



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLAN



**FRECUENCIA DE ANTICUERPOS DE BRUCELLA abortus Y
ANTICUERPOS ANTICARDIOLIPINA EN DONADORES DE
SANGRE CAPTADOS EN EL HOSPITAL DE TRAUMATOLOGIA Y
ORTOPEDIA LOMAS VERDES DEL IMSS EN EL PERIODO
COMPRENDIDO DEL 1º DE AGOSTO DE 1989 AL 31 DE JULIO
DE 1993**

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO
P R E S E N T A:
MARCO ANTONIO CHONG VARGAS

ASESOR: Q.F.B. IDALIA AVILA MIYAZAWA

CUAUTITLAN IZCALLI, ESTADO DE MEXICO 1994

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



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).

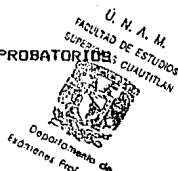
El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición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



UNIVERSIDAD NACIONAL
AVENIDA DE
MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN
UNIDAD DE LA ADMINISTRACION ESCOLAR
DEPARTAMENTO DE EXAMENES PROFESIONALES

ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS



DR. JAIME KELLER TORRES
DIRECTOR DE LA FES-CUAUTITLAN
P R E S E N T E .-

AT'N: Ing. Rafael Rodríguez Ceballos
Jefe del Departamento de Exámenes
Profesionales de la F.E.S. - C.

Con base en el art. 28 del Reglamento General de Exámenes, nos permitimos comunicar a usted que revisamos la TESIS TITULADA:

Frecuencia de antígenos de Erucella abortus y antígenos
anticardiolipina en donadores de sangre caudales en el Hospital
de Traumatología y Ortopedia Iomas Verdes del F.E.S. en el
periodo comprendido del 1 de agosto de 1980 al 31 de Julio de 1982
que presenta el pasante: Marco Antonio Chong Vargas
con número de cuenta: P311734-5 para obtener el TITULO de:
Químico Farmacéutico Biólogo.

Considerando que dicha tesis reúne los requisitos necesarios para ser discutida en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

A T E N T A M E N T E .

"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"

Cuautitlán Izcalli, Edo. de Méx., a 27 de Julio de 1994

PRESIDENTE C. Prof. Víctor Gerardo Benítez

VOCAL C. Prof. Andrea Lucrécia Osuna

SECRETARIO C. Prof. Idalia Julia Miramón

PRIMER SUPLENTE C. Prof. Víctor M. González Ruizón

SEGUNDO SUPLENTE M. en C. Stella María Rodríguez Rivera

[Firma]
Andrea A. Becerra
Helio Quintanilla
[Firma]

DEDICATORIAS

GRACIAS SEÑOR POR DARME LA OPORTUNIDAD DE VER REALIZADO UNO DE MIS MAS GRANDES ANHELOS Y EL PODER COMPARTIRLO CON LAS PERSONAS QUE QUIERO.

CUALESQUIERA QUE HAYAN SIDO NUESTROS LOGROS ALGUIEN NOS AYUDO SIEMPRE A ALCANZARLOS, AGRADEZCO A MIS PADRES HILARIO Y CARMEN POR SU APOYO MORAL Y ESPIRITUAL AL DARME LA OPORTUNIDAD DE CUMPLIR UNA DE MIS METAS Y LES DEDICO ESTE TRABAJO.

A MIS HERMANOS JORGE LINO Y NESTOR ORLANDO POR SU AMISTAD, APOYO Y CONFIANZA GRACIAS.

A TI QUE ME BRINDASTE CONFIANZA, APOYO Y COMPRENSION EN TODO ESTE TIEMPO, GRACIAS EVA , TE AMO.

A LAS FAMILIAS ORTA VARGAS Y ORTA ARICEAGA POR SU AYUDA , APOYO Y HOSPITALIDAD BRINDADA DURANTE LA REALIZACION DE MIS ESTUDIOS SUPERIORES, ESPECIALMENTE A MI TIA AMBROSIA.

A MIS ASESOR, MAESTROS, COMPAÑEROS Y AMIGOS DE GENERACION QUE CON SUS CONOCIMIENTOS Y AYUDA HAN LOGRADO QUE ME SUPERE, NO SOLAMENTE COMO PROFESIONISTA, SINO TAMBIEN COMO SER HUMANO.

MI AGRADECIMIENTO AL PERSONAL DEL LABORATORIO DE ANALISIS CLINICOS DEL HOSPITAL DE TRAUMATOLOGIA Y ORTOPEDIA LOMAS VERDES POR SU AYUDA DESINTERESADA PARA LA REALIZACION DE ESTE TRABAJO, ASI COMO POR SUS CONOCIMIENTOS PARA REALIZARME EN MI PROFESION. AGRADEZCO ESPECIALMENTE A Q.F.B. FIDEL BRAVO, Q.F.B HILDA JALOMO Y Q.F.B. LUIS VELEZ.

MI GRATITUD PARA EL Dr GUILLERMO MARTINEZ LOPEZ POR LA OPORTUNIDAD DADA PARA LA REALIZACION DE ESTE TRABAJO Y REALIZARME EN MI VIDA PROFESIONAL.

INDICE.

LISTA DE ABREVIATURAS.....	1
LISTA DE TABLAS.....	2
LISTA DE FIGURAS.....	3
RESUMEN.....	4
INTRODUCCION.....	5
1. GENERALIDADES DEL BANCO DE SANGRE.....	7
1.1 RECOMENDACIONES PARA LA SELECCION DE DONADORES.....	7
1.2. SELECCION DE DONADORES.....	8
2. - GENERALIDADES DE SIFILIS.....	11
2.1.- ANTECEDENTES HISTORICOS.....	11
2.2.- ETIOLOGIA.....	12
2.3.- EPIDEMIOLOGIA.....	16
2.3.1.- Mecanismos de transmisión.....	16
2.3.2.- Distribución de la sífilis en el mundo.....	17
2.3.3.- Situación en México.....	17
2.4.- PATOGENIA.....	19
2.5..DIAGNOSTICO DE LABORATORIO.....	21
2.5.1. TECNICAS DE VISUALIZACION DIRECTA DEL M.O.....	22
2.5.2.- Técnicas de aislamiento.....	23
2.5.3.- Métodos serológicos.....	24
2.5.3.1. Pruebas no treponémicas.....	24
2.5.3.1.1 Prueba cualitativa en placa del VDRL.....	24
2.5.3.1.2 Pruebas rápidas de Reagina.....	25
2.5.3.1.3 Prueba cuantitativa automatizada de reagina (ART).....	25
2.5.3.1.4 Prueba RPR en tarjeta con suero: prueba cuantitativa.....	26
2.5.3.2. Pruebas treponémicas.....	27
2.5.3.2.1 Prueba de absorción de anticuerpos fluorescentes FTA-abs.....	27
3.- GENERALIDADES DE BRUCELLA.....	29
3.1.- ANTECEDENTES HISTORICOS.....	29
3.2.- ETIOLOGIA.....	30
3.3.- EPIDEMIOLOGIA.....	33
3.3.1.- Mecanismos de transmisión.....	33
3.3.2.- Distribución de la Brucelosis en el mundo.....	33
3.3.3.- Situación en México.....	34
3.3.4.- Prevención.....	36
3.4.- PATOGENIA.....	36
3.5.- DIAGNOSTICO.....	38
3.5.1.- Diagnóstico clínico.....	38
3.5.2.- Métodos de aislamiento.....	38
3.5.2.1 Examen directo.....	39
3.5.3.- Métodos serológicos.....	39
3.5.3.1 Prueba rápida de aglutinación en placa.....	40
3.5.3.2 Prueba lenta de aglutinación en tubo.....	41
3.5.3.3 Prueba de antígeno brucelar amortiguado o de tarjeta.....	42
3.5.3.4 Prueba de ELISA para la detección de Ac sericos contra B. abortus.....	43
4.- PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	45
5.- OBJETIVOS.....	46

6.- MATERIAL Y METODOS.....	47
6.1.- Material biológico.....	47
6.2.- Material.....	49
6.3.- Técnicas.....	50
6.3.1.- Prueba cualitativa en placa del V.D.R.L.....	50
6.3.2.- Prueba cuantitativa del V.D.R.L.....	51
6.3.3.- Prueba rápida de aglutinación en placa para Ac de Brucella (R de Huddleson).....	52
7.- RESULTADOS.....	54
8.- DISCUSION.....	69
9.- CONCLUSIONES.....	72
10.- COMENTARIOS.....	73
11. BIBLIOGRAFIA.....	75

LISTA DE ABREVIATURAS.

Ac	- Anticuerpos.
ACD	- Acido-cítrico-citrato trisodico-dextrosa.
ADN	- Acido desoxirribonucleico.
Ag	- Antígeno.
ART	- Prueba de Reaginas Automatizadas.
CPD	- Acido-cítrico de sodio difosfato de sodio-dextrosa.
ELISA	- Enzima Ligada a un Inmunoadsorbente.
FTA-abs	- Prueba de Absorción de Ac fluorescentes.
HIV	- Virus de Inmunodeficiencia Humana.
HTOLV	- Hospital de Traumatología y Ortopedia Lomas Verdes.
IMSS	- Instituto Mexicano del Seguro Social.
Kg	- Kilogramos.
LCR	- Líquido Cefalorraquídeo.
ml	- Mililitros.
MO	- Microorganismos.
MHA-TP	- Ensayo de hemaglutinación de <i>Treponema pallidum</i> .
OMS	- Organización Mundial de la Salud.
RPR	- Prueba en tarjeta de Reaginas Plasmáticas Rápidas.
SIDA	- Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida.
TPI	- Prueba de Inmovilización de <u><i>Treponema pallidum</i></u> .
VDRL	- Prueba del Venereal Disease Research.
um	- Micras.

LISTA DE TABLAS.

	PAG
1. Historia clínica realizada a los posibles donadores	10
2. Especie de Treponemas patogenos para el humano	13
3. Características biológicas del Treponema pallidum	15
4. Curso de la sífilis no tratada	21
5. Pruebas serológicas para sífilis	22
6. Pruebas no treponémicas y treponémicas: porcentaje de efectividad en los diferentes estadios	28
7. Especies de Brucella	30
8. Características diferenciales de las especies del género Brucella y sus biotipos	32
9. Distribución mundial de I Brucella	34
10. Patogenia de la Brucelosis	36
11. Pruebas serológicas para la brucelosis	40
12. Interrogatorio clínico para donantes	48
13. Total de donadores de sangre captados de agosto de 1989 a julio de 1993, en el H.T.O.L.V	56
14. Donadores de sangre seropositivos a las pruebas de VDRL y r. Huddleson captados en el banco de sangre del H.T.O.L.V de agosto de 1989 a julio de 1993.	58
15. Frecuencia de títulos seropositivos a Huddleson en sangre captada en el banco de sangre del H.T.O.L.V de agosto de 1989 a julio de 1993.	61
16. Frecuencia de títulos seropositivos a V.D.R.L en donadores de sangre captados en el banco de sangre en el H.T.O.L.V de agosto de 1989 a julio de 1993.	62
17. Seropositivos a la prueba de V.D.R.L con títulos mayores o iguales a 1:4 en donadores de sangre del H.T.O.L.V de agosto de 1989 julio de 1993.	67
18. Seropositivos a la prueba de Huddleson con títulos mayores o iguales a 1:80 en donadores de sangre del H.T.O.L.V de agosto de 1989 a julio de 1993.	69

LISTA DE FIGURAS.

	PAG
1. Fluorescencia de las espiroquetas en la prueba FTA-ABS, con suero de pacientes sífilíticos.	12
2. Microfotografía electronica de la cepa Reiter de <i>Treponema pallidum</i> .	14
3. Número de casos notificados por entidad federativa en el mes de diciembre de 1992, en México.	18
4. Número de casos notificados por entidad federativa en el mes de diciembre de 1992, en México.	35
5. Donadores de sangre captados en el H.T.O.L.V en el periodo de agosto de 1989 a julio de 1993.	57
6. Frecuencia de seropositividad y seronegatividad a VDRL y Huddleson en donadoresde sangre del H.T.O.L.V de agosto de 1989 a julio de 1993.	59
7. Frecuencia de sueros positivos y negativos a VDRL y Huddleson de donadores en el banco de sangre del H.T.O.L.V.	60
8. Frecuencia de títulos en sueros positivos a VDRL en donadores de sangre del H.T.O.L.V de agosto de 1989 a julio de 1993.	63
9. Frecuencia de títulos en sueros positivos a Huddleson en donadores de sangre del H.T.O.L.V de agosto de 1989 a julio de 1993.	64
10. Títulos en sueros seropositivos a VDRL de donadores de sangre en el H.T.O.L.V de agosto de 1989 a julio de 1993.	65
11. Títulos en sueros seropositivos a Huddleson de donadores de sangre en el H.T.O.L.V de agosto de 1989 a julio de 1993.	66

RESUMEN.

Debido a que en los bancos colectores de sangre se han localizado unidades sanguíneas contaminadas con Treponema pallidum y Brucella abortus, en donadores altruistas, es importante realizarle estudios a dichas unidades de sangre, por lo que el presente estudio se realizó para determinar la frecuencia de anticuerpos de Brucella abortus y anticuerpos anticardiolipina en donadores de sangre que acudieron al banco de sangre del Hospital de Traumatología y Ortopedia Lomas Verdes del I.M.S.S. en el período comprendido del 1 de agosto de 1989 al 31 de julio de 1993. Se estudiaron un total de 25974 donadores, encontrándose 655 de ellos positivos a alguna de las dos pruebas, del total de positivos 2.52 %, el 1.86 % correspondió a R Huddleson (Brucella abortus) y el restante 0.66 % a V.D.R.L. (Treponema pallidum). Al parecer los meses de noviembre es cuando predomina la mayor frecuencia de seropositividad a cualquiera de las pruebas.

