

9
29



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO**

**ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS PROFESIONALES
ZARAGOZA**

**ESTUDIO SEROEPIDEMIOLOGICO DE
LEPTOSPIROSIS EN HUMANOS**

T E S I S
PARA OBTENER EL TITULO DE:
QUIMICO FARMACEUTICO BILOGO
P R E S E N T A :
CORONA MARTINEZ PEDRO

ASESORES:
MOPC. ROSA MA. GARCIA ESCAMILLA
MVZ. ELDA JIMENES GUERRA
QFB. GEORGINA RIOS OLIVERA

COPIA CON
FALLA DE ORIGEN



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 está 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

	PAG.
1. RESUMEN	1
2. INTRODUCCION	3
2.1 Definición.	
2.2 Agente etiológico.	
2.2.1 Morfología.	
2.2.2 Ultraestructura.	4
2.2.3 Estructura antigénica.	5
2.2.4 Fisiología.	6
2.3 Cuadro clínico y patogenia	
2.3.1 Sintomatología	8
2.3.2 Anatomía patológica.	9
3. DIAGNOSTICO.	
3.1 Clínico y datos de laboratorio.	10
3.2 Inmunológico.	
3.3 Observación en campo obscuro.	12
3.4 Cultivo.	
3.5 Inoculación en animales.	13
4. INMUNIDAD	14
5. EPIDEMIOLOGIA.	
5.1 Origen, estudios realizados.	15
5.2 Fuente de infección.	18
6. LA TRANSFUSION SANGUINEA.	
6.1 Relación.	19
6.2 Requisitos para poder donar sangre.	20

	PAG.
7. OBJETIVOS DEL TRABAJO.	
7.1 Justificación.	21
7.2 Objetivo general.	
7.3 Objetivos específicos.	22
7.4 Hipótesis.	23
8. MATERIAL	
8.1 Material biológico.	24
8.2 Material de vidrio.	25
8.3 Reactivos.	
8.4 Soluciones.	26
8.5 Instrumentos y equipo.	
8.6 Material diverso.	27
9. METODOS.	
9.1 Características de los donadores.	28
9.2 Obtención de sangre y separación de suero.	
9.3 Observación a campo obscuro.	29
9.4 Biometría Hemática.	
9.4.1 Cuantificación de hemoglobina.	
9.4.2 Hematocrito.	30
9.4.3 Cuenta total de eritrocitos.	
9.4.4 Cuenta total de glóbulos blancos.	
9.4.5 Cuenta diferencial.	31
9.5 Preparación del antígeno	
9.6 Método para prueba de microaglutinación.	32
9.7 Análisis de orina.	33
9.7.1 Colección de la muestra.	
9.7.2 Observación de sedimento.	
9.7.3 Uso de tira reactiva comercial.	
9.8 Cuantificación de TGO y TGP.	34
9.9 Determinación de creatinina.	35
9.10 Determinación de urea.	

	PAG.
10. RESULTADOS	36
10.1 Serología.	37
10.2 BHC. de casos con título de anticuerpos contra leptospira.	38
10.3 Análisis complementarios (caso positivo a enfermedad).	39
10.4 BHC. de casos negativos a título de anticuerpos.	40
11. DISCUSION DE RESULTADOS.	
11.1 Casos con título bajo de anticuerpos contra leptospira.	41
11.2 BHC. de casos con título bajo de anticuerpos.	43
11.3 Caso positivo a enfermedad.	
11.4 Casos negativos a título de anticuerpos.	45
12. CONCLUSIONES.	46
13. PUNTOS ABIERTOS A OTRAS TESIS.	47
14. BIBLIOGRAFIA.	48

I. RESUMEN

Con el fin de conocer la prevalencia de Leptospirosis en humanos y de establecer un criterio actual sobre esta zoonosis que a la fecha ha sido considerada como una enfermedad de tipo secundario; se realizó un muestreo en donadores de sangre humana.

El estudio se realizó en dos grupos de personas: El primer grupo formado por 100 donadores que acudieron al Centro Nacional de Transfusión sanguínea de la Secretaría de Salud (I), que fueron diagnosticados clínicamente sanos y aptos para tal fin. El segundo grupo formado por 95 donadores con actividades de riesgo para adquirir la infección, como son: estudiantes y trabajadores de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM. (II).

En las 195 muestras sanguíneas se realizó la serología para título de anticuerpos contra 23 serotipos de leptospira, además una biometría hemática completa. El título de anticuerpos considerado como positivo a enfermedad fue igual o mayor a 1:100 (2).

En los casos que tuvieron un título positivo a enfermedad se realizó como complemento del estudio cuantificación de TGO, TGP, creatinina y un Examen General de Orina.

En el grupo (I) se encontraron cuatro casos con títulos de anticuerpos menor a 1:100 (no positivos a enfermedad) que equivalen al 4.0 %. Dos para L. grippityphosa con títulos de 1:25 y otro con 1:50. Para L. pomona tres casos con título 1:25. Lo anterior debido a que una persona presentó serología positiva a dos serotipos.

En el grupo dos se encontraron 5 casos con títulos menores a 1:100 que equivalen al 5.2 %; 4 casos a L. serjoe, tres de ellos con título 1:25 y un caso más con 1:100*. A L. pomona se observaron dos casos con títulos 1:25 y 1:50, aclarándose que este grupo también presentó la característica de que una persona presentó título a dos serotipos de leptospira.

La biometría hemática completa (BHC), el examen general de orina (EGO) y las transaminasas Glutámico Oxaloacética y Glutámico Pirúvica (TGO y TGP) de los individuos de ambos grupos se encontraron dentro de los rangos de referencia, independientemente del título de anticuerpos.

En conclusión el 4.0% (8 casos) del total de donadores presentaron títulos bajos de anticuerpos, y sólo el 0.5% (un caso) mostró título de anticuerpos de 1:100; es decir positivo a enfermedad de acuerdo a lo que cita la literatura (2).

Cabe señalar que los 195 individuos con y sin actividad de riesgo se mostraron asintomáticos y asigmológicos a leptospirosis, pese a coexistir serología con títulos bajos a dos serotipos de la espiroqueta.

* Único caso positivo a enfermedad.

2. INTRODUCCION

2.1 DEFINICION.

Leptospirosis es el nombre que se da a las infecciones producidas por un tipo de espiroqueta inmunológicamente heterogéneas del género leptospira. Aunque se les han asignado diversos nombres a las leptospirosis en relación a su distribución geográfica, éstas difieren en sus manifestaciones clínicas y por tanto es hasta ahora considerada como una enfermedad simple (12).

2.2 AGENTE ETIOLOGICO.

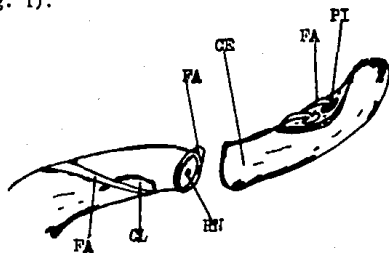
2.2.1 Morfología.

Pequeño grupo de bacterias quimioheterotrofas, son organismos unicelulares con una forma distintiva. Las leptospiras difieren de Treponema y Borrelia en que sus espirales son muy finas y cerradas. Una o ambas extremidades del microorganismo pueden estar en forma de gancho, su tamaño va desde 5 a 15 μ m. de largo y de 0.1 a 0.3 μ m. de ancho, aunque excepcionalmente pueden observarse formas de 25 a 30 μ m.

La movilidad celular incluye rápida rotación alrededor del eje longitudinal, flexión de las células y locomoción con un patrón helicoidal lo que permite se desplazen activamente en medio líquido y se observen formas enrolladas al microscopio. (14), (15).

