

120
2 ej.



*Universidad Nacional Autónoma
de México*

Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán

**“ ESTUDIO COMPARATIVO DE VARIOS
ANTIGENOS PARA EL DIAGNOSTICO DE
BRUCELOSIS HUMANA Y DIAGNOSTICO DE
PREVALENCIA DE BRUCELOSIS HUMANA
EN GRUPOS DE POBLACION GENERAL Y
POBLACION DE ALTO RIESGO ”**

T E S I S

*Que para obtener el Título de:
Médico Veterinario Zootecnista*

p r e s e n t a n

Enrique Paulin Basurto

José de Jesús López Espinosa

Norma Micaela Villamil González

*y para obtener el Título de:
Químico Farmacéutico Biólogo*

p r e s e n t a

Patricia Guadalupe Villamil González

Directores: M.V.Z. Jorge López Pérez

M.V.Z. M.S.P. Carlos J. Jaramillo A.



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.

C O N T E N I D O

- I. RESUMEN
- II. INTRODUCCION
 - A) OBJETIVOS
 - B) ANTECEDENTES
 - C) HISTORIA NATURAL DE LA BRUCELOSIS
 - D) DIAGNOSTICO
- III. MATERIAL Y METODOLOGIA.
- IV. RESULTADOS
- V. DISCUSION
- VI. CONCLUSIONES
 - A) OBSERVACIONES
 - B) RECOMENDACIONES
- VII. BIBLIOGRAFIA

RESUMEN

Siendo la Brucelosis una enfermedad zoonótica de gran importancia en México; en esta investigación se determinaron algunas características en cuanto a la calidad de los Antígenos Comerciales, comparados -- con el Antígeno Patrón elaborado por CEPANZO. Y a la vez se determinó la prevalencia de esta enfermedad en dos muestras poblacionales que -- son obtenidas en población definida de alto riesgo en donde se incluyen: trabajadores de rastro, ordeñadores, Veterinarios y estudiantes de Veterinaria de los últimos semestres; la población definida general, - es decir, pacientes que acudieron a los servicios de los Centros de Salud ubicados en una zona urbana, de donde se obtuvieron las muestras - de suero

Los resultados obtenidos denotan baja calidad de los Antígenos Comerciales en cuanto su sensibilidad y valor predictivo.

En lo que respecta a prevalencia se encontró que esta enfermedad - presentó elevada tasa, con una frecuencia mayor en población general - que en población de alto riesgo, encontrándose contraria a que es básicamente ocupacional.

II

INTRODUCCION

Se conoce con el término de Brucelosis a la enfermedad ocasionada en el hombre y en los animales por los microorganismos del género *Brucella*. Incluye, por consiguiente, tanto las diferentes formas clínicas de la enfermedad humana como los diversos cuadros que se presentan en el ganado, sobre todo en forma de abortos epizooticos. (42)

La Brucelosis constituye en la actualidad un problema mundial difícil de afrontar tanto para la salud humana como la salud animal, y sus especiales características ecológicas como zoonosis de fácil difusión y de difícil diagnóstico clínico, hacen indispensable que medidas específicas como inmunización en animales y diagnóstico precoz, tanto en humanos como en animales, sean requeridos para el control eficaz de la enfermedad. (11)

Desde el punto de vista médico, sanitario y económico, la Brucelosis presenta un problema de primer orden, ya que esta enfermedad constituye una causa de morbilidad humana así como también el bajo rendimiento laboral, dentro del marco de las enfermedades ocupacionales. La frecuencia de la enfermedad, su duración y sus secuelas suponen elevados costos directos e indirectos, tanto para humanos como en animales. (26, 42)

La Brucelosis humana es una consecuencia de la Brucelosis animal,

por ello, la lucha contra la enfermedad reposa esencialmente en las medidas de sanidad Veterinaria tendientes a eliminar la infección en los animales. (42)

Por otro lado el diagnóstico serológico en humanos en México se efectúa con antígenos cuya calidad puede no ser la óptima, (44) lo -- que podría traer como consecuencia probables reacciones inespecíficas y de poca sensibilidad. Dado que el diagnóstico serológico de la Brucelosis es el que más se trabaja en nuestro país y por su gran importancia en el área de Salud Pública refiriendonos concretamente al tercer nivel de prevención (diagnóstico precoz), dentro de la prevención secundaria; creemos que vale la pena hacer una revisión de la calidad de los antígenos utilizados en el diagnóstico de la Brucelosis humana, -- con respecto a su porcentaje de sensibilidad y especificidad; tomando en cuenta que la concentración celular requerida para el antígeno utilizado en placa debe estar entre 10% y 12% como lo establece la OPS/OMS. Sin embargo, varias investigaciones han demostrado que los Antígenos Comerciales que se producen en América, en general, tienen una concentración celular entre el 1% y máximo 8%, siendo muy frecuente la concentración del 2% al 3 %. (28, 50)

Por lo anteriormente citado y tomando en cuenta que los últimos - estudios sobre seroepidemiología de la Brucelosis en la República Mexicana datan de 1976, (36) creemos que es de carácter imperioso el efectuar un estudio de prevalencia de la Brucelosis humana, para determinar el comportamiento de la enfermedad y tomar las medidas adecuadas para - su control.



Universidad Nacional
de México

PR DE REVIATAS

- En la página 20, último renglón dice:
antígeno-anticuerpo, pero se bloquea la formación de puentes intracelulares.....
y debe decir:
antígeno-anticuerpo, pero se bloquea la formación de puentes intercelulares.....
- En la página 33, en el divisor de la fórmula de tasa de prevalencia dice:
Población expuesta al riesgo en ese lugar y tiempo dados.
y debe decir:
Población expuesta al riesgo en ese lugar y tiempo dados.
- En la página 39, renglón 25 dice:
y siendo mayor la prevalencia de Población de Alto Riesgo ..
y debe decir:
y 19.65% siendo mayor la prevalencia de Población de Alto Riesgo ..
- En la página 42, renglón 13 dice:
origen animal para el consumo, con mala calidad y mala
y debe decir:
origen animal para el consumo, con mala calidad y mala

A) OBJETIVOS

- 1) Evaluar la sensibilidad y especificidad de algunos antígenos utilizados en nuestro país, para el diagnóstico serológico de la Brucelosis humana comparándolos con el antígeno de referencia.

- 2) Diagnosticar la prevalencia de Brucelosis humana en grupos de población general y población de alto riesgo.

B) ANTECEDENTES

Durante la guerra de Crimea (1854 - 1856) se observaron numerosos casos de fiebres prolongadas que no podían compararse con las enfermedades conocidas; por lo que se sospechó que se trataba de una infección nueva. Sin embargo, algunas autoridades de la historia de la medicina consideran que la Brucelosis era una enfermedad conocida desde Hipócrates (400 años A.C.) pero las primeras descripciones en las que se presentan con claridad son las de Cleghorn (1750). En 1859, Marston hizo cuidadosos estudios clínicos y autopsias de casos de fiebres mediterráneas remitentes, presentando más tarde (1863) una descripción detallada de la enfermedad observada en diversos sujetos y aún en él mismo, - durante su expedición como cirujano del ejército Británico a la Isla de Malta, (esta enfermedad recibió más tarde el nombre de Fiebre de Malta). (35,43,47)

El agente causal de la Brucelosis fue descubierto por Bruce (1866), en el bazo de personas muertas de esa infección. Más tarde logró aislar el germen de enfermos y pudo demostrar la virulencia del Micrococcus melitensis para el mono. (35)

En 1897, Wrigth y Semple desarrollaron un método de diagnóstico - basado en la propiedad aglutinante del suero sanguíneo de enfermos, sobre cultivos de Micrococcus melitensis. Sin embargo, transcurrieron casi 20 años desde que se descubrió la Brucella (1866) hasta que fue en-

contrada la forma en que el hombre adquiría la infección (1905). (43)

En 1905, el Dr. Zanit informó haber encontrado aglutininas en el suero de cabras lo que fue seguido por el descubrimiento del Dr. Horrocks, sobre sobre el Micrococcus melitensis en la leche y orina de estos animales.

Simultaneamente con las primeras observaciones de Brucelosis humana, el Dr. Bang, de Dinamarca, llevó a cabo estudios sobre etiología del aborto contagiosos de bovino en 1897. El agente de esta infección fue llamado bacilo de bang, y con este nombre guardó su incógnito para la patología humana durante poco más de 20 años.

Aun cuando el aborto infeccioso era ya un problema de importancia en los Estados Unidos desde el siglo pasado, su confirmación técnica tuvo lugar hasta 1910 por Mc. Neal y Kerr. Schoeder y Cotton aislaron el bacilo de Bang de la leche de vacas aparentemente sanas, y Morkler y Traum de las amígdalas de los niños que se alimentaban con leche de vacas contaminadas.

En 1914, Jacob Traum, en Estados Unidos, aisla una bacteria responsable del aborto infeccioso de las cerdas, que se asemejaba al agente etiológico de la enfermedad en los bovinos y fue luego clasificada como Brucella suis.