Al realizar los criterios de corte, un título de 1:80 en la prueba de Huddleson y 1:4 para V.D.R.L. para determinar cuales unidades de sangre eran realmente infectocontagiosas, la frecuencia de unidades de sangre contaminadas con Brucella abortus disminuyo al 1.3 % y la frecuencia de Treponema pallidum a un 0.33 %.

INTRODUCCION.

Nunca ha sido difícil para la humanidad comprender que la sangre es una de las cosas que hacen la vida posible.

Aún en la actualidad hay gente que cree que la sangre se relaciona con la vida más íntimamente que otras partes del cuerpo y que las características humanas pueden transferirse de un hombre a otro al transfundirse sangre. Sin embargo, las propiedades reales de la sangre son mucho más sorprendentes e incluso más asombrosas que las fantasías mitológicas acerca de ellas, la sangre no es sinónimo de vida, ni la parte del hombre que determina su carácter y personalidad.(6)

El banco de sangre es el encargado de recolectarla y distribuirla para ser utilizada en transfusiones para pacientes que requieran de ella.

Esta recolección de sangre se realiza mediante la donación altruista de personas que requieren cubrir ciertos requisitos para poder ser tomados como tal, como se sabe esta no puede ser comercializada, ya que es un delito. Esta sangre recolectada debe estar libre de agentes causantes de enfermedades de transmisión sanguínea, ya que será utilizada en pacientes que la requieran, y en su mayoría son personas con una defensa inmunológica baja, y mal estado de salud que en ciertas circunstancias pueden causarle un mal mayor, en lugar de una mejoría que es la finalidad de la transfusión.(27)

Con el fin de evitar la transmisión de enfermedades infectocontagiosas, un grupo de trabajo sobre normalización de productos sanguíneos humanos y sustancias afines perteneciente a la Organización Mundial de la Salud, estimó que como la calidad de los materiales de origen es importante para la calidad de los productos acabados, las

normas deben abarcar todas las fases, desde la toma de esos materiales hasta la inspección de la calidad del producto acabado.(27)

No podrá tenerse confianza en un producto a menos que se cumplan las normas correspondientes en cada fase, y toda tentativa de disminuir esas normas repercute enormemente en la inocuidad del producto acabado. Se recomienda, por lo tanto, que estas normas se apliquen en su totalidad.(27)

Las autoridades sanitarias nacionales establecen normas para evitar la transmisión de enfermedades tales como: **SIDA, Hepatitis, Brucelosis, Sífilis, Tripanosomiasis, Mononucleosis Infecciosa, Herpes y paludismo** en los receptores a partir de la población de donantes. Esto se logra a través de pruebas de laboratorio que se practican en las muestras obtenidas para la evaluación propia del donante. Los resultados de las pruebas sirven para garantizar la inocuidad de todos los componentes que se elaboran a partir de unidades de sangre total, en caso de obtener resultados positivos se adoptan las disposiciones necesarias para la eliminación del material potencialmente infeccioso mediante la incineración.(27,10)

En este trabajo nos basaremos en la detección de dos de estas enfermedades infecciosas como son **SIFILIS Y BRUCELOSIS** en las unidades de sangre captadas en el banco de sangre del Hospital de Traumatología y Ortopedia Lomas Verdes en el período comprendido del 1 de agosto de 1989 a 31 de julio de 1993.(10)

1. GENERALIDADES DEL BANCO DE SANGRE.

El término banco de sangre es usado para describir los diversos componentes del sistema de almacenamiento de sangre humana, los cuales difieren en tamaño, organización y función.

En nuestro país se funda el primer banco de sangre en 1955 por el doctor Ricardo Kichner Caballero, el cual recolectaba la sangre en matraces de vidrio y evitaba la coagulación de la sangre desfibrinando con perlas de vidrio, en 1958 aparecen en México los frascos de cristal al vacío con anticoagulante ACD (ácido cítrico-citrato trisódico-dextrosa) los cuales eran desechables al igual que los equipos de sangría y aplicación.

En 1962 se inicia el uso de las bolsas de plástico utilizando como anticoagulante ACD y al pasar los años se introduce el CPD (ácido cítrico-citrato de sodio difosfato de sodio-dextrosa), este mismo año inicia sus labores la oficina de control de bancos de sangre dependiente de la secretaria de salud y asistencia, y se publica en el diario oficial el primer reglamento Mexicano de bancos de sangre (5,35)

1.1 RECOMENDACIONES PARA LA SELECCION DE DONADORES.

De acuerdo con las disposiciones legales, los donadores deben cubrir los siguientes requisitos:

1. Edad de entre 18 y 55 años
2. Tener más de 60 días de su ultima donación.
3. Un peso mínimo de 55 kilogramos.
4. Un pulso de entre 70 y 100 pulsaciones por minuto.

5. Presión arterial entre 110/70 y 130/90.
6. Salir negativo a todos los exámenes de laboratorio.
7. No ser homosexual, bisexual, prostituta, drogadicto o promiscuo.
8. No se aceptan donadores en estado de ebriedad ni con tatuajes recientes.
9. Deben tener una hemoglobina mínima de 14 g/dl en mujeres y 14.3 g/dl en hombres.(10,23)

1.2. SELECCION DE DONADORES.

Cuando los donadores acuden por primera vez, son atendidos por una recepcionista que les explica el procedimiento. La selección inicial, comienza hasta que el donador proporciona los siguientes datos:

- a. Información e identificación personal.
- b. Historia clínica preliminar relativa a estado general de salud, y buen estado de las venas.
- c. Si no existen contraindicaciones (venas en mal estado o mujeres menstruando) se toma una muestra piloto sanguínea de 10 ml que se dividen en 2 tubos uno para obtención de suero de donde se realizan las pruebas de VDRL, Huddleson Y ELISA para antígeno de Australia y HIV. El otro tubo con anticoagulante para la cuantificación de la hemoglobina y tipificación de grupo sanguíneo.

Estas muestras se rotulan con los datos del donador nombre y número de solicitud.

- d. Si en la evaluación de hemoglobina los valores son los aceptados 14 g/dl y 14.3 g/dl para mujeres y hombres respectivamente, se inicia la evaluación del posible donador por el médico, este elabora una historia clínica detallada y practica un examen físico cuyos resultados serán objeto de registro personal (tabla 1) el donante firmará la autenticidad de sus respuestas teniendo al médico como testigo.

Si el médico considera que el donante esta sano, éste ingresa en la sala de obtención de sangre, donde se aplicará el procedimiento para obtener una unidad de sangre (400 ml aproximadamente)

- e. El personal encargado de la obtención de sangre, etiquetará la bolsa con los siguientes datos: número de bolsa, el cual es el mismo que posee la muestra piloto, nombre del donador, cantidad de hemoglobina reportada del donador y su grupo sanguíneo, esta sangre es almacenada en un refrigerador a 4 °C.

Esta sangre no puede ser tomada para transfusiones hasta que se le realizan todos los exámenes de laboratorio.

- f. Las muestras piloto son llevadas al módulo de pruebas especiales donde se le realizan nuevamente la tipificación sanguínea y las pruebas de VDRL, HIV, Huddleson Y Antígeno Australia (hepatitis).

Si resultan negativas a todas las pruebas se coteja que el número de bolsa y los datos que esta posee concuerden con los datos de la muestra piloto: nombre, grupo sanguíneo y posteriormente se sella con un logotipo de sangre segura negativa a VDRL, Hepatitis, Brucelosis y SIDA y se traslada al banco de sangre modulo de transfusiones para su utilización.(10,23)

TABLA N° 1.- HISTORIA CLINICA REALIZADA A LOS POSIBLES DONADORES.(10)

ANTECEDENTES DE IMPORTANCIA				
1. Lugar de origen			SI NO	
2. Lugar de residencia				
3. Edo. actual de salud				
4. Donaciones previas				
5. Fecha de la ultima				
6. Diabéticos	SI	NO	43. Enf transmisión sexual 44. Homosexualidad 45. Bisexualidad 46. Heterosexualidad 47. Contacto con prostitutas 48. Neoplasias 49. Traumatismos	
7. Alérgicos				
9. Enf crónicas				
10. Quirúrgicos				
11. Sangrados				
12. Transfusiones			EXPLORACION FISICA	
13. Ictericia				SI NO
14. Hepatitis			50. Hora	
15. Convivencia con Enf de hepatitis			51. T.A	
16. Tatuajes			52. F.C	
17. Acupuntura			53. F.R	
18. Perforaciones			54. Pulso	
19. Tx Dental			55. Temperatura	
20. Brucelosis			56. Peso	
21. Paludismo			57. Talla	
22. Enf de chagas			58. Cabeza	
ANT GINECO-OBSTETRICOS			59. Cavidad oral	
	SI	No	60. Adenomegalias	
23. Embarazos			61. Tórax	
24. Partos			62. Hígado	
25. Cesáreas			63. Bazo	
26. Abortos			64. Piel y anexos	
27. F.U.R			65. Señas particulares	
28. F.U.P			66. Edo de venas	
29. E.H.R.N			OBSERVACIONES	
30. Lactancia actual			FIRMA DEL MEDICO	
31. Medicamentos (ult mes)			Acepto voluntariamente mi registro como donador de sangre y declaro haber respondido con toda veracidad al interrogatorio clínico	
32. Vacunas (ult año)			FIRMA DEL DONANTE.	
33. Infecciones recurrentes				
34. Gripe, Diarreas (ult sem)				
35. Fiebre sin causa aparente				
36. Sudoraciones nocturnas				
37. Pérdida de peso reciente				
38. Ingesta de alcohol rec				
39. Alcoholismo				
40. Desvelos				
41. Farmacodependencia				
42. No. de parejas sexuales				

2. - GENERALIDADES DE SÍFILIS.

2.1.- ANTECEDENTES HISTORICOS.

Los aspectos históricos de la sífilis constituyen una lectura fascinante y su impacto, parece destinado a continuar.(18)

La sífilis fue reconocida por primera vez en Europa hacia fines del siglo XV. En 1514 aparecieron descripciones exactas de la entidad, en ese momento para los médicos de la época resultan claros varios hechos importantes: 1) es una entidad nueva. 2) cursa en varios estadios. 3) se transmite fundamentalmente por vía sexual. 4) es completamente distinta a la clásica gonorrea descrita por Galeno. 5) puede tratarse con mercurio. 6) hay transmisión "in útero".(18)

En 1563 el nombre de sífilis es introducido a la lengua inglesa. Phillipe Ricord demostró más allá de toda duda, que la gonorrea y la sífilis eran entidades completamente distintas, introdujo el uso del espéculo vaginal para examen ginecológico y mediante él, mostrar las lesiones. En 1905 el parasitólogo alemán Fritz Schaudinn logró visualizar el agente causal en exudados de lesiones de sífilis secundarias, el elusivo microorganismo fue llamado Spirocheta pallida por la dificultad de tomar los colorantes. En 1906 el científico austriaco Kart Landsteiner introdujo el campo oscuro para examen directo, con lo cual fue definitivamente posible el diagnóstico por visualización directa del microorganismo y estudio de sus características distintivas de morfología y movilidad. Bordet utilizando un extracto de hígado de niños mortinatos de sífilis logró una técnica para diagnóstico que se consideró específica. Hacia 1906 August Von Wassermann demostró que la prueba era de gran utilidad ya que solo los sueros de personas sífilíticas daban positivos a la reacción, no así los normales. En 1943 el médico americano Jonh Friend Mahoney, decide tratar a cuatro marinos afectados de sífilis secundaria con la penicilina descubierta por Alexander Fleming, el éxito de este

tratamiento no puede ser más espectacular, una droga absolutamente inocua, de simple aplicación cura la sífilis en el término de 8 días.(4,18,44)

2.2.- ETIOLOGIA.

El agente causal de la sífilis es el Treponema pallidum (fig. 1) que pertenece a la familia Spirochaetaceae, contiene 3 patógenos para el humano (tabla 2) y por lo menos 6 no patógenos. El patógeno es llamado Treponema no cultivable y el no patógeno Treponema cultivable, los patógenos son morfológicamente semejantes, diferenciados solamente por epidemiología, manifestaciones clínicas y modo de transmisión.(9,18,39)



FIGURA N° 1 FLUORESCENCIA DE LAS ESPIROQUETAS EN LA PRUEBA FTA-ABS, CON SUERO DE PACIENTES SIFILITICOS.

TABLA Nº 2.- ESPECIES DE TREPONEMAS PATOGENOS PARA EL HUMANO(42)

Microorganismo	Enfermedad humana	Características diferenciales
<u>T.pallidum</u>	Sífilis	Lesiones cutáneas en conejos.
	Sífilis endémica	No lesiones cutáneas en hámsters o cobayos.
<u>T.pertenue</u>	Frambesia o pian	Lesiones cutánea en conejos y hámsters, no lesiones cutáneas en cobayos.
<u>T.carateum</u>	Pinta o carate.	No lesiones cutáneas en conejos, hamsters ni cobayos.

T.treponema.

Enfermedades que producen en el humano y las manifestaciones características producidas en algunos animales de laboratorio.