2.2.2 Ultraestructura.

La leptospira consiste en un cilindro protoplasmático helicoidal, dos filamentos axiales y una envoltura externa. La envoltura externa está compuesta por tres a cinco capas y rodea a todo el microorganismo. Entre la envoltura externa y la membrana citoplasmática se encuentran dos filamentos axiales independientes, cada uno de los cuales se inserta por un extremo subterminalmente en extremos opuestos del cilindro protoplasmático. Los extremos libres se dirigen hacia el centro de la célula donde habitualmente no se superponen. Durante la reproducción celular, se forma un tabique en la región media del microorganismo, llevando a una división transversal. (Ver fig. 1).



Una vaina externa envuelve a la célula. Las fibrillas axiales se encuentran entre la vaina externa y las capas del cilindro protoplasmático y se inserta en el cilindro por medio de un poro de inserción. FA, fibra axial; CE, capa externa; PI, poro de inserción; CL, capa lipoproteica; RH, región nuclear. (14).

2.2.3 Estructura Antigénica.

La unidad taxonómica básica es el serovar. Las cepas que comparten aglutinógenos mayores se han reunido arbitrariamente en serogrupos. El serogrupo no es una unidad taxonómica reconocida y sirve principalmente con propósitos serodiagnósticos.

Los serovar se han caracterizado por medio de sueros de factor en los cuales la absorción cruzada ha dado como resultado un suero con un espectro estrecho de aglutinación. Los intentos de identificar serovars han incluido el uso de análisis de composición de base del DNA, análisis por inmunodifusión de antígenos de filamentos axiales, características enzimáticas y análisis con endonucleasas de restricción. Sin embargo el método estándar para caracterizar serogrupos y serovars de leptospira continua siendo la prueba de aglutinación microscópica, basada en la composición química de la pared celular que son principalmente lipopolisacáridos y glucopéptidos, de los cuales se han extraído un lipopolisacárido serológicamente reactivo, con reactividad de grupo y aunque se han llegado a observar pequeñas reacciones cruzadas con otros microorganismos como por ejemplo Shigella, el lipopolisacárido se considera específico de grupo. Ver cuadro No. 1 (6), (16).

2.2.4 Fisiología.

En sus requerimientos de cultivo la leptospira es un microorganismo aerobio; por tanto su metabolismo es respiratorio utilizando el oxígeno como aceptor final de electrones.

Se desarrollan exitosamente a un pH entre 7.2 y 7.4 en un medio con suero de conejo o Tween 80-albúmina. (6), (16).

El tiempo de generación de leptospiras patógenas cultivadas en medio de laboratorio es de 12 a 16 horas y de 4 a 8 horas en animales inoculados.

Los ácidos grasos insaturados de cadena larga sirven como fuente principal de carbono y energía y son requeridos por las cepas parásitas. La leptospira puede utilizar sales de amonio inorgánico como fuente de nitrógeno. (14).

CUADRO No. 1 SEROGRUPOS DE LEPTOSPIRA QUE ATACAN COMUNEMENTE AL HOMBRE

SEROGRUPO	ENFERMEDAD DE EL HOMBRE	RESERVORIOS ANIMALES	DISTRIBUCION GEOGRAFICA
Icterohaemorrhagiae	Enf. de Weil	Rattus norvegicus y otros roedores	Mundial
Canicola	Fiebre canicola	Perro, cerdo y ganado	Mundial
Pomona	Enf. de las porquerizas	cerdo, ganado	Mundial
Cripptophosa	Fiebre de los pantanos	ganado, caballo perro mapache	Mundial
Automanalis	Fiebre de Hasami, o de Fort Bragg	perro, zarigüeya mapache, ganado	Asia, Japón, E.U.A.
Betaviae	Enf. de Weil o fiebre de los arrozales	perro, gato	Asia, Japón Europa
Australis A (bullico)	Fiebre de los cañaverales	perro, ganado zarigüeya	Australia E.U.A. Europa
Australis B	Fiebre de los cañaverales	Rattus rattus Iscodon var.	Australia Europa
Sajroe	Feldfieber B	perro, cerdo ganado	Europa E.U.A.
Hebdomadis	Fiebre de los siete días	perro, ganado	Japón
Pyrogenes	Leptospirosis febril	Rattus rattus	Asia, Japón
Ballum	- - -	zorrillo, mapache cerdo, gato mtes.	E.U.A. Israel
Hyos (mitis)	Enf. de las porquerizas	cerdo, ganado	E.U.A. Europa América del sur

Copilados por el coronel M.B. Starnes. Walter Reed Army Medical Center. (6)

2.3 CUADRO CLINICO Y PATOGENIA.

2.3.1 Sintomatología.

La severidad de la leptospirosis humana varia enormemente y está determinada en gran medida por la cepa infectante y por la salud general del huésped. La sintomatología se puede separar en tres estadios en las formas típicas graves:

- a) Estadio de inicio.- Es repentino, presenta temblores, dolor de cabeza y postración acentuada, así como conjuntivitis intensa y dolores musculares, mostrando con frecuencia una sensibilidad exquisita. Se observa temperatura de 39.4 C a 40.5 C, el pulso raramente excede de cien, acompañándose de anorexia, constipación y en ocasiones diarreas, vómitos, lengua saburral y con frecuencia herpes labial.

- b) Estadio ictérico.- La ictericia se empieza a observar sobre el cuarto o quinto día, alcanzando su máxima intensidad sobre el noveno en el cual puede ocurrir un segundo periodo febril más corto. La reacción de Van der Berg es positiva. Las evacuaciones no siempre aparecen de color arcilloso.

Existe bilirrubinuria durante tres o cuatro semanas. La ictericia no se presenta en el 50% de los casos y son estos los clínicamente benignos.

- c) Estadio de convalecencia.- La fiebre inicial desciende de uno a catorce días. La sintomatología general mejora, y la aparición de anticuerpos humorales coincide con la finalización de la fiebre y la leptospiremia. Los síntomas no reaparecen comunmente, sólo en casos de recaídas graves. (5), (12).

2.3.2 Anatomía Patológica.

Hígado.- Aparece aumentado de tamaño y en las formas graves recuerda a la hepatitis infecciosa; no es muy frecuente la presencia de degeneración y necrosis, que pueden llegar a ser extremos.

Riñones.- Generalmente están aumentados de tamaño, mostrando pequeñas hemorragias difusas. Los cambios de generativos alcanzan diferentes grados, afectando al epitelio de los túbulos y el asa de Henle. El glómerulo es afectado en poca intensidad.

Músculos voluntarios.- Especialmente el músculo gastrocnemio presenta una degeneración típica, no inflamatoria de pequeños grupos de fibras musculares voluntarias, con pérdidas de su estriación y degeneración hialina.

Sangre.- En algunas ocasiones se desarrolla anemia, aparece con aumento de la velocidad de sedimentación y al final de la primera semana es frecuente observar leucocitosis con neutrofilia.

Bazo.- El microorganismo puede llegar hasta este órgano afectándolo, por tanto se observa hipertrofia dependiendo del grado de afección.

(12)

3. D I A G N O S T I C O

3.1 DIAGNOSTICO CLINICO Y DATOS DE LABORATORIO.

Deben considerarse los signos y la sintomatología que presente el individuo y correlacionar la biometría hemática, en la cual se observa leucocitosis que alcanza cifras de 20,000 a 30,000, con marcada neutrofilia que va del 80 al 90% al final de la primera semana. Así como los niveles de bilirrubina que se encuentran elevados llegando hasta 20 mg/100ml., y en algunos casos hasta el triple del valor "normal". Y por último las transaminasas y la fosfatasa alcalina que en el curso de la enfermedad también se encuentran elevadas, pero raramente pasan del doble de su valor de referencia.

Es frecuente observar hipotensión. La proteinuria es marcada y en el sedimento urinario se observan glóbulos rojos y blancos con datos de disfunción hepática y/o renal. Puede observarse anuria y en el estado icterico suele encontrarse bilirrubina en orina. (8).

3.2 INMUNOLOGICO.

El diagnóstico inmunológico puede llevarse a cabo por tres métodos que a continuación se enumeran según su utilización:

- 1.- Título de anticuerpos por microaglutinación. Este método es muy sensible y se utiliza cuando se requiere una titulación muy específica de algún serovar o serogrupo, por tanto alcanza títulos muy altos de hasta 1:10,000 ó más, cuando la prueba se realiza entre las cinco u ocho semanas de la infección.

2.- Fijación de complemento. Tanto este método como el de hemaglutinación pueden carecer de sensibilidad para detectar anticuerpos en animales o detectar anticuerpos en individuos con propósitos de control serológico. En la fijación de complemento los títulos máximos encontrados han sido de 1:2500, cuando el antígeno se diluye 1:50, según Bibersten y Mogowan (5).

3.- Hemaglutinación.- Se ha detectado un título máximo de 1:5120 con suero hemólogo inmune, y una dilución del antígeno de 1:20 y 1:30 (1) (6).

6 El antígeno de la envoltura externa se tituló en presencia de complemento, y fue elegida la dilución que mostró mayor sensibilidad hacia los sueros positivos aún cuando ocurriese lisis completa con los sueros negativos. Con solución salina amortiguadora con veronal (pH 7.40) se prepararon diluciones dobles (1:10 a 1:20 y hasta 1:480) de muestra de suero inactivado. Las diluciones séricas mayores, que mostraron fijación completa se consideraron positivas; mientras que las que presentaron fijación parcial o lisis completa se consideraron negativas. (4).

3.3 OBSERVACION MICROSCOPICA.

Sangre: Cuando la enfermedad se encuentra en su fase crítica, es probable encontrar a la espiroqueta en un fróntis teñido con el colorante Giemsa con la técnica de gota gruesa y el campo obscuro.

Aún con la tinción es difícil observar al microorganismo el cual llega a teñirse lo suficiente para su identificación. (7).

Orina: En la orina también se logra observar a la leptospira cuando está atacando ya sea a hígado o riñones. La orina se trata con unas gotas de formalina, para después centrifugarse y puede o no teñirse con Giemsa el sedimento para su observación al microscopio de campo obscuro, teniendo en cuenta la posible basura o partículas que puedan confundirse por la morfología del microorganismo (7), (8).

3.4 CULTIVO.

Las leptospiras crecen fácilmente en una serie de medios artificiales suplementados con un 10% de suero de conejo inactivado con calor (56 C por 30 min.). También crecen en medios que contengan sales inorgánicas, ácidos grasos de preferencia de cadena larga y vitamina B₁₂. Algunos autores opinan que la tiamina estimula el crecimiento de estas espiroquetas. Los microorganismos son aerobios obligados a su crecimiento óptimo se consigue a un pH 7.2 y temperatura entre los 25 y 30 C. y con una tensión de CO₂ ligeramente elevada. (8).

Las leptospiras pueden proliferar sobre la superficie de medios sólidos apropiados; se han descrito dos tipos de colonias:

Una pequeña, relativamente opaca, mientras que la otra forma una colonia más grande, traslúcida y que va de 1 a 4 mm.

3.5 INOCULACION DE ANIMALES.

Una técnica muy sensible para el aislamiento de leptospiras, consiste en la inoculación intraperitoneal ya sea a hamster o cobayos jóvenes con plasma u orina recién obtenidos.

A los pocos días las espiroquetas pueden ser demostradas en la cavidad peritoneal a la muerte del animal esto a los ocho o catorce días después de la inoculación se observan también lesiones hemorrágicas y gran cantidad de espiroquetas en varios órganos. (5).

4. I M M U N I D A D

4.1 EN EL HUMANO.

En todos los pacientes con bacteremia por leptospiras, aparecen Anticuerpos aglutinantes. Durante la respuesta inicial los anticuerpos son de clase Ig M, y son detectables en la primera semana de la enfermedad; pueden persistir con títulos altos por varios meses.

En solo algunos pacientes se pueden presentar anticuerpos Ig G un mes o más, después del comienzo de la enfermedad.

El suero humano convaleciente contiene anticuerpos aglutinantes que persisten hasta veinte años. (17).

5. EPIDEMIOLOGIA

5.1 GENERALIDADES.

La primera leptospirosis humana descrita fue una enfermedad fébril grave, caracterizada por ictericia, tendencia a la hemorragia y afección renal; denominada enfermedad de Weil. Inada demostró en 1915 que estaba causada por un microorganismo denominado Leptospira icterohemorrhagiae.

La leptospirosis es una enfermedad considerada universal esencialmente en animales domésticos y silvestres (cuadro 1) la enfermedad en el humano (zoonosis) es solo accidental. Debido a la gran variedad de fauna en México y a la diaria convivencia con estos animales a conducido a realizar estudios en nuestro país, los cuales revelan condiciones en las cuales vive gran parte del pueblo mexicano.

En la República Mexicana la leptospirosis fué demostrada en los trabajos de Noguchi (1), en 1920, realizados en Yucatán; y no fue sino hasta 1961 que se volvió a tener noticias de la enfermedad en este estado por los estudios de Zavala y Varela, entre los que sobresalen por su importancia:

En 1961, Gerardo Varela y J. Zavala, estudiaron 8,286 sueros sanguíneos de personas aparentemente sanas y 1,645 sueros de bovinos, cerdos, caballos, conejos, gatos, perros, pollos y venados en tres diferentes estados de la República Mexicana y el Distrito Federal. A estos sueros se les tituló contra L. icterohemorrhagiae, L. pomona y L. canicola.

Este estudio arrojó los siguientes resultados:

El Distrito Federal mostró un 14.1% de positividad, referido a 3,767 personas que se estudiaron en este lugar; de los cuales 404 casos fueron positivos a L. icterohemorrhagiae, 82 casos a L. pomona y 68 casos a L. canicola.

Cabe señalar que en los estados de la República el estudio en Morelos y Oaxaca tuvieron un mayor porcentaje de positividad; 46.7 y 35.5% respectivamente.

Con respecto al estudio hecho en animales; se observó predominancia con L. icterohemorrhagiae en las diferentes especies estudiadas.

En 1958 G. Varela y Armando Vázquez, recolectaron y estudiaron serológicamente 1,323 sueros sanguíneos humanos de personas aparentemente sanas, en diferentes estados de la República Mexicana incluyendo al Distrito Federal, además estudiaron 432 sueros de cerdos, perros y caballos del estado de Guerrero, Oaxaca y el Distrito Federal. (II).

En el D.F. se observó una positividad del 15.3% (23 sueros humanos), de estos 15 a L. icterohemorrhagiae, 4 casos a L. pomona y 4 casos a L. canicola. Y en animales en el D.F. de 100 sueros de cerdo, cero casos a L. icterohemorrhagiae, 33 casos a L. pomona y cero a L. canicola. En los perros y caballos también predominó en los positivos L. icterohemorrhagiae. (11).

P. Mendoza Hernández, Gerardo Varela y Daniel Méndez en México D.F. en 1955 estudiaron 91 sueros ictericos de pacientes de la Unidad de enfermos infectocontagiosos del Hospital de la Raza, la mayoría con diagnósticos de hepatitis viral, y 25 sueros de personas normales del personal médico o administrativo del mismo Hospital. Resultaron positivos dos a L. icterohemorrhagiae a títulos bajos de 1:40, unos a L. Pomona con título 1:200 y seis resultados positivos a L. canicola con título 1:40 dando por suma un 9.8% de positividad; y se supone en los títulos bajos que se encontraba la respuesta inmunológica del paciente en una etapa de iniciación de formación de anticuerpos.

Así como en México se han llevado a cabo gran cantidad de estudios en humanos y animales, en otros países como E.U.A. Japón, Canada, Brasil, Argentina, Puerto Rico, Alemania y muchos más que se han preocupado por esta enfermedad que causa graves problemas a la economía y desarrollo de cada uno de ellos.

5.2 FUENTE DE INFECCION.

La fuente de infección primordial es por medio de vectores activos como son animales domésticos y algunos silvestres; entre ellos: perro, cerdo, ganado vacuno, ratas, zarigüella, mapache, puerco espín, caballo, zorrillo, y gato montes principalmente. El contacto con el hombre es constante y mucho más notorio en el medio rural, aunque en el medio urbano por la costumbre de tener en casa a una mascota el contacto es cercano y se especula un incremento en la frecuencia de la enfermedad paulatino pero también constante.

Por lo anterior son varios los factores que hacen que la población esté más expuesta a la transmisión por causa accidental.

- a) El abastecimiento de agua a partir de depósitos naturales y artificiales, debido a la carencia de agua potable.
- b) Accesibilidad de animales domésticos y/o silvestres a depósitos y recipientes donde se almacena el agua.
- c) Contaminación de agua potable con aguas negras.
- d) Muy poco probable por transfusión sanguínea en el hombre ya que hasta la fecha no hay alguna prueba que se realice como cotidiana, para detectar al donador que fuera portador de la enfermedad y por tanto ser rechazado como tal basándose en este análisis.

6. LA TRANSFUSION SANGUINEA

6.1 RELACION.

El donar sangre es un aporte que como seres humanos se brinda a nuestros semejantes, ya que es dar un poco de vida a los que la necesitan; sin saber como ni a quien, sólo teniendo presente que una vida puede salvarse, y que algún día nosotros o la familia necesite de este servicio tan importante en esta época.

Cada día van surgiendo nuevas normas que rigen la donación sanguínea y que tienen como único fin el disminuir riesgos tanto para el receptor como para el donador. Ya que a diario se encuentran nuevas enfermedades o las ya conocidas son cada vez más difíciles de controlar. Por tanto con respecto a la Leptospirosis es importante precisar su comportamiento estadístico, para prevenir algún problema pudiera acarrear esta enfermedad.

6.2 REQUISITOS.

Para poder ser donador sanguíneo ya sea en el Centro Nacional de la Transfusión Sanguínea o en cualquier otro lugar autorizado del país, es necesario cumplir con ciertos requisitos que son:

- 1.- Aprobar un examen médico, que consta principalmente de un interrogatorio clínico personal y familiar, en busca de antecedentes de enfermedades importantes que haya cursado el donador o en sus parientes más cercanos.

También este examen se dirige a la detección de algunos signos y síntomas de la persona que demuestren alguna alteración fisiológica detectable en primera instancia.

- 2.- Pesar mínimo 50 kg.
- 3.- En la biometría hemática tener una fórmula roja dentro de los valores de referencia (para personas que vivan a 2000 mts. de altura sobre el nivel del mar, D.F.)); esto con el objeto de detectar una posible anemia en el donador.
- 4.- Ser negativos a las pruebas de anti V.I.H. (SIDA), Ag SHB (Hepatitis B), V.D.R.L. (Sífilis) y Brucelosis.
- 5.- No haber donado sangre en los últimos 45 días anteriores a esta posible donación.
- 6.- Otras marcadas en la norma técnica No. 277 de la Ley General de Salud, dispuestas para la disposición de sangre humana y sus derivados con fines terapéuticos entre ellas:

En el caso de mujeres:

- a) No estar embarazadas.
- b) No estar en período de lactancia.

En el caso de hombres y mujeres:

- a) No haberse practicado tatuajes durante el inmediato año anterior.
- b) No haber sufrido ningún tipo de cirugía durante el inmediato año anterior.
- c) Antecedentes negativos en los últimos tres años de paludismo.
- d) Antecedentes negativos de la enfermedad de Chagas.
- e) Prueba de gota gruesa palúdica negativa (área endémica).
- f) Otras según la zona.

7. OBJETIVOS DEL TRABAJO

7.1 JUSTIFICACION.

En relación a la transfusión sanguínea, hemos sido afortunados por el hecho de existir al momento una alta correlación entre, las pruebas serológicas o de compatibilidad in vitro y la sobrevivencia de los glóbulos rojos transfundidos. Sin embargo, uno de los efectos adversos secundarios a la transfusión de sangre y/o componentes, son los causados por la transmisión de ciertas enfermedades, dentro de las cuales encontramos a la leptospirosis.

Debido a la magnitud que representa este problema se decide llevar a cabo un estudio seroepidemiológico de leptospirosis en dos grupos humanos, el grupo I constituido por personas que se presenten al Centro Nacional de Transfusión Sanguínea de la Secretaría de Salud, como donadores sanguíneos, y el grupo II formado por alumnos y trabajadores de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM., que por las actividades propias de su profesión lo nombramos grupo de riesgo.

7.2 OBJETIVO GENERAL.

Realizar un estudio seroepidemiológico de leptospirosis en humanos que indique la prevalencia de esta enfermedad en donadores sanguíneos en el Distrito Federal.

7.3 OBJETIVOS ESPECIFICOS.

- 7.3.1 Determinar el título de anticuerpos contra 23 serotipos de leptospira, en suero de donadores sanguíneos que acuden al Centro Nacional de Transfusión Sanguínea de la Secretaría de Salud y alumnos de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM.
- 7.3.2 Identificar leptospiras en sangre y orina de donadores sanguíneos captados en el CNTS y la FMVYZ de la UNAM.
- 7.3.3 Realizar biometría Hemática completa (BHC), creatinina, TGO, TGP y Examen General de Orina (EGO), en los donadores de los grupos mencionados. Siempre y cuando hayan presentado título de anticuerpos contra cualquier serotipo de leptospira positivo a enfermedad, (igual o mayor a 1:100).
- 7.3.4 Realizar biometría hemática completa aún sin título de anticuerpos contra Leptospira.
- 7.3.5. Establecer un diagnóstico sobre leptospirosis con base en datos clínicos y de laboratorio, en los dos grupos en estudio.
- 7.3.6 Correlacionar los resultados en ambos grupos.

7.4 HIPOTESIS.

La prevalencia de leptospirosis en humanos está relacionada directamente con la actividad ocupacional. Y los individuos que tiene leptospirosis asintomática o sintomática manifestarán alteraciones en la Biometría Hemática completa (BHC) y en las pruebas de funcionamiento hepático y renal; todo ello relacionado directamente con el título de anticuerpos.

8. MATERIAL

8.1 MATERIAL BIOLÓGICO.

- 8.1.1 Conejos de aproximadamente 1.5 Kg. de peso.
- 8.1.2 Sangre total de humanos, con oxalato de sodio al 1.0% como anticoagulante.
- 8.1.3 Suero humano.
- 8.1.4 Suero de conejo
- 8.1.5 Cepas de leptospira.
 - 8.1.5.1 L. icterohemorrhagiae
 - 8.1.5.2 L. canicola
 - 8.1.5.3 L. panama cepa CZ 214k
 - 8.1.5.4 L. grippityphosa cepa Moskva V
 - 8.1.5.5 L. copenage cepa M 20
 - 8.1.5.6 L. arborea cepa Arborea
 - 8.1.5.7 L. orleans cepa LSU 2580
 - 8.1.5.8 L. hebdomadia cepa Hebdomadia
 - 8.1.5.9 L. cristovali cepa LT 940
 - 8.1.5.10 L. ballum cepa Castellón 3
 - 8.1.5.11 L. louisiana cepa LSU 1945
 - 8.1.5.12 L. bratislava
 - 8.1.5.13 L. zanoni cepa Zanoni
 - 8.1.5.14 L. betaviae cepa Van Tienen
 - 8.1.5.15 L. australia cepa Ballico
 - 8.1.5.16 L. wolffi cepa 3705
 - 8.1.5.17 L. tarassovi cepa Perpelicin
 - 8.1.5.18 L. shermani cepa LT 821
 - 8.1.5.19 L. serjoe cepa M84
 - 8.1.5.20 L. pyrogenes cepa Salines
 - 8.1.5.21 L. pomona cepa Pomona
 - 8.1.5.22 L. peruviana cepa LT 941
 - 8.1.5.23 L. autumnalis cepa Akiyami A

Valores de referencia para estos serotipos:
(según estudios de G. Varela) (2).

