

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

TESIS: ESTUDIO DE LA INCIDENCIA DE LA MONONUCLEOSIS
INFECCIOSA EN UNA POBLACION UNIVERSITARIA
(UTILIZANDO EL METODO DE DAVIDSOHN MODIFICADO
Y UN METODO COMERCIAL).

NOMBRE: SANDRA EMELY BRAUER KROUHAM

CARRERA: QUIMICO FARMECEUTICO BIOLOGO

1984



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

I N D I C E

	<u>Pág.</u>
- INTRODUCCION	1
- GENERALIDADES	5
- RELACION DE TECNICAS INMUNOLOGICAS EN EL DIAGNOSTICO DE MONONUCLEOSIS INFECCIOSA	37
- MATERIAL Y METODOS	58
- EXPERIMENTOS	70
- RESULTADOS	77
- INTERPRETACION DE RESULTADOS	87
- DISCUSION Y CONCLUSIONES	89
- BIBLIOGRAFIA	94

INTRODUCCION

La relación etiológica entre el virus Epstein-Barr (EBV) y la Mononucleosis Infecciosa está firmemente establecida desde 1968 y ha sido confirmada repetidamente en los últimos años. (1)

Un problema muy común y que se presenta con mucha frecuencia en la práctica médica, es el de proporcionar el tratamiento adecuado a pacientes que presentan los siguientes síntomas: faringitis, fiebre, adenopatía, fatiga.

Nos hemos encontrado con el hecho de que en México este problema se ha tratado siempre como una gripe común y no se ha tomado en cuenta que del 10 al 20% de estos pacientes pueden estar presentando un cuadro típico de Mononucleosis Infecciosa. Es de vital importancia en nuestros días detectar esta enfermedad tanto en niños como en adultos jóvenes ya que, entre otras cosas, la presencia de anticuerpos en contra del virus Epstein-Barr durante la etapa adulta puede llegar a servir como un método inmunológico de prevención de los procesos carcinogénicos, como son el linfoma de Burkitt y el cáncer de nasofaringe, en estos pacientes.

Las propiedades del virus Epstein-Barr han llevado a la necesidad de utilizar técnicas de inmunofluorescencia para su identificación completa y correcta en cultivos celulares utilizando para ello la detección de anticuerpos para este virus. --

Por medio de estas técnicas se han detectado cuatro antígenos de gran importancia serodiagnóstica:

- 1.- Antígeno de la cápside viral (VCA): este antígeno se encuentra en todas las células que produzcan el virus de Epstein-Barr. Para detectar y titular sus anticuerpos, se usan frotis de células productoras de una línea celular linfoblastoide (2). Las inmunoglobulinas G para el antígeno de la cápside viral se encuentran en el suero de todos los individuos que hayan estado en contacto con el virus Epstein-Barr y sean sus portadores. Inmunoglobulinas M para el antígeno de la cápside viral se encuentran solamente en pacientes con infección primaria con el virus de Epstein-Barr y inmunoglobulinas A para el antígeno de la cápside viral se encuentran en títulos muy elevados en pacientes con carcinoma de nasofaringe (3).

- 2.- Antígenos tempranos: difuso y restringido: los antígenos tempranos del virus Epstein-Barr se encuentran continuamente como los únicos componentes que sintetiza una célula no productora de una línea celular linfoblastoide (4). La diferenciación entre los anticuerpos para los dos componentes que forman el complejo de antígenos tempranos permite establecer una relación entre las enfermedades causadas por el virus Epstein-Barr, o sea, durante el curso de la Mononucleosis Infecciosa se observan inmunoglobulinas G transitorias para el antígeno difuso. En carcinoma de

nasofaringe aparecen inmunoglobulinas G y A para el antígeno difuso que persisten si la terapia utilizada no es satisfactoria. En contraste, anticuerpos para el antígeno restringido se encuentran generalmente como dominantes en pacientes con linfoma de Burkitt (5).

3.- Antígeno nuclear (EBNA): los anticuerpos para el antígeno nuclear se encuentran en todos los portadores del virus Epstein-Barr; nunca se van a poder observar títulos de estos anticuerpos durante la fase aguda de la Mononucleosis Infecciosa.

Se podrían detectar también antígenos de membrana pero no se les considera de importancia serodiagnóstica (6).

En una muestra de suero se puede identificar serológicamente una infección primaria debida al virus Epstein-Barr si fue tomada durante la fase aguda de la enfermedad, por altos títulos de inmunoglobulinas M y G para el antígeno de la cápside viral, acompañados generalmente por anticuerpos para el antígeno difuso y la ausencia de anticuerpos para el antígeno nuclear. Este serodiagnóstico se puede confirmar posteriormente por la disminución en el título de inmunoglobulinas M y anticuerpos para el antígeno difuso hasta niveles ya no detectables y la aparición de anticuerpos para el antígeno nuclear (7).

Estas pruebas serológicas específicas para los diferentes antígenos del virus Epstein-Barr no son necesarias en ca--

tos típicos de Mononucleosis Infecciosa debido a la respuesta inmune que da origen a anticuerpos heterófilos, los cuales se pueden detectar por la prueba de Paul-Bunnell-Davidsohn para aglutininas de cordero, mismos que, con pocas excepciones, son específicos para Mononucleosis Infecciosa. Se pueden determinar también con pruebas comerciales específicas para esta enfermedad.

El propósito de este trabajo es la comparación entre dos pruebas diferentes de aglutinación pasiva útiles en el diagnóstico de Mononucleosis Infecciosa en una población universitaria, siendo esto importante por la frecuencia con que se presenta esta enfermedad en jóvenes de edad universitaria.

Los aspectos hematológicos no serán discutidos a fondo ya que se necesitaría realizar un estudio independiente y muy extenso para ello.

El reporte está basado en los estudios serológicos de 150 pacientes que se encuentran entre 20 y 25 años y a los que nunca se les diagnosticó clínicamente la presencia de Mononucleosis Infecciosa.

GENERALIDADES

La Mononucleosis Infecciosa es una enfermedad linfoproliferativa y se diferencia de un linfoma por su regresión espontánea. Clínicamente ha sido definida como:

1. Encuentros o síntomas clínicos compatibles con la enfermedad son: faringitis, linfadenopatía y esplenomegalia.
2. Una leucocitosis con 50% o más de linfocitos y un 10% de monocitos atípicos.
3. Presencia de anticuerpos heterófilos
4. Presencia de anticuerpos específicos para el virus de Epstein-Barr

La presentación clínica de Mononucleosis Infecciosa en adolescentes y adultos jóvenes generalmente incluye los síntomas ya mencionados, no así los niños. En éstos, de manera regular falta algún síntoma o no aparece ninguno de los tres. Aún así, van a crear anticuerpos específicos contra el virus de Epstein-Barr aunque la presencia de anticuerpos heterófilos es muy rara en los niños (14).

En este capítulo nos ocuparemos de los aspectos generales de la Mononucleosis Infecciosa.

I - ANTECEDENTES

En 1889, Emil Pfeiffer, en Weisbaden, Alemania describe una enfermedad a la que llama fiebre glandular (Drüsenfieber). Algunos de los pacientes que Pfeiffer describe padecían una enfermedad de corta duración caracterizada por fiebre y adenopatía cervical mientras que otro grupo presentaba una enfermedad de período más largo (aproximadamente 10 días), con garganta -- irritada, inflamación del hígado y bazo, además de las características que presentaba el otro grupo. Pfeiffer no pudo caracterizar más profundamente esta enfermedad debido a que en esa época no se conocía la cuenta diferencial de leucocitos. (Este método se comienza a utilizar 30 años después).

En 1920, Sprunt y Evans describen el primer caso, habiendo comentado una enfermedad con las características clínicas de fiebre, faringitis, adenopatía cervical y hepatoesplenomegalia. Investigan los cambios en una cuenta diferencial de leucocitos y la aparición de monocitos deformes y atípicos. Llamam a esta -- enfermedad "MONONUCLEOSIS INFECCIOSA". La descripción se confirma después por muchos autores tales como: Bloedorn, Houghton (1), Cross J. Q. (2), Longcope W.T. (3), Morse (4). Una presentación definitiva de los hallazgos hematológicos fue hecha en 1932 por Downey y McKinlay.

En 1925, Davidsohn reporta la aparición de anticuerpos para glóbulos rojos de cordero (Ac heterófilos) en pacientes con

enfermedad del suero. En 1932, Paul y Bunnell reportan la presencia de dichos anticuerpos en pacientes con Mononucleosis Infecciosa durante un estudio de pacientes con fiebre reumática.

En 1937, Davidshon reporta el uso de riñón de cobayo y eritorictos de buey para el diagnóstico diferencial de la Mononucleosis Infecciosa. Se siguen haciendo estudios para que en 1964, en pacientes con linfoma de Burkitt, Epstein, Achoni y Barr, reportan que el causante de esta enfermedad es un virus de tipo herpes al que llaman Virus Epstein-Barr (EBV). En 1966, G. y W. Henle encuentran que los anticuerpos contra este virus se hallan en pacientes normales. En 1968, descubren en un paciente que antes de estar enfermo con MI no presentaba anticuerpos contra EBV, pero después de la convalecencia presentaba un alto título de estos anticuerpos y es entonces, en ese mismo año, que se relaciona a EBV como el agente etiológico de MI (5), (6) y (7).

II - ETIOLOGIA

A). Pruebas de que el EBV es causante de la Mononucleosis Infecciosa (MI):

El agente etiológico, como observamos anteriormente, fue descubierto a la par en 1968 por G. y W. Henle y por Niedermans y es el virus de Epstein-Barr.

Evidencias de que el virus EBV es el agente etiológico:

1.- Falta de anticuerpos para EBV en personas antes de que apa

rezca la infección típica de MI, es decir, que sólo va a atacar a personas que carezcan de estos anticuerpos. Pero si estos anticuerpos están presentes, la inmunidad es de por vida.

2.- Los pacientes desarrollan altos títulos de anticuerpos -- contra EBV después de haber sufrido una MÍ-heterófilo positiva.

3.- Aparecen anticuerpos contra el antígeno temprano de EBV durante el curso de la MI.

4.- Aparición de IgM específicos contra EBV en la fase aguda y desaparición de éstos en la fase de convalecencia.

5.- La epidemiología de la MI y la seroepidemiología del EBV están estrechamente relacionadas.

6.- Aparición de las IgG específicas para el EBV aparecen durante la fase de convalecencia y permanecen hasta años después de la enfermedad.

7.- Se puede aislar al EBV mediante lavados de garganta de pacientes con MI desde la aparición de la enfermedad hasta 18 meses o más después de ésta.

8.- Transformación in vitro de linfocitos de personas normales usando sangre de pacientes con MI en la fase aguda. También se da la transformación de líneas celulares de sangre de cordón fetal.

9.- Ocorre seroconversión en animales infectados con sangre de estos pacientes.

10.- Aparición de MI en gente normal después de transfusiones de sangre que haya estado infectada con MI. (Inclusive con sangre de pacientes que hayan sufrido MI de 5 a 10 años antes de la transfusión).

B) El virus de Epstein-Barr.

El virus de Epstein Barr es un miembro del grupo herpes. Bajo el microscopio electrónico, EBV aparece como el resto de los virus pertenecientes a este grupo. Se han podido identificar dos tipos de EBV.

Los virus han sido cultivados únicamente en cultivos de linfocitos de primates en suspensión, y en la mayoría de los cultivos, se encuentran pocos virus extracelulares. Estas características han dificultado la caracterización química y física del virus.

Todos los linfocitos de cultivos continuos hechos con sangre de pacientes con MI o biopsia del linfoma de Burkitt contienen el genoma EBV (Epstein-Barr virus), mismo que se demuestra por hibridación de DNA o por la presencia del Ag (antígeno) EBNA (antígeno nuclear), pero solamente 1 al 3% de las células presentan el Ag de la cápside viral. Clonas celulares crecidas de estos cultivos tampoco presentan el virus sino solamente el genoma viral.

Una línea celular proveniente del linfoma de Burkitt llamado P3U Pulvertoft y sus derivados clonales HR1K producen

más virus extracelulares que cualquier otra línea celular.

Algunas de las propiedades biológicas del EBV son muy importantes epidemiológicamente. La capacidad de persistencia de una infección lítica en la garganta del paciente ofrece una fuente de transmisión sumamente importante (esta es la razón - por la que entre estudiantes universitarios se le llame la enfermedad del beso). El hecho de que la mayoría de los virus en la garganta sean intracelulares, es el motivo por el que se necesita un contacto directo oral y no se transmita por gotas de saliva.

La razón por la que en los niños no es necesario el contacto directo para que ocurra transmisión no se ha explicado correctamente hasta este momento. Pero se cree que se debe a que producen más virus en la faringe, a que se pueda transmitir de manera oro-fecal, y a la poca higiene de que son objeto.

La capacidad del EBV para permanecer en una forma no reproductiva (latente) da origen a la aparición frecuente de MI -- cuando existe algún tipo de inmunosupresión como ocurre en las siguientes enfermedades: malaria, transplantes renales y otras condiciones que requieran inmunosupresión terapéutica. El linfoma de Burkitt y el cáncer de nasofaringe causado por este virus se debe a las condiciones de inmunosupresión antes mencionadas.

La larga persistencia del EBV en la sangre es la causa

de la transmisión de esta enfermedad por transfusiones sanguíneas. Es de gran importancia la capacidad del EBV para transformar linfocitos sanos de primates induciendo en ellos un potencial ilimitado de proliferación llamado "Inmortalización". Los linfocitos resultantes se denominan linfocitos "I".

Para una mejor comprensión de los efectos del EBV, deben tomarse en cuenta la edad del paciente, el ambiente, la respuesta inmune del paciente y otros factores que veremos a continuación.

C. Estructura del virus.

Las partículas virales inmaduras tanto en núcleo como en citoplasma de células infectadas miden 75 a 80 micras. Las partículas maduras sólo se encuentran en el citoplasma y su diámetro es de 110 a 120 micras.

El genoma viral está compuesto de ácido desoxiribonucleico y la cápside viral tiene simetría icosaédrica con 162 capsomeros. El virus infecta exclusivamente a las células del sistema linforetico (9), (10).

III - VIAS DE TRANSMISION (mecanismos y rutas):

La vía de transmisión más importante en adultos jóvenes es por contacto oral íntimo mediante besos con intercambio de saliva. Lo anterior fue establecido por Hoogland en 1955 (8). Dicho concepto está respaldado por tres tipos de evidencia circunstancial:

- 1.- El contacto personal cercano entre compañeros de cuarto no da lugar a la transmisión de MI, es decir, a casos secundarios de la enfermedad.
- 2.- Cuando hay historia de contacto oral y transcurrido el período de incubación apropiado, aparece la MI.
- 3.- La presencia del virus durante varios meses en la faringe de los enfermos.

La larga duración de la excreción del virus en la garganta no permite saber con seguridad la sucesión entre dos o más casos.

La excreción viral ocurre en presencia de Ac (anticuerpos) circulantes lo que indica que la inmunidad humoral no juega ningún papel de regulación de este proceso. El mecanismo de transmisión que da como resultado la aparición tan alta de Ac en niños, no se ha definido todavía. Probablemente se debe a la transferencia de saliva en los dedos, juguetes y otros objetos que ayudan a que se extienda la enfermedad. Tal vez también se deba a que excretan mayor cantidad de virus que los adultos.

Debido al bajo índice de contagio en adultos jóvenes, no es necesario tomar medidas de aislamiento cuando se presenta la enfermedad (5), (6), (7).

IV. PATOGENESIS.

El período de incubación de la MI es de 4 a 7 semanas para los adultos y de 4 a 10 días en los niños. La patogenicidad

dad de la MI es intrigante debido a sus diferentes formas de aparición y a su oncogenicidad.

La patogenicidad hipotética se presenta en la Tabla I.

La infección primaria natural ocurre generalmente en los niños pequeños, sin síntomas clínicos aparentes pero va acompañada de seroconversión e inmunidad permanente.