Fue el mérito de Alice Evans de llamar la atención, en 1918, sobre la similitud de Brucella abortus y Brucella melitensis y en base a la misma, plantear la cuestión de la posibilidad de que la leche -- contaminada con Brucella abortus pudiera originar la infección en el hombre como efectivamente se pudo comprobar después. (37,43)

En 1920, Meyer y Shaw, en base a la similitud de los caracteres morfológicos y bioquímicos de los agentes etiológicos de la fiebre -

del Mediterráneo y el aborto infeccioso de los bovinos, establecen el género *Brucella* en homenaje a David Bruce.

Investigaciones epidemiológicas han podido establecer que cada una de las especies de *Brucella* tiene su huésped principal natural tales como los bovinos para *Brucella abortus*, los suinos para *Brucella suis* y los caprinos y ovinos para *Brucella melitensis*. El hombre es susceptible a las tres especies principales de *Brucella* y puede adquirir la infección ya sea directa o indirectamente de cualquiera de los reservorios naturales.

A estas tres especies de *Brucella* se agrego luego una nueva, *Brucella neotomae* y posteriormente dos géneros más, *Brucella ovis* y *Brucella canis*. (6,18, 30,49)

Es evidente que sólo con una correcta identificación de las cepas aisladas del hombre y de los animales se podrá efectuar un diagnóstico correcto y obtener una pauta epidemiológica adecuada.

C) HISTORIA NATURAL DE LA BRUCELOSIS HUMANA

I. PERIODO PREPATOGENICO.

1. FACTORES DEL AGENTE.

- 1.1. Nombre y Características Morfológicas. Los microorganismos del género *Brucella* son cocobacilos pleomórficos, Gram negativos de pequeño tamaño, (0.3 a 2.3 milimicras de longitud) y escaso diámetro. En algunos casos presentan una coloración bipolar, son parásitos inmóviles, no esporulados y obligados intracelulares. Sus colonias son pequeñas, redondeadas, convexas, lisas, de aspecto húmedo y tienen características translúcidas. Su crecimiento es lento, especialmente al iniciar el cultivo, por lo que -- las colonias no son visibles hasta después de dos días o más. En general las *Brucellas* aisladas a partir de los tejidos son de tipo liso, producen colonias de tipo "L" y mediante coloraciones apropiadas, puede demostrarse que se hayan capsuladas. (18, 20, 22, 30, 35)
- 1.2. Patogenicidad. Las tres especies principales de *Brucella* son patógenas para una amplia variedad de mamíferos, aunque cada una de ellas tiene un hospedador de elección. Las infecciones por *Brucella abortus* y *Brucella suis* suelen afectar mayormente a -- grupos ocupacionales, mientras la causada por *Brucella meliten-*

sis ocurre con mayor frecuencia que las anteriores en población general. El hombre entonces es más afectado por estas tres especies además de Brucella canis. No se han reportado casos humanos por Brucella ovis o Brucella neotomae. Las especies más patógenas, además de invasoras para el hombre son Brucella melitensis, como la más importante, siguiéndole Brucella suis y Brucella abortus. (2,30,41,49)

- 1.3. Virulencia. En las distintas especies de Brucella no se han detectado factores virulentos específicos de tipo clásico, como son las exotoxinas o los constituyentes antifagocíticos de la cápsula de la pared celular. Es posible que exista un factor de virulencia que aumenta la supervivencia intracelular. Así, la Brucella abortus virulenta, procedente de cultivos de monocitos o de placentas infectadas de bovino, sobrevive con mayor facilidad en las células mononucleadas que los microorganismos de la misma cepa cultivados en medios artificiales. Además, la pared celular de Brucellas virulentas obtenidas de placentas bovinas inhiben la destrucción intracelular de cepas avirulentas por las células mononucleares, cosa que no ocurre con los mismos microorganismos cultivados en medios artificiales. Por lo tanto, este factor de virulencia solo se produciría in vivo .(19,20,35)
- 1.4. Resistencia. La pasteurización destruye las Brucellas, pero éstas pueden sobrevivir varias semanas en tejidos fetales infectados y en el suelo. En quesos maduros, mueren en el término de pocos días a consecuencia de la acumulación de ácido láctico, no

así en quesos frescos y mantequilla donde permanecen viables -- por largo período. Las Brucellas resisten la salazón y el ahumado. (2,20, 22,35)

2. FACTORES DEL HOSPEDADOR.

- 2.1. Inmunidad. La resistencia adquirida de modo natural a la Brucelosis es sólo relativa, ya que la reinfección es frecuente y la inmunidad no queda asegurada por la mera presencia de los anticuerpos circulantes. Los anticuerpos del suero suelen ser detectables cuando aparecen los primeros signos y síntomas de la enfermedad y su presencia en la circulación no puede evitar la bacteremia. Sin embargo, en esta enfermedad, los fenómenos de inmunidad celular poseen una extraordinaria importancia. Así, las Brucellas presentan mayor supervivencia en células mononucleadas procedentes de animales no inmunes, que en células procedentes de animales inmunizados de forma activa. (20,22,41)
- 2.2. Sexo. Dentro de la enfermedad existe un claro predominio en el sexo masculino, esto debido al tipo ocupacional que el hombre desempeña, aumentando en forma considerable el riesgo de contacto con el agente causal de la enfermedad. (30)
- 2.3. Edad. El padecimiento es poco frecuente en lactantes y preescolares (2.5 - 10 % del total); este fenómeno ha sido poco estudiado y parece tener explicación en el menor contacto con los animales infectados, ya que rara vez son alimentados con leche cruda; sin embargo, cuando ocurre una de estas circunstancias, la susceptibilidad es semejante a la observada en los adultos, -

como sucedió en la Isla de Malta, donde la Brucelosis era más frecuente en los menores de 5 años que en los adultos, esto debido a la alimentación con lácteos no pasteurizados. En general los datos más altos de casos con la enfermedad, se encuentran entre los 25 - 45 años de edad. (9,30)

3. FACTORES DEL MEDIO AMBIENTE.

3.1. Papel Climatológico. La Brucelosis es una zoonosis de distribución mundial y afecta principalmente a los países con ganado caprino y ovino como: Rusia, México, países del Medio Oriente y Sudamericanos. En México, el 90% de los casos tienen su origen en los caprinos por la infección de Brucella melitensis. El padecimiento existe en todo el territorio nacional, predominando en una área triangular con base en la frontera norte y vértice en el centro. La base incluye a los estados de Coahuila, Nuevo León y Tamaulipas, y el vértice afecta particularmente al estado de Guanajuato; además de éstos, en 1974 (30), se identificó otra zona con un elevado porcentaje de individuos con anticuerpos: los estados de Veracruz, Tabasco y Campeche, que corresponden al sureste de la República Mexicana. (2,30) Lo anterior muestra que tanto en zonas áridas y semiáridas como en tropicales húmedas, la enfermedad existe siendo la causa principal la convivencia con el ganado caprino, ovino, bovino y porcino, en orden de importancia. (9,25)

3.2. Fuentes de Infección. El aparato digestivo constituye la vía de entrada más importante de la enfermedad; la ingestión de productos de origen animal como leche no pasteurizada y contaminada -

con el agente, quesos frescos, mantequillas, sangre, carne mal cocida, etc., son fuentes importantes para el contagio. Los animales reservorios y su mal manejo constituyen otra de las principales fuentes para los individuos que conviven con ellos. (25,34,37,40)

- 3.3. Factores Socioculturales y Socioeconómicos. En nuestro país existen condiciones que son importantes de considerar para que la enfermedad se establezca y son: que gran parte de la población mantiene vivas sus costumbres y creencias tradicionales de como deben criar sus animales; preparado, consumo y venta de productos de sus animales con mala calidad y nula inspección sanitaria; tan sólo en julio de 1983 el Departamento de Salud Pública de la ciudad de Houston, Texas notificó de 29 casos, que eran inmigrantes mexicanos, de los cuales 28 manifestaron haber consumido queso blanco y fresco de cabra antes de la aparición de los síntomas y 23 manifestaron haber comprado el queso a un vendedor ambulante que lo traía de Linares, México; (9) su poca preocupación y escasos recursos les impiden hacer chequeos médicos continuos que son importantes para el control de la enfermedad. (37)

II. PERIODO PATOGENICO.

1. FASE SUBCLINICA.

- 1.1. Implantación. En el punto de penetración, cutáneo o mucoso, se encuentran células polimorfonucleares, que ingieren a los microorganismos, los cuales se multiplican en su interior. A continuación las bacterias, son transportadas por los vasos -

linfáticos a los ganglios regionales. (20)

1.2.: Reacción Tisular. A nivel ganglionar, las bacterias penetran - en las células mononucleares y se multiplican en su interior : algunas de estas células son destruidas , liberando bacterias- y restos celulares que estimulan la actividad local de las cé- lulas mononucleares así como su proliferación. El resultado de este enfrentamiento es el que determina si la infección va a - ser contenida o no. En caso de que no lo sea, las bacterias, -- que se hayan situadas en el interior de las células polimorfo- nucleares y mononucleares, son transportadas al torrente san- guíneo y aparecen los síntomas y signos. (20, 41)

1.3. Período de Incubación. El período de incubación de la Brucelo- sis humana es largo y a menudo abarca varias semanas, 2 o 3. (20,21,30,34,35)

2. FASE CLINICA.

2.1. Signos y Síntomas Inespecíficos. En uno que otro caso la enfer- medad comienza bruscamente con escalofríos, fiebre, sudoración y dolores musculares generalizados con postración intensa. El - comienzo también puede ser muy incidioso; el paciente se queja de malestar vago, debilidad y agotamiento general durante mu- chos meses. (2,29, 30,42)