- Título menor a 1:100 se considera negativo a enfermedad.
- Título igual o mayor a 1:100 es considerado positivo a enfermedad.

8.2 MATERIAL DE VIDRIO.

- 8.2.1 Tubos con tapón de rosca estériles de 13 x 100 mm.
- 8.2.2 Tubos de ensayo estériles de 13 x 100 mm.
- 8.2.3 Pipetas Pasteur estériles.
- 8.2.4 Unidad de filtración Millipore.
- 8.2.5 Portaobjetos.
- 8.2.6 Cubreobjetos 20 x 20 mm.
- 8.2.7 Pipetas de Thoma, para glóbulos rojos y glóbulos blancos.
- 8.2.8 Pipeta de Shali.
- 8.2.9 Cámara de Neubauer.
- 8.2.10 Tubos capilares para microhemátocrito de 75 mm. sin heparina.
- 8.2.11 Recipientes para colorantes.
- 8.2.12 Tubos de ensayo 18 x 150 mm.
- 8.2.13 Pipetas serológicas de 0.1 ml., 5.0 ml. y 10.0 ml.

8.3 REACTIVOS.

- 8.3.1 Alcohol etílico R.A. Beaker.
- 8.3.2 Medio Stuart deshidratado Difco.

8.4 SOLUCIONES.

- 8.4.1 Alcohol etílico al 70% en agua destilada.
- 8.4.2 Reactivo de Drabkin.
- 8.4.3 Solución de Hayem.
- 8.4.4 Reactivo de Turck.
- 8.4.5 Boffer de fosfatos pH 7.0.
- 8.4.6 Solución salina 0.9%.
- 8.4.7 Oxalato de sodio 1.0% en agua destilada estéril.

8.5 INSTRUMENTOS Y EQUIPO.

- 8.5.1 Microscopio de campo oscuro.
- 8.5.2 Microscopio de campo iluminado.
- 8.5.3 Centrifuga para 3000 rpm.
- 8.5.4 Autoclave para 121 C y 15 libras de presión.
- 8.5.5 Estufa de secado para 60 C.
- 8.5.6 Estufa de incubación para 28 C.
- 8.5.7 Espectrofotómetro.

8.6 MATERIAL DIVERSO.

- 8.6.1 Torundas de algodón.
- 8.6.2 Ligadura de hule latex.
- 8.6.3 Jeringas desechables de 10 ml. y 20 ml. (nuevas).
- 8.6.4 Agujas desechables 22 x 32 mm. (nuevas).
- 8.6.5 Etiquetas adheribles 6 - 16 - 22.
- 8.6.6 Palillos de madera de 20 cm. de longitud.
- 8.6.7 Cinta testigo para esterilización por calor humedo.
- 8.6.8 Papel manila para envoltura.
- 8.6.9 Ligas de hule latex.

8.6.10 Filtro millipore 0.22 micras.

8.6.11 Aceite de inmersión.

8.6.12 Gasa estéril.

8.6.13 Piano para cuenta hematológica.

8.6.14 Tabla para lectura de hematocrito.

8.6.15 Placas de porcelana con 6 o 12 excavaciones.

9. M E T O D O S

9.1 CARACTERISTICAS DE LOS DONADORES.

En general no se tomaron en cuenta para el estudio: edad, sexo, condición social, raza y en el caso de donadores del CNTS el oficio o profesión.

GRUPO I.- Formado por personas que fueron aceptadas como donadores sanguíneos en el CNTS, después de contestar el cuestionario y cumplir con los requisitos ya mencionados para poder donar sangre.

GRUPO II.- Fueron personas muestreadas de diferentes sectores de la FMVZ de la UNAM, y entre ellos hubo académicos, trabajadores y alumnos, dando con ello un grupo que es representativo para los propósitos del estudio realizado.

9.2 OBTENCION DE SANGRE Y SEPARACION DEL SUERO.

Se coloca al donador en posición cómoda, de preferencia sentado con el brazo descubierto y extendido, apoyando el codo sobre una superficie dura; hacer asepsia con alcohol etílico al 70% sobre las venas del pliegue del codo.

Elegir por palpación una de las venas habituales (mediana basílica o mediana cefálica). Provistos de una jeringa desechable estéril y nueva de 10 ml., proceder a la punción obteniendo 10 ml. de sangre; de estos aproximadamente se colocan 6 ml. en un tubo con tapón de rosca previamente esterilizado, se cierra y se deja reposar por 20 o 30 minutos para la posterior separación del suero. Otros 4 ml. de sangre se pasan a otro tubo con tapón de rosca también estéril y conteniendo 0.1 ml. de oxalato de sodio como anticoagulante preparado recientemente al 1.0%.

Del primer tubo con sangre se obtiene el suero por medio de separación del coágulo primeramente por una varilla de madera estéril y en seguida por centrifugación a 2,500 rpm. durante 15 minutos. El suero se pasa a otro tubo estéril por medio de pipeta Pasteur también previa esterilización y se guarda en refrigeración hasta el momento de realizar la serología.

9.3 OBSERVACION A CAMPO OSCURO.

De la sangre total hacer una dilución 1:10 con solución salina estéril, pasar dos gotas a un portaobjetivo limpio y colocar cubreobjetos evitando la formación de burbujas.

Por otro lado ya se encendió el microscopio de campo oscuro y se coloca una gota de aceite de inmersión sobre el condensador, enseguida colocar el portaobjetos en la platina y por medio de los tornillos macro y micrométrico enfocar sobre la dilución de sangre en busca de leptospiras en movimiento. Se hace el recorrido completo del área delimitada por el cubreobjetos para una mayor posibilidad de visualizar al microorganismo.

9.4 BIOMETRIA HEMATICA.

9.4.1 Cuantificación de hemoglobina.

Por el método de cianometahemoglobina, y utilización de la solución de Drabkin como diluyente.

Valores de referencia:

Hombres: 14.0 a 18.0 g/dl.

Mujeres: 12.0 a 14.5 g/dl.

9.4.2 Hematocrito.

Técnica del tubo capilar, (microhematocrito).

Valores de referencia:

Hombres: $47 \pm 2.5 \%$

Mujeres: $42 \pm 2.5 \%$

9.4.3 Cuenta de eritrocitos:

Método hematocimétrico de uso común en el laboratorio de análisis clínicos.

Valores de referencia:

Hombres: $4.5 - 5.5 \times 10^6 / \text{mm}^3$

Mujeres: $4.3 - 5.0 \times 10^6 / \text{mm}^3$

9.4.4 Cuenta de Leucocitos:

Por el método hematocimétrico, común en el laboratorio de análisis clínicos.

Valores de referencia:

Adultos: $5,000 - 10,000 / \text{mm}^3$

9.4.5 Cuenta diferencial.

Por medio de frotis teñido con colorante de Wright.

Valores de referencia:

Neutrofilos	50 - 70 %
Linfocitos	20 - 42 %
Monocitos	3 - 8 %
Basófilos	0 - 1 %
Eosinófilos	1 - 3 %
Bandas	1 - 3 %

9.5 PREPARACION DE ANTIGENO.

Sangrar intracardiamente a un conejo joven y sano obteniendo de 40 a 60 ml. de sangre; colocar esta sangre en tubos de rosca de 20 x 150 mm. previamente esterilizados dejar reposar de 30 a 60 minutos a 37°C.

