

# Revista **MEDICA** Hondureña



ORGANO DEL  
COLEGIO MEDICO DE HONDURAS



# Revista **MEDICA** **Hondureña**

ÓRGANO DEL COLEGIO MEDICO DE HONDURAS  
FUNDADA EN 1930

---

---

## CONSEJO EDITORIAL

Dr. TITO ALVARADO M.  
**Director**

Dr. ALIRIO LOPEZA.  
**Secretario**

Consejo Editorial  
Dr. EDUARDO ESCOBAR  
Dr. VÍCTOR MANUEL RAMOS  
Dr. ALEJANDRO MEMBREÑO  
Dr. ROBERTO MANCIA  
Dr. GUILLERMO PÉREZ

ADMINISTRACIÓN

**COLEGIO MEDICO DE HONDURAS**  
Apartado Postal No. 810  
Tegucigalpa, Honduras  
Tel. 32-7985

---

## DENGUE HEMORRÁGICO: UN PROBLEMA GRAVE DE SALUD

*El dengue es la enfermedad causada en el ser humano por un arbovirus que se transmite por medio de la picadura de un mosquito de características domésticas (Aedes aegypti), que en la actualidad constituye uno de los principales problemas de Salud Pública Mundial. Anualmente millones de personas contraen la infección particularmente en el África, Asia y América Latina, la gran mayoría corresponden a la forma clásica, indiferenciada o asintomática de la enfermedad; no obstante, cada año se están notificando en el Sudeste Asiático miles de casos de la forma más grave de esta enfermedad, es decir la fiebre hemorrágica y el síndrome de shock del dengue (FHD/SSD) cuya tasa de letalidad varía entre el 1 y 5%. El FHD/SSD figura entre las diez causas principales de hospitalización y muerte infantil en por lo menos 8 países asiáticos tropicales, que han informado más de 1.5 millones de hospitalizaciones y 33000 muertes debidas a este síndrome desde el año de 1950.*

*En las américas, la primera vez que se reconoció una enfermedad similar al dengue fue en el siglo XVIII, pero ha sido en las tres últimas décadas que esta enfermedad ha aumentado considerablemente en este continente, son muy significativas las epidemias de dengue en las islas, del Caribe y América del Sur en 1963,1969 y en 1977, con algunos casos sospechosos de dengue hemorrágico en Curazao, Puerto Rico y Jamaica. En 1978 el dengue penetró a Honduras por las Islas de la Bahía, siendo San Pedro Sula la ciudad más afectada del país, estimándose en esta ocasión que 77000 personas habían sufrido la enfermedad del dengue, y notificándose además, 5 muertes debidas a casos sospechosos de dengue hemorrágico que lamentablemente no fueron confirmados por laboratorio. En la década de los 80 's el*

*Laboratorio Central de Virología del Ministerio de Salud Pública de Honduras, reportó más de 1600 casos de dengue clásico debidamente confirmados de un total aproximado de 3500 muestras enviadas, y, revisando hasta el año de 1988, 42 pacientes con respuestas serológicas secundarias, presentaron algún tipo de manifestaciones hemorrágicas leves, las cuales se tornaron más frecuentes en los dos últimos años.*

*Indudablemente, la epidemia de FHD/SSD debida al dengue serotipo 2 en Cuba en 1981 ha sido el hecho más significativo del decenio, ya que fue responsable por los peores efectos sobre los seres humanos jamás observados en la historia del dengue en las Américas: De 344203 casos de dengue, 24000 (7%) se diagnosticaron como dengue hemorrágico y de estos 10312 (43%) presentaron el síndrome de shock, falleciendo únicamente 158 personas (101 niños y 57 adultos) en los cuatro meses que duró la epidemia.*

*Después de la tragedia Cubana, se han notificado casos esporádicos confirmados o sospechosos de dengue hemorrágico ocurridos en niños y adultos en otras islas del Caribe (Aruba, Suriname, Puerto Rico), América del Sur (Brasil, Colombia, Venezuela) Norte y Centro América (México, Nicaragua, El Salvador) y muy recientemente en Honduras, donde por primera vez se han notificado 8 casos de dengue hemorrágico confirmados por clínica y laboratorio, lo que significa que estamos en presencia de una verdadera emergencia sanitaria que las Autoridades de Salud Pública tienen que enfrentar con un oportuno y adecuado plan de emergencia, que involucre aspectos preventivos, educativos, de atención médica y de saneamiento ambiental, con el objetivo de lograr disminuir el impacto de esta terrible enfermedad en nuestro país.*

# Síndrome de Guillian Barre su Evolución en una sala de Cuidados Intensivos

*Dra. Martha Matamoros de López\* Dr. Francisco Chaves\*\* Dr. Alex Velásquez'*

## RESUMEN

Se realizó un estudio retrospectivo-prospectivo desde el año 1984 sobre la evolución de 25 pacientes pediátricos en la sala de Cuidados Intensivos del Hospital Escuela, el porcentaje de pacientes que necesitaron ventilación mecánica durante ese período fue del 13%, el grupo de edad más afectado fue el de 1-2 años de edad, el 100% de los pacientes ingresa dos tenían parálisis simétrica, la mayoría de los pacientes (17 de 25) presentaron un cuadro de evolución rápidamente progresiva hasta la parálisis, pocos fueron los pacientes que necesitaron ventilación mecánica y que tenían un cuadro de más de 10 días de evolución. La incidencia de fenómenos neurovegetativos fue de un 60% (15 de 25 pacientes) y fueron más frecuentes en el grupo de 1 -2 años de edad, en el grupo de pacientes muertos la incidencia de fenómenos neurovegetativos fue de 85.5% frente a un 50% de incidencia en los sobrevivientes, esto parece indicar que la incidencia de estos fenómenos es un factor de mal pronóstico, también se comprobó que en el 92% de los pacientes a quienes se les practicó espirometría, tenían una reducción significativa de su

volumen tidal, 6 de 8 pacientes que no recuperaron su volumen tidal al final de la tercer semana murieron, hecho clínico relevante que puede ser considerado otro factor de mal pronóstico.

De los 25 pacientes ingresados a UCI, 7 pacientes murieron mortalidad inferior a la reportada por otros países del área en este tipo de pacientes, la mortalidad global del Síndrome es de 4. % Se analizan las causas de muerte encontrando que la mayoría de ellas están relacionadas con el compromiso respiratorio y trastornos neuro vegetativos.

## SÍNDROME DE GUILLIAN BARRE EN PEDIATRÍA SU EVOLUCIÓN EN UNA UNIDAD DE CUIDADOS INTENSIVOS

### Introducción:

El Síndrome de Guillian Barré fue descrito por primera vez en 1989 por Landry, 35 años antes el Dr. James Wardrop reporta un caso que reúne los criterios de este Síndrome (17). En 1916 Sthrol y Guillian Barré descubrieron las alteraciones a nivel del L.C.R. y Kernohan y Haymaker hicieron las primeras descripciones anatómo-patológicas de la enfermedad. Este Síndrome es la causa más importante de

Cuidados Intensivos Pediátricos Hospital  
Escuela, Tegucigalpa, Honduras Depto. de  
Pediatria, Hospital Escuela Depto. de Pediatria,  
Hospital Escuela

trastornos neurológicos en niños y adultos, siendo la causa más frecuente de desórdenes neuromusculares que requieren manejo en Unidades de Cuidados Intensivos y soporte ventilatorio.

El conocimiento que se tiene de la enfermedad al presente es que se trata de una enfermedad autoinmune cuyo mecanismo preciso no está claro. Hay evidencias reveladoras de que los Linfocitos T están sensibilizados a la mielina de los nervios espinales y craneales lo cual desencadena desmielinización y posteriormente una reacción inflamatoria. La base fundamental de esta hipótesis ha sido la similitud existente entre el SGB y la neuritis alérgica experimental (32).

Otros autores han tratado de asociar la susceptibilidad a la enfermedad con la presencia de antígenos de histocompatibilidad HLA; A, . y D pero hasta ahora no se ha podido establecer una relación estadísticamente significativa (33). Aproximadamente un 50-70% de los niños con Síndrome de Guillian Barré tienen antecedentes de infecciones gastrointestinales y respiratorias, la gama de agentes infecciosos implicados incluyen virus como Epstein Barr, hepatitis B., Rubéola, ECHO, Sarampión, Parotiditis, Varicela, Coxsackie, Influenza; bacterias como Campilobacter jejuni, C.Difteria, Stafilococcus,, Influenza, Salmonella tiphy y Micoplasma Pneumonie, también el síndrome se ha relacionado con neoplasias, cirugías recientes e inmunizaciones de DPT, Salk, Rabia, Influenza, Antitoxina Tetánica y Diftérica (5,7,18,20,25,28).

El inicio de la enfermedad es aguda o subaguda y ocasionalmente se presentan recidivas, su forma de presentación clínica es usualmente de una parálisis simétrica y ascendente con signos y síntomas específicos que incluyen arreflexia, debilidad, fenómenos disautonomicos, leve compromiso de la sensibilidad, compromiso de pares craneales sobre todo el VII par y en algunos casos compromiso de las esfínteres; la enfermedad puede evolucionar a una parálisis de los músculos respiratorios necesitando el paciente manejo con ventilación mecánica. La disociación albúmina citológica descrita originalmente por Guillian y col. es un hallazgo constante solo cuando la punción lumbar y el estudio del L.C.R. se realiza después del décimo día de evolución.

Las alteraciones neurofisiológicas encontradas en estos pacientes dependen del sitio de compromiso de la

motoneurona, el daño es primariamente una lesión de desmielinización multifocal segmentaria con un grado variable de degeneración axonal y neuronal. Cuando el cuadro clínico esta bien establecido los estudios electrofisiológicos revelan disminución o bloqueo de la velocidad de conducción y un patrón típico de denervación (22,12,13,7)

Aunque el pronóstico de la enfermedad es bueno para la mayoría de los pacientes con síndrome de Guillian Barré, en 10a 20% tienen debilidad motora residual (7,13,15,21) la mortalidad es del 1.5% apesarde Cuidados Intensivos en unidades modernas y sofisticadas (9,12).

La Complicaciones más frecuentes son insuficiencia respiratoria aguda que ocurre en 10-20% de los casos, hipotensión, hipertensión, arritmias cardíacas, embolismo pulmonar, obstrucción de la vía aérea superior por parálisis de cuerdas bucales (1,4,7,14,16,24,27). Con relación al tratamiento empleado, la medidas generales de sosten la base del tratamiento, tratar con ventilación mecánica a los pacientes que presentan debilidad progresiva con disminución de su capacidad vital forzada un adecuado soporte nutricional, monitorización de las constantes vitales a través de métodos no invasivos o invasivos para detectar la presencia de fenómenos neurovegetativos (4,23,25). El uso de corticoesteroides que se ha venido usando por muchos años en el tratamiento del síndrome parecen no beneficiar a los pacientes tratados (35)

La plasmaferesis en una alternativa de tratamiento para aquellos pacientes que presentan la forma severa de la enfermedad (8), demostrándose una recuperación más rápida en los pacientes tratados, sin embargo se ha reportado recaídas después de este procedimiento (8,10) siendo necesarios en algunas ocasiones un segundo recambio y observación cuidadosa de los pacientes tratados. El uso de gama globulina en infusión I.V. parece ser beneficiosa, reportándose una mejoría de la función neurológicas en polineuro radiculopatías cuando se ha usado en dosis de 400/mg/K/día por 5 días o 1 gr/K/Díapor 2 días (36).

El objetivo de este trabajo es conocer el comportamiento clínico de los pacientes con S.G.B. que requieren manejo en nuestra unidad de Cuidados Intensivos, Determinar la incidencia y el tipo de fenómeno

neurovegetativos que estos pacientes sufren y de que manera inciden en la mortalidad del Síndrome y finalmente comparar nuestros resultados con lo publicado por otros Autores.

## MATERIAL Y MÉTODOS

En la unidad de Cuidados Intensivos del Hospital Escuela/Tegucigalpa, Honduras se realizó un estudio sobre todos los casos pediátricos de SGB durante un período de 5 años 9 meses que comprende retrospectivo desde Enero 1984 hasta Septiembre de 1987 y prospectivo desde Octubre de 1987 hasta Septiembre de 1989. el protocolo de investigación que incluía datos epidemiológicos clínicos y de laboratorio fue aplicado a todos los pacientes pediátricos que reunían los criterios establecidos por Asbury, Armason Karpa y Me. Farlin, publicados en 1978 (4) y son los siguientes:

- 1.- Aspectos que se requieren para el diagnóstico
  - a. debilidad progresiva
  - b. Arreflexia
- 2.- Hechos clínicos que sustentan el diagnóstico
  - a. Debilidad progresiva
  - b. Simetría relativa
  - c. Síntomas sensoriales
  - d. compromiso de pares craneales
  - e. Inicio de la mejoría después de 2 a 4 semanas de haberse estabilizado la enfermedad.
  - f. Disfunción autonómica
  - g. Ausencia de fiebre al inicio de los síntomas
- 3.- Aspectos de laboratorio que soportan el diagnóstico.
  - a. Proteínas de L. C. R. elevados (mayor de 40mg/dl)
  - b. No pleocitosis en L.C.R.
  - c. Estudios de neuro conducción anormal
- 4.- Parálisis de inicio aguda o subaguda, ascendente o descendente.

Compromiso simétrico de neurona motora inferior Alteraciones del L.C.R. (Aumento de proteínas y menos de 10 células) Exclusión otro tipo de patología

## ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS

Se revisaron 25 expedientes clínicos de pacientes pediátricos con diagnóstico de Síndrome de Guillain Barré que necesitaron ventilación mecánica y que fueron tratados en la unidad de Cuidados Intensivos del Hospital Escuela, correspondientes al período de Enero de 1984 hasta Septiembre de 1989, de los 25 pacientes estudiados el grupo de edad más afectado fueron los niños de 1-2 años (P 0,05) con un 44% de incidencia para ese grupo correspondiente a 11 niños. 7 pacientes pertenecían al grupo preescolar y un número igual al escolar la incidencia fue mayor en el sexo masculino (56%) que en el femenino (44%), observamos un incremento en el número de casos en el año de 1988 (Tabla No.1) año en el cual se presentaron 10 CASOS que representan el 40% de la muestra, un 48% (12 pacientes)

TABLA No. 1  
INCIDENCIA G.B. NIÑOS, INCIDENCIA DE PACIENTES CON G.B. QUE NECESITARON RESPIRADOR 1984-1989

	TOTAL PACIENTES G.B.	PACIENTES CON G.B. EN RESPIRADOR	%
1984	17	4	23.5
1985	16	4	25.0
1986	28	3	10.7
1987	34	1	4.8
1988	65	10	15.0
1989	23*	3	13.0
TOTAL	183	25	13.6

\* HASTA JULIO DE 1989  
HOSPITAL ESCUELA, TEGUCIGALPA, HONDURAS

SINDROME DE GUILLAIN-BARRE  
EN U.C.I. DEPTO DE PEDIATRIA  
INCIDENCIA ANUAL

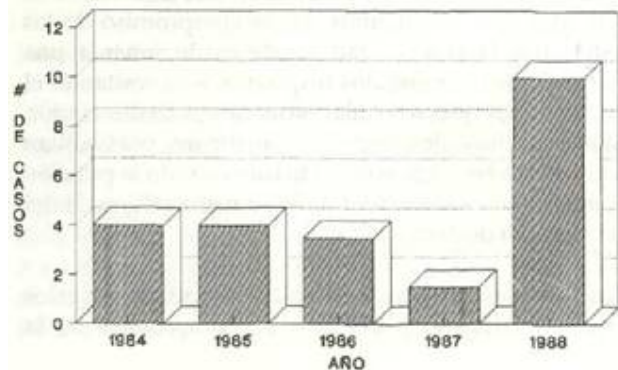


GRAFICO 1

tenían antecedentes de infección respiratoria previa y un 44% (11 pacientes) se les había aplicado recientemente vacunas (PS no significativa) ningún paciente tenía antecedentes de exposición a sustancias tóxicas y ninguno adolecía de una enfermedad subyacente. El 100% de los pacientes presentaron parálisis simétrica a su ingreso, en un 84% la parálisis fue de tipo ascendente. En 15 pacientes se investigó el antecedente de disfonía y la misma estuvo presente en 7 pacientes, los trastornos de la deglución fueron investigados en 13 pacientes de los cuales 5 tenían esta alteración a su ingreso. Las alteraciones neurológicas más frecuentemente encontradas fueron las siguientes: disminución de la fuerza en miembros inferiores 84%, disminución de la fuerza en miembros superiores 80%, ausencia de reflejo aquiliano y rotuliano en 84%, ausencia del reflejo bicipital en 72% y tricipital en un 64%. 2 pacientes presentaron edema de papila y 2 pacientes evolucionaron al estado de coma, mismos que se presentaron con un cuadro de evolución rápidamente progresiva con parálisis completa y que se comportaron clínicamente como síndrome de Locked in.

Analizando el tiempo transcurrido desde el inicio de los síntomas y la necesidad de ventilación mecánica vemos que 17 pacientes presentaban únicamente de 1 día de evolución uno o más los siguientes síntomas: debilidad muscular de miembros inferiores, debilidad de miembros superiores, dolores musculares o parestesias, muy pocos fueron los pacientes que presentando síntomas de más de 10 días de evolución tuvieron necesidad de ventilación mecánica.(Tabla N<sup>o</sup>.2).

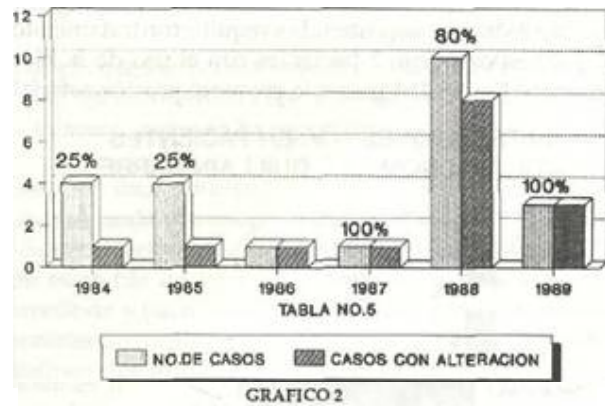
TABLA No. 2

S.G.B. TIEMPO TRANSCURRIDO DESDE EL INICIO DE LOS SINTOMAS HASTA LA NECESIDAD DE V. MECANICA

SINTOMA	DIAS DE EVOLUCION									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	>10
DEBILIDAD MUSC. INF.	5	2	3	3	3	2	2	3	-	1
DEBILIDAD MUSC. SUP.	6	4	3	1	2	2	1	-	-	2
DOLORES MUSCULARES	3	1	1	1	1	-	1	-	1	-
PARESTESIAS	3	-	4	-	1	1	1	-	-	1
<b>TOTAL</b>	<b>17</b>	<b>7</b>	<b>11</b>	<b>5</b>	<b>7</b>	<b>5</b>	<b>5</b>	<b>3</b>	<b>1</b>	<b>4</b>

A su ingreso a UCI 11 pacientes (44%) estaban hipoxémicos, 17 pacientes (68%) hipercápnicos y 14 pacientes tenían una acidosis metabólica no compensada. 8 de 25 pacientes presentaron la clásica disociación albumino citológica en el L.C.R (Tabla No.3). Con relación a la incidencia de fenómenos neurovegetativos los mismos se presentaron en 15 de los 25 pacientes estudiados para hacer una incidencia de 60% y fueron más frecuentes en el grupo de 1-2 años (53%), la mayor incidencia se presenta en el año de 1988 cuando 8 de los 10 pacientes ingresados en ese período presentaron este tipo de alteraciones. La taquicardia fue la alteración más frecuente presentándose en 14 pacientes (56%) (Gráfico 2 y 3).

PACIENTES CON S.G.B. CON FENÓMENOS NEURONEGATIVOS



PACIENTES QUE PRESENTARON FENOMENOS NEUROVEGETATIVOS DISTRIBUCION POR EDAD

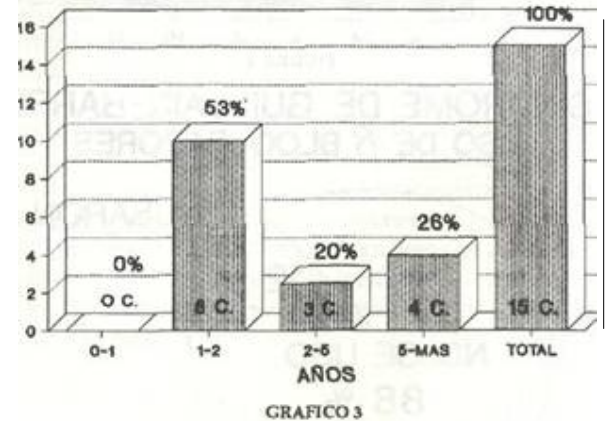
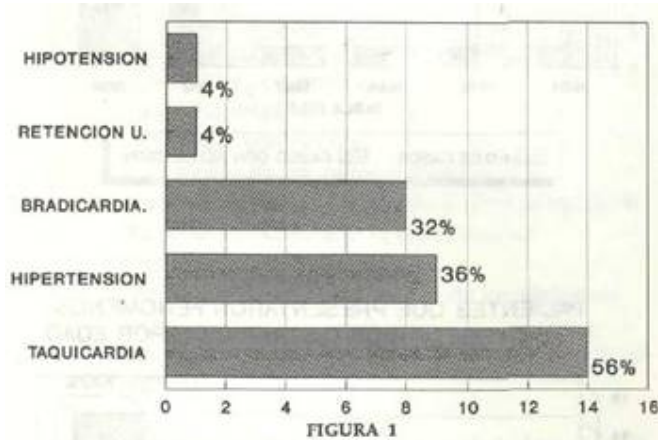


TABLA No. 3

ESTUDIO DEL L.C.R. EN PACIENTES CON S.G.B.				
No.	PROTEINA			DISOC. AL/C
	↓	NL	↑	
No.	0	13	8	8
%	-	48	32	32

8 pacientes presentaron bradicardia (32%), 9 pacientes presentaron hipertensión arterial (36%), 1 pacientes hipotensión (4%), y solamente 1 paciente presentó retención urinaria (Fig.N<sup>2</sup>.1). De los 9 pacientes que presentaron hipertensión arterial, 3 (33%) presentaron hipertensión arterial sostenida y requirieron tratamiento al que respondieron 2 pacientes con el uso de B. Bloqueantes (Fig.N<sup>2</sup>.2), 1 paciente presentó presión arterial



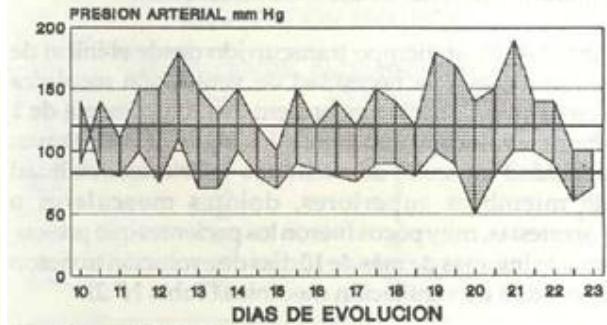
SINDROME DE GUILLAIN-BARRE  
USO DE  $\beta$  BLOQUEADORES



ALTERACIONES N.V. EN PACIENTES CON SÍNDROME DE GUILLAIN BARRE

rebelde a tratamiento empleado que incluyó el uso de B Bloqueantes (Propanolol Hidralacina J.V. Nifedipina y Captopril (Ver fig. No. 3). Los pacientes que ingresaron a UCI, requirieron ventilación mecánica, a 7 de ellos (28%) se les practicó traqueostomía, a 15 (60%) se manejaron en tubo E. T. vía nasotraqueal, 3 pacientes (12%) fueron intubados primero y posteriormente se les practicó la traqueostomía, la incidencia de complicaciones relacionadas con ambos procedimientos a corto y mediano plazo fue prácticamente la misma 40% para traqueostomía y 36% para intubación. El período requerido de ventilación mecánica fue tan corto como de una semana para 3 pacientes (12%) y tan prolongado (7 semanas) para otro igual número de pacientes (fig.<sup>2</sup>.4). un mayor número de pacientes 7 de requirieron ventilación mecánica por 2-3 semanas. A partir del año 1987 se realiza medición de volumen tidal a la mayoría de los pacientes a través del espirómetro de

REGISTRO DE LA PRESION ARTERIAL DE UNA NIÑA DE 2 AÑOS CON SINDROME DE GUILLAIN BARRE



NOTESE LOS INCREMENTOS DE LA P.A. SOBRE EL PERCENTIL 95 PARA SU EDAD  
FIGURA 3

TIEMPO DE VENTILACION MECANICA EN S.G.B.





observación importante es que 6 de los 8 pacientes que tenían 0 ml./kg. volumen tidal al cabo de la 3a. semana, murieron.

Con relación a la mortalidad encontramos una mortalidad global de 4.3% una mortalidad de UCI de 28% (7 pacientes) se analizaron los pacientes muertos por SGB encontramos que el 85.7% de estos (6 pacientes) presentaron fenómenos neurovegetativos y solamente hubo una defunción en el grupo de 10 pacientes que no presentaron estos fenómenos (fig. 5) la incidencia de estos fenómenos en los sobrevivientes fue de 50%.

Entre las causas de muerte encontramos 3 pacientes (42%) presentaron un arresto cardíaco súbito secundario a arritmia, un paciente se complicó con una neumonía grave por gramnegativo, otro paciente murió por falla del ventilador, uno por broncoaspiración y otro por obstrucción de la traqueostomía (Tabla No.4).

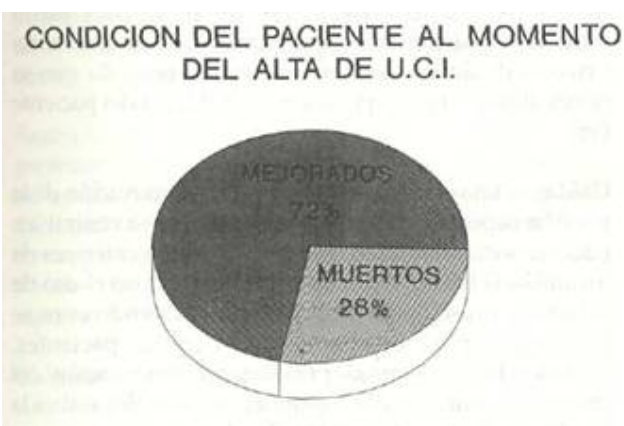


FIGURA 5

TABLA No. 4

CAUSAS DE MUERTE EN PACIENTES CON GUILLIAN BARRE

NEUMONIA	1
BROCOASPIRACION	1
OBSTRUCCION DE LA TRAQUEOSTOMIA POR TAPON DE MOCO	1
FALLA DE VENTILADOR MECANICO	1
ARRESTO CARDIACO POR ARRITMIA	3

## DISCUSIÓN

El SGB es una entidad común en nuestro medio, con la disminución de la poliomielitis, el SGB emerge como la causa más frecuente de parálisis motora aguda en niños (12,13), en el presente estudio la mayor frecuencia se presentó en lactantes mayores ( $P < 0.05$ ) como ya ha sido reportado por otros autores (9) y ningún caso se presentó en menores de 1 año, mismo hecho que ha sido reportado en la literatura internacional (1).

Se ha observado una mayor incidencia en el sexo masculino, hecho que no pudo demostrarse en este estudio ( $P > 0.05$ ). Encontramos un 48 de pacientes con antecedentes de infección respiratoria previa 44 % de pacientes tenían el antecedente de vacunación previa, datos no estadísticamente significativos en nuestro estudio pero relevantes en otros (9,2,28).

Tampoco se logró demostrar una relación entre el stress quirúrgico, enfermedades neoplásicas u otra patología subyacente como se ha reportado (9).

Siendo una enfermedad de aparición aguda caracterizada por un polineuroradiculopatía el 100 de nuestros pacientes presentaron parálisis simétrica, 84% de estas fue de tipo ascendente y se relaciona con arreflexia y fladdez en un mismo porcentaje, datos que concuerdan con lo publicado por otros autores (11) y que definen el cuadro clínico de la enfermedad. 2 de nuestros pacientes presentaron parálisis facial una incidencia muy baja comparada con la reportada (9,11,4) la debilidad de la musculatura facial existente en este síndrome frecuentemente no da anomalías lo bastante llamativas como para ser advertida por el paciente y debido a que la afectación es simétrica puede pasar inadvertida inicialmente por el médico salvo si se presta particular atención a la fuerza con que se cierran los párpados.

El edema de papila encontrado en 2 pacientes es una complicación rara que ha recibido considerable atención (30); en algunos casos se ha atribuido al edema cerebral existente simultáneamente a la neuropatía periférica o al incremento de la presión intracraneana por defectos en la absorción del líquido cefalorraquídeo secundario de alguna manera al elevado contenido de las proteínas de las mismas.

El síndrome puede presentarse con todos los grados posibles de gravedad desde un moderado grado de debilidad muscular que no requiere hospitalización hasta una parálisis flácida completa de las 4 extremidades con compromiso de la musculatura respiratoria que obligue la ventilación mecánica. El 100% de los pacientes que ingresaron a UCI requirieron ventilación mecánica. con relación al período transcurrido desde el inicio de los síntomas hasta la necesidad de ventilación mecánica observamos un hecho clínico de relevancia ya que la mayoría de los pacientes de nuestro estudio (17 de 25) presentaron una evolución rápidamente progresiva hasta la parálisis respiratoria de solamente un día por otro lado muy pocos pacientes con un cuadro neurológico de más de 10 días evolucionaron hacia la insuficiencia respiratoria y requirieron ventilación mecánica.

Esto sugiere que cuando la parálisis muscular asciende en forma rápida la posibilidad de que el paciente llegue a requerir soporte ventilatorio es elevada. El hecho de que 44% de los pacientes a su ingreso a UCI ya estaban hipoxémicos, y el 68 hipercapnics denota el compromiso de los músculos respiratorios que los obliga al uso de ventilación mecánica.

Solamente 8 de 25 pacientes presentaron la clásica disociación albumino-citológica en el L.C.R. descrita por Guillian y colaboradores quienes prestaron atención al elevado contenido de proteínas del L.C.R. y popularizaron la disociación albumino-citológica que ellos creyeron constante.

Esta disociación cuando la punción lumbar se lleva a cabo entre el día 10 a 19 se encuentra presente en un 100%; mientras que solo un 66% de los pacientes presentan esta alteración cuando el procedimiento se practica en la primera semana (28). En nuestro estudio la mayoría de las punciones lumbares fueron realizadas al ingreso al hospital y no fueron repetidas posteriormente.

Es importante resalten nuestro estudio el compromiso del sistema nervioso autonómico el que se presentó en 15 de los 25 pacientes para una incidencia de 60%, la mayor incidencia de éstos fenómenos en los últimos 3 años del estudio destaca el hecho de que en los últimos años se ha establecido una mejor vigilancia y se ha buscado este tipo de alteraciones.

La taquicardia fue la alteración más frecuente seguida de hipertensión arterial, bradicardia e hipotensión, nuestros datos son comparables con los de otros autores (1,2,3,4,9,23,24).

La disfunción autonómica ocurre en el SGB particularmente a aquellos que presentan debilidad de los músculos respiratorios (24), la hipertensión arterial ha sido asociada con falla respiratoria y 20% de mortalidad (1). Las anomalías del ritmo Cardíaco han sido reportadas hasta en un 20% de los pacientes (23). Una amplia variedad de complicaciones cardiovasculares han sido descritas (26) ellas incluyen hipertensión, hipotensión, bradicardias, asistolias, miocarditis, etc. Se describe inclusive el caso de un paciente que necesitó marcapaso permanente por prolongados y recurrentes episodios de asistolia. También se ha reportado arrestos cardíacos relacionados con cambios posturales y aspiración de tubo endotraqueal (2) crisis convulsivas secundarias a crisis hipertensivas acompañadas de trastornos de la motilidad gastrointestinal y arritmias, con una excreción urinaria de ácido vanil mandélico aumentada que se normaliza con la recuperación neurológica del paciente (16).

Caídas súbitas del gasto cardíaco con disminución de la presión capilar pulmonar y presión venosa central en pacientes debidamente monitoriados con catéteres de Swan Ganz (25). Arritmias ventriculares con el uso de relajantes musculares despolarizantes cuando estos se han usado para intubar a este tipo de pacientes, postulando que una prolongada denervación del músculo sensibiliza a la membrana celular llevando a la liberación de elevadas cantidades de potasio siendo este responsable de las arritmias en estos casos (27).

Se han descrito también alteraciones electrocardiográficas como aplanamiento del segmento ST en D III con inversión o aplanamiento de la onda T que revierte con el uso de Atropina, aumento del voltaje del QRS, prolongación del QT, desviación del eje a la izquierda. También se ha observado una reducción del intervalo R-R (6,23,2), indicando una afectación del nervio vago, estos trastornos son máximos entre la segunda y cuarta semana de iniciados los síntomas y la mejoría de estas anomalías está relacionada con la recuperación clínica. Las alteraciones EKG están relacionadas con la alteración de los nervios cardíacos y no son a tribuidas a miocarditis como se pretendía hacerlo en el pasado (24),

la hipertensión arterial, común en estos pacientes y producto de excesiva actividad simpática, se ha reportado hasta en un 61 % de incidencia (3,24), ha sido atribuida a una directa o indirecta estimulación de los nervios simpáticos renales por estimulación del sistema nervioso central y por liberación de catecolaminas (1).

como otra manifestación de esta excesiva actividad simpática se reporta una incidencia de taquicardia de 50% similar a los datos encontrados por nosotros, esta taquicardia responde al masaje del seno cardiaco. La sudoración profusa, otra manifestación frecuente, la hemos observado cuando se importuna al paciente o se les cambia de postura.

Una insuficiente actividad simpática manifestada por hipotensión postural sin taquicardia y diaforesis concomitante no se reporta en nuestro estudio como ha sido reportado por otros, quienes reportan hasta un 43% de incidencia, estos pacientes son asintomáticos mientras están en cama y a menos que adquieran la posición de pie, tosan, defecan o se exiten presentan debilidad, fatiga, sudoración y caída de la presión arterial con una falta de incremento del pulso (24).

Excesiva actividad parasimpática fue encontrada en 8 pacientes (32) de nuestros pacientes, habiendo necesidad de uso de Atropina en 5 de ellos con buena respuesta únicamente un paciente presentó retención urinaria con expresión de disfunción parasimpática la incidencia de este hecho clínico es variable según los reportes de la literatura (24).

Todos los pacientes que ingresaron a UCI requirieron ventilación mecánica. La incidencia del uso de ventilación mecánica fue de 15% inferior a la reportada por otros autores (9).

Un 60% de los pacientes fueron manejados con tubo nasotraqueal y un 28% con traqueostomía, el mayor número de pacientes manejados con tubo N.T. corresponden a los últimos 3 y esto se explica porque el personal de UCI ha adquirido más experiencia en el cuidado del paciente intubado. La incidencia de complicaciones fue similar en ambos grupos (entubados vrs. traqueostomizados) aunque las secuelas a largo plazo no fueron registradas.

El tiempo de ventilación mecánica fue variable, 7 de 25 pacientes recibieron soporte ventilatorio entre 15 y 21 días, y 3 de 25 pacientes por más de 49 días. El tiempo

de ventilación mecánica publicado por otros autores es también variable y no muestra ninguna tendencia. El 92% de los pacientes tenían reducido el volumen tidal a su ingreso lo que refleja el compromiso de los músculos respiratorios que los llevó a insuficiencia respiratoria y a la necesidad del uso de ventilación mecánica.

Llama la atención en nuestro estudio que de 6 a 8 pacientes tenían 0 ml/kg de volumen tidal a la 3a. semana de ingreso a UCI, murieron, hecho que no podemos pasar inadvertido ya que esta observación clínica puede considerarse como un factor de mal pronóstico en el SGB.

Analizando la mortalidad del grupo de pacientes estudiados en la UCI con relación a la incidencia general del síndrome esta fue de 4.3% similar a la reportada por otros autores (9) si obtenemos el porcentaje de mortalidad de los pacientes ingresados a UCI esta es de 28% (7 de 25), inferior a la reportada en otros países del rea (9,12).

La mortalidad en el SGB es reportada en varias series con grandes diferencias que oscilan entre 1.5 a 33% (7,15,31,9) siendo muy elevada cuando se hicieron los primeros reportes de la enfermedad, la mayoría de estas muertes se presentan en la fase aguda y están relacionadas con el compromiso respiratorio y trastornos vegetativos mismos hechos observados en nuestro estudio.

Si observamos por separado el grupo de 7 pacientes muertos observamos que el 85.7 de ellos presentaron fenómenos neurovegetativos, siendo la incidencia de esos fenómenos en los sobrevivientes de 50%, esto parece indicar que la incidencia de los fenómenos neurovegetativos es otro factor de mal pronóstico en el SGB como ha sido reportado por otros autores (1). Existe evidencia clínica que la desfunción autonómica es un factor crítico predisponente a la muerte súbita (25), proponiéndose el uso de monitorización invasiva con catéter de Swan Ganz para determinar precoz las caídas de la presión capilar pulmonar, hipovolemia súbita y caída del gasto cardiaco por disfunción autonómica,

**BIBLIOGRAFÍA**

1. Brinder Stpletón,MC.,Skoglund N.R.,Dagget Kobert B. Hipertensión associated with Guillian Barr Syndrome. *Pediatrics*. October 1978;62:588-590.
2. Frison Je, Sánchez I., Garnacho . et al. Heart rate variations in the Guillian Barr Syndrome. *British Medical Journal*, Sept.1980;281:649
3. Levy Richard. Parasympathetic dysfunction in Guillian Barr Syndrome. *JAMA* 1980;243:1895.
4. Criterios diagnósticos para el Síndrome de Guillian Barr. *MINCDS. JAMA* Oct1978;747-749.
5. Slavick Hillidrd. Fisher's - Innom ductid with Epstein Barr Virus. *Arch. Neurol.*19138:134-135.
6. Palferman TG, Wright I, Dojle D.V. Electro Cardiographic abnormalities and autonomic dysfunction in Guillian Barr Syndrome. *British Medical Journal* 1982;284:1231-1232.
7. Miller Robert. Guillian Barre Syndrome,current methods of diagnosis and treatment. *Postgraduate Medicine*. May 1985; 77:57-64.
8. James DJck, Daube Jasper, O'brien Peter et al. Plasma exchange in chronic inflammatory demyelinating poly radiculoneuropathy . *The New England Journal of Medicine*. Feb.1986;314:461-465.
9. Sell Fernando, Mora Viela,Leon Carlos. Polineuritis infecciosa aguda. *Rev. Med. Hosp., Hosp. Nac. Niños de Costa Rica*. 1981; 16:59-76.
10. Osterman P.O., Fagi us J , Ecarly relaspres after plasma exchange in acute inflammatory polyradiculoneuropathy. *Lancet* 1986; 15:1161.
11. Criterios clinicos para mejorar el estudio de casos de parálisis flaccida en menores de 15 años. *Cuaderno Técnico No. 6 PAL OPS*, 1987.
12. Primera Reuición Centroamericana de Neurólogos Pediatras para la erradicación de Poliomiélitis. Informe Final. Guatemala Abril 1989.
13. Zelaya Riña. Informe preliminar sobre el estudio de 78 casos sospechosos de poliomiélitis durante 1988.
14. Rodríguez J.F.,York EX. and Nair P.V. Lipper airway obstrucción in Guillian Barré Syndrome. *Chest* jul 1984; 86:147-148.
15. Colé G. Fand Mattheu D. J. Prognosis in severe Guillian Barré Syndrome. *Archives of diseases in childhood*. 1987; 62:288-291.
16. Duillan J.J., Bullock R.E. Extreme labile blood pressure in Guillian Barr Syndrome. *lancet*. July 1986;16:172-173.
17. Cosnett J.E., Wardrop. Landry Guillian Barré strohl. *Lancet* 1987; 11:861-862.
18. Fish Alain,Przuck Thierry, Shlemmer Benoit et al. Acute polyradiculitis associated with typhoid fever. *The Journal of infectious diseases*. 1988; 157:1280.
19. Albala Maurice, Me. Namara Eillen, Sokol Michael. Improvement of Neurologic function in chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropatia following intravenous gamma globulin infusión. *Arch Neurol*.1987; 44:248.
20. Sovilla Jen Yves,ReglJ Franco,Francida Patrick,Guillian Barr Syndrome following eyeyuni enteritis. *Arch. Int. Mcd*. 1988; 148:739-741.
21. K Noedler John M, and Niewoehner Dennis. Delayed recovery from parálisis due to the Guillian Barr Syndrome. *Chest* 1981; 80:119-120.
22. Mech Vander,Vermeulen Me Patterns of Conduction. Failure in the Guillian Barre Syndrome. *Brain* 1988; 11:403-416.
23. Oakey Celia. The heart in the Guillian Barre. *British Medical Journal* 194; 288:94.

24. Lichtenfeld Peter MD. Autonomic dysfunction in the Guillian Barre Syndrome. The American Journal of Medicine 1971; 50:772-780.
25. Wentraub Michael. Auonomi failure in Guillian Barre Syndrome. Value of Swan Ganz catheterization. JAMA 1979; 242:513-514.
26. Marayan Bev., Huan MITch, Matneu P.K. et al. Bradycardia y asystole requiring permanent pacemaker in Guillian Barré Syndrome. American Heart Journal. 1984; 108:426-427.
27. Grant Ian WB and Graham Crompton. The heart in the Guillian Barré Syndrome. British Medical Journal. 1984; 288:483.
28. Ordoñez Nelson, Potes Jaime, Palacios Eduardo et al. Fisiopatología de la Polirradiculopatía idiopática aguda (Syndrome de Guillian Barré). Revisión clínica de 173 casos. Trabajo preliminar presentado en el II Congreso Nacional de Ciencias Neurológicas, Cali, Colombia 1971.
29. Briscole D.M., Me Menamin JB and O'Donohoe NV. Prognosis in Guillian Barré Syndrome. Archives of diseases in childhood 1987;62:733-735.
30. Buchsbaum H.W. and Gallo A. EJ. Polineuritis papi lledemo and lumboperitoneal shunt. Arch. Neurol. 1969; 21:253-257.
31. Winer JB., Hugher RA, Greenwood rS, Perkin GD. Prognosis in Guillian Barré Syndrome. Lancet 1985; 25:1202-1203.
32. Conzáles Saldaña Napoleón, Andrés Noe Torales, Demostenes Gomes. Infectología Clínica Pediátrica, 3a.edición México 1987, 295-307.
33. Adams J Gibson J. H1A antigen in Guillian Barré Syndrome. Lancet 1977; 2:504.
34. Mantel Nathan, RE: an epidemiological and clinical evaluation of Guillian Barré Syndrome reported in association with the administration of Swine Influenza Vaccine. American Journal of Epidemiology **1985;121**: 620-621.
35. Hughes RA, Neuson Davis JM, Perkin GD et al. Controlled trial of prednisone in acute polyneuropathy. Lancet 1978; 2 (8093): 750-753
36. Shahar Eli, Gordon Murphy and Chain Raifman. Benefit on intravenously administered immune serum globulin in patients with Guillian Barre Syndrome. The Journal of Pediatrics 1990;116:141-144.

---

# Donación Voluntaria de Sangre y Derivados en el I.H.S.S.

## "Un Modelo de Auto-Abastecimiento Institucional"

---

*Dr. Salomón Grinspan\*, Dr. Samuel Garda\*\*, Dra. Suyapa Molina'*

---

### RESUMEN

Para garantizar la obtención de sangre y derivados de calidad óptima y así disminuir la incidencia de enfermedades infecciosas post-transfusionales, el I.H.S.S. de Tegucigalpa inició en abril de 1990, un programa de promoción y obtención de sangre de donador familiar voluntario, suprimiéndose al donador pagado (profesional).

En el estudio realizado en abril 1990 a marzo 1991 (12 meses) se demostró que es posible auto-abastecerse con donación voluntaria en ms del 90% de las necesidades de la institución.

Se determina además la incidencia de seropositividad por Hepatitis B, VIH y Chagas en donadores familiares voluntarios y la proporción de componentes (derivados) sanguíneos utilizados. Creemos que este modelo y el utilizado por el Centro de Sangre de la Cruz Roja Hondureña constituirán el eslabón para que en el resto del país se funcione bajo un sistema nacional homogéneo de donación aprovisionamiento y utilización de sangre

---

(\*) Profesor Titular 111, UNAH, Facultad de Medicina  
Depto. de Patología, Jefe, Servicio de Banco de Sangre  
e Inmunohematología, I.H.S.S.

(\*\*) Presidente Ejecutivo, I.H.S.S.

(\*\*\*) Director Unidad Médico Quirúrgico, I.H.S.S.

y derivados o sea que la sangre y derivados no sean objeto de lucro y/o comercialización.

### INTRODUCCIÓN

Sangre y sus derivados son drogas o productos de origen biológico; en consecuencia su administración es similar a realizar un transplante de tejido o administración de una droga peligrosa. Lleva consigo riesgos y beneficios. Por consiguiente el producto que se transfunde debe ser de buena calidad para lo que es necesario que el donador esté en condiciones óptimas, El donador voluntario, elemento básico de un Banco de Sangre debe ser sometido a las normas y/o reglamentos de selección, con los que se permite garantizar un buen estado de salud del donante y prevenir así la transmisión de enfermedades y efectos adversos post-transfusionales.

Es bien conocido el mayor riesgo de transmisión de enfermedades post-transfusionales, Ej: SIDA, Hepatitis Viral B, Hepatitis Viral C y Chagas en donadores pagados (profesionales) en comparación con donadores voluntarios aun realizándose las pruebas serológicas pre-transfusionales. Por ejemplo, la prueba de VIH es negativa durante el período de ventana de la enfermedad, durante la cual, sin embargo, la enfermedad puede ser transmitida.

Especial atención merece la Hepatitis Viral C (no A- No B) que constituye la complicación más frecuente de transfusión; en efecto más del 95% de las hepatitis post-transfusionales son Hepatitis C. Estudio reciente demostró incidencia de Hepatitis C post-transfusional en pacientes transfundidos de 2.35% (1). La incidencia se considera que es mucho mayor cuando se utilizan donadores pagados. La prueba por Hepatitis C ha sido recientemente introducida en U.S.A. para todo donador de sangre. Por los costos relativamente altos y la falta de pruebas de confirmación todavía no se utiliza de rutina para donadores en el país. En la actualidad la enfermedad se mide indirectamente, realizando determinaciones de ALT (Aspartato Alanina Transferasa) en los donadores. Finalmente, considerando las múltiples desventajas de sangre total (almacenada), como ser: niveles altos de potasio, fosfato, amonio, mayor concentración de virus, sobrecarga de volumen, et; su uso ha sido casi eliminado y sustituido por derivados sanguíneos.

En los bancos de sangre en la mayoría de los países, las unidades de sangre son fraccionadas y separadas en sus componentes. Con esto se logra darle al paciente lo que necesita y permite practicar una terapia médica transfusional racional.

### MATERIAL Y MÉTODOS:

Utilizados los libros de registro y control de Banco de sangre del I.H.S.S. se realizaron los siguientes estudios:

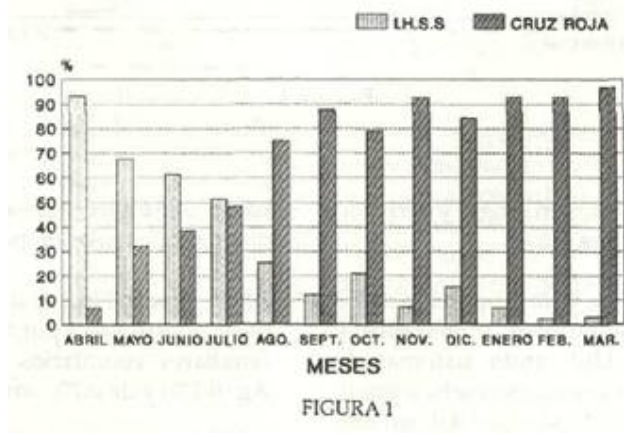
- Comparación de la donación familiar voluntaria de sangre y derivados preparados en el I.H.S.S. de Tegucigalpa con la obtenida del Centro Nacional de Sangre de la Cruz Roja.
- Proporción de derivados sanguíneos preparados y utilizados en el I.H.S.S.
- Incidencia de seropositividad por HBs Ag, (método de Elisa) anticuerpos VIH (método de Elisa) y Chagas (método de hemaglutinación indirecta) en donadores voluntarios familiares.

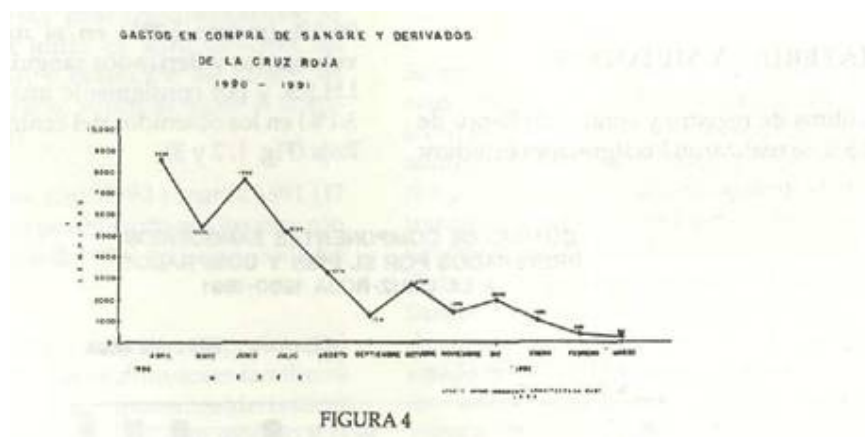
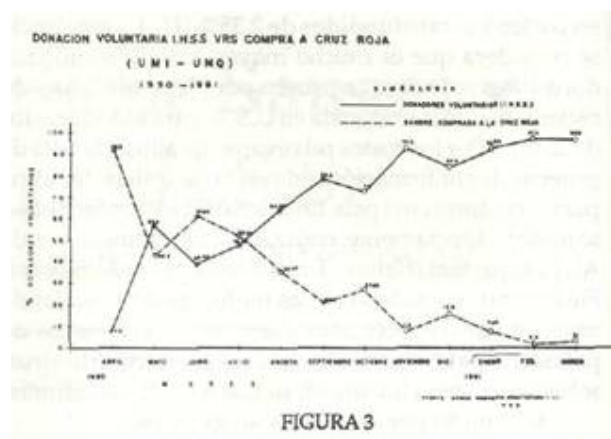
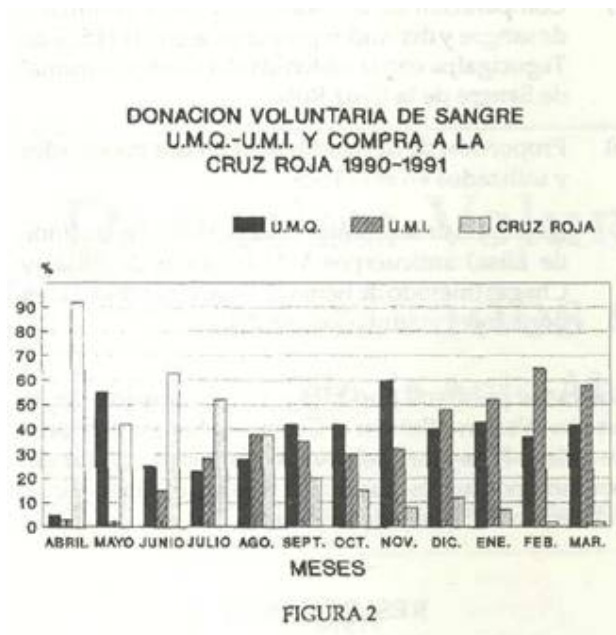
Los casos positivos por VIH son confirmados con la prueba Western Blott en el Centro de Sangre Nacional de la Cruz Roja y los positivos por Chagas se confirman por Inmuno-fluorescencia indirecta en los laboratorios del Centro de Salud Alonso Suazo.

### RESULTADOS:

Durante el periodo 1990 -1991 (2 meses) se obtuvieron un total de 1,179 donadores voluntarios (UMQ y UMI). Hubo un incremento de 7.7% (al inicio del programa) a 96.9% (marzo 1991) en el número de donadores voluntarios y derivados sanguíneos preparados en el I.H.S.S. y por consiguiente una disminución (92.3% a 3.1%) en los obtenidos del centro de Sangre de la Cruz Roja (Fig. 1,2 y 3).

CUADRO DE COMPONENTES SANGUINEOS PREPARADOS POR EL IHSS Y COMPRADOS A LA CRUZ ROJA 1990-1991





Los costos por concepto de gastos en sangre y derivado disminuyen en un 97.5% (figura No.4).

En el cuadro No.1 y gráfica 1 se ve la proporción de los diferentes componentes sanguíneos preparados y utilizados por el I.H.S.S. Utilizando sistemas de concientización, información y educación se ha logrado disminuir ligeramente el uso de sangre total, sin em-

bargo, este último sigue utilizando en mayor proporción que glóbulos rojos empacados.

En el cuadro No.2 se ilustra la baja incidencia (0.08%) de seropositividad por anticuerpos VIH en donadores familiares voluntarios, ligeramente mayor por HBs Ag (0.3%) y de 0.7% por anticuerpos para Chagas.



CUADRO No. 1 COMPONENTES

## SANGUÍNEOS PREPARADOS EN EL I.H.S.S.

COMPONENTE SANGUÍNEO	1990					1991							Total	%
	Abril	Mayo	Junio	Julio	Agosto	Sept.	Oct.	Nov.	Dic.	Ene.	Feb.	Mar.		
	(Número de unidades)													
Sangre total	13	59	66	32	44	42	41	103	50	81	67	72	670	32.6
Conc. globular	-	25	35	30	54	54	66	64	52	59	60	53	408	19.8
Plasma líquido	-	1	1	-	-	19	11	34	8	21	13	10	108	5.2
Plasma fresco	-	2	2	28	53	33	45	28	35	36	42	41	341	16.5
Crioprecipitado	-	49	-	3	14	5	10	33	24	21	31	10	96	4.7
Concentrado plaquetario	-	49	-	3	7	32	43	69	28	12	34	64	437	21.2

(Marzo 1990 - Abril 1991)

**DISCUSIÓN:**

Mediante un programa de concientización adecuada en los donadores voluntarios familiares del I.H.S.S. de Tegucigalpa, los estudios de 12 meses (abril 1990 - marzo 1991) demostraron el auto-abastecimiento de la institución (UMI\*y\*UMQ) en mas de un 90% de sus necesidades.

Con lo anterior se obtiene un producto de calidad óptima para el beneficio del derecho-habiente y per-

mite realizar una mejor terapia médica. La incidencia de seropositividad por VIH, HBs Ag y Chagas es baja en dicha población.

La incidencia de Hepatitis C (no A - no B) que constituye la mayoría de las enfermedades post-transfusionales disminuye considerablemente con el uso de donación voluntaria.

Se ha planificado para los próximos meses incorporar la prueba por Hepatitis C en los donadores de sangre. Se inició también un programa de preparación y separación de los diferentes derivados sanguíneos junto con un programa de concientización para su uso.

El objetivo es limitar y/o eliminar el uso de sangre total (almacenada), proporcionar al paciente el componente que necesita, practicándose así una mejor medicina transfusional.

Con la implementación del reglamento de aprovisionamiento y utilización de sangre y derivados en el país; así como las normas para el funcionamiento de los Bancos de Sangre y Servicios de Transfusión, se espera que la no comercialización de la sangre y derivados y el uso de donación voluntaria se generaliza en el país.

CUADRO No. 2

SEROPOSITIVIDAD POR VIH, HBs Ag  
y CHAGAS

(1,179 donadores)

Seropositividad	No.	%
VIH (anticuerpos)*	1	0.08
HBs Ag*	4	0.3
Chagas (anticuerpos)**	8	0.7



### BIBLIOGRAFÍA

- 1.- G. Sirchia, A. M. - Giovanette A. Parra vicini, A. Bellobuono, F. M02zi, MN. Pizzi and D. Almini, "Prospective evaluation of post-transfusion **hepatitis** Transfusión, Vol. 31, No. 4, 299-302, mayo 1991.
- 2.- Forbes J. M. Anderson, G.F., Anderson G.C., B Bleecker, E.C. Rossi, Mos, G.S., "Blood Tranfusion costs: a Multicenter Study, Transfusión, Vol. 31, No. 4, 318-323, mayo 1991.
- 3.- C. Richards, P. Holand, K. Juramoto, C. Couville and R. Randell, "Prevalence of antibody to Hepatitis C Virus in a blood donor population", Transfusión, Vol. 31, No.2,109 -113,1991.
- 4.- Schmidt. P.J., Samis CT, Gregory K.A., Lepare G.F., "Rational Reduction in Pre-transfusion Testing", Laboratory Medicine, vol. 17, No.8,467- 470, 1986.
- 5.- Lauenstein K. J., Martin BG, Winkelman J. Wm "Modifications for Expense Reduction; Part 1. Blood Bank", Laboratory Medicine, Vol. 15, No. 9,609-613,1984.
- 6.- Flinstone SM, Hoofraglc J. H., "Non-A, Maybe B Hepatitis, The New England Journal of Medicine, Vol, 311, No.3,185 -188,1984.
- 7.- Technical Manual, American Association of Blood Banks, 10a. Edición, 1990.

# Leishmaniasis Visceral en Niños

## La Experiencia en 35 casos

---

Dr. Aliño López, \* Dra. Clara A. de Molina, \*\* Dr. Agustín Bueso, \*\*\* Dr. Fructuoso Fuentes M.

---

### RESUMEN

Presentámoslos **resultados de** una revisión retrospectiva de los 35 casos confirmados de Leishmaniasis Visceral en niños menores de 13 años diagnosticados en el bloque Materno Infantil del Hospital Escuela, durante el período de Enero de 1983 a Julio de 1990. Se diagnosticaron un promedio de 3 niños con Leishmaniasis Visceral durante los años de 1984 a 1987, pero la incidencia aumentó marcadamente durante los últimos meses que abarcó el Estudio, cuando se diagnosticaron 22 casos. El 95% provenían de la región centro-sur distribuyéndose en los departamentos de Francisco Morazán (38%), Valle (26%), Choluteca (17%) y El Paraíso (14%). Los hallazgos más frecuentes al examen físico fueron, la palidez, la fiebre, y la hepato-esplenomegalia descritas en el 100% de los pacientes. En el hemograma inicial se constató compromiso de las tres series, todos los niños cursaban con anemia y de éstos el 40% con niveles de hemoglobina menores de 7gr/dl, leucopenia y trombocitopenia en el 70 y 55% respectivamente. El método de diagnóstico más confiable, resultó ser el aspirado de médula ósea, pues permitió mediante coloración o cultivo el hallazgo del protozoo en el 97% de los casos.

---

Pediatra Hospital Escuela Bloque Materno Infantil.  
Pediatra Ex-Residente Hospital Materno Infantil  
Residente III Pediatría Hospital Materno Infantil

El único tratamiento empleado fue la N-Metigluamina (Glucantime), en un 91% de curación, únicamente 3 niños requirieron un segundo ciclo por mala respuesta clínica.

Un niño falleció poco después de su ingreso y no alcanzó a recibir tratamiento. Se concluye que la procedencia de una área endémica y hallazgos como fiebre, anemia y hepato-esplenomegalia deberán hacernos sospechar esta enfermedad.

### INTRODUCCIÓN

La Leishmaniasis Visceral Infantil (LVI), es una enfermedad infecciosa crónica, causada por el protozoo o hemoflagelado *Leishmania donovani*.

El insecto vector es el simúlido *Lutzomyia longipalpis* y está clasificada por la OMS como una zoonosis, ya que los mamíferos actúan como huéspedes reservorios (en nuestro medio más frecuentemente, los perros).

Tiene una distribución mundial y el clima de ciertas regiones de nuestro país le es propicio para tornarse endémica.

La Leishmaniasis Visceral en Honduras ha sido estudiada y publicada. Hacemos éste Estudio con el propósito de actualizar la experiencia acumulada durante siete y medio años en el diagnóstico y tratamiento de ésta enfermedad en niños que acuden espontáneamente y que son remitidos a éste Hospital.

**MATERIALES Y MÉTODOS**

Se revisaron retrospectivamente todos los expedientes clasificados bajo el diagnóstico de Leishmaniasis Visceral en niños menores de 13 años en el Bloque Materno Infantil del Hospital Escuela, durante siete y medio años (Enero 1983 a Julio 1990), procediendo a analizar finalmente los 35 casos que pudieron ser confirmados mediante identificación directa, cultivo y/o seroaglutinación y descartando aquellos en los cuales por alguna causa no pudo confirmarse éste diagnóstico.

Analizamos la procedencia de los pacientes, las manifestaciones clínicas, los métodos de diagnóstico utilizados, los hallazgos laboratoriales y su evolución luego del tratamiento con antimoniales pentavalentes.

**RESULTADOS**

Durante los primeros 5 años que comprendió el Estudio, se diagnosticaron solamente 35% de los casos, mientras durante los últimos 30 meses se confirmaron el 65%.

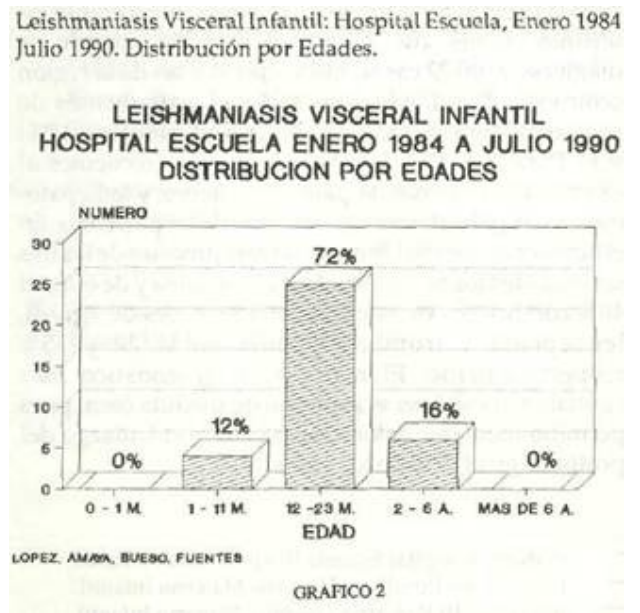
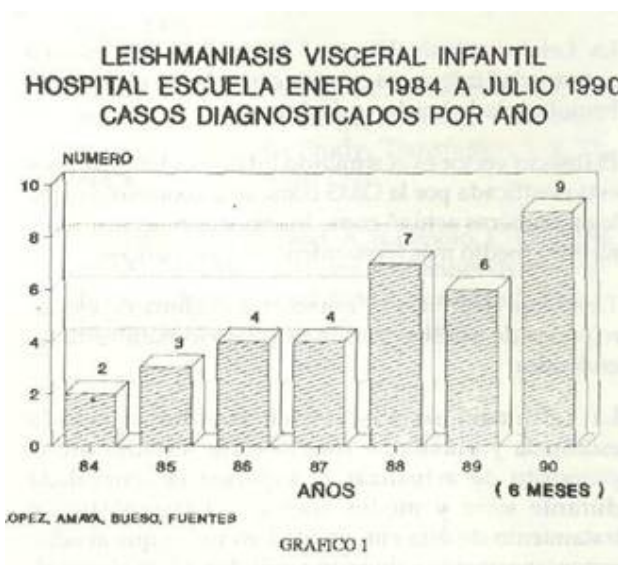
En el período comprendido entre Enero de 1984 hasta Diciembre de 1987, el promedio de casos confirmados en el Bloque Materno Infantil del Hospital Escuela de Leishmaniasis Visceral Infantil fue de 1 cada 4 meses, pero ascendió en el período de Enero de 1988 a Julio de 1990 a un promedio de casi 1 por mes. (Gráfica 1).

La distribución entre ambos sexos fue semejante habiéndose confirmado el diagnóstico en 17 paciente; del sexo masculino y 16 en el femenino. El grupo etario en el que se hizo el diagnóstico más frecuentemente lo constituyeron los lactantes, con un 82% de los casos y entre éstos, los comprendidos entre los 12 - 23 meses con 71 %. El niño con menor edad entre los afectados contaba al momento del diagnóstico con 4 meses y el mayor con 6 años, no encontrando casos entre pacientes recién nacidos ni en edad escolar, (cuadro 1,

**CUADRO # 1**

EDAD	No.CASOS	%
0 - 1 MES	0	0
1 - 11 MESES	4	12
12 - 23 MESES	25	72
2 - 6 AÑOS	6	16
MAYOR DE 6 AÑOS	0	0
<b>TOTAL</b>	<b>35</b>	<b>100</b>

gráfica 2)



Los departamentos con mayor número de casos fueron, Francisco Morazán con 13 casos (38%), Valle con 9 (26%), Choluteca con 6 (17%), El Paraíso con 5 (14%) y finalmente Olancho e Intibucá con un caso cada uno (5%). (Figura 1)



En la anamnesis al momento de su ingreso la totalidad de los pacientes refirieron fiebre, palidez y la presencia de masa abdominal que correspondía a hepato-esplenomegalia.

La fiebre resultó de evolución muy variable: desde 8 días (un caso) hasta 7 meses (también un caso), pero el 50% tenía entre 1 y 3 meses de presentarla. El promedio de evolución de la fiebre antes de su ingreso fue de 21 / 2 meses. En el 100% de los casos se corroboró durante las primeras 24 horas intrahospitalarias.

También en la totalidad de los casos se constató la palidez y la visceromegalia. Se encontró aumento del tamaño tanto del hígado como de bazo en los 35 niños, con un rango entre los 3 y 8 cms. bajo el borde costal para el hígado y entre 3 y 12 para el bazo.

Solamente en un paciente se consignó hepatomegalia mayor que la esplenomegalia. Otros signos descritos fueron el aumento del perímetro abdominal (94%), pérdida de peso (87%), dolor abdominal (64%), vómitos (21%), ictericia y petequias en un paciente.

Solamente 3 niños tenían un peso adecuado para su edad, presentando el resto distintos grados de desnutrición, distribuidos como lo muestra el Cuadro #2: (Gráfica 3)

CUADRO # 2

ESTADO NUTRICIONAL	No. CASOS	%
EUTROFICO	3	9
DESNUTRICION GRADO I	2	6
DESNUTRICION GRADO II	25	70
DESNUTRICIÓN GRADO III	3	9
NO CONSIGNADO	2	6
<b>TOTAL</b>	<b>35</b>	<b>100%</b>

Leishmaniasis Visceral Infantil: Hospital Escuela, Enero 1984 Julio 1990. Distribución por Estado Nutricional.

LEISHMANIASIS VISCERAL INFANTIL HOSPITAL ESCUELA ENERO 1984 A JULIO 1990 DISTRIBUCION POR ESTADO NUTRICIONAL

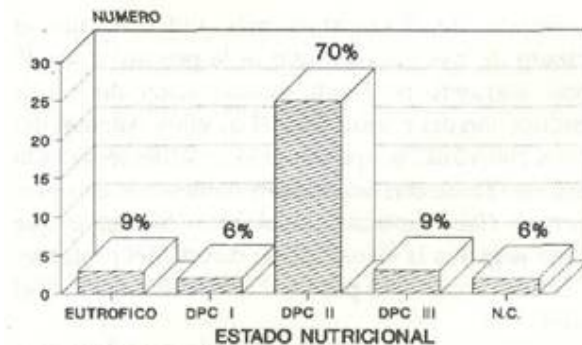


GRAFICO 3

Respecto a los hallazgos en la biometría hemática se encontró la hemoglobina entre 7 y 10 gramos/dl en el 57% de los casos y por debajo de 7 gr/dl en el 39%. Sólo un niño presentaba un valor superior a 10 gr/dl y sin embargo mostraba palidez. Dos niños cursaban con valores de 2 gr/dl. Leucopenia se encontró en 24 pacientes (70%), trombocitopenia en 19 (55%), mientras en otros 10 se reportaron en el frotis de sangre periférica "plaquetas disminuidas" pero sin recuento.

Para los 34 pacientes que egresaron vivos la mínima estancia hospitalaria fue de 15 días y el máximo de 35.

### EVOLUCIÓN POST-TRATAMIENTO

**FIEBRE:** Como promedio la fiebre desapareció en el transcurso de las dos primeras semanas de tratamiento de Glucantime (en 18 desapareció durante la primera semana y en 15 durante la segunda).

**HEPATOMEGALIA:** Al finalizar el tratamiento, 20 niños tenían un hígado de menor tamaño que al momento del ingreso, sin llegar a la normalidad, en 11 no se consignó la evolución de la hepatomegalia, en 2 desapareció y 2 egresaron con igual tamaño.

**ESPLENOMEGALIA:** En 22 niños (63%) tamaño del bazo disminuyó pero sin llegar a la normalidad, en 3 no se consignó la evolución y en los restantes (29%) no se modificó.

**ANEMIA:** Al momento del alta solamente 2 pacientes tenían hemoglobina menor de 7gr/dl, 16 tenían hemoglobina mayor de 10gr/dl y 16 la tenían entre los 7 y 10gr/dl. El restante no se contabiliza por haber fallecido. Varios de ellos requirieron transfusiones sanguíneas.

**LEUCOPENIA:** Los valores de glóbulos blancos se normalizaron en 20 de 24 niños en quienes se practicaron controles.

**TROMBOCITOPENIA:** Se normalizaron los valores en 17 de 22 pacientes a los que se les solicitó recuento de control, los restantes se persistieron por debajo de los 150,000/mm<sup>3</sup>.

### CONTROL EN CONSULTA EXTERNA

De los 34 pacientes egresados 14 (41 %) no regresaron a control, ignorándose su evolución. De los que acudieron sólo uno tuvo reactivación de la Leishmaniasis comprobado por nuevo frotis de aspirado de médula ósea. Se trataba del mismo niño que había contraído el SIDA y cursaba además con múltiples procesos infecciosos concomitantes. En 23% de ellos se constató ganancia ponderal. En ninguno se practicaron exámenes laboratoriales de control. Ninguno acudió a más de un control ambulatorio pese a que se les extendió cita.

### DISCUSIÓN

Las publicaciones sobre Leishmaniasis Visceral no son precisamente frecuentes. En éste Estudio se recolectó un importante número de casos confirmados de Leishmaniasis Visceral Infantil (LVI), la cual se sabe comienza a originar crecientes problemas de Salud Pública en todo el orbe, siendo hasta hoy insuficientes los esfuerzos para combatirla.

El comité de expertos de la OMS ha lanzado un llamado de alerta a nivel mundial ante la creciente propagación de la Leishmaniasis, resaltando el hecho de que la ignorancia de la verdadera prevalencia de ésta enfermedad y la subestimación del consumo de recursos y del sufrimiento que causa, obstaculiza la lucha en su universalmente válida para combatirla y en Honduras no ocurre lo contrario.

Para fines del Estudio se extrajeron de los expedientes, datos de relevancia como ser el hecho de que el grupo etario más frecuentemente afectado es el de los lactantes, lo cual concuerda con estudios previos que se interesaron en éste dato (1,5,6,7,8).

Más aún resulta alarmante la alta incidencia entre lactantes de 12-23 meses respecto a los demás grupos. Como ya lo consignaron Nevin, Custodio y cols (1) es difícil establecer porqué los niños de tan corta edad tiene mayor riesgo de adquirir la Leishmaniasis Visceral. Se sabe que el contacto entre el hombre y el vector aumenta cuando se duerme al aire libre o se hacen visitas temporales a zonas con flebotomos infectados.

Las viviendas de áreas rurales del sur de Honduras son construidas de manera que existan grandes grietas en sus paredes o se acumulan grandes cantidades de leña en sus alrededores, son húmedas y están cerca de bosques en donde abundan los criaderos de flebotomos. Todos éstos son factores contribuyentes, pero permanece sin respuesta clara, el hecho del porqué la zona sur es donde existe el foco más importante de ésta enfermedad, siendo que las condiciones para su propagación parecen ser óptimas en extensas áreas de nuestro territorio.

El número de casos de Leishmaniasis Visceral entre niños del sexo masculino fue ligeramente mayor que entre los del sexo femenino.

Dos estudios previos en nuestro país con una característica importante (1,6), revelaron predominio de casos entre el sexo femenino, en cambio nuestro hallazgo es similar al reportado en países como la India (9) e Italia (8).

Resulta evidente que la enfermedad no respeta sexo y ataca ambos por igual.

El hecho de encontrar fiebre, palidez y hepato-esplenomegalia en la totalidad de los casos tiene apoyo en la fisiopatología de ésta enfermedad en la que la hiperplasia reticuloendotelial afecta el bazo, hígado, médula ósea y demás tejidos linfoides al estar parasitados muchas de éstas células la hematopoyesis es al inicio normal pero poco después se abrevia la vida de los granulocitopenia y tendencia al sangrado. El parasitismo crónico provoca justamente una fiebre de éste tipo. (7)

La literatura reporta hallazgos constantes en niños con Leishmaniasis Visceral, como ser la función hepática normal, la hiperglobulinemia y la hipoalbuminemia (7). Los hallazgos de nuestro Estudio apoyan estos datos, pero lastimosamente no hay estandarización para la solicitud de éstos análisis en niños sospechosos de Leishmaniasis Visceral en el Hospital.

No se utiliza en la institución la técnica de aspirado de material esplénico para confirmar el diagnóstico pese a que tiene hasta un 98% de positividad (7), pero en cambio se practica de rutina la coloración y el cultivo de aspirado de médula ósea con una excelente sensibilidad y especificidad por lo que recomendamos su empleo, ante la sospecha de LVI.

Respecto al tratamiento se sabe que en proporción con su peso, los niños necesitan más antimonio pentavalente que los adultos y lo toleran mejor. La OMS recomienda como terapia inicial para LVI una inyección diaria de antimonio pentavalente de 20 mg/Kg hasta un máximo de 850 mg y con una duración mínima de 20 días. (7)

Nuestra Experiencia. López y col. (6) en su reporte de 25 casos en ésta misma institución en el período de

1978 a 1982, constató altas tasas de curación sin reportar casos de intoxicación, utilizando Glucantime a dosis de 30mg/Kg/día en los 2 primeros días y luego 60 mg/Kg/día por los siguientes 12 días. Los hallazgos del presente Estudio reafirman la buena tolerancia de los niños a éste fármaco y las altas tasas de curación obtenidas.

A diferencia de lo que sucede con el antimonio trivalente, la rápida excreción renal del antimonio pentavalente, así como su acumulación limitada, hacen innecesario interrumpir el tratamiento con periodos de descanso por temor a toxicidad acumulativa. (7)

Los resultados nivelan serias deficiencias en el seguimiento ambulatorio de éstos pacientes. Las recomendaciones al respecto son, que deben vigilarse semanalmente el peso, tamaño del hígado y bazo, niveles de hemoglobina y en el mejor de los casos el registro diario de la temperatura.

Otros índices de mejoría son el aumento de la albúmina sérica y recuentos mayores de neutrófilos, eosinófilos y linfocitos. (2,8).

Suponemos que la mala situación económica impide a las familias viajar a controles periódicas para brindarle a éstos niños un adecuado seguimiento.

Finalmente creemos que la LVI puede llegar a constituir un problema de Salud Pública en nuestro país, ya que su frecuencia a aumentado en forma alarmante en los últimos años pese a que debe existir un enorme subregistro de casos debido a que la enfermedad afecta a personas que viven en zonas rurales, casi incomunicados, pobres y que no siempre estarán en disposición de viajar largas distancias para poder ser diagnosticados y tratados.

El médico hondureño deberá familiarizarse cada vez más con ésta patología y tenerla siempre presente en lactantes provenientes del área sur y cuyos síntomas principales sean fiebre, palidez, y hepato-esplenomegalia.

## LEISHMANIASIS VISCERAL EN NIÑOS

## TRATAMIENTO

## N-METILGLUCAMÍNA (GLUCANTIME)

## ESQUEMA:

30mg/kg/día DURANTE LOS 2 PRIMEROS DÍAS

60mg/kg/día A COMPLETAR 14 DÍAS

## RESULTADOS:

## CURACIÓN:

97% CASOS (34/35)

DE ESTOS SOLO EL 9% (3/34) RECIBIERON DOS CICLOS

FALLECIÓ SOLO UN PACIENTE (3%)

## REACCIONES ADVERSAS: UN CASO DE HEPATITIS MEDICAMENTOSA

## BIBLIOGRAFÍA

1. Navin, T.R., Sierra, M., Custodio, R., Sturer, F., Porter, Charles., and Ruebush, T.. Epidemiologic study of visceral leishmaniasis in Honduras, 1975-1983. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* Vol 34 No. 4 July 1985.
2. Organización Mundial de la Salud. Zoonosis parasitarias. Informe de un comité de expertos de la oms. Serie de Informes Técnicos No. 637 Ginebra, Suiza. 1979.
3. Nuemberger, S.P., and Ramos, C.V. Leishmaniasis visceral, Informe del primer caso en Honduras. *Rcv. Med. Hondur.*, 42:234-241., 1974.
4. Nuernberger, S.P., Ramos, C.V., and Custodio, R, Visceral Leishmaniasis in Honduras: Report of Thre proven cases and a suspected case. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 24:917-920,1975.
5. Ponce T.M., and Padilla. L., Leishmaniasis Visceral. *Honduras Pediátrica*, 6:813-820,1977.
6. López, A., Montes, F., Colindres, E. Leishmaniasis Visceral en niños. *Honduras Pediátrica*, Vol. 11 No. 2 Abr.-May.-Jun. 1987 pp. 14-19.
7. Organización Mundial de la Salud. Las Leishmaniasis. Informe de un Comité de expertos de la OMS. Serie de Informes Técnicos No. 701, Ginebra, Suiza. 1984.
8. Bettini, S., Maroli, M., and Gradoni, L. Leishmaniasis in Tuscany (Italy): (IV) Analysis of all recorder human cases. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 75:338-344,1981.
9. Naik, S.R., Rao, P.N., Datta, D.V., Mehta, S.K., Mahajan, r.c, Mehta, S., and Chhuttani, D.N.. Kala-azar in northwestern India: a study of 24 patients. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 73:61-65. 1979.



---

# Dengue Hemorrágico

## Primeros casos confirmados en Honduras

---

Dr. Tito Alvarado M., Dra. Suyaya Figueroa, Dr. Hugo Alonzo Borjas, Lic. Ma. Del C. Mejia

---

### CASO MODERADO DE DENGUE HEMORRÁGICO

Se trata de un paciente femenino de 43 años procedente de Tegucigalpa que fue ingresada vía Emergencia a la Sala de Mujeres del Hospital Escuela el 23 de agosto a las 4:00 p.m. Dos semanas previas al ingreso había padecido; durante tres días la fiebre diaria e ictericia; cefalea, artralgias generalizadas, desarrollando cuatro días después: dolores abdominales, epistaxis, hemorragia gingival, vómitos, encefalopatía leve; equimosis generalizadas que motivaron la consulta clínica privada. Desde el ingreso inmediato al Hospital Escuela. Al examen físico: PA 110/70 FR=18 por minuto, FC=100 por minuto, P=100 por minuto T. 38° C. La paciente se encontraba alerta y orientada, llamando la atención su sangrado gingival y las petequias generalizadas en tórax abdomen y miembros superiores. Sus conjuntivas estaban moderadamente enrojecidas y sus encías muy sangrantes, corazón moderadamente taquicárdico, pulmones y abdomen normales. En su piel presentaba el cuadro petequial y equimótico descrito previamente.

- 1 Jefe de Servicio de Enfermedades Infecciosas Hospital Escuela
- 2 Médico Residente I Depto. de Medicina Interna H.E.
- 3 Médico Residente II Depto. de Medicina Interna H.E.
- 4 Jefe de Laboratorio Central de Virología M.S.P.

Las pruebas laboratoriales demostraron: Hemoglobina 19 g%, Hematócrito 50%, Leucocitos  $4,200 \text{ mm}^3$  y las plaquetas  $30.000 \text{ mm}^3$ , la prueba de torniquete fue positiva, tiempo de protrombina y tromboplastina prolongados moderadamente y las pruebas funcionales hepáticas normales. Se derivó al laboratorio otras entidades patológicas que pudieran simular lo presentado por esta paciente (leucemia, púrpura, aplasia medular): El diagnóstico virológico se realizó inoculando la muestra de suero de fase aguda a una muestra de células de mosquito '*Toxorhynchites rambesii*', y después de incubación a 28°C se confirmó la presencia del virus en las células infectadas, por medio del método de inmunofluorescencia directa utilizando anticuerpo heterólogo capaz de reconocer los 4 serotipos del dengue. Posteriormente se identificó el serotipo del virus a través de inmunofluorescencia indirecta usando anticuerpos monoclonales específicos, cuyo resultado fue: serotipo dengue 2.

El diagnóstico serológico se realizó usando 2 métodos: a) MAC = Elisa o ensayo inmunoenzimático en fase sólida para captura de IgM cuyo resultado fue positivo, indicando una infección activa o reciente de dengue, b) Inhibición de Hemaglutinación o método de microtitulación en placa a través de la cual se determinó una respuesta serológica de infección secundaria por incremento de más de cuatro veces en el título de anticuerpos entre la primera y segunda muestra de suero del paciente, cuyos resultados revelaron una amplia respuesta de anticuerpos contra los cuatro antígenos de dengue (ver cuadro), encontrándose particularmente

muy elevada (mayor de 1:1280) al antígeno de dengue tipo 2, indicativo de una infección secundaria.

La paciente evolucionó satisfactoriamente con las medidas de soporte instauradas y las transfusiones de 5 unidades de plaquetas, egresando del hospital en buenas condiciones 8 días después de su admisión. Su diagnóstico final fue Dengue Hemorrágico Estadio II.

Antígeno	Dengue 1	Dengue 2	Dengue 3	Dengue 4
Suero Agudo	1: 80	1: 640	1:80	1: 320
Suero convalesciente	1: 640	1: 2560	1: 160	1: 1280

Posteriormente y en el lapso de 4 semanas, aproximadamente se presentaron 6 casos similares más que fueron confirmados como dengue hemorrágico, y recientemente un caso más de dengue hemorrágico fatal y dos casos adicionales de dengue no hemorrágico que por su importancia describimos a continuación

#### CASO FATAL DE DENGUE HEMORRÁGICO

M.B.G. es una paciente femenina mestiza de 40 años, agente vendedora, con residencia en Tegucigalpa, a quien en 1990 le practicaron mastectomía derecha por cáncer de mama que actualmente estaba en demisión. La paciente ingresó el día 18 de octubre de 1991 a las 9:00 a.m. a la Sala de Medicina de Mujeres, vía Emergencia en donde había permanecido 3 horas, del Hospital Central, Instituto Hondureño de Seguridad Social, con cinco días de evolución de la sintomatología siguiente: fiebre diaria e intensa, sudoración y escalofríos, cefalea intensa, mialgias y artralgias generalizadas. Al examen físico la paciente se notaba agudamente enferma y se quejaba mucho de dolor en la cadera (región coxofemoral izquierda) y piernas. Los signos vitales a su ingreso fueron: PA-100/70 Pulso-72X<sup>1</sup> FC-72X' FR-18X<sup>1</sup> T.°-35.6- En tórax y regiones costales tenía rash eritematoso confluyente y el abdomen era deprecible sin visceromegalia.

A las 8 horas aproximadamente después de su arribo hospitalario, la paciente desarrolló equimosis generalizadas con flictenas en brazo derecho, melena,

hipotensión arterial, pulso rápido y débil con manifiestos signos de agitación psicomotriz y colapso circulatorio. El hematócrito en pocas horas se elevó de 41% a 43%, Glóbulos blancos 3000 mm<sup>3</sup> (60% Neutrófilos, 40% linfocitos), plaquetas menos de 100.000 mm<sup>3</sup>, el tiempo parcial de tromboplastina de 72 segundos (control 30) y las radiografías de tórax y cadera fueron normales.

A pesar de haberle iniciado la terapia de hidratación IV más dopamina, la paciente falleció el día siguiente a las 7:00 a.m. Cinco días después, El Laboratorio Central de Virología del Ministerio de Salud Pública reportó IgM (ELISA) para dengue fuertemente positiva, y al tercer día el cultivo fue positivo por dengue serotipo 4, confirmando el diagnóstico final de dengue hemorrágico con choque.

#### CASO DE DENGUE CON ENCEFALOPATÍA

LMB es una paciente femenina de 16 años originaria de Goascoran Valle, quien ingresó el 2 de septiembre de 1991 a la Sala Medicina "A" de Mujeres del Hospital Escuela procedente del Hospital Neuropsiquiátrico Mario Mendoza, en donde había permanecido 4 días con el diagnóstico de "psicosis aguda". Su sintomatología había iniciado dos semanas previas a su ingreso, cuya descripción fue la siguiente: fiebre diaria y elevada cefalea, mialgias, artralgias, astenia y adinamia. Una semana después y simultáneamente a la sintomatología anterior, la paciente presentó cambios de conducta, agitación psicomotriz, alucinaciones visuales y auditivas e imposibilidad para deambular y hablar.

Al examen físico la paciente se encontraba alerta sin expresión verbal, impresionaba por su estado similar al "catatónico" con rigidez de nuca, brazos y piernas que fueron interpretados por el Neurólogo como signos extra piramidales. Los exámenes iniciales de laboratorio revelaron ligera leucocitosis, trombocitopenia, eritrosedimentación y transaminasas hepáticas ligeramente elevadas, pero los tiempos de protrombina y tromboplastina estaban normales. El líquido cefalorraquídeo era claro sin células, proteínas 24 mg%, glucosa 77.8 mg% y el Gram y cultivo fueron negativos por bacterias. La electroencefalografía mostró un bajo voltaje con predominio de las frecuencias Beta entre 15 y 25 ciclos por segundo, aduciendo que la paciente tenía signos de sufrimiento cerebral difuso de moderada intensidad. La tomografía axial computarizada cere-

bral fue normal y el test de Elisa IgM para dengue resultó fuertemente positivo, confirmando que la paciente sufría de una infección reciente por algunos de los virus de dengue, lamentablemente no se pudo identificar el serotipo.

Durante su hospitalización la paciente desarrolló infección urinaria condicionada por su cateterización vesical y un episodio neumónico probablemente por aspiración, que respondieron satisfactoriamente al tratamiento antimicrobiano instaurado.

Como su signología neurológica principal era de tipo extrapiramidal, se le inició tratamiento con levo-dopa obteniéndose una respuesta satisfactoria lenta, pero progresiva, y 6 semanas después de su ingreso fue dada de alta muy recuperada de su lenguaje y deambulación. El 1 de noviembre de 1991 fue evaluada en Consulta Externa y su estado de salud era excelente sin tomar levo-dopa.

#### CASO DE DENGUE CON DERRAME PLEURAL

JBA es un paciente masculino de 20 años originario de Tegucigalpa quien ingresó el 13 de septiembre de 1991 a la Sala de Medicina de Varones del Hospital Central, Instituto Hondureño de Seguridad Social con la historia siguiente: 11 días de fiebre diaria y elevada con escalofríos, cefalea, tos seca, dolor pleurítico izquierdo y muscular generalizado, astenia y adinamia. Al examen físico el paciente se encontraba febril y a la evaluación pulmonar tenía matidez basal izquierda y disminución del murmullo vesicular y déla transmisión de vibraciones vocales del mismo lado.

El hemograma mostró un hematócrito de 45%, plaquetas = 440.000 mm<sup>3</sup> y leucocitos = 2500 mm<sup>3</sup>. La radiografía de tórax reveló un infiltrado basal izquierdo que se desplazó a niveles superiores cuando se tomó la radiografía en decubito dorsal. La toracentesis mostró un líquido pleural de aspecto turbio amarillento, con 2 células, proteínas 930 mg%, Gram y cultivo por bacteria fueron negativos, Ziehl-Neelsen negativo y lamentablemente el material de biopsia de pleura fue insuficiente.

Debido a que el diagnóstico inicial del paciente había sido neumonía bacteriana con derrame, se le inició, penicilina y al no tener respuesta satisfactoria al quinto día postratamiento, este medicamento fue omitido, planteándose la posibilidad de dengue con efusión pleural. Diagnóstico que fue confirmado al obtener el test positivo de ELISA IgM.

Posteriormente la sintomatología del paciente desapareció sin antibióticos y el derrame pleural había disminuido notablemente al momento de su alta 2 semanas después de su ingreso. El paciente estaba completamente asintomático en su evaluación en la Consulta Externa 3 semanas después de su egreso hospitalario.

#### DISCUSIÓN

El dengue es una enfermedad viral transmitida al hombre por el mosquito *Aedes aegypti*, cuyo apareamiento en Honduras data a partir de 1977 en donde se han producido epidemias muy significativas en 1978 en la Costa Norte del País, 1987 en la Zona Sur (Choluteca, Valle), en 1989 y 1991 en Tegucigalpa; reapareciendo pequeños brotes en forma endémica en casi todo el país (1,2,3). Existen 4 serotipos virales causantes de la infección y cada uno de ellos puede provocar la enfermedad por separado, debido a la falta de inmunidad cruzada duradera inducida por estos virus. (4)

El espectro clínico de la infección por el virus del dengue varía desde la infección completamente asintomática hasta la fiebre por dengue hemorrágico con o sin choque, siendo la forma clínica más frecuente la fiebre clásica del dengue. (4,5) Estas presentaciones clínicas dependen frecuentemente de la edad del paciente, los lactantes y niños pequeños pueden tener una enfermedad febril **indiferenciada con erupción maculo-papulosa. Los niños** mayores y adultos desarrollan el síndrome febril leve o la enfermedad clásica incapacitante de comienzo brusco con fiebre alta, intensa cefalea, dolor retro orbitario, dolores musculares y articulares con o sin erupción cutánea. No son infrecuentes las hemorragias insólitas (epistaxis leves, petequias etc.) que ocurren ocasionalmente con la presentación clásica del dengue, que es muy importante diferenciar de la forma más severa de la enfermedad: dengue hemorrágico con o sin choque, que ha sido muy frecuente en algunos países asiáticos y en las recientes epidemias de Cuba y América del Sur (6,7,8,9,10,11). El dengue hemorrágico se caracteriza por tener cuatro manifestaciones clínicas principales: fiebre alta, fenómenos hemorrágicos con trombocitopenia, hepatomegalia, y a menudo colapso circulatorio que a veces se desarrolla en forma súbita como el caso que presentamos.

La principal alteración fisiopatológica que determina la gravedad de la enfermedad en el dengue hemorrágico y que lo diferencia del dengue clásico es la extravasación de plasma, manifestada por un aumento del Índice de hematócrito y hemoconcentración, siendo el fenómeno hemorrágico más frecuente la prueba de torniquete positiva. (5) La mayor parte de los pacientes presentan hemorragias cutáneas y gingivales severas, aunque pueden sangrar de cualquier parte del organismo manifestado ya sea, por hemorragias externas e internas. Los casos más severos (síndrome de choque) presentan signos francos de insuficiencia circulatoria: piel fría, cianosis perioral, pulso rápido y débil con estrechamiento de la presión de pulso igual o menor a 20 mmHg con o sin hipotensión.

Como en Honduras están circulando tres 1-2-4 de los cuatro serotipos del dengue, y siendo la segunda infección de una persona en quien generalmente los fenómenos hemorrágicos se presentan a consecuencia de mecanismos no muy bien establecidos (12,13), era de esperarse que en cualquier momento ocurrieran los primeros casos de la enfermedad. Estos casos fueron diagnosticados de acuerdo a los criterios establecidos por la Organización Mundial de la Salud (4) como dengue hemorrágico, confirmados por serología, y cultivo si la toma de la muestra ocurrió en los primeros cinco días de la enfermedad. Uno de ellos falleció al presentar el síndrome de choque y los otros se recuperaron con las medidas de sostén instauradas.

La invasión del sistema nervioso central por el virus del dengue es un hecho que no ha sido bien documentado, pero las manifestaciones asociadas de tipo "encefálico" o estados "encefalopáticos" de carácter reversibles son bien reconocidos en aquellas regiones de Asia en donde la enfermedad es endémica (14,15,16). Los síntomas más frecuentes son: convulsiones, hiporeflexia, espasticidad generalizada, pérdida transitoria del estado de consciencia, delirios, depresión y trastornos del lenguaje. Esta sintomatología es muy similar al caso que presentamos con excepción de las convulsiones y la pérdida de la conciencia.

En realidad se desconocen los mecanismos fisiopatológicos que expliquen satisfactoriamente la encefalopatía causada por los virus del dengue, ya que no se ha documentado definitivamente la replicación viral en el tejido cerebral y el aislamiento del virus en el líquido cefalorraquídeo es un hecho muy controversial!

(14) Sin embargo, los cambios patológicos encontrados en este tipo de pacientes varían desde el edema cerebral hasta la ocurrencia de hemorragias focales, que en nuestro paciente no fue evidencia ni por la tomografía axial computarizada; no obstante, sí hubo anomalía en el electroencefalograma, hallazgo que ha sido establecido en un estudio realizado en Cuba, de 25 pacientes con dengue hemorrágico 11 (44%) presentaron trazados electroencefalográficos anormales.(17)

Las manifestaciones pleuropulmonares en el curso de la fiebre del dengue particularmente el hemorrágico, es un fenómeno bien reconocido, (18) varía desde la simple efusión pleural hasta la hemorragia pulmonar severa, en cuya explicación fisiopatológica se plantean dos hechos fundamentales: aumento de la permeabilidad vascular y los trastornos de la hemostasia. El caso que presentamos no llegó a presentar fenómenos hemorrágicos, solamente evidencia de franca permeabilidad vascular con extravasación de líquidos a juzgar por el aumento de la hemoconcentración y del hallazgo de proteínas elevadas en el líquido pleural.

Es importante mencionar que: los clínicos quienes evaluaron inicialmente a este paciente pensaron con buena lógica en la posibilidad de neumonía bacteriana, y por eso fue manejado inicialmente con agentes antimicrobianos, y al no obtenerse mejoría, fue la pesquisa epidemiológica y hasta cierto punto la pesquisa clínica dirigida, la que nos hizo considerar la posibilidad de dengue cuyo diagnóstico fue confirmado por serología (IgM ELISA).

Finalmente, solo nos resta manifestar que afortunadamente este brote de dengue hemorrágico aparentemente se ha estabilizado, probablemente debido a las medidas preventivas enérgicas en contra del vector desplegadas por la División de Control de Vectores del Ministerio de Salud Pública; sin embargo, ahora con el reciente caso de dengue hemorrágico fatal, recomendamos muy encarecidamente a toda la comunidad médica de nuestro país, conocer y tratar adecuadamente la enfermedad y mantenerse en constante alerta por la aparición de estas raras presentaciones clínicas de una de las enfermedades tropicales más frecuentes del país.

## BIBLIOGRAFÍA

- 1) El Dengue en las Américas 1980 -1987 Boletín Epidemiológico. Organización Panamericana de la Salud, vol. 10, No.1 1989
- 2) Figueroa M., Pereira R., Gutiérrez H., Mejía C, y Padilla N. La Epidemia de Dengue en Honduras, 1978-1980 Bol. Ofic. Sanit. Pan. 93(5), 1982.
- 3) Circular Laboratorio Central de Virología 16 de Septiembre de 1991. Lic. María del Carmen Mejía. (Material inédito).
- 4) Dengue Hemorrágico: diagnóstico, tratamiento y lucha. Organización Mundial de la salud, Ginebra, 1987.
- 5) T. alvarado. Guía Práctica para el Diagnóstico y tratamiento del Dengue. Rev. Med. Hondureña Vol. 58 No.3 Pag. 181-185 1990.
- 6) Boon W.H.; Poon A; Ismael, G. Dengue Haemorrhagic Fever in Children in Singapur in the 1973 Outbreak. Sing. Ped. Jour. vol 15, No.2, October 1973.
- 7) Peenen, V; Sumarmo, S; Saro S, J; Sinto, S; Joseph P.L.; and See R. Dengue with Haemorrhagic and Shock in Jakarta, Indonesia. South Asian Jour. Trop. Med. Pub. H. vol 9, No.1, March 1978.
- 8) Chundern Padeksuk S. Early Recognition of Severe Dengue Haemorrhagic Fever. Jour. Med. Asian Thailand vol. 61 No.1 Jan. 1978.
- 9) Gusman, M; Kouri G; Bravo, J; Calunga M; Soler, M; and Venezco, C. Dengue Haemorrhagic in Cuba. I Serological Confirmation of Clinical Diagnoses. Trans. Roy. Soc Trop. Med. Hy. No.78, 235-238, 1984.
- 10) Gusman, M; Kouri, G; Bravo, J; Soler M; Vasquez, S; Santos, M; Villaescusa; P, Basanta; G, Indam and M, Ballester. Dengue Haemorrhagic Fever in Cuba. II Clinical investigations. Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg. No.78 239-241, 1984.
- 11) Gusman, M; Kour, G; Morer, L; Soler, M; y Fernandez H. Casos Mortales de Dengue Hemorrágico en Cuba, 1981. Bol. Of. Sani. Pan. 97(2)111-116, 1984.
- 12) Halstead, S.B. Pathogenesis of Dengue: Challenges to Molecular Biology. Science, vol 239, pag. 476-480, 1988.
- 13) Roses L. Disease Exacerbation Caused by Sequential Dengue Infection: Myth or Reality? Rev. of Infectious Diseases, vol 1 Suplem. 4 840-42, 1989.
- 14) Halstead S.B. Different Dengue Syndromes. The Perspective from a Pathogenetic Point of View. Asian Jour. of Infect. Disease. No. 2, 59-65 1978.
- 15) Rivera, J. D; Santana, J. L.; Ramírez, R; y Carlos H. Neurological disorders associated to dengue infection. Bol. Asoc.. Med. P.R. 80 (6): 208-11, Jun 1988.
- 16) Mendoza, H.R; Jiménez, R; Gubly, D, Feris, I y Jesús M. Infección por Dengue asociada a meningoencefalitis. Arch. Dominic Ped. 21(3): 103-105, Sept-Dic. 1985.

---

# Patología Molecular y Diagnóstico de Enfermedades Infecciosas

---

*Manuel Figueroa, PhD.\* y Suraiya Rasheed, Ph. D.<sup>1</sup>*

---

## RESUMEN

Los autores revisan y describe métodos moleculares para la detección de agentes etiológicos o secuencias genéticas involucradas en la patogénesis de varias enfermedades. Hay sondas moleculares ya disponibles para el diagnóstico rápido de enfermedades causadas por un gran número de virus, bacterias, hongos, espiroquetas, rickettsias y otros agentes infecciosos. Dado que las sondas de ácidos nucleicos pueden distinguir muy pequeñas diferencias indicativas de mutaciones genéticas o alteraciones, se pueden desarrollar sondas específicas aun para aquellas enfermedades con agentes etiológicos desconocidos. Además usando estas técnicas se han identificado cepas a medicamentos y cepas patógenas asociadas a epidemias en areas ampliamente separadas de un país o de una ciudad.

Así pues la sensibilidad y la especificidad de los métodos de detección molecular usando sondas radioactivas y no radioactivas están a tal punto que se pueden aplicar a especímenes clínicos para el diagnóstico rápido e identificación de agentes etiológicos responsables de la patogenia de una variedad de

enfermedades. (Palabras Claves: Sondas Moleculares; Diagnóstico Patológico; virus de Inmunodeficiencia Humana, SIDA).

## INTRODUCCIÓN

El manejo médico ó prevención de una enfermedad depende primordialmente de un diagnóstico clínico certero. Tradicionalmente la mayor parte de las enfermedades infecciosas se han diagnosticado por inmuno-ensayos o técnicas histoquímicas o de cultivo. Aunque estos exámenes son críticos para el diagnóstico de las infecciones, las respuestas inmunes individuales varían, y en muchos casos la detección de un anticuerpo o un antígeno dependen de la cantidad o "carga" del agente infeccioso presente en un tejido específico. Este fenómeno es particularmente relevante en las infecciones con retrovirus humanos.

Los virus de inmunodeficiencia humana tipos I y II (VIH-I y VIH-2) y los virus de leucemia de células T humanas tipos I y II (VLTH-I y VLTH-II) han sido asociados etiológicamente al S I D A y a la leucemia de células-T en adultos y la leucemia de células vellosas, respectivamente (1-3). Sin embargo, el mecanismo mediante el cual estos virus causan una variedad de enfermedades incluyendo síntomas neurológicos y cáncer, no es bien comprendido. Aunque la exposición al VIH y VLTH-1 resulta en la producción de anticuerpos, estos no se detectan sino hasta después de varios meses y en algunos casos, hasta después de un año (4,5).

---

Departamento de Microbiología, Universidad Nacional Autónoma de Honduras y Laboratorio de Oncología Viral e Investigación en SIDA, Universidad de California del Sur, Escuela de Medicina, Los Angeles, California.

Además a menos que el individuo sea expuesto a grandes dosis de virus, como es el caso de los que reciben transfusiones sanguíneas, los antígenos virales no se detectan basta que el virus ha tenido oportunidad de replicarse lo suficiente; para ese tiempo el individuo ha comenzado a desarrollar los síntomas iniciales. Debido a que los retrovirus se integran en el DNA de los cromosomas del huésped estos virus pueden causar infecciones persistentes latentes y escapar la detección por los métodos convencionales de antígeno-anticuerpo.

Los grandes avances tecnológicos en área de DNA recombinante; clonaje, secuenciación y amplificación de genes; mareaje con métodos no-isotópicos y otros métodos de alta sensibilidad para la detección de genes han facilitado el uso de sondas de DNA ó RN A en todas las áreas del diagnóstico e investigación básica y clínica. Así, ahora son factibles pruebas exactas y rápidas para la detección de una amplia variedad de agentes infecciosos, anormalidades genéticas (7), cáncer (2,8-10), determinación de paternidad (11-12) y medicina forense (13).

Debido a que las sondas moleculares son hechas de moléculas altamente específicas, se vuelven herramientas notables para el diagnóstico, pronóstico y monitoreo de terapias medicamentosas para muchas enfermedades. Además, mediante el uso de sondas moleculares la fuente de una epidemia puede identificarse de una manera más exacta que por otros métodos convencionales.

En este artículo damos un vistazo a los métodos que nosotros y otros han desarrollado para la identificación y cuantificación de varios agentes infecciosos, incluyendo los retro virus humanos. las ventajas y limitaciones de las técnicas moleculares en el diagnóstico viral y de otras enfermedades infecciosas.

### **MÉTODOS PARA LA DETECCIÓN MOLECULAR**

#### **Preparación de las muestras clínicas**

Aunque es conveniente el uso de las células mononucleares de sangre periférica (CMSP) en la mayor parte de los individuos, también se pueden usar con éxito biopsias y tejidos de autopsia ya sea frescos, congelados o fijados para los diferentes métodos de detección molecular. Una de las ventajas en cuanto al

uso de CMSP para las enfermedades transmitidas por la sangre es que se puede preparar suficiente cantidad de RNA o DNA total de las células y además éstas pueden adherirse a láminas o cubre objetos para la hibridización in situ.

En general, la mayor parte de las muestras clínicas fijadas para examen histológico en varios fijadores biológicos (fijador de Boin, fijador de Carnoy, formalina 10%, paraformaldehído, acetona, metanol, etc.) pueden usarse para el análisis del DNA. Sin embargo, las muestras fijadas en soluciones que contienen mercurio, tales como Zenker ó B-5, no son adecuadas para la reacción de polimerasa en cadena (RPC), hibridización in situ y otras técnicas moleculares sofisticadas. Para la hibridización in situ de células y tejidos congelados nuestro laboratorio usa paraformaldehído al 2% con 0.1 M de lisina en solución salina buferada con fosfatos (SBF). Mientras los tejidos congelados ó fijados se pueden usar para la preparación de DNA solo las muestras frescas y congeladas rápidamente en nitrógeno líquido a -85°C se recomiendan para el análisis de RNA. Así pues, el criterio importante para el uso de fijadores es el de preservar la morfología celular y la integridad del DNA y RNA.

#### **Extracción del DNA y RNA**

Hemos establecido un procedimiento sencillo para la preparación de DNA de plásmidos el cual produce alta calidad de DNA purificado para la preparación de sondas ("probes") (7). Una ventaja de esta técnica es que remueve muchos contaminantes del DNA que pudieran interferir con la digestión por endonucleasas de restricción y otros procedimientos usados en la preparación de sondas. Brevemente, después de la lisis alcalina (Na OH 0.2 N, SDS 1%) de la bacteria, el DNA se precipita en múltiples pasos en presencia de acetato de amonio (2.5 M/ pH 7.6). El método es rápido, barato y no usa fenol ó cloroformo.

Nuestro laboratorio también ha adaptado un procedimiento simplificado para la preparación de DNA de alto peso molecular de muestras clínicas usando condiciones de alta salinidad para quitar las proteínas. El procedimiento elimina la necesidad de usar fenol-cloroformo. Brevemente, se lisan las células y tejidos en presencia de Tris H Cl 10 m M Na Cl 400 m M, EDTA-Na 2 m M, SDS 1% y 50mg/ml de proteínaasa K a 37°C La concentración de proteínaasa K se aumenta a 100 mg/ ml para los tejidos difíciles de digerir. Después de la lisis celular, se añade Na Cl 6 M y los restos de membranas se remueven por centrifugación.

Finalmente, el DNA se precipita mediante la adición de 2 volúmenes de etanol en presencia de acetato de amonio 0.2 M a -20°C Este método es particularmente útil para aislar DNA de un gran número de muestras y de pequeños volúmenes de sangre de infantes, biopsias, aspiraciones con aguja pequeña de fluido amniótico ó cerebro-espinal conteniendo muy pocas células(12,13). Aunque este DNA es suficientemente limpio para la digestión con enzimas de restricción y otros procedimientos usados en el diagnóstico molecular de muestras clínicas, puede requerir mayor purificación por medio de la extracción con fenol-el oro formo para pruebas sofisticadas.

Para el aislamiento del RNA de células y tejidos, se usa un tratamiento con isotiocianato de guanidina concentrado (SM). Este procedimiento es sencillo porque, mientras la sal de guanidinio rápidamente remueve las proteínas del RNA además desnaturaliza la ribonucleasa, enzima que degrada el RNA con rapidez, {15}. Este RNA puede hibridizarse directamente en la misma solución usada para la preparación de la muestra. En la mayor parte de los casos no es necesaria la

separación en columnas de Polyd-T. Sin embargo, estas columnas están disponibles comercialmente y pueden usarse si se desea RNA de alta pureza.

#### Selección de Sondas y Estrategias de Marcado

Sin importar el sistema de marcado y detección usado, la sonda se prepara del DN A ó RNA específico para una secuencia genética altamente conservada en el agente infeccioso en particular, ó que representa una mutación, sustitución, ó amplificación de un gene celular normal en una malformación genética.

Además, cantidades ilimitadas de sondas pueden producirse de fragmentos de DNA altamente específicos y purificados mediante el clonage de DNA ó c-DNA (DNA complementario) hecho a partir de transcripciones específicas de RNA en un plásmido, que es luego multiplicado en un vector bacteriano (16-19). Por otro lado, hay sondas de DNA comercialmente disponibles para las principales áreas del diagnóstico clínico (Cuadros 1 y 2).

CUADRO No. 1.

#### SONDAS MOLECULARES EN LAS INFECCIONES VIRALES: EJEMPLOS SELECCIONADOS

PATOGENO	SONDA	MARCA	HIBRIDIZACION	REFERENCIAS
VIRUS DE INMUNO-DEFICIENCIA	GAG-POL, Gen RF, Región IF; DNA OLIGONUCLEOTIDO GEN RF, REGION IF.	NOISOTOPICA, 32P 35S	DNA-RNA; DNA-DNA IN SITU: RNA-RNA PCR (DNA ó RNA).	3,6,16,19 22, 79-85
LEUCEMIA DE CELULAS T	DNA, OLIGONUCLEOTIDO	32P	DOT BLOT, SOUTHERN BLOT PCR	2, 3, 75, 86-88
CITOMEGALOVIRUS	DNA fragmento D	32P, 14C BIOTINA	DOT BLOT, IN SITU	49-52
ROTAVIRUS	DNA, OLIGONUCLEOTIDOS	P-AL, 32 P	DOT BLOT, P C R	37-39
PAPILOMAVIRUS	DNA DE CADA UNO DE 4 TIPOS, FRAGMENTOS BAM HI CLONADOS	BIOTINA 32P	DOT BLOT, PCR	55-58
VIRUS EPSTEIN-BARR	FRAGMENTOS DE DNA CLONADOS	32P	DOT BLOT, IN SITU, PCR	35-53
VIRUS DE HEPATITIS B	DNA CLONADO	BIOTINA QUEMILUMINIS- CENTE, 32P	IN SITU, DNA-DNA	25,47,48
VIRUS HERPES SIMPLEX	DNA FRAGMENTOS BAM-HIND III	BIOTINA	DNA-RNA, SLOT BLOT	49
ADENOVIRUS	DNA FRAGMENTOS BAM-HIND III	32P	DOT BLOT	69, 70
ENTEROVIRUS	DNA OLIGONUCLEOTIDO	NO-ISOTOPICO 32 P	SLOT BLOT SOUTHERN BLOT	54 59



CUADRO No. 2

SONDAS MOLECULARES USADAS EN LA DETECCION DE INFECCIONES  
MICROBIANAS Y PARASITICAS: CASOS SELECCIONADOS

PATOGENO	SONDA	MARCA	HIBRIDIZACION	REFERENCIA
Salmonella	DNA, oligonucleótido	P-Alc DNA-DNA	Dot-blot	76
Shigella	DNA, fragmento EcoR1	Biotina Dot-blot,	PCR	44
Actinobacillus	DNA	32p	Southern blot	91
Bacteroides	DNA	32p 35S	In situ	91
E. coli	DNA, oligonucleótido	32p, P-Alc	Dot blot, PCR	40-44
S. aureus	DNA, oligonucleótido	32p, no-isotópico	PCR, DNA	77,78
Campylobacter	DNA	P-Alc	DNA-DNA	45
Clostridium	c-DNA, rRNA, oligonucleotido	32p	Dot-DNA	46
Mycoplasma	DNA, fragmentos Hinbd III	32p	Dot blot, PCR	66
Haemophilus	DNA	32p,	Biotina Dot blot, DNA	72
Mycobacterium	DNA, Mbo-I	32p	Dot blot	62-64
Legionella	c-DNA, oligonucleótido	135I	DNA-DNA	71
Chlamydia	c-DNA, oligonucleótido	Ester de acridinio	DNA-DNA, PCR	62,92
Neisseria	c-DNA, oligonucleótido	Ester de acridinio	DNA-DNA	60
Pseudomonas	DNA	Biotina	DNA-DNA	74
Trypanosoma	DNA	32p	DNA	90
Plasmodium	Oligonucleótido	32p	DNA	89
Candida	DNA	32p	DNA-DNA	73
Rickettsia	DNA	32p	PCR	67

Tanto las sondas radioactivas y no radioactivas de DNA pueden prepararse usando d-CTP ó d-ATP marcados y añadiendo los cuatro nucleótidos (d-NTP) y la DNA polimerasa I (0.5 a 1 unidad/ml). Aunque se pueden preparar sondas de DNA por el método de "Nick translation", el cual produce pequeñísimos cortes mediante al tratamiento con DNA-sa al mismo tiempo que marca el DNA (20) la eficiencia del mareaje es baja y puede inhibirse por contaminantes presentes en el DNA o por el tiempo y temperatura de la síntesis. Un procedimiento más eficiente es el uso de oligonucleótidos que pueden servir como iniciadores al azar ("random primers", 6 a 12 nucleótidos) de la síntesis de DNA dirigida por la polimerasa sobre el patrón de DNA de cadena sencilla. Los iniciadores azarizados del DNA de timo de ternero pueden comprarse de varias fuentes comerciales (Pharmacia, Boehringer Manheim, British Biotechnology Ltd., etc) ó pueden prepararse en un sintetizador automático de DNA. Alternativamente la digestión con DNAsa I del DNA de timo de ternero o de esperma de salmón también producirá pequeñas fragmentos de DNA de cadena sencilla de acuerdo al protocolo descrito por Feinberg y Vogelstein (21). Estas sondas son de alta actividad específica porque una gran proporción de los d-NTP radiomarcados se incorporan al azar en el DNA. El RNA puede ser marcado in vitro, sin embargo, se producen excelentes sondas de RNA usando vectores plásmidos (pSP64- ó p-SP65) con promotores de transcripción usando 35S radioactivo o

bien d-UTP marcado con biotina en presencia de los otros tres ribonucleótidos (Fig.1) (15-22)

Con la invención de sintetizadores de DNA es posible ahora producir pequeñas cadenas únicas de DNA (oligonucleótidos) para casi cualquier secuencia conocida. El uso de sondas de oligonucleótidos aumenta la sensibilidad de detección porque las sondas hibridizan en una secuencia específica pequeña con mayor eficiencia que los fragmentos grandes de DNA clonados en plásmidos.

Se pueden preparar sondas moleculares de alta actividad específica marcando con un radioisótopo, tal como 32P, 125-I y 35S, fragmentos de DNA ó RNA. Los oligonucleótidos también se pueden marcar con isótopos radioactivos en la cola 5' de la cadena. Sondas no radioactivas se pueden preparar usando la dioxinucleotidil transferasa terminal (T d T) (18,23,24).

Las sondas marcadas de DNA ó RNA se purifican removiendo los nucleótidos no incorporados por filtración en gel a través de columnas cromatográficas de Sefadex G-50, comercialmente disponibles, ó por extracción con fenol y cloroformo seguida de la precipitación por etanol (18). Sin embargo, las sondas biotiniladas no son tratadas por fenol porque éste extrae la biotina la cual es retenida en la interfase de agua fenol

y así se pierde la marca reduciendo las señales de hibridización.

También se han desarrollado métodos sensibles de detección por una variedad de procedimientos moleculares que usan sondas quemiluminiscentes y equipos de luminometría, sin embargo, su uso en el laboratorio clínico está todavía lejano.

### Hibridización Molecular y Sistemas de Detección

Los métodos básicos de hibridación de RNA y DNA en tejidos usando sondas específicas de DNA ó RNA son como sigue:

- 1) Hibridización de DNA ó RNA de los tejidos con sondas de DNA ó RNA en solución.
- 2) Hibridización de DNA ó RNA en membranas de nitrocelulosa o en membranas de nylon después de la electroforésis en gel y transferencia a una membrana ("Southern blot" para DNA y "Northern blot" para RNA) ó bien directamente mediante la hibridización llamada "dot blot" o "slot blot" (manchas en círculo o en línea).
- 3) Hibridización directamente en las células y tejidos por el método de hibridización in situ.

La hibridización de DNA en solución ó en filtro de nitrocelulosa se lleva a cabo en una mezcla que contiene sulfato de dextrano 10%, 4x de solución estandar de citrato (0.15M (1XSSC=NaCl 0.15M y citrato de sodio 0.015 M), 200 mg de DNA de esperma de salmón, formamida desionizada 45%, fosfato disódico mN y la sonda previamente desnaturalizada (18). Es importante notar que no se deben usar condiciones alcalinas (NaOH) para desnaturalizar sondas biotiniladas porque el NaOH rompe la biotina del DNA.

La hibridización o sea la unión de DNA ó RNA complementaria se lleva a cabo a 42°C por 16 a 24 horas con agitación suave. Se hacen lavados de poshibridización en varias diluciones sucesivas de SSC (X2 y X, 0.2 X 0.1) en sulfato de dodecilo (SDS) al 0.1% por 10-15 minutos cada lavado.

En general, las condiciones de hibridización que se usan para el DNA ó RNA en los tejidos con varios tipos de sonda son similares. Sin embargo se hacen modificaciones para aumentar la especificidad y sensibilidad de estas pruebas y depende de las sondas y

marcas usadas así como de las condiciones de la muestra. El tiempo, la temperatura, la concentración de sales y formamida se modifican de acuerdo con la composición de bases de la sonda usada y la complejidad de la secuencia detectada (18). Además se hace una prehibridización de las células ó membranas que contienen los ácidos nucleicos en la misma forma que la hibridización, nada más que por un período corto, usualmente 1-3 horas.

Si se usa una sonda radioactiva, se detectan las moléculas hibridizadas por medio de una película o emulsión fotográfica sensible a los rayos X (autoradiografía). En el caso de las sondas no radioactivas hay sistemas de detección colorimétricas o fluorométricas (26,27). De éstas, la fosfatasa alcalina (24), biotina (28) y la digoxigenina (26) se ha visto que son eficientes para el marcado *in vitro*. La excitación fotoquímica de los ésteres de acridinio por la luz a una determinada longitud de onda seguida por emisión de luz a otra longitud también es útil, porque la luz emitida por la reacción quemiluminiscente es capturada por un fotomultiplicador y convertida en una señal digital (25).

### Detección de Secuencias Genéticas por la Técnica Amplificación de Genes

Cuando no se tienen cantidades adecuadas de DNA ó RNA para hacer la prueba ó cuando el número de copias de la secuencia genética es poca, se puede usar una nueva técnica llamada reacción de polimerasa en cadena (RPC) la cual amplifica secuencias genéticas altamente conservadas (DNA ó RNA) de un virus, otros microorganismos, o del DNA ó RNA de la célula huésped. Así las secuencias de ácidos nucleicos que no se detectan por los métodos de hibridización "Southern blot" y "Dot blot" o aquellas presentes en extremadamente pequeñas cantidades de DNA obtenida de manchas de sangre ó semen, frotis de sangre en láminas, ó de tejidos parcialmente degradados (por ejemplo de autopsias o situaciones en medicina forense) pueden amplificarse por técnicas de RPC y luego detectarse mediante sondas específicas en la hibridización molecular.

### Reacción de Polimerasa en Cadena

La amplificación del DNA por RPC ó bien del cDNA para amplificación de secuencias de RNA, se lleva a cabo mediante la unión de iniciadores o "primers" específicos tanto de la cadena positiva como de la

negativa del DNA previamente desdoblado. Una primera copia de DNA se hace por extensión del "primer" a derecha e izquierda respectivamente con una enzima específica, la DNA polimerasa. La mezcla-reacción contiene 2 unidades de DNA polimerasa termoestable (taq) en presencia de los cuatro nucleótidos (dATP, dCTP, dGTP y dTTP), trisHCL, 100 mM, pH8; KCl, 50 mM; MgCl<sub>2</sub> 1.5 mM y gelatina al 0.01%.

La amplificación se lleva a cabo en 30-50 ciclos de unión-extensión-desdoblamiento usando un calentador cíclico automático de la casa Cetus -Perkin Elmer (2,29,30). El producto de DNA amplificado se identifica por su tendencia a unirse a las sondas de oligonucleótidos radioactivos y se detecta por electroforesis en gel y autoradiografía. El producto de RPC también se puede identificar por hibridización tipo "dot blot" usando sondas radioactivas ó las no- isotópicas.

### **DIAGNOSTICO MOLECULAR DE MUESTRAS CLINICAS POR RPC**

La técnica RPC es tan poderosa que ha sido usado en casi todos las áreas de la biología molecular tanto en la investigación como en el laboratorio-clínico. El método RPC para amplificación del DNA se ha usado con éxito en la identificación de varios virus, bacterias y otros microorganismos; para el tamizado de sangre y sus productos y para la detección de genes asociados a enfermedades genéticas, transformaciones neoplásticas y disfunciones inmunes. Algunos ejemplos específicos de la utilidad de esta prueba en un laboratorio de enfermedades infecciosas se discuten en la sección siguiente.

### **APLICACIONES DE LAS TÉCNICAS MOLECULARES**

#### **Patología Diagnóstica e Investigación**

Desde la primera demostración de la transferencia permanente del DNA a filtros de nitrocelulosa, las pruebas moleculares de ácidos nucleicos se han vuelto una parte integral de la mayor parte de los proyectos de investigación básica y clínica (1). Los progresos en el DNA recombinante, clonaje, secuenciación y otras técnicas moleculares han permitido a los científicos identificar genes y producto proteicos y comprender rutas moleculares en la progresión de la enfermedad,

incluyendo el cáncer y las enfermedades genéticas para las cuales no se han definido agentes etiológicos (32-36.)

Un diagnóstico precoz durante el desarrollo fetal es de importancia primordial (33) y varias defectos hereditarios se pueden detectar en células fetales obtenidas del líquido amniótico. Además en virtud de su inherente confiabilidad y rapidez de detección las sondas de DNA pueden volverse herramientas importantes en el diagnóstico fetal de enfermedades genéticas para las cuales los genes específicos no han sido aislados. Las técnicas moleculares también han ayudado a la identificación de marcadores de translocaciones cromosomales para el diagnóstico de linfomas humanos y otros tumores (8,36).

Así en gran número de enfermedades genéticas, desórdenes metabólicos y tipos de cáncer que antes se diagnosticaban en base a defectos cromosómicos, historia familiar, y productos anormales de metabolismo, ahora se diagnostican usando sondas moleculares específicas.

### **ENFERMEDADES INFECCIOSAS**

Se han desarrollado pruebas diagnósticas en los laboratorios de enfermedades infecciosas usando antígenos, anticuerpos, y técnicas de cultivo. Actualmente, la mayor parte de las enfermedades infecciosas se diagnostican usando sondas moleculares (DNA, RNA, ó proteínas recombinantes); esto incluye las diarreas asociadas a infecciones por rotavirus (37-39) *Escherichia coli* entero toxigénica (40-44), *Campylobacter* (45) *Shigella* (44) *Clostridium* 46, y *Giardia* (43). La comparación de varios inmunoensayos con sondas de DNA para la detección de rotavirus en muestras clínicas indicó que los resultados con sondas de DNA son superiores a los resultados con otras pruebas (37-39). El examen de las muestras clínicas por RPC también se encontró ser útil para la identificación de *E. coli* enterotoxigénicas y además para distinguir estas de las cepas enteroinvasivas de *E. coli*, *Salmonella typhimurium*, *S. typhi* y *Shigella dysenteriae* (40-44). En adición varias sondas están ahora disponibles para la identificación de serotipos de varios patógenos. En forma similar, las cepas de *E. coli* que producen toxinas termolábiles y termoestables se pueden diferenciar en suspensiones de heces fecales usando sondas de DNA (42) (Cuadro 2).

Sondas específicas para el virus de hepatitis B (VHB) y hepatitis A han permitido a los investigadores identificar además el virus de hepatitis C (25,47,48).

También hay sondas moleculares disponibles para el virus herpes simplex (VHS) (49), citomegalovirus (CMV) (50-52), virus Epstein Barr (VEB) (35, 53), Enterovirus (54), y el virus de papiloma humano (VPH) (55-58) (Cuadro 1).

La detección del DNA del VEB por RPC en la sangre, glándulas salivares, y otras biopsias de pacientes con enfermedad autoinmune ha mostrado ser de utilidad en el diagnóstico clínico (34,35, 53). Dado que ocurre una reactivación del VEB en pacientes con enfermedades linfoproliferativas, incluyendo el SIDA, la detección rápida del virus por RPC permite un mejor **monitoreo** de las intervenciones terapéuticas y un diagnóstico temprano de las enfermedades asociadas al VEB, tales como el linfoma (53).

La presencia de Parvovirus en DNA porcino fue detectada con una eficiencia 100 veces mayor usando sondas radiomarcadas de DNA y la hibridización "Southern blot" que usando el método estándar de hemaglutinación conocido en los laboratorios clínicos (59).

Usando pruebas de hibridización y sondas de DNA **biotiniladas** se logró una especificidad y sensibilidad de 100% en las aislamientos *dínicos de Neisseria gonorrhoeae* (60).

Recientemente Pollard y colaboradores (61) han identificado muestras clínicas infectadas con *Chlamydia trachomatis* y *C. psittaci* por R.P.C.

También se han identificado por R.P.C. sin ambigüedad, biopsias conteniendo pequeño número (cerca de 100) bacilos de *Mycobacterium leprae* y *M tuberculosis* (62-64).

La detección tediosa del *Mycoplasma pneumoniae* fue simplificado por la técnica R.P.C; mediante dicha técnica se pudo detectar el *M. pneumoniae* en un día (64,66).- En forma similar, la *Rickettsia rickettsii* y la *R. conorii*, agentes etiológicos de la fiebre manchada de las montañas Rocosas y de la fiebre botonosa respectivamente, fueron identificadas en coágulos de sangre de los pacientes mediante la RPC.(67).

Otra aplicación importante de la técnica RPC. es el monitoreo del agua potable para evitarla contaminación bacteriana.- Usando sondas específicas, cantidades tan pequeñas como 1-5 bacterias coliformes por 100 ml de agua se detectaron por RPC (44).- Además tanto bacterias coliformes como no coliformes (*Salmonella*) eran distinguibles por la técnica RPC. Así pues, la detección simultánea de varios genes es posible en un espécimen clínico (42)

**Microorganismos de crecimientos lento**

Algunos microorganismos más fastidiosos o virus de crecimiento lento se han asociado a varias enfermedades del tracto respiratorio.- Usando hisopado de garganta de pacientes con monucleosis infecciosa (MI) ó de recipientes de transplantes renales se ha demostrado el DNA del VEB por la técnica de hibridización DN A-DNA en "dot blot" (53). Además las infecciones causadas por el virus de Hepatitis B (47), adenovirus (69-70), *Legionella* (71), *Haemophilus influenzae* (72) *Candida* (73) y *Pseudomonas* (74) también se han identificado usando sondas moleculares aplicadas a muestras clínicas (cuadros 1 y 2)

El citomegalovirus (CMV), el pneumocistis *carinii* y la *Candida* son causas de las enfermedades oportunistas más frecuentes asociadas al SIDA, y a otras enfermedades inmunosupresoras.- Debido a que el CMV es un virus de lento desarrollo, el efecto citopático no se detecta sino hasta varias semanas después de la infección.- Las técnicas moleculares **tienen** una capacidad aumentada de detección y usando sondas de

CUADRO No. 3 COMPARACION DE LA SONIDAS MOLECULAS CON LOS METODOS CONVENCIONALES

CRITERIO	CULTIVO	IF(1)	ELISA(2)	BLOT(3)	IN SITU(4)	RPC(5)
Tiempo requerido	Varios días semanas	2h	2-3h	6-48h	1-2 días	1 día
Facilidad de uso	Necesita facilidades de aisla- miento	Fatiga Ocular	Automa- tizado	Pocos pasos	Muchos pasos	Pocos pasos
Que se detecta	Patógeno activo	Antígeno o anti- cuerpo	Antígeno o anti- cuerpo	DNA ó RNA	DNA ó RNA	DNA ó RNA
Sensibilidad	Buena	Buena	Buena	Exc- lente	Buena	Excelente
Especificidad	Excelente	Regular	Regular	Buena	Excelente	Exc- lente

(1).- Inmunofluorescencia, (2).- Enzima Inmunoensayo, (3).- Transferencia de ácido nucleicos a membranas para su hibridización, incluye Southern blot, Northern blot, dot-blot, (4).- Hibridización in situ, (5).- Reacción de Polimerasa en Cadena

oligonucleótidos la infección con el CMV puede detectarse en cultivos 48 horas después de la infección, o bien directamente en las CMSP por la hibridación in situ. Algunas de las cepas de retrovirus humanos, incluyendo VIH y VLHT-1 también son virus de crecimiento lento asociados a enfermedades neurológicas y malignidades en individuos inmunosuprimidos.- Las sondas moleculares han sido extremadamente útiles para la detección de infecciones persistentes o latentes causadas por estos agentes y una detección temprana de algunas cepas de crecimiento lento es posible partiendo de las muestras clínicas y usando la técnica RPC (2,6,75)

#### Infecciones Transmitidas por Alimentos

La microbiología de los alimentos presenta problemas particulares porque es importante detectar las pocos organismos patógenos presentes en una mezcla de billones de otros microbios que se encuentran en la compleja materia alimenticia.- Los alcances en las técnicas molculares han revolucionado la microbiología de los alimentos y ahora es posible detectar extremadamente pequeñas cantidades de *Salmonella* (76) *Staphylococcus aureus* (77,78) *histeria* y *Vibrio* (36) presentes en el alimento; usando técnicas de amplificación de genes, RPC, la sensibilidad de detección puede aumentarse 1000 veces comparada con otras técnicas tradicionales.

#### Enfermedades de Transmisión Sexual (ETS)

Está bien establecido que las técnicas convencionales fallan en muchos casos de enfermedades que pudieran ser identificadas mediante el uso de sondas contra el abundante RNA ribosomal de las bacterias patógenas o contra las pequeñas cantidades de ácidos nucleicos virales.- Hay ahora sondas moleculares disponibles para *Neiseria gonorrhoeae*, *Chlamidia* y virus asociados a enfermedades venéreas (57,60,61)

El VPH y el virus de herpes simple tipo II se han asociado fuertemente con el cáncer cervical.- Secuencias específicas de estas cepas de virus se han encontrado asociadas a enfermedades de transmisión sexual (54-57).

También se ha demostrado que el VIH se trasmite sexualmente (15).- Nuestros datos, y los de otros investigadores han indicado que, aunque un gran número de células de sangre periférica de los pacientes

de SIDA están infectadas con VIH, solo una pequeña población de células permite que el virus se replique in vitro (22).- Esto es particularmente importante en pacientes expuestos a un bajo título de virus o a una cepa de VIH que tiene un rango restringido de huéspedes o una lenta tasa de crecimiento.- Estos individuos pueden tomar mucho tiempo (varios meses a un año) para producir anticuerpos y pueden no mostrar virus capaz de ser cultivado.- Así, las técnicas de RPC han probado ser indispensables para la identificación de pequeñas cantidades de virus, aun en las células con una infección latente, y para cuantificación de la carga de virus en individuos infectados (18,22).

El análisis del DNA para el diagnóstico y cuantificación de la infección con el VIH en niños de madres seropositivas es especialmente importante para asegurar una intervención terapéutica temprana.- Debido a que el VIH tiene una alta tasa de mutación y que los pacientes infectados con VIH usualmente mantienen varias cepas del virus, es importante usar un panel de "primers" para el análisis por RPC y la detección temprana de infecciones o el tamizado de niños nacidos de madres infectadas con el VIH (6,79\_85).

Lo anterior es particularmente importante porque el RPC detecta DNA proviral directamente en las células infectadas y es independiente de las respuestas inmunes de huésped.

Mediante estas técnicas hemos podido identificar infecciones productivas como no-productivas en materiales conteniendo una célula infectada con múltiples copias del genoma viral, entre un millón de células no infectadas (S,Rasheed, datos no publicados).

El virus de la leucemia de células T-Humanas (VLTH) tipo I o tipo II, también se ha reportado ser transmitido sexualmente en ciertas poblaciones (2). Aunque el crecimiento de un virus en cultivo es una prueba definitiva para establecer una infección viral, es tan baja la eficiencia de aislamiento in vitro del VLTH-I ó del VLTH-II a partir de los individuos seropositivos, comparada con otros virus, que esta prueba no es muy útil para el diagnóstico clínico. Además, dado que el VLTH infecta tan pobremente, la mayor parte de los estudios han dependido de las pruebas serológicas para anticuerpos y de la detección molecular del virus latente o de crecimiento lento usando la técnica de amplificación RPC (2,74).- Iniciadores (Primers) específicos pueden

ayudar a identificar las células infectadas por diferentes virus y pueden distinguir cepas de VLTH-I y VLTH-II (86-88).- En adición, la sensibilidad de detección puede aumentarse 100 veces usando iniciadores múltiples.

#### Vigilancia Epidemiológica de Enfermedades.

La identificación y tipo de organismos patógenos involucrados en una epidemia es de gran ayuda para los epidemiólogos de salud pública. Recientemente, la pesquisa epidemiológica de varios agentes patógenos se ha hecho posible mediante el uso de sondas de DNA.-Por ejemplo, el plasmodio de la malaria, *Trypanosoma* y *Candida* en cantidades tan pequeñas como 100 organismos por 1 ul de sangre fueron detectados en algunos estudios (73,89,90).- Este aspecto de la investigación es importante para encuestas epidemiológicas porque es posible que no se detecten por técnicas convencionales bajas densidades de patógenos en poblaciones parcialmente inmunes en algunas áreas endémicas.

La influencia de la tecnología molecular en encuestas de prevalencia de virus ha sido ilustrada usando técnicas de sondas DN A. Se mostró que el DNA del VPH estaba presente en 100% de muestras de tejido cervical canceroso y en el 80% de las muestras de mujeres con cervix normal indicado por la coloración de Papanicolau (56).- Este estudio indicó que la infección con el VPH en las mujeres que asistían a dichos centros era similar a las infecciones con el VEB o el VHB. Todas estas infecciones eran generalmente altas en esta población y en pacientes con tumores cervicales (56,57).- Estos datos sugieren que otros cofactores están involucrados.

Cuando los factores de riesgo para el desarrollo del cáncer cervical se estudiaron tomando en cuenta los diferentes subtipos de VPH se encontró que los tipos 6 y 11 de VPH estaban asociados con el 90% de los condilomas anogeni tales, que raramente progresaban hacia la malignidad, pero los pacientes infectados con los tipos 16,18,31 o 35 tenían un alto riesgo de desarrollo cáncer cervical(58).- Debido a que el VPH no crece en cultivo la detección de su DNA en células cervicales exfoliadas o en biopsias de tejido cervical es crítica para el diagnóstico y para estudios epidemiológicos de "esta infección.

Recientemente, mediante análisis molecular y genético de cepas multiresistentes de *Staphylococcus aureus* de hospitales de toda Australia se identificó una cepa bacteriana predominante en la epidemia (78).

#### VENTAJAS DE LAS TÉCNICAS MOLECULARES

Reconociendo que las técnicas convencionales para la detección de anticuerpos y antígenos son útiles, sin embargo las técnicas moleculares han provisto ensayos altamente sensibles para genes de importancia para la investigación y para el diagnóstico clínico. Algunas de las ventajas de las técnicas de sondas de ácidos nucleicos se discuten a continuación.

1. La unión entre ácidos nucleicos es más fuerte que la avidéz del anticuerpo por el antígeno. Por lo tanto la hibridización molecular es más sensible que algunos de los inmunoensayos o técnicas histoquímicas para la detección de antígeno o anticuerpo.
2. Las técnicas moleculares proveen sondas muy sensibles para técnicas el diagnóstico de un amplio rango de desórdenes hematológicos oncológicos y genéticos. Por medio de varias endonucleasas de restricción que rompen el DNA en sitios específicos se han usado fragmentos de restricción de polimorfismos largos para el diagnóstico de enfermedades genéticas, incluyendo la anemia de células falsiformes, y para el tipo de cepas de bacterias patógenas, hongos y virus. En adición, estos métodos se han aplicado a la patología forense, pruebas de parentezco, pesquisa epidemiológica de patógenos y producción de productos mejorados para la agricultura y la industria farmacéutica.
3. Los agentes infecciosos involucrados en la patogénesis de una enfermedad pueden ser cuantificados aun cuando estén presentes en cantidades de subpicogramos o como infecciones latentes.
4. En una infección microbiana, las sondas de DNA o RNA pueden detectar la presencia de secuencias genéticas en lugar de los productos de genes. Así, las primeras etapas de la enfermedad se pueden diagnosticar en pacientes en los cuales las pruebas serológicas o histopatológicas fallan en descubrir la causa.
5. La prueba de hibridización in situ es suficientemente sensible para detectar bajos niveles de DNA o transcripciones de RNA directamente en la células o tejido afectado.

Esta técnica es particularmente útil para la localización de áreas afectadas en un órgano y para la identificación de fenotipos de células infectadas. Esto no es posible cuando se extrae el DNA o RNA total.

6. Usando sondas de oligonucleótido, tanto el RNA "con sentido" (es decir, la secuencia de RNA idéntica a la presente en la molécula de RNA nativa) y el RNA "contra sentido" (es decir, complementaria a la molécula RNA nativa) pueden ser usadas para hibridizar con el DNA. Por lo tanto, la sensibilidad de la hibridización in situ se puede aumentar de 100 a 1000 veces y aun genes con solo una copia se pueden identificar a nivel de DNA o RNA.
7. Las sondas de oligonucleótidos marcadas con moléculas no isotópicas pueden usarse con éxito para la detección rápida de varios genes virales, microbianos y celulares con una seguridad de 90 a 100 % (Cuadros 1 y 2).
8. Las láminas con células o tejidos y membranas conteniendo DNA o RNA, se pueden guardar después de la hibridización y coloración, usando sondas isotópicas y no-isotópicas, sin pérdida de señal o morfología celular para referencia futura.
9. El marcado no-isotópico no requiere licencia, manejo especial o procedimientos de desecho para uso en el laboratorio clínico o de investigación.
10. Las marcas no-isotópicas tiene una larga vida, algunas pueden guardarse hasta por mas de dos años.

#### **LIMITACIONES DE LOS SISTEMAS MOLECULARES DE DETECCIÓN**

Los datos disponibles al momento sugieren que los ensayos de hibridización molecular usando sondas radiomarcadas y aquellos que requieren largos períodos de autoradiografía pueden tener, limitaciones en el ambiente clínico. Además, la interpretación de los resultados requiere personal especialmente entrenado, debido a que la mayoría de los laboratorios clínicos generalmente no se involucran en el diagnóstico molecular. En adición, los resultados falsos-positivos que se ven en las técnicas RPC se pueden evitar usando precauciones apropiadas (82).

Los criterios para los sistemas de detección no-isotópica dependen de la aplicación del ensayo. Por ejemplo, una cuantificación de bajos niveles de agentes infecciosos puede estar mas allá de los límites de detección de algunas sondas moleculares no-isotópicas actualmente disponibles. Sin embargo, estos problemas pueden resolverse amplificando y enriqueciendo las secuencias genéticas con la técnica de RPC y el uso de sondas de oligonucleótidos específicas para la secuencia que se quiere detectar. Es de esperar que ideas innovativas e investigación básica en la química del marcado del DNA, RNA y las proteínas resultara en una mayor exactitud en los sistemas de detección.

#### **DISCUSIÓN**

El diagnóstico molecular de una enfermedad depende primordialmente de la disponibilidad de sondas específicas. Debido a que se han identificado las secuencias de ácidos nucleicos de la mayor parte de los microorganismos infecciosos, virus y mutaciones específicas en varias enfermedades genéticas y hereditarias, las sondas de DNA y RNA proveen sistemas específicos y sensibles de detección comparables o mejores a las técnicas convencionales de serología, cultivo, e histoquímica. Debe realizarse, sin embargo, que los métodos moleculares no son un sustituto para las técnicas serológicas que definen la respuesta inmune de un individuo a determinados antígenos. El aumento y la caída de los títulos de anticuerpos, particularmente de aquellos involucrados en la neutralización de un patógeno son importantes como medida de la enfermedad y para determinar la carga infectiva de un patógeno en un paciente. En adición, la evaluación serológica de ciertos agentes virales infecciosos (serotipos) es importante para la vigilancia epidemiológica de cepas determinadas en una población.

Debido a que ciertos virus son capaces de causar infecciones latentes, la detección de una secuencia de ácido nucleico (DNA o RNA) de un patógeno en particular no indica si el agente infeccioso está latente o está en un modo activo de replicación. Para esto el cultivo del virus o microorganismo se considera una prueba definitiva para la presencia o ausencia de un agente activo.

Este parámetro es particularmente importante para las pruebas de resistencia a drogas y el monitoreo de varias intervenciones terapéuticas usadas para controlar la replicación activa de los agentes infecciosos. Usando sondas moleculares se han identificado varios patógenos humanos importante sí (Cuadros 1 y 2). Como puede verse en el cuadro 3, la sensibilidad y especificidad de las técnicas moleculares correlacionan bien con otros métodos de detección (91,92).

La comparación de varios métodos indica que la sensibilidad de detección varía y depende del tamaño de la sonda de DNA o RNA, de la marca y del procedimiento de hibridización usado.

La comparación de los diferentes métodos de coloración para las sondas no-isotópicas indica que las sondas de oligonucleótidos biotinilados y los conjugados de estreptavidina-fosfatasa alcalina con diferentes métodos de coloración ofrecen técnicas altamente sensibles sin pérdida de especificidad. De hecho, en algunos casos la detección de sondas de oligonucleótidos conjugados con fosfatasa alcalina fue superior a la de una sonda marcada con <sup>32</sup>P. (50)

Los reactivos quemiluminiscentes y otras mejoras en los métodos de detección pueden aumentar aun mas la sensibilidad de las sondas moleculares. Aunque en nuestro laboratorio, las sondas radioactivas han dado señales altamente sensibles, en algunos casos las sondas no radioactivas también han dado resultados equivalentes. Sin embargo también se han obtenido resultados falsos-positivos y falsos-negativos con los métodos no-isotópicos de detección, por lo cual se deben incluir en cada prueba controles débil reactivo, fuertemente reactivo y negativo. Además, las muestras con resultados indeterminados o falsos-negativos deben ser confirmados usando sondas radioactivas.

Una ventaja inherente al método de detección no-isotópica es que las sondas marcadas se pueden guardar por mucho tiempo, y algunas se pueden usar por mas de dos años sin desestabilizarse.

También, en contraste con las técnicas radioisotópicas, los procedimientos de coloración para la hibridización no-isotópica se pueden completar en unas pocas horas. Sin embargo, en algunos casos se desarrolla un color débil de fondo cuando la sonda no-isotópica reacciona

con ácidos nucleicos exógenos, tales como el DNA de esperma de salmón presente en la mezcla de hibridización. Las impurezas en el sulfato de dextrano también conducen a un fondo oscuro (mucho ruido) en los métodos de detección colorimétrica.

Nuestros datos sobre la hibridización in situ nos indican que ésta es una técnica poderosa para la detección de infecciones persistentes y la identificación simultanea de tipos específicos de células involucradas en la expresión clínica de la enfermedad (19,20). Comparando las sondas de RNA marcadas con <sup>35</sup>S-UTP con las marcadas con biotina en la hibridización in situ de células crónicamente infectadas con VIH in vitro no mostró diferencias en la hibridización específica habiéndose preparado las sondas anti-sentido de las regiones gag y pol del genoma viral. No se vio hibridización con líneas celulares no infectadas, incluyendo líneas de células T, RH9, CEM, y CMSP estimuladas con PHA; sin embargo, la sensibilidad de detección fue mayor cuando se usaron sondas radioactivas. Aunque las sondas de RNA transcritas in vitro no fueron lo suficientemente sensibles para cuantificar las varias cepas de VIH directamente en la sangre de los pacientes, la sensibilidad pudo aumentarse con el uso de oligonucleótidos.

Ademas, dado que el VIH, VLTH-I y II son genéticamente diversos, el uso de oligonucleótidos de diferentes regiones en secuencias altamente conservadas de estos virus ha permitido la detección de una sola copia de la secuencia en el DNA animal, (S. Rasheed, datos no publicados.)

Se vuelve cada vez mas evidente que la ingeniería genética y las técnicas moleculares continuarán aportando las pruebas mas sofisticadas y, posiblemente, las mas sencillas para el diagnóstico rápido de los cambios patológicos inducidos por agentes infecciosos y mutaciones genéticas. La posibilidad de automatización ofrece una alternativa atractiva a las técnicas convencionales que requieren tanto trabajo. Finalmente, muchas mejoras están en camino para aumentar la sensibilidad y especificidad de estos procedimientos, y se espera que en la próxima década la mayor parte de los laboratorios clínicos usarán sondas basadas en el DNA o RNA dando nuevas perspectivas al diagnóstico patológico.



Este parámetro es particularmente importante para las pruebas de resistencia a drogas y el monitoreo de varias intervenciones terapéuticas usadas para controlar la replicación activa de los agentes infecciosos. Usando sondas moleculares se han identificado varios patógenos humanos importantes (Cuadros 1 y 2). Como puede verse en el cuadro 3, la sensibilidad y especificidad de las técnicas moleculares correlacionan bien con otros métodos de detección (91,92).

La comparación de varios métodos indica que la sensibilidad de detección varía y depende del tamaño de la sonda de DNA o RNA, de la marca y del procedimiento de hibridización usado.

La comparación de los diferentes métodos de coloración para las sondas no-isotópicas indica que las sondas de oligonucleótidos biotinilados y los conjugados de estreptavidina-fosfatasa alcalina con diferentes métodos de coloración ofrecen técnicas altamente sensibles sin pérdida de especificidad. De hecho, en algunos casos la detección de sondas de oligonucleótidos conjugados con fosfatasa alcalina fue superior a la de una sonda marcada con  $^{32}\text{P}$ . (50)

Los reactivos quimioluminiscentes y otras mejoras en los métodos de detección pueden aumentar aun mas la sensibilidad de las sondas moleculares. Aunque en nuestro laboratorio, las sondas radioactivas han dado señales altamente sensibles, en algunos casos las sondas no radioactivas también han dado resultados equivalentes. Sin embargo también se han obtenido resultados falsos-positivos y falsos-negativos con los métodos no-isotopicos de detección, por lo cual se deben incluir en cada prueba controles débil reactivo, fuertemente reactivo y negativo. Además, las muestras con resultado sin determinados o falsos-negativos deben ser confirmados usando sondas radioactivas.

Una ventaja inherente al método de detección no-isotópica es que las sondas marcadas se pueden guardar por mucho tiempo, y algunas se pueden usar por mas de dos años sin desestabilizarse.

También, en contraste con las técnicas radioisotópicas, los procedimientos de coloración para la hibridización no-isotópica se pueden completar en unas pocas horas. Sin embargo, en algunos casos se desarrolla un color débil de fondo cuando la sonda no-isotópica reacciona

con ácidos nucleicos exógenos, tales como el DNA de esperma de salmón presente en la mezcla de hibridización. Las impurezas en el sulfato de dextrano también conducen a un fondo oscuro (mucho ruido) en los métodos de detección colorimétrica.

Nuestros datos sobre la hibridización in situ nos indican que ésta es una técnica poderosa para la detección de infecciones persistentes y la identificación simultanea de tipos específicos de células involucradas en la expresión clínica de la enfermedad (19,20). Comparando las sondas de RNA marcadas con  $^{35}\text{S}$ -UTP con las marcadas con biotina en la hibridización in situ de células crónicamente infectadas con VIH in vitro no mostró diferencias en la hibridización específica habiéndose preparado las sondas anti-sentido de las regiones gag y pol del genoma viral. No se vio hibridización con líneas celulares no infectadas, incluyendo líneas de células T, RH9, CEM, y CMSP estimuladas con PHA; sin embargo, la sensibilidad de detección fue mayor cuando se usaron sondas radioactivas. Aunque las sondas de RNA transcritas in vitro no fueron lo suficientemente sensibles para cuantificar las varias cepas de VIH directamente en la sangre de los pacientes, la sensibilidad pudo aumentarse con el uso de oligonucleótidos.

Ademas, dado que el VIH, VLTH-I y II son genéticamente diversos, el uso de oligonucleótidos de diferentes regiones en secuencias altamente conservadas de estos virus ha permitido la detección de una sola copia de la secuencia en el DNA animal, (S. Rasheed, datos no publicados.)

Se vuelve cada vez mas evidente que la ingeniería genética y las técnicas moleculares continuarán aportando las pruebas mas sofisticadas y, posiblemente, las mas sencillas para el diagnóstico rápido de los cambios patológicos inducidos por agentes infecciosos y mutaciones genéticas. La posibilidad de automatización ofrece una alternativa atractiva a las técnicas convencionales que requieren tanto trabajo. Finalmente, muchas mejoras están en camino para aumentar la sensibilidad y especificidad de estos procedimientos, y se espera que en la próxima década la mayor parte de los laboratorios clínicos usarán sondas basadas en el DNA o RNA dando nuevas perspectivas al diagnóstico patológico.

## AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue hecho posible mediante una beca de la fundación Fulbright y la Universidad de Honduras durante la Licencia Sabática del Dr. Manuel Figueroa en el Laboratorio para Oncología Viral e Investigación en SIDA, dirigido por la Dra. Suraiya Rasheed, de la Universidad de California del Sur en Los Angeles, CA.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Gallo RC, Montagnier L. AIDS in 1988. *Sci Am* 1988;259:41-48.
2. Poiesz BJ, Ehrlich GD, Papsidero LD, Sninsky JJ. Detection of Human Retroviruses, In: De Vita VT, Hellman S, Rosenberg SA, eds. *AIDS Etiology, Diagnosis, Treatment, and Prevention*. 2nd ed. Philadelphia: J.B. Lippincott, 1989; 1-54.
3. Wong-Stall F, Gallo RC. Human T-lymphotropic retroviruses. *Nature* 1985;317:395-403.
4. Pzanne G, Fauvel M. Performance and reliability of five commercial enzyme linked immunosorbent assay kits in screening for antihuman immunodeficiency virus antibody in high-risk subjects. *J Clin Microbiol* 1988;26:1496-1500.
5. Ranki A, Valle SL, Krohn M. et al. Long latency precedes overt sero conversion in sexually transmitted human immunodeficiency virus infection. *Lancet* 1987;2:589-593.
6. Loche M, Mach B. Identification of HIV-infected seronegative individuals by a direct diagnostic test based on hybridization to amplified viral DNA, *Lancet* 1988;2:418-421.
7. Lee W-H, Bookstein R, Hong F, Yound L J, Shew J-Y, Lee E. Human retinoblastoma susceptibility gene: cloning, identification, and sequences, *Science* 1987;2:235;1394.
8. Bienerhassett GT, Furth ME, Anderson A, et al. Clinical evaluation of a DNA probe assay for the Philadelphia (PhD) translocation in chronic myelogenous leukemia. *Leukemia* 1988;2:648-657.
9. Rasheed S, Norman GL, Heidcker G. Nucleotide sequence of the Rasheed rat sarcoma virus oncogene: new mutations. *Science* 1983;221:155-157.
10. Rasheed S. The fgr oncogene, In: Reddy E, Skalka A, Cyman T, eds. *Oncogene Handbook*, New York: Elsevier 1988;59-72.
11. Dykes DD. The use of biotinylated DNA probes in parentage testing: non-isotopic labeling and non-toxic extraction. *Electrophoresis* 1988;9:359-368.
12. Jeffries AJ, Brookfield JFY, Semeonoff R. Positive identification of an immigration test-case using human fingerprints. *Nature* 1985;317:818-819.
13. Kobayashi R, Nakauchi H, Nakahore Y. et al. Sex identification in fresh blood and dried blood stains by a non-isotopic deoxyribonucleic acid (DNA) analyzing technique. *J Forensic Sci* 1988;33:613-620.
14. Lee S-Y, Rasheed S. A simple procedure for maximum yield of high quality plasmid DNA, *Biotechnology* 1990;9:676-679.
15. Thompson J. Gillespie molecular hybridization with RNA probes in concentrated solutions of guanidine thiocyanate. *Anal Biochem* 1987;163:281-291.
16. Harper ME, Marsella LM, Gallo RC, Wong-Staal F. Detection of lymphocytes expressing human T-lymphotropic virus type III in lymph nodes and peripheral blood from infected individuals by *in situ* hybridization. *Proc Natl Acad Sci USA* 1986;83:772-776.
17. Krieg PA, Melton A. Functional messenger RNAs are produced by SP6 *in vitro* transcription of cloned cDNAs. *Nucleic acids Res* 1984;12:7057-7071.
18. Sambrook J, Fritsch EF, Maniatis T. *Molecular cloning: a laboratory manual*. Cold Spring Harbor, New York: Cold Spring Harbor Laboratory, 1989.
19. Rasheed S, Gowda S, Gili PS, Meyr PR, Levine AM. Antiviral effects of **suramin** in patients with the acquired immune deficiency syndrome, *International Journal Immunotherapy* 1987;3:81-88.

20. Rigby PWJ, Dieckmann M. **Rhodes** C, Berg P. Labeling deoxyribonucleic acid to high specific activity in vitro by nick translation with DNA polymerase. *J Mol Biol* **1977**;113:237-251.
21. Feinberg AP, Vogelstein B. A technique for radio-labeling DNA restriction endonuclease fragments to high specific activity. *Anal Biochem* 1983;132:6-10.
22. Rasheed S, Norman GL, Shu Su. AIDS: Diagnostic procedures for the antibody and retrovirus In: Villarejos H, eds. *Viral Hepatitis and AIDS. Proceedings of the International Symposium on Viral Hepatitis and AIDS*. San José. Costa Rica: Trejos Hnos. 1987;31-52.
23. Singer RH, Lawrence JB, Villave C. Optimization of in situ hybridization using isotopic and non-isotopic detection methods. *Bio Techniques* 1986;4:230-250.
24. Jablonski E, Moomaw WW, Tullis RH, Ruth TL. Preparation of oligodeoxynucleotide-alkaline phosphatase conjugated and their use as hybridization probes. *Nucleic Acids Res* 1986;14:6115-6127.
25. Bronstein I, Voyta JC, Edwards A. A comparison of chemiluminescent and colorimetric substrates in a hepatitis B virus DNA hybridization assay. *Anal Biochem* 1989;180:95-98.
26. Dahlen P, **Husskainen** P, Lovgren T, Hyypia T. Time-resolved fluorometry for the identification of rival DNA in clinical specimens. *J Clin Microbiol* 1988;26:2434-2436.
27. Lcary JJ, Brigati DJ, Ward DC. Rapid and sensitive colorimetric methods for visualizing biotin-labeled DNA probes hybridized to DNA or RNA immobilized on nitrocellulose Bio-blots. *Proc Natl Acad Sci USA* 1983;80:4045-4049.
28. Chan VT, Fleming KA, McGee JOD. Detection of subpicogram quantities of specific DNA sequences on blot hybridization with biotinylated probes. *Nucleic Acids Res* 1985;13:8083-8091.
29. Ose C. Polymerase chain reaction. *Biotechniques* 1988;6:162-167.
30. Saiki RK, Arnheim N, Erlich HA. A novel method for the detection of polymorphic restriction sites by cleavage of oligonucleotide probes: application to sickle-cell anemia. *Bio/Technology* 1985;3:1008-1012.
31. Southern EM. Detection of specific sequences among DNA fragments separated by gel electrophoresis. *J Mol Biol* 1975;98:503-517.
32. Barlett RJ, Prcicak-Vance MA, Yamoaka L, et al. A new probe for the diagnosis of myotonic muscular dystrophy. *Science* 1987;235:1648.
33. Embury SH, Scharf SJ, Saiki RK, et al. Rapid prenatal diagnosis of sickle-cell anemia by a new method of DNA analysis. *N Engl J Med* 1987;316:656.
34. Fox RI, Dotan I, Compton T, Fei HM, Hamer M, Saito I. Use of DNA amplification methods for clinical diagnosis in autoimmune diseases. *J Clin Lab Anal* 1987;3:378-387.
35. Saito I, Serenius B, Compton T, Fox RI. Detection of Epstein Barr virus DNA by polymerase chain reaction in blood and tissue biopsies from patient with Sjogren's syndrome. *J Exp Med* 1989;169:2191-2198.
36. Young FE. DNA probes, **fruits** of the new biotechnology. *JAMA* 1987;258:2404-2406.
37. Olive DM, Sethi SK. Detection of human rotavirus by using an **alkaline** phosphatase conjugated synthetic DNA probe in comparison with enzyme-linked immunoassay and **polycrylamide** gel analysis. *J Clin Microbiol* 1989;27:53-57.
38. Arens M, Swickosz EM. Detection of rotavirus by hybridization with a nonradioactive synthetic DNA probe and comparison with commercial enzyme immunoassays and silver-stained polyacrylamide gels. *J Clin Microbiol* 1989;27:1277-1279.
39. Flores J, Green KY, Garcia D. Dot hybridization assay for distinction of rotavirus serotypes. *J Clin Microbiol* 1989;27:29-34.

40. **Olive DM. Detection of enterotoxigenic Escherichia coli** after polymerase chain reaction **amplification** with a thermostable DNA polymerase. *J Clin Microbiol* 1989;27:261-265.
41. Soriwatana J. Echeverria P. Taylor DN. Sakuldaipeara T. Changchawalit S. Chivoratonond O. Identification of enterotoxigenic Escherichia coli with synthetic alkaline phosphatase-conjugated oligonucleotide DNA probes. *J Clin Microbiol* 1987;25:1438-1441.
42. Frankel G, Girón JA, Valmassoi J. Schoolnik GK. Multi-gene amplification: simultaneous detection of three virulence genes in diarrhoeal stool. *Mol Microbiol* 1989 :1729-1734.
43. Taylor DN. Escherich P, Ptarangsi C. et al. Application of DNA hybridization techniques in the assessment of diarrheal disease among refugees in Thailand, *Am J Epidemiol* 1988;127:179-187.
44. Bej AK, Steffan RJ, DiCESare J. Haff L, Atlas RM. Detection of coliform bacteria in water by polymerase chain reaction and gene probes. *Appl Environ Microbiol* 1990;56:307-314.
45. Picken RN, Wang Z, Yang HL. Molecular cloning of species-specific DNA probe for *Campylobacter jejuni*. *Mol Cell Probes* 1987;1:245-259.
46. Wilson K H, Blitchington R. Hindenach KB, Grcene RC, Species specific oligonucleotide probes for rRNA of *Clostridium difficile* and related species. *J Clin-Microbiol* 1988;26:2484-2488.
47. Herrmann G, Hubner K. In situ hybridization with HBV c-DNA as a sensitive method for the diagnosis of hepatitis B infection in persistent acute hepatitis. *Hepatogastroenterology* 1987;34:148-151.
48. Naoumov NV, Alexander GJM, Feddleston ALW, Williams . In situ hybridization in formalin fixed, paraffin embedded liver specimens: methods for detecting human and viral DNA using biotinylated probes. *J Clin Pathol* 1988;41:793-798.
49. Lurain NS. Thompson KD, Farrand SK. Rapid detection of cytomegalovirus in clinical specimens by using biotinylated DNA probes and cross-reactivity with herpes simplex virus. *J Clin Microbiol* 1968;24:724-730.
50. Mifflin TE, Bowden J, Lovell MA, et al. comparison of radioactive (32P and 35S) and biotinylated probes for detection of **cytomegalovirus** DNA, **Clin Biochem** 1987 20:231-235.
51. Schrier R. Nelson J, Oldstone M. Detection of human cytomegalovirus in peripheral blood lymphocytes in a natural lymphocytes infection. *Science* 1985;230:1048-1051.
52. Stockl E, Popow-Kraupp T. Heinz FX, Mulbacher F. Balck P. Kunz C. Potential of in situ hybridization for early diagnosis of productive cytomegalovirus infection. *J Clin Microbiol* 1988; 26:2536-2540.
53. Diaz-Mitoma F. Preiksaitis JK, Leung WC, Tyrrell DLJ. DNA-DNA dot hybridization to detect Epstein-Barr virus in throat washings. *J Infect Dis* 1987;155:297-303.
54. Rotbart HA, Eastman PS, Ruth JL, Hirata KK, Levin MJ. Nonisotopic oligomeric probes for the human enteroviruses. *J Clin Microbiol* 1988 6:2669-2671.
55. Burns J, Graham AK, Frank C, Fleming KA, Evans MF, McGeem RNA in routine paraffin sections of cervix by non-isotopic in situ hybridization using isotopic and non-isotopic detection methods, *Bio Techniques* 1968;4:230-250.
56. Crum LP, Ikenberg H, Richard RM. Human papilloma virus type 16 and early cervical neoplasia. *N Engl J Med* 1984;310:880-883.
57. **Melchers** WJ, Herbrink PQ, Walboomors JMM, Meijer JLM, Lindeman J. Prevalence of genital HPV infection in a regularly screened population in the Netherlands in relation to cervical cytology, *J Med Viro* 1988;25:11-16.
58. Gissmann L, de Villiers EM, Zur Hausen H. Analysis of human genital warts (condyloma acuminatum), and other genital tumors of human papilloma type DNA. *Int J Med Viro* 1982;29:143-146.

81. Krivinc A, Yakudima A, Le-May M, Pena-Cruz V, Huang AS, McIntosh K. A comparative study of virus sequences of human immunodeficiency virus in infants born with isolation polymerase chain reaction, and antigen detection in children of 88. mothers infected with human immunodeficiency virus. *J Pediatr* 1990;166:372-376.
82. Kwok S, Higuchi R. Avoiding false positives with PCR. *Nature* 1989;339:237-238.
83. Murakawa GJ, Zaia JA, Spallone PA, et al. Direct detection of HIV-I RNA from AIDS and ARC patients samples, DNA 1988;7:287-295.
84. Keller GU, Huang DP, Manak MM. A sensitive nonisotopic hybridization assay for HIV-I DNA. *Anal Biochem* 1989; 177:27-32.
85. Rogers MF, Ou CY, Rayfield M, et al. Use of the polymerase chain reaction for early detection of the proviral sequences of human immunodeficiency virus in infants born to seropositive mothers. *N Engl J Med* 1990;320:1649-1654.
86. Lee H, Swanson P, Shorty VS, Zack JA, Rensblatt JD, Chen IS. High rate of HTLV-II infection in seropositive i.v. drug abusers in New Orleans. *Science* 1989;244:471-475.
87. Ehrlich GD, Davey FR, Kirshner JJ, et al. A polyclonal CD4 and CD8+lymphocytosis in a Patient doubly infected with HTLV-I and HIV-I: a clinical molecular analysis. *Am J Hematol* 1989;30:128-139.
88. De BK, Srinivasan A. Multiple primer pairs for the detection of HTLV-I by PCR. *Nucleic Acids Res* 1989;17:2142-2142.
89. McLaughlin GI, Edlind TD, Campbell GH, Eller RF, Ihler GM. Detection of *Plasmodium falciparum* using a synthetic DNA probe. *Am J Trop Med Hyg* 1985; 34:837-840.
90. Gonzales A, Predigner E, Huecas ME, Nogueira N, Lisard PM. Microsomal repetitive DNA in *Typanosoma cruzi*. Its use in a highly sensitive parasite detection assay. *Proc Natl Acad Sci USA* 1984;81:3356-3360.
91. Savitt ED, Strzempko MK, Vaccar KK, Peros WJ, French CK. Comparison of culture: methods and DNA probe analysis for the detection of **Actinobacillus actinomycetemcomitans**, *Bacteroides gingivalis* and *Bacterioides intermedius* in subgingival plaque sample, *J. Periodontol* 1988;59:431-438.
92. Naehner H, Petzoldt D, Sethi KK. Evaluation of nonradioactive in situ hybridization method to detect *Chlamydia trachomatis* in colic culture. *Genitourinary Medicine* 1988;64:162-164.

---

# HLA y Enfermedades

---

*Dr. Jorge Fernández'*

---

Una vista retrospectiva a los 50 años de historia del complejo principal de histocompatibilidad (MHC), nos permite conocer los puntos básicos que dieron lugar a su descubrimiento y estudio.

Su análisis se inició con experimentos (Medawar) sobre procesos inmunológicos responsables del rechazo de trasplantes en ratones donde se mostraba que la estructura antigénica reconocida por el receptor como extraña no solo se encontraba en tejido transplantado, sino en otras células nucleadas como los leucocitos. Observaciones hechas posteriormente en el hombre, llevaron a que en 1954 se descubriera (Daussett) que después de transfusiones sanguíneas se desarrollaban anticuerpos contra leucocitos, los cuales reaccionaban selectivamente con las células de los individuos donadores. De estos estudios surgió la descripción de la primera especificidad antigénica del sistema HLA identificada como MAC (HL A-A2). En 1958 se describen hallazgos de anticuerpos detectables en sueros de mujeres embarazadas, los cuales aglutinaban los leucocitos de sus esposos y de otras personas no relacionadas; entonces, se supuso que esos anticuerpos habían surgido de la sensibilidad de la madre a los antígenos del feto (Van Rood, Payne). Una nueva dimensión agregada a los estudios serológicos de los antígenos MHC en glóbulos rojos, permite conocer que su presencia y función en estas células es de menor importancia con respecto a otras estirpes celulares de

hecho, varias especies vertebradas no expresan moléculas MHC en glóbulos rojos y las que lo hacen es solamente para descartar información remanente en el citoplasma después de la expulsión del núcleo.

Por otra parte, el MHC da la impresión de ser el sitio de genes misteriosos, gobernando la respuesta inmune (genes Ir), distintos del MHC como tal, pero mágicamente unidos a él. Este momento impresionante de la historia de la Inmunología generado en falsas premisas, es desvelado con el reconocimiento de que los (genes Ir) no son más que el MHC disfrazado; la huella ha sido tan profunda que todavía no se supera la terminología de genes Ir, región I y antígenos la.

En un número de especies de vertebrados el MHC está asociado íntimamente a genes que codifican para componentes de complemento, hecho suficiente para convencer a los inmunólogos que los genes de complemento son parte del MHC; sin embargo, hasta ahora no se encuentra ligazón de que ambos grupos de loci actúen juntos funcional y evolutivamente.

En esta presentación definimos el MHC como un grupo de loci que codifican para proteínas que proveen el contexto para el reconocimiento antigénico por los Linfocitos-T. Por "contexto" entendemos que una célula -T no reconoce un antígeno solo, sino junto a moléculas MHC de la célula presentadora de antígenos (CPA), superando el concepto tradicional de ver el MHC como un grupo de loci que ocupa ciertos segmentos

---

(\*} Jefe del Banco de Sangre del Hospital Escuela

cromosómicos arbitrariamente delineados, y excluye los loci de **complemento** puesto que su función es diferente y su estructura no es análoga a MHC.

Utilizando la definición evolutiva, los loci de MHC se dividen en dos clases, designadas I y II.

Las principales características de los genes de clase I son: proteínas glicadas (glicopeptidos), con peso molecular de 44000, cadena de 350 aminoácidos en promedio, presencia de tres dominios extramembrana, asociación con beta-2-microglobulina y actividad asociada más a linfocitos T- citotóxicos.

Los glicopéptidos de clase II tienen dos cadenas, alpha y beta, con peso molecular de 28000 y 34000 respectivamente, cadenas de 220 y 230 aminoácidos, presencia de dos dominios extramembrana, dimerización de sus cadenas y asociación funcional con linfocitos T- cooperadores y supresores. (figura No.1)

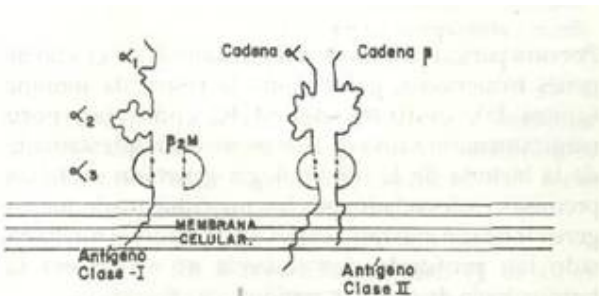


Figura n°1)- Representación diagramática de moléculas HLA clases I y II, con sus respectivas cadenas y dominios β<sub>2</sub>m = Beta-2-microglobulina.

Las moléculas clase I proveen contexto para reconocimiento de antígenos que forman parte integral de la membrana, e.g., antígenos virales en tanto que las moléculas de clase II lo hacen para antígenos solubles que son aceptados y procesados por las CPA. Este proceso conocido como reconocimiento restringido, es un evento que ha evolucionado de manera que permite que el sistema inmune responda efectivamente a antígenos extraños, y al mismo tiempo reconozca y no responda a los antígenos propios {figura No.2).

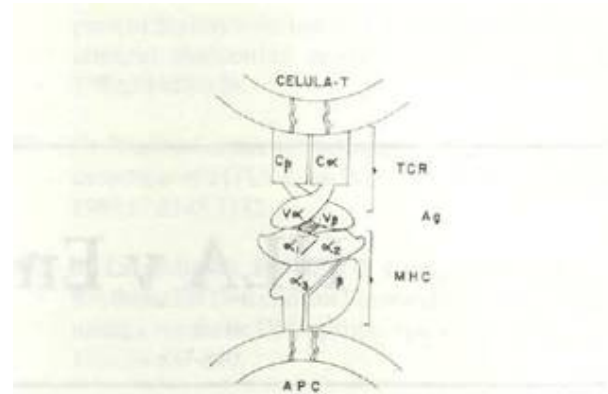


Figura N°2.- Representación diagramática del complejo de activación trimolecular de células-T, que comprende al receptor de células T (TCR), antígeno y molécula MHC. Vα, Vβ, Cα, Cβ son las regiones variables y constantes de las cadenas α y β de TCR. α<sub>1</sub>, α<sub>2</sub>, α<sub>3</sub> y β representan los tres dominios α y el dominio β del complejo MHC.

La región clase I contiene por lo menos 17 genes diferentes, siendo los más conocidos los que codifican para los antígenos HLA-A, -B y -C y recientemente HLA-E, -F y -G que aún se encuentran en estudio. La región clase II (HLA-D), está constituida de cuatro subregiones: DP, DN/DO, DX/DV/DQ y DR.

La presencia de moléculas clase I es universal en las células nucleadas y plaquetas, en tanto que las de clase II se expresan en monocitos, células dendríticas, **linfocitos** B, células T activadas, cosinófilos, células endoteliales y fibroblastos, y de manera anormal en algunos tejidos con trastornos autoinmunes {e.g., tiroides y páncreas).

Una característica principal de estos genes es que cada uno de ellos es extraordinariamente polimórfico y otra es que se heredan de manera codominante de padres a hijos, es decir, los productos de ellos son siempre expresados en la descendencia. Estas características han permitido que sean usados como marcadores genéticos en el estudio de enfermedades asociados a ellos, principalmente en aquellas cuya etiología tiene un fondo inmunológico. También son muy útiles en la caracterización de la estructura genética de las poblaciones, ya que la frecuencia de sus alelos varía de un grupo étnico a otro; y finalmente en la selección de individuos candidatos para donación y trasplante de órganos.

El elevado polimorfismo de cada uno de los genes MHC tendría como consecuencia la formación de una gran cantidad de combinaciones entre sus alelos y por tanto debería de existir **un** gran número de **haplo tipos**; sin embargo, se ha observado que puede presentarse una distribución no al azar entre alelos de dos loci diferentes que se encuentren cercanos entre sí, por lo que se presentan combinaciones de alelos con una frecuencia mayor a la esperada, es lo que se conoce como desequilibrio de enlace. Cuando todos los alelos de los loci del MHC se encuentran en desequilibrio se le llama haplotipo extendido, pudiendo ser característicos dependiendo de la población que se estudie.

El conocimiento de que las moléculas HLA sirven como elementos de contexto para el reconocimiento antigénico, hizo pensar que el sistema podría relacionarse con la predisposición para desarrollar algunas enfermedades. Así, se han estudiado más de 500 enfermedades de las cuales la mitad presentan algún tipo de asociación con el sistema HLA (tabla No.1).

ANTIGENO	ENFERMEDAD	RIESGO RELATIVO
HLA - A A3	Hemocromatosis	28.2
HLA - B B5 B7	Enfermedad de Behcet	6.3
B8	Numerosas enfermedades en alta asociación con DR2	
B27	Numerosas enfermedades sobre todo autoinmune en alta asociación con DR3	
	Espondilitis anquilosante	87.4
	Uveítis anterior aguda	10.4
	Enfermedad de Reiter	37.0
B35	Tiroiditis subaguda	14.6
B47	Hiperplasia adrenal congénita	15.4
HLA - C Cw6	Psoriasis	13.3
HLA - DR DR2	Síndrome de Goodpasture	15.9
	Lepra tuberculoide	8.1
DR3	Cirrosis biliar primaria	7.6
	Enfermedad celiaca	18.6
	Síndrome seco	9.7
	Enfermedad de Addison idiopática	8.8
	Nefropatía membranosa idiopática	12.0
DR4	Diabetes mellitus tipo II	6.4
	Penfigo vulgar	14.4
DR7	Psoriasis	8.6

El estudio de relaciones HLA y enfermedad presenta varios problemas:

- 1) Los alelos asociados a una enfermedad también se encuentran en la población normal.
- 2) Un solo alelo se puede asociar con más de una enfermedad.
- 3) En una misma enfermedad no hay asociación en 100% de los casos con un solo alelo. Así, se ha buscado un mayor polimorfismo llevando a la descripción de subtipos de alelos o incluso de epítopes que determinan susceptibilidad de padecer una enfermedad, tal es el caso de diabetes mellitus tipo I que es asociada con la presencia de una aminoácido sin carga en la posición 57 de la cadena beta de DQ.

A pesar de esto no ha sido posible determinar categóricamente una asociación específica entre el sistema HLA y enfermedad. Son varias las ideas que se discuten para intentar explicar la fenomenología de asociación:

1. La hipótesis de la semejanza molecular en la que se postula que la estructura de agentes infecciosos es similar a los antígenos HLA, por lo que puede existir reactividad cruzada.
2. La hipótesis del receptor, en la cual ciertos antígenos HLA, pueden actuar como receptores específicos para agentes **infecciosos** y que tal evento se ligue con el estado de enfermedad.
3. La hipótesis del antígeno HLA modificado por **antígenos extraños, estimulando el reconocimiento** por células inmunológicamente activas.
4. Es plausible pensar en la presencia de genes localizados dentro del sistema HLA que no le pertenecen, pero que sean los que produzcan la enfermedad. Es posible que más de un mecanismo de los propuestos esté involucrado.

El estudio del sistema HLA ha permitido el empleo exitoso en diferentes áreas, tal vez la más común sea la selección de donadores de órganos lo que ha permitido un incremento de sobrevivencia del trasplante.



Su complejidad, sin embargo, está todavía siendo revelada mediante técnicas de secuencia, linfolisis, anticuerpos monoclonales o clonaje de DNA. Hasta que se haga posible una definición mucho más precisa de los productos MHC, los estudios de asociación con enfermedad no tendrán más que interés académico; por ahora, no tienen una aplicación en el manejo convencional de pacientes, pero empiezan a tener un lugar en las nuevas formas de diagnóstico y tratamiento.

### BIBLIOGRAFÍA

1. Klouda P.T. and Bradley B.A.: The interface between HLA genes and immunological diseases. Recent Advances in Clinical Immunology III. Churchill Livingstone, New York, 1973.
2. Van Rood L., de Vries R.P. and Bradley B.A.: Genetics and biology of the HLA system. In: Dorf M.E. (ED): The Role of the MHC in immunobiology, J. Wiley and sons, Chichester, 1981.
3. Sachs D.H.: The MHC, In: Paul W.E. (Ed): Fundamental Immunology. Raven Press, New York, 1984.
4. Kaskins H., Kapler J-, and Marrack P.: The MHC resstricted antigen receptor on T- cells. In: Paul W.E., Fathman C.G. and Metzger H. (Eds) Annual Review of Immunology II. A.R. Inc., Palo Alto, 1984.
5. Granados J.: Sistema HLA: Biología y Aplicaciones. Noti-Behring 5 (2): 2, 1990.

---

# Efectos de los Plaguicidas en Honduras

---

*Flora Duarte , Catherine de. Castañeda'*

---

Los problemas asociados con la aplicación desenfrenada de plaguicidas, particularmente en el sector agropecuario, está causando alarma a nivel mundial. Son continuas las noticias que se tienen de algún plaguicida que ha contaminado las aguas los suelos o que intoxican y matan a los seres humanos. Desde Brasil se informó recientemente, que el gobierno reconoció que el río Gaiba en el estado de Río Grande del Sur, de donde se obtiene el agua potable para la población de Porto Alegre está contaminada con plaguicidas clorados y que el Heptacloro y el Endosulfán están presentes en concentraciones superiores a las permitidas por la Organización Mundial de la Salud. Por lo tanto, este Estado hizo una prohibición general para el uso de cualquier químico clorado, se ordenó el uso de recetas profesionales para la venta de otras clases de plaguicidas, y se reorientó la investigación y extensión agrícola hacia el control biológico (1). Desafortunadamente la mayoría de los incidentes relacionados con el abuso de plaguicidas no traen consecuencias tan positivas.

En realidad son cuatro prob

lemas principales relacionados con el mal manejo de plaguicidas, de los cuales se derivan los demás.

---

1.- Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de Honduras, Tegucigalpa, D. C. 2.- Dirección de Investigación Científica, Universidad Nacional Autónoma de Honduras.

1. Resistencia de la plaga a los plaguicidas.
2. Intoxicación humana y animal.
3. Persistencia de ciertos plaguicidas que resultan en exposición crónológica a los plaguicidas (ocupacional e incidental).
4. Desechos de envases de plaguicidas y existencias viejas y vencidas de plaguicidas (2).

Los plaguicidas son sustancias inherentemente tóxicas para muchas formas de vida, y su uso adecuado y seguro debe basarse en información extraída de una variedad de disciplinas científicas como son medicina, entomología, fitopatología, química, toxicología ambiental, etc. Es por eso, que estos problemas con el manejo de plaguicidas son multidisciplinarios y merecen la preocupación de todos los sectores sociales de la sociedad.

Hay que reconocer que los plaguicidas químicos para el control de plagas y enfermedades agrícolas, así como insectos vectores de enfermedades de importancia para la salud pública, seguirán necesitándose en un futuro previsible debido a las siguientes premisas: 1. Las plagas agrícolas a menudo producen pérdidas de cultivos de hasta 50 si se suman las pérdidas incurridas durante la producción y almacenamiento. 2. El riesgo de hambruna en los años venideros es amenaza muy real y creciente. 3. La mal nutrición y la inanición se han extendido y están ya con nosotros en muchas partes del mundo. 4. Los insectos vectores de enfermedades amenazan continuamente a la salud pública.

A pesar de los esfuerzos substanciales en años recientes para hallar medios no químicos de control de plagas, los plaguicidas siguen siendo uno de los métodos principales para combatir estas plagas. Ya, que los plaguicidas son tan importantes para la protección de nuestra salud y suministro de alimentos, deben emplearse de una manera segura. Consecuentemente, es necesario dirigirse hacia el desarrollo de información que capacitan a las personas para manejar los plaguicidas, sea en su formulación, transporte, almacenaje, venta, uso y disposición final.

Además, es muy importante concretar una efectiva vigilancia epidemiológica para apoyar el desarrollo de la información necesaria para evaluar los riesgos para la salud, del uso de los distintos plaguicidas en las formas particulares en que son manejados.

En Honduras, se empezó a utilizar productos químicos para controlar plagas sin conocer los efectos secundarios de ellos, como en los recursos naturales y la salud humana. El uso de plaguicidas en Honduras empezó en las zonas dedicadas a los monocultivos de banano (la Costa Norte) y algodón (la Zona Sur) desde hace 50 años con insecticidas de compuestos inorgánicos. Estos fueron sustituidos durante los 50's con los plaguicidas organoclorados, los cuales están siendo sustituidos, actualmente, por los organofosforados, piretroides y carbamatos.

El uso de los plaguicidas ha sido limitado por mucho tiempo a las plantaciones grandes en manos de la empresa privada y al sector salud para el control público de los vectores. Ha sido en los últimos 15 años que el agricultor con cultivos de menor escala ha empezado a utilizarlos para tratar de mejorar su producción y así, su situación económica. Este proceso ha sido lento, ya que el agricultor independiente, igual que las cooperativas, ha requerido de asistencia técnica y financiera. Hasta en los últimos años las manifestaciones clínicas de los efectos de plaguicidas en salud han sido observadas y casi todas fueron vistas en la población que trabaja directamente con los plaguicidas y en los cultivos. Además, estos casos fueron, en su totalidad, de intoxicación aguda por plaguicidas.

Recientemente, debido al acceso a la literatura mundial publicada, investigadores y ciertas autoridades en Honduras, han empezado a promover el estudio de los efectos de la introducción de los plaguicidas en el

ambiente y los efectos crónicos en la salud, igual que en los recursos naturales, principalmente provocados por los organoclorados, los cuales han sido más utilizados, no han sido biodegradables y se acumulan en los tejidos biológicos.

Se han realizado estudios sobre los plaguicidas organoclorados en aguas, peces, alimento animal, zopiíotes, leche materna humana, plasma humano, tejido adiposo de pacientes de cirugía hospitalizados y de otras personas escogidas para análisis al azar. Casi todos estos estudios han demostrado una situación alarmante en la zona sur del país, en lo que se refiere a cantidad de intoxicaciones, y concentraciones de plaguicidas organoclorados en los tejidos (3,4,5,6,7).

Siete de los diez principales productos de exportación de Honduras reciben tratamiento por plaguicidas (bananos, café, madera, azúcar, carne, tabaco y algodón). Es definitivamente en las plantaciones de banano donde se usa la mayor cantidad de plaguicidas de uso agrícola en Honduras (8).

Los monocultivos son permanentes, y por eso requieren varias aplicaciones de insecticidas y herbicidas entre cosechas para mantener una alta productividad.

Aunque hay más territorio nacional dedicado al cultivo del maíz y frijol, la producción agrícola en términos de costo es superior en banano. El área dedicada al cultivo de otras plantas de uso agroindustriales es menor en comparación con los granos básicos, pero hay que destacar que los cultivos agroindustriales son localizados en algunos de los valles de Honduras que, en todo, sólo constituyen un 28% del territorio nacional. En cambio, se combinan el cultivo de granos básicos en las faldas de las montañas, donde también utilizan el fuego como control de plaga (8).

En Honduras, la agricultura, junto con la minería y la construcción, es una de las ocupaciones más peligrosas y las tasas de enfermedad y accidentes declarados están subestimados por el hecho que hay muchos trabajadores agrícolas autónomos que no informan de sus accidentes por problemas de compensación económica. El estado de salud general de los trabajadores agrícolas está comprometido significativamente por factores relacionados indirectamente con su trabajo, sus ingresos bajos, el relativo aislamiento geográfico y social que contribuye a que existan diferencias en su

nutrición, habitat saneamiento, educación, acceso a la asistencia y los servicios médicos, y estos factores exacerbaban el riesgo ocupacional. El hecho de vivir en las proximidades de las grandes áreas de cultivo favorece la exposición de los trabajadores y sus familias a las emisiones de plaguicidas. Además, los trabajadores se ven forzados a consumir agua de riego de las acequias contaminadas con plaguicidas. El bajo nivel cultural hace difícil comprender a los trabajadores el significado de los niveles de exposición a plaguicidas y que las deficiencias proteicas incrementan los efectos tóxicos y crónicos de muchos plaguicidas (9,10).

Los estudios realizados sobre la mortalidad ocupacional en agricultores sugieren un riesgo elevado de cáncer de los sistemas linfático, hematopoyético, estómago, próstata, cerebro y piel. Los agricultores por las múltiples actividades que desarrollan en su trabajo, pueden estar expuestos a diversos agentes. La evidencia más fuerte es la asociación entre agricultura y riesgo de leucemia, sin embargo, no se ha identificado ningún agente leucemogénico. El exceso de leucemia entre los trabajadores de granjas avícolas y de vacuno sugiere la existencia de agentes víricos, mientras que la asociación con la producción de cosechas es más indicativo de uso de plaguicidas.

En 1986 se empezó a tomar muestras de tejidos adiposo de pacientes del Departamento de Oncología y hematología, Hospital Escuela en Tegucigalpa, Honduras para determinar la concentración biológica de plaguicidas organoclorados. Después de analizar los plaguicidas acumulados en 23 pacientes con anomalías del sistema hemetopoyético, se observa que un mayor número de ellos procede de la zona rural, en un 78.3%. En este grupo de 23 se encontró un total de 8 diferentes compuestos organoclorados incluyendo DDT, LINDANO, CLORDANO, BHC, HCB, DIELDRIN, HEPTACLOREPOXI e HIDROCLORDANO. En el Cuadro No. 1 se presentan los rangos y el promedio encontrados de cuatro de los plaguicidas organoclorados analizados.

Hasta muy recientemente, el Gobierno de Honduras no había realizado programas educativos para los trabajadores agrícolas sobre los peligros asociados con la exposición a los diferentes plaguicidas. Hasta 1981 no exista legislación sobre los plaguicidas. El reglamento de Registro, Importación, Elaboración, Almacenamiento, Transporte, Venta y Uso de Plaguicidas y el Reglamento

CUADRO No. 1

RESUMEN DE ANALISIS CROMATOGRAFICO DEL TEJIDO ADIPOSO DE PACIENTES CON CANCER Y APLASIA MEDULAR DEL HOSPITAL ESCUELA 1986-87 (EN PPM)

	NUMERO POSITIVO	RANGO	PROMEDIO
DDT TOTAL	23	1.6 - 3,019.17	134.49
LINDANO	16	0.01 - 0.379	0.071
CLORDANO	13	0.05 - 0.884	0.634
BHC	11	Trazas - 0.392	0.029

para el control de Plaguicidas, Productos farmacéuticos y Biológicos de uso Veterinario, podrán ser claves para lograr un mejor control y manejo de plaguicidas. Sin embargo, estos reglamentos no están adscritos a una ley oficial, no han percibido fondos para campañas educativas ni la capacitación de personal para poder aplicar la ley. Estos reglamentos prohíben el uso de ciertos plaguicidas peligrosos que son prohibidos en otros países (11,12). Los países que ejercen controles rigurosos sobre uso de plaguicidas dentro de sus fronteras incluyen: Estados Unidos, Alemania Federal, Japón, Suiza, Países Bajos, Reino Unido, Canadá y Australia. Como regla general, un modo de empleo de plaguicida aprobado en uno de los países desarrollados mencionados anteriormente, ofrecería el mismo grado relativo de riesgo que en un país en vías de desarrollo. Sin embargo, como los modelos de uso en los países desarrollados y en vías de desarrollo difieren, el potencial de diferencias de riesgo relativo aumenta. Cualquier plaguicida de un país desarrollado que tenga una tolerancia *bona fide* en el país de fabricación, puede presumirse que ha alcanzado un estado avanzado de evaluación toxicológica. Para que se haya fijado una tolerancia es necesario haber establecido una ingestión diaria aceptable (IDA), y esta IDA a la vez estaría basada normalmente en información toxicológica adecuada. La IDA se establece en la ingestión alimentaria de las personas tomando en cuenta, que la ingesta es a través de los alimentos solamente.

Es importante que los países en vías de desarrollo evalúen estos IDAs tomando otros factores en cuenta, que son particulares para el país. En el caso de Honduras sería importante determinar la IDA, incluyendo la exposición diaria por otros factores adicionales a los alimentos. Además se necesita determinar la IDA para las personas con deficiencias proteicas y vitamínicas.

En 1986 se creó el Centro de Estudios y Control de Contaminantes (CESCCO), dependiente del Ministerio de Salud Pública para realizar un diagnóstico integral de los problemas relacionados con el manejo de plaguicidas y sus implicaciones para la salud. El CESCCO pudiera llegar hacer determinaciones sobre IDA's para Honduras, tomando en cuenta las condiciones de vida del hondureño y las maneras en que se manejan realmente los plaguicidas.

### RECOMENDACIONES Y CONCLUSIONES

- a) Desde hace más de 25 años se ha realizado investigaciones sobre la presencia de residuos de plaguicidas en tejidos humanos, en países desarrollados cuyos datos han servido como un índice de contaminación general y han sido usadas para evaluar la efectividad de los controles legales adoptados para disminuir el uso de estas sustancias químicas. Mientras el uso de los plaguicidas organoclorados ha disminuido en países desarrollados, se ha incrementado su uso en gran escala en países en vías de desarrollo (10,13).
- b) Estudios realizados en México y Pakistán, revelan que los niveles de concentraciones de plaguicidas organoclorados en las poblaciones son mucho mayores que los niveles publicados desde los países desarrollados cuando el uso de dichas sustancias fue elevado (13). Esto es un reflejo no solamente de la falta de controles legales, sino de la falta de conocimiento y de mayor aprecio por las autoridades, igual que la población, en general, sobre el peligro ofrecido por el uso indiscriminado de los plaguicidas y especialmente la necesidad de protección del trabajador expuesto.
- c) El incremento mundial de la demanda de alimentos, el control de la vegetación, preparación de las cosechas, su almacenamiento, transporte y distribución desde el campo a los lugares de consumo, es paralelo a la investigación, formulación y envasado, almacenamiento y aplicación de una serie de plaguicidas, creando una cadena de situaciones que pueden tener un impacto importante, no solo en la salud de los trabajadores implicados en los diferentes procesos, sino en la comunidad en general, que es en definitiva que van dirigidos los productos.
- d) Debe ser obligatorio como parte de una historia clínica investigar en contacto con plaguicidas en una u otra etapa de la vida, porque desconocemos aun las consecuencias a largo plazo en los grupos de mayor riesgo.
- e) La población más afectada vive en las cercanías de las plantaciones y en las áreas agrícolas, siendo los trabajadores agrícolas quienes soportan 1/3 del total de las enfermedades declaradas. La exposición lenta a bajos niveles de plaguicidas pero de larga duración, puede desarrollar una patología crónica o tumores con un prolongado período de latencia, pero es difícil correlacionar esto con la enfermedad, siendo el único medio para detectar esta relación a través de estudios epidemiológicos.
- f) Para el año 2000 en los países desarrollados se espera que el cáncer tenga un descenso del 50%, sin embargo, en los países del Tercer Mundo, habrá un incremento de más del 50% por no haber una prevención adecuada y menos una capacidad económica para hacer campañas educativas y cubrir los gastos médicos de la población enferma.
- g) Es preciso, entonces, realizar trabajos de dos tipos para que las autoridades de Honduras y su población comprendan la gravedad y magnitud de los problemas relacionados con el mal uso de los plaguicidas. Es necesario efectuar trabajos de investigación científica que dilucidan la situación actual para hacer comparaciones. De este modo, se identificarán las fuentes de contaminación del medio ambiente y los factores de riesgo asociados con la exposición a varios plaguicidas. Es necesario realizar estudios sobre los impactos económicos y ecológicos del uso actual de plaguicidas y aquellos relacionados con cambios en las políticas, los controles legales y el manejo de plaguicidas en el país. Las autoridades en Salud Pública tendrán que coordinar investigaciones sobre las concentraciones de plaguicidas en personas que desarrollen leucemias, linfomas, anemias aplásticas y tumores del hígado, igual que en poblaciones sanas para estudiar variaciones entre poblaciones. El Centro de Información sobre Drogas y Medicamentos del Ministerio de Salud Pública que pronto será establecido con el apoyo de la OPS. en el Hospital Escuela, debería dar toda la información toxicológica incluyendo los productos químicos.

h) Las autoridades del Ministerio de Recursos Naturales tienen la obligación de realizar inventarios reales y ordenados de los centros comerciales, bodegas y distribuidores donde se almacene y venda plaguicidas. Además el Ministerio de Recursos Naturales debe preocuparse por investigar los efectos del uso de plaguicidas sobre la flora y la fauna silvestre. Además, el Ministerio de Trabajo debe apoyar el análisis laboratorial de las personas que trabajan con los productos organoclorados y otros plaguicidas, tanto como hacer estudios de seguimiento epidemiológico en las poblaciones de alto riesgo. Igual en importancia es la necesidad de ampliar y mejorar la capacidad en manejo de los plaguicidas, tanto como en campañas educativas dirigidas a escolares, trabajadores agrícolas y a la población en general, que llamen la atención pública por los peligros asociados con el uso indiscriminado de los plaguicidas. Programas de asesoría técnica por el ministerio de Recursos Naturales, otras agencias y las empresas agroindustriales, en sus proyectos agrícolas, los cuales deben ser más responsables en el entrenamiento y capacitación del personal agrícola, ya que deben incorporar métodos para control de plagas que no conlleven tantos riesgos para la salud de los trabajadores, la comunidad y los consumidores de los productos nacionales. Además, debe ser estudiada la posibilidad de reglamentar el uso de plaguicidas, a tal grado que para usar ciertos agroquímicos se requeriría una receta profesional de un ingeniero agrónomo colegiado y certificado en esta especialidad.

Por último, son muchas las instituciones que deben involucrarse en la protección del ambiente. Las instituciones que trabajen en el análisis de control de plaguicidas y sus efectos en salud necesitan apoyo político, logístico y financiero para ser más efectivas.

#### BIBLIOGRAFÍA

Bonilla Durn, Alexander. "Los Plaguicidas También son Dañinos". CSUCA, documento inédito, 1986.

Enfoque Agromédico sobre Manejo de Plaguicidas. Sin fecha. Edit. por Joho E. Devies, Virgil. H.

- Freed, Fred W. Whittemore. Organización Mundial de la Salud.
3. García, E., Euceda, S. "Concentración de Plaguicidas Organoclorados en la Cuenca Hidrográfica del Río Guacerique", Tesis Profesional, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Universidad Nacional Autónoma de Honduras, 1987.
  4. Matamoros, R. "Concentración de Plaguicidas Organoclorados en Tejido Adiposo de *Coragyps atratus* (Zopilote Cabeza Negra) en Tres Regiones de Honduras", Tesis Profesional, Dpto. de Biología, Universidad Nacional Autónoma de Honduras 1987.
  5. Cárcamo, E.M.I. "Determinación de Residuos de Plaguicidas Organoclorados en Concentrados para la Alimentación Animal" Tesis Profesional, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Universidad Nacional Autónoma de Honduras, 1984.
  6. Mansilla, O.D. "Determinación del Grado de Contaminación en Leche Materna en Guatemala por Insecticidas Clorados", Boletín Oficina Sanitaria Panamericana, Vol. 99, No.6, 1980.
  7. Fortín, D., et. al. "Concentración de Plaguicidas Organoclorados en Plasma Humano", Tesis Profesional, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Universidad Nacional Autónoma de Honduras, 1984.
  8. Henríquez, A. "Informe Sobre la Utilización de Químicos Agrícolas en Honduras", Secretaría de Planificación y Presupuesto, 1986.
  9. Matsumura, F. Toxicology of Insecticides, Edit. Plenum Press, New York, 1980.
  10. Murphy, S. "Pesticides", en Toxicology, The Basic Science of Poisons Ed. por Cassarette y Doull, MacMillan Publ., New York, 1975.
  11. "El Reglamento de Registro, Importación, Elaboración, Almacenamiento, Transporte, Venta y Uso de Plaguicidas", La Gaceta, No. 318, 1981.
  12. "El Reglamento para el Control de Plaguicidas, Productos Farmacéuticos y Biológicos de Uso Veterinario, La Gaceta No. 325, 1981.
  13. Femicola, N. Toxicología, Vol. 2 de 12, Publ. por Centrado Ecología Humanay Salud, Organización Panamericana de Salud, Toluca, México, 1986.

---

Análisis Reflexivo, Pragmático y Crítico-Realista sobre la(s) Política(s)  
de Investigación en la Facultad de Ciencias Médicas  
de la Universidad Nacional Autónoma de Honduras:  
LOS PROBLEMAS, LA REALIDAD Y LAS VERDADES

---

*Dr. Alejandro Membreño\*, F.A.C.S., MS.I.L.A.C.*

---

Recientemente a finales de Julio de 1990 se llevó a cabo la II reunión de investigadores universitarios en el "flamante" y nuevo complejo del INICE. En dicho cónclave nos reunimos un buen número de jóvenes y viejos investigadores de las diferentes áreas o unidades de la U.N.A.H. — aunque talvez valga la pena aclarar aquí que posiblemente no todos los presentes eran o son "verdaderos" investigadores, ni estaban todos los que "dicen" serlo-con el fin de discutir nuevamente aspectos relacionados con la(s) política(s) de investigación del Alma Máter de Honduras.

Después de escuchar las diferentes ponencias que cada Unidad académica elaboró, así como un panel y una conferencia magistral relacionadas con el objetivo básico de la reunión, se formaron diferentes grupos de trabajo en los cuales se discutió ampliamente el tema programado, relacionado con la o las políticas de investigación que debe seguir nuestra Casa de Estudios Universitarios.

Fui asignado a la mesa de trabajo que incluía los representantes de las diferentes áreas o unidades de las Facultades de Ciencias Biológicas y de la Salud. Me encontraba yo allí como un representante más de la Facultad de Ciencias Médicas por invitación directa del Señor Decano y en realidad no había participado en la

elaboración de la ponencia de nuestra Facultad, por lo cual me tocó actuar casi como un simple "oyente" en las interesantes que en este grupo se suscitaron.

Las diferentes participaciones de los colegas investigadores nos hicieron llegar en grupo a ciertas conclusiones y recomendaciones que fueron leídas al final, en sesión plenaria, por nuestra relatora. En este momento culminante de la reunión pensé que sería interesante transmitirle al resto de colegas y a las autoridades de la Facultad de Ciencias Médicas - específicamente- cual fue mi impresión global sobre esta reunión, así como cuales fueron en realidad mis conclusiones y recomendaciones personales, como investigador científico que me creo o pretendo ser.

#### LOS ANTECEDENTES

Comenzaré relatando ciertos "datos básicos" obtenidos de la ponencia que llevó la Facultad de Ciencias Médicas -elaborada por las "compañeras enfermeras" Elia Pineda, Eva Luz de Alvarado, Leda Bolaños y Esther Ríos de Viera y los "colegas" Paul Cifuentes y Rigoberto Tabora - en la cual se comenzó informándonos que: "La Facultad de Ciencias Médicas, conciente de la necesidad del desarrollo de la investigación en salud y de su papel en dicha área, incrementó"- agregándole yo y está incrementando aquellos o -"los esfuerzos en un franco apoyo a la investigación"; recalándose también que: "en 1986 se dio un paso más al crear una comisión de investigación científica, le agregó yo-

---

Profesor de Cirugía de la Escuela de Medicina de la UNAH.

con la función principal de definir y elaborar la política de investigación para la Facultad de Ciencias Médicas y organizar la unidad responsable de promover y coordinar la actividad investigativa en la Facultad. La política fue elaborada y aprobada durante el año de 1986, a través de un proceso de diagnóstico y análisis con amplia participación de docentes, estudiantes, personal de servicio y de instituciones del sector, así como de representantes de las diferentes unidades de investigación. Una vez aprobada la política, la Comisión orientó sus esfuerzos a la creación de la Unidad responsable de implementar la política de investigación definida. En julio de 1988, la Junta Directiva de la Facultad de Ciencias Médicas, aprobó la creación de la Unidad de Investigación Científica (UIC), con su respectivo diseño de estructura y funcionamiento. Desde ese momento, la unidad ha desarrollado planes de trabajo orientados a cumplir su función básica" -o principal, es decir: .... le cambié yo-" la administración del proceso de desarrollo de la investigación a través de sus áreas básicas de trabajo: a) definición de políticas y prioridades; b) capacitación y apoyo técnico a los investigadores; c) promoción, asesoría y monitoreo de proyectos de investigación; y d) documentación y divulgación".....En este momento vale la pena detenerse para aclarar dos cosas: en primer término, que al momento de redactar este artículo, y sin embargo, esta Unidad todavía no ha sido "reconocida" por el Consejo Universitario; y, en segundo término, que del inciso c) yo eliminé una palabra con la cual no estoy de acuerdo y que era, en el documento original, el término "selección".

Luego se concluye que: ..... "Es evidente que quienes deben hacer investigación son todos los que desempeñan una práctica tanto docente como asistencial" ..... con lo cual no necesariamente todos estuvimos o estaríamos de acuerdo; y se argumenta que un cambio recientemente observado, es decir: .... "la decisión política de las autoridades de la U.N.A.H., de la Dirección de Investigación Científica y de la Facultad de Ciencias Médicas, podría fortalecer el desarrollo de la investigación".

Además, se conceptualizaron los siguientes aspectos, en mi opinión los más relevantes y/o importantes: a)... "En Honduras, la investigación científica es producto de la iniciativa e interés individual del investigador y no de políticas nacionales de investigación, acordes con la realidad del país"; b).... "es más, a nivel de servicios de

salud son las tasas de morbilidad y mortalidad, con el agravante del subregistro, las que han servido para establecer prioridades y definir estrategias en la atención de salud y por lo tanto, las acciones" o estudios de investigación.... agrego yo -"que se realizan son del tipo biológico-individual, predominando el interés por la enfermedad antes que por la salud", c).... Para el desarrollo de la investigación en salud" - en Honduras, le agrego yo- "es necesario tomar en consideración dos grandes campos como la investigación biomédica pura o fundamental, la cual es importante para la génesis de nuevos conocimientos en el ámbito científico y la investigación aplicada, orientada a identificar los problemas de salud de las comunidades, sus factores condicionantes y las alternativas de solución a los problemas encontrados"... y de estas dos, se concluye que: d).... "la investigación aplicada se puede convertir en un eje integrador docente-asistencial, transformándose en un método y medio formativo del estudiante"; además, se recalca que: e) ... " la aplicación en la investigación científica del método epidemiológico nos permite el estudio del proceso Salud-Enfermedad a nivel de colectividades humanas, superando el análisis individualista"... y también que: "en el campo de la investigación evaluativa es importante la puesta en marcha de investigaciones dirigidas a la evaluación de la eficiencia, eficacia, efectividad y el principio de equidad de las estrategias o programas de atención en salud y la evaluación y monitoreo de las enfermedades prioritarias en nuestro país, con el involucramiento de la comunidad en tales evaluaciones". f)....Para el éxito de las investigaciones en salud, se hace necesario la planificación y ejecución de investigaciones integradas con la participación de múltiples disciplinas, que la lleva a un enriquecimiento de la teoría y la práctica"; g) ... "se hace necesario combinar la interdisciplinariedad y la interinstitucionalidad, las cuales son condiciones y medios para la existencia de investigaciones que multipliquen la profundidad científica" y h)..... "La investigación en la universidad debe ser congruente con la realidad nacional y ser un aporte efectivo para el proceso educativo y la realimentación y fortalecimiento del conocimiento científico. La U.N.A.H. tiene que desempeñar un papel relevante en el nivel de salud de la población y al igual que el sistema de prestación de servicios de la salud, debe utilizar la investigación como un instrumento tecnológico integrador de la docencia y la asistencia, así como de la teoría y la práctica".



En relación a las prioridades de la investigación se concluyó que: ..... "La investigación debe estar orientada a conocer los problemas básicos o prioritarios del país así como a la búsqueda, aplicación y evaluación de las alternativas de solución"....en primer lugar; pero que,..... " la definición de prioridades de investigación no debe llevar a la reducción de la libertad del investigador"..... en segundo lugar; agregándole yo que esto significará que habrá que ..... "identificar las prioridades institucionales"- y además, departamentales ..... en cada unidad o carrera académica... para así, enfatizoyo- "orientar los esfuerzos hacia ellas, tratando de compatibilizar los intereses de ambos"...Y en tercer lugar,...." para la definición de prioridades de investigación en la Facultad de Ciencias Médicas, se realizó un análisis de la situación de investigación en salud, tanto a nivel nacional como a nivel de la Facultad de Ciencias Médicas, lo que sirvió"- o servirá, diría yo-" de base para el establecimiento de áreas y líneas de investigación".... prioritarias, agregaría yo.... "Para esta definición, se consideró esencial el establecimiento de criterios para la priorización, tomándose como referencia el documento de la OPS, elaborado en la III reunión del Comité Asesor de Investigación en 1984". Finalmente: ..... "Se espera que las unidades académicas de la Facultad, basados en los criterios establecidos y en las áreas y líneas identificados, elaboren sus propias prioridades en forma más detallada y específica. Lo anterior podrá lograrse en forma más adecuada de acuerdo al desarrollo mismo de la investigación en cada departamento, pues es la actividad investigativa la que orienta y retroalimenta el proceso de definición de prioridades".

En cuanto a la producción científica actual de la Facultad de Ciencias Médicas, se mencionó que: ..... "La Facultad, por medio de sus Departamentos, está (?) realizando proyectos de investigación e incluso, algunos se han concluido este año; pero un porcentaje considerable ha surgido de la iniciativa personal de los docentes"- donde me incluyo yo- "y no como parte del plan de trabajo y bajo los lineamientos de cada Departamento, por lo que estas investigaciones no son debidamente registradas y carecen del apoyo necesario para su desarrollo; además, esto contribuye a disminuir el incentivo y la iniciativa del docente para desarrollar esta función prioritaria de investigación en su carrera profesional"- y en realidad, le agregaría yo- "la mayor parte de las investigaciones que se realizan son hechas con fines pedagógicos ya que son los estudiantes los que las desarrollan, como parte de su aprendizaje, siendo asesorados y/o dirigidos por uno o más docentes".

Por otro lado, se detectaron.... "los obstáculos para el desarrollo de la investigación"..... la mayoría de los cuales, le agrego yo ..... "tienen sus raíces en la grave crisis económica y política por la que atraviesa el país y la misma U.N.A.H." -se nos informó - y en realidad, agregaron ellos..... "entre las limitantes que persisten en la Facultad de Ciencias Médicas y que limitan la investigación, se puede especificar: a) limitaciones en los recursos económicos destinados a la investigación; b) la falta de una ratificación de la Unidad de Investigación Científica (UIC) por parte del Consejo Universitario, lo que no ha permitido la implementación total de las funciones de la Unidad; c) la falta de un sistema de incentivos para el trabajo científico, incluyendo el poco reconocimiento de esta actividad como parte de la carga"... académica, diría yo "del docente; d) el escaso desarrollo metodológico por parte de los investigadores; e) la poca iniciativa competitiva de los investigadores en el logro de financiamiento externo, debido a la falta de capacidad para la elaboración de proyectos de investigación; y f) el deficiente sistema de información del desarrollo de la investigación". Finalmente se informó que en la "formación y capacitación del recurso humano en investigación, la Facultad de Ciencias Médicas tiene alrededor de 8 años de estar capacitando al personal docente en investigación." Además, también se sabe que..... "cuando el estudiante de Medicina está en el quinto semestre de su carrera, aprende las bases generales para el diseño y ejecución de una investigación, así como el análisis de trabajos publicados. Posteriormente se aplican estos conocimientos en investigaciones en el área clínica y comunitaria, con el fin de fortalecer los conocimientos y habilidades que el estudiante ha venido desarrollando. Para complementar el conocimiento anterior, al estudiante se le capacita para el uso del método epidemiológico y de esta manera se inicia en el estudio clínico-epidemiológico que continúa en el año de internado rotatorio en los hospitales regionales del país. El punto final del eje de investigación, en lo que a formación"..... de pregrado, le añado yo... "se refiere, está el servicio Médico Social. Es aquí donde el médico"- infiere, aclaro yo - "prepara una investigación que se convierte en su tesis de grado, previa a la investidura como Médico General". También se mencionó -en las discusiones de grupo - que en los diferentes programas de Postgrado se hace lo mismo. Finalmente, se nos recalcó que ..... "en la formación del estudiante de medicina" -únicamente, en este caso para individualizar, aclaro yo- "se plantea la

potencialidad extraordinaria de éste" -tanto el de pre como el de postgrado, diría yo- "en la investigación y en la necesidad de incorporarlo al proceso, trabajando con docentes que lo orienten y capaciten en la investigación".... científica, agrego yo.... "para la ejecución de trabajos concretos. Es así como se crean los circuitos Docente Estudiantiles en Investigación (CIDEN) y se incorporan a la estructura de la Unidad de Investigación Científica"... ya mencionada ... "como elementos de apoyo al desarrollo de la investigación y la ciencia. El ingreso de los estudiantes a los CIDEIN es voluntario y es considerado como una actividad extracurricular, pues el estudiante dedica tiempo completo adicional según sus intereses y posibilidades. Una vez que el alumno está integrado a estos, participa"- aunque yo mejor diría: participaría o podrá participar- "junto con los docentes en la planificación y ejecución de investigaciones de temas prioritarios. El fin primordial de los círculos es la incorporación temprana del estudiante a la actividad científica. Esta modalidad de integrar al alumno al proceso de investigación, en forma voluntaria, ha generado algún interés por parte del estudiantado y hay ya un número reducido trabajando en los CIDEIN y ejecutando investigaciones que están en niveles diversos de avance. Algunas de estas investigaciones están siendo financiadas por organismos internacionales, dada la prioridad de los temas y la seriedad con que están trabajando los grupos de investigación".

#### EL PRIMER ANÁLISIS

Ahora bien, después de enterarnos de todos estos antecedentes y "problemas" habría que reflexionar para analizar -crítica, pragmática y realísticamente- si lo que se plantea es cierto, en primer lugar, o si es realizable, en segundo lugar. La "realidad" es que mucho de lo que se nos dijo es esencialmente "idealista" -y hasta utópico, diría yo- y poco, a la vez, es en realidad realizable o alcanzable en vista de la grave - y además crónica, diría yo- crisis económica y política por la que pasa el país y la U.N. A.H., la cual todos reconocemos y aceptamos. Otra "realidad" que hay que reconocer y aceptar para tal vez corregirla, agregaría yo es aquella de que los alumnos de pregrado realmente no tienen en su currículum actual una verdadera cátedra de "investigación científica", por un lado; ni a los alumnos de postgrado se les enseña o por lo menos, supervisa a conciencia como investigar correctamente, por otro lado. Los trabajos de investigación que se llevan a cabo

en el Pregrado y en el Postgrado son, en realidad, en su gran mayoría -por no decir todos- de baja calidad científica y, por lo tanto, no publicables. Por otro lado, otra "gran realidad" es aquella de que- como se nos dice muy realísticamente en el documento original de la ponencia leída por las compañeras enfermeras- la producción investigativa de los diferentes Departamentos o Unidades Académicas es pobre, en general; así como que la mayor parte de los trabajos de investigación que se han realizado o están realizándose, reflejan la iniciativa o motivación de algunos pocos docentes o médicos clínico-asistenciales de las diferentes instituciones hospitalarias o de salud y, por lo tanto, esto contribuye a que esa producción sea pobre; y además, la realidad es que muchos de los trabajos de investigación científica que se llevan a cabo y/o publican no son de calidad, en vista de que los autores no están realmente capacitados para ello. Finalmente, la "más grande realidad" es que nadie estimula o motiva- de alguna manera -a los "potenciales investigadores" de nuestra Facultad de Ciencias Médicas o de las diferentes instituciones hospitalarias del país y posiblemente esta sea, a la vez, la más grande causa de nuestra pobre producción en lo que a la "verdadera investigación científica" corresponde. -

#### LAS RECOMENDACIONES

La corrección de estos "problemas", fallas o "realidades" que vienen a ser lo que yo llamo "las verdades"- relacionadas con la investigación científica en la Facultad de Ciencias Médicas, compete esencialmente a las Autoridades que tienen que ver con esa actividad vital y es por ello que, las conclusiones que nosotros - los investigadores que participamos en esa II reunión -planteamos al finalizar nuestra participación, podrían servir de base para que esas autoridades elaboren o renoven lo que serían las políticas de investigación en la U.N.A.H. y en la Facultad de Ciencias Médicas, con la característica o requisito básico de que todas ellas fueran realizables y no demagógicas o utópicas, como tal vez lo han sido hasta ahora.

#### LAS SUGERENCIAS

Por ello - como lo ofrecí al comienzo- transmito, por medio de este artículo, a las Autoridades Universitarias, lo que elaboré ese día final-en tan importante reunión - sobre lo que podrían ser, en mi humilde opinión, las

"verdaderas políticas de investigación" en nuestra Alma Mater y, más específicamente, en nuestra querida Facultad de Ciencias Médicas, a la que todos nos debemos. Aclaro que, ante todo, estas sugerencias están basadas en el conocimiento pleno y claro de lo que se debe entender por esas dos "palabras claves" en tan importante asunto, es decir: "política" e "investigación". Según el Diccionario Enciclopédico Espasa, en su 8va. Edición de 1978, el término política implica "orientaciones o directrices que rigen las actuaciones de una o más personas, o de una entidad, en un asunto o campo determinado" y también significa, según la misma fuente bibliográfica: "...conjunto de normas, leyes, reglas y/o estrategias- o aún reglamentos que no necesariamente deben o tienen que ser absolutas (os) y/o rígidas (os) sino que, más bien, relativas(os) y/o flexibles en base a lo justo, lo práctico y lo real.....agregaría yo - que se proponen, plantean y/o fijan para dirigir, conseguir y/o alcanzar un fin, un objetivo, una meta o un asunto cualquiera"; y, además, el término investigación lo define sencillamente como: "los actos o diligencias que se usan para descubrir algo o una cosa"

## **POLÍTICAS DE INVESTIGACIÓN EN LA UNAH Y EN SU FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS**

### **A) GENERALES**

#### **1.- De la Investigación y del Investigador en sí:**

- 1.1 - Impulsar el desarrollo de la Ciencia, la Técnica y el Arte en función de la realidad y las \_ necesidades nacionales de salud; y
- 1.2- Integrarse plenamente a la Docencia y la Extensión Universitarias en un solo Proceso Académico, en todas las Facultades y/o Carreras Académicas de la U.N.A.H.

### **B) ESPECIFICAS**

#### **2.- De la Rectoría de la UNAH:**

- 2.1- Crear, fomentar, apoyar y/o consolidar Unidades, Centros o Institutos de apoyo, promoción, información y divulgación de o para la Investigación Científica, bajo la tutela - pero no necesariamente la supervisión y/o el control - de la DIRECCIÓN DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA (D.I.C) de la U.N.A.H.;

- 2.2- Fortalecer la "libertad académica" de aquellos Docentes o Profesores que se dediquen total o parcialmnte a la Investigación Científica Universitaria, "desincentivando lo ideológico o lo político" y respaldando lo filosófico;
  - 2.3- Fomentar el "abordaje integrador inter disciplinario multisectorial" en todo proceso de investigación científica, si es necesario y/o posible;
  - 2.4- Crear condiciones y "estímulos adecuados" para los profesores o Docentes Investigadores y aún para sus asistentes o colaboradores en cada una de las Facultades; y
  - 2.5- Apoyar la "divulgación" de la Investigación Científica.
- 3.- De la Dirección de Investigación Científica:
- 3.1- Fomentar y/o incentivar en/a las Autoridades Superiores de la UNAH para que la Investigación exista como un componente del desarrollo curricular, es decir: que esté presente en cada actividad de las diferentes Carreras Académicas o Facultades de nuestra Alma Mater;
  - 3.2- Crearen cada una de las Unidades Académicas de la U.N.A.H. las "condiciones adecuadas" para el desarrollo del trabajo de investigación en base a programas, estrategias o prioridades específicas (os) que sean realmente alcanzables;
  - 3.3- Propiciar, estimular y/o impulsar en cada una de las Unidades Académicas de la U.N.A.H. estudios de investigación específicos que sean alcanzables, útiles y/o reales e importantes -aunque "no necesariamente prioritarios"- y bien hechos, en base al "método científico de investigación" sobre la salud, la economía, la personalidad y los valores de la Sociedad y el Pueblo hondureño, así como sobre los problemas y los recursos de Honduras que - de alguna manera - puedan incidir en la Salud Nacional;
  - 3.4- Apoyar la participación activa de docentes y estudiantes en Conferencias, Seminarios o Congresos, tanto a nivel de la Comunidad Universitaria de Honduras como a nivel nacional e internacional; y

3.5- Fomentar la "publicación de las investigaciones científicas universitarias importantes, es decir *aceptables*", mediante la creación de revistas de carácter científico, si es posible en cada Facultad o Unidad Académica, para la divulgación de trabajos de investigación de calidad realizados por Profesores y/o Alumnos en cada una de ellas o, por lo menos, mediante la creación o reedición de una o la Revista científica única y propia de la UNAH.

#### 4.- De la Facultad de Ciencias Médicas:

- 4.1 - Lograr, a corto plazo, el reconocimiento de la U.I.C. por el Consejo Universitario, con la respectiva aprobación de un presupuesto para personal de trabajo, equipos y materiales y para el resto de la infraestructura, que garanticen el buen funcionamiento de la Unidad;
- 4.2- Organizar y fortalecer los cuerpos de apoyo a la UIC, es decir: los Comités Departamentales de Investigación, los Grupos de Investigación (CIDEIN y otros) y los Comités Especiales;
- 4.3- Identificar y/o apoyar, en cada una de las Unidades Académicas de las diferentes Carreras, a los profesores y Alumnos que tengan o demuestren "aptitud para investigar" o que estén interesados, dispuestos y/o motivados a o para ello;
- 4.4 Favorecer y/o estimular el incremento de la actividad en o de la investigación científica, tanto en calidad como en cantidad;
- 4.5- Implementar un sistema de Administración del Conocimiento, que permita la asesoría y/o monitoreo de las diferentes investigaciones **científicas** que se realicen;
- 4.6- Desarrollar la capacidad institucional en lo referente a la búsqueda y recaudación de financiamiento externo para investigar;
- 4.7- Apoyar, además, a los investigadores en todo lo siguiente: a) capacitación,) logística, c) asesoría, d) buscando financiamientos y e) estableciendo incentivos y reconocimientos; y

4.8- Apoyar, en fin, las actividades de difusión y utilización de los resultados obtenidos en aquellos estudios de investigación que sean considerados importantes, mediante la "publicación" de los que sean considerados "aceptables" a través de diversos medios de comunicación científica.

#### EL SEGUNDO ANÁLISIS

Hecho esto, es necesario de nuevo reflexionar analíticamente también en forma crítico-realista y además "pragmática", diría yo- sobre todo lo anteriormente descrito para sacar conclusiones que sean, a la vez, la realidad y las verdades - algunas amargas y otras intolerables- de la(s) política(s) de investigación, esencialmente en la Escuela de Medicina de la U.N. A.H. Conviene, para ello, recalcar que para facilitar esto yo he subrayado y entrecomillado ciertas palabras, frases y hasta expresiones que para mí son "claves" -como se acostumbra actualmente en los trabajos de investigación científica que son publicados en revistas científicas de calidad- en la lista de "estrategias" que yo estoy sugiriendo hoy aunque pocas son mías y la mayoría lo son de las compañeras y colegas que elaboraron la ponencia de la Facultad de Ciencias Médicas con la idea de que el lector rápidamente se de cuenta de lo que en realidad es importante o alcanzable, como lo expresa muy bien el Dr. Pérez Tamayo en varios (1-3) de sus clásicos artículos sobre este tema. También vale la pena mencionar ciertos aspectos relacionados con el desarrollo de la Investigación Científica de nuestra Facultad. Por ejemplo, ¿ha habido en realidad un cambio en las Autoridades Universitarias involucradas en la investigación como para que existan estímulos y condiciones adecuadas para el investigador?; también, ¿han fomentado la divulgación y/o publicación de los trabajos científicos de investigación, que podrían haber sido aceptables, la Facultad de Ciencias Médicas o la U.N.A.H.?

Por otro lado, ¿ha hecho la U.N.A.H. y la Facultad de Ciencias Médicas realmente los verdaderos esfuerzos políticos tendientes a llevar a la integración docente-asistencial que, definitivamente, favorecería la investigación clínica?; o, ¿han colaborado "realmente" -en alguna forma-las Juntas Directivas de la Facultad de Ciencias Médicas, con nosotros los Profesores que nos consideramos Investigadores "independientes o libres"?. En mi opinión, todas estas interrogantes

"claves" para el desarrollo de la verdadera investigación científica en la U.N.A.H., la Facultad de Ciencias Médicas y por en de del país, deben ser contestadas con un rotundo no. Además, como bien lo dice el Dr. Pérez Tamayo, la politiquería universitaria y estatal también han estado tergiversando o mal usando el crucial tema de las "prioridades de investigación "en la Salud Nacional en nuestro país: ¡¡ otra gran verdad amarga!! Lo único que en realidad si hay que reconocer y aceptar, como otras verdades -esta vez "dulces"- es que la Facultad de Ciencias Médicas si ha estado, en los últimos años, capacitando a aquellos profesores que han demostrado algún interés en la investigación y en especial nos han enseñado el método científico de investigación, por un lado; y además, por otro lado, afortunadamente la libertad académica del investigador - por lo menos en la Escuela de Medicina - ha sido respetada. También afortunadamente, los pocos "investigadores libres" que cumplimos con el otro requisito básico (4) del buen investigador médico-científico, o mejor clínico-docente, es decir: escribir para publicar sus resultados y con ello contribuir todavía más (3,4) en la enseñanza de la Medicina, tenemos la oportunidad de publicar nuestras "humildes investigaciones" en la Revista Médica hondureña, el órgano de difusión y divulgación científica del Colegio Médico de Honduras, así como en la Revista Pediátrica. Es justo aclarar, para finalizar, que al momento de terminar de redactar estas reflexiones filosóficas he recibido una carta -agradable sorpresa - donde se me notifica que la D.I.C. ha logrado que el Consejo Universitario apruebe, según dicen ellos en el Acta No. 550, la re-edición de la Revista Científica llamada "Ciencia y Cultura". Ojala que este sea el primer paso que traiga la tan esperada renovación de la investigación en la U.N.A.H., pero muy especialmente en nuestra Escuela de Medicina y que, la actual y futuras Juntas Directivas si nos cumplan con el resto. La "gran realidad final" es que lo que se espera de ellas no es - en realidad, valga la redundancia - tan difícil de llevara cabo, como se ha dicho. ¡¡Las futuras generaciones se los agradecerán!!

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Pérez Tamayo R.: "La Investigación Biomedica en México: espejismos y realidades "en SERENDIPIA: ensayos sobre ciencia, medicina y otros sueños; Siglo Veintiuno Editores, Primera Edición: 177, 1980; México.

Pérez Tamayo R.: " Medicina Asistencial e Investigación Biomédica: ¿amigos o enemigos?" en SERENDIPIA: ensayos sobre ciencia, medicina y otros sueños; Siglo Veintiuno Editores, Primera Edición: 193,1980; México.

Pérez Tamayo R.: " La Investigación en la Enseñanza de la medicina" en SERENDIPIA: ensayos sobre ciencia, medicina y otros sueños; Siglo Veintiuno Editores, Primera Edición: 211,1980; México.

Mcmubreño Padilla A.A.: "El Cirujano Clínico- Docente: ¿Por qué debe, además de enseñar, escribir?"; Rev. Med. Hond.,57: 33,1989.

# CONTENIDO

## I.- EDITORIAL

DENGUE HEMORRAGICO: Un problema grave de salud .....	107
--	-----

## II.- TRABAJOS CIENTÍFICOS ORIGINALES

1.- Síndrome de Guillian Barre Su evolución en una sala de cuidados intensivos <i>Dr. Martha Matamoros de López, Dr. Francisco Cleaves, Dr. Alex Velásquez</i> .....	108
2.- Donación Voluntaria de Sangre y Derivados en el I.H.S.S. <i>Dr. Salomón Grinspan, Dr. Samuel García, Dra. Suyapa Molina</i> .....	118
3.- Leishmaniasis Visceral en Niños. La Experiencia en 35 casos <i>Dr. Alirio López, Dra. Clara A. de Molina, Dr. Agustín Bueso, Dr. Fructuoso Fuentes M</i> .....	123

## III.- REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

1.- Dengue Hemorrágico Primeros casos confirmados en Honduras <i>Dr. Tito Alvarado M., Dra. Suyapa Figueroa, Dr. Hugo Alanzo Borjas, Licia. María del C. Mejía</i> .....	130
2- Patología Molecular y Diagnóstico de Enfermedades Infecciosas <i>Manuel Figueroa, Ph. D. y Suraiya Rasheed, Ph. D</i> .....	135
3.- HLA y Enfermedades <i>Dr. Jorge Fernández</i> .....	151
4.- Efectos de los Plaguicidas en Honduras <i>Flora Duarte, Catherine de Castañeda</i> .....	155

## IV.- INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA

1.- Análisis Reflexivo, Pragmático y Crítico-Realista sobre la (s) Políticas) de Investigación en la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad Nacional Autónoma de Honduras: LOS PROBLEMAS, LA REALTAD Y LAS VERDADES <i>Dr. Alejandro Membreño F.A.C.S, M.S.I.L.A.C</i> .....	160
2.- Educación Médica Continua.....	167