

*La Lisozima como coadyuvante
del tratamiento de la tifoidea*

Aumento de la reacción inmunitaria

PLUTARCO NARANJO
FERNANDO DE LA TORRE

*Hospital de Aislamiento y Laboratorios
LIFE, Quito*

Plutarco Naranjo
Fernando de la Torre

Hospital de Aislamiento y Laboratorios LIFE, Quito

LA LISOZIMA COMO COADYUVANTE DEL TRATAMIENTO DE LA TIFOIDEA

AUMENTO DE LA REACCION INMUNIZARIA

La lisozima, proteína de bajo peso molecular, es un componente normal del plasma sanguíneo y de la mayoría de tejidos y humores del organismo humano¹. Esta sustancia fue descubierta por Fleming², quien le dió el nombre de *lisozima* en razón, precisamente, de que a través de un mecanismo enzimático es capaz de producir la *lisis* de numerosas bacterias. Las investigaciones de laboratorio realizadas con posterioridad a Fleming, como las de Hartsell⁸, Brumfitt⁴ y muchas otras^{5,9}, han demostrado que la *lisozima* es uno de los elementos más importantes de defensa anti-infecciosa que existen los organismos superiores. Tales resultados han sido confirmados en el campo clínico, por Rocchi⁹, De Lolis y colab.¹⁰, Corbeta¹¹ y otros^{12,14}, donde la lisozima ha demostrado su utilidad como coadyuvante en el tratamiento de muy variadas infecciones bacterianas producidas tanto por gérmenes Gram-positivos como por Gram-negativos.

Giannini y Cazzato¹⁵ encontraron, en conejos, que administrando lisozima al propio tiempo que una vacuna constituida por gérmenes

muertos de *Salmonella typhi*, la concentración de anticuerpos en el suero sanguíneo es mayor que en los animales que recibieron solamente la vacuna.

Con ocasión de un brote epidémico de tifoidea aparecido cerca de Quito hemos tenido oportunidad de realizar un ensayo terapéutico con lisozima.

MATERIAL CLINICO Y METODOC

El presente ensayo se realizó en pacientes internados en el Hospital de Aislamiento. Los pacientes de ambos sexos, estuvieron dentro de las edades comprendidas entre 8 y 38 años, aunque la mayoría estuvo entre 12 y 20 años.

El ingreso de los pacientes al hospital se hizo entre 3 y 20 días de iniciados los síntomas de la enfermedad. Los pacientes, a su ingreso al hospital, fueron sometidos a un riguroso examen clínico y exámenes complementarios para establecer el diagnóstico definitivo. Entre los exámenes complementarios se realizaron las pruebas de aglutinación y hemocultivos o coprocultivos, según el caso. En cada paciente se hizo una segunda prueba de aglutinación, cuando la temperatura había descendido al valor normal, por lo tanto para la mayoría de los pacientes esta segunda prueba se hizo entre 4 y 8 días de iniciado el tratamiento.

Para el tratamiento, los pacientes se dividieron al azar, en dos grupos: el primero, cuyo tratamiento básico se hizo con cloranfenicol y el segundo con cloranfenicol más lisozima. Además, cuando fue necesario, se realizó tratamiento sintomático con analgésicos, electrolitos, etc. El cloranfenicol se administró a una dosis aproximada de 40 mg/kg de peso, por vía oral, repartida en 3 dosis parciales diarias. Dicha dosis se disminuyó cuando la temperatura volvió al nivel normal y su administración continuó hasta que se consideró al paciente sano. La lisozima se administró en dosis de 2-3 mg/kg de peso, por vía intramuscular, repartida en dos inyecciones al día, hasta que se normalizó la temperatura, de allí en adelante se disminuyó la dosis en un 50%.

Se consideraron los pacientes sanos y por tanto se les dió el alta en el Hospital cuando a más de haber desaparecido la temperatura y los otros síntomas se encontró que el coprocultivo era negativo en 3 exámenes consecutivos.