El treponema no cultivable es un microorganismo fino, representa células delgadas, flexibles, helicoidales, unicelulares y ajustadamente enrolladas, tiene 10-13 μm de largo y 0.1-0.5 μm de ancho, presentan de 12-14 espiras, no se observan filamentos ni crestas axiales, presenta extremos puntiagudos o redondos dando el aspecto de un fino resorte.(18,28,39)

Su membrana exterior posee 3 capas que recubren los corpúsculos, su citoplasma contiene ribosomas, vacuolas del nucleóide y mesosomas, está rodeado por una membrana citoplasmática trilaminar, una capa glucopéptica, una delicada capa mucopéptica interna, una membrana lipoproteica externa y una capa externa amorfa. El MO tiene un movimiento rotatorio reptante y un movimiento sinuoso u ondulante alrededor de su centro, suele enrollarse en ovillos, formando quistes cubiertos de una envoltura impermeable mucoide.(figura 2)(28,39)

Los Treponemas virulentos, no pueden cultivarse in vitro, ahora se ha logrado el cultivo de especies virulentas en cultivos tisulares utilizando células epiteliales de conejo bajo un ambiente sin oxígeno y en presencia de agentes reductores. En este sistema se ha mantenido la virulencia, para su función necesita oxígeno y posee un sistema de transporte de electrón, sobrevive mejor en concentraciones bajas de oxígeno por lo que es más apropiado caracterizarlo como microanaerobio, su división ocurre por fisión transversal. Con técnica de inmunofluorescencia se visualizan como un conjunto con aspecto de rosario. Es uno de los MO más delicados fuera de su huésped natural vive muy corto tiempo, se han mantenido móviles en medio altamente enriquecido y específicamente definidos hasta 7 días a 35 °C y 48 horas a 37 °C, pueden mantenerse viables en nitrógeno líquido, la desecación, el calor y la humedad los destruyen rápidamente, los cambios de pH son nocivos, así como detergentes, desinfectantes, rayos ultravioleta y la temperatura de 4°C - 20 °C. (9,39,42)(tabla 3).



FIGURA N° 2 .- MICROFOTOGRAFIA ELECTRONICA DE CEPA REITER DE T. pallidum (14)

"TABLA N° 3. CARACTERISTICAS BIOLOGICAS DE TREPONEMA pallidum.(18)

LONGITUD	6 - 15 UM.
NUMERO DE ESPIRALES.	6 - 14 UM.
ANCHURA.	0.25 UM.
FIBRILLAS.	3 - 6
PERIPLASTOS.	SI
CONSTITUCION QUIMICA	PROTEINAS
	POLISACARIDOS
	2 LIPIDOS
TIEMPO DE GENERACION	33 HORAS
INFECTIVIDAD	1 - 4 MO
VIABILIDAD EN TIOGLICOLATO	22 DIAS
CONSERVACION PERMANENTE	- 70 °C
DESECACION	LO DESTRUYE
CALOR	LO DESTRUYE
HUMEDAD	LO DESTRUYE

UM:micras; MO:microorganismos: °C:centigrados.

2.3.- EPIDEMIOLOGIA.

2.3.1.- Mecanismos de transmisión.

Aunque esta enfermedad posee formas de transmisión no venéreas, en la mayoría de los casos su contagio ocurre durante el contacto sexual.(9,44) La sífilis puede adquirirse por contacto sexual, por pasaje a través de la placenta (congénito), por besos, por transfusiones de sangre o por inoculación directa accidental.(32,39)

Es necesaria la inoculación directa por contacto con una persona infectada, dado que la sobrevivencia del MO fuera del huésped es muy limitada. El contacto sexual es la forma más común de transmisión, y el sitio de inoculación habitualmente es en los órganos genitales, vagina o cuello de útero en las mujeres y pene en los hombres. La sífilis congénita continúa siendo un problema clínico en el mundo desarrollado por infección intrauterina. La transmisión por sangre o productos sanguíneos transfundidos es muy rara por el requerimiento de que todos los donantes de sangre sean sometidos a una prueba no treponémica antes de utilizar su sangre, y el MO no puede sobrevivir más de 24 a 48 horas en las condiciones de almacenamiento de la sangre en los bancos. Los médicos o el personal de laboratorio pueden infectarse por inoculación directa accidental, si no se protegen adecuadamente. (32,39,42,44)

2.3.2.- Distribución de la sífilis en el mundo.

La sífilis es una enfermedad infecciosa de los seres humanos, se encuentra distribuida mundialmente, pero en la actualidad ha disminuido, considerablemente. En los Estados Unidos de Norteamérica, el número de casos informados de sífilis ha variado en las últimas cuatro décadas, llegó a su pico durante la II Guerra Mundial, a mediados de 1940 tenía un índice de poco más de 70 por 100 000 habitantes y a su nadir a mediados de la década de 1950 con cuatro casos por cada 100 000 habitantes,

aumentó en forma notable durante el decenio transcurrido de entre 1956 y 1966 a 10 casos por 100 000 personas y permaneció estable hasta 1986

Como es típico en pacientes con otras enfermedades venéreas, las personas que adquieren sífilis a menudo son promiscuas y han tenido contacto sexual con un promedio de cinco personas durante el periodo de incubación, por lo que esta cifra estadística no es confiable ya que muchos casos, tratados en forma particular no son reportados.(15,20,39,42,44)

2.3.3.- Situación en México.

Las cifras en México, como en la mayoría del mundo disminuyen con el paso del tiempo, aunque no se toman en cuenta los casos de personas que acuden al médico particular para su tratamiento, en 1940 se reportaron 46 187 casos; en 1950 reportaron 29 178 enfermos; en 1960 hubo 23 187 pacientes; en 1970 se notificaron 10 976; en la actualidad en 1991 se presentaron 3282 casos de sífilis adquirida y 101 de sífilis congénita y en 1992 se reportaron 9878 casos de sífilis adquirida y 60 enfermos con sífilis congénita solo en el mes de diciembre se encontraron 108 casos,(figura 3)(20,33)



FIGURA N° 3 .- NUMERO DE CASOS NOTIFICADOS POR ENTIDAD FEDERATIVA EN EL MES DE DICIEMBRE DE 1992, EN MEXICO.

2.4.- PATOGENIA.

Horas o días después de que el T. pallidum atraviesa la mucosa intacta o se abre camino a través de una abrasión cutánea, ingresa en los linfáticos perivasculares y/o torrente circulatorio, se multiplica con rapidez y se disemina por todo el organismo. Los MO se multiplican cada 30 a 33 horas, las lesiones clínicas aparecen cuando se llega a una concentración de aproximadamente 1 000 000 MO por gramo de tejido. La sífilis puede dividirse en varios estadios: en a) incubación, b) primaria, c) secundaria, d) latente temprana y latente tardía y e) tardía o terciaria (tabla 4)(39,42)

El período de incubación es de 10 a 90 días, durante este período el paciente no es infectivo y las reacciones serológicas son negativas. (18)

El estadio primario, se refiere al desarrollo de la lesión primaria, en el sitio inicial de contacto el paciente manifiesta una respuesta inflamatoria a la infección, el chancro primario de Hunter caracterizado por una gran infiltración mononuclear con linfocitos predominantes, células plasmáticas y algunos escasos macrófagos y una profusa secreción de espiroquetas. El chancro cura en 3 a 6 semanas sin dejar rastro o deja una delgada cicatriz atrófica, las linfadenopatías por lo general persisten durante un lapso más prolongado. Las reacciones serológicas son positivas. (18,39,42)

Transcurrido este tiempo aparecen las lesiones secundarias de 2 a 10 semanas después de la lesión primaria. Las manifestaciones son de características y localizaciones muy variadas: parenquimatosas, constitucionales y mucocutáneas, ocurren cuando el mayor número de Treponemas está presente en el organismo, las manifestaciones también incluyen fiebre, malestar general, faringitis, anorexia, pérdida de peso y linfadenopatías generalizadas indoloras, pero la lesión clásica aparece en la piel como, lesiones maculares, maculopapulares, papulares y/o postulosas, afectan cualquier área del cuerpo en especial palmas y plantas, las pápulas se agrandan

coalescen y se erosionan, produciéndose placas incoloras, anchas, húmedas de color gris-blanco y altamente infecciosas denominadas condilomas planos. Todas las pruebas serológicas son positivas. (18,39,42)

Luego del último episodio de la enfermedad secundaria, el paciente ingresa al estadio de latencia, cuyos primeros cuatro años se consideran latentes tempranos y el período posterior latente tardío. El latente temprano es aquel en el cual una prueba de anticuerpos antitreponémicos específica es positiva, pero en el cual no hay manifestaciones clínicas y los hallazgos en el LCR y radiografías de tórax son normales, en este período puede producirse una recaída, un 90% de las recaídas puede ocurrir en el primer año, las recaídas mucocutáneas son las más comunes.

La latente tardía se asocia con resistencia a la reinfección así como con recaídas infecciosas, sin embargo la madre puede infectar al feto "in útero" y la infección puede ser transmitida por sangre contaminada transfundida.(18,39)

La sífilis tardía se refiere a la enfermedad terciaria, las lesiones son severas y de tipo destructivo, los cuadros son cardiovasculares, nerviosos o gomosos benignos.(18,42))

TABLA N° 4 .- CURSO DE LA SIFILIS NO TRATADA.

ESTADIO.	DURACION.	SINTOMAS.
INCUBACION.	10 A 90 DIAS	SIN SINTOMAS
SIFILIS PRIMARIA	1 A 5 SEMANAS	CHANCRO.
SIFILIS SECUNDARIA	2 A 6 SEMANAS	CONDILOMAS.
LATENTE TEMPRANO	MENOS DE 1 AÑO	SIN SINTOMAS CON RECIDIVAS
LATENTE TARDIA	MAS DE 1 AÑO	SIN SINTOMAS
TARDIA O TERCIARIA	AÑOS	LESIONES SEVERAS Y DESTRUCTIVAS

Diferentes fases de la sífilis no tratada, su duración aproximada de cada una de ellas y algunos síntomas característicos.(18)

2.5..DIAGNOSTICO DE LABORATORIO.

El diagnóstico de la enfermedad treponémica es complicado ya que con frecuencia las manifestaciones clínicas en etapas temprana y tardía no se observan, además estas son muy diversas. Los adelantos en el campo de la serología y el de antígenos específicos modificaron las técnicas hospitalarias habituales en la serología destinada a diagnosticar la sífilis.(9,22)

Tres métodos son útiles para el diagnóstico de sífilis: 1) La visualización directa del MO: a) por medio de campo oscuro) técnica con anticuerpos fluorescentes o c) por tinciones especiales de tejidos infectados.

2) Inoculación a animales, se recomienda el conejo y el hámster para T. pallidum. 3) Demostración de reacciones serológicas típicas de sífilis. los dos tipos diferentes de anticuerpos medidos son: los Ac reagínicos no antitreponémicos inespecíficos (VDRL, RPR Y ART) y los Ac antitreponémicos específicos (FTA-abs, TPHA, MHA-TP Y TPI) (tabla 5) (4,9,16,39,42)

TABLA N° 5 .- PRUEBAS SEROLOGICAS PARA SIFILIS.

ANTIGENO	FUENTE DE ANTIGENO	PRUEBAS
REAGINA NO TREPONEMICA	EXTRACTO DE TEJIDO (CARDIOLIPINA-LECITINA-COLESTEROL)	FIJACION DE COMPLEMENTO, FLOCULACION (VDRL,HINTON,RPR,ART)
TREPONEMICO	T.pallidum cepa Raiter	FCPR
	T. pallidum	TPI, FTA-ABS

VDRL: Prueba del venérea disease research laboratory
 RPR: Prueba en tarjeta de reagentas plasmáticas rápidas
 ART: Prueba de reagina automatizada
 FTA-ABS: Prueba de absorción de ac fluorescentes.
 TPI: Prueba de inmovilización de T. pallidum.

2.5.1. TECNICAS DE VISUALIZACION DIRECTA DEL M.O.

En la sífilis primaria, secundaria y congénita el diagnóstico consiste en la demostración de la presencia de treponemas en la lesión. El examen en campo oscuro es el método de laboratorio más rápido y directo para establecer el diagnóstico. El

examen de un trasudado seroso de lesiones húmedas como un chancro primario, condiloma plano o placa mucosa es el más adecuado. El resultado negativo del examen, no excluye necesariamente el diagnóstico de sífilis, ya que las lesiones en estadios tardíos de la enfermedad, pueden obtenerse relativamente pocos microorganismos.(11,39,44)

2.5.2.- Técnicas de aislamiento.

Como los treponemas patógenos no pueden cultivarse in vitro, son limitados los conocimientos sobre sus características de cultivo. Los M.O sobreviven de 1 a 6 días al retirarlos del tejido infectado. Los medios de mantenimiento como el Nelson contienen suero de conejo; agentes reductores (cisteína, tioglicolato y glutatión) vitaminas, cofactores, aminoácidos y sales.(38)

La inoculación en animales es el único medio disponible actualmente para su aislamiento, existe más experiencia con aislamiento en conejos, se inocular la parte inferior del testículo de un conejo con 0.5 a 3 ml del material de prueba, los conejos deben mantenerse en un ambiente frío (17 °C) y deben ser evaluados serológicamente antes para excluir una infección concurrente o previa y recibir alimentos sin antibióticos.Después de 3 semanas los testículos y/o ganglios linfáticos regionales de los conejos deben ser trozados y mezclados con un buffer adecuado en una atmósfera con 5 a 10% de CO₂, sacudiéndose durante 30 minutos. El material se puede examinar por campo oscuro o Ac fluorescentes en busca de treponemas, si es negativo debe inyectarse en otro grupo de conejos con dos pasajes por lo menos.(9,38,39)

2.5.3.- Métodos serológicos.

