la Unión (alto de Ochozomo), provincia de Cartago, fue remitido a la Escuela de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional.

La historia clínica refiere que el animal padecía desde hace tres meses anorexia y diarrea fétida; el cuadro clínico se agravó cayendo en postración. Posteriormente se le practicó eutanasia. En la necropsia, al examen anatómico-patológico se detectó por palpación profunda dos estructuras esféricas de consistencia blanda, en el parenquima del pulmón derecho, localizadas una de

ellas en lóbulo diafragmático y la otra en el lóbulo cardíaco. Al corte del órgano se expusieron estas estructuras, las cuales midieron 2 centímetros y un centímetro de diámetro respectivamente. Ambas contenían un líquido acuoso en el que se observaban estructuras de aspecto granuloso. A la observación detallada se constató tratarse de quistes uniluculares, que poseían una doble capa o membrana.

Se efectuó el estudio parasitológico encontrándose en los quistes gran cantidad de escolices invaginados y otros rotos. Se estudio la morfología de los ganchos y de los escolices invaginados, llegando a la conclusión de que se trataba de *Echinococcus granulosus*.

En Costa Rica, Brenes y colaboradores en 1973 diagnosticaron *E. oligarthrus* en intestino delgado de *Felis concolor costarricensis*.

P—40

Primer Caso Humano de Angiostrongiliasis Abdominal Diagnosticado mediante el Hallazgo de Huevecillos Infecundos del Parásito

R. Brenes, B. Rodríguez, A. Carrillo & W. Arenas
Departamento de Parasitología, Facultad de Microbiología, U.C.R.
y Unidad de Patología, Hospital Nacional de Niños "Dr. Carlos Sáenz Herrera"

Historia: J. V., 10 años de edad, procedente de Desamparados, ingresa al Hospital Nacional de Niños el 18-11-91 con diagnóstico de apendicitis aguda, con un cuadro de evolución de 8 días. Al momento del internamiento, presenta un cuadro de 24 horas de evolución con dolor abdominal localizado en fosa iliaca derecha. A la exploración física: abdomen blando, depresible pero con resistencia muscular voluntaria. Tacto rectal doloroso hacia el lado derecho. Hemograma: 24000 leucocitos/mm³ con 1 por ciento de eosinófilos. Nota operatoria: presencia de líquido de reacción peritoneal y apéndice con signos inflamatorios francos. Nuestro servicio de Patología recibió una pieza de 7 cm de largo por 1 cm de ancho, serosa despulida con fibrina y pared engrosada. Su luz era permeable con perforación en la punta.

Al estudiar los cortes del material resecado, observamos granulomas eosinófilos y vasos trombosados. Nunca observamos la presencia de los elementos parasitarios corrientemente utilizados en el diagnóstico específico de esta parasitosis. Sin embargo, después de una observación minuciosa de cada uno de los cortes pudimos observar por primera vez la presencia de huevecillos infecundos de *A. costarricensis*.

Es interesante señalar que posteriormente a nuestro diagnóstico específico, se le envió suero al Dr. Pedro Morera para que realizara la prueba de látex por *A. costarricensis* y cuyo resultado fue el siguiente: Paciente: J.V.V. fecha 5/1/81 No. 577, expediente No. 152097, resultado positivo.

Al mismo tiempo se hizo estudio por Toxocariasis con la prueba de ELISA con resultado negativo (INCIENSA).

M-1

MICROBIOLOGIA

Cobertura y Respuesta a la Vacunación con DPT en Niños Menores de 2 Años en la Región Central de Salud, Costa Rica

J. A. Ramírez, E. León, W. D. Carrillo, F. Gamboa & V. Sandí
Ministerio de Salud e INCIENSA

Con el objetivo de hacer una evaluación experimental de la cobertura y respuesta a la vacunación con DPT, se seleccionaron 132 niños menores de 2 años, a partir de 30 conglomerados de la región central urbana.

En cada caso se entrevistó a los jefes o encargados de familia a fin de obtener la información sobre el número de dosis de DPT recibidas por el niño, en todos los casos existió respaldo del carné de vacunación, asimismo, cuando fue posible, se obtuvo una muestra de sangre para el análisis serológico.

De los 132 niños encuestados se obtuvo una cobertura de un 88 por ciento para la primera dosis, un 79 por ciento y 74 por ciento para la segunda y tercera dosis de DPT respectivamente.

En 128 casos fue posible practicar el análisis serológico, demostrándose respuesta a la vacuna en un 77 por ciento hacia difteria, un 91 por ciento para tétanos y en un 61 por ciento para tos ferina.

Al correlacionar la encuesta oral con la serológica se muestra una buena correspondencia entre el título de anticuerpos y las dosis de vacuna aplicada para difteria y tétanos, no así en lo que se refiere a las aglutininas hacia *B. pertussis*.

M-2

Zigomicosis Pulmonar en Aves

L. Mendoza, E. Fonseca & E. Portilla

Escuela Medicina Veterinaria, UNA y CIDPA, Facultad de Microbiología, U.C.R.

A la Cátedra de Patología Aviar de la Escuela de Medicina Veterinaria, fueron remitidas varias pollas tipo comercial, de doce meses de edad, con sintomatología respiratoria, anorexia, emaciación y diarrea.

A la necropsia se observó la presencia de focos blanquecinos de aspecto tumoral, en el parenquima pulmonar y sobre sacos aéreos.

Cortes histológicos de estas lesiones, coloreadas con E.H., pusieron en evidencia infiltrado inflamatorio granulomatoso, con base en células gigantes. En coloración de PAS y Grocott se observó hifas con divisiones dicotómicas semejante a la que presenta el género *Aspergillus* en su fase parasitaria.

En uno de los focos granulomatosos se observaron hifas gruesas cenocíticas que se identificaron como pertenecientes al grupo de los *Zigomycetes*.

Se efectuaron cultivos en Sabouraud más Mysifradin, incubándose a temperatura ambiente (25°C) y a 37°C. Al cabo de cinco días de incubación se demostró la presencia de colonias, las cuales fueron identificadas como *A. fumigatus* y *A. flavus*. No se logró el aislamiento de *Zigomycetes*.

M—3

Septicemia y su Importancia Clínica

E. Alvarado-Cerdas, R. Campos & A. Golfín

Laboratorio Clínico, Hospital México.

La finalidad de este estudio es poner en evidencia la importancia del hemocultivo en cuadros sépticos, y la frecuencia de los microorganismos aislados frente a diferentes manifestaciones clínicas. Fue llevado a cabo en el Hospital México en el período comprendido de noviembre de 1979 a junio de 1982, con un total de 3.780 hemocultivos y una positividad de 7,06 por ciento.

Se hace referencia a los últimos adelantos sobre la técnica del hemocultivo según revisión bibliográfica actualizada.

M—4

Huevos Fértiles de Gallina Contaminados con Hongos del Género *Aspergillus*

E. Fonseca & L. Mendoza

Escuela Medicina Veterinaria, UNA

El huevo fértil destinado para la incubación necesita un manejo, higiene y sanidad ambiental especial para su correcta conservación, antes de ser colocado en las máquinas incubadoras.

La Cátedra de Patología Aviar y la de Microbiología, de la Escuela Medicina Veterinaria, recibieron para su estudio huevos fértiles de reproductoras pesadas, unos descartados antes de ser introducidos a las maquinas incubadoras, por suciedad de la cáscara Y otros que al término de la incubación no eclosionaron.

En ambos casos al abrir el huevo se observó la presencia de un crecimiento algodonoso a partir de la albúmina. Dicho material se montó al examen directo de KOH al 10 por ciento encontrándose hifas niacrosifonadas hialinas. El material se sembró en Sabouraud sin antibióticos aislándose *Aspergillus flavus* como responsable de la contaminación.

M-5

Producción de Agar a Partir de *Gracilaria fortissima*

D. León, I. Peña, J.J. Alvarado & J. Avendaño

Facultad de Microbiología, U. C R.

Se extrajo agar a partir de *Gracilaria fortissima*, alga de la clase Rhodophyceae mejor conocidas como algas rojas.

La especie fue obtenida en la localidad de Cahuita, provincia de Limón. Se recogieron del lecho rocoso al que se encuentran adheridas, se eliminaron las especies contaminantes y se expusieron al sol con el fin de secarlas y decolorarlas.

Los métodos empleados difieren en el pretratamiento aplicado al alga antes de la extracción y en la temperatura del mismo.

Estos métodos son los siguientes:

- a) pretratamiento alcalino a 90-95°C y a 70-75°C
- b) pretratamiento ácido a 17°C
- c) pretratamiento combinado alcalino-ácido a 90-95°C Y a 80-85°C
- d) extracción sin pretratamiento.

El agar obtenido por los diferentes métodos fue valorado a través de los siguientes parámetros: fuerza de gel, temperatura de fusión, temperatura de gelificación y porcentaje de rendimiento.

El rendimiento obtenido con el método alcalino a 90-95°C fue de 4,33 por ciento y de un 3,33 por ciento a 70-75°C. El método ácido fue el que produjo mayor rendimiento (44%) y el agar obtenido presentó mejores cualidades ópticas (mejor apariencia del gel).

El pretratamiento combinado produce un rendimiento intermedio, a 90-95°C se obtiene un 24 por ciento y a 80-85°C se obtiene un 22 por ciento.

Las propiedades físicas del agar como son temperatura de fusión y de gelificación y la fuerza del gel, varían de acuerdo al método empleado.

M—6

Candidosis Gástrica en Porcinos

L. Mendoza, R. Meléndez & E. Portilla

Escuela Medicina Veterinaria y CIDPA, Facultad de Microbiología, U.C.R.

Porcinos de quince a treinta días de edad, con heces diarreicas blanco-amarillentas, con alto porcentaje de mortalidad, fueron remitidos a la Escuela de Medicina Veterinaria con diagnóstico de Colibacilosis. A la necropsia no se observaron cambios patológicos en los órganos vitales. Al llegar a estomago se observó una capa blanquecina que cubría totalmente la mucosa gástrica, conteniendo un líquido amarillento.

El examen directo en KOH al 10 por ciento de este material revelo la presencia de micelio macrosifonado, septado, hialino, con gran cantidad de blastosporas y cuerpos esporíferos. Tinciones de Gram también fueron practicados obteniéndose los mismos resultados.

Cortes histológicos de la mucosa gástrica teñidos con las técnicas de Grocott y PAS, mostraron invasión a los tejidos de la mucosa gástrica de hifas macrosifonadas y blastosporas.

Los cultivos se practicaron en Sabouraud mas antibióticos, aislándose colonias blancas circulares de aspecto bacteriano, que al ser montadas en Lugol Doble mostraron gran cantidad de blastosporas la mayoría de ellas gemando. Un Auxonograma y Zimograma practicado en estas colonias determinó que se trataba de *Candida albicans*.

M—7

Fiebre de Embarque en Porcinos

R. Meléndez & L. Mendoza

Escuela de Medicina Veterinaria, UNA

En los problemas respiratorios de cerdos están implicados una serie de agentes etiológicos primarios como *Mycoplasma* y *Hemophilus* y como agentes secundarios especies del género *Pasteurella*.

En una granja porcina ubicada en San Carlos, Alajuela, se reportó un brote de cerdos recién destetados con problemas respiratorios, anorexia, postración, hipertemia, sintomatología nerviosa y muerte.

A la necropsia se observó pulmones congestivos, hemorrágicos, con focos de hepatización, necrosis y hemorragia petequiales en serosas.

Muestras de pulmón fueron remitidas a la Escuela de Medicina Veterinaria para su estudio microbiológico. Improntas de dichos tejidos teñidos con la técnica de Wright revelaron infiltrado inflamatorio agudo y con gran cantidad de bacterias teñidas bipolarmente semejante a las del género *Pasteurella*.

Los cultivos fueron practicados en agar sangre, más atmósfera de 10 por ciento CO₂.

Cuarenta y ocho horas después se desarrollaron colonias pequeñas, convexas, translucidas, con hemólisis completa, las cuales fueron clasificadas bioquímicamente como *Pasteurella haemolytica*.

M—8

Diarrea por *Campylobacter fetus je juni* en Niños del Área Rural de Costa Rica.

M. Vives, L. Mata, P. Jiménez, B. Castro & M.E. García

INISA, U.C.R.

Entre setiembre de 1979 y setiembre de 1982, se estudiaron las heces de 279 niños con diarrea aguda y las de 198 testigos sin diarrea, con el objeto de determinar la etiología de los episodios y la relación de los distintos agentes patógenos con el estado nutricional. Los niños eran menores de dos años y forman parte de falanges de un estudio longitudinal que el INISA realiza en el cantón de Puriscal. Tanto en los niños con diarrea como en los testigos se investigó la presencia de virus, bacterias y parásitos. Los análisis incluyeron el estudio de bacterias tradicionales (salmonelas y shigelas) así como el de otras recientemente incriminadas en la causalidad de la diarrea aguda, e.g., enterobacterias toxigénicas y *Campylobacter fetus je juni*. En marzo se inició el estudio de *Cryptosporidium*. El aislamiento de *Campylobacter* se realizó inoculando las heces frescas en medio de Skirrow agar *Brucella* base, sangre de caballo al 10 por ciento y antibióticos incubando las placas a 42°C por 48 horas en jarra de anaerobiosis con sobre generador Gas-Pak sin catalizador.

El *Campylobacter je juni* se identificó como agente único en el 10 por ciento de los casos y 3 por ciento de los testigos (p < 0,005); asociado a rotavirus en un 3 por ciento de los casos y menos del 1 por ciento de los testigos; y en infección mixta con enterobacteriáceas toxigénicas, en menos del 1 por ciento de los casos y testigos. Los principales signos y síntomas clínicos de la infección con la bacteria fueron anorexia (50%), fiebre (44%), vómitos (37%) y sangre en heces (25%). De los 28 niños a los cuales se les detectó *Campylobacter*, uno presentó deshidratación del 5 por ciento y sólo dos recibieron tratamiento con antibióticos. En trece de los 28 se comprobó un deterioro en el estado nutricional durante o inmediatamente después de la diarrea. El *Campylobacter fetus je juni* ocupa el tercer lugar como agente etiológico de diarrea en los niños estudiados precedido por rotavirus (24%) y enterobacteriáceas toxigénicas (11 %).

M—9

Tinea Favosa en Aves

L. Mendoza, E. Fonseca & E. Portilla

Escuela de Medicina Veterinaria, UNA y CIDPA, Facultad de Microbiología, U.C.R.

Microsporium (Trichophyton) gallinae fue conocido por mucho tiempo como *Achorion gallinae* y se le ha aislado como agente importante de tinea en aves. En Costa Rica no se había reportado la infección, constituyendo el presente informe el primer hallazgo.

En el mes de agosto de 1981 fue remitido a la Cátedra de Patología Aviar un gallo de un año de edad, presentando lesiones descamativas diseminadas en cresta y barbillas únicamente. Costras de un color blanco amarillento que se desprendían con facilidad, fueron recolectadas para su estudio micológico en la Cátedra de Microbiología, Escuela de Medicina Veterinaria.

El directo en KOH al 10 por ciento reveló la presencia de micelio macrosifonado hialino y artrosporado entre las células de descamación. Cortes histológicos coloreados con E.H., Grocott y PAS mostraron hiperqueratosis y gran cantidad de micelio.