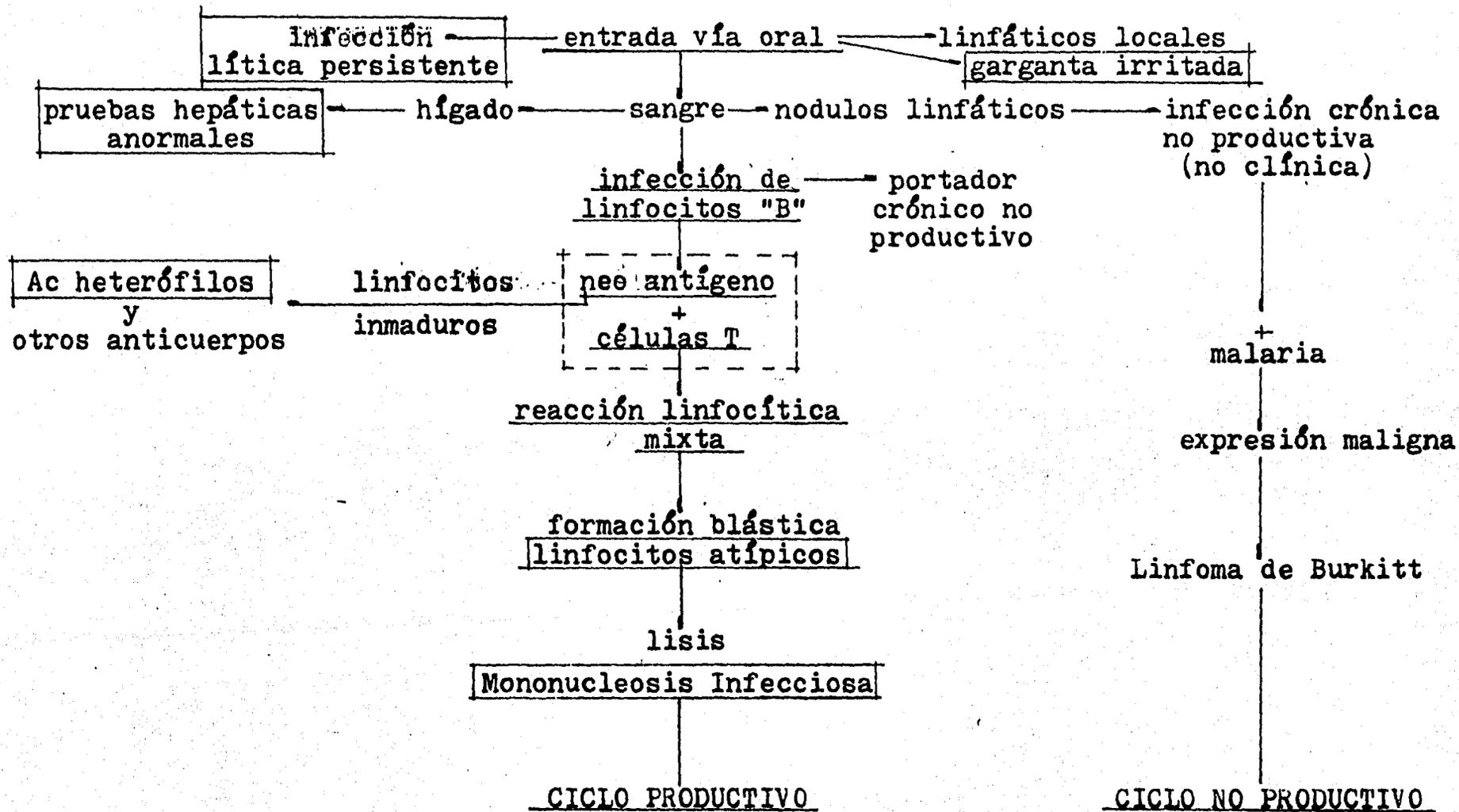
Si esta infección primaria ocurre en adultos jóvenes, se tiene MI en un 50% de las veces, con la presencia de todos los síntomas clínicos e inclusive con aparición de algunas complicaciones. [7]

Etapas Prodromales

Cuando el EBV llega a la boca de una persona susceptible o sea una persona con Ac-EBV negativa, es común que los virus lleguen al cuerpo por infección de los linfocitos B que se encuentran en el tejido linfático del anillo de Waldeyer. Se ha comprobado ya que las células B tienen receptores específicos para el virus y se ha visto que pueden llevar el genoma viral in vivo.

Al instalarse en la orofaringe un ciclo reproductivo del virus, la MI se convierte en una enfermedad sistemática. Se cree que entonces el virus resultante del ciclo reproductivo pasa a la circulación periférica. La manera de diseminación puede ser una viremia que infecta todos los linfocitos B que encuentra,

TABLA I



Cita: (7)

o bien, que los linfocitos B infectados originalmente se diseminan y vayan liberando el virus. En cualquiera de los dos casos, la replicación del virus lleva a la muerte de las células infectadas y permite que se liberen gran cantidad de virus, causando así estimulación de una respuesta inmunológica específica [7].

Fase aguda.

El ciclo replicativo en la orofaringe continúa durante esta fase y el EBV se puede detectar en fluido bucal en el 75 al 92% de los pacientes. Se ha encontrado la diseminación del virus desde 8 días después de la aparición de la enfermedad.

Se pensaba que los linfocitos B de la región orofaríngea eran los únicos involucrados, pero se ha visto en esta fase que las glándulas salivales tienen una gran influencia en la diseminación.

Conforme la enfermedad se va agudizando, se van desarrollando Ac y no se puede aislar el virus directamente de la sangre del paciente; en esta fase las IgG contra la cápside viral llega a su pico y van desapareciendo poco a poco. Estas IgG alcanzan su título máximo a las dos semanas y persisten de por vida en un nivel reducido. Los Ac contra el Ag de membrana que son los Ac neutralizantes alcanzan su máximo después, pero permanecen a este nivel de por vida. También hay una respuesta al Ag temprano del tipo difuso en el 80% de los pacientes. Asimismo, se desarrollan Ac para el Ag nucleico (EBNA). Estos Ac, en un

principio, son del tipo que no fijan complemento; desaparecen para dar lugar después a Ac-anti EBNA fijadores de complemento, los cuales permanecen de por vida en el 100% de los pacientes. Ninguno de los Ac anteriores tienen relación alguna con la aparición de Ac heterófilos de los que hasta la fecha no se ha logrado determinar su relación con el virus de Epstein-Barr.

Aunque no se puede aislar virus de la sangre del paciente, sí se pueden obtener líneas celulares que contengan el genoma del EBV a partir de esta sangre.

Cuando hay infección latente en el linfocito B, existe producción de Ag tempranos; de los Ag tardíos solamente se puede detectar uno al que se le llama "Ag de membrana detectado en linfocitos" (LYDMA). No se sabe a qué mecanismo responde, pero se ha podido detectar que el LYDMA es el responsable de las manifestaciones clínicas de la enfermedad y se cree que parte de este mecanismo se pone en marcha cuando al Ag LYDMA reconoce a las células T asesinas y estimula su multiplicación; lo que trae como consecuencia la hiperplasia linfo-nodular. También es responsable de la hepatoesplenomegalia y de los síntomas que se presentan en la garganta. Se ha visto además que la mayoría de las células sanguíneas atípicas que se presentan en la mononucleosis son linfocitos T.[7].

Resolución y convalecencia

La producción continua de Ac específicos contra el virus y células T mediadoras hacen posible que haya un control de la

enfermedad. La gran cantidad de células B infectadas son destruidas por las células T asesinas, mismas que van disminuyendo en número debido a la falta de producción del virus que estimulaba su formación y por consiguiente también va disminuyendo la adenopatía y la hepatoesplenomegalia. Al mismo tiempo, los Ac neutralizantes del virus y los linfocitos T reducen el número de células infectadas en la orofaringe. Con esto último, van desapareciendo la irritación de la garganta así como las células atípicas. [7]

Legacía

Después de la convalecencia, y de por vida, existirá una producción continua del virus a un nivel muy reducido en la orofaringe, así como el escape de algunos linfocitos B con infección latente, los que expresan el Ag LYDMA en el torrente sanguíneo.

La replicación a un bajo nivel del virus en la orofaringe da como resultado que haya de por vida Ac anti-VCA,MA (neutralizantes) y anti-EBNA. [7]

Mononucleosis infecciosa letal

Hasta 1966, se habían registrado 50 pacientes afectados con MI que murieron a causa de las complicaciones. Esto se debe a un síndrome (Duncan) en el que un cromosoma X relacionado con ciertas deficiencias inmunológicas provoca una infiltración ilimitada en todo el cuerpo, del virus. Lo anterior se produce

cuando el paciente carece de inmunidad humoral y celular [7].

Infección clínicamente inaparente.

En infecciones primarias con EBV, sin manifestaciones clínicas, se lleva a cabo el mismo mecanismo. Como en la MI - sintomática, el virus tiene acceso al cuerpo por vía oral y se establece la infección en la orofaringe; aún así hay individuos genéticamente resistentes a los mecanismos inmunológicos que -- ocasionan la enfermedad clínica. Es decir que el mismo cuerpo limita la producción de LYDMA y linfocitos B infectados. Se crea una situación igual a la de convalecencia, esto es, habrá títulos moderados de Ac anti-VCA, MA y EBNA con pocos linfocitos circulantes que contenga el genoma de EBV. (5), (6), (7).

V. SINTOMATOLOGIA.

La principal molestia de una paciente con MI es garganta irritada y malestar general. Entre un 15 y 20% de los pacientes no padecen garganta irritada pero pueden presentar otro tipo de malestares generales. La garganta irritada no es nunca severa - y la fatiga y malestar general coinciden con los malestares de cualquier enfermedad respiratoria causada por estreptococo o estafilococo.

Fiebre, crecimiento de los nódulos linfáticas, hiperplasia linfática en la faringe e inflamación de la faringe son los cuatro signos más comunes en la MI. La gravedad y variedad de -- los síntomas varían según la edad del paciente como veremos a --

continuación:

1.- Adolescentes y adultos jóvenes: después de un período de incubación de 30 a 50 días (variando según el paciente), - la MI se manifiesta con una enfermedad primaria que dura - de 3 a 5 días y en la que habrá dolor de cabeza, fatiga, - cuerpo cortado, anorexia y un desagrado sumo por el olor a cigarro. En algunos casos se presente náusea y vómito y - en escasas ocasiones, aunque sí se ha detectado, fotofobia. Posteriormente puede aparecer fiebre que puede durar de 7 a 10 días e inclusive de 2 a 5 semanas. La temperatura se eleva a 39/40 grados centígrados en las tardes o en las noches.

El síntoma más común que persiste después de la garganta - irritada y aparece después de la enfermedad primaria en el 50% de los pacientes, es una faringoamigdalitis exsudativa que puede llegar a durar de 5 a 10 días y puede, en ocasiones, ir asociada a una membrana en la faringe que sugeriría difteria. En la mayoría de los pacientes aparecen petequias en el paladar.

La linfadenopatía simétrica se presenta invariablemente pudiendo ser cervical o generalizada. La diagnosticada como de mayor importancia es la linfadenopatía cervical posterior. Los nódulos linfáticos involucrados se ven firmes y discretamente --suaves. El tamaño que lleguen a tomar va a variar desde moderado hasta exagerado, llegando en algunos casos a lo que se conoce como "Bull Neck" o cuello de toro. El pico máximo de inflamación

se alcanza en la segunda semana de la enfermedad. Se presenta esplenomegalia en el 50% de los pacientes. La hepatomegalia se va a poder detectar en el 10 a 20% de los pacientes.

Por otra parte, se encontrará en el 10% de los pacientes exantema en forma de pápulas eritomasas en el abdomen y extremidades.

2.- Niños: el período de incubación en los niños es mucho menor. Puede durar de 10 a 14 días. Esto se ha comprobado pues títulos diagnósticos de Ac anti EBV ocurren muy frecuentemente durante la niñez. En cambio, en adultos, estos Ac aparecen después de las manifestaciones clínicas.

Es muy poco común que la sintomatología característica de la MI aparezca en los niños en niveles socioeconómicos medios y bajos, aun cuando entre el 50 y el 85% de estos niños presentan altos títulos de Ac contra EBV desde los 4 años de edad. Adicionalmente, aun cuando hay manifestaciones morfológicas en la sangre de estos niños, no hay presencia de Ac heterófilos. Todos los Ac que aparecen son específicos de EBV. Inclusive en niños menores de tres años no es posible detectar Ac heterófilos ni durante la fase aguda de la infección por EBV.

Después de los tres años (4 a 8 años), en el 50% de los casos se encuentran Ac heterófilos y después de los 8 años, casi todos los niños son seropositivos.

Un médico debe pensar en la MI cuando un niño presenta fiebre, linfocitosis, hepato e esplenomegalia, linfadenopatía, diarrea, vómito y amigdalitis o síntomas de enfermedad respiratoria en donde no se puede aislar un agente bacteriano que la ocasione.

Aunque todos los síntomas mencionados anteriormente pueden presentarse, la mayoría de los niños padecen la MI asintómicamente o con síntomas de un resfrío común.

3.- Personas adultas y ancianos: en personas mayores de 40 -- años, es muy raro encontrar pacientes que sean seronegativos para EBV, pero las personas que permanecen seronegativas son muy susceptibles a contagios de la MI.

En los adultos mayores el período febril es mucho más -- largo (22 a 30 días) y tienen síntomas mucho más severos que los jóvenes. Presentan problemas graves del hígado que se determinan porque el nivel de las bilirrubinas se eleva considerablemente al igual que otros valores de funciones hepáticas. En contraste con los adultos jóvenes, los adultos mayores rara vez presentan linfadenopatía cervical y células sanguíneas atípicas.

A pesar de la baja incidencia de la MI en personas mayores, debe tomarse en cuenta esta enfermedad cuando se presente fiebre, garganta irritada, mialgia y bajas funciones hepáticas. En la Tabla II se muestran los síntomas más comunes de la MI. (5), (6), (7), (12).

TABLA II

SINTOMATOLOGIA DE MONONUCLEOSIS INFECCIOSA

Linfoadenopatías

Fiebre

Faringitis

Esplenomegalia

Dolor de cabeza

Hepatomegalia

Postración

Vómitos

Dolor abdominal

Rigidez o dolor de nuca

Erupciones cutáneas

Epistaxis

Ictericia

Pérdida de peso

Diarrea

Cita: (15)

VI - ENCUENTROS MORFOLOGICOS EN LA SANGRE.

Se observa tanto leucocitosis absoluta como linfocitosis relativa en pacientes con MI. En general, se encuentran - 4,500 o más linfocitos incluyendo desde 1,000 linfocitos atípicos por milímetro cúbico.

Los criterios morfológicos mínimos son:

- 1.- 50% de células mononucleares (linfocitos y monocitos).
- 2.- Por lo menos 10 linfocitos atípicos por cada 1,000 células blancas.
- 3.- Marcada heterogenicidad linfocítica.

Durante el período febril se llegan a encontrar de 20 a 60 células atípicas por cada 100 células blancas, lo que persiste, en ocasiones, por varias semanas.

Los hallazgos citados se encuentran tanto en pacientes que presentan Ac heterófilos como en los casos donde no se encuentran estos Ac. La aparición de células atípicas también -- puede ocurrir en casos de toxoplasmosis, rubeola y algunas otras enfermedades virales.

A pesar de que no existe especificidad en la aparición de estas células, un hematólogo experto puede diferenciar a la MI o síndromes causados por EBV de otras linfocitosis atípicas. (13), (15).

Las células atípicas muestran características que pueden resumirse de la siguiente manera:

- 1.- Hiperplasia o aumento en su número.
- 2.- Hipertrofia o aumento de tamaño de las células individuales.
- 3.- Cambios nucleares caracterizados por una densidad mayor de cromatina y por alteraciones formales. Hay dentelladuras profundas y muchos linfocitos lobulados, pareciéndose en -- cuanto a su aspecto general, a los monocitos. El citoplasma presenta basofilia, aumento de los gránulos azurófilos y a menudo una notable degeneración vacuolar. Algunas células se parecen a los plasmocitos, otras tienen nucleolo. (14).

VII - PRESENCIA DE ANTICUERPOS HETEROFILOS.