Las pruebas serológicas son esenciales para diagnosticar la enfermedad treponémica. Hay dos tipos de reacciones serológicas: a) las pruebas no treponémicas que miden Ac de Wasserman o reaginicos. como son: VDRL, RPR y ART y las pruebas treponémicas que miden Ac específicos de Ag treponémicos como son la prueba FTA-ABS, TPI, Prueba de Hemaglutinación.(38)

Las pruebas no treponémicas son paralelas a la infección. Los títulos son altos durante la infección clínica y mucho menores durante la infección subclínica (latentes) o después de la terapia antibiótica. Las pruebas treponémicas pueden no hacerse positivas hasta mucho después de las manifestaciones clínicas iniciales; los títulos pueden seguir siendo altos durante la latencia y después del tratamiento (tabla 6). Los falsos positivos biológicos son frecuentes en pacientes con enfermedades crónicas como: Lepra, paludismo, enfermedades del colágeno y problemas autoinmunes.

La recomendación más reciente de la OMS es la selección de sueros positivos con la prueba de VDRL o ART o RPR y estos ser confirmados con la prueba de FTA-ABS.(9)

2.5.3.1. Pruebas no treponémicas.

2.5.3.1.1 Prueba cualitativa en placa del VDRL.

FUNDAMENTO.La prueba de floculación en placa del VDRL, es la más sensible y la menos específica; esta prueba se basa en la floculación visible del antígeno artificial (combinación de colesterol cubierto de lipoide, con o sin cardiolipina) en presencia del Ac del suero del paciente.(29,34)

LECTURA.FORMA DE REPORTAR.

No existen grumos o ligera floculación.	Negativo
Pequeños grumos	Débil positivo
Grumos medianos y grandes	Positivo.

COMENTARIO.Prueba sencilla y rápida, no requiere de equipo y se realiza en un tiempo aproximado de 15 minutos, dependiendo de la cantidad de sueros problemas.(22,26)

2.5.3.1.2 Pruebas rápidas de Reagina.

FUNDAMENTO.Las pruebas rápidas de reagina se hacen con suero o plasma no inactivado, simplificando así el procesamiento de la muestras.

El Ag usado es una suspensión de Ag VDRL modificado con cloruro de colina y EDTA añadidos; el Ag de prueba RPR de tarjeta también contiene carbón para hacer posible la lectura macroscópica.(9)

2.5.3.1.3 Prueba cuantitativa automatizada de reagina (ART)

LECTURA:

Reactivo	Granulación y mayor densidad del depósito de carbón
No reactivo	Distribución uniforme de las partículas de carbón; comparar con controles no reactivos.

Los resultados se expresan en términos de la mayor dilución que da resultado positivos.

La ART para la sífilis es afectada por la temperatura ambiente. Para asegurar resultados de prueba seguros y reproducibles, las pruebas deben hacerse dentro de los límites de temperatura ambiente de 24 a 29 °C. (9,24,34)

COMENTARIO. Esta es una prueba que requiere de equipo especial, por lo que no cualquier laboratorio la puede realizar.(34)

2.5.3.1.4 Prueba RPR en tarjeta con suero: prueba cuantitativa.

LECTURA. Leer las reacciones en estado húmedo con una luz de elevada intensidad, leer la prueba sin aumento. A fin de diferenciar mejor el suero mínimamente reactivo del no reactivo inclinar la tarjeta a unos 30 grados de la horizontal y rotar manualmente.

LOS RESULTADOS SE REPORTAN DE LA SIGUIENTE MANERA:

Aglutinación marcada o intensa	Reactivo
Aglutinación ligera pero definida	Minimamente reactiva
Sin aglutinación	No reactivo

Informar los resultados en términos de la mayor dilución que produce reactividad.

COMENTARIO. Es una prueba que no requiere de equipo especial, se realiza en un tiempo máximo de 15 minutos dependiendo del número de muestras y cualquier laboratorio la puede realizar.(9,34,41)

2.5.3.2. Pruebas treponémicas.

2.5.3.2.1 Prueba de absorción de anticuerpos fluorescentes FTA-abs.

FUNDAMENTO. El antígeno del equipo y el suero problema se unen en un portaobjetos, luego los Ac fijados sobre este Ag se revelan con un suero antiglobulina marcado con fluoresceína.

Para eliminar los Ac de grupos no específicos, se absorben los sueros por medio de un extracto proteico de treponema de Reiter (sorbente).

LECTURA

1. -Verificar ausencia de fluorescencia en los testigos: suero negativo e inespecífico.
2. -Reacción negativa: No hay fluorescencia o hay un ligero teñido verde en los treponemas.
3. -Reacción positiva: fluorescencia más o menos intensa (de 1+ a 4+)

COMENTARIO. Esta es una técnica, que se utiliza para la confirmación de casos positivos reportados en las pruebas no treponémicas, pero tiene la característica de requerir equipo especial y costoso por lo que no cualquier banco de sangre lo posee.(23,41)

TABLA N° 6 .- PRUEBAS NO TREPONEMICAS Y TREPONEMICAS: PORCENTAJE DE EFECTIVIDAD EN LOS DIFERENTES ESTADIOS.(39)

PRUEBAS	ESTADIOS		
	PRIMARIO	SECUNDARIO	TARDIO
<i>No treponémicas (reaginas)</i>			
Prueba del Venereal Disease Research (VDRL)	70%	99%	1%
Prueba en tarjeta de reaginas plasmáticas rápidas (RPR)	80%	99%	0%
Prueba de reaginas automatizada (ART)	80%	99%	0%
<i>Treponemicas específicas</i>			
Prueba de absorción de Ac fluorescentes (FTA-abs)	85%	100%	98%
Ensayo de hemaglutinación de T <u>pallidum</u> (TPHA, MHA-TP)	65%	100%	95%
Prueba de inmovilización de I <u>pallidum</u> (TPI)	50%	97%	95%

Estadios: Etapas patogénicas de la sífilis. %: Porcentaje de positividad de enfermedad en 100 casos analizados.

3.- GENERALIDADES DE BRUCELLA.

3.1.- ANTECEDENTES HISTORICOS.

La brucelosis es una infección del grupo de las zoonosis que afecta a los animales domésticos particularmente bovinos, cabras y cerdos, y que en determinadas circunstancias puede transmitirse al hombre.(30)

El primer agente causal de la brucelosis fue descubierto por Bruce en 1886, en el bazo de personas muertas de esa infección y debió su nombre a Mielita (miel), el nombre romano de la isla de Malta donde fue reconocida la enfermedad causada por Brucella melitensis.(1,42)

En 1897 Wright y Semple desarrollaron un método de diagnóstico basado en la propiedad aglutinante del suero sanguíneo de enfermos, transcurrieron casi 20 años desde que se descubrió la Brucella (1886) hasta que fue encontrada la forma en que el hombre adquiría la infección (1905).(30)

Simultáneamente con las primeras observaciones de brucelosis humana el Dr Bang de Dinamarca, llevó a cabo estudios sobre la infección bovina presentando su notable trabajo sobre etiología del aborto contagioso en 1897, el agente fue llamado bacilo de Bang o Brucella abortus.(30,42)

El tercer miembro del grupo de las Brucellas fue aislado por Traum en 1914 cultivando órganos de fetos abortados por cerdas, Brucella suis.(30,42)

Actualmente se reconocen seis especies: Brucella melitensis, B. abortus, B. suis, B. neotomae, B. ovis y B. canis.(42)

3.2.- ETIOLOGIA.

La brucelosis es una de muchas enfermedades que, además de parecerse mucho, son zoonosis del animal al hombre y viceversa, son pues zoonosis, afectan por igual a los animales domésticos y al hombre.(1,12)

La enfermedad es causada por un bacilo gram negativo del género Brucella que consiste en seis especies donde cuatro son asociadas con la brucelosis humana(B. melitensis, abortus, suis y canis.) y dos no se sabe que sean patógenas para el humano(B. neotomas y ovis)(tabla 7).(9,12,25,28,42)

TABLA N° 7 .- ESPECIES DE BRUCELLA.(1)

BRUCELOSIS HUMANA	RESERVORIO ANIMAL	AGENTE BRUCELAR
Brucelosis melitocócica o fiebre de Malta	Ganado ovino caprino	B melitensis
Brucelosis de Bang o fiebre ondulante	Ganado bovino	B abortus
Brucelosis de origen porcino o fiebre ondulante suina de Traum	Ganado porcino sobre todo hembras grávidas	B suis
Brucelosis de origen canino	Perros	B canis
No afecta al humano	Ratas	B neotomas
No afecta al humano	Ganado ovejas	B ovis

B:Brucella.

La especie individual es distinguida por su hospedero, propiedad de crecimiento, reacciones bioquímicas y composición de la pared celular. Las brucellas son cocobacilos o bastones pleomórficos, cortos y delgados, con extremos redondeados, se sitúan aisladamente, en parejas o pequeños grupos. Sus dimensiones son de 0.6 a 1.5 μm de largo y de 0.5 a 0.7 μm de grosor, son gram negativas, inmóviles no esporuladas ni capsuladas. El contenido de guanina y citosina en el ADN del nucleóide es del 56 al 58%. (13,25,28,42)

Crecen en condiciones aerobias a menudo con ayuda de CO_2 pero no crecen bajo estrictas medidas de anaerobiosis, crece lentamente, requiere 25% de CO_2 en primo aislamiento y 10% de CO_2 en los pases subsiguientes en medio de cultivo agar dextrosa, agar tripticasa y agar sangre. (tabla 8). Las colonias son pequeñas, redondas con superficie lisa y brillante y borde entero. La temperatura óptima de crecimiento es de 37 °C con un rango de 10 °C - 40 °C, el pH óptimo tiene un rango de 6.6 - 7.4, las colonias aparecen en el agar después de 2 - 3 días de incubación. Se caracterizan por su resistencia y elevada viabilidad, sobreviven por largo tiempo a temperaturas bajas. En el suelo, orina, heces fecales de animales, polvo de heno viven hasta 4.5 meses, en el hielo, nieve, mantequilla y requesón hasta 4 meses y en la carne 20 días, son sensibles a temperatura de pasteurización y sustancias desinfectantes. (9,13,25,28,42)

TABLA Nº 8 .- CARACTERISTICAS DIFERENCIALES DE LAS ESPECIES DE BRUCELLA Y SUS BIOTIPOS. (3)

Especie	Bio- tipo	Necesidad de CO ₂	Producción de SH ₂	Crecimiento con colorantes ^a			Aggluti- nación con sueros mono- específicos ^e	Lisis por lagos TS en GSH ^f	Pruebas metabólicas ^g				Reservorios más frecuentes
				Tianina a b c	Fucsina básica b c				Ácido glú- támico	Orni- tina	Ribosa	Lisina	
<i>Br. melitensis</i>	1	—	—	—	+	+	—	+	+	—	—	—	Oveja, cabra Oveja, cabra Oveja, cabra
	2	—	—	—	+	+	—	+	+	—	—	—	
<i>Br. abortus</i>	1	+	+	—	+	+	+	+	+	—	+	—	ganado vacuno
	2	+	+	—	+	+	+	+	+	—	+	—	ganado vacuno
	3	+	+	—	+	+	+	+	+	—	+	—	ganado vacuno
	4	+	+	—	+	+	+	+	+	—	+	—	ganado vacuno
	5	—	—	—	+	+	—	+	+	—	+	—	ganado vacuno
	6	—	—	—	+	+	—	+	+	—	+	—	ganado vacuno
	7	—	—	—	+	+	—	+	+	—	+	—	ganado vacuno
	8	—	—	—	+	+	—	+	+	—	+	—	ganado vacuno
<i>Br. suis</i>	1	—	++	+	+	+	+	—	—	+	+	+	cerdos
	2	—	—	+	+	+	+	—	—	+	+	+	cerdos, liebre
	4	—	—	+	+	+	+	—	—	+	+	+	cerdos raro (Ranger Levans)
<i>Br. neotomae</i>	1	—	+	—	—	+	+	—	+	—	(+ o —)	+	rata del desierto (Pia- zom lepta Thomas)

^a La diferenciación de las especies se hace en medio de Albini en agar-triploita con la siguiente gama de diluciones del colorante: tianina, 1:25 000 (a), 1:50 000 (b), 1:100 000 (c); y fucsina básica, 1:50 000 (b), 1:100 000 (c). Con otros medios de cultivo pueden ser preferibles otras diluciones. La interpretación de los resultados se ha de comparar con las cepas de referencia de cada especie.

^b En el cuadro se mencionan cuatro sustratos que permiten diferenciar tres especies. No obstante, para el examen de las cepas atípicas conviene utilizar todos los sustratos.

^c A = abortus; M = melitensis.

^d Prueba generalmente positiva, pero pueden encontrarse variedades negativas.

^e Prueba generalmente negativa, pero pueden encontrarse variedades positivas.

3.3.- EPIDEMIOLOGIA.

3.3.1.- Mecanismos de transmisión.

La infección por Brucella tiene una distribución mundial, se informan 500 000 casos anuales.(25). Brucella causa una enfermedad moderada o asintomática en su hospedero natural, el M.O. tiene una predilección por organismos ricos en eritritol que es metabolizado por muchas cepas de Brucella.(25)

Las brucelosis son, pues, antropozoonosis, enfermedad que afecta por igual animales y humanos, variando su difusión geográfica y especies de Brucella causales en relación al tipo de ganado principal en los diversos países.(tabla 9)(1)

La infección humana es resultado directo del contacto con animales infectados y por este motivo, es necesario considerar la enfermedad en animales.

Desde luego la brucelosis es una enfermedad de origen rural y profesional, los casos urbanos son raros desde que se consume leche pasteurizada o hervida, algunos casos se presentan al consumir leche fresca o queso fresco, los ganaderos y los matarifes la adquieren al cortar la carne de ganado infectado y los veterinarios, ganaderos y vaqueros al asistir a partos de vacas y manipular los fetos, el personal de laboratorio también corre riesgos significativos de infección por contacto directo o inhalación del M.O..(1,25,28,42,44)

3.3.2.- Distribución de la Brucelosis en el mundo.