2.2. Signos y Síntomas Específicos. Las infecciones se caracteri - zan por sudoración nocturna y dolores pasajeros en abdomen, ex- tremidades y articulaciones. Pueden ocurrir neuritis y radicu- litis grave. La fiebre puede ser continua, ondulante, de baja- intensidad o nula, pero con frecuencia de tipo intermitente,

precidida por sensación de sudoración (diaforesis nocturna).
(25,29,42)

2.3. Secuelas. las complicaciones más frecuentes son lesiones óseas y articulares, tales como espondilitis y artritis supurativa, generalmente de una sola articulación; endocarditis bacteriana subaguda, encefalitis y meningitis. Las complicaciones menos frecuentes las constituyen las pneumonitis con derrame pleural, hepatitis y colecistitis. El aborto en la mujer no es tan frecuente como sucede con otras enfermedades bacterianas agudas - que ocurren durante el embarazo, en el hombre ocurre una impotencia sexual debida a la orquiepididimitis unilateral. (26, - 30,42,43)

2.4. Pronóstico. La mayoría de los casos es una enfermedad autolimitada, las recaídas son frecuentes a pesar del tratamiento con antibióticos. En la serie de Dalrymple - Champney, con 1215 casos tratados, las recaídas desaparecieron después de tres meses en el 74%, después de seis meses en el 15% y en un año en el 6%, pasando a la cronicidad sólo el 5% de los casos. La enfermedad causada por Brucella abortus es menos severa que la ocasionada por Brucella suis y Brucella melitensis. La letalidad de este padecimiento es del 1 al 3%. (8,26,30,41)

D) D I A G N O S T I C O

La Brucelosis no provoca manifestaciones clínicas suficientemente-características para fundar el diagnóstico por lo que debe recurrirse - al empleo de métodos de laboratorio. (25,46) Para seleccionar e inter - pretar los métodos de laboratorio que más convienen es necesario tener-presente la forma en que evoluciona la infección en sus diferentes eta-pas.

1. Diagnóstico Bacteriológico.

Dentro de los métodos bacteriológicos debemos considerar principal - mente en humanos , el cultivo.

El diagnóstico definitivo lo establece el aislamiento de Brucella y el método más utilizado es el hemocultivo doble de Castañeda, (43)-- también puede identificarse en cultivos de médula ósea, orina o lí - quido cefaloraquídeo, así como el material obtenido de abscesos o -- biopsias hepáticas y ganglionares.

Se recomiendan como medios de cultivo básicos el agar-dextrosa con-suero, agar-triptosa con suero y agar tripticasa soya.

Existiendo también medios selectivos. (6,18,23,30,37)

2. Diagnóstico Serológico.

Las pruebas serológicas son muy utilizadas en el diagnóstico de la-Brucelosis humana y animal. Existe una gran variedad de pruebas ---

diagnósticas para detectar los anticuerpos anti-Brucella en el suero y plasma sanguíneo.

Hay procedimientos de diagnóstico eficaces como la seroaglutinación en placa, tubo y fijación del complemento, (24) que se emplean en el laboratorio como pruebas básicas, usadas ampliamente en programas de control de Brucelosis. (44)

Se puede hacer uso también de las llamadas pruebas complementarias, ya que hay sueros que contienen aglutininas inespecíficas, por otra parte hay individuos infectados cuyos sueros contienen pequeñas cantidades de aglutininas; para diferenciar estas dos clases de proteínas se han descrito muchas técnicas y algunas de ellas son: (23)

- Prueba de Mercaptoetanol
- Prueba de Rivanol
- Prueba de Aglutinación en Placa con antígeno acidificado
- Prueba de Card-Test
- Prueba de Coombs (7)

3. Prueba de Intradermorreacción.

Resientemente se están realizando estudios de esta prueba en nuestro país. (6, 12,14,23,27,30,37)

Pruebas de Seroaglutinación.

Estas pruebas a pesar de sus reconocidas limitaciones, son las más usadas en el diagnóstico de Brucelosis humana, destinadas a investigar la presencia de anticuerpos en el suero de personas enfermas, los anticuerpos que se detectan son IgM e IgG; las IgM aglutinan más intensamente que las IgG ya que, al ser las moléculas más voluminosas, poseen un mayor número de sitios de reacción por lo que se suponen que pueden al-

canzar más fácilmente que los IgG los determinantes antigénicos ubicados sobre moléculas adyacentes.

El título de un suero es la más alta dilución que causa un determinado grado de aglutinación y se expresa en Unidades Internacionales (UI) que corresponden al recíproco de esa dilución. (12,44)

Factores que afectan el Diagnóstico Serológico.

1. Características de los antígenos.

El título del suero depende de la sensibilidad del antígeno, por lo tanto, los antígenos usados deben ser normalizados para poder obtener un diagnóstico correcto. (12,14)

En la elaboración de los antígenos los factores más importantes que se deben tener en cuenta son:

- A) Disociación: la cepa de Brucella debe estar en la fase lisa, ser estable y aglutinogénico.
- B) Pureza: los antígenos deben contener solamente la cepa de Brucella usada en su elaboración.
- C) Esterilidad: los antígenos deben ser estériles para no exponer a los operadores a ningún riesgo.
- D) Concentración de electrolitos: es esencial para que ocurra el fenómeno de aglutinación.
- E) pH : para los antígenos de placa oscilará entre 6.40 y 7.00.
- F) Concentración celular: para el antígeno de placa será de 10 a 12%.

(6,12)

En el Continente Americano, los antígenos se estandarizan ajustando su volúmen celular y luego se comparan con antígenos de referencia -

frente a un grupo de 20 sueros de títulos aglutinantes diferentes, incluyendo títulos negativos. (6,12)

Cuando no se dispone de antígenos normalizados es imprescindible - comparar los títulos de los sueros problema, para lo cual se incluirá - en las pruebas el Patrón Internacional de Suero Anti-Brucella abortus - (PISAb). Esto permite, cuando se trata de antígenos de sensibilidad des - conocida, expresar el contenido de anticuerpos de los sueros problema - en términos de Unidades Internacionales.

En América, generalmente se usa a la Brucella abortus cepa 1119-3- en la elaboración de los antígenos estándar; la Brucella abortus cepa - 99 se emplea en Australia, Cuba, Europa y Nueva Zelandia. Estos antígenos permiten diagnosticar las infecciones producidas por las tres Brucella clásicas: Brucella abortus, Brucella suis y Brucella melitensis.

Sin embargo, en experiencias realizadas en el Centro Panamericano de Zoonosis (CEPANZO) OPS/OMS, se determinó que los antígenos preparados con Brucella abortus o con Brucella suis son menos sensibles frente a - sueros de personas infectadas con Brucella melitensis, que cuando se - prueban con sueros anti-abortus o anti-suis. Se estima que el sistema - homólogo de antígenos-anticuerpo posee el doble de sensibilidad que las mezclas heterólogas. Cuando se usen antígenos de Brucella abortus en - áreas donde la Brucelosis caprina sea endémica, se debe tener en cuenta este factor para la interpretación de los títulos. Sin embargo, no se - debe olvidar el riesgo que representa para el personal la preparación - de antígenos con Brucella melitensis, su empleo por ahora no es recomen - dable. En cambio, no hay diferencia de sensibilidad en los sueros pro - venientes de animales infectados por Brucella suis y examinados con an - tígenos de abortus o suis. (12)

2. Patron Internacional de Suero Anti-Brucella abortus. (PISAb)

El Comité Mixto FAO/OMS de expertos en Brucelosis, recomienda que se use el PISAb para la normalización de antígeno y la comparación de resultados y que los títulos de los sueros se expresen en Unidades Internacionales. La expresión del contenido de aglutininas en U.I. permite que la interpretación de los resultados tenga el mismo significado en todos los países. (5,6,12,14)

3. Reacciones Heteroespecíficas. (Reacciones cruzadas)

Es posible que ocurran reacciones heteroespecíficas, tanto en el hombre como en los animales. Estas reacciones, que se observan en individuos no infectados con Brucella, pueden deberse a diferentes agentes como Vibrio cholerae, Pasteurella spp., Francisella tularensis, Salmonella spp., Bordetella bronchiceptica, Proteus OX19 y también a vacunaciones contra algunas enfermedades, como cólera humano. (15, 17) La mayoría de estas reacciones serológicas cruzadas se caracterizan por mostrar títulos más bajos en la reacción con el microorganismo heterólogo que con el homólogo.

Generalmente los títulos no son altos y se pueden diferenciar por pruebas complementarias. En muchos casos las causas permanecen desconocidas. En los últimos años se ha comprobado que la Yersinia enterocolitica tipo IX(0-tipo 9) causa este tipo de reacción cruzada.

Los sueros de seres humanos o animales infectados con Yersinia enterocolitica tipo IX reaccionan dando títulos altos con cepas lisas de las tres especies clásicas de Brucella. No hay diferencias cualitativas con respecto a la capacidad de producir reacciones cruzadas con las tres especies. Tampoco se manifiestan diferencias cuantita-

tivas concluyentes, pero en el caso de sueros monoespecíficos hay mayor reactividad entre el antígeno de Yersinia enterocolitica y el suero monoespecífico A (Brucella melitensis biotipo 1) que con el suero monoespecífico M (Brucella melitensis biotipo1).