El término Ac heterófilos se aplica a los Ac que tienen la capacidad de reconocer varios Ag diferentes a los que los produjeron, es decir, que los Ac heterófilos reconocen Ags diferentes a los que produjeron la respuesta inmune. Su existencia fue descubierta por Frossman en 1911, pero se le dió aplicación clínica hasta 1923 cuando Davishon comenzó a estudiarlos.

Se ha observado que ciertas sustancias como emulsiones de células obtenidas de riñon de cobayo, gato, perro, caballo y otros mamíferos; aves y algunos pescados inyectados en un animal apropiado como el conejo, son capaces de formar no sólo Ac específicos, sino también un número considerable de Ac inespecíficos en forma de hemolisinas y aglutininas antieritrocitos de carnero. Químicamente, el Ag capaz de producir esta respuesta debe ser un complejo lipoprotéico. Y para que ocurra esta respuesta se nece

sita forzosamente el Ag completo ya que si se inyecta solamente la parte lipídica, el suero obtenido reacciona con el Ag in vitro pero no hay presencia de Ac heterófilos (funciona entonces esta parte lipídica como un hapteno).

Muy pocas bacterias tienen la capacidad de producir Ac heterófilos. Por esta razón, se descartan en el diagnóstico de una enfermedad que presente elevación de Ac heterófilos.

El fenómeno de producción de Ac heterófilos ocurre en el humano cuando se le inyecta alguno de los Ags antes mencionados pues son capaces de producir esta respuesta. Por ejemplo, ocurre producción de Ac heterófilos en pacientes a los que se les ha inyectado suero de caballo en forma de alguna vacuna o anti-suero. Lo anterior fue demostrado por primera vez por Davidshon. También demostró que este tipo de aglutininas se elevaban considerablemente cuando después de una inyección de suero de caballo, el paciente desarrollaba la reacción de hipersensibilidad llamada Enfermedad del Suero, a diferencia de los que no sufrían ninguna enfermedad alérgica. En los casos de la enfermedad del suero ocasionada por la inyección de un suero bovino, no se presentaba producción de Ac heterófilos.

Bunnell y Paul, después del descubrimiento de Davidshon, comenzaron a buscar estos Ac heterófilos en sangre de pacientes con fiebre reumática (ya que los síntomas de esta enfermedad eran muy parecidos a los de la enfermedad del suero) pero observaron que no había un aumento apreciable de estos Ac. Dos de las per-

sonas que funcionaban como controles de estos estudios padecieron MI durante el estudio, por lo que fue posible observar que el incremento de estos Ac heterófilos era igual o mayor que -- cuando ocurría enfermedad del suero. Así fue como se comenzó a utilizar el título de Ac heterófilos como diagnóstico clínico para la MI. (15).

En 1932, Davishon estudia la diferencia entre los Ac heterófilos de la MI y de los de la enfermedad del suero encontrando los siguientes resultados:

- 1.- Los anticuperos de la MI no son absorbidos por el Ag de -- Frossman (riñón de cobayo); no son entonces Ac del tipo - - Frossman.
- 2.- Los Ac de la MI son absorbidos por hematies cocidos de buey.
- 3.- Los Ac de la enfermedad del suero sí son absorbidos por el Ag de Frossman, por lo que son Ac del tipo Frossman.
- 4.- Los Ac de la enfermedad del suero no son absorbidos por hematies de buey cocinados. (16).

Se tratará más a fondo lo relacionado con el diagnóstico de estos Ac en el capítulo referente a las técnicas que se utilizan para el diagnóstico clínico de la Mononucleosis Infecciosa.

VIII - DIAGNOSTICO DE LABORATORIO

En el diagnóstico del laboratorio se van a considerar - varios puntos:

- I.- Hallazgos morfológicos en la sangre: ya han sido discutidos anteriormente.
- II.- Cambios serológicos: se deben buscar dos categorías de Ac: los específicos para EBV y los Ac heterófilos.

1.- Anticuerpos específicos para EBV.- se emplean cinco técnicas basadas en inmunofluorescencia. La primera se usa con fines epidemiológicos y es un experimento ideado por G. y W. Henle mediante inmunofluorescencia indirecta para el Ag de la cápside viral. Permite verlo como un indicador de la susceptibilidad e inmunidad para la MI. Aún así, no se puede emplear rutinariamente en un laboratorio de diagnóstico clínico ya que los Ac para este Ag aparecen cuando el paciente no requiere de cuidados médicos; además de que sólo existen títulos fácilmente detectables en un 15 al 20% de los casos.

La segunda prueba es para los Ac del "Ag temprano". Consiste también en una inmunofluorescencia y la presencia de este Ac es indicativo de una infección reciente y activa. Por desgracia, desde el punto de vista diagnóstico, no es muy recomendable pues estos Ac solamente aparecen en un 75% de la población de pacientes con MI. Por otra parte, los Ac para el "Ag temprano" se encuentran también en pacientes con linfoma de Burkitt y cáncer de nasofaringe.

La tercera prueba para EBNA consiste en una técnica que combina la inmunofluorescencia indirecta con la fijación de com

plemento. No es muy confiable en vista de que el título de Ac sube al mes, o más, de la aparición de la enfermedad aunque persista de por vida.

La cuarta se lleva a cabo mediante la técnica de inmunofluorescencia indirecta para las IgM específicas para el EBV y es el método más recomendable en casos de MI heterófilo-negativa.

Por último, la quinta prueba se lleva a cabo por fluorescencia de membrana pero es demasiado complicada para el uso diario en un laboratorio de diagnóstico clínico.

Existen otras pruebas que utilizan fijación de complemento y virus o Ag solubles así como pruebas de neutralización basadas en inhibición por contacto y algunas otras de inmunodifusión. (17), (18), (19), (6).

2.- Anticuerpos heterófilos.- Se practican tres métodos para detectar estos Ac:

a) Prueba clásica de Paul-Bunnell utilizando eritrocitos de cordero y efectuando previamente la absorción diferencial de Davidshon.

b) Prueba de hemolisinas de buey ideada por Bailey y Taffel.

c) Prueba enzimática de Wollner en la que se eliminan los receptores específicos para los Ac heterófilos usando papaina.

Existen un gran número de pruebas comerciales para la detección de Ac heterófilos fundadas en alguno de los tres - métodos anteriores.

La presencia de un título mayor de 1:56 de Ac heterófilos y el encuentro de células blancas atípicas son señales suficientes para diagnosticar positivamente a la MI.

III.- Pruebas de función hepática: entre el 83% y el 100% de los pacientes con MI sufren de anormalidades en el funcionamiento hepático. Es particularmente importante en niños donde no se encuentre presencia de Ac heterófilos. Se elevan moderadamente la GOT, la fosfatasa alcalina y las bilirrubinas pero todas vuelven a su normalidad en un lapso de dos semanas después de la infección.

IV.- Inmunoglobulinas: se elevan las IgM, IgA en el 100% de los pacientes y las IgG en el 50% durante la infección activa de la MI. En algunos pacientes se produce factor reumático y dan pruebas de sífilis positivas.

IX - PERSISTENCIA DE ANTICUERPOS

La prevalencia de los Ac para EBV ha sido determinada en muchos países del mundo y en diferentes edades. En la figura I se indica la prevalencia en niños de 4 a 6 años.

En zonas subdesarrolladas y tropicales, la mayoría de los niños han sufrido infección por EBV para cuando alcanzan los seis años de edad. Pero debido a que esta enfermedad se

FIGURA III

PORCENTAJE DE ADQUISICION DE LA MI A DIFERENTES EDADES

EDAD*	No. INDIVIDUOS	%POSITIVIDAD
0-0.5	25	40
0.6-0.99	31	3
1-3	90	38
4-10	74	86
11-20	49	86
21-40	40	95
41--	18	100

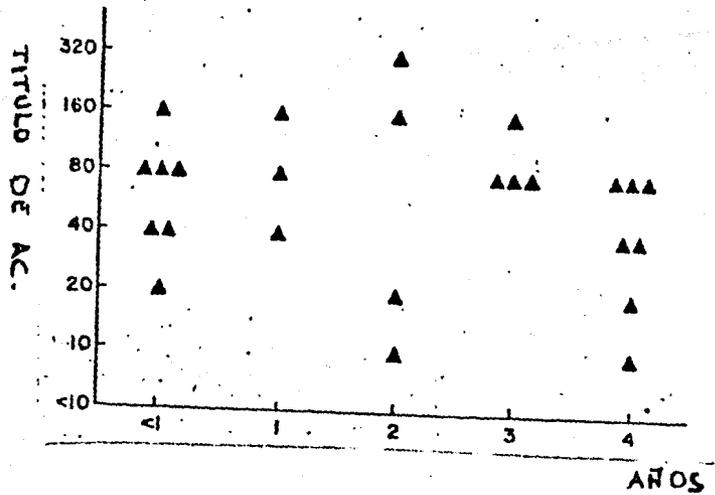
*edad en años

cita: (16)

FIGURA I

PERSISTENCIA DE ANTICUERPOS EN NIÑOS

DE 4 A 6 AÑOS



cita: (15)

FIGURA II

PREVALENCIA DE ANTICUERPOS EN ADULTOS JOVENES EN

DIFERENTES POBLACIONES

POBLACION	EDAD	AÑOS*	%ANTICUERPOS
E.U.A.**	17-22	4	48
E.U.A.***	20-34	2	76
FILIPINAS	17-22	4	78
COLOMBIA	18-20	3	87

*Número de años que se realizó el estudio.

**Estudiantes universitarios

***Reclutas voluntarios

cita: (15)

presenta asintomática, no se reconoce a la MI como una entidad clínica.

En la figura II se muestra la prevalencia de estos Ac en adultos jóvenes de diferentes países y observamos en ella un patrón socioeconómico igual que en la figura anterior. La incidencia depende, de manera notable, del nivel de desarrollo y cultural del país y más específicamente, de la región donde se habite. (6)

X - MORTALIDAD.

La MI es raras veces una enfermedad letal. Hasta 1978 sólo se habían reportado setenta casos de muerte en los Estados Unidos de América y, generalmente, estas muertes se debieron a la presencia de complicaciones y no por la enfermedad en sí misma. (6).

XI - MORBILIDAD.

Como el 80% de los casos no se llega a diagnosticar, la MI tiene pocos casos reportados en el mundo. Estos son los reportados por el Ejército Norteamericano en lugares de reclutamiento y no se toman en cuenta como referencias importantes. (21)

XII - COMPORTAMIENTO EPIDEMICO.

Hasta la actualidad no se ha detectado una epidemia de MI que satisfaga, en su totalidad, los requisitos y criterios

diagnósticos apropiados. Sin embargo, las epidemias más importantes reportadas son las siguientes:

- 1896, en el oeste de los Estados Unidos de Norteamérica
- 1926, Falkland Islands, Inglaterra
- 1930, en Wisconsin, Estados Unidos de Norteamérica
- 1970, en Oxford, Inglaterra, en un hospital de emergencias.

Como antes mencionado, hubo una gran incidencia de MI en los campamentos militares durante la segunda guerra mundial.

Las epidemias son poco probables debido a que la MI ataca a la mayoría de los niños entre los 4 y los 6 años de edad, o bien, la adquieren los adolescentes por medio de contacto íntimo bucal. La alta prevalencia de los Ac contra EBV en los niños, sugiere que el virus se expande apropiadamente en la niñez para proporcionar una inmunidad de por vida. Otro factor que evita la presencia de epidemias es el hecho de que se requiere contacto oral íntimo para que haya transmisión del virus. (6)

XIII - DISTRIBUCION GEOGRAFICA.

Las infecciones por EBV ocurren en todo el mundo. Se han demostrado los Ac contra los EBV en poblaciones tan lejanas como las habitadas por tribus del Brasil y Alaska; inclusive en lugares donde no hay influenza ni sarampión. La enfermedad ocurre en edades tempranas en países subdesarrollados y en adolescentes en países desarrollados. (6)

XIV - EDAD Y FACTORES SOCIOECONOMICOS.

En la figura III se muestra el porcentaje de adquisición

de la enfermedad a diferentes edades. Los Ac para EBV aparecen antes de los diez años en países subdesarrollados y ocurre entre los 15 y 20 años en países más avanzados. La incidencia de aparición de la enfermedad en personas entre los 65 a 90 años de edad es muy baja en todos los niveles socioeconómicos. (6).

XV - SEXO.

No se ha demostrado ninguna diferencia de susceptibilidad para la infección por EBV entre hombres y mujeres. Lo mismo ocurre en niños y niñas, aunque se ha visto que las niñas la padecen a edad más temprana que los niños. (6).

XVI - RAZA.

Las infecciones para EBV se presentan en todos los grupos étnicos sin diferencia de susceptibilidad. En países desarrollados, como los Estados Unidos de Norteamérica, la MI se presenta con poca frecuencia en los habitantes de la raza negra. Lo anterior se atribuye al nivel socioeconómico. (6).

XVII - OCUPACION.

La MI es una enfermedad típica del estudiante universitario y de los trabajadores hospitalarios tales como médicos jóvenes y enfermeras. (6).

XVIII - COMPLICACIONES.

Como se muestra a continuación, la variedad de complica

ciones refleja el número de órganos que se ven involucrados en esta enfermedad. Las complicaciones que se muestran pertenecen al adolescente y al adulto joven:

I. Cardiovaculares:

Miocarditis

Pericarditis

II. Hematológicas:

Agranulocitosis

Granulocitopenia

Anemia hemolítica

Trombocitopenia

III. Hepáticas:

Hepatitis

Necrosis masiva

IV. Neurológicas:

Cerebilitis

Encefalitis

Síndrome de Guillain-Barre

Meningoencefalitis

Mielitis Transversa

V. Complicaciones poco comunes:

Artiritis

Dermatitis palmar

Agammaglobulinemia

VI. Renales:

Glomerulonefritis

Síndrome nefrótico

VII. Respiratorias:

Obstrucción faríngea

Pneumonitis intersticial.

VIII. Ruptura del bazo.

El período en el que es más probable la aparición de -- complicaciones se presenta entre la segunda y tercera semana de la enfermedad cuando la esplenomegalia es más aparente. (10), (11), (6), (5)..

XIX - CONTROL Y PREVENCIÓN.

Los intentos para controlar la transmisión de la MI han sido muy poco realistas debido a que la vía de transmisión de la enfermedad es oral íntima en adolescentes y en los niños, - no se sabe todavía cuando está presente la infección debido a la ausencia de síntomas y a la falta de Ac heterófilos. Una - manera de disminuir la incidencia en niños sería mejorando las condiciones de higiene en los niveles socioeconómicos bajos.

El alto grado de protección inmunológica que se obtiene de la infección durante la niñez, sugiere que el uso de una vacuna sería efectiva. La más apropiada correspondería a una vacuna conteniendo al virus atenuado y administrada por vía -- oral. El obstáculo para la producción de esta vacuna es que - no se ha logrado cultivar el virus en el laboratorio con buenos rendimientos. Si existiera una vacuna, la edad apropiada para administrarla sería entre los 6 y 12 años, de manera que si se llega a presentar una enfermedad leve como reacción, ésta sea asintomática.

RELACION DE TECNICAS INMUNOLOGICAS EN EL DIAGNOSTICO DE
MONONUCLEOSIS INFECCIOSA

Al efectuar un estudio cronológico de las técnicas utilizadas para el diagnóstico de la mononucleosis infecciosa, hemos encontrado que se empieza a hablar seriamente de este tema a partir de 1932 y que de entonces a la fecha, se han hecho nuevos descubrimientos.

La presencia de los Ac heterófilos en personas con enfermedad del suero fue estudiada por Davidshon desde 1927 (en este mismo año se hace la primera publicación al respecto). En -- 1933, Bunnell publica la primera prueba diagnóstica que será explicada posteriormente. Pero tanto Bunnell como Paul habían ya encontrado que en el suero de pacientes con MI, existen altos -- títulos de Ac heterófilos y Davidshon había demostrado la presencia de este tipo de Ac en personas con enfermedad del suero. -- Por su parte, Bunnell también llamó a los Ac heterófilos, aglutininas rojas de carnero o aglutininas anticarnero.

Bunnell y Davidshon encontraron que estas aglutininas -- aparecían en casi todos los humanos en títulos de 1:8.

La técnica original descrita por Paul y Bunnell es la -- siguiente:

Los sueros obtenidos fueron inactivados para evitar he-

molisis y diluidos de 1:2, 1:4 y de 1:32, de ser necesario. A cada tubo que contenía el suero se le agregó una suspensión - al 2% de eritrocitos de cordero, previamente lavados, y la -- cantidad adecuada de solución salina. Se mezclaron perfecta- mente, se colocaron en un baño de agua a 37°C durante una ho- ra y posteriormente fueron refrigerados durante toda la noche. A la mañana siguiente, se leyeron utilizando los siguientes - símbolos en la cuantificación de la aglutinación:

- *** disco firme
- ** disco fácilmente rompible en grandes trozos
- * disco fácilmente rompible en pequeños trozos
- ± casi no perceptible pero con algo de aglutinación
- no aglutinación

En 1934, Butt y Foord, en California, agregan a esta -- prueba una prueba presuntiva colocando en un portaobjetos una gota de suero y una gota de eritrocitos de carnero y observan la aglutinación al microscopio. De dicha observación resulta que algunos de los sueros de esta prueba eran negativos mien-- tras que en la prueba de Paul y Bunnell eran positivos.

Varios estudiosos utilizaban asimismo la prueba de hemo- lisinas de cordero pero fue descartada ya que los resultados - eran exactamente los mismos y se trataba de una prueba muy la- boriosa para un laboratorio de diagnóstico en vista de que ha- bía que tener complemento de cuyo. Dicha prueba se lleva a -- cabo poniendo el suero diluido con complemento de cuyo y eritro

cidos de cordero en un baño de agua a 37°C durante una hora.

(1).

En 1932, Davidsohn publica una prueba diferencial para poder distinguir entre MI y Enfermedad del Suero utilizando - inicialmente la prueba de Paul y Bunnell. La técnica consiste en una absorción previa del suero con dos Ag, el primero obtenido del riñón de cuyos conocido como Ag de Frossman y el segundo, un antígeno obtenido por cocimiento de eritrocitos de buey. Después de que el suero fue sujeto a absorción, se realiza la prueba de Paul y Bunnell que ya hemos mencionado. Las lecturas se realizan aplicando el siguiente patrón de resultados:

a) Las aglutininas anticarnero en la MI no son absorbidas por el Ag de Frossman. No son entonces de este tipo de Ac.

b) Las aglutininas anticarnero en la enfermedad del suero y en las personas normales se absorben fácilmente por el Ag de Frossman. Por lo tanto son Ag de este tipo.

c) Las aglutininas anticarnero en la MI se absorben por los hematies de buey.

d) Las aglutininas anticarnero en la enfermedad del suero no son absorbidas por los hematies de buey. (2).

En 1935, Davidsohn describe una nueva prueba presuntiva más confiable que la ya mencionada y que consiste en:

Basándose en el fundamento de la prueba antes mencionada, la única modificación que se le hace es cambiar los perfo-

dos de incubación. Se incuba durante una hora y después durante una hora al refrigerador y se lee siguiendo el mismo patrón que P-B pero observándolo con el objetivo de bajo poder del microscopio.

A finales de 1935 se intenta simplificar esta prueba utilizando el anillo de parafina de Green. Esta técnica consiste en colocar con una pipeta de Wright, una gota de suero en el anillo de parafina de Green el cual se encuentra en un portaobjetos. Se le agrega una gota de solución al 2% de eritrocitos de carnero y se ve al microscopio con el objetivo seco débil. Los resultados se anotan según el grado de aglutinación.

Más tarde, aprovechando el hecho de que la aglutinación es más rápida si se usa centrifugación, Wiener describe la siguiente técnica:

Se utiliza suero inactivado y diluido adecuadamente y se sigue la técnica de P-B pero para disminuir el tiempo de aglutinación, se centrifuga la mezcla de tal manera que los eritrocitos forman el botón con mayor rapidez. Posteriormente, se clasifica siguiendo el mismo patrón que la prueba de P-B. (3).

En 1937, Davidsohn publica un artículo en el que especifica que su técnica es confiable hasta que se descubra el agente etilógico de la MI pues no se puede asegurar que al conocer el agente no se nulifique, o al menos se modifique el valor y significado de esta prueba. Menciona que inclusive puede ser posi

ble que no se trate de una enfermedad sino de una serie de enfermedades. Esta suposición fue apoyada por varios autores - en vista de que la MI se presenta con diversos síntomas clínicos en diferentes personas. Se llega a confundir con enfermedad del hígado o con problemas respiratorios. Bernstein ha - determinado, por ejemplo, 29 enfermedades con las que se confunde la MI, entre las cuales se encuentran la leucemia linfática crónica (debido a los hallazgos sanguíneos), la leucemia monocítica, la hepatitis, la agranulocitosis, la encefalitis, la apendicitis y otras más.

Davidsohn enfatiza que en el diagnóstico de MI, existen cinco grupos de dificultades:

Primer grupo: a él pertenecen las personas que no presentan un aumento considerable de monocitos, o sea que en estos casos, sólo se cuenta con los hallazgos serológicos para el diagnóstico.

Segundo grupo: las personas que no tienen síntomas de MI aunque sus células se encuentren afectadas, es decir, amentadas. Nuevamente, a lo único que podemos recurrir es al diagnóstico serológico.

Tercer grupo: cuando las personas tienen síntomas clínicos y hallazgos hematológicos pero el título de aglutininas de cordero es bajo (1:56). En estos casos, la única forma de aclarar los datos sería usando una prueba de absorción diferencial, donde excluiríamos MI si las aglutininas son absorbidas

por el Ag de riñón de cobayo.

Cuarto grupo: cuando el título de las aglutininas es - considerable pero no hay síntomas clínicos ni hallazgos hematológicos. Esto generalmente indica que hubo una infección de MI anterior que no fue detectada cuando ocurrió.

Quinto grupo: se presenta cuando el problema es la enfermedad del suero y se piensa que es MI. Para ello, también, la única prueba que puede servir es la absorción diferencial. (4).

En 1938, Davidsohn publica una modificación a su prueba presuntiva. En esta prueba se van a modificar los períodos de incubación, cambiándolos a tres horas a temperatura ambiente, después de los cuales se lee la prueba presuntiva y los tubos se ponen en refrigeración toda la noche para finalizar el clásico P-B. La prueba presuntiva nos va a dar, generalmente, -- dos títulos abajo de la prueba total. (5).

En 1949, F. Rappaport y M. Skariton publican una prueba nueva a la que llaman "Rapid Macroscopic Test", que en realidad viene a ser una serie de pruebas que se explican a continuación:

Se trata de una prueba cualitativa que es la primera -- prueba de aglutinación en placa que se hace para MI. En ella no es necesario inactivar el suero. Se coloca una gota de suero en una placa de vidrio y una gota de eritrocitos de carnero concentrados mezclándolos perfectamente; si se observa agluti-

nación, se prosigue; de lo contrario, se considera un suero negativo para MI.

Si el suero fue positivo, se hacen diluciones seriadas y se le agrega a cada tubo una suspensión de eritrocitos de carnero concentrados preservados (con solución de borax) y se agitan perfectamente. Inmediatamente los tubos se centrifugan y se leen los resultados. En esta técnica, se requiere que se hagan las diluciones necesarias con solución de Borax-NaCl en lugar de solución salina fisiológica.

La preservación de los eritrocitos de carnero se realiza agregando una solución de Borax a pH de 7.4 a 7.6 en cantidades iguales a sangre de carnero desfibrinizada, con lo que se podrían conservar los glóbulos rojos hasta dos meses en refrigeración (la adición de Borax no interviene en la reacción).

Los estudios hechos con esta técnica indican que los resultados son iguales que con la prueba de P-B pero ofrecen la ventaja de tiempo y de que se pueden conservar los eritrocitos ya que la P-B utiliza eritrocitos de no más de 5-7 días. (6).

En 1951, Vaughn publica un método ideado por Moloney y Malzane en donde se realiza una prueba presuntiva en una placa de porcelana usando suero sin inactivar y una solución de eritrocitos de carnero al 10%, dejando para reaccionar solamente 60 segundos. Se obtuvieron resultados satisfactorios al comprobar con P-B ya que solamente no resultaba positiva cuando el -

título de aglutininas era menor de 1:16. Su inconveniente es que daba falsas positivas en casos de cirrosis hepáticas y en síndromes hemolíticos. Los autores determinan que si esta prueba da positiva hay que proseguir a realizar un P-B completo (7).

En 1955, Wollner publica una alteración al método de absorción diferencial pensando en que este último disminuye en ocasiones el título en dos o más tubos; el método de Wollner consiste en la inactivación del receptor para los Ac de MI en los eritrocitos de carnero utilizando papaína.

En 1957, Rappaport y Springer observan que esto también se puede lograr utilizando otras proteinasas provenientes de plantas como la bromelina y la ficina.

Se encontró, haciendo pruebas comparativas, que estas pruebas eran muy efectivas y no disminuían el título de aglutininas, pero se trata de un método laborioso y muy costoso para hacerse comúnmente en un laboratorio de diagnóstico clínico (8).

En 1964, Davidsohn publica una revisión de las cinco pruebas principales que se realizan en un laboratorio clínico. Ellas son:

I. Paul-Bunnell.- La que como hemos dicho, se basa en la observación de que los pacientes con MI tienen alto título de aglutininas para eritrocitos de carnero. La crítica de Davidsohn a esta prueba es que no es específica para MI ya que estos Ac se presentan en muchas otras enfermedades por lo que

sólo se puede considerar como una prueba presuntiva.

II. Prueba diferencial.- Se basa en dos propiedades de las aglutininas presentes en los pacientes con MI:

a) son absorbidas por eritrocitos de buey.

b) no son Ac de tipo Frossman.

A esta prueba se le determina como concluyente y generalmente se usa en coordinación con un P-B.

III. Prueba enzimática I.- Se tratan los eritrocitos de carnero con papaína antes de la reacción con eritrocitos de carnero.

IV. Prueba enzimática II.- Se utilizan tanto glóbulos rojos tratados con papaína como glóbulos rojos no tratados. Estas últimas pruebas son concluyentes pero presentan muchos problemas técnicos.

V. Pruebas de hemolisinas de buey.- se basan en que los pacientes con MI presentan un alto título de estas hemolisinas. - Dicha prueba tiene la misma validez que la prueba de P-B.

En el artículo de Davidson se discute el hecho de que las cinco pruebas se basan en dos reacciones inmunológicas básicas:

1.- Aglutinación.

2.- Hemólisis.

Los autores se inclinaron a pensar que las similitudes entre las pruebas son mayores que las diferencias y concluyeron que todas estas reacciones son diferentes manifestaciones de un mismo Ac.

También observaron que la congelación prolongada de sueros afecta el título de hemolisinas de buey pero no afecta los Ac aglutinantes. También hacen hincapié en que se deben realizar tanto pruebas serológicas como hematológicas. (9).

En 1965, Hoff y Bauer hacen una recolección de los hallazgos encontrados hasta este momento en el diagnóstico de MI y mencionan que Stuart et al reportaron en 1936 que los sueros de pacientes con MI aglutinan eritrocitos de caballo. A este hecho tan importante no le habían dado relevancia hasta ese momento los demás autores.

Beer, en 1936, también demuestra que los pacientes con enfermedad del suero reaccionan con estos eritrocitos en las mismas diluciones que con glóbulos rojos de carnero.

Hoff y Bauer reportaron en su artículo una nueva prueba rápida en placa utilizando eritrocitos de caballo formalinizados. El método consiste en poner una gota de una suspensión al 4% de eritrocitos de caballo formalinizados, en solución salina y una gota del suero, dejándolos reaccionar dos minutos. Si hay aglutinación, se considera como prueba positiva.

Los estudios comparativos realizados con esta prueba de mostraron que tiene las siguientes ventajas:

- 1.- Baja incidencia de falsos positivos.
- 2.- Mucha especificidad para Ac de MI.
- 3.- Fácil y rápida.

4.- Utiliza un reactivo que se puede conservar hasta - seis meses en refrigeración.

5.- No se necesita inactivación del suero.

6.- Igual especificidad y mayor sensibilidad que cuando se utilizan eritrocitos de carnero.

Esta prueba demostró que los eritrocitos de caballo tienen mayor especificidad para Ac de Mi que los glóbulos rojos de carnero. (10)

En 1964, Hoff y Bauer introdujeron el uso de eritrocitos de caballo formalinizados para el diagnóstico serológico de MI.

En 1968, Davidsohn y Lee demuestran que los sueros con títulos mayores de aglutininas de carnero también tenían un mayor título de aglutininas de caballo y aunque esta relación no es lineal indica un alto grado de correlación.

Otros estudios demostraron que una diferenciación confiable entre sueros de MI y no MI no se puede obtener usando solamente glóbulos rojos de caballo sino que se debe hacer una ab-sorción diferencial. (*)

Las conclusiones de este estudio fueron:

1.- El uso de eritrocitos de caballo tratados con enzi-
mas no ofrece ninguna ventaja en el diagnóstico de MI.

2.- El uso de eritrocitos de caballo y la prueba diferen

(*) Nota.- Tradicionalmente, la absorción incompleta es aquella que sólo se hace con riñón de cobayo. La completa se debe - hacer con eritrocitos de buey y Ag de riñón de cobayo.

cial conjuntamente permiten una diferenciación correcta de --
sueros de pacientes con MI y sueros de pacientes con otras en
fermedades que den producción de Ac inespecíficos.

3.- Debido a que los glóbulos rojos de caballo son - -
igualmente específicos pero más sensibles que los de carnero,
se concluye que deben elegirse para la prueba diagnóstica de -
MI. (11).

En ese mismo año, Davidson publica el diseño de una -
prueba adecuada para MI usando eritrocitos de caballo y una -
absorción diferencial.

Se trató de eliminar la prueba diferencial tratando los
glóbulos rojos con alcohol ya que se sabe que los Ag de Fross-
man son solubles en alcohol; también se probó tratando los gló-
bulos rojos con enzimas, pero se concluyó que la absorción di-
ferencial era imposible de eliminar para un diagnóstico correc-
to.

Aún así, se trató de simplificar la absorción diferen-
cial utilizando un Ag en suspensión muy fina (GPK y BE) para -
eliminar así la centrifugación posterior a la absorción, estos
Ag se preparan por métodos que usan centrifugación rápida - -
(15000) o ultracentrifugación, lo cual nos permite tener partí-
culas muy finas. El tiempo de la absorción se disminuye a un
minuto usando estos reactivos.

Se estudió la posibilidad de usar eritrocitos de caballo

formalinizados ya que habia reportes de buenos resultados; - pero se vió que era difícil diferenciar entre positivos débiles y negativos. Se trató de utilizar otros aldehidos como conservadores aparte de la formalina pero se probó con acroleína, glutaraldehido y paraformaldehido pero todos dieron los mismos resultados.

Mientras Davidsóhn y Lee trabajaban con eritrocitos preservados se encontraron con una botella de eritrocitos que llevaban tres meses en refrigeración; hicieron pruebas con ellos y vieron que daban excelentes resultados. Dichos resultados permitieron el uso de eritrocitos envejecidos sin necesidad de ser formalinizados o sea que no habia necesidad de recolectar eritrocitos frescos cada semana (como sucede en las pruebas que llevan eritrocitos de carnero).

Para evitar lavar estos eritrocitos (ya que gran parte se hemolizan en la centrifugación), se usan cantidades de 10 microlitros conservados tal cual (tomando en cuenta que el plasma y el anticoagulante, que debe de ser citrato, no intervienen en la reacción), es decir, que los eritrocitos están en una solución al 20% y como son rojos, se utilizará un fondo blanco para efectuar la reacción como contraste.

A esta prueba se le designó "Spot Test" o Técnica Modificada de Davisóhn. La técnica es la siguiente:

- 1.- Se usan dos etiquetas blancas de 3 x 3 cm.
- 2.- En cada punta de ambas etiquetas se coloca una gota de GPK al 10% y BE al 10%, respectivamente.

3.- Se pone una gota de suero problema junto a la gota anterior.

4.- Se coloca en la parte superior de las gotas de Ag - una gota de 10 microlitros de eritrocitos de caballo al 20%.

5.- Se mezclan primero con un palillo, que no raye la etiqueta, el suero y el Ag respectivo y luego se mezclan con los eritrocitos.

6.- Se lee la prueba en un máximo de dos minutos, si -- aparece aglutinación con BE hay presencia de enfermedad del suero, si aparece aglutinación con GPK, hay presencia de MI.

Esta prueba ofrece muchas ventajas:

- a). Gran sensibilidad.
- b). Rapidez.
- c). Se pueden conservar los resultados para presentarlos al médico.
- d). Se ve una clara diferenciación entre MI y enfermedad del suero. (12).

Durante el lapso de 1960 a 1974 aparecieron gran número de pruebas comerciales en placa ("Slide Tests"), siendo las más importantes las siguientes:

1.- Monospottm: utiliza eritrocitos de caballo citratados. Se trata de la prueba comercial que se basa en el fundamento mencionado arriba. (Ortho Diagnostics).

2.- Mono-Difftm: utiliza eritrocitos de caballo preservados; no se conoce el fundamento del método que se utiliza para esta prueba. (Diffco).

3.- Diaglutotm: utiliza eritrocitos de caballo preservados. (Beckman Instruments).

4.- Monosticontm: utiliza eritrocitos de cordero preservados. (Organon Diagnostics).

Las pruebas mencionadas anteriormente usan aglutinación pasiva. Se hicieron estudios de comparación entre estas cuatro pruebas usando 160 sueros de diferentes títulos y los resultados se presentan en las tablas números I y II.

Todas ellas son satisfactorias en cuanto a especificidad y sensibilidad y presentan pocas variaciones unas de otras. -- Aunque se encontró que los glóbulos rojos de caballo citratados son más sensibles que los demás cuando se tienen sueros con títulos muy bajos de aglutininas, es decir, que para mayor sensibilidad, se usaría Monospot, pero ofrece la desventaja de tener un tiempo de caducidad menor que las demás pruebas. (13).

En 1975, la aparición de otra prueba de los laboratorios Hyland (Mono-Check) da lugar a un nuevo estudio donde se compara esta prueba con la Monospot y la de Paul-Bunnell-Davidsohn. Mono-Chek utiliza glóbulos rojos de caballo preservados y no -- utiliza absorción diferencial. Los resultados obtenidos de los estudios fueron:

Se estudiaron 55 sueros con los siguientes resultados. (Ver tabla III).

Esta prueba se compara favorablemente a las dos pruebas más aceptadas en el mercado y en la investigación y tiene la --

TABLA I

COMPARACION DE RESULTADOS DE 4 PRUEBAS EN PLACA PARA
MONONUCLEOSIS INFECCIOSA CON RESULTADOS DE
PAUL-BUNNELL-DAVIDSOHN

Paul-Bunnell-Davidsohn			No. sueros	MONOSPOT		MONO-DIFF		DIAGLUTO		MONOSTICON	
título presuntivo	título con R.C	interp. M.I.									
0-14	0-7	-	46	+1	-45	+0	-46	+1	-45	+1	-45
28	28	+	1	+1	- 0	+1	-0	+0	-1	+1	-0
28	14	+	1	+1	- 0	+0	-1	+1	-0	+0	-1
28	7	+	4	+2	- 2	+1	-3	+1	-2	+1	-3
28	0	-	2	+0	- 2	+0	-2	+1	-1	+0	-2
56	56	+	1	+1	- 0	+1	-0	+0	-1	+0	-1
56	28	+	6	+4	- 2	+3	-3	+3	-3	+4	-2
56	14	+	4	+3	- 1	+3	-1	+2	-2	+2	-2
112	(28-112)	+	16	+14	- 2	+15	-1	+13	-3	+14	-2
224	(56-224)	+	27	+26	- 1	+26	-1	+26	-1	+26	-1
448	(112-448)	+	22	+22	- 0	+22	-0	+22	-0	+22	-0
896	(224-896)	+	8	+8	- 0	+8	-0	+8	-0	+8	-0
1792	(448-1792)	+	9	+9	- 0	+9	-0	+9	-0	+9	-0
3584	(896-3584)	+	6	+6	- 0	+6	-0	+6	-0	+6	-0
7168	(1792-7168)	+	2	+2	- 0	+2	-0	+2	-0	+2	-0
14336	(3584-14336)	+	2	+2	- 0	+2	-0	+2	-0	+2	-0
28672	(7168-28672)	+	1	+1	- 0	+2	-0	+1	-0	+1	-0
57344	(14336-57344)	+	1	+1	- 0	+1	-0	+1	-0	+1	-0
TOTAL.			160	105	55	102	58	100	60	101	59

No sueros pos 112

No sueros neg 48

% positivos

93.8

91.1

89.3

90.2

% positivos

98.1

96.3

94.4

96.3

corregidos

TABLA II

REACCIONES FALSO-POSITIVAS PROBABLES

No. MUESTRAS	títulos P-B-D			TM MONOSPOT	TM MONO-DIFF	TM DIAGLUTO	TM MONOSTICON	DIAGNOSTICO CLINICO
	presuntiva	R.C.	A.B.					
1	112	28	7	-	+	+	+	hepatitis viral
80	28	7	0	+	+	+	+	infección CMV
100	28	7	0	-	-	-	-	infección AV
144	56	14	0	-	-	-	-	leucemia aguda

Abreviaciones: R.C. riñon de cobayo, A.B. antígeno de Buey, CMV citomegalovirus, AV adenovirus.

TABLA III

DIAGNOSTICO SEROLOGICO DE 55 SUEROS
POSITIVOS PARA MONONUCLEOSIS INFECCIOSA

TITULO P-B	No P-B-D positivo	No Mono-Chek positivo	No Mono-Spot positivo
14	0	1	1
28	8	8	8
56	4	4	4
112	5	5	5
224 o más	37	37	37
	<u>54</u>	<u>55</u>	<u>55</u>

ventaja de no llevar una absorción diferencial (la preparación de los glóbulos rojos que usa no es revelada por la casa comercial). Su desventaja consiste en que no permite diferenciar entre MI y enfermedad del suero. (14).

Los estudios publicados entre 1975 y 1978 tratan sobre las mismas pruebas que hemos mencionado y sólo confirman los resultados anteriores.

Sin embargo, un estudio hecho en 1978, en dos lugares simultáneamente, University Hospital de Seattle y Hall Health Center, University of Washington, Seattle, en los Estados Unidos de Norteamérica, demostró que los resultados de cualquier prueba debían ser precedidos por pruebas hematológicas y si esto no era posible, la prueba de Monospot era mucho más satisfactoria y más económica que la prueba de Paul-Bunnell-Davidshon. (15).

Utilizaron en el primer estudio la prueba de Monospot y P-B-D y en el segundo, se hizo un estudio al que se llamó Monoscreen que consistía en hacer primero pruebas hematológicas y luego, las mismas dos pruebas serológicas.

Otros estudios realizados en 1979 investigan los casos de falsos positivos encontrados para la prueba de Monospot. Se vió que ocasionalmente se encontraban falsos positivos en leucemia, rubeola, malaria, linfoma maligno, carcinoma pancreático, pero también se vió que esto se podía diferenciar por pruebas hematológicas y otro tipo de pruebas serológicas más

específicas para estas enfermedades.

Se demostró que muchas pruebas que se determinaban como falsos positivos debido a que no aparecían hallazgos hematológicos, eran encontrados en casos de Mono recurrente, lo -- que es muy común en personas que padecieron la MI durante la niñez.

Lo anterior se vió por estudios más completos, a saber: Presencia de IgM específicas para VCA, IgG específica para VCA y presencia de anti-D y ausencia de anti-EBNA.

También se pudo concluir en este experimento que los Ac de MI pueden persistir desde meses hasta años después de la -- aparición de la enfermedad. (16).

Las pruebas comerciales utilizadas en México son:

- Cellognost Mononucleosis de los laboratorios Behring, que tiene el mismo fundamento que la prueba de Mono-Check.

- Mono-Clin de los laboratorios Bioclin que tiene las -- mismas bases que la prueba de Monospot pero realiza una absorción incompleta, o sea que usa el Ag de riñón de cobayo y no -- utiliza eritrocitos de buey.

En la actualidad no se ha descubierto ninguna otra prueba, sino simples modificaciones comerciales con los mismos fundamentos que las anteriores.

En el experimento realizado se eligió la prueba de Davidsohn Modificada; ya que reúne la especificidad de una absorción

diferencial con la sensibilidad que presentan los eritrocitos de caballo hacia los anticuerpos contra la MI. Además se eligió esta prueba porque es la más aceptada por el ramo de la investigación (así lo señala la bibliografía consultada).

En el experimento se hizo una comparación de la prueba de Davisohn Modificada con la prueba comercial de la casa Behring Cellognost Mononucleosis, la cual se basa en una aglutinación pasiva con eritrocitos de caballo sensibilizados con el fin de valorar la sensibilidad y especificidad de la última.

MATERIAL Y METODOS

Prueba de Davidsohn Modificada

Material:

etiquetas blancas de 3 x 3 cm
micropipetas de 25 microlitros
capilares de 10 microlitros
palillos
cronómetro

Reactivos:

- 1.- eritrocitos de caballo citratados
- 2.- Antígeno de riñón de cobayo
- 3.- Antígeno de hematies de buey
- 4.- Suero control positivo
- 5.- Suero control negativo

Preparación de reactivos:

I. Eritrocitos de caballo citratados:

Material:

Matraz bola de 2 litros
2 vasos de precipitados de 250 ml
tubos de centrifuga
pipetas

Reactivos:

- 1.- Solución salina balanceada:

9 grs de NaCl/litro

Solución A 0.15 M $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 23.4 grs/lt 240 ml/lt

Solución B 0.15 M Na_2HPO_4 21.3 grs/lt 760 ml/lt

2.- Solución de citrato de sodio al 3.8% (p/v):

3.8 grs de citrato de sodio/litro de H_2O

Se utilizó en una proporción de cinco volúmenes de sangre por seis volúmenes de citrato (5:6)

3.- Solución salina isotónica:

9 grs de NaCl/1000 ml de H_2O

Método

Se recoge la sangre de caballo en una solución de citrato de sodio al 3.8% (p/v) en un relación de 5:6 respectivamente.

Se recogieron 100 ml de sangre. Se colocaron en el refrigerador por un espacio de dos meses con el fin de que envejecieran. Transcurrido este tiempo, se lavaron tres veces con solución salina isotónica y se conservaron en 200 ml de solución salina balanceada, manteniéndolos siempre en refrigeración. Se utilizaron en el curso del mes siguiente.

II. Antígeno de riñón de cobayo:

Material:

mortero

tubos de centrifuga

probetas de 100 ml

vasos de precipitado

centrifuga

Reactivos:

- 1.- Solución salina balanceada
- 2.- Riñón de cobayo de mediano tamaño
- 3.- Solución de etil mercuritiosilicato de sodio al 10% (p/v)
0.1 grs. de etil mercuritiosilicato de sodio/1 ml de H₂O

Método:

Se lavan los riñones con solución salina isotónica hasta que el sobrenadante no contenga ningún residuo de sangre. Se pasa el tejido a un mortero y se le agrega la solución salina suficiente para lograr una suspensión al 10% (p/v) y se machaca durante cinco minutos. La suspensión obtenida se centrifuga a 1500 rpm durante tres minutos y se recoge el sobrenadante en una probeta graduada con el fin de leer el volumen obtenido. Se agrega después una solución de etil mercuritiosilicato al 10% (p/v) a razón de 0.2 ml por cada 100 ml de filtrado.

Se conserva en refrigeración. Se utilizó en el curso del siguiente mes.

III. Antígeno de hematies de buey (estroma):

Material:

centrifuga

vasos de precipitado

matraz bola de 1000 ml

tubos de centrifuga

sonificador

Reactivos:

1.- Solución salina isotónica

2.- Solución salina buffer de fosfatos 0.15 M pH 7.2

9 grs de NaCl/lt de H₂O

17 grs de K₂HPO₄/lt de solución salina

2.8 grs de Na₂HPO₄/lt de solución salina

3.- Agua destilada

Método:

1.- Diluir las células empaquetadas por centrifugación en un volumen igual de solución salina isotónica y filtrar a través de un filtro Whatman del número 54 para eliminar los -- glóbulos blancos, plaquetas y coágulos.

2.- Lavar las células filtradas con solución salina isotónica hasta que el sobrenadante quede limpio.

3.- Al paquete de glóbulos rojos se le agregan 5 volúmenes de agua destilada previamente enfriada en hielo seco.

4.- Dejar reposar 30 minutos y se centrifuga a 15000 rpm a 4°C durante 15 minutos.

5.- Lavar con agua destilada en frío las veces que sea necesario hasta que el estroma no contenga hemoglobina.

6. Resuspender en una cantidad de solución salina buffer de fosfatos 0.15M pH 7.2 igual al volumen original de células rojas.

7.- Homogeneizar, si es necesario.

8.- Se guardó en congelación en viales de 1 ml. Se utilizaron en el curso del mes siguiente.

IV. Suero control positivo:

Se utilizó un suero comercial donado por los laboratorios Bio-clin.

V. Suero control negativo:

Se utilizó un suero comercial donado por los laboratorios Bio-clin.

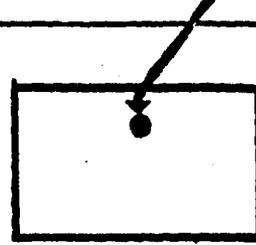
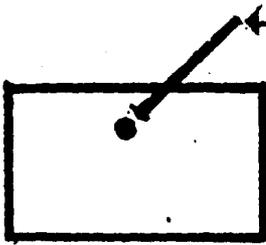
Método:

- 1.- Se utilizan dos etiquetas blancas de 1 x 3 pulgadas.
- 2.- En la punta de la etiqueta se pone una gota de 10 Ml de eritrocitos de caballo utilizando un capilar.
- 3.- Se pone una gota (30 Ml) de GPK (riñón de cobayo) al 10% en el extremo inferior de la etiqueta; igualmente se pone - en otra etiqueta una gota de EB (eritrocitos de buey) en el segundo punto.
- 4.- Se pone una gota de suero cerca de cada antígeno usado en la absorción.
- 5.- Con un palillo se mezclan el suero y el antígeno con cuidado de no rayar la etiqueta.
- 6.- Después se mezcla con los eritrocitos de caballo y se esparce uniformemente sobre toda la superficie.
- 7.- Se pone un reloj a dos minutos y se anota el tiempo exacto en que ocurre la aglutinación. Si éste es mayor de dos minutos, la reacción es negativa.

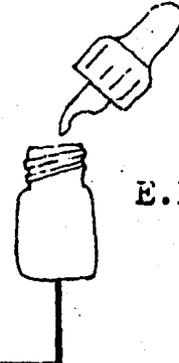
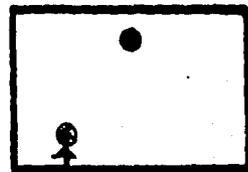
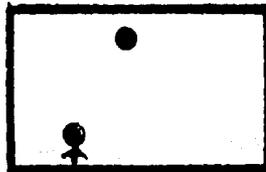
Ver esquema en la siguiente hoja.



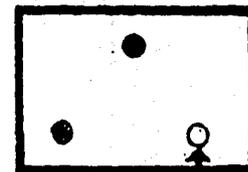
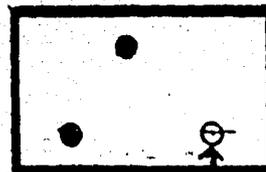
etiquetas
blancas



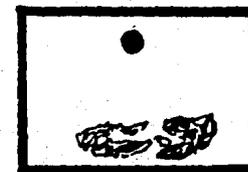
eritrocitos
de caballo



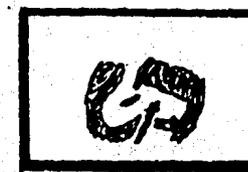
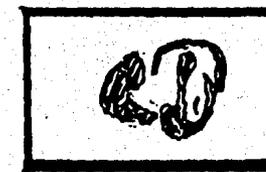
E.B.



suero
problema



mezclar el suero
con el reactivo
correspondiente



mezclar con los
eritrocitos y obser-
var resultados

Técnica de Paul-Bunnell para

Anticuerpos Heterófilos

Material:

tubos de 12 x 75

centrifuga

pipetas de 1 ml

baño de agua a 37°C

baño de agua a 56°C

Reactivos:

I. Sangre de cordero citratada

II. Solución salina isotónica

Preparación de reactivos:

I. Sangre de cordero citratada:

Se recoge sangre de cordero en una solución de citrato de sodio al 3.8% en una relación de 5:6 respectivamente.

Método:

- 1.- Inactivar los sueros problema en baño María a 56°C durante 30 minutos.
- 2.- Etiquetar doce tubos de 12 x 75 del uno al doce.
- 3.- Poner en el tubo uno, 0.4 ml de solución salina y 0.1 ml del suero del paciente.
- 4.- En el tubo 2 al 12, se pone 0.25 ml de solución salina
- 5.- Transferir 0.25 ml de mezcla del tubo 1 al 2. Mezclar.
- 6.- Transferir del tubo 2, 0.25 ml al tubo tres. Mezclar.
- 7.- Repetir esta transferencia y mezclado de cada tubo al si-

guiente hasta llegar al tubo 11 inclusive. Separar 0.25 ml del tubo 11 que se desechan.

- 8.- El tubo 12 es el control y contiene solamente 0.25 ml de solución salina.
- 9.- Agregar 0.1 ml de una suspensión al 2% de eritrocitos de cordero a todos los tubos incluyendo el control.
- 10.- Se agitan los tubos, se incuban una hora a 37°C, se centrifugan a 1500 rpm durante un minuto.
- 11.- Se refrigeran los tubos toda la noche.
- 12.- A la mañana siguiente se dejan 5 minutos a temperatura ambiente y se leen.

Dilución final de los tubos:

1	1:7	7	1:448
2	1:14	8	1:896
3	1:28	9	1:1792
4	1:56	10	1:3584
5	1:112	11	1:7168
6	1:224	12	control

Los tubos con título de 1:56 o mayor se deben someter a la -- prueba diferencial de Davidshon.

Prueba Diferencial de Davidshon

Material:

Tubos de 12 x 75

centrifuga

pipetas de 1 ml

Reactivos:

- I. Antígeno de riñón de cobayo
- II. Antígeno de eritrocitos de buey
- III. Sangre de cordero citratada
- IV. Solución sal-na isotónica

Preparación de reactivos:

Se preparan todos como se ha mencionado anteriormente.

Método:

- 1.- Se inactiva el suero problema a 56°C durante 30 minutos.
- 2.- Agregar 0.2 ml del suero del paciente a 1 ml de antígeno de riñón de cobayo.
- 3.- Agregar 0.2 ml de suero del paciente a 1 ml de antígeno de eritrocitos de buey.
- 4.- Dejar reposar estas mezclas a temperatura ambiente durante tres minutos.
- 5.- Centrifugar a 1500 rpm si se considera necesario.
- 6.- Etiquetar doce tubos del 1 al 12.
- 7.- Poner 0.25 ml de solución salina en los tubos 2 al 12.
- 8.- Poner 0.25 ml de sobrenadante de la absorción del antígeno de riñón de cobayo en el tubo uno.
- 9.- Agregar 0.25 ml del sobrenadante al tubo dos.
- 10.- Transferir 0.25 ml del tubo dos al tres y así sucesivamente hasta el 11 inclusive, desechando 0.25 ml del tubo 11. El tubo doce es control.
- 11.- Agregar 0.1 ml de eritrocitos de cordero al 2% a todos los tubos.

12.- Se incuba y se interpreta como la prueba de Paul-Bunnell.

13.- Repetir los pasos del 7 al 14 con el antígeno bovino.

La interpretación de los resultados ya ha sido discutida anteriormente.

Prueba Comercial Cellognost Mononucleosis

(Casa Behring de México)

Material:

placa de vidrio

palillos

Reactivos:

Kit Cellognost Mononucleosis consta de:

Eritrocitos de caballo estabilizados

Suero humano control positivo

Suero humano control negativo

Suero del paciente.

Método:

- 1.- Se permite que los reactivos adquieran la temperatura ambiente, se agitan para obtener una suspensión homogénea.
- 2.- Usando el gotero de la botella de reactivo, poner una gota de eritrocitos en cada uno de los cuadros de la placa de reacción.
- 3.- Poner una gota de suero del paciente junto a la anterior y una gota de cada control en cuadros diferentes.
- 4.- Mezclar las dos gotas con ayuda de un palillo y rotar lige

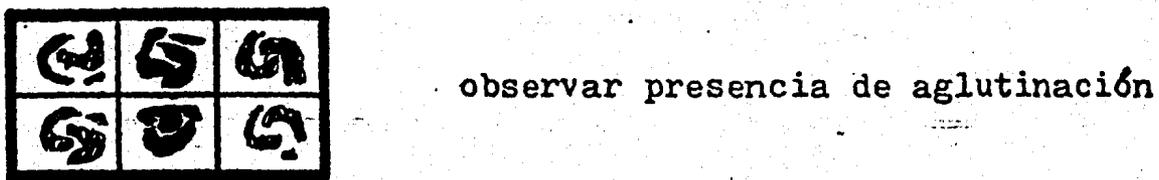
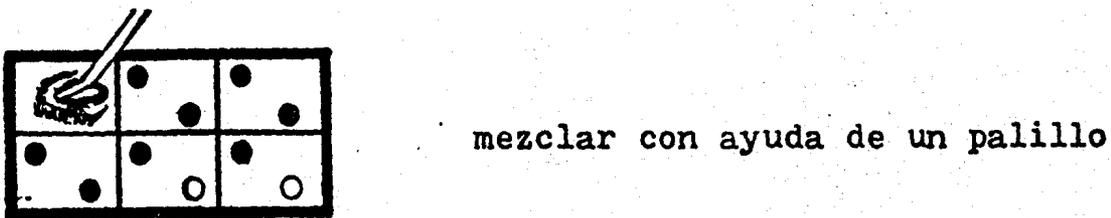
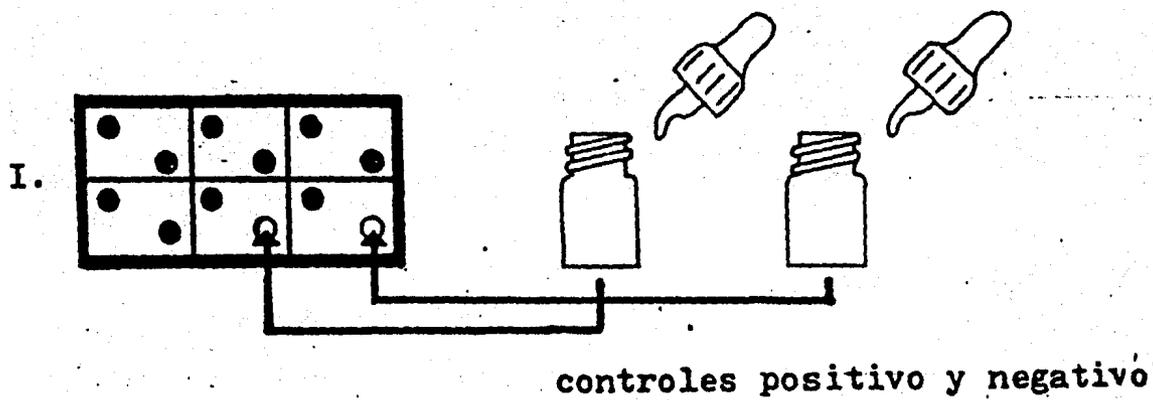
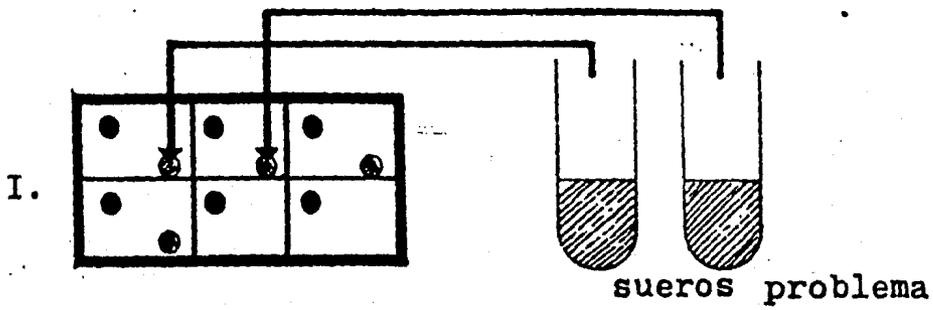
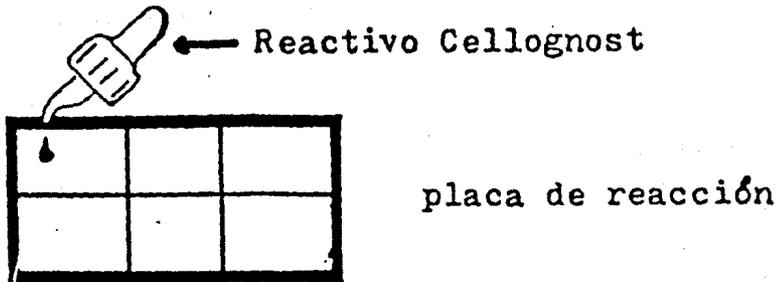
ramente la placa durante dos minutos.

5.- Dejar reposar horizontalmente la placa por un minuto y examinar posteriormente la presencia de aglutinación comparando con los dos controles que se colocaron. Si se presenta aglutinación después de los tres minutos se debe considerar negativa la reacción.

Observar el esquema en la siguiente hoja.

ESQUEMA DE TRABAJO DE LA PRUEBA CELLOGNOST

MONONUCLEOSIS



EXPERIMENTO

Muestras biológicas:

Las muestras fueron obtenidas por punción venosa, - se permitió que coagularan y se separó el suero por centrifugación. Las muestras se almacenaron durante tres meses antes de su uso, manteniéndolas en congelación a -70°C , tomando en cuenta que la literatura muestra que a esta temperatura no se disminuye en absoluto el título de anticuerpos que nos interesan para la realización de este estudio.

Las muestras se obtuvieron de los siguientes lugares:

Facultad de Química:

Se tomaron muestras de alumnos de sexto a noveno semestre.

Total de muestras :	70
mujeres :	38
hombres :	32

Laboratorios Atoyac:

Se tomaron muestras de pacientes que se encontraban en el rango de edad de 20 a 25 años.

Total de muestras :	80
mujeres :	40
hombres :	40

Realización del experimento :

Para demostrar que el título de anticuerpos no era -

afectado por la refrigeración, se tomaron muestras control a las que se les realizó la prueba de Paul-Bunnell antes y después de que se congelaran a -70°C por un lapso de tiempo de un mes. Las muestras se encontraban en tubos de vidrio pyrex sellados con para-film para evitar que se diluyeran con el agua del refrigerador; los resultados obtenidos en la prueba fueron los mismos en ambas ocasiones, lo que sugiere que el título de anticuerpos heterófilos no fueron afectados por la baja temperatura. Debido a que los resultados de esta prueba fueron satisfactorios, se procedió a almacenar las muestras que se obtuvieron para el experimento en iguales condiciones que las muestras control.

La estandarización de la prueba de Davidsohn Modificada estuvo compuesta de los procesos que se muestran a continuación.

I. Reactivo de eritrocitos de caballo:

Se probaron tres diferentes métodos que la literatura menciona que se utilizan para la preparación de este reactivo:

I.1 Eritrocitos que se someten a un proceso de envejecimiento que, según marca la literatura, favorece la aglutinación. Se recolectaron eritrocitos de caballo utilizando como anticoagulante citrato de sodio al 3.8% en una relación 5:6 respectivamente. Se guardaron en un cuarto frío a 4°C durante tres meses; durante este tiempo, los eritrocitos sufrieron contaminación con hongos, se lavaron a fon

do con solución salina fisiológica y se sometieron a una prueba de aglutinación para anticuerpos heterófilos, usando como patrón un suero control positivo y eritrocitos recién recolectados, dando resultados negativos; lo que sugiere que la presencia de hongos modifica los antígenos de superficie de los eritrocitos. Se repitió el proceso de recolección utilizando medidas de asepsia mayores y se pusieron los eritrocitos una vez más en refrigeración por tres meses a 4°C, se les hicieron pruebas de nuevo con los mismos controles mencionados y se obtuvieron resultados excelentes. La aglutinación fue muy clara y se presentó antes de los treinta segundos, lo cual se considera un tiempo óptimo en esta prueba según marca la literatura. Con los eritrocitos recién recolectados la aglutinación se presentó en cuarenta segundos.

I.2 Eritrocitos formalinizados: eritrocitos recolectados de la misma manera que en el caso anterior, lavados y resuspendidos en solución buffer de fosfatos pH 7.2. Se utiliza una solución de formaldehído al 40% que se coloca en una bolsa de diálisis y se sumerge en la suspensión de eritrocitos con agitación lenta a temperatura ambiente. Después de tres horas, se pica la bolsa y se sigue la agitación toda la noche. Los eritrocitos obtenidos se lavan varias veces para eliminar el exceso de formaldehído y se suspenden en solución salina al 50% v/v; se conservan en refrigeración. Al someter los eritrocitos a pruebas de aglutinación con los mismos --

controles que en las pruebas anteriores, se obtienen resultados positivos pero la aglutinación ocurre después de los 40 segundos.

1.3 Eritrocitos sensibilizados con estroma de caballo: a una suspensión de glóbulos rojos se le agrega el estroma que se obtenga del mismo volumen de glóbulos, lo cual se consigue por el método que se menciona para la obtención de estroma de eritrocitos de buey en el capítulo anterior. La presencia de estroma en la suspensión de eritrocitos hace que éstos tengan una mayor sensibilidad para los anticuerpos heterófilos. A esta suspensión se la realizaron las pruebas de aglutinación ya mencionadas y se logró una aglutinación clarísima a los 15 segundos.

De estos tres reactivos, se escogió el primero -eritrocitos sometidos a un proceso de envejecimiento- ya que el tiempo en el que se presenta aglutinación es muy bueno y el método para prepararlos no es tan laborioso como en el caso de los eritrocitos sensibilizados con estroma de caballo que serían generalmente los de elección. Estos últimos no se utilizaron ya que para obtener el estroma, se necesita de un proceso largo y laborioso, además de que el costo del reactivo es del doble del que se eligió.

II. Reactivo de riñón de cobayo.

Se preparó por el método mencionado en el capítulo anterior, se estandarizó utilizando la prueba de Paul-Bunnell-

Davidsohn parcial empleando un reactivo comercial de la casa - Bioclin como control. Los resultados fueron los mismos tanto en el control como en el reactivo que se preparó.

III. Reactivo de glóbulos rojos de buey.

Se preparó por dos diferentes métodos:

III.1 Eritrocitos de buey cocidos: los eritrocitos se recolectaron siguiendo el mismo método que para los de caballo, se lavaron con solución salina y se concentraron por centrifugación. Se resuspendió un volumen de eritrocitos en cuatro volúmenes de solución salina isotónica y se calentó la suspensión durante una hora en baño maría, compensando la pérdida de volumen con agua destilada.

III.2 Estroma de eritrocitos de buey: el método de preparación ya ha sido mencionado en el capítulo anterior.

Los dos reactivos obtenidos fueron sometidos a la -- prueba de absorción de Davidsohn usando como patrón un reactivo comercial. En el primer caso, el reactivo que se obtuvo tiene un tamaño de partícula demasiado grande lo que en la prueba de Davidsohn Modificada intervendría de tal manera que se confundiría la aglutinación de un suero positivo con uno negativo, o -- sea que no se podría distinguir si hubo aglutinación ya que el reactivo lo enmascararía. Por consiguiente se utilizó el segundo reactivo a pesar de la dificultades que presenta su elaboración.

Una vez obtenidos los reactivos adecuados, se hizo necesario llevar a cabo pruebas del tipo de etiquetas de papel como soporte hasta poder encontrar la de menor porosidad; se encontró que la marca de etiquetas más adecuada corresponde a la Tessatm.

Después fue necesario estandarizar la cantidad de cada reactivo que se usó lo que se realizó empleando sueros control obtenidos de pacientes con Monucleosis Infecciosa en fase aguda (los que fueron tomados en el Hospital Infantil de México), y sometiéndolos a la prueba de Davidsohn Modificada con reactivos comerciales de la casa BBL (que ya no se producen en México pero que se pudieron obtener gracias a una donación hecha por el Departamento de Inmunología del Hospital Infantil de México) y al mismo tiempo con los reactivos preparados en la Facultad. La prueba se realizó con diferentes cantidades de nuestros reactivos hasta que se encontró la cantidad adecuada que producía exactamente el mismo resultado y en el mismo tiempo que si se usara el reactivo comercial en las cantidades que marca la literatura.

Con la prueba estandarizada en esta forma, se procedió a correr los siguientes ensayos de aglutinación pasiva a cada una de las 150 muestras:

- 1.- Prueba de Davidsohn Modificada
- 2.- Cellognost Mononucleosis
- 3.- Las muestras que resultaron positivas en las dos pruebas anteriores fueron sometidas a la Prueba de Paul-Bunnell-

Davidsohn parcial (utilizando únicamente absorción con riñón de cobayo).

RESULTADOS

Los resultados obtenidos se encuentran resumidos en las tablas que se presentan a continuación:

Tabla I.- Relación de resultados globales obtenidos en el experimento.

Tabla II.- Relación de muestras positivas con la prueba de Davidsohn Modificada.

Tabla III.- Relación de muestras positivas con la prueba de Cellognost Mononucleosis.

Tabla IV.- Comparación entre la prueba de Davidsohn Modificada y la de Cellognost Mononucleosis.

Tabla V.- Porcentajes de positividad para las pruebas realizadas.

Tabla VI.- Resultado de la prueba de Paul-Bunnell-Davidsohn (parcial) efectuada a las muestras positivas de Davidsohn Modificada.

Tabla VII.- Resultado de la prueba Paul-Bunnell-Davidsohn -- (parcial) efectuadas a las pruebas negativas de Cellognost Mononucleosis y positivas a la prueba Davidsohn Modificada.

Tabla VIII.- Gráfica de frecuencia de positividad de Mononucleosis Infecciosa en una población universitaria.

Tabla IX.- Gráfica de frecuencia de título de anticuerpos heterófilos en las pruebas postivias de Davidsohn Modificada -- calculada pour Paul-Bunnell-Davidsohn (parcial).

Abreviaturas utilizadas en las tablas que se presentan a continuación:

MI: Mononucleosis Infecciosa

ES: Enfermedad del Suero

D-M: Davidsohn Modificada

P-B-D: Paul-Bunnell-Davidsohn

N: Normal.

TABLA I

RELACION GLOBAL DE RESULTADOS OBTENIDOS EN EL EXPERIMENTO

No. MUESTRAS	ORIGEN	SEXO	No. POSITIVAS	No. NEGATIVAS	% POSITIVAS	% NEGATIVAS
70	F.Q.	M	3	29	9.3	90.7
		F	5	33	13.1	86.9
80	L.A.	M	4	36	10.0	90.0
		F	4	36	10.0	90.0
		TOTAL	16	134	10.66	89.34

Abr.: F.Q. Facultad de Química, L.A. Laboratorios Atoyac, M masculino, F femenino

TABLA II

RELACION DE MUESTRAS POSITIVAS CON LA PRUEBA DE
DAVIDSOHN MODIFICADA.

MUESTRA	SEXO	EDAD	D-M		INTERPRETACION
			R.C.	E.B.	
1	F	21	+	-	MI
2	F	21	+	+	ES
3	F	20	+	-	MI
4	M	22	-	+	ES
5	F	21	+	-	MI
6	M	18	+	-	MI
7	M	18	+	-	MI
8	M	23	+	-	MI
9	F	23	+	-	MI
10	M	21	+	-	MI
11	F	18	+	-	MI
12	F	21	+	-	MI
13	M	20	+	-	MI
14	F	20	+	-	MI
15	M	21	-	+	ES
16	M	23	-	-	MI

TABLA III

RELACION DE MUESTRAS POSITIVAS CON LA PRUEBA DE
CELLOGNOST MONONUCLEOSIS

MUESTRA	SEXO	EDAD	CELLOGNOST	INTERPRETACION
1	F	21	+	MI
2	F	20	+	MI
3	M	18	+	MI
4	M	18	+	MI
5	M	23	+	MI
6	F	23	+	MI
7	M	21	+	MI
8	F	18	+	MI
9	F	21	+	MI
10	M	20	+	MI
11	F	20	+	MI
12	M	23	+	MI

COMPARACION ENTRE LA PRUEBA DE DAVIDSOHN MODIFICADA
Y LA DE CELLOGNOST MONONUCLEOSIS

PRUEBA	POSITIVOS MONONUCLEOSIS	NEGATIVOS MONONUCLEOSIS	TOTAL
D-M	13	-	13
CELLOGNOST	12	1	13
	-----	----	-----
TOTAL	25	1	26

TABLA V
PORCENTAJES DE POSITIVIDAD PARA LAS PRUEBAS
REALIZADAS

PRUEBA	CALCULO	% POSITIVIDAD
D-M	$\frac{13 \times 100}{13}$	100
CELLOGNOST	$\frac{12 \times 100}{13}$	93

TABLA VI

RESULTADO DE LA PRUEBA DE PAUL-BUNNELL-DAVIDSOHN(parcial)
EFECTUADA A LAS MUESTRAS POSITIVAS DE DAVIDSOHN MODIFICADA

MUESTRA	TITULO P-B-D	INTERPRETACION
1	1:56	MI
2	1:56	ES
3	1:112	MI
4	1:56	ES
5	1:7	MI
6	1:56	MI
7	1:28	MI
8	1:56	MI
9	1:56	MI
10	1:112	MI
11	1:56	MI
12	1:56	MI
13	1:56	MI
14	1:56	MI
15	1:112	ES
16	1:56	MI

TABLA VII

RESULTADO DE LA PRUEBA PAUL-BUNNELL-DAVIDSOHN (parcial)
 EFECTUADAS A LAS PRUEBAS NEGATIVAS DE CELLOGNOST MONONUCLEOSIS
 Y POSITIVAS A LA PRUEBA DAVIDSOHN MODIFICADA.

MUESTRAS	TITULO P-B-D	INTERPRETACION
1	1:56	ES
2	1:56	ES
3	1:7	MI
4	1:112	ES

TABLA VIII

GRAFICA DE FRECUENCIA DE POSITIVIDAD DE MONONUCLEOSIS
INFECCIOSA DE UNA POBLACION UNIVERSITARIA.

de muestras

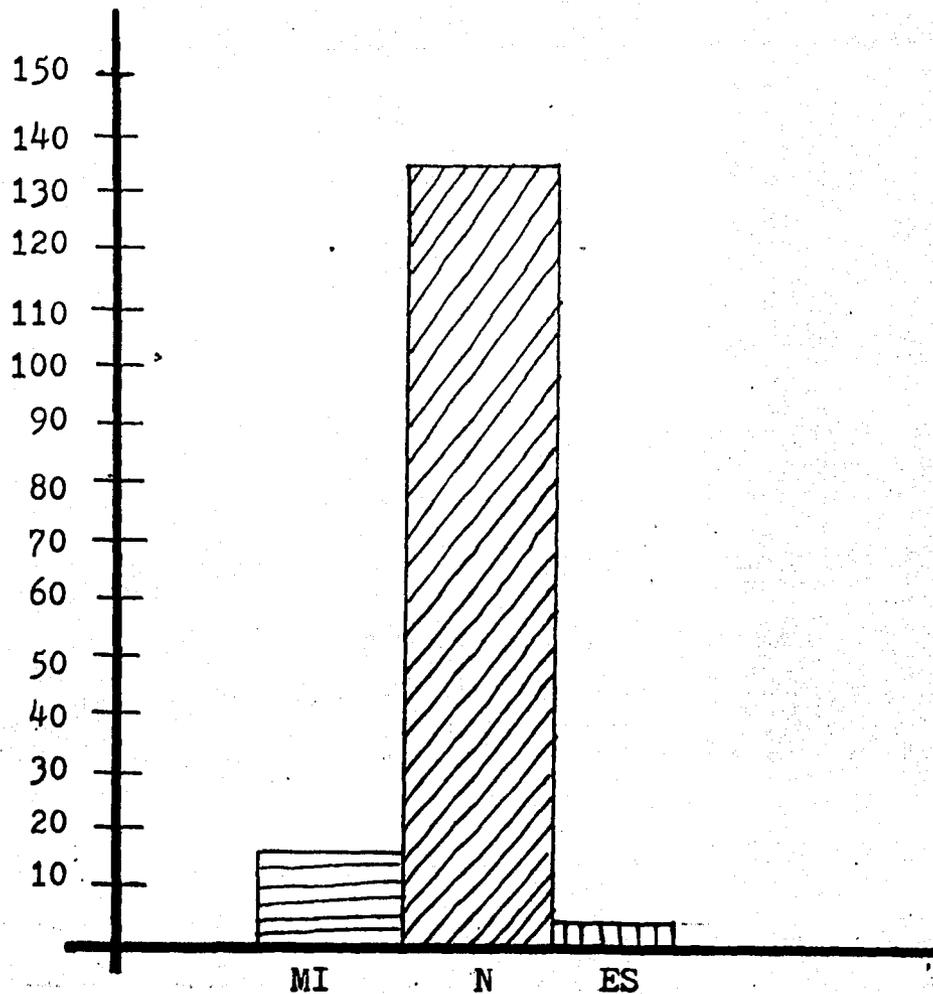
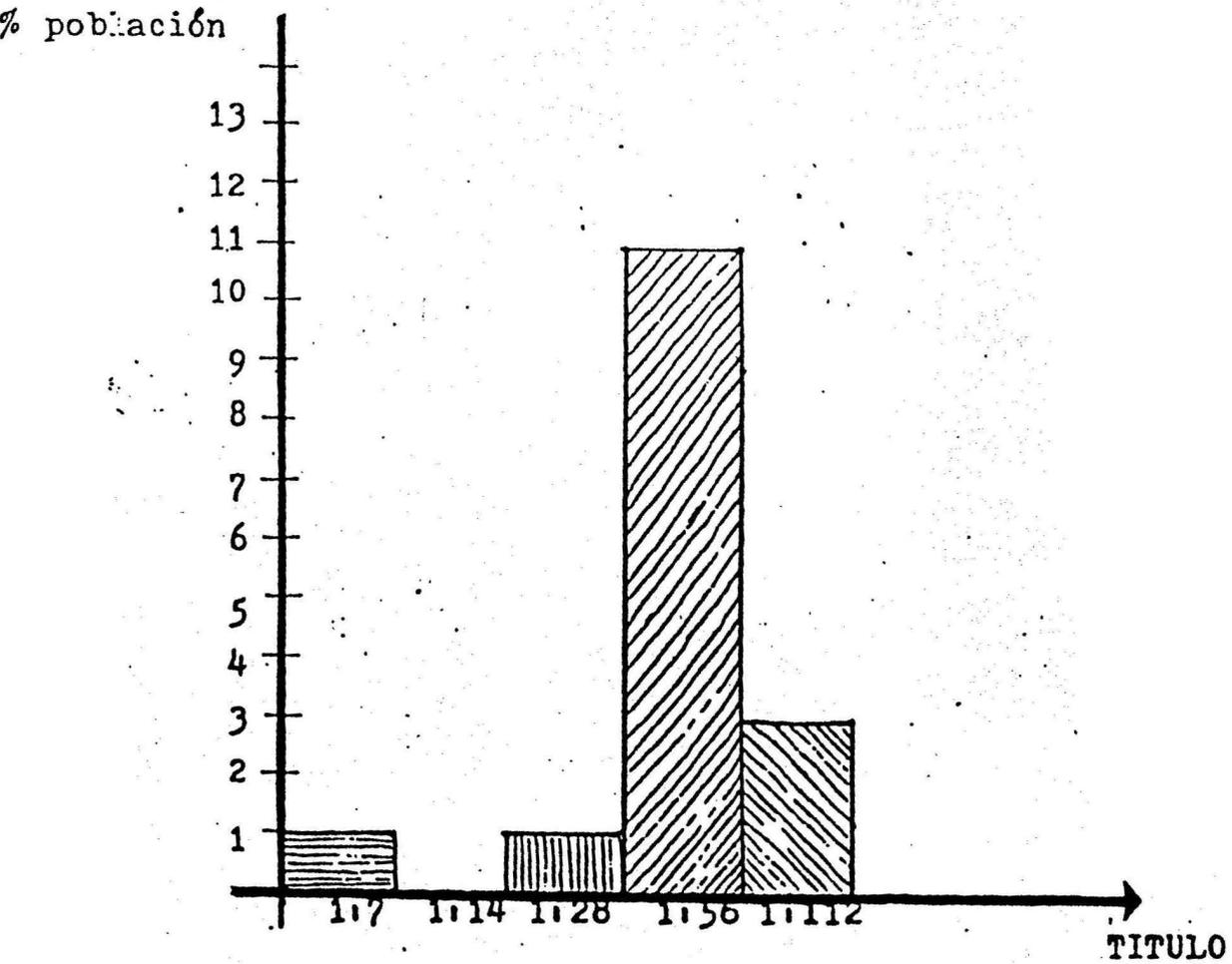


TABLA IX

GRAFICA DE FRECUENCIA DE TITULO DE ANTICUERPOS HETEROFILOS
EN LAS PRUEBAS POSITIVAS DE DAVIDSOHN MODIFICADA DETERMINADA
POR PAUL-BUNNELL-DAVIDSOHN (parcial).



INTERPRETACION DE RESULTADOS

Se realizó una comparación de las pruebas para Mononucleosis Infecciosa de Davidsohn Modificada y Cellognost Mononucleosis y se hizo un estudio sobre la incidencia de esta enfermedad en una población universitaria.

De las 150 muestras procesadas, 16 resultaron positivas con la prueba de Davidsohn Modificada. De éstas, 13 aglutinaron con el reactivo de riñón de cobayo, es decir que se trata de pacientes seropositivos para Mononucleosis Infecciosa. -- Las tres muestras restantes tuvieron reacción positiva con el reactivo de eritrocitos de buey; por lo tanto son pacientes que suponemos han sufrido alguna forma de Enfermedad del Suero.

De las 150 muestras, solamente doce resultaron positivas con la prueba de Cellognost Mononucleosis. De las cuatro pruebas que resultaron negativas con Cellognost y positivas con la prueba de Davidshon Modificada, como ya dijimos, se piensa que tres de estos pacientes pueden haber padecido Enfermedad del Suero y por ello sus anticuerpos heterófilos no aglutinaron con el reactivo de esta prueba comercial. La muestra restante tenía un título de anticuerpos heterófilos (detectados por la prueba de Paul-Bunnel-Davidsohn) de 1:7, lo que podría sugerir que esta prueba no es lo suficientemente sensible como para detectar títulos tan bajos de anticuerpos, aunque sería indispen-

sable realizar más pruebas con otras muestras en las mismas condiciones para poder aseverarlo.

Se encontró que en una población universitaria el 8.66% de la misma resultó positiva para Mononucleosis Infecciosa, lo que fue determinado por medio de la prueba de - - Davidsohn Modificada y la prueba de Paul-Bunnell.

Con la prueba de Cellognost solamente un 7.33% de la población dió resultados positivos para Mononucleosis Infecciosa. Esto se debe a que la correlación entre las dos - pruebas es de 93%.

También se encontró que el 3% de la población estudiada posiblemente sufrió Enfermedad del Suero, lo cual es un tema para un estudio posterior ya que no se puede afirmar sin una investigación más amplia de estos pacientes.

DISCUSION Y CONCLUSIONES

Debido a la rapidez con que avanza la medicina, los laboratorios clínicos afrontan un problema de escasez de personal técnico y profesional actualizado con todos los métodos que aparecen día a día. Para resolver este problema, la tendencia actual es la automatización de las pruebas que se efectúan rutinariamente y a gran escala así como la simplificación de las demás pruebas que son requeridas con menor frecuencia.

En la mayoría de los laboratorios clínicos, el número de pruebas que se realizan para diagnosticar la Mononucleosis Infecciosa es muy reducido a excepción de las de algunos hospitales. Sin embargo, se desea el desarrollo de una técnica simple pero confiable. Las técnicas ya establecidas como aglutinación pasiva con glóbulos rojos de carnero, absorción diferencial con riñón de cobayo y eritrocitos de buey en tubo, aglutinación con células papainizadas y la prueba de hemolisinas de buey, requieren para su elaboración una gran cantidad de tiempo (24 a 72 horas). Las pruebas que utilizan eritrocitos formalinizados de caballo o de carnero son buenas pero tienen la desventaja de presentar un gran número de falsos positivos.

Debido a la serie de estudios realizados, se encontró que los eritrocitos de caballo dan resultados superiores a los de carnero; los eritrocitos preservados tienen una intensidad

de reacción mayor que los eritrocitos formalinizados. También sabemos que para un diagnóstico de Mononucleosis Infecciosa acertado, es necesario realizar una absorción diferencial.

La prueba de Davidsohn Modificada reúne todas estas características y carece de las desventajas que mencionamos anteriormente, además de que el uso de papel como soporte de reacción permite una gran facilidad de lectura y proporciona la ventaja de poder archivar los resultados. Esta prueba tiene reproductibilidad, sensibilidad y exactitud pero siempre es necesario llevar controles positivos y negativos para una verificación adecuada de los reactivos. También es indispensable mezclar perfectamente bien los reactivos ya que estamos utilizando suspensiones.

Cuando la prueba de Davidsohn Modificada resulta positiva, así como los síntomas clínicos y los hallazgos hematológicos sugieren Mononucleosis Infecciosa, se puede concluir sin necesidad de más estudios que el paciente presenta un caso típico de Mononucleosis Infecciosa-heterófilo positiva. No es necesario hacer títulos cuantitativos de los anticuerpos heterófilos ya que no hay relación entre la magnitud de esta respuesta y la severidad de la enfermedad.

Cuando la prueba de Davidsohn Modificada resulte positiva pero no se encuentre ningún hallazgo hematológico, se tendrán que hacer estudios específicos para los diferentes antígenos

nos del virus Epstein-Barr y se debe hacer una historia clínica detallada para ver si el paciente presentó anteriormente Mononucleosis Infecciosa ya que la presencia de estos anticuerpos puede durar meses y hasta años. (1). Además, la presencia de anticuerpos heterófilos puede sugerir que hubo Mononucleosis Infecciosa y se presentó subclínicamente como ocurre en la tercera parte de los pacientes. (2).

Se pudo demostrar con el experimento realizado que la hipótesis inicial de que la prueba de Davidsohn Modificada tiene un muy alto índice de sensibilidad en comparación con pruebas comerciales de amplio uso. Esta es una prueba que utiliza reactivos muy fáciles de preparar y que no requiere ningún material que sea inaccesible para su elaboración, además de ser una prueba muy económica.

Nuestros estudios sugieren que la prueba de Davidsohn Modificada es un 7% más exacta que la prueba Cellognost Mononucleosis, utilizando como punto de referencia la prueba clásica de Paul-Bunnell-Davidshon.

También se encontró que la prueba de Davidsohn Modificada puede detectar títulos muy bajos de anticuerpos hasta de 1:7, lo cual aumenta sus cualidades.

Las ventajas que acabamos de mencionar hacen que ésta sea una prueba que se debe estudiar y desarrollar más a fondo con fines de enseñanza y adaptación a laboratorios clínicos ya

que se trata de una técnica que puede acoplarse a las posibilidades económicas de éstos.

Se sugiere que la prueba de Davisohn Modificada es una técnica que debe incluirse a los programas de estudios de la materia de Inmunología Aplicada pues permite que el alumno aprenda métodos sencillos de preparación de reactivos, mismos que podrá utilizar después para adaptar muchas otras pruebas que resultarían muy costosas si se realizaran con equipos comerciales.

El segundo objetivo de este trabajo era observar la incidencia de la Mononucleosis Infecciosa en una población universitaria. El 8.66% de la población estudiada fue seropositiva para Mononucleosis Infecciosa. A pesar de ello, se encontró que la enfermedad pasó desapercibida ya que al tomar las muestras se interrogó al paciente si había sido diagnosticado o había sufrido Mononucleosis Infecciosa y la respuesta en todos -- los casos fue negativa a excepción de un sólo individuo, al que con esta prueba se le confirmó que había padecido esta enfermedad. Este paciente tuvo el padecimiento aproximadamente un año antes de la toma de muestra para el estudio.

Es de considerarse la importancia de que se realicen mayores esfuerzos para diagnosticar la Mononucleosis Infecciosa en adultos jóvenes ya que aún siendo un padecimiento de regresión espontánea, en algunos casos se puede confundir con otro -- tipo de proceso linfoproliferativo como es la leucemia. Por --

otra parte, también puede confundirse con un simple caso de gripe y si no se recibe los cuidados adecuados, pueden llegar a presentarse complicaciones que como mencionamos en capítulos anteriores, pueden llegar a ser más serias que la enfermedad en sí misma. Otra razón importante de que se realice adecuadamente este diagnóstico es que si los pacientes que sufrieron Mononucleosis Infecciosa donan sangre para transfusiones, la persona que la reciba puede contraer la enfermedad ya que el virus permanece circulante en la sangre por meses y hasta años.

Los resultados preliminares obtenidos en este estudio ameritan continuar esta investigación en una población mayor para poder afirmar definitivamente que la prueba de Davidsohn Modificada es una técnica más sensible y económica que las pruebas comerciales de que disponemos en el mercado. La necesidad de continuar estudiando la presencia de la Mononucleosis Infecciosa en adultos jóvenes sería de gran importancia con fines epidemiológicos.

BIBLIOGRAFIA

INTRODUCCION:

- (1).-EBV: Viral Infections of Humans. pp209-233, Plenum Medical Book Co. New York, edited by Evans A.S. (1977)
- (2).-Inmunofluorescence in cells derived from Burkitt's lymphoma, Henle G. and Henle W., J. Bact. 91:1248-1256 (1966)
- (3).-EBV-specific IgA serum antibodies as an outstanding feature of nasopharyngeal carcinoma. Henle G. and Henle W. Int J. Cancer 17:1-7 (1976)
- (4).-Differential reactivity of human sera with EBV-induced early antigens. Henle G. et al. Science 169:188-190 (1970)
- (5).-EBV related serology in Hodgkin's disease. Henle G. and Henle W. Nat. Cancer Inst. Monogr. 36 (1973)
- (6).-Cellular localization of an EBV-associated complement fixing antigen in producer and non-producer lymphoblastoid cell lines. Reedman B.M. and Klein G. Int. J. Cancer 11:499-520. (1973)
- (7).-Clinical and laboratory evaluations of elderly patients with heterophyl antibodies positive IM. Horwitz et al. Am J. Med. 61:333-339 (1976).

GENERALIDADES:

- (1).-The occurrence of abnormal leucocytes in the blood in acute infections. Bloerdon W.A. and Haughton J.E. Intern Med 27:315-325 (1921)
- (2).-Conditions simulating an acute leuchemia. Crooss J.G. Minn. Med. 5:579-581 (1922)
- (3).-IM, with a report of 10 cases. Longcope W.T, Am. J. Med. Sci. 164:781-807 (1922)
- (4).-Glandular feber. Morse P.F. J. Am. Med. Assoc. 77:1403-1404 (1921)

- (5).- IM and EBV. Rapp C.E., Hewetson J.F., Am. J. Dis. Child 132:78-86 (1978)
- (6).-EBV, Evans, Niederman (catalog)
- (7).-IM and EBV. Schleupner C.J. Overall J.C., Postgraduate Med. 65:83-89 (1979).
- (8).-Fatal IM in a family. Barr R.S. et al, N. Engl. J. Med. 290: 363-367. (1974)
- (9).-Serologic Evidence that a Herpes type-virus is the etiologic agent of heterophile-positive IM. Hamper et al, Proc. Med. Nat. Acad. Sci. 68(7):1407-1411 (1971).
- (10).-IM and its relationship to EBV. Henle et al. Ac. British Med. J. 4:643-646 (1971).
- (11) Pathogenesis of IM, Epstein, Acong. Lancet december (1977)
- (12).-IM and EBV. Schleupner C., Overall J. Post. Med. 65:95-105 (1979).
- (13).-Practical Approach to diagnosis of IM. Horwitz C.A. Post. Med. 65(6):179-184 (1979).
- (14).-Diagnóstico clínico para el laboratorio. Todd-Sanford pp264-268, Editorial Salvat, Sexta Edición (1978)
- (15).-The presence of heterophile antibodies in IM. Paul-Bunnell. Am J. Med. Sci. 183:90-104 (1932)
- (16).-The heterophile antibodies. Davidsohn Am. J. Med. Sci. 183:105-108 (1932)
- (17).-Differential reactivity of human serums and with early antigen induced by EBV. Henle G. Henle W., Science 169:188-190. (1970)
- (18).-Neutralizing antibodies to EBV in healthy population and patients with IM. Hewetson et al. J. Infect. Dis. 128:283-389 (1973)

(19).-Studies on the diagnostic value of an immunofluorescence test for EBV specific IgG.Edwards,McSwiggon.Clin Pathol. 27:647-651 (1974).

(20).-New discoveries in IM.Evans A.S. Mod. Med. 1:18-24 (1974)

(21).-Center for disease control,IM surveillance.November (1972)

Otros artículos consultados para la realización de este tema:

(1).-IM and Hodgkin's disease.Muñoz M. INT. J. Cancer 22:10-13 (1978)

(2).-IM recognition and management .Patrik K. Lai .Hosp. Pract. 12(8):47-52 (1977)

(3).- Mumps occurring as a Mononucleosis -like syndrome with positive Monospot test.Valhne A. ,J.A.M.A. 242(8):711 (1979)

(4).-Platlet defect of IM,Clancy R.British Medical J.4:646-648 (1971)

(5).-Differential reactivity of Human serums with early antigens induced by EBV,Henle W,Henle G.,Science 169:188-190 (1970).

(6).-IM.Niederman,Mc Collum,Henle ,J.A.M.A. 203(3):139-143 (1968)

(7).-The oncogenicity of EBV.Miller G.,J. Infect.Dis. 130:187-205 (1974)

(8).-EBV in human pathology. Didier J.,Biomedicine 28:54-62 (1978)

(9).-IM,appearance of neutralizing antibodies to EBV measured by inhibition of formation of lymphoblastoid cell lines.

Miller G.,Niederman A.S. ,J.Infect.Dis.125:406-403 (1972)

- (10).-El virus de Epstein-Barr.Henle W ,Henle G. Scientific American.
- (11).-Seroepidemiologic studies of IM with EBV.Evans A. et al,New Engl.J.Med.279(21):1121-1127 (1968)
- (12).-EBV and IM ,Henle W,Henle G. ,N.Engl.J.Med. 288(5): 263-264.(1973)
- (13).-Observations on childhood infections with EBV.Henle W, Henle G.,J.Infect.Dis. 121:303-310 (1970)
- (14).-Heterophile negative IM and Mononucleosis-like syndrome.Horwitz C. et al ,Am. J. Med. 63:947-957. (1977)
- 15.-Prevalence,Incidence and persistence of EBV antibodies in young adults.Niederman A.s. Evans A.,N.Engl.J.Med. 282(7) 361-365 (1970)
- (16).-Development and persistence of immunity to EBV in Man Tischendorf P. et al ,J.Infect.Dis.122:401-409 (1970)
- (17).-Blastogenic response of purified human T-lymphocyte population to EBV.Gergely P. et al ,Clin.Exp.Immunol.30:347-353 (1977)
- (18).-Studies on the heterophile antibodies of IM,Langhorne j.,Feizi T.,Clin Exp.Immunol. 30:354-363.(1977)
- (19).-Antibodies to EBV-associated nuclear antigen in IM Henle W andG,Horwitz.,J.Infect.Dis.130:231-239. (1974)
- (20).-Antibodies to EBV early antigens in IM.Henle W and G. J.Infect Dis. 124:58-67 (1971)
- (21).-EBNA antibodies are more useful than complement fixing antibodies in monitoring IM patients.Sohier ,de Thé.,Bio² medicime:29:170-179 (1978).
- (22).-T and B cells in peripheral blood during IM,Enberg R et al.J.Infect.Dis. 130:104-111 (1974).

- (23).-Depression of cell-mediated immunity during acute IM.
Mangi et al,N.Engl.J.Med. 291(22):1149-1153 (1974)
- (24).-Incidence of heterophile antibodies response in children with IM.Fleischer et al. J. of Pediatrics 94(5):723-728 (1979).
- (25).-Infectious Mononucleosis,proceedings of symposium.
N.Y,NY.April 7,1972 .Ed. Philip R. Glade M.D.,J.B.Lippincottt company.
- (26).-The unusual forms of IM,Bastin R. Rev.Prat.30(3):123-127 (1980)
- (27).-Persistent falsely positive rapid tests for IM.horwitz et al.AM.J.Clin.Path.72:807-811 (1979)
- (28).-Autoantibodies to intermediated filaments in IM
Linder E.,Clin. Immunol.14:411-417 (1979)
- (29).-IM in the elderly.Pickens S. Age Aging 8(2):93-95 (1979)
- (30).-Heterophile antibodies in japanese patients with various diseases including IM.Yoshida H.
Immunol Commun. 9:403-408 (1980)
- (31).-IM,Shurin,Primary Care7:149-162 (1980)
- (32).-IM,cytology and immunological significance.Rev Prat 30:107-114 (1980).
- (33).-Latex test for serodiagnosis of IM.Levey BA.J.Clin. micro.11:256-262 (1980).

TECNICAS:

- (1).-The heterophile antibody reaction in the diagnosis of IM.Butt,Foord,J.Lab.Clin.Med. august pp50-55,(1934).
- (2).-The heterophile antibodies,Davidsohn,Am.J.Med.Sci. 183:105-108 (1932)

- (3).-Simple slide and test tube tests for IM. Straus K.,Am. J.Clin.Path.6:546-556 (1936)
Serologic diagnosis of IM .Davidsohn.J.A.M.A. 108:289-295 (1937)
- (5).- Test for IM .Davidsohn.,Am. J. Clin.Path.8:56-60 (1938)
- (6).-Rapide macroscopic test for IM.Rappaport and Sbarinton, from the Bacteriological Laboratory of Hadassah Hospital pag 665-667 (1949)
- (7).-A screening test for heterophile antibodies in IM .Vaughn J.Clin.Path.4:104-106 (1951)
- (8).-Enzyme treated red blood cells of sheep in the test for IM.Muschel and Donald,Am .J. Clin.Path.32(3);240-244 (1959)
- (9).-Serologic diagnosis of IM (4)
- (10).-A new rapid slide test for IM.,Hoff and Bauer,J.A.M.A. october 194:119-121 (1965)
- (11).-Horse agglutinins in IM I.Davidsohn, Lee,A.J.C.P. 49: 3-11 (1968)
- (12).-Horse agglutinins in IM II.Davidsohn, Lee, AJ.C.P. 49: 12-18 (1968)
- (13).-Rapid differential slide test for the diagnosis of IM Goldin M.,Am. J. Med. Tech. 40:317-320 (1974)
- (14).-Serologic evaluation of Mono-chek test.Byron et al Am. J. Clin.Path.65:987-990 (1976)
- (15).-The efficiency and effectivness of diagnostic tests for IM.English,Geiman.J.Fam.Pract. 6:5 (1978)
- (16).-Persistent false positive rapid tests for IM.Horwitz, Henle G.and W. A.J.C.P. november pp807-811,(1979)

INTERPRETACION RESULTADOS:

(1).-A prospective evaluation of heterophile antibodies EBV_ specific IgM antibody tests in clinical and subclinical IM
Evans et al. J. Infect. Dis. 132:546-554. *ant*

(2).-IM at the United States Military Academy. Halle T.J. et al
Yale J. Biol. Med. 47:182-195 (1974).