La importancia en la salud pública en muchos países radica en las significativas pérdidas económicas por aborto de animales, así como la baja en la productividad de carne y leche, la enfermedad en el humano no es contagiosa y causa muy pocas muertes, el problema más considerable es la debilidad ocasionada.(12,37)

Por ejemplo en 1949 las cifras de incidencia en los países más afectados fue: Italia 9420 casos; España 5484; Estados Unidos 4124; Francia 1400; México 1369 y Argentina 3500 casos.

Para datos más actuales nos basaremos en los de Estados Unidos que han disminuido de 3510 en 1950 a 183 en 1980, la incidencia anual media para el período 1976-1980 fue de 221 casos, los casos registrados en este país se han relacionado con la ingestión de productos de leche no pasteurizada y carne procesada.(1,30,37,44)

TABLA N° 9 .- DISTRIBUCION MUNDIAL DE LA BRUCELLA.(1)

AGENTE CAUSAL	DISTRIBUCIÓN GEOGRAFICA
<u>Brucella melitensis</u>	Países Mediterráneos (España; Italia; Francia; Marruecos; Grecia) también Argentina y México
<u>Brucella abortus</u>	Universal
<u>Brucella suis</u>	Estados Unidos y algunos casos en Dinamarca y Suiza

Aquí se reportan las brucellas que más afectan a la economía de los países.

3.3.3.- Situación en México.

Las cifras en México se incrementaron bruscamente en 1930 atribuida a la importación de cabras Murcianas con el propósito de mejorar las razas locales. La brucelosis ha sido encontrada en todos los estados y territorios de la República Mexicana. En 1939 a 1941 se registraron 2360 casos correspondiendo así la

tercera parte al estado de Coahuila; Guanajuato ocupó el segundo lugar; Durango el tercero y el D.F. el cuarto. Para 1941 a 1945 fueron un total de 1339 casos ocupando nuevamente Coahuila la mayor parte, seguido por Guanajuato y el D.F. En la actualidad los casos acumulados hasta el mes de diciembre de 1992 son 5958, y en los casos registrados en el mes de diciembre de 1992 Nuevo León y Guanajuato ocupan el primer lugar con 52 casos seguidos por Michoacán y Coahuila con 26 casos cada uno.(Figura 4) (30,35,33)

La verdadera incidencia, sin embargo, es desconocida si consideramos que sólo se ha hecho referencia a casos clínicos sin incluir casos no diagnosticados, subclínicos e inaparentes.(30,33)



FIGURA N° 4 .- NUMERO DE CASOS NOTIFICADOS POR ENTIDAD FEDERATIVA EN EL MES DE DICIEMBRE DE 1992, EN MEXICO.(33)

3.3.4.- Prevención.

Para poder prevenir la diseminación de estas enfermedades se toman las medidas siguientes: a) Erradicación de la enfermedad en rebaños de bovinos, caprinos y cerdos. b) precaución adecuada en el manejo de los animales infectados, en la medida posible evitando el contacto. c) vacunación de los animales y uso de ropa especial. d) pasteurización de la leche y los productos lácteos. e) desinfección de la orina y heces de los pacientes y forma adecuada de desecho. f) tratamiento de las personas enfermas con aureomicina y cloromicetina.(13)

3.4.- PATOGENIA.

La patogenia de la brucelosis es influido por el organismo infectado, siendo diferente en humanos y en animales.(tabla 10)

TABLA N° 10 .- PATOGENIA DE LAS BRUCELOSIS.(12,25)

AGENTE CAUSAL	TIPO DE ENFERMEDAD	SINDROMES CLÍNICOS
B melitensis	Invasiva	Enfermedad severa efectos tóxicos.
B suis	Invasiva	Necrosis local supuración en hueso hígado, bazo.
B abortus	Moderada	Granuloma sin necrosis o supuración
B canis	Moderada	Bacteremia, linfadenopatias, esplenomegalia

B:Brucella.

El período de incubación puede ser corto como de 4 días y a veces varios meses. Es una enfermedad aguda o crónica que se manifiesta principalmente por escalofríos, fiebre, debilidad, cefaleas e inapetencia. Estos síntomas no específicos pueden acompañarse de depresión mental nerviosismo.(1,28,42)

Una vez introducidas en el cuerpo, las Brucellas pasan con rapidez de la linfa a los ganglios linfáticos regionales y a la sangre donde el organismo es fagocitado por los macrofagos y los monocitos que se localizan en los tejidos del sistema reticuloendotelial, la sangre presenta leucopenia, notable linfocitos y gran disminución de eosinófilos. Se disemina por vía hematógena por todo el organismo condicionando la aparición de complicaciones, orquitis, parotiditis, trombosis, espondilitis, artritis, dermatitis papulosa, en ocasiones con formación de flictenas.(1,19,28,36)

La respuesta histológica habitual a la infección es la formación de un granuloma, pero en algunos tejidos se producen abscesos francos, en las mujeres embarazadas puede presentarse abortos. (19)

La brucelosis es una enfermedad que puede dar recidiva prolongándose por meses o años, la aparición subsiguiente de la enfermedad clínica depende al parecer de la capacidad del huésped para restringir la multiplicación Brucellar. (19,28)

Una infección por Brucella puede dejar indicios subclínicos, como el incremento de anticuerpos para Brucella como evidencia de la enfermedad. La brucelosis crónica es la que tras la fase aguda febril, de tipo septicémico o sin advertirse ésta, coloniza en determinados órganos y aparece con la clínica monotópica de afecciones localizadas, meningoneuropatías o afecciones genitales, estas etapas hacen el diagnostico difícil porque las señales específicas con frecuencia están ausentes.(1,19,25)

3.5.- DIAGNOSTICO.

3.5.1.- Diagnóstico clínico.

El análisis de la enfermedad clínica descrita revela que los hallazgos en este grupo de pacientes no son específicos cuando se consideran en forma individual, por ende, la evaluación de pacientes con estos síntomas a menudo incluye cierto número de pruebas dictadas por el diagnóstico diferencial.(42)

La batería de pruebas generalmente aceptadas para el diagnóstico de brucelosis son: a) cultivo y aislamiento de brucella de sangre, orina, heces o material patológico, y b) detección de Ac. contra Brucella en el suero de pacientes (pruebas serodiagnósticas).(34)

3.5.2.- Métodos de aislamiento.

Es necesario cultivar los tejidos infectados y abscesos, así como médula ósea y las biopsias de hígado, si es posible realizarlo. Rara vez es necesario recoger líquido cefalorraquídeo pleural y peritoneal, orina y otras muestras para el aislamiento de Brucella.(12)

El trabajo de cultivo debe realizarse en una cabina de seguridad biológica y los laboratoristas deben utilizar ropas protectoras.

Cuando se cultiva sangre u otros líquidos biológicos, se recomienda la técnica de Castañeda. Esta técnica utiliza un medio de cultivo bifásico (sólido y líquido) en el mismo frasco. La fase sólida se prepara añadiendo agar al agar tripticasa soya, agar triptosa o agar brucella, hasta una concentración final de 25%. La fase líquida se prepara apartir del mismo medio basal sin agar y se añade asépticamente una vez solidificado el agar. El frasco de Castañeda requiere también de una atmósfera de CO₂

al 5-10%, la botella se incuba a 37 °C y cada 2-3 días se inclina para permitir que el caldo se extienda sobre el agar. El agar se examina antes de inclinar la botella para observar si ya existen colonias, la Brucella en agar se muestra como colonias lisas, translúcidas, color azul claro o ámbar, este crecimiento se presenta de 1-2 semanas. Los cultivos negativos no descartan la brucelosis, la identificación preliminar es suficiente evidencia para que el médico inicie el tratamiento.(9,12,38)

Los criterios comunes para la identificación definitiva de las especies y los biotipos del género Brucella son: 1) la producción de H₂S, 2) el requerimiento de más anhídrido carbónico para crecer, 3) la aglutinación de ureasa y 5) el crecimiento en presencia de fucsina básica y tionina en medios de cultivos sólidos.(tabla No 8)(9,38)

3.5.2.1 Examen directo.

La técnica de Ac fluorescente directo es un método rápido para demostrar el microorganismo en muestras clínicas. Los frotis se preparan a partir de hisópos, capa de linfa o impresión de tejido. El frotis se seca, se fija con calor y se colorea, la prueba directa de Ac fluorescentes es solo presuntiva por lo que deben hacerse los cultivos.(9)

También se puede utilizar la tinción de gram y se observan cocobacilos pequeños, sin espora, o se utiliza la técnica de Ziehl-Neelsen aunque también son pruebas presuntivas.(12)

3.5.3.- Métodos serológicos.

El cuerpo humano y el animal responden a la infección con la formación de anticuerpos específicos. La evidencia más significativa y directa de la infección es la obtenida por aislamiento o identificación del agente causal, pero esto no siempre da

buen resultado, ni es factible. Demostrando la presencia de un anticuerpo específico en el suero del paciente, las pruebas serológicas que usan antígenos conocidos suministran evidencia indirecta del agente que produjo la enfermedad o del antígeno que estimuló la formación del anticuerpo (desconocido)(tabla 11). Exponiendo el suero del paciente a diversos antígenos conocidos, y usando diversos procedimientos, la presencia o ausencia de anticuerpos de los antígenos puede determinarse (diagnóstico serológico por determinación de anticuerpos).(43)

En el caso de brucelosis, las pruebas serodiagnósticas presentan algunas limitaciones, como son: a) la dificultad de detectar la infección durante el periodo de incubación (infecciones recientes); en estados crónicos de la enfermedad, los títulos de anticuerpos son frecuentemente irregulares, ya que caen a niveles bajos y fluctúan durante periodos indefinidos.(24,43))

TABLA Nº 11 .- PRUEBAS SEROLOGICAS PARA LA BRUCELOSIS.(24)

TIPO DE PRUEBA	PRUEBA
Aglutinación	Aglutinación en placa
	Aglutinación en tubo
	Prueba de tarjeta
Inmunoenzimaticas	ELISA

3.5.3.1 Prueba rápida de aglutinación en placa.

FUNDAMENTO. Las pruebas de aglutinación son sólo semicuantitativas, sin embargo, son pruebas con un alto grado de sensibilidad.

Las reacciones de aglutinación pueden clasificarse en directas e indirectas (pasivas). En las directas, un antígeno celular o de partículas insolubles es aglutinado directamente por el anticuerpo, es independiente de la temperatura, excepto para los anticuerpos que reaccionan en frío.(24)

LECTURA.

REPORTE	OBSERVACIÓN
Completa	La mayor parte de las células en la mezcla antígeno-suero han sido aglutinadas.
Intermedia o incompleta	Todos los grados intermedios de reacción de aglutinación.
Negativa	Mezcla homogénea de suero-antígeno sin evidencia de aglutinación.(3,24)

COMENTARIO. Prueba rápida y con gran sensibilidad, es una prueba que se utiliza tradicionalmente como prueba selectiva, pero para asegurar un diagnóstico se debe corroborar el resultado con otra prueba.

3.5.3.2 Prueba lenta de aglutinación en tubo.

FUNDAMENTO. Como es una prueba de aglutinación tiene el mismo fundamento.

LECTURA. El grado de la aglutinación se mide observando la transparencia sin agitar el tubo.

REPORTE

OBSERVACIÓN

++++	Aglutinación y sedimentación completa clarificación total del líquido sobrenadante
+++	Aglutinación y sedimentación casi completa y clarificación del 75%.
++	Aglutinación y sedimentación pronunciadas y transparencia del 50%.
+	Sedimentación parcial y clarificación del 25%.
-	Clarificación nula

La más elevada de las diluciones de suero con una aglutinación del 50% o más, se toma como punto final o título del suero. En vista de la importancia del punto final, se prepara un tubo testigo que simule el grado de clarificación mezclando en un tubo de aglutinación 0.25 ml de antígeno con 0.75 ml de suero salino fenicado.(3)

COMENTARIO. Es una prueba que requiere de un poco más de tiempo por lo que sería una buena prueba para confirmar los resultados vertidos por la prueba rápida en placa.

3.5.3.3 Prueba de antígeno brucelar amortiguado o de tarjeta.

FUNDAMENTO. Esta prueba recibe varios nombres como: Buffered Brucella Antigen (BBA); Rose Bengal Plate Test (RBPT), y en México la conocemos con el término de prueba de tarjeta o Card Test.

Para la prueba de Rosa de Bengala se empleó el método descrito por Alton Jones y Pieztz (1976) con la modificación introducida por el centro Panamericano de Zoonosis, consistente en el uso de placas de vidrio y materiales no descartables (pipeta de Bang) lo que disminuye considerablemente su costo (40)

LECTURA. Pasados los cuatro minutos se procede de inmediato a efectuar la lectura, la observación se realiza con buena luz para facilitar la lectura que se reporta de la siguiente manera:

REPORTE	OBSERVACIÓN
Negativa (-)	No aglutinación
Positiva (+)	Cualquier grado de aglutinación.(3,23,40)

COMENTARIO. Es una excelente prueba, ya que es rápida y sencilla de realizar, puede ser utilizada como prueba selectiva, ya que estudios comparativos demuestran que es más sensible que la prueba de aglutinación en placa, aunado a un costo bajo.(40)

3.5.3.4 Prueba de ELISA para la detección de Ac sericos contra B. abortus.

FUNDAMENTO. El análisis de la enzima ligada a un inmuoadsorbente inerte (ELISA) o "Enzyme Linked Immunosorbent Assay" el antígeno o el anticuerpo primero se fija a un soporte inerte y luego se hace reaccionar con el antígeno o anticuerpo correspondiente, que estará marcado con una enzima (conjugado); se lava el conjugado que no reaccionó y se mide la capacidad de hidrólisis de la enzima sobre su correspondiente sustrato. Generalmente se determina el grado de transformación de un sustrato incoloro a un producto coloreado por medio de un calorímetro, espectrofotómetro o en un equipo automatizado. (24)

LECTURA. Las placas se leen a una absorbancia de 415 nm. Antes de leer, el aparato se calibra con un blanco de aire.