Centrifugar la sangre a 3,000 rpm. por 20 minutos, separar el suero con ayuda de pipetas pasteur estériles. Ya con todo el suero separado se procede a la filtración para esterilizarlo, para lo cual se utiliza una unidad y filtros millipore de 0.22 micras y recibiéndolo en tubos de rosca estériles.

Este suero se añade a tubos con medio Stuart el cual ya fue esterilizado y preparado con agua de buena calidad de preferencia bidestilada, a un porcentaje del 10 por ciento volumen.

Hecha la mezcla depositar en tubos de tapón de rosca 10 ml. e inactivar a 56 C en baño maría durante media hora.

Después de la inactivación se incuban los tubos a 28-30 C. durante 72 hrs. para detectar alguna posible contaminación; una vez pasado este tiempo se agrega la cepa madre de los 23 serotipos, se incuba por ocho días y se observa al microscopio de campo oscuro con el fin de estandarizar el antígeno a 200 leptospiras por campo, libres de contaminación y de aglutinación espontánea; estos antígenos se utilizan dentro de los ocho o treinta días después de la incubación.

9.6 METODO PARA PRUEBA DE AGLUTINACION.

Preparar diluciones del (los) suero problema con solución salina estéril desde 1:25 hasta 1:400, utilizando para ello tubos y pipetas graduadas estériles.

Colocar una gota de cada dilución de los sueros y una de cada uno de los 23 serotipo de leptospira en placas de porcelana a incubar durante dos horas a 28-30 C, en cámara húmeda.

Observar al microscopio de campo oscuro cada una de las diluciones, determinar hasta cual de ella existe aglutinación y la última será el título de anticuerpos que presenta ese suero.

9.7 ANALISIS DE ORINA.

Este análisis sólo se realizó en las personas que en la serología mostraron título de anticuerpos de 1:100 o más.

9.1.1 Colección de muestra.

Desechar la primera parte del chorro de orina (previa asepsia de labios vaginales o glande, según sea el caso), y la parte media se recibe en un recipiente estéril. En el caso de la muestra no se trabaje dentro de la primera hora después de la colección se procederá a refrigerarla hasta su análisis.

9.7.2 Observación de sedimento.

Pasar aproximadamente 10 ml. a un tubo estéril y centrifugar a 3,000 rpm. por 20 minutos; el sedimento obtenido se pasa a un portaobjetos limpio, se coloca un cubreobjetos nuevo y se observa a campo obscuro en busca de leptospiras.

Este mismo sedimento puede utilizarse para la búsqueda de otros elementos como leucocitos, eritrocitos, bacterias, cristales y células, pero ahora utilizando el microscopio de campo iluminado.

9.7.3 Uso de tira reactiva comercial.

De la orina restante del recipiente primario hacer el análisis químico complementario del Examen General de Orina, mediante el uso de la tira reactiva que incluye: pH, nitritos, proteínas, glucosa, cuerpos cetónicos, urobilinógeno, bilirrubina y sangre.

9.8 CUANTIFICACION DE ENZIMAS.

9.8.1 Transminasa Glutamico-Ozaloacética (TGO).

Se utilizó el equipo comercial "kit" marca Merck, y se realizó la técnica con las especificaciones del fabricante.

- Al frasco (2) que contiene enzima-amortiguador, se agrega la solución de sustrato (frasco 1) en cantidad de 3.0 ml. a 25 C.
- Dejar reposar por dos minutos hasta completa disolución.
- Agregar suero o plasma 0.50 ml.
- Mezclar y pasarlo a la cubeta para medir la extinción en un espectrofotómetro de luz visible.
- Medir la extinción cada minuto y durante tres minutos a 340 nm.
- Hacer los cálculos según la extinción obtenida y multiplicar por el factor correspondiente.

Valor de referencia: Hasta 19.0 U/L.

9.8.2 Transminasa Glutamico-Piruvica (TGP).

Se utilizó como en el caso anterior "kit" comercial marca Merck:

- Del frasco No. 1 que es la solución de sustrato tomar 4.0 ml. y pasarlos al frasco no. 2 que es la enzima amortiguador, también a 25 C.
- Agregar 0.2 ml. de suero o plasma.
- Homogenizar perfectamente con inversiones del frasco.
- Pasar la mezcla a la cubeta del espectrofotómetro
- Medir la extinción a 340 nm. o 546 nm. cada minuto y durante tres minutos.

- Realizar los cálculos convenientes, según el factor y la extinción obtenida.

Valor de referencia: Hasta 17.0 U/L.

NOTA: En ambas determinaciones, TGO y TGP, es necesario correr a la par un blanco de reactivos que indique la veracidad o un posible error al realizar la técnica.

9.9 DETERMINACION DE CREATININA.

Por la reacción de Jaffé, que está basada en la diferencia de color producida antes y después de la hidrólisis de la muestra problema en donde la creatina se transforma en creatinina en presencia de ácido pícrico.

Valores de referencia:

Sangre total 2 - 7 mg/dl.

Plasma 0.5 - 1.5 mg/dl

9.10 DETERMINACION DE UREA.

Equipo comercial de Merck: en el cual la urea en solución ácida de DAM (diacetilmonxima) y en presencia de tiosemicarbazida forma un complejo rojo muy estable.

Valores de referencia:

Suero 20 - 40 mg/dl 10 - 20 mg/N₂ uréico

10. RESULTADOS

Los resultados obtenidos en este estudio seroepidemiológico se informan en los cuadros I a IV.

Cuadro I.- Serología contra leptospirosis en donadores de sangre del CNTS de la SSA. y de la FMVZ. de la UNAM, mostrando sólo los casos de los que se observó título de anticuerpos 1:25 - 1:100, y el serotipo correspondiente, así como la observación de sangre a campo obscuro en búsqueda de leptospiras.

Cuadro II.- Datos de la Biometría Hemática completa, en las personas en que la serología mostró títulos de anticuerpos (1:25-1:100) contra leptospira.

Cuadro III.- Resultados de los análisis clínicos complementarios en caso con título a leptospira positivo a enfermedad.

Cuadro IV.- Promedios de la Biometría Hemática Completa, de las 186 muestras restantes de los dos grupos en estudio; separados por sexo para una correcta comparación con los valores de referencia.

10.1 CUADRO I.- SEROLOGIA CONTRA LEPTOSPIROSIS EN DONADORES DE SANGRE DEL CNTS DE LA SSA. Y DE LA FMVYZ DE LA UNAM

GRUPO DE ESTUDIO	<u>L. GRIPPOTYPHOSA</u>	TITULO	<u>L. POMONA</u>	TITULO	<u>L. SERJOE</u>	TITULO	OBSERVACION A CAMPO OSCURO	% CON RESPECTO A CASOS CON TITULO DE ANTICUERPOS *	% RESPECTO A PERSONAS CON TITULO DE ANTICUERPOS.
FMVYZ (UNAM)	-	-	1 1	1:50 1:25	3 1	1:25 1:100	NEGATIVO NEGATIVO	6.31	5.20
CNTS (SSA)	1 1	1:25 1:50	3	1:25	-	-	NEGATIVO NEGATIVO	5.61	4.0

Corona M.P.: 1990.

* Dos personas mostraron título a dos serotipos de leptospira:

- a) De la FMVYZ con 1:25 a L. pomona y 1:50 L. grippotyphosa.
 b) Del CNTS con 1:25 L. serjoe y 1:50 L. pomona.

- No se encontró

NOTA: La segunda serología realizada al caso positivo a enfermedad dio un título 1:25 a L. serjoe.

10.2 CUADRO II. BIOMETRIA HEMATICA COMPLETA DE CASOS CON TITULO DE ANTICUERPOS CONTRA LEPTOSPIRA

GRUPO DE ESTUDIO (Caso)	HB	HT	GB/mm ³	GR/mm ³	PMN	LINF.	MON.	EOS.	BAS.	SEXO
CNTS										
caso 1	16.1	52	8550	6.15	58	32	6	3	1	M
2	15.9	50	6250	5.93	56	36	5	2	1	M
3	15.6	52	5050	6.15	57	40	2	1	-	M
4*	15.6	51	7450	6.04	69	26	4	1	-	M
FMVyZ										
caso 1	13.9	43	9500	4.99	72	21	7	-	-	F
2*	15.8	49	6250	5.81	55	41	4	-	-	M
3	13.5	41	5550	4.99	63	29	5	2	1	F
4**	16.8	54	10400	6.37	93	6	-	1	-	M
5	14.3	47	8900	5.48	72	28	-	-	-	M
2a. muestra 4**	-	-	8500	-	75	20	4	1	-	M

HB = Hemoglobina

PMN = Polimorfonucleares

BAS. = Basofilos

HT = Hematocrito

LINF. = Linfocitos

M = Masculino

GB/mm³ = Glóbulos blancos por ml.

MON. = Monocitos

F = Femenino

GR/mm³ = Glóbulos rojos por ml y x 10⁶

EOS. = Eosinofilos

* Personas con título a dos serotipos de Leptospira.

** Caso con título 1:100 a Leptospira serjoe.

10.3 CUADRO III. ANALISIS COMPLEMENTARIOS DEL DONADOR CON
TITULO 1:100 (Positivo a enfermedad), DE
LA UNAM.

ANALISIS	R E S U L T A D O	
E.G.O.	<p>Color: Amarillo pajizo, Olor: sui generis, Aspecto: ligeramente turbio.</p> <p>Nitrito: negativo, pH 7.5., Proteinas: trazas, Glucosa: Negativo, cuerpos cetónicos: negativo, Urobilino gen: negativo, Bilirrubina: negativo, Sangre: Negativo. ; ;</p> <p>Sedimento:</p> <p>Leucocitos 0-3 p/c, Bacterias +, Eritrocitos: <u>negati</u>vo, Cristales de fosfato triple ++</p>	
	1a. MUESTRA	2a. MUESTRA
TGO	17.9 U/L	17.0 U/L
TGP	16.5 U/L	16.8 U/L
UREA	38.0 mg/dl	36.5 mg/dl
CREATININA	1.1 mg/100 ml.	1.1 mg/100
OBS. A CAMPO OBSCURO	Sangre: negativo Orina: negativo	negativo negativo

E.G.O. = Examen General de Orina.

10.4 CUADRO IV. BIOMETRIA HEMATICA COMPLETA EN DONADORES DE SANGRE DEL CNTS Y FMVYZ DE LA UNAM.

PARAMETRO	CNTS (GRUPO I)		FMVYZ (GRUPO II)	
	MUJERES	HOMBRES	MUJERES	HOMBRES
Hb g/100 Oml	14.44	15.48	14.41	15.0
Hematocrito %	45.77	50.82	46.06	47.8
GB/ mm ³	7723.3	7187.3	7184	8000
GR/mm ³ x 10 ⁶	5.38	5.82	5.10	5.62
CUENTA DIFERENCIAL %				
PMN	63.75	63.50	62.27	62.08
LINF	29.12	29.28	31.13	30.61
MON	5.87	4.47	6.18	3.05
EOS	1.0	1.27	1.22	1.04
BAS	0.12	0.30	0.31	0.30
Observación de Sangre a campo obscuro	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo

Los valores en este cuadro expresados, son promedios de las 186 muestras las cuales no mostraron título de anticuerpos a ningún serotipo de Leptospira.

11. DISCUSION DE RESULTADOS

11.1 CASOS CON TITULO BAJO DE ANTICUERPOS CONTRA LEPTOSPIRA.

Integrando los resultados del cuadro I, se observa concordancia con la hipótesis expuesta, ya que sí resulta un mayor porcentaje de casos con título de anticuerpos contra leptospira en las personas que tienen un riesgo mayor a infectarse por la espiroqueta (trabajadores, estudiantes y académicos de la FMVyZ de la UNAM), debido esto a las actividades propias de la Veterinaria que hacen mayormente posible el contacto accidental del hombre con la leptospira.

La serología no mostró títulos muy elevados (de 1:25 a 1:100), como los informados en la bibliografía (hasta 1:1000), pero sí concuerda con los serotipos más comúnmente encontrados en otros estudios. Esto puede ser indicio de que la enfermedad no ha avanzado en el humano, aunque el microorganismo es común en muchas especies animales, pero que no ha mostrado una capacidad infecciosa muy importante.

Por lo tanto se pueden mencionar como causas posibles que determinen los títulos bajos de anticuerpos:

- a) Concentración de espiroquetas insuficiente, como para desencadenar una respuesta inmunológica con formación elevada de anticuerpos.
- b) Los lipopolisacáridos (composición principal de la pared celular), no son muy buenos inmunógenos, comparados con las proteínas; por lo que se formarán anticuerpos en cantidades reducidas.

- c) Es probable que se haya muestreado al donador en etapa de convalecencia, donde la concentración de anticuerpos ha disminuido notablemente.
- d) Tolerancia inmunológica de individuos del D. F. a las leptospiras.
- e) Posiblemente la automedicación de diversos antibióticos influya en los resultados de este estudio; con base en que el mexicano se automedica con frecuencia, y de manera indirecta destruya al microorganismo. Sin embargo este punto no se investigó por estar fuera de objetivos del estudio.
- f) Anergia multifactorial.
- g) Posible inmunosupresión generada por productos metabólicos de la leptospira.

Todos estos puntos pueden ser afectados por diversos factores de los cuales dos muy importantes son:

- 1.- Condiciones nutricionales del paciente.
- 2.- Estado de salud del paciente en el momento del contacto con la leptospira.

Y por tanto uno o ambos repercutan en el sistema inmunológico de los individuos.

11.2 BNC DE CASOS CON TITULO BAJO DE ANTICUERPOS.

En estos resultados que son expresados individualmente en el cuadro II, se observa que los parámetros analizados (hemoglobina, cuenta total de glóbulos blancos y rojos, cuenta diferencial y hemátocrito), se encuentran dentro de los valores de referencia, aún los que mostraron título a dos serotipos de leptospira. Por tanto, contacto con la espiroqueta sí existió, pero la enfermedad no se desarrolló, como es en los casos que se mencionan en el artículo llamado "Leptospirosis" (20) en el cual los pacientes muestran anemia que se va agravando a partir de la 1ª semana de la infección, además de verse alterados también la cuenta total de glóbulos blancos y la cuenta diferencial.

11.3 CASO POSITIVO A ENFERMEDAD.

En una primera muestra el paciente mostró un título de anticuerpos de 1:100 a L. serjoe, cuenta leucocitaria elevada ($10\ 400/\text{mm}^3$), no importante, pero sí un porcentaje de células Polimorfonucleares (93%) que invita a pensar en un posible curso del donador por la enfermedad, ya que en esta es característico el aumento de estas células. En la bioquímica clínica se observan EGO, TGO, TGP, Urea y Creatinina dentro de valores normales de referencia.

Pasados 20 días de estos primeros análisis, se sangra de nuevo al paciente y presenta estos cambios:

- a) Disminución en el título de anticuerpos (1:25 a L. serjoe).
- b) Disminución de PMN en un 18%.
- c) Disminución de $1900\ \text{células}/\text{mm}^3$ de glóbulos blancos.

Y con respecto a la bioquímica clínica cabe subrayar que los parámetros analizados se mantuvieron dentro de los valores de referencia normales. La persona desde la primera muestra hasta la segunda y después se denotó asintomático y asignológico (en contraste en personas observadas en otros estudios en los que pacientes con la infección presentan dolor de cabeza, diarrea, dolor a la altura de riñones, vómito, temperatura alta (hasta de 39.4 C), abdomen tenso y una bioquímica clínica con nitrógeno ureico elevado, creatinina aumentada hasta seis veces su concentración normal y bilirrubinas totales también elevadas). (20).

Por tanto se piensa que la enfermedad no se presenta en forma grave en personas en el D.F., aunque hay que tomar en cuenta:

- 1.- La etapa de muestreo.
- 2.- Condición fisiológica e inmunológica del individuo en el momento de la infección.
- 3.- Alguna otra de las posibilidades nombradas en el punto 11.1.

Y cualquiera que fuera el motivo de que la enfermedad se comporte de una forma no peligrosa patológicamente hablando; y no siendo objetivo en este estudio el dilucidar este problema Es bueno concluir que a la fecha existe una incidencia baja de esta enfermedad y que por ello es difícil que desencadene problemas verdaderamente serios a la población del D.F.; que repercutirían en la aprobación de sangre para transfundir, así como en la distracción de fondos económicos para prevenir y curar la enfermedad, entre otras cosas.

11.4 CASOS NEGATIVOS A TITULO DE ANTICUERPOS.

En todos estos casos no cabe más que señalar que en promedios generales expresados en el cuadro IV, se observan parámetros dentro de los valores de referencia estipulados para el D.F. ya que sólo dos personas mostraron ligera anemia que no influyó en los resultados, ya que de estos ninguno fué positivo a la serología realizada para leptospira.

Estos resultados son satisfactorios, aunque no implica que los donadores estén libres de alguna otra infección o problema como los especificados en requisitos para donar sangre.

12. CONCLUSIONES

- 1.- La prevalencia de leptospirosis en donadores de sangre fué de 0.5 %; considerando como título positivo a enfermedad o iguales a 1:100. Esta prevalencia fué mayor en los donadores de sangre que estan expuestos a factores de riesgo, entre ellos trabajadores y estudiantes de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM.
- 2.- La prevalencia global a seropositivos con títulos de anticuerpos menores de 1:100 fue del 4.10% predominando en el sexo masculino.
- 3.- En ningún caso se presentaron signos o síntomas de la enfermedad.
- 4.- Las pruebas de laboratorio; Biometría Hemática completa, Examen General de Orina, TGO y TGP, se encontraron en rangos de referencia, independientemente del título de anticuerpos observado.
- 5.- El serotipo que predominó en el estudio fue Leptospira serjoe, la cual está informada en la literatura como causante de la enfermedad de Feldfieber B, en humanos y cuyos reservorios naturales son el perro, cerdo y el ganado.

El segundo lugar lo ocupó Leptospira pomona, que causa la enfermedad de las porquerizas en el humano y cuyos reservorios son el cerdo y el perro. El primer serotipo teniendo distribución en Europa y Estados Unidos Americanos; y el segundo cosmopolita. Esto siendo posible por la conveniencia del hombre con animales domésticos, ya sea con fines de mascota o económicos.

- 6.- No se encontró daño hepato-renal en los individuos seropositivos.
- 7.- Como no se encontró en la serología ningún serotipo de leptospira, el cual su reservorio natural sean las ratas; es por lo tanto bueno el pensar que es difícil una contaminación de agua potable por aguas negras en el D.F. , ya que estos animales mantienen viables a estas espiroquetas en su organismo durante toda su vida.
- 8.- Recomendamos a fin de evitar la transmisión de la enfermedad por transfusión sanguínea, que se realice la serología correspondiente para evitar transfundir sangre parasitada.

PUNTOS ABIERTOS A OTRAS TESIS

- a) Motivo(s) del título bajo de anticuerpos contra leptospira en el Distrito Federal (punto 11.1 de esta tesis).
- b) Muestreo de alguna zona rural y muestreo de una zona urbana como el Distrito Federal; realizando serología para evaluar la incidencia de serogrupos en ambas zonas, y así asegurar que la leptospirosis no se presenta en forma agresiva en el D.F.

13. BIBLIOGRAFIA

- 1.- Ratnam, J. et al. : Insolation of leptospire and demonstration of antibodies in human leptospirosis in Madras India. Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg., 77 : 4 455-458 1983.
- 2.- Zavala, V. J., Pinzón, C. J. : La leptospirosis en Yucatán, Estudio serológico en humanos y animales; Salud Pública de México. 26: 3 : 254-259 1984.
- 3.- Waitkins, S. : Leptospirosis in man. British Isles; British Medical Journal (Clin Res). 292: 1324: 1986.
- 4.- Myers, M. Donald.: Evaluación antígenos de la envoltura exterior de leptospira en la prueba de complemento y de hemaglutinación para leptospirosis. Bol. Ofic. Sant. Panamér. 87: 2 : 141-149 1979.
- 5.- Woodruff, W.A., Bell S.: Sinapsis de enfermedades infecciosas y tropicales. Editorial Científica Médica. Barcelona: 337-343 1971.
- 6.- Freeman B.A. : Tratado de Microbiología de Burrows. 21a. ed. Editorial Interamericana S.A., México: 797-802 1983.
- 7.- Mattew, J. Lynch.: Métodos para laboratorio. 2a. ed. Editorial Interamericana S.A., México: 973-974 1982.

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

- 8.- Dubelcoo, D., Gineberg, W.: Tratado de Microbiología. 2a. ed. Editorial Salvar Editores. Barcelona: 915-918 1979.
- 9.- David, A.J. Tyrrell, Ian Phillips, : Microbial Disease, the use of the laboratory in diagnosis, therapy and control. 1a. ed. Editorial Edward Arnold. Great Britain: 1841-1845 1979.
- 10.- Jawetz Ernest, et al.: Parasitología Médica. 1a. ed. Editorial Interamericana. México: 56-63 1978.
- 11.- Varela G., Roch E. Leptospirosis en la República Mexicana. Salud Pública. México: 7 189. 1965.
- 12.- Hamilton, H.K., Rose M. B. : Diagnóstico Clínico. 1a. ed. Editorial Interamericana. México 549-555 1986.
- 13.- Griffiths, J. Elliot, D.S. John.: Procedimientos de Banco de Sangre. 1a. ed. Editorial DADE. miami Florida (USA): 4-8 1967.
- 14.- Wolfgang, K., Willett H.P.: Zinsser Microbiología 18a. ed. Editorial Médica Panamericana. Buenos Aires: 825-845 1986.
- 15.- Roger, Y., Stainer Duodororr M.: Microbiología. 2a. ed. Editorial Aguilar. Madrid: 174-177 1981.
- 16.- Edwin H. Lennette, et. al.: Manual de Microbiología Clínica 3a. ed. Editorial Médica Panamericana. Buenos Aires: 549-466. 1982.

- 17.- Varela, C., Zavala, J.: Estudios serológicos de Leptospirosis en la República Mexicana. Rev. Inst. Salubr. Enferm. Trop. México: 21, 1,2: 49-52, 1961.
- 18.- Varela, G., Vázquez, A., Mancera, L.: Investigación de aglutininas para leptospira Icterohaemorrhagiae, L. pomona y L. canicola en sueros humanos y de animales de diversos estados de la República Mexicana. Rev. Inst. Salubr. Enferm. Trop. México: 18 1. 37-39 1958.
- 19.- Mendoza P., Varela, C., Méndez, D.: Estudios de Leptospirosis en la ciudad de México. Rev. Inst., Salubr. Enferm. Trop. México: 18, 1. 37-39 1958.
- 20.- Somidt, R. D., Winn, E. R.: Leptospirosis. Arch. Inter. Med. USA: Aug. 149 (8), 1878-1880 1989.