Las reacciones cruzadas se atribuyen a la similitud de los antígenos lipopolisacáridos superficiales de estas bacterias. Los sueros que muestran reacciones cruzadas entre Yersinia enterocolitica tipo IX - y Brucella abortus presentan actividad, tanto en las fracciones IgM como en las IgG.

Las reacciones de seroaglutinación, fijación de complemento y Coombs no permiten diferenciar el origen de los anticuerpos de estas infecciones. (12,24,44)

4. Fenómeno de Zona.

El fenómeno consiste en que un suero no aglutina en las diluciones más bajas, mientras que en las diluciones más altas ocurre una aglutinación intensa. En las mezclas suero-antígeno que contienen las más altas concentraciones de anticuerpos no ocurre la aglutinación, si bien hay unión antígeno-anticuerpo. Este fenómeno se explica por la presencia de anticuerpos "incompletos" "univalentes" que aunque se unen al antígeno, no producen la segunda fase de la reacción, es decir la agregación.

Estos anticuerpos pertenecen generalmente a la clase IgG. Estas inmunoglobulinas también pueden encontrarse y reaccionar con dos determinantes antigénicos adecuadamente espaciados de la misma célula.

En este caso, los determinantes antigénicos de las células son saturados rápidamente por el anticuerpo y se forma el complejo primario antígeno-anticuerpo, pero se bloquea la formación de puentes intrace

lulares por las moléculas del anticuerpo, con lo que se inhibe la -- aglutinación. La presencia de estos anticuerpos se puede demostrar -- mediante la prueba de antiglobulina de Coombs. (7)

El fenómeno de zona ha sido demostrado muchas veces, especialmente -- en sueros de títulos altos y en individuos (hombre o animales) con -- infecciones de larga duración. (27) No obstante, es útil recordar -- que muchas veces se trata de un fenómeno causado por la mala calidad de los antígenos usados en el diagnóstico, o por sueros altamente -- contaminados que ocasionan una reacción "aglutinoide". En algunos -- sueros se puede obviar el fenómeno de zona suspendiendo el antígeno -- en suspensión de NaCl al 5%.

En los sueros en los cuales el fenómeno de zona dificulte la inter-- pretación de la reacción se recomienda usar la prueba de fijación de complemento. (11,12,24,39)

Para fines de esta investigación se utilizó la prueba de Aglutina-- ción Rápida o en Placa, por algunas características que a continuación -- se mencionan.

Se usa en gran escala como método de rutina en toda América. Se -- aplica sola o conjuntamente con la prueba de Tubo, los sueros sospecho-- sos y positivos con la prueba de Placa se someten a la prueba Lenta en -- Tubo. Su empleo es muy útil, incluso en zonas o regiones libres de Bru-- celosis. La concentración celular del antígeno es alta (10-12%) y se de -- be ajustar para darle una sensibilidad comparable a la del antígeno de -- tubo. Las diluciones de rutina son: 1:20, 1:40, 1:80, 1:160 y 1:320. ---

Cuando se desea establecer el título final, los sueros problema se -- deben diluir 1:16 con suero normal negativo.

El método ofrece la ventaja de ser rápido y sencillo, lo que permi

te aplicarlo en escala masiva en las campañas de control y erradicación y en muestreos para establecer la prevalencia de la enfermedad.

Además, la presencia de anticuerpos "incompletos", los fenómenos de prozona y hemólisis de los sueros ejercen una influencia menor que en la prueba en tubo.

Sin embargo, el método tiene el inconveniente de que las aglutinaciones inespecíficas se presentan con más frecuencia. El factor humano tiene más importancia que en otras pruebas, por cuanto el técnico encargado de su ejecución puede cometer errores de manipulación y leer las reacciones de distinta manera. En climas cálidos o tropicales y en ambientes favorables a la deshidratación y de altas temperaturas, las reacciones se aceleran y pueden dar títulos más elevados que cuando se realizan en condiciones adecuadas.

El método de aglutinación en placa ejecutado según las indicaciones pertinentes da resultados comparables a los de la prueba en tubo.

(11,12,23,44)

III

MATERIAL Y METODOLOGIA

Para el desarrollo de la técnica utilizada se emplearon los siguientes materiales:

Para la toma de muestra sanguínea.

- agujas vacutainer (estériles)
- tubos al vacío de 10 ml.
- camisas vacutainer
- torundas de algodón
- etiquetas para rotular
- tarjetas de datos

Para tratamiento de muestras.

- Centrífuga
- aplicadores de plástico
- frascos limpios de 5 ml.
- gradillas
- reloj minuterero
- placas de vidrio divididas en 60 cuadros de 3.5 a 4 c, por lado.
- aglutinoscopio
- pipetas de "Bang" de 0.2 ml graduadas para verter 0.08, 0.04, 0.02, 0.01 y 0.005 ml.
- cuenta gotas para el antígeno que da 0.03 ml. por gota
- caja de removedores de madera

Reactivos.

- alcohol de 96°
- Solución Salina fisiológica
- Antígenos Comerciales (tres) con su positivo y su negativo
- Antígeno Patrón (CEPANZO)
- Agua destilada

Metología.

1. Lugar de ejecución.

El presente trabajo fué realizado en la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán U.N.A.M.

El trabajo experimental de laboratorio se llevó a cabo en la Unidad de Medicina Familiar No. 16 del I.M.S.S. , en conjunto con el Laboratorio de Análisis Clínicos de la Facultad de Estudios Superiores-Cuautitlán U.N.A.M.

2. Evaluación de la sensibilidad y especificidad de antígenos comerciales.

2.1. Selección de muestra.

La selección de las personas de poblaciones definidas como de "Alto Riesgo" tales como: manipuladores de carne, de leche (ordeñadores), estudiantes de Veterinaria (5° al 10° semestre), Médicos Veterinarios y operadores de limpieza de corrales, se hizo bajo los siguientes criterios:

- a) Que las personas estuviesen expuestas directamente al factor de riesgo.
- b) Que el tiempo de antigüedad en esta actividad no fuese menor de un año .
- c) Que la edad del individuo no fuese menor de 18 años.

El tamaño de esta muestra fué de 255 personas.

Como "Población General" se consideraron a todas aquellas personas que tienen supuestamente muy poco o ningún contacto directo con el factor de riesgo, tales como:

- a) Estudiantes de Veterinaria (1° al 4° Semestre)

b) Personas que van solicitar servicio asistencial y análisis de laboratorio a la Unidad de Medicina Familiar No. 16 del I.M.S.S., por padecimientos supuestamente distintos al de la investigación ; - en donde se estableció como única condición, ya que fue practicamente imposible de controlar cualquier otra variable del de persona y lugar; de igual manera en el Hospital 1° de Octubre del I.S.S.S.T.E. El tamaño de esta muestra fue de 281.

2.2 Toma de muestra sanguínea.

Las muestras fueron obtenidas en todas aquellas personas que voluntariamente se sometieron al sangrado, en donde existió una previa motivación mediante la garantía de entrega de resultados de los exámenes.

Las muestras de sangre se tomaron por venopunción usando tubos alvacío (Vacutainer) de 10 ml., perfectamente estériles, sin anticoagulante y agujas desechables (Vacutainer).

En el grupo de población de "Alto Riesgo" se procedió a asistir a -- dos rastros del Edo.de México, la población estudiantil, Medicos -- Veterinarios y ordeñadores se obtuvieron en la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán U.N.A.M.

En el grupo de "Población General" se obtuvo parte del suero de las pruebas funcionales que le fueron aplicadas a pacientes solicitantes, en las Unidades Medicas antes mencionadas.

Una vez tomadas las muestras se identificaron convenientemente, con numeración progresiva y se centrifugaron a 2500 rpm para obtener el suero , el cual se envasó en forma aséptica en frascos correctamente rotulados para posteriormente ser conservados a una temperatura de -20°C, hasta el momento de realizar la prueba.

El volumen total de cada suero se dividió en dos volúmenes iguales a efecto de conformar dos grupos para trabajar en los dos laboratorios mencionados anteriormente, al mismo tiempo.

2.3. Actividades de Laboratorio.

2.3.1. Técnica.

Se utilizó la técnica de "Prueba rápida o en placa", según la descrita por el Centro Panamericano de Zoonosis (CEPANZO), en su nota Técnica No. 2 (39); siguiendo las anteriores indicaciones, se utilizó como Patrón Estándar al Antígeno preparado por CEPANZO, el cual se identificó como : AgP

Se emplearon tres antígenos comerciales para su evaluación, los cuales fueron identificados por medio de una clave en la siguiente forma: AgC₁ , AgC₂ , AgC₃.

Grupo I de sueros: Fueron trabajados en la Unidad de Medicina Familiar N°16 del I.M.S.S.

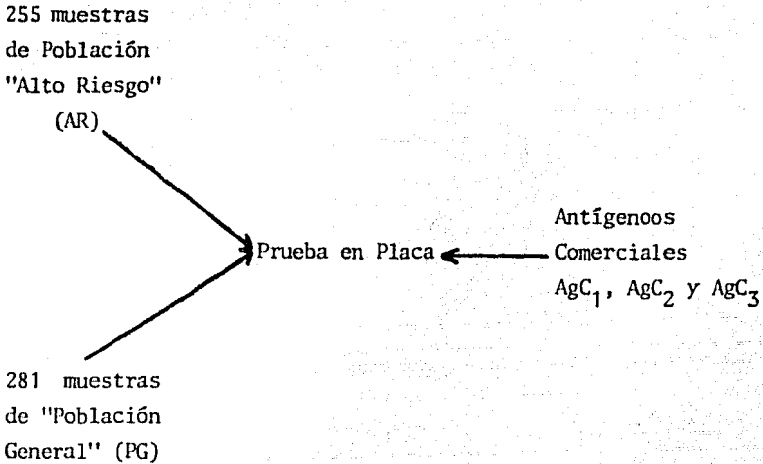
255 muestras
de Población
"Alto Riesgo"

(AR)

281 muestras
de "Población
General" (PG)

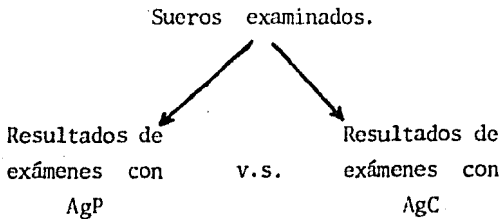
Prueba en Placa ← Antígeno Patrón AgP

Grupo II de sueros: Fueron trabajados en el Laboratorio de Análisis Clínicos de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán U.N.A.M.



2.4. Plan de Análisis.

El análisis se fundamenta en la confrontación de los resultados obtenidos con los dos grupos de sueros según lo consignado en la técnica, con el fin de evaluar la sensibilidad y especificidad de los Antígenos Comerciales (producción nacional) empleados en el diagnóstico serológico de la brucelosis en humanos, frente al Antígeno Patrón (CEPANZO) según el siguiente esquema:



En tal sentido, considerando que el antígeno para el diagnóstico de la Brucelosis humana utilizado por CEPANZO, está garantizado al llegar todos los requisitos de control exigidos por los organismos y centros de referencia mundiales, OMS, FAO, OIE, (14, 45) y a efecto de detectar posibles alteraciones en el Antígeno Patrón por el manejo dado a este durante el transporte, se recurrió a pruebas de calidad en el Laboratorio Central de Sanidad Animal (Tecamac, Edo. de México), así como en el Laboratorio PRONABIVE de la SARH, obteniéndose los siguientes resultados:

Laboratorio Central de Sanidad Animal:

Prueba y/o Análisis realizados	Resultados	Tolerancia.
- Sensibilidad	Satisfactoria	Sin diferencia de \pm tres puntos
- Homogeneidad	Satisfactoria	Sin acúmulos celulares
- Pureza	Satisfactoria	Gram y morfología características
- pH	Satisfactoria	6.4 - 7.0

Laboratorio PRONABIVE:

- Análisis de concentración celular : 13 - 13.5%

"Es de gran interés no sólo detectar como enfermo a quien en realidad lo está, sino también descartar la enfermedad, en quien realmente no la tenga" (15). Por tal razón y con el fin de evaluar primordialmente la especificidad y sensibilidad de los Antígenos Comerciales de uso nacional , se utilizó el plan de análisis propuesto por el citado autor, en base a la Prueba Tamiz (15) .

El concepto anterior se ilustra en el diagrama siguiente:

- Antígeno Patrón (CEPANZO)(AgP) : DIAGNOSTICO
- Antígeno Comercial N°1 (AgC₁) : TEST N° 1
- Antígeno Comercial N°2 (AgC₂) : TEST N° 2
- Antígeno Comercial N°3 (AgC₃) : TEST N° 3

	DIAGNOSTICO		TOTAL
	+	-	
TEST +	a	b	a + b
TEST -	c	d	c + d
TOTAL	a + c	b + d	n

En donde:

- a + c : Total de personas con Diagnóstico positivo.
- b + d : Total de personas con Diagnóstico negativo.
- a + b : Total de personas con Test positivo.
- c + d : Total de personas con Test negativo.

Interpretación de casillas:

- a = Personas con Diagnóstico positivo y Test positivo (verdadero positivo)
- b = Personas con Diagnóstico negativo y Test positivo (falso positivo)
- c = Personas con Diagnóstico positivo y Test negativo (falso negativo)
- d = Personas con Diagnóstico negativo y Test negativo (verdadero negativo)

De donde :

Sensibilidad del Test:

$$\frac{a}{a + c} = \frac{\text{Personas con Diagnóstico positivo y Test positivo}}{\text{Total de personas con Diagnóstico positivo}}$$

Especificidad del Test:

$$\frac{d}{b + d} = \frac{\text{Personas con Diagnóstico negativo y Test negativo}}{\text{Total de personas con Diagnóstico negativo}}$$

Valor Predictivo:

$$\frac{a}{a + b} = \frac{\text{Personas con Diagnóstico positivo y Test positivo}}{\text{Total de personas con Test positivo}}$$

Valor Discriminativo :

$$\frac{d}{c + d} = \frac{\text{Personas con Diagnóstico negativo y Test negativo}}{\text{Total de personas con Test negativo}}$$

En este orden de ideas podemos efectuar el análisis haciendo enfrentamientos pareados entre los resultados obtenidos en las reacciones de los sueros en cada uno de los Antígenos Comerciales "Test" y los obtenidos con el Antígeno Patrón "Diagnóstico".

3. EVALUACION EN EL DIAGNOSTICO DE PREVALENCIA.

Para el Diagnóstico de Prevalencia, la técnica, selección y toma de muestra sanguínea, se realizaron de la misma manera que para la evaluación de la sensibilidad y la especificidad.

3.1. Actividad del Laboratorio.

La actividad del laboratorio sólo se llevó a cabo en la Unidad de Medicina Familiar N°16 del I.M.S.S. .

La totalidad de los sueros fueron enfrentados al Antígeno Patrón (AgP), ya que como se mencionó antes cumple con las características requeridas.

Se utilizaron los siguientes títulos en el diagnóstico : 1:80, --- 1:160, y 1:320; los sueros que dieron cualquiera de estos títulos fueron tomados como positivos, ya que tienen significancia diagnóstica para el cálculo de Prevalencia. Estas diluciones se llevaron a cabo debido al fenómeno de prozona, que se produce en títulos menores al de 1:80, de esta manera las tres diluciones utilizadas están dentro de la zona de aglutinación sin ser afectadas. (44,48) Por otra parte, a nivel de diagnóstico estos títulos son importantes, ya que un título de 1:80 nos puede indicar que el paciente se recuperó de la enfermedad activa y el de 1:320 generalmente se considera una evidencia de la enfermedad aguda en fase activa. (27, 43)

Grupo de Sueros que fueron trabajados en la Unidad de Medicina Familiar N°16 del I.M.S.S.

255 muestras de
Población de "Alto
Riesgo" (AR)

281 muestras de
Población "General"
(PG)

Prueba en Placa ← Antígeno Patrón (AP)

3.2. Análisis de Prevalencia.

La prevalencia es el número de casos existentes nuevos mas viejos- de una enfermedad o de un evento que se presenta en un lugar deter- minado y en un tiempo dado. (15) Para su cálculo se utiliza la si- guiente fórmula:

$$\text{Tasa de Prevalencia} = \frac{\text{Número de casos de una enfermedad, nuevos mas viejos en un lugar y tiempo dados.} \times 100}{\text{entre Población expuesta al riesgo en ese lugar y tiempo dados}}$$

La Tasa de Prevalencia será útil no sólo como indicador al riesgo, sino también como el estimativo de la probabilidad de tener una en- fermedad en un grupo social o población dada, en cierto tiempo en- un determinado lugar.

En esta investigación se calculó la prevalencia, en primer lugar, - para detectar la enfermedad y determinar si se considera un proble- de Salud Pública en México y por otro lado, para saber como la ---

Brucelosis se comporta fundamentalmente en grupos de población general y grupos de población de alto riesgo; para esta investigación se realizó el cálculo de Prevalencia tomando en cuenta que es una población nueva, o sea, que se ignoran los casos nuevos o viejos de la enfermedad.

Para efecto de hacer inferencia de las muestras poblacionales respecto al universo se aplicó la siguiente fórmula:

$$\hat{p} - z_{\frac{\alpha}{2}} \sqrt{\frac{\hat{p}\hat{q}}{n}} \leq P \leq \hat{p} + z_{\frac{\alpha}{2}} \sqrt{\frac{\hat{p}\hat{q}}{n}}$$

Para observar si son representativos, con un intervalo de confianza del 95% y 99%.

IV
RESULTADOS

A. Sensibilidad y Especificidad.

Se obtienen tres comparaciones que se ilustran a continuación:

1. AgP/AgC₁

		AgP		TOTAL
		Diagnóstico		
		+	-	
AgC ₁	T _{EST} +	6	46	52
	-	31	453	484
TOTAL		37	499	536

Sensibilidad del Test: 16.21% (Con 83.78% de Falsos Negativos)

Especificidad del Test: 90.78% (Con 9.21% de Falsos Positivos)

Valor Predictivo: 11.53%

Valor Discriminativo: 93.59%

2. AgP/AgC₂

AgP

		Diagnóstico		TOTAL	
		+	-		
AgC ₂	T E	+	6	46	52
	S T	-	31	453	484
TOTAL			37	499	536

Sensibilidad del Test: 16.21% (Con 83.78% de Falsos Negativos)

Especificidad del Test: 90.78% (Con 9.21% de Falsos Positivos)

Valor Predictivo: 11.53%

Valor Discriminativo: 93.59%

3. AgP/AgC₃

AgP

		Diagnóstico		TOTAL	
		+	-		
AgC ₃	T E	+	10	103	119
	S T	-	27	390	417
TOTAL			37	499	536

Sensibilidad del Test: 27.02% (Con 72.97% de Falsos Negativos)

Especificidad del Test: 78.15% (Con 21.84% de Falsos Positivos)

Valor Predictivo: 8.40%

Valor Discriminativo: 93.52%

TABLA Nº 1

SENSIBILIDAD, ESPECIFICIDAD , VALOR PREDICTIVO Y
DISCRIMINATIVO DE CADA UNO DE LOS ANTIGENOS EVALUADOS

ANTIGENO	%	%	%	%	%	%
	SENSIBILIDAD	ESPECIFICIDAD	FALSOS POSITIVOS	FALSOS NEGATIVOS	VALOR DISCRIMINATIVO	VALOR PREDICTIVO
COMERCIAL 1	16.21	90.78	9.21	83.78	93.59	11.53
COMERCIAL 2	16.21	90.78	9.21	83.78	93.59	11.53
COMERCIAL 3	27.02	78.15	21.84	72.97	93.52	8.40

LOPEZ, PAULIN, VILLAMIL, VILLAMIL. 1983

Tabla No. 1 . Encontramos los resultados de la confrontación entre los Antígenos Comerciales y el Antígeno Patrón, en donde se toma a este último como el estándar de la sensibilidad, especificidad, valor predictivo y valor discriminativo -- (100%).

Se observa que la capacidad de los Antígenos Comerciales para detectar a los enfermos (sensibilidad) es muy baja, ocasionando por lo tanto un alto porcentaje de falsos negativos; por otro lado la capacidad para descartar al exento de la enfermedad (especificidad), es alta para el Antígeno Comercial 1 y 2, pero no lo suficiente para el Antígeno Comercial 3. En la misma forma observamos que el resultado del estimado de probabilidad de estar enfermo (valor predictivo), está muy por debajo de lo deseable para los Antígenos Comerciales; pero a la vez el estimado de probabilidad de ausencia de la enfermedad cuando el resultado es negativo (valor discriminativo), es bastante aceptable para éstos.

TABLA Nº 2

ANALISIS COMPARATIVO DE LA PREVALENCIA
DE BRUCELOSIS HUMANA EN GRUPOS DE POBLACION GENERAL
Y POBLACION DE ALTO RIESGO

A N T I G E N O	P (%) DE PREVALENCIA ENCONTRADA EN LA MUESTRA		INTERVALO DE CONFIANZA PARA EL % P PREVALENCIA EN LA POBLACION AL 95% DE CONFIANZA		INTERVALO DE CONFIANZA PARA EL % P PREVALENCIA EN LA POBLACION AL 99% DE CONFIANZA	
	POBLACION ALTO RIESGO	POBLACION GENERAL	POBLACION ALTO RIESGO	POBLACION GENERAL	POBLACION ALTO RIESGO	POBLACION GENERAL
	PATRON	1.56	11.74	0.05 A 3.06	7.97 A 15.50	3.54
COMERCIAL 1	9.41	9.96	5.84 A 12.97	6.47 A 13.44	4.71 A 14.10	5.36 A 14.55
COMERCIAL 2	9.41	9.96	5.84 A 12.97	6.47 A 13.44	4.71 A 14.10	5.36 A 14.55
COMERCIAL 3	26.66	17.79	21.25 A 32.06	13.32 A 22.26	19.54 A 33.78	11.90 A 23.67

LOPEZ, PAULIN, VILLAMIL, VILLAMIL. 1985

Tabla No 2 . Se encuentra la prevalencia de las poblaciones y su inferencia estadística al Universo con dos intervalos de confianza; para el Antígeno Patrón como para los Comerciales. En el recuadro se observa que la prevalencia encontrada es mayor en Población General (11.74%); que en la Población de Alto Riesgo (1.56%). Situación que se mantiene al hacer inferencia estadística en el Universo con los intervalos de confianza de 95% y 99%.

Por otra parte los Antígenos Comerciales 1 y 2, se comportan igual, si bien es cierto que se mantiene una prevalencia mayor en Población General que en Población de Alto Riesgo con una diferencia mínima en donde se sostiene, haciendo inferencia estadística en el Universo con intervalos de confianza de 95% y 99%.

En el Antígeno Comercial 3, la prevalencia se presenta mayor en Población de Alto Riesgo en donde se mantiene haciendo la inferencia y los intervalos de confianza antes mencionados.

Todo lo anterior viene a corroborar los resultados de la Tabla No.1, en cuanto a la sensibilidad y especificidad de los Antígenos Comerciales.

TABLA Nº 3

SIGNIFICANCIA ESTADISTICA PARA
LA DIFERENCIA DE PREVALENCIA ENTRE LAS DOS
POBLACIONES

ANTIGENO	\hat{P} (%) DE PREVALENCIA ENCONTRADA EN LA MUESTRA		Z CALCULADA PARA LA PRUEBA $P_1 - P_2$	INTERVALO DE CONFIANZA AL 95% PARA LA DIFERENCIA $\leq P_1 - P_2 \leq$
	POBLACION ALTO RIESGO	POBLACION GENERAL		
PATRON	1.56	11.74	-4.9178	6.12 A -14.23
COMERCIAL 1	9.41	9.96	-0.2156 n.s.	————
COMERCIAL 2	9.41	9.96	-0.2156 n.s.	————
COMERCIAL 3	26.66	17.79	2.4776	15.65 A 2.09

LOPEZ, PAULIN, VILLAMIL, VILLAMIL. 1966.

n.s. = (no significativo)

Tabla No. 3 . Debido a los resultados no esperados de una prevalencia mayor en Población General, se determinó la existencia de la diferencia significativa estadística entre estas dos poblaciones, mediante el planteamiento de dos hipótesis, en una de ellas, hipótesis nula, se plantea que la diferencia de la prevalencia no es significativa en las dos poblaciones; en la hipótesis de investigación se dice que la diferencia de la prevalencia en ambas poblaciones es significativa, para este efecto se obtuvo "Z" calculada. En donde se observó que el Antígeno Patrón rechaza la hipótesis nula (H_0), es decir, se detecta diferencia altamente significativa entre la prevalencia de las dos poblaciones, en donde se puede estimar con 95% de confianza, que la diferencia en la prevalencia en estas dos poblaciones se encuentra entre 6.13% y 14.23%, siendo mayor la prevalencia en la Población General detectada con este antígeno.

En cuanto a los Antígenos Comerciales 1 y 2, se tomaron las mismas hipótesis, aceptándose la hipótesis nula, siendo la diferencia en la prevalencia de las dos poblaciones no significativa. En el caso del Antígeno Comercial 3, se tomaron las mismas hipótesis mencionadas, en donde se estimó con un 95% de confianza que la diferencia en la prevalencia en las dos poblaciones se encontró entre 2.09% y siendo mayor la prevalencia de Población de Alto Riesgo con este antígeno; observándose que es contraria totalmente a los otros tres antígenos.

Los resultados obtenidos con los Antígenos Comerciales, nos corroboran los resultados de la Tabla No. 1 en cuanto a sensibilidad y especificidad.

V

DISCUSION

Los antígenos estudiados nos permiten hacer una serie de consideraciones con respecto a los resultados sobre la calidad de ellos.

En primer lugar, observamos que la sensibilidad está muy por debajo de los valores considerados para el Antígeno Patrón. Esto nos hace pensar en una baja capacidad para detectar a los que en un momento dado pueden cursar con inicios de la enfermedad, donde los síntomas - pueden confundirse con otros padecimientos febriles. Es aquí donde se requiere de preparados con adecuada concentración celular, que nos aseguren resultados con alta sensibilidad y que nos permitan detectar los que realmente tienen la enfermedad. Con respecto a la especificidad, nos detectó la seguridad de que el exento de la enfermedad realmente lo este.

Por otra parte, el tratamiento depende primordialmente de los resultados diagnósticos de la enfermedad en cuestión. Es aquí donde se requiere de la veracidad y confiabilidad de los resultados por el clínico; ya que en muchas ocasiones se tratan pacientes contra enfermedades supuestamente ajenas a la Brucelosis, siendo que ésta última no ha sido diagnosticada eficazmente.

La búsqueda diagnóstica de la enfermedad, ha estado principalmente dirigida a población de alto riesgo, dando poca importancia al res

to de la población y nuevas zonas fuera del triangulo territorial que domina la enfermedad en nuestro país.

Tomando en cuenta la localización de los dos Centros de Salud, -- que fueron fuente de obtención de las muestras para población general, -- podemos decir que los sujetos ahí atendidos serían en su mayoría, población netamente urbana; pero existiendo la posibilidad de personas de origen y costumbres rurales, que posiblemente ya no sean de población general sino de población de alto riesgo.

En los últimos años, la situación económica por la que cruza nuestro país, a acarreado una gran dificultad para sobrevivir en regiones rurales, esto ha originado un gran movimiento de personas de aquellos lugares hacia las grandes ciudades consumistas, trayendo productos de origen animal para el consumo, con mala calidad y nula inspección sanitaria.

Los resultados de esta investigación nos muestran que la prevalencia en las dos poblaciones estudiadas fue mayor en población general que en población de alto riesgo por lo que podemos decir que la enfermedad ha tenido un comportamiento distinto a lo reportado por otros autores, e inclusive a lo esperado por nosotros.

Lo anterior nos ha hecho pensar en una serie de consideraciones:

- a) Que la Brucelosis ya no sea una enfermedad tan limitada al factor ocupacional.
- b) Que los factores de riesgo y exposición para la población general -- sea ahora de mayor número.
- c) Que el aumento de normas de seguridad y conciencia para la población de alto riesgo, haya disminuido la adquisición de la enfermedad.
- d) Que dentro de la población general hayan caído personas que realmente sean de alto riesgo, como antes se mencionó; ésto debido a la di-

facultad de seleccionar con cierta exactitud a verdadera población general.

VI

CONCLUSIONES

- 1.- Los resultados obtenidos del enfrentamiento de los Antígenos empleados en México, con el Antígeno Patrón; nos muestran que la calidad de estos biológicos está muy por debajo de lo deseado, afectando el comportamiento de la realidad de la Brucelosis en México, en población humana ocasionando falsos resultados que afectan los programas de control; ya que, nos da una baja prevalencia.
- 2.- Los Antígenos Comerciales por su baja sensibilidad permiten un alto porcentaje de falsos negativos.
- 3.- La especificidad de los tres Antígenos Comerciales, fue muy alta - comparada con la del Patrón establecido, es decir, implica la seguridad de que el exento de la enfermedad sea detectado como tal. Y nos permite dar un diagnóstico diferencial.
- 4.- Según la diferencia de las prevalencias observadas en las muestras poblacionales, fue altamente significativa entre las dos; podemos - decir que la enfermedad "no es meramente ocupacional".
- 5.- Mientras la calidad de los Biológicos no sea controlada el uso de - estos no es recomendado.

(A)

OBSERVACIONES

- 1.- En el anteproyecto se mencionó que en la investigación se realizarían dos tipos de pruebas para el diagnóstico: la prueba en placa y la prueba en tubo, lo cual, no pudo ser posible por la falta del Antígeno Patrón, específico para la prueba en tubo, utilizándose únicamente la prueba en placa.
- 2.- Para las muestras tomadas en la población de alto riesgo se consideraron datos importantes como: edad, sexo, ocupación, antigüedad en su trabajo, etc.

Las muestras de población general fueron obtenidas a través de dos instituciones de seguridad social (I.S.S.T.E. e I.M.S.S.), en donde debido a un exceso de trabajo y tiempo limitado, fue donado el suero de las muestras tanto de pacientes internos como externos, con la imposibilidad de recabar los datos personales de cada paciente como se manejó en población de alto riesgo.

Debemos, entonces reconocer que dentro de la población general pueden existir pacientes que en realidad pertenezcan a población de alto riesgo.
- 3.- Cabe aclarar, que los dos Centros de Salud están ubicados en el Norte del Distrito Federal de la ciudad de México, siendo zonas urbanas, como la colonia Guerrero donde se encuentra ubicado el

I.M.S.S. y la colonia Lindavista para el I.S.S.S.T.E. .

- 4.- Es importante resaltar que la prueba de laboratorio utilizada en esta investigación, se seleccionó particularmente porque constituye una de las pruebas de elección para conocer la prevalencia a efectos de establecer programas de control con pruebas más sensibles; aparte de que es la más ampliamente empleada por los diferentes -- Centros de Salud en el país.

(B)

RECOMENDACIONES

- 1.- Se debe impulsar la realización de Encuestas Seroepidemiológicas para Brucelosis humana en México, con antígenos de buena calidad.
- 2.- Teniendo en cuenta que los estudios epidemiológicos en Brucelosis no pueden llevarse a cabo aisladamente, por las relaciones con la enfermedad animal tan íntimas, se hace indispensable realizar investigaciones epizootiológicas simultáneas.
- 3.- Se deberán hacer mas estudios, sobre la evaluación de los antígenos empleados en México en el diagnóstico de Brucelosis humana.
- 4.- Para el diagnóstico de la enfermedad deberá contarse con antígenos de buena calidad y confirmar con pruebas complementarias, para el tratamiento adecuado del enfermo.
- 5.- Llevar a cabo los programas de control de calidad de los preparados comerciales empleados para el diagnóstico de la Brucelosis humana en el país.
- 6.- Teniendo en cuenta el manejo a que normalmente se desea someter a los antígenos, desde el momento de su elaboración hasta su empleo, estos deberán someterse a pruebas periódicas por parte del laboratorista para chequear su calidad y a un manejo y almacenamiento adecuado.

VII

B I B L I O G R A F I A

- 1.- ABELEDO MA. ANTONIA. (1979). Comportamiento de la Prueba de Rosa - de Bengala en animales vacunados con cepa 82 *Brucella abortus*: Rev. Salud Animal. Habana, Cuba. 1(1):43-49.
- 2.- ACHA N. PEDRO. et.al. (1977). Zoonosis y Enfermedades Transmisibles comunes al hombre y a los animales. OPS/OMS
- 3.- AGUILAR MARQUEZ A. et. al. (1981) Técnicas de Diseño Experimental- Centro de Investigación de Estudios Avanzados. FESC- U.N.A.M. Departamento de Matemáticas pp: 75-104.
- 4.- _____ (1981). Técnicas Estadísticas para Ingenieros, Ciencias Agropecuarias y Ciencias Químicas. Centro de Investigación de Estudios Avanzados; Departamento de Matemáticas. - pp: 1-176.
- 5.- Alton G.G. (1971). Standardization of Agglutinating Antigens for - The Diagnosis of Brucellosis. Rev. Vet. Sci. 12:330-337
- 6.- _____ (1976) Las Técnicas de Laboratorios en la Brucellosis - OMS/FAO. (Ginebra) pp: 1-175.
- 7.- ASLANJAN R.G. et. al. (1974). Diagnosis of human and animal Brucellosis by the indirect haemagglutination Test. Bull Org.mond Santé 51:191-197.
- 8.- BENENSON S. A. (1973). El Control de las enfermedades Transmisibles en el hombre. 12^a Edición. OPS. pp: 23-26.

- 9.- BERNES EVARISTO. (1984). Brucelosis como riesgo profesional en la industrializadora. Agropecuaria de Cd. Juárez Chihuahua. XLII Anual Usmbha Meeting. Hermosillo Sonora. pp: 1-4.
- 10.- Boletín de Dirección General de Sanidad Animal. (1984). Brucelosis humana por consumir queso de cabra. No. 17 p. 6 México.
- 11.- CALDERON JAIMES. (1983). Infectología. (Conceptos Clínicos) 8ª Edición. Editorial Francisco Méndez Cervantes. pp: 291-297.
- 12.- CASAS OLASEOGA R. (1978). Diagnóstico Serológico de la Brucelosis - OPS/OMS CEPANZO. Buenos Aires Argentina . pp: 1-41.
- 13.- Center for Disease Control. Brucellosis Surveillance. Anual Summary. (1971). Issved October. pp: 1-16.
- 14.- Centro Panamericano de Zoonosis. "Antígeno para pruebas de Aglutinación : Brucelosis". OPS/OMS. Buenos Aires, Argentina . Nota Técnica No. 3. pp: 1-22.
- 15.- COLIMON K.M. (1978). Fundamentos de Epidemiología. 1ª Edición Editorial Servigráficos Medellín. Colombia. pp: 401-432.
- 16.- CONDRON R.J. et. al. (1980). Brucelosis Caprina y Humana en el Departamento de Rivadavia, Provincia de Salta, Argentina. Bol. of Sanit. Panam. 88(5): 432-439.
- 17.- CORBEL M.J. (1982). Serological Cross-Reactions Between Brucella Species and Organisms of Other Genera. Bull World Health Organization. 374: 1-3.
- 18.- COWAN S.T. (1979). Manual para la identificación de Bacterias de Importancia Médica. 2ª Edición. OPS. pp: 128-130.
- 19.- DRANOVSKJA. E.A. et. al. (1983). A comparative Study of the antigenic Structure and Immunobiological Activity of Brucella in the S and R forms. Bull Workd Heath Organization. 389: 1-5.

- 20.- DUBELCCO DAVIS. et. al. (1978). Tratado de Microbiología. 2^a Edición. Editorial Salvat. pp:837-847.
- 21.- FROBISHER M. et. al. (1974). Microbiología y Patología para Enfermeras. 5^a Edición. Editorial Interamericana. pp:304-306.
- 22.- FOX. P. JOHN. et. al. (1975). Epidemiología. El hombre y la enfermedad. Editorial Prensa Médica Mexicana. pp: 1-178.
- 23.- GARCIA CARRILLO. et. al. (1970). Métodos para el diagnóstico de la Brucelosis. Gaceta Vet. 32(240); 661-667.
- 24.- _____ (1981) Prueba de Fijación del Complemento para el Diagnóstico de la Brucelosis. OPS/OMS. CEPANZO. Nota Técnica No. 24.
- 25.- GERNEZ CH. et. al. (1983). Medicina Preventiva, Salud Pública e Higiene. 1^a Edición. Editorial Limusa. pp: 107-110, 248-249.
- 26.- GOMEZ A. (1975). Brucelosis como Zoonosis. Importancia Económica y en Salud Pública de la Brucelosis. Asociación Colombiana de Médicos Veterinarios. pp:1-3
- 27.- GORDON B.L. (1975). Lo esencial de la Inmunología. 2^a Edición. Editorial El Manual Moderno S.A. México. pp: 50-73.
- 28.- JARAMILLO ARANGO C.J. et. al. (1978). Estudio Comparativo de varios Antígenos para el Diagnóstico de Brucelosis Humana. (Medellín, Colombia). pp:35-42.
- 29.- KRUPP M.A. (1979). Diagnóstico Clínico y Tratamiento de la Brucelosis. 1^a Edición. Editorial Manual Moderno. pp:946-947.
- 30.- KUMATE JESUS. et. al. (1983). Manual de Infectología. 9^a Edición. Editorial Cervantes. pp:68-75.
- 31.- LEON A. P. (1973). Atenuación mayor de la virulencia de la Brucella abortus 19, con preservación de su inmunogenicidad. Rev. Inv.

- Salud Pública. México. 33:17-35.
- 32.- LEVIN JACK. (1979). Fundamentos de Estadística en la Investigación Social. 2^a Edición. Editorial Harper I. Rev. Latinoamericana. pp:59, 121-122, 130-136.
 - 33.- MARTINEZ REGULO. et. al. (1977). Aspectos Epidemiológicos de la Brucelosis en la Población de Alto Riesgo en Panamá. Bol. of Sanit Panam. 83(2):140-145.
 - 34.- MUSTARD. H.S. et. al. (1982). Introducción a la Salud Pública. 4^a Edición. Editorial La Prensa Mexicana. pp:84-116, 181.
 - 35.- MYRVIK. Q.N. (1977). Bacteriología y Micología Médicas. 13^a Edición. Editorial Interamericana. pp: 283-291.
 - 36.- ONOFRE MUÑOZ. (1976). Seroepidemiología de la Brucelosis en la República Mexicana. Gaceta Médica Mexicana. 3(2):103-108.
 - 37.- PELLEGRINI DARIO. (1962). Sobre Epidemiología y Profilaxis de la Brucelosis Humana. Rev. Vet. Italiana. 8(2):1-24.
 - 38.- PEREZ F.J. et. al. (1970). Encuesta Serológica de Brucelosis en Cerdos sacrificados en algunos frigoríficos de la Cd. de Buenos Aires, Argentina. Rev. Med. Vet. 51(1):1-8.
 - 39.- RAMOS MEJIA. (1968). Técnicas e interpretación de las pruebas de Sero-aglutinación para el Diagnóstico de la Brucelosis Bovina. CEPANZO. Argentina. Nota Técnica No.2 Rev. 1:1-9.
 - 40.- Reglamentación de la Profilaxis de la Brucelosis Bovina en Francia. Office. Int. des Epizooties. Gaceta Vet. (1961). 23:1-5.
 - 41.- ROBBINS S.R. (1975). Patología Estructural y Funcional. 1^a Edición Editorial Interamericana. pp:394-395.
 - 42.- RODRIGUEZ T.A. (1984). Enfermedades infecciosas. Parte III, 1^a Serie :28 pp:42,491.

- 43.- RUIZ CASTAÑEDA M. (1954). Brucelosis. 1^a Edición. Editorial Interamericana. pp:394-395.
- 44.- _____ (1961). Reacciones Serológicas para el Diagnóstico de las Reacciones Febriles. Bol. Med. Hosp. Infant. México - 18:63-75.
- 45.- SANCHEZ L.L. (1975). Producción y Control de Vacunas y Antígenos para Inmunización y Diagnóstico. Dirección de Servicio Nacional de Supervisión de Drogas. ICA. pp:1-3.
- 46.- SEIJO BONILLA J. et. al. (1982). Diagnóstico de Brucelosis por los parámetros de el laboratorio y su relación con la clínica. Bol. -- Med. Hosp. Inf. México. 39(1):33-36.
- 47.- SCHWALBE. W.C. (1968). Medicina Veterinaria y Salud Pública. Organización. Editorial Novaro s.a. pp:66,494-496.
- 48.- SPINK W.W. (1960). Estado Actual de la Terapéutica de la Brucelosis Humana. Medellín Colombia. pp:1-2.
- 49.- SZYFRES BORIS. (1971). Taxonomía del Género Brucella. Gaceta Vet. 33(247):2840.
- 50.- VEGA F.L. et. al. (1977). Bases esenciales de la Salud Pública. - Editorial Prensa Médica Mexicana. pp:8-9.

B I B L I O G R A F I A .

Consultada.

- ABELEDO MA. ANTONIA. (1982). Eficacia comparativa entre diferentes Métodos Serológicos para el Diagnóstico de la Brucelosis Bovina. - Rev. Salud Animal. Habana, Cuba. 4(2):33-41
- CEDRO C.F. et. al. (1971). Brucelosis experimental en porcinos : Determinación de dosis infectante. Rev. de Investigaciones Agropecuarias, INTA. Buenos Aires Argentina. Serie4.3(4):91-98.
- CORBEL M.J. (1982). Serological Cross-Reactions Between Brucella Species and Organisms of other Genera. Bull World Health Organization. 378:1-3.
- _____ (1982). Observations on the Serological Diagnosis of Brucella ovis infection in Sheep. Bull World Health Organization
- CORREA PELAYO. et. al. (1980). Texto de Patología. 2^a Edición -- Editorial La Prensa Médica Mexicana. pp: 148-149.
- DIAZ R. et. al. (1976). Comparison of counter immunoelectrophoresis with other serological Test in the diagnosis of human brucellosis . Bull World Health Organization. 53:417-423.
- DILZ W. et. al. (1959). La acción profiláctica del Peculín contra -- la Brucelosis Bovina. 14(47): 1-2.
- ERGOROVA L. S. et. al. (1977). Study of the plate agglutination -- test with rose bengala antigen for the diagnosis of human brucellosis . Bull of the World Health. 55(6):669-6674.
- ESPERON S. E. (1982). Informe de una Encuesta Serológica de Bruce-

losis en Médicos Veterinarios en el Estado de Querétaro. Memorias de la Reunión de Investigación Pecuaria en México. pp:143-145.

- FERNANDEZ M.N. (1981). Anticuerpos de Brucella en donantes de sangre. Rev. Sangre. 26(3):360-366.
- GARCIA CARRILLO et. al. (1971). Brucelosis experimental en porcinos: Evaluación de técnicas serológicas en cerdas con infección-resistente de Brucella suis. Rev. Inv. Agrop. INTA. Buenos Aires - Arg. Serie 4 3(4):99-107.
- HINCHLIFFE P.M. et.al. (1975). A Screening method for detection of Brucella antibodies in human serum. Journal Clin. Path. 28:50-53.
- KOURANY M. et.al. (1973). Encuesta Seroepidemiológica por Brucelosis en Panamá. Boletín de la Oficina Sanitaria Panamericana. 55(1): 65-71..
- LEOI A.P. (1969). Inmunidad natural innata para la Brucella melitensis. Rev. Inv. Salud Pública. México. 29(2): 107-126.
- _____ (1964). Investigación sobre la Historia de la Brucella melitensis. Rev. Inv. Salub. Enferm. Trop. 24:67.
- _____ (1973). Comparación de la virulencia y antigenicidad de dos vacunas atenuadas contra la Brucelosis caprina cepas REV.1 y 899B. -- Rev. Inv. Salud Pública. 32(1):23-35.
- MYERS DONALD M. et.al. (1970). Preliminary Report. om the Development of Ram Edididymitis. Applied Microbiology. Buenos Aires Arg. 19(2): - 335-337.
- NIÑO A.J. (1975). Estado actual de la Brucelosis en Colombia. ICA.Memorias de la conferencia: Brucelosis como zoonosis.pp. 1-4.

- RAMOS Mejía (1971). Elaboración y normalización de la vacuna --
Brucella abortus, cepa 19. CEPANCO. Buenos Aires Argentina nota
técnica No 4 Rev. 1 pp: 1-19.
- Revistas de Salud Pública Mexicana:
 - a.- 20 (1) : 118,122; 134-138 Ene-Feb 1978.
 - b.- 20 (2) : 240 Mar-Abr 1978
 - c.- 20 (3) : 304 May-Jun 1978
 - d.- 20 (4) : 506 Jul-Ags 1978
 - e.- 20 (5) : 646,649,653. Sep-Oct 1978
 - f.- 21 (5) : 629,633,634,649,654. Sep-Oct 1979
- SARAVIA Jaime (1975). Informes clínicos de la Brucelosis en huma-
nos. Unidad de Enfermedades Infecciosas hospital San Juan de Dios
Universidad Nacional de Colombia. conferencias de Brucelosis co-
mo zoonosis. pp 1-3
- WELEY W.S. (1965). The National History of Brucellosis and its -
Managemen. A Medical Time Special Article. 93 (3): 229-237.