Las muestras positivas o negativas se obtienen mediante una operación que involucra las absorbancias de los controles positivos y negativos, esta operación depende de el fabricante de los reactivos.(24,17)

COMENTARIO. Esta prueba requiere de un equipo más sofisticado y de mayor costo, pero es una prueba relativamente nueva que con el paso del tiempo se puede poner en practica ya que puede servir como prueba selectiva y confirmativa a la vez, aunado a que los equipos están en un auge debido a que se utiliza para la prueba de HIV.

4.- PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

La sífilis y la brucelosis son dos enfermedades que pueden ser transmitidas por medio de transfusiones sanguíneas por lo cual la realización de las pruebas de laboratorio para detectarlas en las unidades de sangre que serán transfundidas a pacientes con una defensa inmunológica baja, aunado a un mal estado de salud; es de gran importancia ya que casos subclínicos pueden pasar inadvertidos para las personas, donadoras (familiares de pacientes y altruistas) por lo tanto puede existir una gran frecuencia de estos cuadros en la población por lo que se debe llevar un estricto control de las mismas, ya que posteriormente se tendrán de reserva en el banco de sangre para su utilización. Paralelamente se investiga la frecuencia de la sífilis y brucelosis en los donadores altruistas y familiares de los pacientes captados en el banco de sangre del Hospital de Traumatología y Ortopedia "Lomas Verdes" del I.M.S.S en el periodo comprendido del 1 de Agosto de 1989 al 31 de Julio de 1993. Así mismo se compararan las pruebas utilizadas y las descritas para el diagnóstico de ambas enfermedades.

5.- OBJETIVOS.

Determinar la frecuencia de anticuerpos para Brucella abortus en donadores de sangre captados en el H.T.O.L.V del I.M.S.S en el periodo comprendido del 1 de Agosto de 1989 al 31 de Julio de 1993.

Determinar la frecuencia de anticuerpos reaginicos en donadores de sangre captados en el H.T.O.L.V del I.M.S.S en el periodo comprendido del 1 de Agosto de 1989 al 31 de Julio de 1993.

Conocer la distribución mensual de los sueros positivos a las pruebas de V.D.R.L y Reacción de Huddleson.

6.- MATERIAL Y METODOS.

6.1.- Material biológico.

Se tomaron los datos de las pruebas VDRL y Huddleson realizadas a las sangres captadas en el banco de sangre del Hospital de Traumatología y Ortopedia "Lomas Verdes", del I.M.S.S correspondientes al periodo del 1 de Agosto de 1989 al 31 de Julio de 1993.

Antes de aceptar a las personas como donadores de sangre, estos deben cubrir los siguientes requisitos edad: (se aceptan de 18 a 65 años), ayuno de 4 horas mínimo, pesar más de 50 Kg, no ser diabético o hipertenso, no estar menstruando, no ser homosexual o bisexual, no estar embarazada ni practicar la prostitución; además deben tener una hemoglobina mínima de 14.0 g/dl y 14.4 g/dl mujeres y hombres respectivamente y contestar el siguiente interrogatorio clínico.(tabla 12)

TABLA N° 12.- INTERROGATORIO CLINICO PARA DONADORES.(10)

ANTECEDENTES DE IMPORTANCIA				SI	NO
1. Lugar de origen					
2. Lugar de residencia					
3. Edo. actual de salud					
4. Donaciones previas					
5. Fecha de la última					
	SI	NO			
6. Diaéticos					
7. Alérgicos					
9. Enf crónicas					
10. Quirúrgicos					
11. Sangrados					
12. Transfusionales					
13. Ictericia					
14. Hepatitis					
15. Convivencia con Enf de hepatitis					
16. Tatuajes					
17. Acupuntura					
18. Perforaciones					
19. Tx Dental					
20. Brucelosis					
21. Paludismo					
22. Enf de chagas					
ANT GINECO-OBSTETRICOS					
	SI	NO			
23. Embarazos					
24. Partos					
25. Cesáreas					
26. Abortos					
27. F.U.R					
28. F.U.P					
29. E.H.R.N					
30. Lactancia actual					
31. Medicamentos (ult mes)					
32. Vacunas (ult año)					
33. Infecciones recurrentes					
34. Gripe, Diarreas (ult sem)					
35. Fiebre sin causa aparente					
36. Sudoraciones nocturnas					
37. Pérdida de peso reciente					
38. Ingesta de alcohol rec					
39. Alcoholismo					
40. Desvelos					
41. Farmacodependencia					
42. No. de parejas sexuales					
			43. Enf transmisión sexual		
			44. Homosexualidad		
			45. Bisexualidad		
			46. Heterosexualidad		
			47. Contacto con prostitutas		
			48. Neoplasias		
			49. Traumatismos		
			EXPLORACION FISICA		
				SI	NO
			50. Hora		
			51. T.A		
			52. F.C		
			53. F.R		
			54. Pulso		
			55. Temperatura		
			56. Peso		
			57. Talla		
			58. Cabeza		
			59. Cavidad oral		
			60. Adenomegalias		
			61. Tórax		
			62. Hígado		
			63. Bazo		
			64. Piel y anexos		
			65. Señas particulares		
			66. Edo de venas		
			OBSERVACIONES		
			FIRMA DEL MEDICO		
			Acepto voluntariamente mi registro como donador de sangre y declaro haber respondido con toda veracidad al interrogatorio clínico		
			FIRMA DEL DONANTE.		

Posteriormente se procede a la extracción de sangre (usando de anticoagulante el A.C.D) aproximadamente 400 ml(una unidad), se rotulan con los datos del donador y se almacena en un refrigerador a 4 °C, en caso de ser negativas a todos los estudios(HIV, Antígeno de Australia, VDRL y Huddleson) se sella como sangre segura y se traslada al banco de sangre para su uso, el cual es de 21 días a partir de la fecha de extracción, si una unidad de sangre resulta positiva a uno de los estudios, esta se retira del refrigerador y se procede a su eliminación por medio de incineración.(10,31)

6.2.- Material.

El material de cristalería, así como el equipo necesario para el desarrollo adecuado de estos métodos, proporcionado por el laboratorio clínico del H.T.O.L.V del I.M.S.S., fue el siguiente:

CRISTALERIA:

Pipeta de 0.2 ml

Placa de vidrio dividida en cuadrantes.

Tubos de ensayo de 12 x 75

EQUIPO:

Agitador magnético.

Placa incubadora.

Microscopio Zinser 4 objetivos.

REACTIVOS:

Antígeno comercial para Brucella (Fibracin).

Antígeno comercial para VDRL (Licon).

Solución salina al 0.9%

6.3.- Técnicas.

Para el estudio de cualquiera de las pruebas serológicas es necesario definir dos términos: **Sensibilidad** que es la capacidad de la prueba para reaccionar en todos los casos; es decir que la prueba es capaz de detectar los casos primarios, secundarios y terciarios de la enfermedad. Las propiedades más sensibles se utilizan nada más para hacer una selección preliminar.(44)

Especificidad se refiere a la capacidad de una prueba para excluir los casos no debidos a esa enfermedad. Esta prueba se aplica a los casos positivos de la prueba de sensibilidad y permite descartar los casos cuya índole no es la enfermedad estudiada.(44)

6.3.1.- Prueba cualitativa en placa del V.D.R.L.

FUNDAMENTO. Estas pruebas se basan en la floculación visible del antígeno artificial (combinación de colesterol cubierto de lipóide, con o sin cardiolipina) en presencia del anticuerpo del suero del paciente.(21,22)

METODO. Con una pipeta, se depositan volúmenes de 0.05 ml de suero inactivado en cada anillo de la placa, posteriormente se añade a cada suero una gota de emulsión de antígeno y se hace girar la placa sobre el agitador magnético, durante cuatro minutos para por último leer la placa bajo el microscopio a 10 o 40 X.(21,22)

LECTURA.

Ninguna aglutinación o ligeras irregularidades.	Negativa
Acumulos pequeños	Positiva débil
Acumulos medianos o grandes	Positivo. (21,22)

6.3.2.- Prueba cuantitativa del V.D.R.L.

FUNDAMENTO. El fundamento es el mismo que en la prueba cualitativa.

METODO. Se seleccionan los sueros que resultaron positivos en la prueba cualitativa, se coloca una gradilla con 6 tubos 12 x 75 y numerarlos, se realizan diluciones dobles de la siguiente manera:

TUBOS	SUERO PROBLEMA	SOLUCIÓN SALINA .9%		DILUCIÓN
1	0.5 ml	0.5 ml	agitar	1:2
2	0	0.5 ml	0.5 ml del tubo 1	1:4
3	0	0.5 ml	0.5 ml del tubo 2	1:8
4	0	0.5 ml	0.5 ml del tubo 3	1:16
5	0	0.5 ml	0.5 ml del tubo 4	1:32
6	0	0.5 ml	0.5 ml del tubo 5	1:64

Depositar 0.05 ml de cada una de las diluciones sobre los diferentes anillos de la placa de reacción, añadir una gota del antígeno en solución estabilizado a cada una de las diluciones y colocar la placa sobre el agitador durante cuatro minutos, posteriormente leer al microscopio con objetivo de 10 o 40 X.

LECTURA. El título del suero problema será la última dilución que presente un resultado positivo. Se toma el mismo criterio que en la prueba cualitativa.(21)

6.3.3.- Prueba rápida de aglutinación en placa para Ac de Brucella (R de Huddleson).

FUNDAMENTO. Es una prueba semicuantitativa con un alto grado de sensibilidad, es la aglutinación directa de un antígeno celular (suspensiones estables de bacterias muertas) aglutinadas directamente por el anticuerpo. La aglutinación directa es independiente de la temperatura.(24,34)

METODO. Con la pipeta graduada de 0.2 ml se extrae el suero problema de la muestra y se coloca de la siguiente manera en la placa de aglutinación:

SUERO	ANTÍGENO	DILUCIÓN
0.08	1 gota	1:20
0.04	1 gota	1:40
0.02	1 gota	1:80
0.01	1 gota	1:160
0.005	1 gota	1:320

Con un removedor de madera se agitan las mezclas, extendiéndose cada una de ellas en círculos, después la placa se mueve en forma rotatoria durante 30 segundos y se incuba, a los cuatro minutos de la incubación se mezclan nuevamente las diluciones del suero problema. Al cabo de ocho minutos se leen las reacciones utilizando la iluminación de la caja de incubación y aplicando un movimiento rotatorio a la placa para una mejor visualización de las reacciones de aglutinación.

LECTURA.

Reacción completa: la mayor parte de las células en la mezcla del suero-antígeno ha sido aglutinado. El tamaño de los grumos varía desde extremadamente finos hasta los gruesos.

Reacción incompleta: Incluye todos los grados intermedios de reacción de aglutinación.

Reacción negativa: La mezcla homogénea de suero-antígeno sin ninguna evidencia de aglutinación.

El título del suero problema será la última dilución que presente una reacción completa.(24.34)

7.- RESULTADOS.

En el período correspondiente del 1 de agosto de 1989 a el 31 de julio de 1993, se estudiaron un total de **25974** personas, con el objeto de determinar la frecuencia de seropositividad a las pruebas de VDRL y HUDDLESON, así como los títulos resultantes.

En la tabla No 13 se muestra la distribución de los donadores por mes y año, mostrando una clara disminución de estos con el paso de los años (fig 5). En los meses de noviembre y diciembre la afluencia de donadores disminuye para en el mes de enero repuntar considerablemente, ya que el mes de enero muestra la mayor frecuencia de donadores.

En los meses de abril se vio que el número de donadores seropositivos era mayor que el de cualquiera de los otros meses (tabla 14) además de no ser mes de mayor afluencia de donadores ya que los meses de enero lo mostraron, lo que si es notorio es que los meses de noviembre son los meses con menor afluencia de donadores y son los meses con mayor frecuencia de seropositividad a cualquiera de las dos pruebas VDRL y/o HUDDLESON.(TABLA 13 Y 14).

De los **25974** donadores en estudio, **655** de estos resultaron positivos a alguna de las pruebas (VDRL Y R HUDDLESON) resultando un **2.52 %** de frecuencia (fig 6) donde el **1.86 %** correspondió a la R HUDDLESON y el restante **0.66 %** a VDRL (fig 7).

La prueba de VDRL con un total de **173** seropositivos que equivale al **0.66 %** de frecuencia, estuvo distribuido en un **49.13 %** al título de 1:2, una gran parte de los seropositivos se encontraron en este título, le siguió el título de 1:4 con una frecuencia de **27.74 %**, y así siguieron en decremento de frecuencia los títulos de 1:8 con una frecuencia de **12.13 %**, el de 1:16 mostró **5.78 %**, 1:32 solo obtuvo el **3.46 %** y por ultimo 1:64 con la frecuencia más baja **1.76 %** (tabla 16 y fig 8,10). Como se observa en

la tabla 16 conforme aumenta la dilución disminuye el número de donadores seropositivos.

En la reacción de HUDDLESON, el patrón es diferente a VDRL ya que aquí de los 482 donadores seropositivos la mayor frecuencia correspondió al título 1:8 mostrando un 47.73 %, siguiendo la de 1:40 con una frecuencia de 28.42 %, y posteriormente la de 1:160 con un 19.10 %, seguida de 1:320 con un 3.10 %, el 1.45 % correspondió a la dilución de 1:20 y por último 1:640 con un 0.20 % de frecuencia. (tabla 15, fig 9, 11)

Como se observa la frecuencia inicia baja para llegar a su pico máximo en la dilución 1:80 y posteriormente descender. la tendencia de VDRL era la de decrecer con el paso de las diluciones.