Para evaluar objetivamente los resultados, se tomaron en consideración principalmente tres factores: el tiempo que cada paciente necesitó permanecer hospitalizado hasta egresar curado, el tiempo que demoró en normalizarse la temperatura y la reacción inmunitaria, valorada en concentración de aglutininas en la sangre.

RESULTADOS

Permanencia en el Hospital.—Como se puede ver en la Tabla I, los pacientes tratados con cloranfenicol requirieron, en promedio, 13,8 días de permanencia en el Hospital hasta cuando fueron dados de alta, después de haber sido considerados como curados. Los pacientes que fueron tratados con cloranfenicol y lisozima tuvieron una permanencia hospitalaria de 11,9 días, es decir necesitaron aproximadamente dos días menos.

Duración de la fiebre y evolución de la enfermedad.—En la Tabla II se consignan los datos referentes a la dosis total que recibió cada paciente tanto de cloranfenicol como de lisozima, así como el número de días de duración de la fiebre. Para la elaboración de ésta y las otras tablas se han excluido dos pacientes del grupo de cloranfenicol en quienes fue necesario realizar una intervención quirúrgica por perforaciones intestinales, asimismo se ha excluido uno del grupo de lisozima quien en las primeras horas del tratamiento también presentó perforación intestinal.

Los pacientes tratados con sólo cloranfenicol recibieron, en promedio 16,6 gm por día y la fiebre duró 8,4 días. Los pacientes con cloranfenicol y lisozima, requirieron, en promedio, sólo 13,9 gm de cloranfenicol y la fiebre desapareció después de 6,7 días.

Aproximadamente a las 48 horas de iniciado el tratamiento con lisozima se apreció considerable mejoría subjetiva de los pacientes, disminuyó la cefalea y mialgias, especialmente hubo aumento del apetito. Los síntomas y signos (Tabla III) desaparecieron, en la mayoría de los pacientes antes del día del tratamiento.

Aunque la duración de la enfermedad, evaluada en términos de permanencia hospitalaria, disminuyó poco por la adición de lisozima

al tratamiento antibiótico, en cambio, fue evidente una evolución más benigna de la enfermedad en aquellos pacientes que recibían la lisozima.

Reacción inmunitaria.—La mayoría de pacientes presentaron una prueba de aglutinación positiva, antes de iniciado el tratamiento, a la dilución 1:100 a 1:200 para el antígeno O (antígeno somático) y entre 1:200 y 1:400 para el antígeno H (antígeno flagelar). Algunos pacientes presentaron aglutinación positiva a concentración de 1:50 y su diagnóstico se confirmó únicamente por los otros exámenes de laboratorio. Los 3 pacientes que presentaron perforación intestinal dieron aglutinación positiva para ambos antígenos a sólo 1:50 y continuó a igual título durante todo el tratamiento que duró cerca de un mes.

En los pacientes tratados con cloranfenicol (Tabla IV) el título de aglutinación no se modificó en la mayoría de ellos. En uno (paciente N^o 4) hubo una disminución de anticuerpos y la aglutinación con el antígeno O, después del tratamiento, fue positivo sólo a 1:50. En 3 pacientes^{13*15,16} hubo moderado aumento de anticuerpos correspondientes al antígeno O. En cuanto a los anticuerpos correspondientes al antígeno flagelar, no hubo aumento en ningún paciente y más bien disminuyó aproximadamente un 50% de su concentración en la sangre en 5 de los 18 pacientes.

En los enfermos que recibieron cloranfenicol más lisozima las pruebas de aglutinación demostraron que en el 50% de ellas hubo aumento de anticuerpos. En ningún paciente hubo disminución de anticuerpos ni del tipo anti-O, ni del tipo anti-H. Los anticuerpos correspondientes al antígeno somático aumentaron de concentración en la sangre de 4 a 8 veces en tanto que los correspondientes al antígeno flagelar aumentaron al doble. La diferencia con el grupo de control fue estadísticamente significativa ($P = \ll 0,01$).

DISCUSION

Los resultados obtenidos en el presente trabajo confirman el efecto favorable de la lisozima utilizada como coadyuvante del tratamiento antibiótico o quimioterápico. Este efecto se manifiesta no tanto

una rápida curación de la enfermedad infecciosa cuanto por una evolución benigna.

Un aspecto de apreciable interés es el relacionado con la respuesta inmunitaria del organismo cuando se trata sólo con el antibiótico o con éste asociado a la lisozima. Acker y Hartsell¹⁶, en experiencias de laboratorio, han demostrado que la lisozima es capaz de desintegrar la pared celular de las bacterias y si el tiempo de contacto y la concentración de lisozima es apropiada, la pared celular puede ser desintegrada completamente a tal punto que las bacterias de tipo bacilar se vuelven redondeadas y posteriormente se desintegran en corpúsculos que han sido denominados *protoplastos* o *esferoplastos*. Los mismos autores han demostrado que los esferoplastos no poseen ninguna propiedad infectante pero conservan su cualidad de antígeno. Este fenómeno explicaría por qué en los animales vacunados y que al propio tiempo son tratados con lisozima, como en los ensayos de Giannini y Cazzato¹⁵, la respuesta inmunitaria es mayor, pues al desintegrarse cada bacteria da origen a varios esferoplastos cada uno de los cuales produce el correspondiente estímulo antigénico.

El ensayo que es objeto del presente informe revela que en los pacientes con tifoidea la administración de lisozima estimula la respuesta inmunitaria. Es bien sabido que los enfermos que curan de la tifoidea y más mientras más temprano se haya iniciado el tratamiento con cloranfenicol, quedan con una escasa reserva de anticuerpos a tal punto que a corto plazo pueden reinfectarse por una segunda o tercera vez. Este hecho, por desgracia, no es aún de dominio popular y subsiste la idea de que el paciente que ha sufrido una vez de tifoidea queda inmune definitivamente y por consiguiente no toman las precauciones higiénicas apropiadas ni se someten a futuras vacunaciones. La adición de lisozima en el tratamiento de la tifoidea tendría interés no sólo desde el punto de vista de acortar el tratamiento y volver la infección atenuada, cuanto el de favorecer la formación de anticuerpos y conseguir que el paciente quede inmune por más largo tiempo. El antibiótico produce, rápidamente, cuando se administran dosis apropiadas, la inhibición de la multiplicación de los gérmenes y aún puede provocar la muerte misma de la bacteria. El número de bacterias invasoras, en esta forma, resulta relativamente pequeño y por consiguiente la respuesta inmunitaria no es tan intensa y, como se demuestra en la Tabla IV

tiende a disminuir a lo largo del tratamiento con cloranfenicol. El aumento de la lisozinemia, por administración de dosis apropiadas de lisozima seguramente, gracias al mecanismo descubierto por Acker y Hartsell¹⁰, da por resultado la transformación de la *Eberthella typhosa* en esferoplastos, los cuales provocan una más activa producción de anticuerpos.

RESUMEN

Dos grupos de 18 pacientes con tifoidea fueron tratados el uno con cloranfenicol y el otro con este antibiótico por vía oral más lisozima por vía parenteral.

En los pacientes tratados con lisozima en comparación con el otro grupo, la fiebre desapareció 2 días antes, requirieron una dosis total menor de cloranfenicol, la permanencia en el Hospital fue 2 días menor y sobre todo, desde las 48 horas de administración de la lisozima hubo manifiesta mejoría subjetiva y la enfermedad evolucionó en forma más benigna.

En la mayoría de pacientes tratados con sólo cloranfenicol, la concentración sanguínea de aglutininas anti-O no se modificó con el tratamiento, en tanto que en 3 hubo moderado aumento y en uno disminución. Las aglutininas anti-H disminuyeron en 5 pacientes,

En los enfermos tratados con lisozima hubo una muy favorable respuesta inmunitaria, en ninguno de ellos hubo disminución de aglutininas, por el contrario hubo aumento de hasta 8 veces la anti-O y hasta 4 la anti-H en el 50% de individuos.

Referencias bibliográficas

1. BIFANO, U.: Il lisozima. *Clin. Terap.* 13: 159-174, 1957.
2. FLEMING, A.: On a remarkable bacteriolytic element found in tissues and secretions. *Proc. Roy. Soc.*, 93: 606, 1922.
3. HARTSELL, S.E.: Factors in lysozymic bacteriolysis. *Atti del 1º Simposium Internazionale sul lisozima di Fleming*, pp. 85-87; Inst. Ital. d'arti Grafiche, Bergamo (Italia), 1955.
4. BRUMFITT, W.: Alteration of bacterial sensitivity to lysozyme by simple Chemical treatment. *Idem.* pp. 89-91.
5. BERNARDINI, A. e GIRLANDO, M.: L'azione del lisozima sul potere complementare ed opsonico del siero. *Idem.* pp. 150-152,
6. BESTA, B.: Lisozima e tubercolosi. *Idem.* pp. 373-378.
7. DEL CAMPO, A. e FAZZI, P.L.: Azione del lisozima su alcuni fattori umorali e cellulari dell'immunità naturale. *Idem.* pp. 159-162.
8. MAGRASSI, F.; ALTUCCI, P.; BUONANNO, G.A.; LORENZUTTI, G. e SAFIO, U.: Le basi sperimentali per l'applicazione del lisozima nelle infezioni virali. *Idem.* pp. 219-227.
9. ROCCHI, F.: Il lisozima nelle malattie infettive. *Idem.* pp. 304-309.
10. DE LOLLIS, C.; PREVTTERA, F. e ZOLA, S.: Considerazioni sull'impiego del lisozima nelle patologia infettiva. *Contributi clinici.* *Idem.* pp. 324-327.
11. CORBETTA, L.: L'impiego del lisozima nel trattamento endobronchiale delle suppurazioni broncopolmonari. *Idem.* pp. 345-349.
12. SEDATI, P.; DE BAC, C. e CAPOZZI, I.: Comportamento della attività lisozimica in alcune malattie batteriche. *Idem.* pp. 351-352.
13. MUSSA B.: Lisozima e pneumopatie stafilococciche dell'infanzia. *Idem.* pp. 520.
14. ROTTINI, E. e SILVESTRI, G.: Variazioni del potere lisozimico nella tubercolosi polmonare in corso di trattamento antibiotico. *Idem.* pp. 426-428.
15. GIANNINI, V. e CAZZATO, G.: Influenza del lisozima sul tasso di agglutinine seriche e liquorali in conigli vaccinati con "Salmonella typhi" per via generale e subaracnoidea. *Idem.* pp. 350.
16. ACKER, R.F. e HARTSELL, S.E.: Fleming's lysozyme. *Scient. Am.* 102: 132, 1960.

TIEMPO DE EVOLUCION DE LA ENFERMEDAD

<i>TRATADOS SIN LISO ZIMA</i>				<i>TRATADOS CON LISOZIMA</i>		
<i>Historia clínica No.</i>	<i>Duración de la enfermedad Antes de Permanencia hospitalización en Hospital</i>	<i>Duración de la enfermedad Antes de Permanencia hospitalización en Hospital</i>	<i>Historia clínica No.</i>	<i>Duración de la enfermedad Antes de Permanencia hospitalización en Hospital</i>	<i>Duración de la enfermedad Antes de Permanencia hospitalización en Hospital</i>	<i>Duración de la enfermedad Antes de Permanencia hospitalización en Hospital</i>
1	1497	4	13	1389	9	10
2	4393	3	14	1390	8	13
3	4394	10	12	4340	6	15
4	4410	8	17	4347	20	11
5	4412	10	12	4352	4	9
6	4428	4	10	4353	15	10
7	4430	10	16	4357	4	9
8	4449	5	16	4358	15	13
9	4450	8	10	4365	9	14
10	4460	8	16	4374	8	12
11	4462	7	13	4375	15	16
12	4464	10	24	4378	14	12
13	4466	9	12	4380	6	12
14	4481	8	12	4381	10	12
15	4490	4	13	4383	11	12
16	4492	8	17	4385	5	13
17	4503	15	10	4387	8	11
18	4656	6	13	4391	12	10
Promedios		7,6	13,8		9,9	11,9

**DOSIS DE DROGAS ADMINISTRADAS Y DURACION DE LA FIEBRE
DESPUES DE INICIADO EL TRATAMIENTO**

<i>j</i> Número	<i>TRATADOS SIN LISOZIMA</i>		<i>TRATADOS CON LISOZIMA</i>		
	<i>Dosis total Cloranfenicol</i>	<i>Duración fiebre</i>	<i>DOSIS TOTALES</i>		<i>Duración fiebre</i>
			<i>Cloranjenicol</i>	<i>Lisoztma</i>	
		10 días	14,0 gm	1.050 gm	5 días
	20,0 99	12 99		750 „	99
	16,0 99	5	16,0 99	1.750 99	»
4	16,0 99	99	20,0 99	2.250 99	10 99
	16,0 99	5 99	12,0 99	975 99	99
	14,0 99	99	12,0 99	1.125 99	99
	18,0 99	99	11,0 99	750 99	99
	16,0 99	5 99	16,5 99	1.125	99
	12,0 99	99	13,0 99	975 99	
10	15,5 99	99	10,5 99	750 99	99
11	14,0 99	99	12,0 99	950 99	99
12	20,0	22 99	18,0 99	1.050 99	99
13	16,0 99	99	14,0 99	975 99	99
14	12,0 99	99	19,0 99	975 99	99
15	18,0 99	10	99	1.050 99	99
16	24,0	99	18,0 99	1.500 99	
17	18,0 99	99	10,5 99	600 99	99
18	20,0 99	99	16,0 99	1.050 99	99
Promedios	16,6 g ■	8,4 días	13,9 g ■		6,7 días

TABLA III

TIEMPO DE DESAPARECIMIENTO DE VARIOS SINTOMAS Y SIGNOS

Pacientes tratados con cloranfenicol y lisozima

<i>SINTOMA O SIGNO</i>	<i>Pacientes que presentaron</i>	<i>D I A S</i>			
		<i>-3</i>	<i>3-4</i>	<i>5-6</i>	<i>+7</i>
Anorexia	18	7	4	5	2
Cefalea	10	1	8	-	1
Astenia	15	5	4	4	2
Mialgias	8	3	1	4	-
Trastornos gatrointestinales	15	6	3	3	3
Obnubilación de conciencia		-	2	1	1

TABLA IV

RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE AGLUTINACION ANTES Y DESPUES DE UN PERIODO DE TRATAMIENTO

NUMERO	TRATADOS SIN LISOZIMA				TRATADOS CON LISOZIMA			
	Antigeno O		Antigeno H		Antigeno O		Antigeno H	
	Antes	Después	Antes	Después	Antes	Después	Antes	Después
1	200	200	200	200	200	400**	100	400**
2			50	50	100	400**	800	800
3	50	50	50	50			200	400**
4	100	50*	800	800	100	200**	400	400
5	50	50	400	200*		Me	50	ili
6	50	50	200	100**		200	200	400**
7	100	100	200	100*		100	800	lie
8	800	800	800	800		200	800	800
9	50	50	200	200			50	lie
10	100	100	400	400		100	400	400
11	200	200	200	200	100	800**	800	lie
12	100	200**	800	400	100	100	■	800
13	200	200	200	©	200	800**	400	
14	100	100	200	200	200	800**	400	800**
15	200	400**	800	400*		200	lie	800
16	100	200**	200	200	50	200**	50	400
17	200	200	800	800	400	400	400	800**
18			100	50*	100	100	200	200
Promedio		184	366	297	155		425	589

- No se realizó la prueba de aglutinación.

TALLERES GRAFICOS



QUITO - ECUADOR