El cultivo se llevó a cabo en Mycocel incubándose a temperatura ambiente (25°C). De cinco a siete días después se desarrollaron colonias planas, vellosas, de color blanco; al reverso de la colonia se observó un pigmento rojo fresa que se difundió por todo el medio.

Microscópicamente las colonias presentaron macroconidias de dos a diez células, de pared lisa en la parte inferior de la misma y equinulaciones en la parte superior. El aislamiento se clasificó como *Microsporium gallinae*.

M—10

Celularidad de las Excretas en Diarreas por Rotavirus y

Campylobacter fetus je juni

H.M., Bolaños, A. Simhon & L. Mata

INISA, U.C.R.

Se estudiaron las heces diarreicas de 112 niños, en su mayoría menores de dos años, atendidos en el Servicio de Emergencias del Hospital Nacional de Niños. Se anotó la presencia de moco y sangre macroscópicos y se hicieron preparaciones microscópicas a fresco y teñidas con Giemsa para buscar leucocitos y eritrocitos, así como la prueba de bencidina para detectar sangre oculta. Se investigó la presencia de rotavirus por medio de un ELISA de "doble sandwich", y de *Campylobacter fetus je juni* en agar Skirrow (incubado durante 48 horas a 42°C en una atmósfera de 90 por ciento N₂ y 10 por ciento CO₂, en jarras Don Whitley sin catalizador).

Los resultados fueron los siguientes:

En dos de 25 muestras rotavirus-positivas (8%) se encontraron leucocitos y sangre oculta. Estudios previos demostraron ausencia de células y de sangre en la diarrea por rotavirus, por lo que los dos casos con células en este estudio sugieren una infección mixta.

En la diarrea por *Campylobacter* se encontraron leucocitos en sólo uno de 8 casos, y en ninguno se demostró presencia de sangre. Estos hallazgos contrastan con los de otros estudios en que se describen elevados porcentajes de leucocitos y glóbulos rojos en la diarrea por *Campylobacter*.

En 11 de 79 muestras en las que no se detectó rotavirus ni *Campylobacter* se encontraron leucocitos y sangre. Es muy probable que estos representen infecciones por bacterias con capacidad de invadir la mucosa intestinal como *Shigelia*, *Salmonella* o *Escherichia coli* enteroinvasora. Se concluye que el examen microscópico de frotas teñido de material fecal ayuda a diferenciar las diarreas acuosas del intestino superior, de las diarreas exudativas del intestino delgado distal y del colon.

M—11

Aborto por *Campylobacter fetus* en Bovinos de Costa Rica

M. Padilla, E. Perez & L. Mendoza

Escuela de Medicina Veterinaria, U.N.A

La ganadería costarricense afronta en la actualidad el reto de suplir de proteína animal a la población local y generar además divisas para el país. Esta labor no la cumple a cabalidad por diferentes factores, entre los cuales se destaca el bajo índice de eficiencia reproductora. El porcentaje de parición oscila alrededor del 46-50 por ciento, siendo posible obtener técnicamente el 70-80 por ciento.

Entre las diferentes causas que ocasionan este bajo porcentaje, se sitúan las enfermedades venéreas del bovino (campilobacteriosis y tricomoniasis), a través de sus manifestaciones clínicas de reabsorción embrionaria, abortos, natimueertos, etc.

Una consulta de infertilidad, abortos y natimueertos fue hecha a la Cátedra de Reproducción Animal de la Escuela de Medicina Veterinaria procedente de la zona de San Carlos.

Después de la anamnesis correspondiente, se decidió trabajar en base a diagnóstico etiológico de la enfermedad, teniendo como diagnóstico diferencial brucelosis bovina, campilobacteriosis y tricomoniasis. Fue remitido un feto abortado, del cual se extrajo contenido abomasal. Al mismo se le practicó tinsiones de Wright y Gram mostrando infiltrado inflamatorio y bacterias en forma de coma y en forma de ese.

Se procedió a cultivarlo en agar sangre más CO₂ con Gas-Pak aislándose colonias pequeñas traslúcidas que al Gram mostraron ser bacilos en forma de coma y en forma de ese, gramnegativos. Bioquímicamente fueron clasificados como *Campylobacter fetus*.

M—12

Clínica y Patología de la Aspergilosis Aguda y Crónica en Aves de Corral

E. Fonseca & L. Mendoza
Escuela de Medicina Veterinaria, UNA

Clínicamente la aspergilosis; de las aves tiene dos diferentes manifestaciones; la forma aguda, que se observa en el pollito recién nacido el cual se ha contagiado en el momento de nacer por mala desinfección de las máquinas nacedoras, razón por la cual a este tipo de aspergilosis se le denomina "neumonía de la incubadora"; se caracteriza por evidentes problemas respiratorios con una disnea a pico abierto, anorexia, profusa diarrea acuosa y elevada mortalidad. La otra es la forma crónica que se observa en aves de mayor edad, sea en desarrollo o producción, las cuales se contaminan mediante esporas del hongo presentes en el medio, ya en el suelo, ya en alimento o equipo contaminado.

En la forma crónica son menos evidentes los síntomas respiratorios y llama la atención la anorexia y el estado caquéctico de las aves. En ocasiones se observa sintomatología nerviosa cuando por metástasis hay compromiso del Sistema Nervioso Central.

A la necropsia, en los pollitos con la forma aguda de la enfermedad, los focos aspergilaes tan pequeños como cabezas de alfiler y de color blanco amarillentos, se encuentran en tejido pulmonar y sobre sacos aéreos. En las aves con la forma crónica también se observan en estas zonas anatómicas pero, dependiendo de su cronicidad, llegan a formar verdaderas masas tumorales. En este tipo de aspergilosis es común el hallar metástasis impresionantes, donde los focos aspergilaes cubren amplias zonas de cavidad torácica, abdomen y los órganos en ella alojados. Asimismo se ha encontrado focos aspergilaes en cerebro y cerebelo.

De nuestra casuística consultada en Medicina Veterinaria se determinó que *A. fumigatus* y *A. flavus* son los agentes que se han aislado con mayor frecuencia en ambas manifestaciones clínicas.

M—13

Agentes Enteropatógenos en Niños del Área Urbana y de una Región Rural Dispersa de Costa Rica

A. Simhon, M. Vives & L. Mata
INISA, U.C.R.

Entre 1976 y 1981 se estudió la diarrea asociada a rotavirus, *Escherichia coli* enterotoxigénica (toxina lábil y toxina estable), *Campylobacter fetus je junii* y agentes tradicionales como *Salmonella* y *Shigella* en niños de áreas urbanas y suburbanas de San José y que fueron atendidos en la Sala de Emergencias del Hospital Nacional de Niños (HNN). Colateralmente, en setiembre de 1979 se inició un seguimiento longitudinal de niños provenientes de una región rural dispersa que fueron reclutados al momento de nacer hasta setiembre de 1981 como dos falanges consecutivas del "Estudio Crecimiento y Desarrollo del Niño de Puriscal". Se estudió la presencia de agentes enteropatógenos en mulos con diarrea y en testigos sin diarrea utilizando las mismas técnicas que en la población anterior. Los resultados se resumen a continuación.

INFECCIÓN ENTERICA SENCILLA Y MÚLTIPLE EN NIÑOS COSTARRICENSES MENORES DE DOS AÑOS

	Puriscal, 1979-1981		HNN, 1976-1979
	Con diarrea N=279	Sin diarrea N=198	Con diarrea N=345
Rotavirus	24*	6	45
<i>Campylobacter</i>	10	2	8**
Enterobacterias toxigénicas	9	10	14
<i>Shigella</i>	3	0	10
<i>Salmonella</i>	1	0	7

* Porcentaje.

** En 233 casos estudiados entre diciembre 1980 y junio 1981.

Los rotavirus fueron los agentes más importantes en ambas poblaciones. La variación estacional fue similar. Los rotavirus mostraron un exceso de frecuencia en los meses fríos de diciembre a febrero, aunque se les detectó durante todo el año. Los "picos" por agentes bacterianos generalmente no coincidieron con los rotavirus. La frecuencia de *Giardia* fue baja en pacientes del HNN (4,5%) y en Puriscal (< 1%). *Entamoeba histolytica* se encontró en menos de 1 por ciento de los casos en ambas poblaciones.

M—14

Esporotricosis Equina en Costa Rica

L. Mendoza, A. Alfaro & M. Peralta
Escuela de Medicina Veterinaria, UNA

La esporotricosis es una infección que en nuestro medio es diagnosticada frecuentemente en humanos. En animales no se había reportado aún, constituyendo este trabajo un aporte más a la Micología Médica Costarricense.

Un equino macho de la raza Española de seis años de edad, procedente de La Valencia, Heredia, presentó una masa tumoral de ocho cm de diámetro, localizada a la altura del miembro anterior izquierdo y la región pectoral. Posteriormente la lesión se extendió hacia la región pectoral vía linfática, formando trayectos ganglionares que no llegaron a fistulizar.

Una muestra tomada por punción de los linfonódulos comprometidos, y una biopsia del mismo, fueron remitidos a la Cátedra de Microbiología. Frotis teñidos con derivados del Romanowsky fueron practicados, pero no fue posible observar el agente etiológico.

Cortes histológicos teñidos con la técnica de Grocott revelaron la presencia de levaduras semejantes a las que presenta *Sporothrix schenckii* en su fase parasitaria.

Los cultivos se llevaron a cabo en MycoCel en el que se observó colonias pequeñas y de aspecto estrellado, que microscópicamente fueron identificadas como *S. schenckii*.

Se instauró tratamiento a base de Yoduro de Potasio; 6 g diarios por vía intravenosa y 40 g por vía oral en las dos semanas iniciales y 20 g diarios hasta concluir el tratamiento. Dicho tratamiento fue acompañado de aplicación tópica de paños calientes por espacio de 40 minutos en el sitio de la lesión. Treinta días después del tratamiento se observó reducción de las lesiones y recuperación total del animal. No se reportó síntomas de yodismo.

M—15

Estado Actual sobre el Conocimiento de la Fiebre Manchada de Montañas Rocosas en Costa Rica

L. G. Fuentes
Departamento de Microbiología e Inmunología, U.C.R.

Un estudio continuado durante varios años sobre rickettsiosis ha permitido conocer una serie de aspectos epidemiológicos sobre la Fiebre Manchada de las Montañas Rocosas. El área localizada lo constituye las llanuras del Norte. Se ha logrado detectar la circulación del agente causal desde Cedral de San Carlos pasando por Línea Vieja hasta terminar en Limón. El análisis de anticuerpos ha permitido detectarlos en humanos, conejos y perros. Sólo han aparecido casos humanos en los extremos de esta faja geográfica: San Carlos y Limón; sin embargo en Línea Vieja se ha aislado la rickettsia de la garrapata del conejo.

En el año que corre se han presentado dos nuevos episodios en Limón con resultados fatales (meses de junio y setiembre). Se insiste sobre las circunstancias que rodean esta zoonosis.

M—16

Tinea por *Trichophyton verrucosum* en Caprinos

L. Mendoza, A. Solís & E. Portilla
Escuela de Medicina Veterinaria, UNA y CIDPA, Facultad de Microbiología, U.C.R.

Doce caprinos de las razas Franco Alpino, Nubiano y Togember de un total de cuarenta y seis animales importados de los Estados Unidos de América, presentaron lesiones alopecias ubicadas en abdomen, tórax, orejas, región periorcular y frontal.

El cuadro clínico se caracterizó en general por lesiones alopecias circulares; en algunas regiones, por ejemplo orejas y región frontal, presentaron placas que confluían hasta formar extensas zonas pseudoalopécicas que se desprendían con facilidad.

Un examen en KOH al 10 por ciento de estas lesiones reveló moderada cantidad de micelio macrosifonado entre las células de descamación, e invasión del pelo del tipo megaspora. Este parasitismo de los pelos se caracterizó por penetración del hongo a partir del folículo piloso, región desde la cual se extiende al resto del mismo.

Cortes histológicos de las placas desprendidas muestran parasitismo de los pelos tanto interna como externamente, en los cuales se observan cadenas largas de esporas de aproximadamente cinco a ocho μm de diámetro.

Los cultivos se llevaron a cabo en MycoCel incubándolo a 37° C. Doce a quince días después se observaron colonias pequeñas de aspecto céreo que en la medida en que fueron envejeciendo desarrollaron un aspecto veloso. Microscópicamente en azul de lactofenol mostraron cadenas gruesas de clamidosporas. No se observó macroconidias.

T. verrucosum es el agente número uno de tinea en bovinos, pero puede ser aislado de lesiones en otros animales jóvenes incluyendo al hombre. Generalmente estos han estado en contacto con bovinos portadores o con animales enfermos, asimismo con detritos contaminados con el hongo.

M—17

**Inoculación Experimental de Dermatofitos.
Observaciones Experimentales**

G. Marín

Departamento de Microbiología e Inmunología, Facultad de Microbiología, U.C.R.

La capacidad de los dermatofitos para producir lesiones en piel, pelo y uñas es ampliamente reconocida. Más raramente lesionan la dermis y la hipodermis y excepcionalmente afectan nódulos linfáticos, huesos o vísceras.

En este trabajo se presentan observaciones preliminares sobre la producción de lesiones en ratones, por inoculación intraperitoneal de 10 especies de dermatofitos.

Trichophyton concentricum fue el hongo que mostró mayor virulencia, provocando en algunos ratones una muerte rápida o la formación de numerosos abscesos de los cuales fue posible aislarlo nuevamente. Asimismo, *Trichophyton tonsurans* y *Microsporum fulvium* produjeron abscesos en menor cantidad y de menos tamaño, pero no fue posible su reaislamiento. Otras especies de dermatofitos no produjeron lesiones aparentes ni fueron reaisladas de los tejidos inoculados.

Se comentan además algunos aspectos de la histopatología de las lesiones.

M—18

Aislamiento de *Acinetobacter calcoaceticus* en Infección Postparto

M. de los A. San Román & E. Giutta

Laboratorio Clínico, Hospital San Juan de Dios

Se reporta el aislamiento de *Acinetobacter calcoaceticus* de una paciente postparto. Las pruebas bioquímicas efectuadas a la bacteria aislada coinciden con las del biotipo *anitratu*s, descartándose los otros biotipos.

M—19

Nocardiosis Pulmonar en Costa Rica. Informe de un Caso

J.A. Mora & L. Troper

Facultad de Medicina, U.C.R. y Servicio de Patología, Hospital Calderón Guardia

Se hace el diagnóstico de nocardiosis pulmonar en el cadáver de un paciente de 19 años de edad que presentó:

1. Síndrome de Zollinger-Ellison con

- a) Adenoma maligno de células no beta de la cola del páncreas;
- b) Úlcera péptica;
- c) Hipertrofia de la mucosa gástrica.

2. Diabetes mellitus que finalizó con erupción eritemato vesicular compatible con el síndrome hiperglicémico.

En la autopsia los pulmones estaban aumentados de tamaño, con múltiples lesiones blanquecinas, friables, distribuidas en todo el parénquima y en los que se hizo el diagnóstico de nocardiosis.

Constituye este el primer caso de nocardiosis pulmonar en Costa Rica.

M—20

Queratomycosis en Costa Rica. Informe de Varios Casos

G. Marín, E. Alvarado-Cerdas & J. L. Ramírez

*Laboratorio Clínico Hospital México; Facultad de Microbiología, U.C.R.
y Servicio de Oftalmología, Hospital México*

Se presentan observaciones de cuatro casos de queratomycosis en Costa Rica. Tres de los pacientes fueron de sexo masculino y uno femenino, con edades de 36, 64, 65 y 70 años. En tres de ellos existió un antecedente traumático. Se aislaron tres cepas de hongos del género *Fusarium* y una de *Aspergillus flavus*.

El tratamiento con Pimaricina dio resultados favorables en todos los casos.

M—21

Rinoconidiobolomycosis Equina. Reporte de un Caso

L. Mendoza, A. Alfaro & E. Portilla

Escuela de Medicina Veterinaria, UNA, CIDPA, Facultad de Microbiología, U.C.R.

Un equipo hembra de tres años de edad, de la raza criolla, procedente de San Carlos, Majuela, fue referido a la Cátedra de Cirugía de Especies Mayores presentando un evidente cuadro de disnea. Al examen se observó una masa tumoral externa de unos cinco cm de diámetro en el ollar del divertículo nasal izquierdo, engrosamiento del septum nasal con la consecuente obstrucción de los cornetes nasales. Una biopsia de la masa tumoral fue remitida a la Cátedra de Microbiología para su estudio, con diagnóstico presuntivo de Conidiobolomycosis.

En un directo en KOH al 10 por ciento, inicialmente no fue posible poner en evidencia el agente etiológico, por lo que se procedió a cultivarlo en Sabouraud más Cloramfenicol y fijarlo en formalina.

El examen histopatológico en E.H. reveló reacción inflamatoria con base en eosinófilos y cantidad moderada de polimorfonucleares. En el centro de la reacción inflamatoria se demostró la presencia de hifas cenocíticas cortadas longitudinal y transversalmente, rodeadas por un material eosinófilo conocido como Fenómeno de Hoepplig-Splendore.

Tinciones especiales para observar mejor este fenómeno también fueron desarrolladas, en las cuales se destaca una ideada por la Dra. Portilla.

El cultivo se desarrolló cuatro a cinco días después de inocular medios de Sabouraud, en los que se observó colonias circulares rugosas, caracterizadas por la gran cantidad de conidias que eran lanzadas del medio, hacia el vidrio de las placas; el mismo fue identificado como *Conidiobolus coronatus*.

M—22

***Trichophyton verrucosum* en Humanos. Reporte de un Caso**

L. Mendoza & A. Solís

Escuela de Medicina Veterinaria, UNA y Ministerio de Agricultura y Ganadería (MAG)

Un niño de ocho años de edad que estuvo en contacto con doce caprinos a los cuales se les había diagnosticado tinea por *Trichophyton verrucosum* (ver resumen "Tinea por *Trichophyton verrucosum* en caprinos) presentó lesión única a nivel del antebrazo derecho. La misma se caracterizó por ser una lesión circular, eritematosa, descamativa, con pequeñas vesículas que secretaban un líquido claro.

Un raspado de la lesión reveló la presencia de micelio macrosifonado artrosporado; algunos pelos presentaban parasitismo tipo megaspora.

El cultivo en MycoCel incubado a 37°C por quince días mostró colonias pequeñas glabras que microscópicamente fueron identificadas como *Trichophyton verrucosum*.

M—23

Dermatitis Micótica por *Dermatophilus congolensis* en Bovinos de Costa Rica.

Reporte de un Caso

L. Mendoza & L. Vargas

Escuela de Medicina Veterinaria, UNA

La dermatofilia ha sido diagnosticada en Costa Rica desde 1977, cuando Martín *et al.*, lograron demostrar en frotis y cortes histopatológicos el agente etiológico.

El presente brote se diagnosticó en Cañas, Guanacaste, en bovinos de las razas Simental y Pardo Suizo; las lesiones estaban ubicadas en las extremidades, cuello, región pectoral preferentemente.

Clinicamente se observó placas exudativas recubiertas por costras proliferativas, que al ser desprendidas mostraron una superficie eritematosa sangrante.

En frotis teñidos con Wright y azul de metileno se identificó el agente etiológico *Dermatophilus congolensis*. En cortes coloreados con la técnica de E.H. y Wright también fue posible ponerlo de manifiesto.

El aislamiento se llevó a cabo en Agar Sangre e Infusión Cerebro y Corazón, incubándose a 37°C con atmósfera de 10 por ciento de CO₂.

M-24

Factores que Influyen en el Uso de la Tripsina como Activadora de la Infectividad Viral, en Cultivos Celulares

L. Herrero, G. F. Mann & A. J. Zuckerman

INISA, U.C.R. y London School of Hygiene and Tropical Medicine, Universidad de Londres

La tripsina es capaz de activar la infectividad de ciertos virus aumentando su producción *in vitro*, pero existe gran variabilidad en su acción sobre monocapas celulares e infectividad de los virus. En este estudio se analizaron varios factores que pueden influir en este fenómeno. Se utilizó virus de influenza A como marcador de la viabilidad celular y la acción de la tripsina. Por medio de la cantidad de colorante absorbido por las células, se determinó el punto en que el 50 por ciento de ellas permanecían adheridas a la superficie de la placa después de haber sido expuestas a diferentes concentraciones de tripsina. Las células MDCK y Vero necesitaron 5,9 y 4,1 $\mu\text{g/ml}$ de tripsina para reducir su monocapa en un 50 por ciento, mientras que las células MRC-5 y fibroblastos de pollo requirieron 0,6 y 0,05 $\mu\text{g/ml}$, respectivamente. También se mostró que la acción de la tripsina sobre diferentes densidades celulares presenta una relación lineal; es decir, a densidades bajas, se requiere una concentración menor de tripsina para reducir la celularidad adherida a la superficie. Se determinó que con concentraciones de tripsina más altas que las descritas previamente, las células se desprenden, pero mantienen su viabilidad y capacidad de replicar virus. No hubo diferencia significativa en los títulos de virus cuando se varió el pH entre 7,0 y 7,6; sin embargo, a pH más altos los títulos descendieron considerablemente. El volumen de medio con tripsina usado para la replicación viral debió ser constante, puesto que al aumentar el volumen, aumenta la concentración de tripsina por células, y por ende, el desprendimiento celular sin aumento en la infectividad del virus. Este trabajo demuestra que al fijar condiciones tales como densidad celular, pH, concentración de tripsina y volumen de medio de cultivo a cada línea celular, se puede en gran medida estandarizar la acción de esta enzima sobre la replicación viral en cultivos celulares.

M-25

Ultraestructura de Rotavirus

F. Hernández
INISA, U.C.R.

Los rotavirus son los agentes etiológicos más importantes en la diarrea del niño menor de dos años de edad y han sido investigados por lo menos mediante quince pruebas de diagnóstico, incluyendo desde la microscopía electrónica hasta los inmunoensayos enzimáticos. Por otro lado, los estudios sobre su ultraestructura son contradictorios, habiéndose propuesto varios modelos con índices de triangulación de 3, 4, 9, 13 y 16. A su vez, se ha informado que el virión presenta 20 ó 21 subunidades periféricas. Se analizó la ultraestructura de partículas de rotavirus, en preparación de heces diarreicas, concentradas, y luego teñidas con ácido fosfotungstico, carbón y acetato de uranilo. Los viriones se fotografiaron al microscopio electrónico a cero grados y en ángulos de inclinación de 5, 10 y 20 grados. Las micrografías se analizaron luego por la técnica de reforzamiento de imágenes de Markham. Se encontró que una misma partícula presentaba 20 ó 21 unidades en la periferia según el ángulo de observación. Consecuentemente se deduce que el número promedio de unidades es 133,8 lo que equivale a un índice de triangulación de 13. Las unidades morfológicas del virión están representadas por 120 agujeros rodeados por seis unidades estructurales (hexámeros) y por 12 agujeros rodeados por cinco unidades (pentámeros). Además, las unidades estructurales están compuestas por tres subunidades (trímeros). Estas observaciones descartan la estructura propuesta por la mayoría de los estudios en este campo, y está de acuerdo con el modelo estructural de Roseto *et al.*, 1979, que corresponde a un icosadeltaedro oblicuo. La oblicuidad de esta estructura podría explicar el que aparezcan 20 o 21 unidades periféricas para un mismo virión de acuerdo al ángulo de observación.

M—26

Historia Natural de la Infección por Rotavirus en Niños de una Cultura Tradicional

L. Mata, A. Simhon, J. J. Urrutia & G. Vargas
INISA, U.C.R. e Instituto de Nutrición de Centroamérica y Panamá (INCAP),
Oficina Panamericana de la Salud

Este trabajo consiste en el análisis de material obtenido de 45 niños indígenas observados en su ambiente tradicional, desde el nacimiento hasta los tres años de edad. Durante un período que abarcó 5 años (1964—1969) se recabó información semanal sobre la aparición de la enfermedad diarreica, y al mismo tiempo se recolectó 5689 especímenes fecales a intervalos semanales, que fueron mantenidos en congelación durante 13 a 18 años. Las muestras fecales fueron analizadas para antígeno de rotavirus mediante un ensayo de ELISA modificado empleando reactivos de alta capacidad diagnóstica; los datos obtenidos se analizaron para establecer la historia natural de los rotavirus, su potencial patogénico y su asociación con la diarrea. Todos los niños bajo estudio se infectaron con rotavirus alguna vez durante los tres primeros años de vida, pero la infección fue rara durante el período neonatal. La mayoría de los niños tuvo más de una infección y algunos sufrieron infecciones repetidas. La prevalencia global fue de 10,6 por 100 personas—mes, equivalente a 0,8 episodios por niño. Los rotavirus manifestaron un alto potencial patogénico (alrededor de 65%), pero sólo se asociaron con el 10 por ciento de las diarreas, debido a la mayor frecuencia relativa de otros agentes etiológicos. Los rotavirus fueron endémicos durante todo el período de estudio aunque hubo una mayor incidencia en los meses de agosto a diciembre. Más de la tercera parte de todos los niños resultaron infectados con rotavirus en los meses en que ocurrieron brotes severos. La asociación de los rotavirus con otros agentes entéricos (en el 34% de los casos) y su alta transmisibilidad sugiere que la transmisión feco-oral, en condiciones de hacinamiento acentuado, es responsable de las altas tasas de diarrea en sociedades con bajo nivel socioeconómico.

M—27

Replicación de un Recombinante del Virus Influenza A (H₃N₂) en Diferentes Sistemas de Cultivo

L. Herrero, G. F. Mann & A. J. Zuckermann
INISA, U.C.R. y London School of Hygiene and Tropical Medicine, Universidad de Londres

La replicación del recombinante "Alice" del virus de influenza A (H₃ N₂) fue estudiado en huevos embrionados, cultivos primarios de embrión de pollo y en células diploides humanas (MRC-5). Se estudió la interrelación de factores como multiplicidad de infección, tiempo de recolección de los cultivos y acción de la tripsina para encontrar las condiciones óptimas para la mayor producción de virus infectante (ufp/ml) y μ g de hemaglutinina. Se determinó que a multiplicidades altas, la producción de virus fue mayor durante las primeras 24 horas, siendo los títulos similares, con o sin tripsina en el medio de cultivo. A multiplicidades bajas, los títulos más altos se detectaron 72 horas post-infección y se determinó un incremento de más de 10³ upf/ml en células MRC-5, en presencia de tripsina. En fibroblastos de pollo no hubo incremento significativo en presencia de tripsina a diferentes multiplicidades. En el sistema células MRC-5 —"Alice", se observó que la presencia de tripsina aumentó la liberación de partículas virales al medio de cultivo. En cambio, en otros sistemas no se encontró diferencia entre virus asociado a células o al medio de cultivo, en presencia o ausencia de tripsina. Utilizando las condiciones óptimas para la producción de virus en cada sistema, se encontró que el

embrión de pollo produce hasta 50 ufp/célula, en contraste con 4 ufp/célula y 0,4 ufp/célula MRC-5 y fibroblastos de pollo, respectivamente. La máxima producción de hemaglutinina se logró en cultivos incubados por 72 horas. Las células más eficientes fueron las MRC-5, seguidas de las de la membrana corialantoidea del embrión de pollo, y por último, los fibroblastos de pollo: 1 $\mu\text{gHA}/10^6$, 0,5 $\mu\text{gHA}/10^6$ y 0,06 $\mu\text{gHA}/10^6$ células, respectivamente. Estos hallazgos demuestran que el embrión de pollo es el sistema óptimo para la replicación del virus de la influenza, aunque las células MRC-5 produzcan mayor cantidad de hemaglutinina por millón de células.

M—28

Perspectivas sobre la Producción de una Vacuna de Influenza en Células Diploides Humanas

L. Herrero
INISA, U.C.R.

Las células diploides humanas son el sistema clásico para la producción de vacunas virales. Ya que la replicación del virus de influenza es limitada en células diploides, estas no han sido utilizadas para la producción de vacunas contra la gripe. Sin embargo, la tripsina adicionada al medio de cultivo durante el ciclo replicativo del virus, aumenta la infectividad obteniéndose títulos de virus más altos. Este factor sugiere la potencialidad de las células diploides como sistema para la producción de vacunas contra influenza. Con el fin de explorar esta posibilidad, se determinaron las condiciones óptimas para la mayor producción de virus infectivo (10^6 ufp/ml) y μg de hemaglutinina (1 $\mu\text{gHA}/10^6$ células) en células MRC-5 (fibroblastos de pulmón embrionario humano). Además se realizó la curva de inactivación del virus de influenza a 37°C ($0,1 \log_{10}$ /hora) para determinar el tiempo o tiempos adecuados de recolección de los cultivos para obtener resultados óptimos. Basándose en los datos obtenidos se discuten diferentes posibilidades para la producción de vacunas vivas o inactivadas en sistemas masivos de cultivos celulares.

M—29

Anticuerpos Anti-rotavirus Clase-específicos en las Heces de Lactantes y Preescolares

A. Simhon & B. Totterdell
INISA, U.C.R. y St. Thomas' Hospital & Medical School, Londres

Se estudió el desarrollo de inmunidad intestinal de tipo secretor contra rotavirus en lactantes y niños jóvenes, utilizando un ELISA clase específico para detectar anticuerpos anti-rotavirus IgA, IgM e IgG en extractos fecales, contra antígeno de rotavirus simio (SA-11). La población consistió de: a) seis niños observados prospectivamente, tres de los cuales experimentaron infección por rotavirus en el periodo neonatal y los otros tres en meses subsiguientes; y b) doce niños con diarrea aguda por rotavirus estudiados en la fase aguda y convaleciente de la enfermedad (2—4 semanas). Las respuestas inmunes fueron variadas. En el grupo observado prospectivamente, los títulos de IgA e IgG aumentaron 4 veces en 3 niños, en dos de los cuales hubo evidencia de infección repetida sin detección de antígeno de rotavirus en las heces. En general, los títulos cayeron rápidamente. Uno de los niños infectado en el periodo neonatal y luego a los 15 meses de edad no respondió inmunológicamente con producción de anticuerpos secretores en ninguna de las dos infecciones, a pesar de que se detectaron anticuerpos IgA específicos contra un antígeno de la leche de vaca. Otro de los niños infectados en el periodo neo-natal tampoco desarrolló anticuerpos secretores. En la segunda serie de niños con muestras de heces de la fase aguda y convaleciente, 7 de 12 niños tuvieron títulos que aumentaron 4 veces. En 5 de 12 niños los títulos elevados cayeron a niveles no detectables 2 a 4 semanas después de la infección. Uno de los niños desarrolló infección repetida (a los ocho y catorce meses de edad). En ambas ocasiones la IgG específica estuvo elevada, pero no así la IgA. En este paciente otros parámetros de competencia inmunológica fueron normales. Estos resultados sugieren que los rotavirus no siempre son inmunogénicos y que no siempre inducen inmunidad protectora capaz de prevenir infecciones repetidas. Se discute la posibilidad de la existencia de factores no humorales que actúen contra los rotavirus a nivel de la mucosa intestinal.

M—30

Nuevos Casos de Fiebre Manchada en Costa Rica, 1982. Algunos Comentarios sobre el Cuadro, Evolución y Diagnóstico

L. G. Fuentes
Departamento de Microbiología e Inmunología, Facultad de Microbiología, U.C.R.

En 1982 han aparecido nuevos casos de Fiebre Manchada de las Montañas Rocosas en Costa Rica. De nuevo surgen de la provincia de Limón y de una localización cercana al primer caso documentado de 1980. Los pacientes lo fueron dos adultos y de raza negra en el mes de junio, falleciendo ambos pero sólo uno de ellos tuvo diagnóstico de laboratorio. La clínica en el paciente estudiado exhibió variaciones respecto al cuadro normal.

El caso más reciente se produce en un niño de corta edad, con un cuadro severo pero con manifestaciones típicas, que logró recuperarse.

El diagnóstico de laboratorio se ha realizado detectando anticuerpos por inmunofluorescencia indirecta. Un diagnóstico muy precoz en el niño, permitió instaurar el tratamiento específico que le salvó la vida.

M—31

Estudio Seroepidemiológico de la Epidemia de Conjuntivitis Hemorrágica Aguda en Puriscal, Costa Rica

*L. Herrero, L. Mata & B. Castro
INISA, U.C.R.*

En setiembre de 1981 se supo del primer caso de conjuntivitis hemorrágica aguda en Costa Rica, en una epidemia de más de 16.000 casos notificados a la División de Epidemiología del Ministerio de Salud. Con el objeto de conocer la epidemiología de esta enfermedad en una región rural de Costa Rica, se estudiaron pacientes con conjuntivitis que visitaron la Estación del Campo del INISA en Santiago de Puriscal. Los casos fueron examinados clínicamente y se recogieron muestras de secreción oftálmica para el aislamiento viral y estudio serológico. Dos días después, cada paciente fue visitado en su hogar para estudiar la evolución de la infección y el posible contagio a sus familiares. Se estudiaron 15 familias (97 personas) y se encontraron 4,3 casos positivos por familia, con una tasa de ataque intrafamiliar de 65 por ciento. Los síntomas clínicos más frecuentes fueron dolor, fotofobia, hipermia, lagrimeo, sensación de cuerpo extraño y edema palpebral en más del 80 por ciento de los casos. El 40 por ciento presentó infección de las vías respiratorias altas y el 26,6 por ciento linfadenopatías preauriculares. Se presentó hemorragia subconjuntival en 11,1 por ciento. Se determinó que la infección ocurre por igual en ambos sexos y en todas las edades con excepción de los niños preescolares en quienes se presentó en forma leve. Los frotis y raspados de conjuntiva inoculados en células LLCMK₂ RK₁₃ y EHL no evidenciaron ningún agente citopático. El título de anticuerpos fue determinado por la técnica de neutralización con la cepa de enterovirus 70 (J 670/71). El título de los sueros agudos examinados fue menor de 2, en cambio, los sueros convalecientes presentaron títulos de 80 a 5.120. Seis meses después de haber ocurrido el primer caso en Puriscal, se analizaron 100 sueros recogidos al azar, determinándose que un 43 por ciento de la población presentaba títulos superiores a 80. Este estudio demuestra que la epidemia fue causada por el enterovirus 70 y analiza y discute sus características epidemiológicas.

QUIMICA CLINICA Y HEMATOLOGIA

QC—I

Afibrinogenemia Congénita

*J. Elizondo, F. Atmetlla & E. Vargas
Servicio de Hematología, Hospital San Juan de Dios y Departamento Análisis Clínicos, U.C.R.*

La afibrinogenemia congénita es una enfermedad muy poco frecuente (alrededor de 100 casos reportados en el mundo), transmitida en forma autosómica recesiva.

La oportunidad de estudiar el primer caso en nuestro medio, motivó esta publicación, que permite revisar la literatura disponible al respecto y señalar los procedimientos que se utilizaron para el diagnóstico, entre los cuales se incluyen la cuantificación del fibrinógeno por varios métodos (precipitación, trombina, electroforesis e inmunolectroforesis), así como demostrar la corrección de sus pruebas de coagulación al agregarle a su plasma *in vitro* una solución de 250 mg/dl de fibrinógeno purificado.

La paciente fue operada exitosamente de un sangrado intraabdominal severo por hemorragia — intersticial del ovario izquierdo. Se señala la presencia de menometrorragias y de desarrollo por este mecanismo de anemia severa.

QC—2

Evaluación del Método Directo de Colesterol Sérico

*K. Schosinsky, R. Rosales & M. Chavarría
Departamento Análisis Clínicos, Facultad de Microbiología, U.C.R.*

El método directo de colesterol sérico es utilizado en la mayoría de nuestros laboratorios clínicos. Con este estudio se obtienen las condiciones óptimas para su determinación. El colesterol en 50 μ l de suero se determina colorimétricamente mediante el uso de 3 ml del reactivo de Liebermann-Burchard modificado. La absorbancia del producto coloreado se mide a los 8-10 minutos después de haber adicionado el reactivo, siendo lineal hasta una concentración de 500 mg/dl. La longitud de onda óptima para la lectura es de 615 a 620 nm. La precisión en un mismo día (coeficiente de variación) es de 2,58 por ciento para un suero que contiene una concentración de 200 mg/dl de colesterol. La precisión día a día por un período de 30 días (20 determinaciones) para concentraciones de colesterol bajas, normales y aumentadas es de 3,4 por ciento (promedio 103 mg/dl), 3,6 por ciento (pro-

medio 219 mg/dl y 2,9 por ciento (promedio 351 mg/dl) respectivamente. La hemoglobina (400 mg/dl) y proteínas (11 g/dl), no interfieren significativamente, la bilirrubina interfiere en 5 mg/dl por cada mg por ciento de bilirrubina. El estudio comparativo con un método de extracción mostró un coeficiente de correlación de 0,96 con una pendiente de 0,89 y un intercepto de 20,9 mg/dl en 137 muestras con un rango de concentración de 110 a 360 mg/dl. La estabilidad del reactivo es aproximadamente 10 meses en botella ámbar en refrigeración. Se evalúa el procedimiento utilizando 1,5 a 3,0 por ciento de agua destilada, no encontrándose variaciones significativas en los resultados.

QC—3

Estudio Comparativo de Tres Procedimientos para la Determinación de Colesterol Sérico

*O. Cordero, J. Mora & J. Caliva
Laboratorio Clínico, Hospital San Juan de Dios.*

Se correlacionaron tres diferentes procedimientos para cuantificar colesterol total en suero, a) Ferro y Ham, b) enzimático de la casa Wiener, c) enzimático de la casa Pierce, con los siguientes resultados a) Ferro Ham vs. Pierce, $r = 0,7326$, b) Ferro Ham vs. Wiener, $r = 0,964$, c) Pierce vs. Wiener, $r = 0,79$.

El procedimiento de Ferro y Ham sigue la ley de Beer y Lambert hasta 400 mg/dl; los enzimáticos la siguen hasta 500 mg/dl.

El máximo de absorbancia para el procedimiento de Ferro y Ham, muestra un pico de los 620 nm. Los procedimientos enzimáticos muestran un pico a los 510 nm.

En el procedimiento de Ferro y Ham se determinó el desarrollo de color contra tiempo en minutos recomendamos como tiempo adecuado siete minutos, para leer el punto final. El procedimiento de Ferro y Ham dio los siguientes coeficientes de variación: valores bajos = 3,5 por ciento, valores intermedios = 5,3 por ciento, valores altos = 8,4 por ciento.

El procedimiento de Ferro y Ham mostró los siguientes resultados en las pruebas de recuperación: valores intermedios = 97 por ciento, valores altos = 90 por ciento.

QC—4

Cuantificación de Calcio sérico por O—Cresolftaleína Complexona

*K. Schosinsky, M. Vargas & M. Chavarría
Departamento Análisis Clínicos, Facultad de Microbiología, U.C.R*

La determinación de calcio en nuestro medio representa un verdadero problema por cuanto la mayoría de las técnicas empleadas son tediosas y/o imprecisas e inexactas. Describimos a continuación un método sencillo, preciso y exacto, basado en la reacción directa del calcio con la O-cresolftaleína complexona para producir un complejo color púrpura a pH 10-12.

La técnica consiste en agregar 50 μ l de muestra a 2,5 ml de reactivo de color y leer la absorbancia a 575 nm en un período de 30 segundos. El uso de un blanco interno obvia el problema de contaminación por calcio en la cristalería y el uso de un blanco de muestra corrige errores por turbiedad y pigmentos presentes en la misma. Las lecturas de absorbancia disminuyen con la temperatura, por lo que se recomienda introducir un patrón por cada seis muestras y evitar variaciones producidas por el calentamiento del espectrofotómetro.

El método presenta linealidad hasta 20 mg/100 ml de calcio. La recuperación promedio obtenida fue de 100,4 por ciento en un rango de 99,2 por ciento a 103,0 por ciento. Las siguientes sustancias prácticamente no producen interferencia: bilirrubina (20 mg/100 ml), magnesio (20 mg/100 ml), hemoglobina (500 mg/100 ml), hierro (600 μ g/100 ml) y fósforo (11 mg/100 ml).

El coeficiente de variación fue de 1,7 por ciento, 1,0 por ciento y 1,5 por ciento para precisión día a día, en muestras con valores bajos (6 mg/100 ml) normales (9,5 mg/100 ml) y altos (140 mg/100 ml) respectivamente.

Los valores normales de calcio obtenidos para una población de adultos (100) fueron de 8,2-9,7 ($X = 9,0$) mg/100 ml.

La mezcla del reactivo de color es estable por un máximo de ocho horas, no obstante los reactivos individuales son estables aún 6 meses después de su preparación.

QC—5

Importancia de la Determinación de Hidroxiprolina Urinaria en Algunas Osteopatías

*M. Hernández & L. Morales
Laboratorio Clínico, Hospital México*

La hidroxiprolina (HPR) es un amino ácido no esencial, que se sintetiza a partir de la prolina en el colágeno, constituyendo un 13 por ciento del contenido total de amino ácido de dicho tejido. Puesto que la HPR forma las 2/3 partes de la matriz ósea, su eliminación es un excelente índice del metabolismo óseo.

Se analizaron 130 muestras de orina de 24 horas de pacientes que presentaban alteración del metabolismo óseo como hiperparatiroidismo, acromegalia y metástasis ósea de algunos carcinomas.

Para la determinación de HPR urinaria se utilizó el método de Prockop y Udenfried modificado por Hernández y Solano.

Los resultados obtenidos se expresaron como la relación HPR/creatinina con un valor normal para hombres de 1,3—3,1 y para mujeres 0,9—2,4.

Los pacientes con hiperparatiroidismo mostraron los índices más elevados con un rango de 4,2—37,7 y los casos de acromegalia oscilaron entre 2,8—8,8.

Los pacientes con carcinoma de mama con metástasis ósea, presentaron índices marcadamente más elevados (3,3—12,5), que aquellos casos en que radiológicamente no se logró detectar la metástasis (2,4—3,9). Los pacientes con carcinoma de próstata presentaron índices de 2,1 a 4,9.

Con base en los resultados obtenidos, la determinación de HPR es de gran importancia para el diagnóstico y seguimiento de aquellas entidades clínicas que cursan con osteopatías.

QC—6

Estudio Enzimático en Hígado de Ratas con Ingesta Crónica de Alcohol

J. Solano, M. Zigarán & G. Zúñiga

Laboratorio Clínico y Laboratorio de Anatomía Patológica, Hospital México

Se lleva a cabo un estudio enzimático en 15 ratas "Wistar", que son alimentadas durante 19 meses con ingesta alcohólica al 20 por ciento de aguardiente de caña, y concentrado "Purina" reforzado con un suplemento vitamínico; la forma de la ingesta es "ad libitum". Paralelamente se estudiaron también 15 ratas control con la misma alimentación pero sin alcohol.

Al final del período, se sacrifican bajo anestesia con éter, y se toma una muestra de sangre de la vena suprahepática y una biopsia de hígado. En el suero se estudian las siguientes enzimas: aspartato amino transferasa (TSGO), alanina amino transferasa (TSGP), gama glutamil transpeptidasa (g—GT), dehidrogenasa láctica (DHL), y fosfatasa alcalina (FA).

El aumento de estas fue: TSGO 75 por ciento (9/12), TSGP 50 por ciento (6/12), g—GT 25 por ciento (3/12), DHL 75 por ciento (9/12); la FA no presentó valores aumentados. En el estudio histológico no se logró demostrar hepatopatías crónicas de fondo como cirrosis, solamente una presentó esteatosis grado II.

Del total de 15 ratas con ingesta alcohólica, 3 murieron en el transcurso del estudio por bronconeumonía.

QC—7

Importancia de la Determinación de Litio en Sangre

M. Hidalgo

Laboratorio Clínico, Hospital Nacional Psiquiátrico

El carbonato de litio se usa en nuestro país como medicamento psiquiátrico efectivo en el tratamiento de estados maniaco depresivos y otros desórdenes afectivos.

La determinación del litio sanguíneo es muy importante ya que normalmente el cuerpo humano contiene una cantidad prácticamente indetectable, por lo que el hecho de encontrarlo responde a la introducción terapéutica de este medicamento.

La cantidad de litio hay que controlarla con exactitud ya que un valor elevado es indicativo de una posible intoxicación en el paciente que puede llegar hasta el extremo de poner en peligro su vida.

En este trabajo exponemos el método que se emplea para su determinación; los rangos de valores que más frecuentemente se encuentran; además se hará una revisión bibliográfica sobre alteraciones sanguíneas tanto de tipo bioquímico como hematológico que se han reportado en pacientes tratados con este medicamento.

QC—8

Cuantificación de Albúmina en Orina con Azul Bromofenol

K Schosinsky, M. Vargas & M. Chavarría

Departamento Análisis Clínicos, Facultad de Microbiología, U.C.R.

El análisis de la excreción de proteínas urinarias es fundamental en la evaluación clínica de los pacientes con enfermedad renal. Por ser poco satisfactorios los métodos propuestos para el análisis rutinario de proteínas en orina, nos dedicamos al desarrollo de una nueva técnica rápida, fácil, exacta y de bajo costo. Este método además tiene la ventaja de cuantificar fundamentalmente albúmina, la cual tiene mayor significado clínico que las proteínas totales en la evaluación de disfunción glomerular. El método se basa en el error proteico de los indicadores, utilizando azul de bromofenol a pH₃ como reactivo de color.

La técnica consiste en agregar 100 μ l de muestra a 3 ml de reactivo de color y leer la absorbancia a 610 nm contra blanco de reactivos a los 30 segundos exactos. El reactivo de color es estable indefinidamente a temperatura ambiente en botella ámbar. La albúmina reacciona inmediatamente con el azul de bromofenol produciendo un color verde azulado, estable por varias horas. Las globulinas no reaccionan de inmediato, por lo que las lecturas se efectúan a los 30 segundos con el propósito de disminuir la interferencia que producen.

El método es lineal hasta 500 mg/100 ml de albúmina. La recuperación promedio obtenida fue de 105 por ciento. Ácido úrico (50 mg/100 ml) calcio (27 mg/100 ml), creatinina (150 mg/100 ml), cloruro de sodio (200 mmol/l) y bilirrubina (17 mg/100 ml) no interfieren significativamente. El coeficiente de variación fue 4,8 por ciento, 1,5 por ciento y 0,9 por ciento para precisión en un mismo día y 11,2 por ciento, 2,0 por ciento y 1,9 por ciento para precisión día a día, en muestras con valores

aproximados de 10, 100 y 600 mg/100 ml respectivamente. El estudio comparativo de 64 muestras con un método inmunológico (difusión radial) mostró los siguientes resultados: coeficiente de correlación (r) 0,99, pendiente (m) 0,98 e intercepto (b) 9,6 mg/100 ml; para un rango de concentración de 50—700 mg/100 ml.

QC—9

Evaluación de las Intoxicaciones Fatales con Paraquat en Costa Rica

R. Blanco & J. Ortega

*Sección de Investigaciones Toxicológicas del Organismo de Investigación Judicial,
Corte Suprema de Justicia, San José*

Se hizo una revisión de los casos de envenenamiento con Paraquat (1,1—dimetil—4,4—dipiridilo dicloruro) demostrados por el Laboratorio de Ciencias Forenses en los últimos cinco años. Se encontró que el 96 por ciento de los casos ocurrieron en zonas rurales, de intensa actividad agrícola. El número de casos aumenta año con año, y el 40 por ciento de los mismos corresponden a individuos de 21 a 30 años. El mayor número de casos se da en los meses coincidentes con la época de fumigación. Se discuten los resultados a la luz de la alta toxicidad del compuesto y su elevado riesgo de exposición. Se comentan las regulaciones existentes para la aplicación del producto y se comparan con las de otros países.

QC—10

Evaluación de Procedimientos Cinéticos para la Determinación de la Enzima Deshidrogenasa Láctica (DHL)

R. A. Miguel & P. Salas

Facultad de Microbiología, U.C.R.

Se presenta la aplicación de un método cinético para la determinación de la deshidrogenasa láctica (DHL) por la vía de lactato a piruvato, con dos tipos de soluciones tampón: Tri-hidroximetilaminometano (Tris) y Dietanolamina (DEA), a 30°C y 37°C. Sueros de actividad normal con solución tampón de Tris, (30° y 37°C), son lineales a partir del primer minuto. En sueros de actividad normal en solución tampón de DEA (30°C) son lineales a partir del segundo minuto. Sueros con actividad elevada (37°C) en solución tampón de Tris, mostraron linealidad entre los treinta segundos y dos minutos treinta segundos. Con DEA se mantiene dicha linealidad entre el primer y tercer minuto. A 30°C los sueros con actividad elevada y utilizando solución tampón de Tris, mantiene linealidad después de un minuto y quince segundos y hasta por tres minutos. En las pruebas de recuperación se obtuvo 100,5 por ciento utilizándose hemolizados como fuente de enzima y en ambas soluciones tampón. El análisis comparativo de valores obtenidos a 30° y 37°C con solución tampón de DEA mostró un coeficiente de correlación de 0,9942, pendiente 0,58 e intercepto de -5,28. Con solución tampón de Tris un coeficiente de correlación de 0,9984, pendiente de 0,66 e intercepto de -8,95. En el estudio comparativo de valores con las dos soluciones tampón a 30°C, el coeficiente de correlación fue de 0,9811, pendiente 0,98 e intercepto de -8,69. A 37°C el coeficiente de correlación fue de 0,9799, pendiente 1,04 e intercepto de -24,58. En el estudio de precisión en un mismo día a 30°C con solución tampón de DEA se obtuvo un coeficiente de variación de 4 por ciento con una desviación estándar de 3,1, mientras que con Tris el coeficiente de variación fue de 4,34 por ciento con una desviación estándar del 3,3. A 37°C con solución tampón de DEA, el coeficiente de variación fue del 3 por ciento con una desviación estándar de 3,7; con Tris el coeficiente de variación fue de 2,46, y la desviación estándar de 3,0.

OC-II

Análisis de 437 Cálculos Renales por el Método de Espectrofotometría de Infrarrojos

J. Solano & P. Ramírez

Laboratorio Clínico, Hospital México

Se analizaron 437 cálculos de pacientes provenientes de la consulta de Urología del Hospital México, así como de otros Centros Hospitalarios. Se llevó a cabo este trabajo en los años comprendidos de 1979 a 1981. El método utilizado fue por espectrofotometría de rayos infrarrojos, del total de análisis 357 casos fueron del sexo masculino con un promedio de edad de 41 años, para un porcentaje de 81,69 por ciento; del sexo femenino se encontraron 80 casos, con promedio de edad de 36 años, para un porcentaje de 18,31 por ciento.

La composición química de los cálculos fue: Oxalato de calcio 62,92 por ciento, oxalato y fosfato de calcio 17,85 por ciento, ácido úrico 9,38 por ciento, fosfato amónico magnésico 4,81 por ciento, fosfato de calcio 4,35 por ciento, otros de constitución mixta como masa central de oxalato de calcio y corteza de ácido úrico, 0,46 por ciento.

Se encontró mayor incidencia de cálculos de ácido úrico en el hombre que en la mujer, los tres grupos de fosfatos fueron más frecuentes en las mujeres. Las décadas de más alta incidencia fue de la tercera a la quinta, independiente del sexo. La metodología por rayos infrarrojos es mejor que la del análisis químico, sobre todo para análisis de cálculos con oxalato.

102

Método Espectrofotométrico de Determinación de Halotano en Sangre

R. Blanco & J. Ortega

Sección de Investigaciones Toxicológicas del Organismo de Investigación Judicial, Corte Suprema de Justicia, San José

Se presenta un método, basado en la reacción de Fujiwara para el cloroformo, mediante el cual el Halotano (1,1,1 —trifluoro-2-bromo-2-cloroetano) se convierte en un compuesto de estructura desconocida que absorbe a 390 nm, por reacción con piridina en medio alcalino. El método permite la determinación con precisión de cantidades de Halotano en sangre superiores a 5 mg/dl. El procedimiento es adecuado para muestras de morgue o en aquellos casos en los que no se requiera un resultado con prontitud.

Enfermedad de Wilson: Diagnóstico de Laboratorio

K. Schosinsky, A. L. Esquivel, S. Grant & M. Chavarría

Departamento de Análisis Clínicos Facultad de Microbiología, U.C.R. y Hospital Tony Facio

Se analizan 61 casos de enfermedad de Wilson con edades comprendidas entre 7 y 39 años atendidos en diferentes hospitales del país. Se incluye también un caso de 5 meses de edad. En la casuística estudiada 35 fueron varones y 26 mujeres. Veintidós de los casos se encontraron por estudios familiares siendo la mayoría de ellos asintomáticos. Trece pacientes fallecieron con edades entre 10 y 39 años. El 57 por ciento de los pacientes presentaron anillo de Kayser-Fleisher. Todos los pacientes mostraron niveles bajos de ceruloplasmina, niveles elevados de cobre urinario y niveles bajos de cobre sérico a excepción de 7 que mostraron niveles elevados de cobre sérico, falleciendo 6 de ellos. El paciente de 5 meses de edad presentó niveles normales de cobre urinario. De los 61 casos estudiados 6 presentaron niveles elevados de bilirrubina total de los cuales fallecieron 4 que mostraron valores de aproximadamente 41 mg/dl con aumento de la bilirrubina directa e indirecta. Los tiempos de protrombina fueron anormales en 43 pacientes (71%) con valores menores del 80 por ciento de actividad. Nueve pacientes mostraron proteínas totales alteradas, 7 con valores menores de 6 g/dl y 2 con valores mayores de 8 g/dl. De 37 pacientes a quienes se les analizó fosfatasa alcalina 12, (32%) mostraron niveles elevados. Elevaciones de transaminasas fueron mínimas. A todos los pacientes con enfermedad de Wilson que se les cuantificó Cu hepático en biopsia o autopsia mostraron niveles elevados. Los valores de referencia obtenidos para cobre en orina fue de 0 — 67 microgramos/dl, cobre sérico de 57 — 169 microgramos/dl, cobre hepático de 1 — 10 mg/100 g de tejido seco y ceruloplasmina sérica de 53 181 U/l. Se hará una breve discusión del metabolismo de cobre con el objeto de aclarar los aspectos bioquímicos de la enfermedad de Wilson.

JORNADAS DE PATOLOGIA CLINICA “Dr. Rodrigo Zeledón”

Problemas Diagnósticos en Síndromes de Esferocitosis

G. F. Sáenz & M. Chaves

CIHATA y Cátedra de Hematología, Facultad de Microbiología, U.C.R.

Para el estudio de cuadros de esferocitosis (no inmunológicos) se propone la marcha analítica siguiente: sangre obtenida con EDTA estéril o con heparina, venosa o en capilares heparinizados. F.O de escrutinio inicial con una concentración de NaCl tamponizado de 0,50 y 0,55 por ciento. F.O. postincubación con base en sangre previamente dispensada en capilares heparinizados o con EDTA, en concentraciones de 0,60, 0,65 y 0,70 por ciento de NaCl. Prueba de la lisis del glicerol. Prueba modificada de la autohemólisis. Todo ello sumado a un hemoglohinograma completo que incluye estudios electroforéticos. En el síndrome esferocíticos complicados (más Hb S; más talasemia) la marcha analítica permite destacar la índole del fenómeno anormal de membrana propio de la esferocitosis, así como de otros desórdenes hemoglobínicos concomitantes.

Isoenzimas DHL en el Tamisaje de Donadores de Banco de Sangre

E. Brilla, C. Visona, E. Zamora & A. Sittenfeld

*Departamento de Análisis Clínicos, Facultad de Microbiología, U.C.R.
y Louisiana State University, International Center for Medical Research and Training,
San José, Costa Rica*

El isoenzimograma de la deshidrogenasa láctica (DHL) comprende el análisis de fracciones enzimáticas distribuidas en diversos tejidos, cuya hiperactividad sérica por zonas, se relaciona clásicamente con patologías de corazón, eritrocito, hígado, músculo y misceláneos.

En el estudio de 3750 muestras de suero obtenidas de donadores de bancos de sangre del área metropolitana, se concluye que el isoenzimograma DHL es un valioso recurso que de instalarse como técnica rutinaria, determinaría una importante protección al receptor y donador. El perfil analizado comprendió, además del estudio convencional para donadores, antígenos carcinoembrionarios y alfa fetoproteínas. La facilidad y bajo costo de la técnica propuesta para isoenzimas, hacen del procedimiento un recurso de elección de promisoría importancia médica.

Marcadores Citoquímicos en Leucemia Aguda

G. Arroyo, G. F. Sáenz & E. Valenciano

*Cátedra de Hematología, Departamento de Análisis Clínicos;
Facultad de Microbiología, U.C.R. y Hospital San Juan de Dios*

En base a criterios estrictamente morfológicos la leucemia aguda (LA) se ha clasificado en dos grandes grupos: linfoblásticas (LAL) y mieloblásticas (LAM) o no linfoblásticas. El grupo cooperativo de trabajo FAB propuso una clasificación basándose en hallazgos morfológicos y citoquímicos, estableciendo una serie de subgrupos: L₁, L₂ y L₃ para las LLA, y M₀, M₁, M₂, M₃, M₄, M₅ y M₆ para las LMA. Para el estudio de las leucemias agudas se recomiendan como útiles las siguientes técnicas citoquímicas que los autores han probado: mieloperoxidasas, Sudán negro B, esterasas específicas (NASDCAE) y no específicas (a NAE y NASDAE), fosfatasa ácida, PAS y O.R.O. Los hallazgos citoquímicos en los diferentes tipos de leucemias agudas son los siguientes: LLA (L₁, L₂, L₃), mieloperoxidasas y Sudán negro negativos; MASDCAE negativo; NASDAE ligeramente positiva a negativa; a NAE en medio ácido y a NBE presentan positividad con grumo grueso unipolar (linfocitos T); fosfatasa ácida positiva con gránulo polar centrosómico (linfocitos T); PAS positividad con gránulos finos (L₂) y gránulos gruesos o concreciones (mazacotes) (L₁). Negatividad en L₃; ORO positivo en L₃ (blastos tipo Bürkitt). LMA (M₀): mieloperoxidasas y Sudán negro B positivas; NASDCAE positiva, en raros casos negativa; NASDAE positividad discreta, la cual persiste después de incubación con fluoruro sódico, M₂: mieloperoxidasas, Sudán negro B, NASDCAE y NASDAE con mayor positividad que en M₀; NASDAE persiste después de incubación con fluoruro sódico. M₃: fuerte positividad con mieloperoxidasas, Sudán negro B y NASDCAE; PAS con positividad difusa. M₄: mieloperoxidasas, Sudán negro B y PAS con positividad variable con gránulos distribuidos discretamente en el citoplasma. En nuestra experiencia a NAE es mejor que NASDAE para calificar componente monocítico; a NAE y NASDAE dan inhibición parcial después de incubación con fluoruro sódico; NASDCAE, positiva en la línea granulocítica. El empleo de ambas reacciones es de utilidad en el diagnóstico de esta variedad M₄. M₅: mieloperoxidasas pueden ser negativas o positivas. Sudán negro B siempre positivo en nuestra experiencia y PAS de reacción difusa. Estos tres dan granulación esparcida citoplasmáticamente; a NAE fuertemente positiva que se inhibe totalmente o a escasos gránulos con fluoruro sódico. NASDAE, en nuestra experiencia con menos positividad que a NAE; NASDCAE negativa. M₆: mieloperoxidasas y Sudán negro B positivas en mieloblastos. PAS y a NAE positivas en eritroblastos tardíos y en sus precursores. M₀: mieloperoxidasas, Sudán negro B, PAS y esterasas específicas y no específicas, negativas.

Métodos Analíticos para la Determinación de Mucopolisacáridos en Orina

R. Trejos

Laboratorio de Investigación de Bioquímica, Hospital Nacional de Niños "Dr. Carlos Sáenz Herrera"

Los mucopolisacáridos (M.P.S.) son heteropolisacáridos constituyentes muy importantes del tejido conectivo, entre ellos podemos citar los chondroitines, el keratán, el heparán, el dermatán y el ácido hialurónico.

Existen desórdenes genéticos en la degradación de los M.P.S., que ocasionan gran almacenamiento de los mismos en los tejidos.

En la mayoría de las mucopolisacaridosis la cantidad de M.P.S. en orina está muy aumentada.

El objeto de este trabajo es evaluar las diferentes técnicas utilizadas para analizar M.P.S. en la orina:

1. Pruebas cualitativas en papel filtro (azul de toluidina, azul alcian, azul A).
2. Pruebas semi-cuantitativas y cuantitativas (albúmina ácida, compuestos de amonio cuaternario, carbazol y azul alcian).

3. Pruebas de identificación de diferentes mucopolisacáridos (cromatografía de capa fina y electroforesis en acetato de celulosa). Además se comenta la utilización de metodología con enzimas específicas.

JPC-5

Haptoglobinas Séricas por un Método de Peroxidación

M. Chaves & G. F. Sáenz

CIHATA y Cátedra de Hematología, Facultad de Microbiología, U.C.R.

Con el deseo de preconizar un método sencillo y de bajo costo para cuantificar haptoglobinas séricas, se tomó de referencia el de la peroxidación de Owen *et al.*, estableciéndose una serie de experimentos que lo hacen más práctico para su uso rutinario en cualquier laboratorio. Dentro de las principales modificaciones introducidas se encuentran la mayor estabilidad de los reactivos, el uso de un estándar primario de CNMHb, la corrección de los valores encontrados cuando se procesan muestras con clara evidencia de hemólisis espuria, el carácter de micrométodo y una estandarización sencilla que permite el uso de la curva de calibración hasta por un mes luego de establecida.

JPC—6

Evaluación de la Función Gástrica Mediante el Análisis de Cloruros

K. Schosinsky & E. Vieto

*Departamento de Análisis Clínicos, Facultad de Microbiología, U.C.R.
y Banco Nacional de Sangre, CCSS*

La cuantificación de HCl en jugo gástrico constituye el examen de laboratorio más utilizado para el diagnóstico y evaluación terapéutica de diversas patologías relacionadas con la secreción gástrica. Este análisis evalúa la función secretora de las células parietales.

La estimación de la concentración de HCl con los métodos tradicionales de titulación diferencial con indicadores y la titulación potenciométrica al punto final es incorrecta debido a que sustancias tampón (ácidos o bases débiles y sus sales) modifican el resultado final.

Basándonos en que la concentración de ión Cl^- presente en jugo gástrico proviene de la disociación del HCl proponemos la determinación de cloruros totales como el sistema más fidedigno para evaluar la secreción de HCl. Para determinar la concentración de ácido clorhídrico en jugo gástrico mediante el análisis de cloruros totales se utilizó el método de difusión radial de Schosinsky.

El estudio comparativo entre el método convencional por titulación y el de cloruros totales muestra los siguientes resultados antes del estímulo: $n = 103$, coeficiente de correlación (r) = 0,91, pendiente (m) = 1,17 e intercepto (b) = 3,9 mmol/l.

Se incluye además una discusión de los datos encontrados por ambos métodos en diferentes patologías.

JPC—7

Diagnóstico de Laboratorio de las Colagenopatías

J. Fonseca

Laboratorio de Investigación, Hospital México

El término "enfermedad de la colágeno" fue introducido por Klemper, Pollack y Baecher, en 1942 quienes reunieron un grupo de enfermedades, que tenían un sustrato común, el cual consiste en una degeneración fibrinoide a nivel de las fibras colágenas.

El acelerado desarrollo en el campo de la inmunología ha permitido en los últimos años con sus nuevos métodos y técnicas, hacer una correlación entre los aspectos clínicos de las colagenopatías y las alteraciones inmunológicas presentes.

Estas alteraciones pueden ser tanto de la inmunidad celular, con base en linfocitos T, la inmunidad humoral con base en linfocitos B, o de ambos.

Los estudios inmunológicos más empleados en el estudio de las colagenopatías son:

1. Factor antinúcleo
2. Factor reumatoide: Singer Plotz, Waller Rose
3. Determinación de inmunoglobulinas
4. Determinación de complemento sérico C'3 y C'4
5. Anticuerpos Anti-DNA (cadena simple)
6. Anticuerpos Anti-DNA (doble cadena)
7. Inmunofluorescencia de biopsia de tejidos
8. Formación de rosetas E.
9. Formación de rosetas EAC.

JPC—8

Utilidad de la Determinación de Protoporfirina Eritrocítica Unida a Zinc (ZnPE) en el Diagnóstico de la Intoxicación por Plomo (Pb) y la Deficiencia de Hierro (Fe)

M. de los A. Alvarado

Cátedra de Hematología Departamento de Análisis Clínicos Facultad de Microbiología, U.C.R.

La elevación de la protoporfirina eritrocítica unida a Zinc (ZnPE) es un indicador sensible de alteración en la síntesis del hem. El primer efecto adverso detectable de la intoxicación por Pb es la alteración en la síntesis de la hemoglobina. En este caso, la ZnPE se acumula en los eritrocitos debido a que el Pb interfiere en varios pasos enzimáticos en la biosíntesis del hem. En la deficiencia de hierro, la acumulación de la protoporfirina dentro del eritrocito se debe a que la carencia de este metal disminuye el grado de síntesis del hem. En ambos casos, la protoporfirina IX se une al Zinc, lo que origina un compuesto fluorescente. Se ha encontrado una clara correlación entre los niveles de Pb sanguíneo y la fluorescencia de la ZnPE.

Las determinaciones de ZnPE son simples, rápidas y más baratas que las de Pb, por lo que pueden emplearse en programas de tamizaje para intoxicación por plomo y deficiencia de hierro.

JPC—9

Diagnóstico Presuntivo y de Certeza de Variantes de la G6FD—Eritrocítica

M. Chaves & G. F. Sáenz

CIHATA y Cátedra de Hematología Facultad de Microbiología, U.C.R.

Las enfermedades hemolíticas congénitas no esferocíticas (EHNEC) constituyen un grupo de desórdenes bioquímicos, clínicamente muy heterogéneos. Este grupo se diferencia de la esferocitosis en que tienen una F.O. normal y usualmente no tiene éxito la esplenectomía. Un gran número de deficiencias enzimáticas han sido asociadas a EHNEC, pero las más importantes son la deficiencia de Glucosa 6 fosfato deshidrogenasa y la piruvato quinasa.

El propósito del trabajo analítico es dar a conocer la metodología que sigue el CIHATA para el estudio y caracterización de las variantes de G6ED y PK.

Entre los parámetros utilizados luego de establecido el diagnóstico de la deficiencia, son: 1- pruebas de escrutinio (cianuro-ascorbato, manchas fluorescentes); 2 electroforesis en almidón pH 8,6 y pH 7,0 (Tris—EDTA—Borato, Fosfatos, etc.); 3 electroforesis acetato celulosa pH 8,6; 4 -determinación de actividad enzimática; 5- curva de pH óptimo; 6- determinación Km para diferentes sustratos (Glucosa 6 fosfato, NADP, fosfoenolpiruvato, 2 deoxi Glucosa, etc); 7- estabilidad térmica, 8- elución en resinas de intercambio iónico; 9pruebas inmunológicas; 10- clínica del paciente. Con dicha metodología y el apoyo del Instituto de Hematología de La Habana, Cuba, y del laboratorio de genética bioquímica del City Hope, NMC, California, se ha caracterizado una variante nueva (GdB Costa Rica) y se encuentran en su fase de caracterización otras dos posibles mutantes.

JPC—10

Coagulación Sanguínea en Pacientes Preeclámpticas

F. Atmetlla, M. de los A. Alvarado, C. L. Guerrero & F. Rodríguez

Cátedra de Hematología, Departamento de Análisis Clínicos, U.C.R. y Sección

Hematología, Hospital San Juan de Dios

Se diseñó un esquema de coagulación sencillo y práctico para demostrar que existen diferencias significativas en el mecanismo hemostático de las pacientes preeclámpticas con relación al de las embarazadas normales. Las pruebas más útiles para demostrar lo anterior fueron los PDF_s, el conteo de plaquetas, los PDF₀ y el fibrinógeno. Se recomienda practicar las cuatro mencionadas anteriormente ya que ninguna de ellas resultó alterada en todos los casos. Se encontró una buena correlación entre la información clínica y los resultados de las pruebas de coagulación recomendadas. Así las pacientes con las pruebas mas alteradas presentaron, con mayor frecuencia, inminencia de eclampsia, muerte fetal o necesitaron una pronta inducción del parto.

JPC—11

Métodos de Estudio para Valorar Hipercoagulabilidad

A. Barrantes

Laboratorio de Investigación Clínica, Hospital México

La hipercoagulabilidad es un concepto hipotético que implica cambios protrombóticos que pueden ser observados en la sangre; estos cambios son patogenéticamente importantes para el desarrollo de la trombosis o pueden ser usados para predecirla.

Un problema fundamental en la investigación científica en estos estados, es la dificultad de un diagnóstico preciso de trombosis ante mortem. La medida de la función de la hemostasia en pacientes con trombosis aparente debe ser interpretada en el entendido de que la trombosis no ha ocurrido; y la medida de control en una población normal puede incluir sujetos con trombosis no sospechada.

Los métodos de estudio más corrientes incluyen: a) estudio de plaquetas: tasa de recambio, retención plaquetaria, agregados plaquetarios, tiempo de sangrado, beta trombo-globulina; b) estudios de coagulación: cuantificación de inhibidores fisiológicos; c) estudios de fibrinógeno: fibrinopéptido A, complejos de fibrinógeno y monómeros de fibrina.

JPC— 12

Anotaciones sobre Experiencia Adquirida con Método de Creatinina en Columna de Intercambio Iónico

A. Apéstegui

*Laboratorio de Investigación de Bioquímica, Hospital Nacional de Niños
"Dr. Carlos Sáenz Herrera"*

Se describe una técnica para creatinina que incluye fraccionamiento por medio de resinas intercambiadoras de iones. El método ofrece la ventaja de eliminar interferencias debidas a cromógenos y otras sustancias que reaccionan con el reactivo de Jaffé.

Se hace énfasis en la importancia clínica de la determinación y las ventajas de eliminar interferentes, así como también comparación del método con otras variantes de la reacción de Jaffé.

JPC—13

Diagnóstico Diferencial de Meningitis Mediante Determinación de Lisozima en L.C.R.

A. Apéstegui, R. Trejos, I. Faingezicht, J. Guevara, L. González & A. Blanco

*Laboratorio de Investigación de Bioquímica, Servicio de Infecciosos y Laboratorio Clínico,
Hospital Nacional de Niños "Dr. Carlos Sáenz Herrera"*

Este trabajo se llevó a cabo con el objeto de establecer la utilidad de la determinación de lisozima (muramidasa) en L.C.R, para el diagnóstico diferencial de meningitis bacteriana y aséptica.

Se estudiaron 74 L.C.R. de pacientes internados en el Servicio de Infecciosos del Hospital Nacional de Niños "Dr. Carlos Sáenz Herrera", con diagnóstico de meningitis de diversa etiología.

Los resultados muestran una gran selectividad diagnostica en meningitis bacterianas con respecto a meningitis de probable etiología viral y con respecto a los normales.

Se sugiere la utilización rutinaria de esta determinación en sospecha de meningitis bacteriana dado lo económico y rápido del método, así como la baja cantidad de falsos positivos encontrados.

JPC—14

Estudio de Sensibilidad Materno-Fetal por el Sistema Rh -Hr

O. Agüero, L. Carboni, E. Fernández & A. Solórzano

*Banco de Sangre, Laboratorio Clínico Hospital San Juan de Dios y Banco de Sangre,
Laboratorio Clínico Hospital México*

Se estudiaron 1.599 muestras de mujeres embarazadas Rho negativo y 11 Rho positivo, para investigar la sensibilización a los antígenos Rh-Hr; también se incluyeron los recién nacidos de las madres con problema.

La frecuencia y especificidad más alta se encontró para el anticuerpo Rho (D) y en menor grado para otros factores del sistema.

El tratamiento más frecuente fue el de luminoterapia y, en segundo lugar, la exanguinotransfusión. Sin embargo, no hubo una correlación entre los títulos altos y un mayor número de exanguinotransfusiones en el recién nacido.

En tres de los casos el grado de sensibilización causó un cuadro clínico severo con muerte intrauterina.

El desarrollo de sensibilización en la madre se presentó con frecuencias más altas a mayor número de embarazos.

JPC—15

Importancia de la Ferritina Sérica en el Diagnóstico de Anemias Infantiles

L. A. Mora, R. Jiménez & M. A. Alvarado

*Laboratorio de Investigación de Hematología, Hospital Nacional de Niños
"Dr. Carlos Sáenz Herrera" y U.C.R.*

La ferritina (Ft) es una proteína de alto peso molecular que funciona primordialmente como sitio de almacenamiento de hierro. Se puede encontrar casi en todos los tejidos sólidos del organismo, principalmente en el citoplasma de células hepáticas y reticuloendoteliales. Su concentración sérica está directamente relacionada con los depósitos de hierro, de donde se deriva la importancia clínica que tiene su medición. Su concentración normal en suero es de 20 a 300 $\mu\text{g/litro}$, la cual disminuye en deficiencia de hierro y aumenta a niveles tan altos como 10.000 a 15.000 $\mu\text{g/litro}$ en sobrecarga de hierro. Recientemente se ha demostrado que su determinación también es útil para diferenciar la anemia de la enfermedad crónica en donde se le encuentra aumentada en presencia de niveles de hierro sérico bajos. El objetivo del presente trabajo consiste en establecer los valores de ferritina sérica medida por inmunoensayo enzimático (ELISA) en niños con FeS y CTFFe normales, en pacientes con ane

mia ferropénica y en niños con sobrecarga de hierro. Los niveles de ferritina se correlacionarán con los de FeS, CTFE y protoporfirinas libres eritrocitarias.

Una ventaja adicional muy importante de la medición de ferritina en pacientes pediátricos consiste en que con únicamente 40 μ de suero se puede evaluar el estado de los depósitos de hierro sin recurrir a métodos más agresivos como el aspirado de médula ósea.

JPC—16

Diagnóstico de la Toxoplasmosis

M. Chinchilla

CIDPA, Departamento de Parasitología, Facultad de Microbiología, U.C.R.

Existe una idea generalizada de que el diagnóstico indirecto de la Toxoplasmosis se puede hacer únicamente con base en 1 ó 2 pruebas serológicas. Además, las pruebas más comúnmente usadas han sido la de Sabin-Feldman, la de inmunofluorescencia (IFT) y la intradermorreacción (Toxoplasmina). Ninguna de estas pruebas por sí sola es suficiente para hacer el diagnóstico de esta parasitosis. Realmente se necesitan al menos 3 pruebas diferentes para orientar adecuadamente al clínico sobre el tiempo de evolución en la enfermedad. Las pruebas conjuntas de Sabin-Feldman o IFT más la Fijación del complemento y la intradermorreacción serían un bloque muy conveniente. Ellas podrían determinar en forma bastante aproximada si la infección con el *T. gondii* es reciente, relativamente reciente o si se trata de un estado crónico o latente de la enfermedad, en cuyo caso la necesidad del tratamiento es muy relativa.

Por supuesto que existen otras técnicas más recientes tales como la ELISA que tiene la ventaja de hacer evidente concentraciones muy bajas y de muy reciente formación de anticuerpos. Incluso se ha usado para buscar antígeno circulante, el cual, experimentalmente, se ha podido determinar desde 6 horas después de la infección.

Sin embargo, y por razones de orden económico y práctico la prueba de ELISA, así como otras pruebas más sensibles y específicas, no pueden ser consideradas como análisis rutinario.

INMUNOHEMATOLOGÍA Y TOXINOLOGÍA

IT—1

Uso de Sangre Reconstituida para la Exanguinotransfusión en Recién Nacidos con Enfermedad Hemolítica ABO

O. Agüero & E. Fernández

Laboratorio Clínico, Hospital San Juan de Dios

Se estudiaron 81 recién nacidos sometidos a exanguinotransfusión (E.T.), por incompatibilidad ABO, en el servicio de Neonatología del Hospital San Juan de Dios, de enero de 1979 a agosto de 1980. Estos niños fueron divididos en dos grupos de acuerdo al tipo de sangre que se usó en la E.T.: en el primer período, enero de 1979 a octubre de 1979, se usó sangre total O. En el segundo período, de noviembre de 1979 a agosto de 1980, la sangre empleada fue reconstituida con plasma del mismo grupo del niño. Se investigó el número de casos a los cuales se les repitió el procedimiento de la E.T. y el tipo de sangre que se empleó. De 37 niños que utilizaron E.T. con sangre total O, el 54 por ciento necesitó otra vez el procedimiento. De 44 niños sometidos a E.T. usando sangre reconstituida sólo a 2 (4,57) se les repitió el procedimiento. Se preparó sangre reconstituida utilizando eritrocitos empacados grupo O (de la madre) y plasma del mismo grupo del niño. Se seleccionó sangre de 48 a 72 horas de conservación, sin lipemia evidente y negativa para antígeno HBs.

IT—2

Envenenamiento por *Micrurus* (Serpientes de Coral) Revisión de Nueve Casos en Centro y Sudamérica

R. Bolaños

Departamento de Microbiología e Inmunología y CIDPA, U.C.R.

Se documentaron nueve casos de envenenamiento por especies de *Micrurus nigrocinctus*, *M. alleni*, *M. spixii*, *M. clarki*, *M. frontalis* y *M. mipartitus*, los cuales incluyen desde casos benignos hasta fatales, incluyendo también moderados y severos (aunque no fatales). Una sintomatología y signología importante de efecto local, no bien descrita en la literatura, fue observada en todos los casos importantes. Se observó, también, recuperación espontánea en casos con parálisis intensa y, además, recuperación total en pacientes totalmente paralizados y en coma, mantenidos vivos mediante respiración artificial, hasta la administración del antiveneno dos o tres días después del accidente. Un alto porcentaje de fatalidades (50%) se observó entre los pacientes que no recibieron tratamiento seroterápico.

108

La sintomatología y signología general, en todos los casos, fue similar, como también con lo relatado en la literatura en accidentes en los Estados Unidos (*M. fulvius*) y Brasil (*M. frontalis* y *M. coralinus*). Esta observación sugiere una similitud de los venenos del género, al menos en sus características farmacológicas.

IT—3

Importancia de la Identificación del Anticuerpo Anti c (hr') **en la Inmunización Materno-Fetal y Transfusional**

E. Fernández & O. Agüero
Laboratorio Clínico, Hospital San Juan de Dios

Se presentan siete casos de sensibilización anti c (hr') estudiados en el período 1979-1980. De ellos, cinco casos fueron originados por isoimmunización materno-fetal y dos por transfusión de sangre.

Se describe la identificación y clasificación del anticuerpo tanto en suero como en el eluido, utilizando la técnica de Coombs indirecta, con eritrocitos escogidos en el Banco de Sangre, de grupo O y con los siguientes genotipos de Rh—Hr: R₁ R₁, R₂ R₂, rr.

Se comenta la forma adecuada de seleccionar sangre para transfusión y exanguinotransfusión de pacientes con problemas originados por este anticuerpo.

Se dan recomendaciones respecto a la prueba de Coombs directa positiva de recién nacidos, en ausencia de posible incompatibilidad por ABO y Rh (D).

IT—4

Hallazgo de un Anticuerpo Anti Rh" (E) **en una Mujer Múltipara**

O Agüero & E. Fernández
Laboratorio Clínico, Hospital San Juan de Dios

Se presenta el estudio de un caso de sensibilización materna al antígeno rh" (E) en una mujer múltipara que produjo un anticuerpo que causó grave ictericia en el recién nacido. El hallazgo motivó una completa investigación del sistema Rh—Hr de todos los miembros de la familia donde se encontró el genotipo R₂ r en tres de los hijos que no desarrollaron enfermedad hemolítica del recién nacido (EHRN). Se compara la capacidad inmunogénica del antígeno E asociada al genotipo R₂ r. Anotamos los resultados del estudio, las características del anticuerpo, así como una revisión de otros casos estudiados en nuestro Banco de Sangre y descritos en la literatura. Es importante el estudio de esta familia y a literatura citada, con el fin de poner de manifiesto que este problema existe en Costa Rica con cierta frecuencia, y que es necesario que los Bancos de Sangre preparen sus propios eritrocitos de fenotipo conocido tales como: R₁ R₁, R₂ R₂, Rh₀r y rr, y así puedan afinar los procedimientos diagnósticos de laboratorio.

IT—5

Flora Bacteriana Aerobia y Anaerobia de las Glándulas Veneníferas **y de los Colmillos de Serpientes Costarricenses**

R. Bolaños & T. Brunker
Departamento de Microbiología e Inmunología, U.C.R.

Técnicas modernas para el aislamiento de bacterias aeróbicas y anaeróbicas han mostrado números importantes de especies de ambos grupos, tanto en el veneno como en la cavidad oral de serpientes venenosas. El presente estudio fue emprendido con el objeto de verificar si la flora que se demuestra en el veneno es debida a infecciones en las glándulas productoras de la secreción o bien si se adquiere durante su pasaje a través del canal de los colmillos.

Varias muestras del veneno de Terciopelo (*Bothrops asper*) y de Cascabela (*Crotalus durissus durissus*) fueron obtenidas en forma tal que la mitad, de la muestra se colectó a través del colmillo y el resto directamente de la glándula, mediante disección de la misma.

Los resultados mostraron que el contenido de la glándula es prácticamente estéril y que el grueso de la contaminación (algunos tan altos como 2×10^9 microorganismos por mililitro) se obtiene durante el pasaje del veneno a través del colmillo.

IT—6

Estudio de Accidentes Ofídicos de los Cantones de Pococí **y Guácimo, Provincia de Limón, Costa Rica**

A. Cornavaca, L. Cerdas & R. López
Laboratorio Clínico, Hospital de Guápiles e I.C.P., U.C.R.

El presente estudio se basó en 114 casos de accidentes ofídicos ocurridos en la región de los cantones de Pococí y Guápiles, provincia de Limón, Costa Rica, que fueron referidos al Hospital de Guápiles durante el período de 1974 a junio de 1982.

Se observó una prevalencia de accidentes ofídicos por *Bothrops asper* de 49,12 por ciento. *Bothrops nasutus* 5,26 por ciento, *Bothrops schlegeli* 3,51 por ciento, *Micrurus* sp. 1,75 por ciento, *Lachesis muta* 0,88 por ciento y especies indeterminadas 39,47 por ciento.

Los accidentes ofídicos se clasifican según: lugar de procedencia, sintomatología, tiempo en llegar al hospital e inicio del tratamiento y sexo.

En el orden de prevalencia se observó que sobresalen Cariari con 36 casos, Guácimo con 18 y Guápiles con 15 casos.

Con relación al tiempo transcurrido entre la hora del accidente ofídico y la llegada al centro hospitalario se observa que un 71,05 por ciento lo hizo antes de las 5 horas y un 28,95 por ciento lo hizo después de haber transcurrido 5 horas.

Se observó la mayor incidencia en el sexo masculino con un 72 por ciento de mordeduras y 28 por ciento para el sexo femenino.

DESARROLLO TECNOLÓGICO EN LA PREPARACION DE REACTIVOS DE LABORATORIO

DTR—1

Determinación del Factor Reumático por el Método de Waaler-Rose Modificado, con Reactivos Preparados en el Laboratorio Clínico del Hospital San Juan de Dios

G. Muñoz

Laboratorio Clínico, Hospital San Juan de Dios

Se preparó un reactivo para la determinación del factor reumático por el método de Waaler-Rose modificado. Se examinó el suero de 320 pacientes que acudieron a la consulta externa del Servicio de Reumatología, usando nuestros reactivos simultáneamente con los importados para la prueba de látex de Singer-Plotz.

De los 320 sueros examinados 9 dieron positivas ambas pruebas (en la prueba de Singer-Plotz títulos de 1:160 ó mayores). Dos sueros dieron Singer-Plotz positiva con títulos de 80 diluciones y prueba de Waaler-Rose negativa. Los restantes 309 sueros dieron ambas pruebas negativas.

En los 9 casos que dieron ambas pruebas positivas se comprobó el diagnóstico de artritis reumatoide.

También se realizó la prueba de Waaler-Rose en 1000 sueros de sujetos aparentemente sanos, donadores de sangre, de los cuales uno dio positivo.

Se presentan los métodos usados en la preparación de los reactivos y se discuten los resultados.

DTR—2

Preparación de los Reactivos para la Determinación Cuantitativa de Gonadotropina Coriónica en Orina

J. Mora

Laboratorio Clínico, Hospital San Juan de Dios

Se prepararon los reactivos para la determinación de gonadotropina coriónica por la técnica de inhibición de la hemaglutinación descrita para Wide y Gemzell en 1960, empleando eritrocitos de carnero sensibilizados con gonadotropina coriónica, los cuales han mantenido su reactividad por seis meses que es el máximo tiempo durante el cual se han observado almacenados a 4-8° C.

El anticuerpo fue producido en conejos adultos mayores de 8 meses inyectando por vía intradérmica dos dosis de gonadotropina coriónica humana en coadyuvante de Freund, obteniéndose buenos títulos de anticuerpos entre 42 y 70 días después de la primera inoculación.

Se compararon, los resultados de las pruebas practicadas con nuestros reactivos y con los de la casa Wampole, encontrándose correlación en 98 por ciento de los casos.

DTR—3

Preparación de Eritrocitos Equinos por el Método de Hoff y Bauer para el Diagnóstico de Mononucleosis Infecciosa

Ma. de los A. San Román

Laboratorio Clínico, Hospital San Juan de Dios

Se describe el método para formalización de eritrocitos equinos. En 90 casos probados se obtuvo 3 casos positivos y 87 casos negativos tanto con el reactivo comercial de la casa Hyland como con el preparado en el Laboratorio del Hospital San Juan de Dios. Desde 1977 se viene usando con nuevos resultados siempre incluyendo sueros testigos positivo y negativo. El reactivo se mantiene estable durante seis meses.

DTR—4

Preparación de un Estromatolisante para uso en el Contador Electrónico de Partículas

*B. Alfaro, E. Salas & V. Vindas
Laboratorio Clínico, Hospital San Juan de Dios*

Se preparó un agente estromatolisante con "Cetrimide" y "Sterox" para cómputos de leucocitos, en un contador electrónico de partículas (Coulter Counter Z B). A dicho reactivo se le adicionó cianuro de potasio, nitrito de sodio, ferricianuro de potasio y nitroferriicianuro de sodio, para medir la hemoglobina en un hemoglobínometro (Coulter Electronic), mediante la reacción de Drabkin.

El reactivo se comparó con el Zap-Oglobin II (Coulter) utilizando 60 muestras de sangre de pacientes hospitalizados cuyos recuentos de leucocitos y concentración de hemoglobina eran bajos, normales y altos, dando un coeficiente de correlación de 0,98 por ciento ($y = 1,03 x - 481$), para los leucocitos y de 0,99 ($y = 1,02 x - 0,31$) para las hemoglobinas.

El coeficiente de variación se obtuvo en una muestra de sangre analizada 33 veces, para los dos estromatolisantes, obteniéndose con el reactivo preparado en nuestro laboratorio un C.V. de 1,47 por ciento y de 0,4 por ciento para los leucocitos y la hemoglobina respectivamente y con el reactivo Zap-Oglobin II un C.V. de 1,78 por ciento y 0,4 por ciento.

DTR—5

Comparación de dos Agentes Reductores a Diferentes Temperaturas para la Conservación de Cefalina de Cerebro Humano

*A. A. Porras, F. Castro & J. Jiménez
Laboratorio Clínico, Hospital San Juan de Dios*

Se preparó cefalina a partir de cerebro humano y se estandarizó de acuerdo a las recomendaciones dadas por el grupo de Manchester, Inglaterra.

A fin de evitar el proceso de oxidación de la cefalina, se probaron dos diferentes medios de conservación para mantener su estabilidad: tioglicolato y atmósfera de nitrógeno, para sustituir los métodos tradicionales de conservación que son la congelación a -40°C o liofilización.

El análisis de los resultados mostró que la cefalina conserva su estabilidad cuando se le agrega tioglicolato y manteniéndola a temperatura de -4°C , hasta el final del estudio (90 días). Con atmósfera de nitrógeno mantuvo actividad solamente 60 días.

DTR—6

Preparación de los Reactivos para la Determinación de Amonio Plasmático usando Resinas de Intercambio Iónico

*J. Mora, H. Mora, O. Cordero & R. Vargas
Laboratorio Clínico, Hospital San Juan de Dios*

Se prepararon los reactivos para la determinación de amonio plasmático. La resina empleada es catiónica, fuertemente ácida (Amberlita 252 de la casa Rohm and Haas), y como reacción de color se empleó la reacción de Berthelot.

Se correlacionaron los valores obtenidos con los reactivos preparados en nuestro laboratorio y los de la casa Hyland obteniéndose una correlación de 0,93 con una recuperación de 97,2 por ciento, 104 por ciento y 76 por ciento para valores bajos intermedios y altos respectivamente y una linealidad hasta 400 microgramos en 100 ml.

DTR—7

Modificación al Método de Rice para la Determinación de Proteínas Urinarias

*J. Mora & J. M. Esquivel
Laboratorio Clínico, Hospital San Juan de Dios*

Se usó como reactivo precipitante de las proteínas la mezcla de ácido clorhídrico, etanol y ácido fosfotúngstico (reactivo de Tsuchiya), evitándose de esta forma la interferencia que producen las drogas y las orinas pigmentadas en la cuantificación de proteínas.

Se usó como reacción de color la de biuret leída, a 430 nanómetros. Se correlacionó este método con el del azul de bromofenol ($r = 0,99$) y con el del ácido tricloroacético ($r = 0,99$).

La reproducibilidad del método se hizo con 20 muestras de concentración alta intermedia y baja, obteniendo como coeficientes de variación 1,6 por ciento, 1,4 por ciento y 7 por ciento respectivamente. La prueba de recuperación en valores bajos fue de 109 por ciento, en intermedios de 101 por ciento y en altos de 83 por ciento.

DTR—8

**Preparación de los Sueros para la Clasificación
de los Grupos Sanguíneos ABO a Partir de Mezclas de Sueros**

*A. Trejos, O. Agüero, E. Fernández, R. Vargas & J. M. Esquivel
Laboratorio Clínico, Hospital San Juan de Dios*

Se utilizaron sueros de los grupos sanguíneos A, B y O, provenientes de donadores sanos y en ayunas. Fueron recolectados en bolsas de 500 ml sin anticoagulante. Selección de sueros: se escogieron aquellos sueros con una avidez no mayor de 10 segundos para eritrocitos A₁ y B, y de 15 segundos para eritrocitos A₂. Todo suero quiloso fue eliminado. Para evitar reacciones falsas positivas, cada suero se enfrentó a los eritrocitos del mismo grupo en portaobjetos. Por medio de la prueba indirecta de la antiglobulina, a diferentes temperaturas, se eliminó la presencia de anticuerpos inmunes e irregulares. Solamente se utilizaron sueros negativos al antígeno de superficie de la hepatitis. Preparación de sueros: cada bolsa de sangre total cumplió los siguientes requisitos: a) se incubó a 37°C para obtener una buena retracción del coágulo; b) autoabsorción en frío (4°C) del suero con sus propios eritrocitos. Separación de cada suero y su inactivación a 56°C. Luego se mezclaron y se procedió a: a) absorción de crioaglutininas en frío específicas con eritrocitos apropiados; b) adición de azida de sodio 0,1 por ciento; e) adición de colorante para diferenciar cada suero, excepto el anti A B que no lo lleva; d) adición de citrato de sodio, de acuerdo a las pruebas de hemólisis para la sal de sodio; e) filtración en Filtro Millipore 0,44 µ; f) envasado. Control de calidad: 1- titulación de crioaglutininas antes y después de la absorción con eritrocitos apropiados; 2- título de aglutininas durante todo el proceso de preparación del antisuero; 3- determinación de pH y ajuste entre 7,6—7,8; 4-avidez del suero luego de la adición del citrato de sodio; 5-control bacteriológico del producto terminado en medio líquido; 6- una muestra se congela y otra se deja a temperatura de 4—6°C para verificar resultados posteriores.

DTR—9

**Preparación de Suero de Conejo Poliespecífico
Antiglobulina Humana**

*E. Fernández, J. Mora & O. Agüero
Laboratorio Clínico, Hospital San Juan de Dios*

Se describe un método para preparar suero antiglobulina humana (AGH) poliespecífico por inmunización de conejos de ocho meses de edad por vía intradérmica, con una mezcla de gamaglobulina humana (Sigma-Fracción II de Cohn) y suero humano, utilizando una modificación al método de Vaitukaitis *et al.* Se seleccionó el suero de conejo que presentó el título mayor de aglutinación contra eritrocitos humanos sensibilizados con IgG, el cual fue absorbido y estandarizado por titulación. La especificidad y potencia del suero AGH poliespecífico fue verificado por evaluación serológica utilizando eritrocitos sensibilizados con IgG, IgM y componentes del complemento. Para confirmar la calidad del producto, se comparó con sueros comerciales, dando resultados satisfactorios.

DTR— 10

**Preparación de Antígenos de *Leishmania braziliensis* y
Toxoplasma gondii para Intradermoreacciones**

*A. Trejos, Ma, de los A. San Román & C. Piedra
Laboratorio Clínico, Hospital San Juan de Dios*

Se describen los métodos para obtener los antígenos de Montenegro y la toxoplasmina para intradermoreacciones. Estos antígenos son de difícil obtención comercial.

Se discute la importancia de estas pruebas intradérmicas.

SESION DE CARTELES

C—1

**Utilización de una Solución de Baja Fuerza Iónica
en la Rutina de un Banco de Sangre**

*L. del Valle, N. Calvo & A. L. Caballero
Laboratorio Clínico, Hospital Nacional de Niños "Dr. Carlos Sáenz Herrera"*

Hemos utilizado una solución a base de glicina en salina boferizada. Esta solución tiene la propiedad de reducir considerablemente el potencial Z en los eritrocitos y por lo tanto favorece la aglutinación y reduce el tiempo de incubación.

Se utilizaron varios tipos de anticuerpos y se probaron con células específicas, en la solución de baja fuerza iónica. Se reporta lo hallado así como la fórmula que se utilizó.

C—2

Nuestra Experiencia con Hemolisinas en la Rutina de un Banco de Sangre de Pediatría

L. del Valle A. L. Caballero & N. Calvo

Laboratorio Clínico, Hospital Nacional de Niños "Dr. Carlos Sáenz Herrera"

Se tomaron los donadores que frecuentan el Banco de Sangre del Hospital Nacional de Niños "Dr. Carlos Sáenz Herrera" y se les determinó la presencia o ausencia de hemolisinas y otros anticuerpos no neutralizables. Con el propósito de valorar este aspecto de la inmunohematología en el Banco de Sangre de nuestro hospital.

En total se estudiaron 499 donadores del grupo O; a 180 se les estudio por la presencia de hemolisinas y anticuerpos no neutralizables (ABO Inmunes) y a 45 sólo se les estudió por hemolisinas.

Se encontró que 2 donadores tenían hemolisinas en algún grado de positividad, tomando en cuenta las cifras totales. Por otro lado en 52 donadores se determinó algún título de anticuerpo ABO Inmunes (no neutralizables).

C—3

Uso de Plasmas Hiperinmunes en el Tratamiento de Varicela Neonatal

L. del Valle, N. Calvo & L. Caballero

Laboratorio Clínico, Hospital Nacional de Niños "Dr. Carlos Sáenz Herrera"

La varicela es una enfermedad viral que potencialmente podría afectar a niños recién nacidos, a producir trastornos en útero; no tiene tratamiento efectivo.

Un tratamiento que se ha empleado en casos de varicela neonatal, es con base en plasma hiperinmune. Este se utilizó en forma dosificada, según indicaciones de talla y peso.

Se describe la forma de recolección, preservación y un resumen experimental de dos casos que evolucionaron satisfactoriamente.

C—4

Utilización de un Microcosechador Aplicaciones Clínico-prácticas en Programas de Transplantes y Otros

L. del Valle

Laboratorio Clínico, Hospital Nacional de Niños "Dr. Carlos Sáenz Herrera"

Se fabricó un microcosechador cuya mayor utilización es en el estudio de estimulación blástica, por medio de mitógenos y células homólogas.

Se describe sus medidas y manejo, así como sus múltiples aplicaciones ya sea en el diagnóstico inmunológico o en programa de transplante de órganos.

C—5

Primer Aislamiento de *Clostridium difficile* en Heces

M. L. Herrera

Laboratorio Clínico, Hospital Nacional de Niños "Dr. Carlos Sáenz Herrera"

Se reporta el caso de un niño atendido en el Hospital Nacional de Niños "Dr. Carlos Sáenz Herrera" con un cuadro bronconeumónico que recibió Ampicilina por cinco días, desarrollando una colitis con severa diarrea y gran desequilibrio electrolítico.

El aislamiento se hizo usando un medio selectivo y diferencial. Cefoxitin-Fructosa-Agar (CFA).

La placa de CFA se incubó en anaerobiosis usando Gas-Pack por 48 horas a 37°C.

Las colonias con un gram sugestivo (BG+) esporulado, que viraron el indicador a amarillo y que tenían fluorescencia dorada se pasaron a un medio PRAS (PYG) y se identificaron según criterios recomendados por el Laboratorio de Bacteriología Anaeróbica de la Virginia Polytechnic Institute and State University.

C—6

Bacteriología de Anaeróbicos en el Hospital Nacional de Niños "Dr. Carlos Sáenz Herrera"

M. L. Herrera & J. Guevara

Laboratorio Clínico, Hospital Nacional de Niños "Dr. Carlos Sáenz Herrera"

Se estudiaron 257 muestras obtenidas por punción de abscesos, LCR, sangre, líquido pleural, líquido peritoneal, ótica, esofágico, gangrena, umbilica, etc., de pacientes atendidos en el Hospital Nacional de Niños "Dr. Carlos Sáenz Herrera".

Se obtuvo un porcentaje de positividad entre aeróbicos y anaeróbicos de un 70,7 por ciento correspondiendo un 12,8 por ciento a anaeróbicos, un 36,5 por ciento a aeróbicos y un 21,4 por ciento a la mezcla de aeróbicos y anaeróbicos. Los anaeróbicos se aislaron en un total de 34,2 por ciento de los casos.

Se aislaron 169 cepas de anaerobios con 164 clasificadas. El cultivo e identificación se realizó en base a los lineamientos del laboratorio de Bacterias Anaeróbicas del Virginia Polytechnical Institute and State University.

Las anarólicas más comunes fueron: *Bacteriodes* sp., *Peptococcus* sp., *Veillonella* sp. y *Propioni bacterium* sp.
Las aerólicas más comunes fueron : *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Streptococcus* sp.

C—7

**Identificación de Streptococcus β Hemolíticos
del Grupo A de Lancefield. Comparación de la Sensibilidad
a la Bacitracina con Precipitación en Capilar**

P. Rivera, R. A. Rodríguez & J. Guevara

Laboratorio Clínico, Hospital Nacional de Niños "Dr. Carlos Sáenz Herrera"

Se aislaron 125 cepas de *Streptococcus* β hemolíticos, obtenidos de: secreciones faríngeas, óticas y dérmicas, líquidos articulares, pleurales y cefalorraquídeos, sangre y orinas de pacientes atendidos en el Hospital Nacional de Niños "Dr. Carlos Sáenz Herrera".

Las cepas fueron clasificadas según Lancefield mediante el método de precipitación en capilar, utilizando antisueros contra los grupos A, B, C, D, E, F y G. En paralelo todas las cepas fueron sometidas a la prueba de sensibilidad a la bacitracina, utilizando sensidiscos conteniendo 0,04 UI por disco, las placas fueron rayadas en cuatro sentidos y los sensidiscos se colocaron en el traslape de los primeros dos rayados.

Se identificaron 92 cepas del Grupo A según la prueba de precipitación en capilar; de esas, 79 presentaron halos de inhibición a la bacitracina de 10 ó más mm de diámetro, las 13 restantes mostraron halos menores de 10 mm. Por otra parte, 33 cepas fueron identificadas en los grupos restantes y sólo dos de ellas presentaron halos de inhibición de 10 ó más mm de diámetro

El análisis estadístico muestra una $P < 0,05$ según χ^2 , además mostró que ambas variables están asociadas ($\chi^2 = 0,718$ y $C = 0,583$).

Se concluye que la prueba de sensibilidad a la bacitracina tal como se ha descrito anteriormente, puede utilizarse con confianza en la identificación de los *Streptococcus* β hemolíticos del grupo A de Lancefield, siendo una prueba más rápida, sencilla y de menor costo que la precipitación en capilar.

C—8

**Enteritis por Campylobacter en el Hospital Nacional de Niños
"Dr. Carlos Sáenz Herrera"**

M. L. Herrera, J. Guevara, R. M. Rodríguez & P. Rivera

Laboratorio Clínico, Hospital Nacional de Niños "Dr. Carlos Sáenz Herrera"

Se estudiaron un total de 389 muestras de heces de pacientes atendidos en el Hospital Nacional de Niños "Dr. Carlos Sáenz Herrera". Además de los aislamientos de rutina por *Escherichia coli* enteropatógena, *Shigella* sp., y *Salmonella* sp., se busca la presencia de *Campylobacter* sp., logrando aislar 24 cepas de *Campylobacter fetus* ss *je juni*, con un porcentaje de aislamiento de 6,2 por ciento.

Se procesaron todas aquellas muestras diarreicas, con diagnóstico de síndrome disenteriforme. Se observó la muestra a gota pendiente para observar la presencia de movilidad característica del *Campylobacter* sp. Se buscaron leucocitos y eritrocitos.

La muestra se rayó sobre un Agar Butzler y se incubó en jarra de Brewer sin catalítico, con un sobre de Gas-Pack por 48 horas a 42° C.

Las colonias con crecimiento confluyente, brillo metálico, color gris, café o morado que siguen el trazado del asa bacteriológica, se identificaron en base a la tinción de Gram, movilidad en tirabuzón y pruebas bioquímicas y físicas.

Se montó en todos los casos una prueba de sensibilidad a los antibióticos, que mostró una buena sensibilidad siendo los antibióticos de elección: Gentamicina y Eritromicina.

C—9

**Septicemias y Meningitis Causadas por Streptococcus Beta
Hemolíticos del Grupo II de Lancefield.
Primeros Casos Descritos en Costa Rica**

P. Rivera & R. M. Rodríguez

Laboratorio Clínico, Hospital Nacional de Niños "Dr. Carlos Sáenz Herrera"

Los *Streptococcus* β hemolíticos del grupo B, son parte de la flora indígena del tracto genitourinario de mujeres adultas y han sido relacionados con septicemias y meningitis en neonatos, asociados a ruptura prematura de membranas y a labor de parto prolongada. Se informa de las primeras 5 cepas aisladas de neonatos en el Hospital Nacional de Niños "Dr. Carlos Sáenz Herrera". Cuatro cepas provenían de niños con meningitis, las cuales se aislaron del líquido cefalorraquídeo (LCR), tres de ellas también se logró aislar de sangre. La quinta cepa sólo se aisló de sangre, ya que no se pudo obtener muestra de LCR.

La historia indicó que en dos había ruptura prematura de membrana; en los tres casos restantes, uno presentó sufrimiento fetal, otro fue un parto normal y del último no se tienen datos.

De los 5 casos: tres de ellos recién nacidos de bajo peso al nacer fallecieron con una estancia hospitalaria menor de 48 horas. El cuarto caso de 18 días nacido por parto normal, sobrevivió después de 21 días de hospitalización. El quinto caso de 28 días de edad referido del Hospital de Liberia falleció a las 24 horas de ingresar al Hospital Nacional de Niños.

C—10

Utilidad del Test de B—Lactamasa

C. M. Brenes & C. Lizano

Laboratorio Clínico, Hospital Nacional de Niños "Dr. Carlos Sáenz Herrera"

Demostramos la necesidad de determinar la actividad B—lactamasa de cepas de *Staphylococcus aureus*, *Haemophilus influenzae* y *Neisseria* relacionándola con la sensibilidad de los mismos a la penicilina y ampicilina.

Trabajamos con 260 cepas de *S. aureus*, 72 de *H. influenzae* tipo b, 45 de *N. gonorrhoeae*, 6 de *N. meningitidis* y 1 de *N. flavescens*, todas aisladas en pacientes internados y de consulta externa del Hospital Nacional de Niños "Dr. Carlos Sáenz Herrera", en el año 1981 y 1982.

Empleamos los métodos yodimétrico en tubo y con tirillas, y el acidimétrico los cuales se describen y se demuestra que son sencillos y fáciles de realizar e interpretar, económicos porque se pueden llevar a cabo con reactivos que se consiguen en todo laboratorio y no requieren aparatos especiales.

El método yodimétrico con tirillas resultó ser el más económico porque el material preparado se conserva en perfectas condiciones en refrigeración hasta por 6 meses.

El procedimiento confirmó la resistencia a la penicilina y ampicilina de una cepa de *N. gonorrhoeae*, de *N. flavescens* y una de *H. influenzae* tipo b que son las 3 primeras cepas descritas en el país, con actividad B —lactamasa comprobada.