De los seropositivos a VDRL 173 casos, solo 88 se consideran como infectivos título mayor o igual a 1:4 por lo que la frecuencia real de VDRL es de 0.33 %, así que 85 seropositivos con título de 1:2 son aceptados como donadores.

Observando la tabla 17, los meses de abril nos muestran nuevamente la mayor cantidad de seropositivos con títulos mayores o iguales a 1:4 y los meses de noviembre, septiembre y mayo la menor.

En la prueba de HUDDLESON de los 482 seropositivos solo 338 se rechazaron por mostrar un título mayor o igual a 1:80 lo que representa el 71.03 % del total de seropositivos por lo que el 29.87 % se aceptó, por lo que resulta que la frecuencia real de seropositivos en HUDDLESON fue de 1.30 %.

En este caso los meses que mostraron mayor afluencia de seropositivos fueron los meses de julio y los de menor los meses de febrero. (tabla 18)

TABLA N° 13 .- TOTAL DE DONADORES DE SANGRE CAPTADOS DE AGOSTO DE 1989 A JULIO DE 1993, EN EL H.T.O.L.V.

PERIODO	1989-1990	1990-1991	1991-1992	1992-1993	TOTAL
MES					
AGOSTO	672	642	652	530	2,406
SEPTIEMBRE	318	510	546	650	2,024
OCTUBRE	542	602	462	460	2,066
NOVIEMBRE	544	502	376	462	1,884
DICIEMBRE	552	512	348	484	1,896
ENERO	556	680	800	428	2,464
FEBRERO	478	574	680	436	2,168
MARZO	604	466	716	448	2,234
ABRIL	624	568	608	406	2,206
MAYO	760	570	546	428	2,304
JUNIO	520	572	494	452	2,038
JULIO	654	612	664	354	2,284

El total de donadores fue de 25,974.

FIGURA N° 5.- DONADORES DE SANGRE CAPTADOS EN EL H.T.O.L.V. EN EL PERIODO DE AGOSTO DE 1989 A JULIO DE 1993

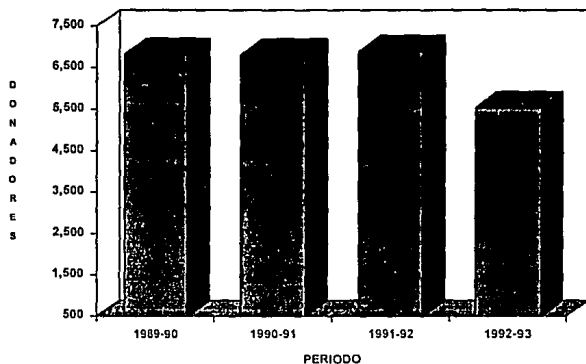
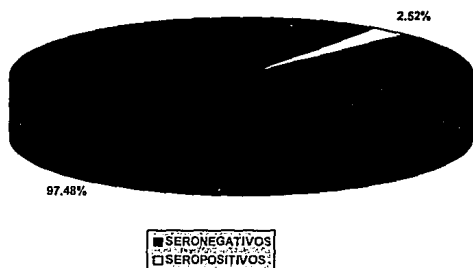


TABLA N° 14.- DONADORES DE SANGRE SEROPOSITIVOS A LAS PRUEBAS DE VDRL Y R HUDDLESON, CAPTADOS EN EL BANCO DE SANGRE DEL H.T.O.L.V DE AGOSTO DE 1989 A JULIO DE 1993.

PERIODO MES	1989 -1990	1990 -1991	1991 -1992	1992 -1993	TOTAL
AGOSTO	13=0.081	16=0.081	8=0.048	15=0.114	52=0.079
SEPTIEMBRE	2=0.012	11=0.056	9=0.054	26=0.198	48=0.073
OCTUBRE	25=0.156	17=0.086	14=0.086	9=0.070	65=0.099
NOVIEMBRE	32=0.200	8=0.040	13=0.078	15=0.114	68=0.104
DICIEMBRE	14=0.087	14=0.071	5=0.030	17=0.13	50=0.076
ENERO	12=0.075	15=0.076	26=0.155	9=0.070	56=0.085
FEBRERO	10=0.062	15=0.076	11=0.066	5=0.038	41=0.062
MARZO	7=0.043	8=0.040	24=0.143	11=0.084	50=0.076
ABRIL	24=0.150	28=0.140	15=0.090	10=0.076	77=0.117
MAYO	6=0.037	28=0.140	15=0.09	1=0.0007	50=0.076
JUNIO	2=0.012	15=0.076	9=0.053	8=0.061	34=0.052
JULIO	13=0.081	22=0.110	24=0.143	5=0.3400	64=0.097
TOTAL	160=1.000	197=1.000	167=1.00	131=1.000	655=1.000

Nota.- Los valores están expresados en No. de casos positivos y su respectivo porcentaje del total que aparece en la parte inferior de la tabla.

FIGURA N° 6.- FRECUENCIA DE SEROPOSITIVIDAD Y SERONEGATIVIDAD A VDRL Y R HUDDLESON EN DONADORES DE SANGRE DEL H.T.O.L.V. DE AGOSTO DE 1989 A JULIO DE 1993.



**FIGURA N° 7.- FRECUENCIA DE SUEROS POSITIVOS Y NEGATIVOS A VDRL Y R
HUDDLESON EN DONADORES DEL BANCO DE SANGRE DEL
H.T.O.L.V.**

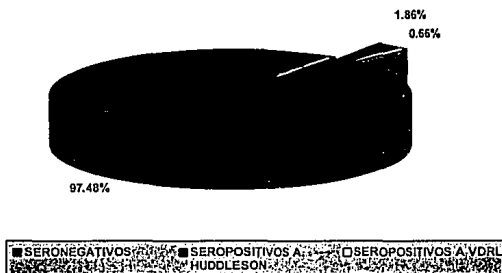


TABLA Nº 15.- FRECUENCIA DE TITULOS SEROPOSITIVOS A R HUDDLESON EN SANGRE CAPTADA EN EL BANCO DE SANGRE DEL H.T.O.L.V DE AGOSTO DE 1989 A JULIO DE 1993.

TITULOS	NUMERO DE CASOS	PORCENTAJE
1:20	7	1.45 %
1:40	137	28.42 %
1:80	230	47.73 %
1:160	92	19.10 %
1:320	15	3.10 %
1:640	1	0.20 %

TABLA N° 16.- FRECUENCIA DE TITULOS SEROPOSITIVOS A VDRL EN DONADORES DE SANGRE CAPTADOS EN EL BANCO DE SANGRE DEL H.T.O.L.V. DE AGOSTO DE 1989 A JULIO DE 1993.

TITULOS	NUMERO DE CASOS	PORCENTAJE
1:2	85	43.13 %
1:4	48	27.74 %
1:8	21	12.13 %
1:16	10	5.78 %
1:32	6	3.46 %
1:64	3	1.76 %

FIGURA N° 8.- FRECUENCIA DE TITULOS EN SUEROS POSITIVOS A VDRL EN DONADORES DE SANGRE DE H.T.O.L.V. DE AGOSTO DE 1989 A JULIO DE 1993

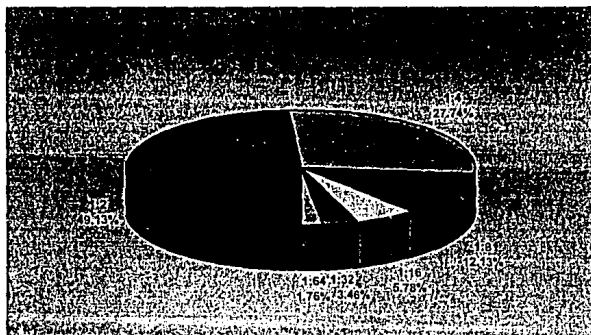


FIGURA Nº 9 .- FRECUENCIA DE TITULOS EN SUEROS POSITIVOS A R. HUDDLESON EN DONADORES DE SANGRE DEL H.T.O.L.V DE AGOSTO DE 1989 A JULIO DE 1993.

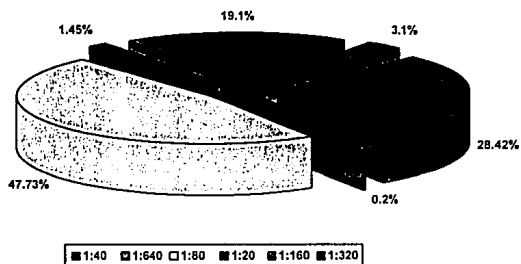


FIGURA Nº 10.- TITULOS EN SUEROS SEROPOSITIVOS A VDRL DE DONADORES DE SANGRE EN EL H.T.O.L.V. DE AGOSTO DE 1989 A JULIO DE 1993

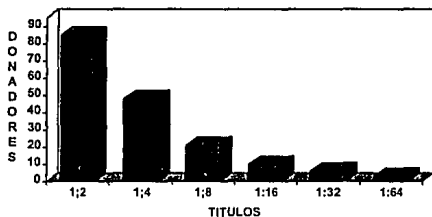
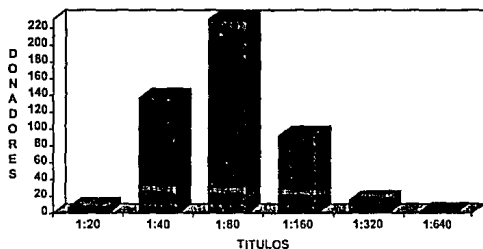


FIGURA Nº 11.- TITULOS EN SUEROS SEROPOSITIVOS A R. HUDDLESON DE DONADORES DE SANGRE EN EL H.T.O.L.V. DE AGOSTO DE 1989 A JULIO DE 1993.



**TABLA Nº 17.- SEROPOSITIVOS A LA PRUEBA DE VDRL CON TITULOS
MAYORES O IGUALES A 1:4 EN DONADORES DE SANGRE DEL
H.T.O.L.V DE AGOSTO DE 1989 A JULIO DE 1993.**

TITULO MES	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	TOTAL
AGOSTO	8	1	1	1	0	11
SEPTIEMBRE	1	1	1	0	0	3
OCTUBRE	4	3	1	2	0	10
NOVIEMBRE	0	2	0	0	1	3
DICIEMBRE	5	2	0	0	0	7
ENERO	3	3	2	1	0	9
FEBRERO	6	1	0	0	0	7
MARZO	2	2	1	1	1	7
ABRIL	10	1	3	1	0	15
MAYO	1	2	1	0	1	5
JUNIO	1	2	0	0	0	3
JULIO	7	1	0	0	0	8

**TABLA N° 18.- SEROPOSITIVOS A R HUDDLESON CON TITULOS
MAYORES O IGUALES A 1:80 EN DONADORES DE
SANGRE DEL H.T.O.L.V. DE AGOSTO DE 1989 A JULIO DE
1993.**

MES	TITULO	1:80	1:160	1:320	1:640	TOTAL
AGOSTO		21	5	2	0	28
SEPTIEMBRE		17	10	2	0	29
OCTUBRE		18	7	2	0	27
NOVIEMBRE		17	10	0	0	27
DICIEMBRE		19	11	1	0	31
ENERO		21	6	1	0	27
FEBRERO		14	2	1	0	17
MARZO		19	6	2	1	28
ABRIL		28	8	1	0	37
MAYO		16	8	1	0	25
JUNIO		12	6	2	0	20
JULIO		28	13	0	0	41

8.- DISCUSION.

De los 25974 donadores el mayor número de estos se encontró en el mes de enero y el menor número en noviembre y diciembre, por lo que al parecer en estos meses se debe tener cuidado en los exámenes clínicos y de laboratorio.

De estos dos meses el de mayor cuidado es el mes de noviembre, ya que es el mes que en promedio recibe más personas seropositivas a alguna de las dos pruebas (VDRL Y HUDDLESON), por lo que se podrían extremar las precauciones en estos meses para no dejar pasar sangres infectivas, aunque esto es solo teóricamente ya que en la practica se debe realizar un estudio estadístico más amplio, para que los resultados sean más fidedignos.

Para la prueba de VDRL el mes de abril es el de mayor frecuencia por lo en este mes se podría realizar una prueba confirmatoria, ya que el VDRL es una prueba selectiva más no una prueba confirmatoria.

En el mes de julio la prueba de HUDDLESON tiene su mayor seropositividad, por lo que este mes es importante, para detectar casos seropositivos, se recomienda hacer otra prueba para confirmar, como la prueba de Rosa de Bengala o ELISA para Bruceella ya que la prueba de HUDDLESON solo es selectiva al igual que la de VDRL.

De los 25974 donadores; el número de estos desciende conforme pasa el tiempo, esto puede ser debido a que la sangre ya no se paga o temór a un contagio de SIDA, pero cualquiera que sea el motivo, el número de donadores de sangre disminuye por lo que es necesario un mejor manejo de la sangre desde la toma (tipo de anticoagulante usado) pasando por el estudio de esta (utilizar pruebas selectivas y confirmatorias) y terminando en el almacenamiento para asegurar la existencia de sangre en buen estado en el banco de sangre.(23)

El número de sueros seropositivos a VDRL es de 173, para que una sangre se considere infectiva para sífilis esta debe presentar un título de 1:4 o mayor, por lo que la frecuencia real de sueros seropositivos a VDRL es de 88 casos el 0.33 %, el título de 1:4 o más se considera infectivo ya que puede indicar una infección activa o reinfección.(39)

Cuando el suero resulta con un título de 1:2 la sangre se almacena por 72 horas a 4 °C, ya que el Treponema pallidum muere a una temperatura de 4 °C, esta sangre puede utilizarse como sangre segura, de no transmitir la infección de sífilis. Los títulos iguales o mayores a 1:4, la sangre es desechada por las especificaciones de la OMS de que cualquier alteración de las normas repercute en la calidad de la sangre.(27)

Aunque la frecuencia es relativa por no utilizar una prueba confirmatoria, la sangre que se desecha podría no estar contaminada ya que si tomamos en cuenta que la prueba de VDRL es una prueba selectiva más no confirmatoria, aunado a que la prueba exige unos controles positivos y negativos y el reactivo usado (Lincon) no los incluye, por lo que el resultado se reporta dependiendo del criterio y de la experiencia que posea el personal encargado de realizar la prueba, por lo que se hace indispensable la utilización de una prueba confirmatoria, en algunos laboratorios realizan la prueba de RPR pero no es confirmatoria, es selectiva, por lo que es mejor utilizar la prueba de FTA-ABS.

En los 482 casos seropositivos a HUDDLESON, el número real de infectivos fue de 338 ya que el título que se considera con posibilidades de transmitir la infección es de 1:80, por lo que los títulos de 1:40 y 1:20 son considerados como unidades de sangre segura.

Cualquier interpretación que se le de a la prueba, debemos tener en cuenta que una frecuencia relativamente grande de aglutininas de Brucella puede existir en una población sana o en personas que sufren de una enfermedad no relacionada.

En estas circunstancias, aunque los títulos sean generalmente menores a 1:80, pueden causar confusión y por ello se requieren títulos iguales o mayores a 1:80 para concederle valor a la prueba de aglutinación.(38)

La prueba de HUDDLESON se puede considerar buena pero como se ha dicho la frecuencia es relativa, por lo que sería más factible utilizar otra prueba como confirmatoria, esta prueba puede ser la de Rosa de Bengala que ya, ha demostrado que es más específica que otras, además de que en otros bancos de sangre se prefiere, u otra opción sería la de ELISA para Brucella.(17,40)

9.- CONCLUSIONES.

Se llegó a conocer la frecuencia de donadores seropositivos (2.52 %) para las pruebas de VDRL Y HUDDLESON, mostrando un 1.86 % la Reacción de HUDDLESON para Brucelosis con un valor real de 1.30 % y VDRL para Sífilis un 0.66 % con un valor real de 0.33 %. Para sífilis el título mínimo para considerarse a la sangre como infectiva es de 1:4, ya que representa infección latente o recidiva, por lo que del 0.66 % el 0.33 % se aceptó; en la brucelosis el título mínimo para considerarse a la prueba con valor es de 1:80 debido a que los títulos fluctúan según la etapa de la infección, del 1.86 % el 0.56 % se aceptó.

Se determinó la distribución mensual de donadores demostrando que los meses de enero es cuando se tiene la mayor afluencia de donadores y los meses de noviembre y diciembre cuando las donaciones disminuyen, además de mostrarnos que para la determinación de sífilis por VDRL los meses de abril, fueron los meses que mostraron el mayor número de seropositivos y julio para Brucelosis por medio de R Huddleson.

10.- COMENTARIOS.

El número de donadores disminuye con el paso del tiempo, por lo que se requiere un mayor control de calidad de la sangre, mediante la utilización de pruebas más específicas, ya que las pruebas que se realizan no son específicas, para la determinación de sífilis y brucella. En la determinación de sífilis se podría realizar la prueba de FTA-abs, ya que ha demostrado que tiene mayor especificidad en periodos infectivos de sífilis. Para la determinación de brucella se podría implementar el uso de la prueba de ELISA ya que es una prueba específica, además de que la mayoría de los bancos de sangre ya cuentan con el equipo para la realización de esta prueba, con esto se evitaría desechar falsos positivos o en el peor de los casos aceptar falsos negativos.

En la actualidad el porcentaje de donadores es bajo en México, por lo que es recomendable que dentro de las prioridades de trabajo del banco de sangre es cambiar el anticoagulante y estabilizador de las unidades sanguíneas, con el objeto de aumentar el tiempo de conservación de la sangre.

En base a los resultados obtenidos, podemos concluir que las unidades sanguíneas ofrecidas por el banco de sangre del Hospital de Traumatología y Ortopedia Lomas Verdes, cumplen con los criterios de desecho de las unidades sanguíneas que muestran un título igual o mayor a 1:80 para Brucella abortus y un título mayor o igual a 1:4 para Treponema pallidum, aunque los anticuerpos (contra T.pallidum y contra B.abortus) pueden no ser detectados en etapas tempranas por las pruebas de laboratorio descritas, por lo que es necesaria la existencia de pruebas de laboratorio con mayor especificidad que las que se usan actualmente.

A la prueba de VDRL en algunos laboratorios no se le da la importancia adecuada, ya que el Treponema pallidum muere en condiciones de almacenamiento en los bancos de sangre, sin embargo en la Norma Oficial Mexicana para la disposición de sangre humana y sus componentes con fines terapéuticos publicado en 1994, establece que las unidades de sangre que resulten dudosas o positivas a alguna de las pruebas realizadas deben de ser eliminadas, por lo que aceptar sangres aun con títulos bajos, es infringir la ley general de salud.

11. BIBLIOGRAFIA.

1. Agustín Vidal A, MEDICINA INTERNA, Tomo 1 México D.F. 1978. pp 879-883.
2. Alonso Flores J.L, ESTUDIO COMPARATIVO DE LAS PRUEBAS SEROLOGICAS VDRL Y FTA-ABS A TITULOS BAJOS, Tesis FES- Cuautitlan, México , 1983.
3. Alton G.G, LAS TECNICAS DE LABORATORIO EN LA BRUCELOSIS, OMS Ginebra, 1969, pp 43-65
4. Anderson J, PRIMARY AND SECONDARY SYPHYLIS, 20 YEARS EXPERIENCE 3 DIAGNOSIS, TREATMENT AND FOLLOW UP, Genitourin Med, 65,1989, pp 239-243.
5. Arellano Miraflores E, ORGANIZACION Y MANEJO DEL SERVICIO DE TRANSFUSIONES DEL H.T.O.L.V DEL I.M.S.S., Tesis FES- Cuautitlan, México, 1991.
6. Asimov Isacc, EL RIO VIVIENTE, 8ava Reinpresión, Editorial Limusa, México, D.F 1990, pp 9-16.
7. Asociación Mexicana de Profesores de Microbiología y Parasitología en Escuelas de Medicina. MICROBIOLOGIA CLINICA, Tomo 1, Editorial Francisco Mendez, México, D.F 1981, pp 553-573.
8. Baker,F.J, MANUAL DE TECNICAS DE MICROBIOLOGIA MEDICA, Editorial Acribia, Zaragoza España, 1990,pp 151-56,217-30.
9. Balows A, MANUAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY, 5ava Edition, Edit American Society of Microbiology, Washington DC, USA 1991, pp 457-61, 567-71.

10. Banco de Sangre I.M.S.S, REQUISITOS Y METODOS PARA LA DONACION DE SANGRE, H.T.O.L.V, I.M.S.S, 1993.
11. Bernard D, TRATADO DE MICROBIOLOGIA, 2a Edición, Editorial Salvat, Barcelona España 1983,
12. Brachman P, BACTERIAL INFECTIONS OF HUMANS EPIDEMIOLOGY AND CONTROL, Second Edition, Edit Plenum Medical Book Company New York USA, 1991, pp 133-45, 675-93.
13. Bryan A, BACTERIOLOGIA PRINCIPIOS Y PRACTICAS, 6a Edición Editorial Continental, México,D.F 1974, pp 246-51.
14. Davis B, Dulbecco R, TRATADO DE MICROBIOLOGIA, 2a Edición Editorial Salvat Editores, Barcelona España, 1983.
15. Freeman Bob, TRATADO DE MICROBIOLOGIA DE BURROWS, 21ava Edición, Editorial Interamericana, México,D.F 1984 p.p 785-95.
16. Greenwood M, TREPONEMAL INFECTION AND THE OUTCOME OF PREGNANCY IN A RURAL AREA OF THE GAMBIA, WEST AFRICA, The Journal of Infection Disease, 1992, 166 pp 842-46.
17. Hernández López J, ASPECTOS RELEVANTES DEL INMUNOANALISIS ENZIMATICO (ELIZA). Infectología, Año V, Num 2, Febrero 1985 p.p 52-55.
18. Instituto Nacional de Salud, SIFILIS DIAGNOSTICO Y MANEJO SEROLOGICO, 4a Edición, Editorial Manual de Microbiología Médica, Bogota Colombia 1991, pp 11-77.

19. Krupp M, DIAGNOSTICO CLINICO Y TRATAMIENTO, 24ava Edición Editorial Manual Moderno, México,D.F 1986. pp 643.
20. Kumate J, MANUAL DE INFECTOLOGIA, 11ava Edición, Editorial Francisco Mendez, Me'xico, D.F. 1990.
21. Licon. VDRL, AGENTE DIAGNOSTICO,Laboratorios Licon México,D.F. 1993.
22. Lynch M, METODOS DE LABORATORIO, 2a Edición, Editorial Interamericana, México,D.F. 1985. pp 935-1000.
23. Martínez López G, ENTRVISTA PERSONAL, Jefe del Laboratorio del H.T.O.L.V, 1994.
24. Morilla,G.A, MANUAL DE INMUNOLOGIA, Editorial Diana, México,D.F. 1986.pp 142-45, 193-223
25. Murray,D, MEDICAL MICROBIOLOGY, Edit Masby Company, St Louis Missouri, USA, 1990. pp 155-57.
26. Oficina Sanitaria Panamericana, MANUAL DE REACCIONES SEROLOGICAS PARA EL DIAGNOSTICO DE SIFILIS, Editorial Publicaciones Cientificas, Washington,D.C USA, 1957.
27. Organización Mundial de la Salud, TOMA, FRACCIONAMIENTO, INSPECCION DE LA CALIDAD Y USOS DE LA SANGRE Y DE LOS PRODUCTOS SANGUINEOS, Ginebra, Suiza, 1982. pp 59-139.
28. Piatkin, K, MICROBIOLOGIA, Editorial Mir, Moscu, URSS 1986. pp 339-45, 417-23.

29. Rosenstein S,E, DICCIONARIO DE ESPECIALIDADES EN ANALISIS CLINICOS, 8ava Edición, Editorial PLM, 1994.
30. Ruiz C. BRUCELOSIS UN PROBLEMA UNIVERSAL, Ediciones La Prensa Médica Mexicana, México, D.F. 1954. pp 1-15
31. Ruelas Guardiola E, INCIDENCIA DE LOS MARCADORES SEROLOGICOS PARA LA DETECCION DE ENFERMEDADES TRANSMISIBLES POR LA SANGRE EN EL BANCO DE SANGRE DE LA CRUZ ROJA MEXICANA SEDE CENTRAL EN EL PERIODO COMPRENDIDO DEL 1 DE NOVIEMBRE 1988 AL 31 DE OCTÜBRE 1989, Tesis FES-CUAUTITLAN, México, 1990.
32. Samson,G.R, IMMUNE STUDIOS IN INFANTS WITH CONGENITAL SYPHILIS, Clin Exp Immunol, 81, 1990. pp 310-318.
33. Sistema Nacional de Salud, BOLETIN MENSUAL EPIDEMIOLOGIA, vol 8, Nu 4, abril 1993. pp 60-62.
34. Sonnenwirth A, GRADWOHL METODOS DIAGNOSTICOS DEL LABORATORIO CLINICO, 8ava Edición, Editorial Médica Panamericana, México,D.F. 1983. pp 2059-112.
35. Stamatelos,C.A, MANUAL DE BANCO DE SANGRE, Ediciones Científicas la Prensa Médica Mexicana, México.D.F 1986.
36. Stites, D, INMUNOLOGIA BASICA Y CLINICA, 5a Edición, Editorial Manual Moderno, México,D.F, 1985. pp 885-86.
37. Taylor,J, THE CHANGING EPIDEMIOLOGY OF HUMAN BRUCELOSIS IN TEXAS 1977-1986, American Journal of Epidemiology, vol 130, Num 1, 1989. pp 160-165.

38. Todd, Sanford, D, DIAGNOSTICO Y TRATAMIENTO CLINICO POR EL LABORATORIO, 7a Edición, Tomo 1, Editorial Salvat Editores, Barcelona España, 1985.
39. Tramont E, ESPIROQUETAS.
40. Turovetsky A, COMPARACION DE LA PRUEBA DE ROSA DE BENGALA CON OTRAS TECNICAS SEROLOGICAS PARA EL DIAGNOSTICO DE LA BRUCELOSIS HUMANA, Acta Bioquímica Clínica Latinamericana, Vol 13, No 4, 1979. pp 437-442.
41. U.S Department of Health Education and Welfare Manual of Tests Syphilis 1969, Public Health Service National Communicable Disease Center Venereal Disease Program, Atlanta, Georgia, USA, 1969.
42. Wolfgang J, ZINSSER MICROBIOLOGIA, 18ava Edición, Editorial Panamericana, México, D.F. 1989. pp 764-71, 827-36.
43. Yantorno, O.M, ESTUDIOS SOBRE PRODUCCION DE BRUCELLA abortus CEPA 19, Rev Lat-amer Microbiología 27, 1985. pp 301-307.
44. Youmans, G.P, INFECTOLOGIA CLINICA, 2a Edición, Editorial Interamericana McGraw-Hill, México, D.F 1990. pp 545-565 811-816.
45. Secretaria de Salud, PROYECTO DE NORMA OFICIAL MEXICANA PARA LA DISPOSICION DE SANGRE HUMANA Y SUS COMPONENTES CON FINES TERAPEUTICOS. México, D.F 1994.

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA