

Este informe recoge la opinión colectiva de un grupo internacional de especialistas y no representa necesariamente el criterio ni la política de la Organización Mundial de la Salud.

ORGANIZACION MUNDIAL DE LA SALUD

SERIE DE INFORMES TECNICOS

Nº 181

ENCUESTAS INMUNOLOGICAS Y HEMATOLOGICAS

Informe de un Grupo de Estudio

	Página
1. Introducción	3
2. Estudios hematológicos en el hombre y en el animal en los que están indicados los métodos de encuesta	6
3. Aplicaciones y dificultades de las encuestas serológicas	17
4. Métodos para la recogida de muestras en la población	21
5. Consideraciones técnicas sobre los métodos de recogida, transporte y tratamiento de la sangre en las encuestas de objetivos múltiples	30
6. Enumeración de los extremos sobre los que debe recogerse información en la encuesta	34
7. Criterios aplicables a la distribución de los especímenes de suero	35
8. Normalización de pruebas	36
9. Registro y comunicación de los resultados	36
10. Recomendaciones sobre organización de encuestas hematológicas de objetivo múltiple y de una colección internacional de sueros	37

ORGANIZACION MUNDIAL DE LA SALUD

PALAIS DES NATIONS

GINEBRA

1959

**GRUPO DE ESTUDIO
SOBRE ENCUESTAS INMUNOLOGICAS Y HEMATOLOGICAS**

Ginebra, 15-19 de diciembre de 1958

*Miembros **

Dr. J. B. Brooksby, Deputy Director, Research Institute (Animal Virus Diseases), Pirbright, Surrey, Reino Unido

Dr. J. Casals, Staff Member, The Rockefeller Foundation Virus Laboratories, New York, Estados Unidos de América

Dr. D. Horstmann, Associate Professor of Preventive Medicine and Paediatrics, Yale University School of Medicine, New Haven, Conn., Estados Unidos de América (*Relator*)

Profesor K. Raska, Instituto de Epidemiología y Microbiología, Praga, Checoslovaquia (*Vicepresidente*)

Dr. F. Yates, Rothamsted Experimental Station, Harpenden, Herts, Reino Unido (*Presidente*)

Representante de la FAO

Dr. E. Eichhorn, Jefe de la Subdivisión de Sanidad Animal, FAO

Secretaría

Dr. G. Arroyave, Jefe de la División de Bioquímica Clínica, Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá, Guatemala, Guatemala (*Consultor*)

Profesor J. H. P. Jonxis, Departamento de Pediatría de la Universidad de Groninga, Países Bajos (*Consultor*)

Dr. A. M.-M. Payne, Médico Jefe, Enfermedades Endemoepidémicas, División de Enfermedades Transmisibles, OMS (*Cosecretario*)

Dr. B. Pirc, Epidemiólogo Jefe, Preparación de Estadísticas Sanitarias, División de Estadística Sanitaria, OMS (*Cosecretario*)

** Invitado que no pudo asistir :*

Profesor E. N. Levkovich, Jefe del Laboratorio de Encefalitis, Instituto de Virología de la Academia de Ciencias Médicas de la URSS, Moscú, URSS

ENCUESTAS INMUNOLOGICAS Y HEMATOLOGICAS

Informe de un grupo de estudio

El Grupo de Estudio sobre Encuestas Inmunológicas y Hematológicas se reunió en Ginebra del 15 al 19 de diciembre de 1958. Se eligió Presidente al Dr. F. Yates, Vicepresidente al Profesor K. Raska, y Relator al Dr. D. Horstmann.

1. INTRODUCCION

Para organizar y llevar adelante un programa sanitario eficaz es preciso tener información sobre la prevalencia y distribución de las enfermedades, y conocer los cambios que con el tiempo se producen en una y otra. La evaluación de dichos factores suele hacerse en la mayoría de los países a partir de los datos de morbilidad y de mortalidad ; pero es sabido que esos datos merecen un crédito muy variable, según el lugar y según la enfermedad. En algunas regiones y con respecto a numerosas enfermedades su utilidad es nula o muy escasa, por dificultades de diagnóstico o por causas diversas.

Otro método para recoger la información necesaria consiste en practicar encuestas, las cuales, mediante las reacciones serológicas o las pruebas de sensibilidad cutánea que sean oportunas, proporcionan indicios sobre la actividad pasada o presente de una infección y ofrecen una base para evaluar su prevalencia. Las informaciones así recogidas son más amplias que las obtenidas por otros medios y permiten precisar la historia epidemiológica de una colectividad. Una encuesta serológica sirve para conocer la prevalencia de la infección pero no aporta indicaciones directas acerca de la prevalencia de la enfermedad, lo que no quiere decir que carezca de interés, porque, en combinación con otros datos epidemiológicos, hace posible evaluar la importancia sanitaria de muchas infecciones y la gravedad latente de algunas de ellas que, sin descubrir de momento síntomas aparentes, siguen siendo transmisibles y que, por efecto de un cambio de las circunstancias epidemiológicas, pueden más tarde manifestar una sintomatología clínica abierta, incluso en forma epidémica. Con ocasión de la encuesta se obtienen a veces por añadidura datos sobre la existencia de las infecciones causantes de algunas de las enfermedades locales no diagnosticadas, en cuyo conjunto están las de diagnóstico clínico dudoso. Cuando

así ocurre, se hace posible aplicar las medidas necesarias para establecer un diagnóstico más preciso de esos casos. Las informaciones sobre el estado de inmunidad en que se encuentra la población son también muy útiles para preparar programas de vacunación contra ciertas enfermedades, puesto que permiten identificar los grupos demográficos que por ser susceptibles necesitan esa clase de protección.

El estudio de las curvas de distribución de los anticuerpos en las distintas edades aporta interesantes esclarecimientos sobre la velocidad con que anteriormente se ha propagado una infección y sobre la edad en que se contrae la enfermedad, lo que permite precisar la influencia del género de vida en la epidemiología de la infección con respecto a zonas y grupos demográficos diferentes, es decir establecer, por ejemplo, en una población determinada las tasas por edad en grupos sociales pobres o acomodados, urbanos o rurales o según la profesión.

Unas de las primeras encuestas serológicas que se han practicado recogieron los resultados de la reacción de Wassermann en muestras de población normal de negros y de blancos de diversas zonas, sobre todo urbanas. En los años 1930-1940, las primeras encuestas geográficas importantes sobre la prevalencia de los anticuerpos de la fiebre amarilla, hechas principalmente en el Brasil y en Africa por la División de Sanidad Internacional de la Fundación Rockefeller, permitieron comprobar la existencia de la fiebre amarilla selvática. En los años que siguieron a 1940 se recurrió a las encuestas serológicas para determinar la distribución geográfica de las encefalitis víricas transmitidas por artrópodos y luego para el estudio de la poliomielitis. En fecha más reciente, algunos investigadores han sometido los sueros recogidos a una serie de pruebas diversas, lo que, a cambio de un ligero gasto suplementario, ha permitido reunir información sobre varias enfermedades, ya que bastan 10 ml de suero para comprobar la presencia de diversas clases de anticuerpos. Adviértase empero que la experiencia adquirida hasta ahora sobre esas encuestas de objetivo múltiple es todavía corta y que aún no se ha generalizado bastante el conocimiento de las condiciones estadísticas y epidemiológicas que deben reunir esos estudios para dar resultados verdaderamente aprovechables.

La distribución de las enfermedades transmisibles en el mundo está sujeta a cambios constantes por las variaciones naturales que se producen en los agentes infecciosos y en sus ecologías y reservorios animales respectivos y por las alteraciones naturales y artificiales en el medio ambiente y en el hombre y su comportamiento. A todo eso ha de añadirse la suposición, que sin duda alguna se confirmará, de que con el tiempo se conocerán los agentes etiológicos de muchas enfermedades cuyas causas permanecen hoy ignoradas. La conservación de los sueros recogidos durante las encuestas en condiciones de preservar los anticuerpos que contengan permitirá más adelante examinar ese material y reconstituir la historia de unas infecciones hoy desconocidas y seguir con más exactitud los cambios y la evolución de

las enfermedades transmisibles en el mundo. No hace falta destacar el interés que las colecciones de esa clase tienen para el epidemiólogo. Si por ejemplo se hubieran reunido y conservado colecciones de sueros antes y después de la pandemia gripal de 1918-19, de modo que hubieran podido estudiarse convenientemente cuando diez años más tarde se descubrió el virus de la gripe, se sabría hoy mucho más de lo que se sabe acerca de una de las mayores calamidades de la historia.

Como numerosas especies animales son el reservorio de muchas enfermedades transmisibles del hombre y tienen una intervención decisiva en su epidemiología, importa evidentemente aplicar los métodos serológicos al estudio de esas infecciones, no sólo en el hombre, sino en los huéspedes animales.

La base de una encuesta serológica consiste en obtener muestras de sangre de grupos representativos de la población, escogidos según un criterio aceptable. Ahora bien, la sangre, además de los anticuerpos, contiene otras muchas sustancias cuyo estudio presenta gran interés sanitario y reviste considerable importancia científica para los especialistas de diversas disciplinas. Las investigaciones hematológicas y bioquímicas son muy interesantes para el estudio de ciertas enfermedades crónicas, de la hipernutrición e hiponutrición y de las anomalías hereditarias. Está justificado, pues, que se considere la posibilidad de recoger muestras de sangre en forma que permita hacer también los exámenes relativos a estos estados, ya que se aumentaría así la cantidad de informaciones útiles recogidas en la encuesta mediante un gasto suplementario relativamente módico. Adviértase que, sobre todo en los países insuficientemente desarrollados y en las zonas de acceso difícil, la mayor parte de los gastos de una encuesta corresponden al personal del equipo, al material y a los transportes sobre el terreno. Si se extiende el alcance de la encuesta para hacer también exámenes hematológicos y bioquímicos, esos gastos principales siguen siendo los mismos o apenas aumentan, ya que los únicos gastos suplementarios corresponderán a la adquisición de algún material y al costo de los exámenes de laboratorio. También merece ser tenida en cuenta la consideración de que no es fácil tomar especímenes de sangre en una población, sobre todo en los grupos jóvenes que son los más importantes, y de que conviene, en consecuencia, sacar todo el partido posible del material obtenido.

El Grupo de Estudio ha examinado con gran atención los distintos aspectos que presenta la encuesta de objetivo múltiple basada en la recogida de sangre en muestras de poblaciones humanas y animales. Con respecto a las posibilidades del método que se acaba de esbozar, se exponen a continuación las conclusiones a que ha llegado el Grupo de Estudio, las razones que las justifican y las propuestas que formula para su aplicación práctica.

Aunque en el presente informe no se estudien las pruebas cutáneas empleadas en el diagnóstico de las enfermedades transmisibles, los requisitos

estadísticos y epidemiológicos de esas otras encuestas son muy semejantes, cuando no idénticos, a los de las encuestas serológicas, y todo aconseja combinar unas y otras siempre que sea posible.

2. ESTUDIOS HEMATOLOGICOS EN EL HOMBRE Y EN EL ANIMAL EN LOS QUE ESTAN INDICADOS LOS METODOS DE ENCUESTA

Las cuestiones que se prestan a estudio por medio de encuestas serológicas y hematológicas, siempre y cuando haya pruebas adecuadas con que practicarlas, se clasifican en varias categorías. Pueden considerarse cuatro principales :

- 1) Los estudios inmunológicos sobre la prevalencia presente y pasada de las infecciones en el hombre y en los animales ;
- 2) Los estudios genéticos como, por ejemplo, el de los grupos sanguíneos y el de las hemoglobinas anormales ;
- 3) Los estudios sobre diversos tipos de anemias ;
- 4) Los estudios bioquímicos y, en especial, los relacionados con la nutrición, como la determinación de las proteínas plasmáticas y de la colessterina.

2.1 Consideraciones generales de carácter administrativo

Los problemas generales planteados por unas encuestas que abarcan una serie tan amplia de materias son numerosos y complejos. Para emprender un programa mundial de esa clase hará falta establecer centros mundiales dedicados a cada grupo de materias o de enfermedades y una red de laboratorios regionales que colaboren con ellos en distintos países, según ha hecho la OMS para la gripe. El criterio seguido por la OMS consiste, no en establecer laboratorios nuevos, sino en aprovechar los que ya funcionan en distintas partes del mundo con un personal especializado y perfectamente capaz de emprender investigaciones coordinadas en su respectiva competencia. Pero antes de iniciar esa labor, parece conveniente reunir la información disponible sobre las distintas materias, completándola sobre todo con datos procedentes de la URSS y de otros países que pueden obtenerse ahora con más facilidad, y resumir todo el material para ponerlo en conocimiento de los interesados. Una vez se haya organizado la colaboración entre los distintos laboratorios, habrá que emplear procedimientos adecuados para llevar con regularidad el cambio y la difusión de las informaciones nuevas, sin excluir, entre otras cosas, la distribución de informes periódicos sobre las actividades de cada laboratorio central y de los que trabajen en

colaboración con él, ni la publicación por la OMS de los datos y resultados que se vayan obteniendo.

Es seguro que en muchos laboratorios hay ya colecciones importantes de sueros humanos y animales. Convendrá, pues, recoger la información procedente sobre esas colecciones y adoptar las medidas oportunas para conservarlas, clasificarlas y aprovecharlas cuando tengan interés en los trabajos a que se refiere el presente informe.

2.2 Fines de las encuestas de objetivo múltiple

Desde este punto de vista, las encuestas pueden clasificarse en dos grupos :

1) Encuestas especiales, emprendidas para esclarecer un problema concreto, que se aprovecha para recoger otras informaciones distintas.

2) Encuestas de objetivo múltiple propiamente dichas, que permiten reunir informaciones correspondientes a dos o más de las cuatro categorías principales antes mencionadas. Con ellas se aprovecha el trabajo del equipo que haya de practicar una encuesta sobre una cuestión concreta en una zona geográfica determinada para recoger además especímenes destinados a otras determinaciones, según los caracteres de la zona y los problemas y las preocupaciones locales o según la naturaleza de las investigaciones emprendidas en los laboratorios regionales vecinos. Esa clase de cooperación requiere que el equipo encargado de la encuesta tenga de antemano un conocimiento preciso de las necesidades de los otros grupos.

En unos casos se podrá sin duda hacer compatible la toma de especímenes de los dos tipos ; y en otros probablemente no ocurrirá así.

Importa mucho en las encuestas de objetivo múltiple no descuidar las disposiciones necesarias para la buena conservación de los sueros a fin de que ulteriormente, quizá 10 ó 20 años después, sigan sirviendo de referencia. Una colección bien conservada puede ser muy útil en el estudio de la propagación de una enfermedad recién descubierta, en la utilización de las pruebas que más adelante se establezcan con respecto a enfermedades ya conocidas, como, por ejemplo, a la hepatitis, y en la exploración de ciertos problemas bioquímicos y hematológicos.

2.3 Encuestas que podrían emprenderse

2.3.1 Encuestas inmunológicas en sueros humanos

La recogida de sueros para estas encuestas se podrá emprender frecuentemente con ocasión de un problema de interés inmediato que se plantee en una zona determinada. El apremio mismo del problema será un argumento de peso para decidir a la población a que preste su cooperación, a pesar de que el objetivo último de la encuesta consista, más allá de las precau-

paciones locales, en el conocimiento de la distribución geográfica de distintos agentes infecciosos en el mundo.

La mayoría de las virosis que tienen un interés particular pueden clasificarse en los tres grupos siguientes : virosis transmitidas por artrópodos, virosis de las vías respiratorias y enterovirosis.

2.3.1.1 *Virosis transmitidas por artrópodos*

Numerosos investigadores e instituciones en diferentes partes del mundo han hecho ya una gran labor ; pero sus trabajos deben continuarse y extenderse ; recomiéndase, además, que se emprendan investigaciones en las zonas siguientes que se han considerado especialmente interesantes y sobre las que se tiene escasa información :

1) La cuenca del Mediterráneo y algunas zonas adyacentes, incluso Rumania, Bulgaria, Turquía, Grecia, Albania, Yugoslavia, Italia, Península Ibérica y el norte de Africa al oeste de Egipto. Se han practicado ya amplias encuestas en Egipto y hasta cierto punto en Israel, pero los datos son muy escasos sobre el resto de una región, que interesa no sólo por la proximidad de algunos focos de infección como los virus de *West Nile* y *Sindbis* en Egipto, sino por la presencia ocasional de por lo menos tres virosis transmitidas por artrópodos : las dos fiebres papataci y el dengue.

2) Africa Oriental, desde Mozambique hasta el norte de Somalia. La importancia de esta zona se debe a la posibilidad de que sirva de enlace entre el Africa Ecuatorial y Asia, especialmente la Península Arábiga y la India.

3) Muchos países de Europa Occidental. La presencia del grupo de virus de la encefalitis vernoestival rusa que transmiten las garrapatas y de los anticuerpos de esos virus en los países situados entre Suecia y Yugoslavia dan un interés apremiante a las encuestas que se practiquen entre el Báltico y el Adriático y hacia el oeste de esa línea.

4) América del Sur. La región del Caribe y ciertas zonas del Brasil y de Colombia han sido y siguen siendo objeto de estudio. El resto de América está en conjunto inexplorado. Se considera que las encuestas practicadas en diversos lugares de esta zona aportarían datos, entre otras cuestiones, sobre las posibles vías de progresión y dispersión de los virus por las aves migratorias.

Como las aves migratorias son a veces un eslabón importante de la cadena epidemiológica, convendrá practicar algunas encuestas sobre los reservorios animales de virus y especialmente las aves. Donde se haya comprobado la presencia de los virus de la fiebre amarilla o del dengue será procedente tomar muestras de sangre en los monos. Tampoco deberá descuidarse la posibilidad de que ciertos animales invernantes alberguen durante el invierno algunos de los virus que transmiten los artrópodos.

Para las encuestas en gran escala, el método que con más eficacia permite hacer las determinaciones de grupo (para los grupos A, B y C) es la prueba de la inhibición de la hemaglutinación (IHA), que puede practicarse con una cantidad mínima de suero, ya que bastan 0,5 ml para investigar 10 antígenos. Cuando en una zona determinada se descubra un gran número de reacciones positivas y de título elevado para un virus o grupo de virus, convendrá hacer allí un estudio más detenido, que comprenda las pruebas de neutralización, con objeto de identificar el agente causal específico y, lo que es más importante, los ensayos destinados a aislar el virus o los virus de la zona, puesto que el aislamiento es el único método para conocer con seguridad la actividad de un virus determinado en una determinada zona.

2.3.1.2 *Virus de las vías respiratorias*

Las investigaciones sobre la gripe están en la actualidad bien organizadas y deben continuarlas el Centro Mundial de la Gripe, el Centro Internacional de la Gripe para las Américas y los laboratorios nacionales que colaboran con esas instituciones. Sería natural que los laboratorios dedicados al estudio de la gripe ampliaran sus actividades a los mixovirus en general (y a otros virus del aparato respiratorio), según aumentan su número y su importancia. El descubrimiento de la mayoría de ellos es tan reciente que las investigaciones, todavía en la fase experimental, están activamente dedicadas a aislar e identificar los agentes y a establecer la correlación de las respuestas serológicas. Parece pronto aún para organizar un plan de encuestas serológicas en gran escala con respecto a esos virus, pero las colecciones de sueros que en la actualidad se reúnan podrán examinarse más adelante cuando se hayan establecido pruebas adecuadas. Cabe sugerir, sin embargo, como punto de partida, la investigación de anticuerpos de grupo que fijen el complemento con los adenovirus.

En ciertos casos convendría también practicar encuestas sobre los virus del grupo psitacosis-ornitosis.

2.3.1.3 *Enterovirus de la poliomielitis*

En el estudio de la poliomielitis se ha hecho con frecuencia uso de las encuestas serológicas. Se han reunido datos suficientes de que en una colectividad determinada la distribución de anticuerpos concuerda con la incidencia de la poliomielitis parálitica, de manera que, cuando las declaraciones se han hecho con precisión bastante, el grado de inmunidad de una población se puede evaluar sobre la base del número de casos registrados.

Siendo así, las encuestas serológicas no estarán indicadas más que en las siguientes circunstancias especiales, según se advertía en el segundo informe del Comité de Expertos de la OMS en Poliomielitis¹:

¹ *Org. mund. Salud Ser. Inf. técn.*, 1958, **145**, 20-22

- 1) En zonas donde no haya buenas estadísticas sobre la enfermedad ;
- 2) Como medio de ayuda para conocer el estado inmunitario de una población con el fin de decidir si procede emprender una campaña de vacunación, cuando y en qué grupos de edad, cuestiones de particular importancia para las autoridades locales de sanidad ;
- 3) En colectividades aisladas, sean o no insulares, donde sea imposible prever el estado de inmunidad de la población ;
- 4) Cuando se declaren epidemias que presenten caracteres insólitos y difíciles de interpretar.

Convendrá además investigar de nuevo la presencia de anticuerpos de la poliomielitis en sueros de aves y otros animales.

2.3.1.4 *Otros enterovirus*

Este campo está poco estudiado por su misma novedad y por el gran número de los agentes descubiertos en un periodo de tiempo muy corto ; pero los datos reunidos hasta ahora indican que entre los distintos virus ECHO hay muy poca antigenicidad cruzada, lo que facilita relativamente su estudio. Lo mejor, sin duda, sería empezar los trabajos por los tipos ECHO a los que se puede ya imputar alguna epidemia.

Las encuestas serológicas sobre las infecciones por virus Coxackie han estado limitadas por la extensión y complejidad del grupo y por ciertos problemas de la investigación de anticuerpos como los que plantean las intensas reacciones cruzadas de algunos miembros del grupo en la prueba de fijación del complemento. Con los virus del grupo B (y con algunos del grupo A que se reproducen bien en cultivos de tejidos), las pruebas de neutralización pueden emplearse, por ejemplo, para practicar encuestas en situaciones epidémicas anormales.

2.3.1.5 *Otras enfermedades*

Sarampión. Las pruebas de neutralización de anticuerpos y de fijación del complemento, aplicadas recientemente al diagnóstico del sarampión, han dado al estudio epidemiológico de esta enfermedad una exactitud que nunca había tenido. Las estadísticas de morbilidad son, sin embargo, más fidedignas que en la mayor parte de las infecciones por el carácter específico del cuadro clínico de la enfermedad y por la claridad con que se manifiestan en la inmensa mayoría de los casos. Más que para establecer el estado de inmunidad en una población, el método serológico parece útil para estudiar la susceptibilidad individual o para decidir, por ejemplo, si el sujeto debe o no debe ser protegido. Tendría empero gran interés desde el punto de vista sanitario establecer la correlación entre la distribución de anticuerpos y los antecedentes de sarampión en ciertas zonas remotas, como Groenlandia, y en colectividades aisladas, como las poblaciones de las islas del

Pacífico, sobre todo si se piensa que probablemente no tardará en hacerse posible la vacunación contra esa enfermedad.

En las encuestas para investigar los anticuerpos del sarampión, convendría también estudiar el alcance de la relación inmunológica entre el virus del sarampión y el del moquillo del perro. Podría ser interesante un estudio de sueros caninos al principio y al fin de un brote epidémico de sarampión.

Hepatitis y mononucleosis infecciosa. Aunque hasta ahora no haya ninguna prueba apropiada para el estudio serológico de estas enfermedades, será conveniente, siempre que pueda hacerse, recoger y conservar sueros con objeto de estudiarlos más adelante cuando se hayan establecido las técnicas adecuadas.

Rickettsiosis. Un estudio de los anticuerpos de la fiebre Q en el hombre y en los animales practicado en escala mundial sería una apreciable contribución al conocimiento epidemiológico de la enfermedad, sobre todo en lo que se refiere a los reservorios naturales y a la progresión geográfica de la infección. En lo que respecta a otras rickettsiosis, como el tifus exantemático (epidémico y endémico), la fiebre tsutsugamuchi, la viruela rickettsiósica y las diversas fiebre maculosas (por ejemplo, la de las Montañas Rocosas, la brasileña, la colombiana, la botonosa y las de Kenya, la India y Africa del Sur) podrían obtenerse datos epidemiológicos muy importantes si se practicaran encuestas en algunas zonas cuya fauna y cuyos caracteres geográficos fueran análogos a los de las regiones infestadas de que se tiene hoy conocimiento.

Fiebre reumática. Una cuestión de gran interés es la relación de la infección estreptocócica con la fiebre reumática. Para su estudio podrían hacerse determinaciones de antiestreptolisina-O (ASLO) en condiciones diferentes.

Artritis reumatoide. En esta enfermedad, la prueba con hematíes sensibilizados de carnero y las nuevas modificaciones en las que se emplean partículas de latex en la aglutinación abren nuevas perspectivas a los estudios epidemiológicos de los casos clínicos y subclínicos.

Infecciones bacterianas. Muchas infecciones bacterianas se prestan a los estudios serológicos de epidemiología. Probablemente el perfeccionamiento de las técnicas aplicables a ciertas enfermedades hoy ya bien conocidas, como las causadas por estreptococos y por estafilococos, la difteria, la fiebre tifoidea y otras salmonelosis, permitirá completar los actuales conocimientos epidemiológicos. Hace falta reunir datos mucho más numeroso sobre la prevalencia y difusión en todo el mundo de las brucelosis y listerelosis en el hombre y en los animales. También serán útiles los estudios serológicos sobre la peste y la tuberculosis, sobre, todo con relación a los respectivos reservorios animales en las zonas infestadas.

Espiroquetosis. Aunque ya se han practicado encuestas en gran escala sobre el pian y la sífilis, todavía quedan muchas zonas en que sería conveniente proseguir esos estudios. También deberían aplicarse las técnicas de la encuesta serológica a la investigación sobre otras treponematosiis, como la fiebre recurrente y la leptospirosis.

Parasitosis. Las encuestas sobre los anticuerpos de la toxoplasmosis en las poblaciones humanas y animales tienen el mayor interés, porque indudablemente contribuirían a esclarecer la epidemiología hoy oscura de esa enfermedad. Como las técnicas serológicas aplicables a la toxoplasmosis y a otras enfermedades causadas por protozoos, helmintos y hongos han de perfeccionarse mucho todavía, los progresos que se vayan haciendo darán con el tiempo una utilidad evidentemente mucho mayor a las colecciones de muestras de sueros a que se refiere el presente informe.

2.3.2 Encuestas inmunológicas sobre sueros animales

Es muy conveniente que en cualquier encuesta sobre sueros humanos se recoja una muestra representativa de sueros de animales domésticos (ganado vacuno, lanar o cabrío, cerdos, caballos, perros y aves de corral). Para salvar las dificultades que puede ofrecer ese estudio en la población animal cabe aprovechar otras encuestas actualmente en curso, por ejemplo sobre la brucelosis, o recoger sueros en las escuelas y clínicas de veterinaria o en los mataderos.

Es sabido que el estudio de los sueros de ciertas aves y otros animales no domésticos tiene una gran importancia para el conocimiento de algunas infecciones. Convendría hacer ahí una investigación más a fondo.

Sin perder de vista las condiciones locales, habrá de considerarse la posibilidad de que la muestra comprenda los animales que están en contacto directo con el hombre y los que viven apartados de él. Para estos últimos se podrán evitar las dificultades de tener que emprender una operación independiente encomendando la recogida a otros grupos dedicados a hacer encuestas zoológicas. El recurso a otros grupos de encuesta puede tener el inconveniente de que los especímenes sean defectuosos, pero peor sería carecer por completo de ese material.

Siempre que se empiece la recogida de nuevas series de especímenes de suero para un fin determinado, se habrá de considerar la posibilidad de que el grupo encargado de realizarla extienda su radio de acción con objeto de que sus trabajos puedan luego servir para atender necesidades ulteriores de los estudios coordinados de la OMS, la cual deberá examinar los programas en curso de otras organizaciones a fin de aprovechar las ocasiones que sus trabajos respectivos ofrezcan para obtener los especímenes de suero de especies animales domésticas y salvajes que necesite.

La siguiente lista enumera las especies animales que conviene hacer objeto de encuesta y algunos de los procesos patológicos en cuya transmisión tiene cada una de ellas intervención principal.

Perros :	Rickettsiosis, leptospirosis, rabia, leishmaniosis, toxoplasmosis
Ganado vacuno :	Brucelosis, leptospirosis, fiebre Q, psitacosis, grupo del linfogranuloma
Corderos y cabras :	Brucelosis, tularemia, fiebre Q, encefalitis transmitidas por garrapatas, listerelosis, psitacosis, grupo del linfogranuloma
Cerdos :	Brucelosis, listerelosis, toxoplasmosis, gripe, enfermedades por virus Sendai, virosis transmitidas por artrópodos
Caballos :	Virosis transmitidas por artrópodos, gripe
Aves domésticas :	Salmonelosis, listerelosis, psitacosis, ornitosis, virosis transmitidas por artrópodos, fiebre Q, enfermedades por mixovirus
Aves salvajes :	Psitacosis, fiebre Q, virosis transmitidas por artrópodos
Roedores :	Peste, tífus murino y fiebre tsutsugamushi, virosis transmitidas por artrópodos, fiebre Q, tularemia, leptospirosis, toxoplasmosis
Primates :	Fiebre amarilla selvática y otras virosis transmitidas por artrópodos
Murciélagos :	Rabia, virosis transmitidas por artrópodos, otras virosis.

Las especies salvajes afines a las domésticas, como, por ejemplo, el jabalí y el dingo, pueden ser también objeto de una encuesta análoga.

Estas consideraciones generales deberían servir para fomentar el estudio de los focos naturales de las enfermedades, cuya importancia se ha hecho patente ya en varias virosis transmitidas por artrópodos, en la fiebre Q y en la gripe. Estas colecciones especiales de sueros se clasificarán paralelamente a las de sueros humanos.

2.3.3 Grupos sanguíneos

El estudio de los grupos sanguíneos por medio de encuestas se justifica por la relación que puedan tener con la susceptibilidad a ciertas enfermedades o por su importancia desde el punto de vista de la antropología. El grupo sanguíneo constituye un indicador genético muy útil y facilita datos interesantes en genética comparada, sobre todo cuando el estudio abarca varias generaciones.

Por ahora las encuestas deben encaminarse principalmente a completar las informaciones sobre la distribución mundial de los grupos sanguíneos ; más adelante habrá que estudiar la relación que éstos puedan tener con las enfermedades. En las encuestas sobre grupos sanguíneos, los factores étnicos tienen capital importancia. La utilidad de las encuestas es mayor cuando se practican en grupos homogéneos de una población sin propósito de abarcar la totalidad del país. Los especímenes recogidos en las encuestas de objetivo múltiple deben ir acompañados de los oportunos datos étnicos y familiares correspondientes a los sujetos en que se haga la toma de sangre.

2.3.4 Hemoglobinopatías

Las hemoglobinas anormales tienen importancia para la salud del hombre por varias razones :

1) En las poblaciones donde es alto el porcentaje de los portadores de una o más anomalías hereditarias de esa clase (como ocurre en ciertos lugares de Africa, Asia y América), el 1 % aproximadamente de los nacidos son homocigóticos o doblemente heterocigóticos, por ejemplo, para el drepanocito y para el gene de Cooley. Casi todos esos niños viven muy pocos años.

2) En los portadores heterocigóticos de esas anomalías hereditarias las consecuencias son menos graves, pero con frecuencia se observa una anemia más o menos acusada que no debe confundirse con las anemias ferropénicas o las observadas en la parasitosis intestinal o en el paludismo.

3) Los portadores de drepanocitos y de genes de Cooley pueden tener cierta protección contra el paludismo. Es probable que la presencia de los genes de otras hemoglobinas anormales represente en ciertos casos (por ejemplo, en la carencia de hierro) un beneficio para sus portadores.

Los individuos heterocigotos para alguna de esas hemoglobinopatías abundan en Africa Central y del Norte, Italia, Grecia, los países del Mediterráneo Oriental, India, Pakistán, Birmania, Tailandia, Indonesia y en los lugares habitados por inmigrantes procedentes de dichos países.

Siempre que se hagan encuestas hematológicas en zonas que tengan interés desde el punto de vista de las hemoglobinas anormales, se determinará el número de sujetos afectados de hemoglobinopatías.

2.3.5 Anemias

El Grupo de Estudio ha tomado nota de que, según las observaciones del Grupo de Estudio de la OMS sobre Anemias Ferropénicas, la anemia por deficiencia de hierro plantea en muchas regiones un grave problema de sanidad. Hasta ahora no se tienen informaciones suficientes sobre la prevalencia de esos procesos en el mundo. Se recomienda que en las encuestas se haga por lo menos la determinación de la hemoglobina y la del índice

hematocrito. El recuento de los hematíes sería también conveniente, pero los métodos actuales son poco precisos y no parecen adecuados en encuestas de gran amplitud. Respecto a la determinación de la hemoglobina y del índice hematocrito, deberá prestarse en las encuestas atención especial a los lactantes, a los niños y a las mujeres embarazadas.

El informe del Grupo de Estudio sobre Anemias Ferropénicas expone con detalle las oportunas consideraciones técnicas.¹ Los datos sobre los valores totales de hemoglobina pueden tener también utilidad para las determinaciones de las hemoglobinas anormales recomendadas en la sección 2.3.4.

2.3.6 *Problemas bioquímicos de la nutrición*

El Grupo de Estudio reconoce que en la actualidad la naturaleza de los problemas de nutrición cambia mucho, según los países y regiones. En ciertas zonas insuficientemente desarrolladas, el problema principal sigue siendo la hipoalimentación, mientras que en los países más adelantados la sobrealimentación ha pasado a ser una amenaza para la salud de las poblaciones. Las investigaciones bioquímicas, cuya inclusión en las encuestas se recomienda, deberán abarcar ambos problemas.

2.3.6.1 *Proteínas del plasma*

Es urgente profundizar el conocimiento que se tiene hoy de las proteínas séricas para aclarar las alteraciones metabólicas que se producen en ciertos procesos como la malnutrición proteínica y en ciertas enfermedades en que se pierden proteínas o se acelera su desdoblamiento. Para reunir datos fundamentales sobre la cuestión sería conveniente hacer la determinación de las proteínas plasmáticas totales y de sus diversas fracciones en la población objeto de encuesta. Los resultados que así se consiguieran permitirían quizá poner de manifiesto algún aspecto nuevo de trastornos patológicos específicos ya conocidos. También podrían aportar datos bioquímicos que sirvieran de base, por ejemplo, a ulteriores investigaciones sobre las particularidades hereditarias en la formación de ciertas fracciones proteínicas del plasma.

2.3.6.2 *Estudios sobre las vitaminas del plasma — Vitamina A*

Los estudios practicados en diversos lugares indican que la carencia de vitamina A es una de las más graves formas de avitaminosis y que en muchas partes del mundo deteriora la salud de las poblaciones. El Comité Mixto FAO/OMS de Expertos en Nutrición, en su quinto informe, detallaba en los siguientes términos la gravedad del problema :

¹ *Org. mund. Salud Ser. Inf. técn.*, 1959, **182**

En algunas regiones de la India, Indonesia, Malaya, Filipinas y Ceilán parece que la queratomalacia es causa frecuente de ceguera. La escasez de vitamina A en la alimentación es común en determinadas zonas del Asia Sudoriental, de la América Latina y de África. Hay pruebas de que en estas regiones la carencia de vitamina A da origen a otros estados patológicos además de las graves enfermedades de la vista.¹

Teniendo en cuenta esas consideraciones, se hace oportuno estudiar más a fondo la carencia de vitamina A en numerosos grupos de población. Ha quedado ya bien establecido que, en condiciones ordinarias y dentro de ciertos límites, las concentraciones de vitamina A o de vitamina A más carotenos en el plasma o en el suero se relacionan con las cantidades ingeridas y con las reservas en el hígado. Una concentración plasmática de 15 a 20 mg/100 ml hace presumir una avitaminosis que puede no manifestarse clínicamente.

Se recomienda, en consecuencia, que en algunas de las encuestas inmunológicas propuestas se practique la determinación de las concentraciones plasmáticas de vitamina A y de carotenos en las muestras de sangre recogidas. Los resultados de esas determinaciones acaso pongan de manifiesto ciertos estados de carencia en zonas donde hasta ahora habían pasado inadvertidos y contribuyan así a mejorar el conocimiento de la epidemiología de la avitaminosis A. Hay además motivos para pensar que a veces determinados procesos patológicos, como algunas enfermedades infecciosas, provocan también un descenso de las cifras plasmáticas de vitamina A, de manera que los datos obtenidos podrían llevar asimismo a una nueva interpretación de la cuestión.

2.3.6.3 *Otras vitaminas*

El Grupo de Estudio reconoce que también sería interesante emprender investigaciones más completas sobre otras vitaminas que tienen o pueden tener importancia en sanidad; pero por desgracia, diversas dificultades prácticas impiden por ahora incluirlas en las encuestas que son objeto del presente informe.

2.3.6.4 *Lípidos del plasma*

Es sabido que las concentraciones séricas de colesteroína no son las mismas en los diferentes grupos de población. Para explicar la diferencia se han invocado varias causas, entre las cuales los factores del medio parecen ser la más importante.

Muchos autores aceptan la existencia de una relación específica entre la concentración de colesteroína en el suero y la cantidad y calidad de las grasas ingeridas; pero lo que hasta ahora se sabe no basta para definir la intervención de otros factores dietéticos como la ingestión total de calorías o de proteínas.

¹ *Org. mund. Salud Ser. Inf. técn.*, 1958, **149**, 43-44

El Grupo de Estudio sobre Aterosclerosis y Cardiopatía Isquémica¹ entendía que, entre otros elementos de juicio, las determinaciones de la colesteroína y de las fracciones lipoproteicas del suero podrían con el tiempo tener mucho empleo en los estudios sociales sobre la aterosclerosis. Se ha considerado, en consecuencia, que la determinación de dichas fracciones en el plasma sanguíneo recogido en las encuestas inmunológicas propuestas facilitaría la evaluación crítica de la utilidad que puedan tener esas pruebas como instrumento epidemiológico.

2.3.6.5 Otras determinaciones bioquímicas

Hay algunos motivos para suponer que en los individuos sometidos a una dieta pobre en proteínas, las concentraciones plasmáticas de ciertas fracciones nitrogenadas no proteínicas son más bajas que en el resto de la población. Las investigaciones preliminares parecen confirmarlo con respecto a la creatinina, cuya determinación sería de gran utilidad si se comprobara que por ese medio podían descubrirse precozmente los estados de malnutrición proteínica que no fueran bastante graves para haber provocado ya la reducción de las proteínas plasmáticas totales.

Hay en la sangre otras muchas sustancias cuya determinación puede con el tiempo ser interesante en encuestas epidemiológicas como las que se examinan en el presente informe. Entre esas sustancias están otros compuestos nitrogenados no proteínicos como el ácido úrico y el pepsinógeno. Cuando se hayan establecido los métodos adecuados de prueba, podrá hacerse uso de ciertas determinaciones, como las de la glucosa en la sangre, y las dosificaciones hormonales, etc., en la actualidad inaplicables a los trabajos de encuesta por dificultades técnicas o de otra clase.

3. APLICACIONES Y DIFICULTADES DE LAS ENCUESTAS SEROLOGICAS

Indicados los principales objetivos de las encuestas serológicas, se exponen a continuación algunas ideas relacionadas con su aplicación al estudio de los problemas planteados corrientemente o a largo plazo por las enfermedades.

3.1 Estudios de interés inmediato

Las encuestas serológicas pueden aportar informaciones útiles sobre los problemas de interés inmediato que plantean las enfermedades. A muchas

¹ *Org. mund. Salud Ser. Inf. técn.*, 1957, 117

de esas informaciones, que se obtienen por diversos procedimientos, se ha hecho ya referencia. El Grupo señala en particular los siguientes extremos :

1) Cuando se prepara una campaña de vacunación, como ocurre hoy en muchos países con respecto a la poliomelitis, la determinación de los grupos de edad susceptibles en la población es muy conveniente para designar a los que deben ser vacunados y el orden de prioridad que haya de seguirse en las operaciones.

2) Las encuestas serológicas pueden aportar información sobre la distribución geográfica de los agentes infecciosos, que tiene importancia capital para prevenir en lo posible la invasión de los gérmenes en nuevos territorios. Cuando las administraciones de sanidad pueden disponer de informaciones de esa clase, están en condiciones mucho mejores para adoptar las oportunas medidas profilácticas. Si por otra parte, las encuestas serológicas acusan la presencia de un agente en una zona determinada, el adecuado tratamiento de los brotes epidémicos de la enfermedad correspondiente podrá organizarse con mucha más eficacia y rapidez.

3) En las encuestas repetidas, puede anunciarse la reaparición de un agente infeccioso en una colectividad, después de una larga ausencia, por el hallazgo de anticuerpos antes de que la enfermedad se haya manifestado clínicamente.

3.2 Estudios a largo plazo

Los estudios a largo plazo se practican mediante la repetición de varias encuestas transversales o mediante encuestas longitudinales. La expresión « encuesta longitudinal » se emplea aquí para designar a las que consisten en hacer exámenes periódicos de una misma muestra de población, a diferencia de lo que ocurre en las encuestas transversales repetidas donde el examen recae cada vez en una nueva muestra de individuos.

Pueden emplearse, por supuesto, otros criterios más complicados de muestreo que en ciertos casos tienen utilidad. En las encuestas longitudinales especialmente cabe tomar determinadas disposiciones para sustituir las bajas que se produzcan en la muestra o introducir algún sistema de renovación sistemática.

3.2.1 Encuestas transversales repetidas

Las encuestas transversales, sobre todo cuando se repiten, proporcionan informaciones sobre la evolución del cuadro de la infección en una colectividad y sobre los cambios de su distribución geográfica. También sirven a veces para acusar las alteraciones antigénicas que pueden producirse como las que se han observado en los virus de la gripe ; e incluso cabe que aporten informaciones sobre la posibilidad de que el contacto previo de una población con uno o varios virus de un determinado grupo

serológico, como por ejemplo, los transmitidos por artrópodos, modifique la situación epidemiológica, cuando se introduzcan otros virus del mismo grupo.

3.2.2 Encuestas longitudinales

La repetición sucesiva de los exámenes de una misma muestra de sujetos permite hacer una investigación más completa de los cambios que se producen en una población determinada. El método ideal que ha de seguirse en lo posible consiste en obtener especímenes de sangre del mismo individuo a intervalos de varios meses o años y referidos en cuanto se pueda al curso de la morbilidad en el periodo correspondiente. Esas encuestas proporcionan una información sin duda alguna más rica que las transversales, pero plantean dificultades mayores y requieren más tiempo. Su objeto es establecer una correlación entre la frecuencia de las enfermedades clínicamente manifiestas y registradas y la aparición de indicios de infección en forma de anticuerpos y determinar el aumento o la disminución de los anticuerpos en un mismo sujeto. Para lograr ese resultado, es preciso hacer un muestreo periódico en la población de determinadas zonas y en cada visita anotar los datos clínicos y hacer tomas de sangre y, si se considera necesario, de exudados faríngeos, esputos, heces u otros materiales.

No obstante, es necesario reconocer que el valor de estas encuestas está limitado por una serie de dificultades que, a veces, hacen difícil la interpretación de los datos recogidos. Dichas dificultades se exponen a continuación.

3.3 Dificultades relativas a los anticuerpos

3.3.1 Variabilidad de la persistencia de los anticuerpos según las infecciones

Algunos anticuerpos duran probablemente toda la vida; otros, en cambio, desaparecen al cabo de poco tiempo. Las infecciones que provocan la aparición de anticuerpos de corta duración, como la antiestreptolisina O de las infecciones estreptocócicas, sólo se prestan, en consecuencia, a un tipo especial de encuestas, que se lleven a cabo muy poco después de la propagación de la enfermedad.

3.3.2 Presencia de anticuerpos correspondientes a un determinado agente patógeno, que no indican necesariamente una infección previa por ese agente

La infección por un germen muy semejante, pero distinto desde el punto de vista antigénico, puede provocar la aparición de anticuerpos que den reacciones cruzadas, lo que plantea un delicado problema de diagnóstico. Cuando la reacción cruzada es intensa, no se puede llegar a una conclusión clara sobre el agente etiológico específico, a no ser que se logre aislarlo

en la misma zona. Dentro de unos años se habrán establecido indudablemente técnicas perfeccionadas, como las que hoy se emplean con la gripe, que permitirán determinar la especificidad de los anticuerpos.

Estas dificultades dependen en parte de la naturaleza de las pruebas empleadas en la encuesta. Algunas de ellas dan respuestas más específicas que otras. Así, por ejemplo, la neutralización intracerebral en el ratón con los grupos A y B de los virus transmitidos por artrópodos suele ser más específica que la inhibición de la hemaglutinación. Los anticuerpos cuya presencia se demuestra mediante pruebas de aglutinación persisten durante mucho más tiempo que los que se descubren con la prueba de fijación del complemento, como en la poliomielitis y en la gripe; pero la duración menor de los anticuerpos que fijan el complemento puede servir ventajosamente en algunas infecciones para descubrir los casos recientes, al revés de lo que ocurre con otros anticuerpos que revelan por igual las infecciones recientes y las antiguas.

3.4 Limitaciones relativas a las pruebas

Constituyen ejemplos de estas limitaciones la dificultad de que investigadores diferentes reproduzcan una prueba determinada y la sensibilidad variable de la misma. Añadense a ello las diferencias de apreciación más o menos acusadas que pueden producirse en la interpretación de los resultados cuando se obtienen respuestas graduadas y no respuestas completamente positivas o negativas.

3.5 Limitaciones relativas a los sueros

Ocurre también que los sueros de ciertas especies animales reaccionan frente a algunos virus lo mismo que los sueros inmunes, lo que suscita una nueva dificultad en las pruebas serológicas, sobre todo cuando se emplean sueros animales. Este efecto neutralizante, que se confunde con la acción de los anticuerpos específicos, no parece debido a un contacto anterior con el virus. Sería erróneo, pues, inferir de su sola presencia la previa intervención de un agente vírico. Algunos sueros de ternera, por ejemplo, inactivan los virus poliomielíticos.

No se olvide, en fin, que las encuestas serológicas son inaplicables al estudio de muchas enfermedades importantes, como la tuberculosis, por no haber métodos adecuados para su empleo general, ni que las técnicas hoy empleadas en el estudio de ciertas infecciones están sujetas a modificaciones y perfeccionamientos incesantes. El Grupo, en consecuencia, recomienda encarecidamente que, sin perjuicio de que sigan practicándose encuestas con los métodos actuales, se haga todo lo posible para fomentar los estudios fundamentales encaminados a perfeccionar las técnicas en uso y a establecer otras nuevas. En atención al rápido aumento del número de los agentes

infecciosos que pueden ser objeto de encuesta, convendrá dar preferencia muy particular al establecimiento de micrométodos para trabajos inmunológicos que permitan reducir a su mínimo la cantidad de suero empleada.

4. METODOS PARA LA RECOGIDA DE MUESTRAS EN LA POBLACION

4.1 Consideraciones generales

La determinación del alcance territorial de una encuesta cualquiera, es decir la designación de los países, grupos de países o zonas delimitadas sin tener en cuenta las fronteras políticas, en que deban hacerse los trabajos dependerá sobre todo de los objetivos principales del estudio y de los problemas que preocupen a quienes lo emprendan. El Grupo de Estudio recomienda encarecidamente que se aprovechen, sin embargo, todas las ocasiones que se presenten para extender esas actividades a las partes del mundo en que las informaciones epidemiológicas son todavía muy escasas.

El método de muestro de la población en la zona sometida a estudio se ajustará, por una parte, a los objetivos de la encuesta y, por otra, a las facilidades mayores o menores de escoger y examinar los distintos tipos de muestra.

Si el objetivo principal de la encuesta consiste en evaluar las tasas generales de infección o de inmunidad en la población de la totalidad de la zona o de una de sus circunscripciones, el método ideal de muestreo sería escoger los sujetos al azar en todas las localidades, de modo que la representación numérica de cada una en la muestra sea proporcional a su población. Las dificultades de selección y de examen lo hacen sin embargo impracticable. Aun suponiendo que se pudiera obtener una muestra en esas condiciones, no se evitaría el grave inconveniente de que los caracteres de los pequeños grupos de población que pudieran tener especial interés quedarían mal determinados por lo poco numerosa que sería su representación en la muestra.

En la práctica es indispensable, pues, limitar la recogida de muestras a algunas zonas relativamente pequeñas (poblados o grupos de poblados, ciudades o partes de ciudades, etc.) y aumentar en proporción el volumen numérico de la muestra tomada en cada una. La primera cuestión que ha de resolverse es la selección de las zonas.

Dos criterios principales pueden aplicarse: uno es escogerlas al azar de modo que todas las zonas tengan posibilidades iguales o, lo que es más corriente, desiguales, pero predeterminadas; otro consiste en hacer una selección deliberada para preferir las que se consideren representativas de las distintas partes del territorio o las que, por otras razones, presenten interés especial.

El primer método se conoce técnicamente como muestreo en varias fases. El establecimiento de la muestra de zonas constituye la primera fase del proceso de muestreo, y el de la muestra de los individuos dentro de las zonas seleccionadas, la segunda fase.

4.2 Selección de zonas al azar

Varios medios permiten escoger las zonas de manera que la muestra reúna todas las condiciones necesarias para ser estadísticamente representativa y ofrecer una base en que fundar estimaciones objetivas correspondientes a la población total. Cabe, por ejemplo, subdividir el territorio en una serie de regiones que desde el punto de vista de los caracteres en estudio parezcan relativamente homogéneas (estratificación por regiones) y efectuar un muestreo en cada región. Si la repartición de los caracteres en estudio cambia sensiblemente de una región a otra, la muestra así obtenida será más representativa. Se habrá asegurado además la debida representación de cada región en la muestra, evitando el inconveniente, que puede producirse cuando la selección se hace rigurosamente al azar, de que alguna región esté insuficientemente representada.

Cuando en la estructura de la muestra concurren otras condiciones estadísticas, puede hacerse una estimación precisa de los errores del muestreo. Incluso en el supuesto de que no se hayan cumplido todos los requisitos, suele ser posible evaluar con suficiente aproximación esos errores. En los manuales de estadística que tratan de la cuestión se exponen los detalles de las técnicas aplicables.

4.3 Selección de zonas características

Los precedimientos variarán mucho según las circunstancias. En un territorio de economía principalmente rural, donde los habitantes, por ejemplo, vivan en poblados, y donde haya diversas regiones geográficas con diferencias bien marcadas, puede empezarse por delimitar las partes del territorio en que más caracterizadas estén las particularidades de las regiones, y eliminar por completo las zonas marginales y de transición. Se procederá luego a escoger al azar algunos de los poblados situados en esas zonas típicas, o se hará una clasificación de los mismos según las características tribales, su alejamiento de las líneas de comunicación, de las grandes ciudades, o con otros criterios, para hacer luego en cada grupo la selección al azar o deliberadamente en atención a los caracteres respectivos. Además, es probable que en el territorio haya una o varias ciudades importantes y otras menores que sea necesario someter a un muestreo distinto, a cuyo efecto podrán seleccionarse sectores representativos de las grandes ciudades y algunos de los más típicos de las pequeñas.

No debe atribuirse a una muestra de esa clase un valor estadístico representativo del conjunto del territorio ; y ha de admitirse cierto grado de

inexactitud en cualquier estimación que partiendo de ella se haga de la incidencia media de un estado o afección determinada en el conjunto del territorio. Con todo, los datos recogidos pueden ser lo bastante precisos para ofrecer una imagen aproximada de la situación general, y los contrastes entre las diferentes zonas típicas probablemente aparecerán mucho más netos y acusados que si se hubiera hecho al azar la selección de las zonas, porque muchas de ellas entonces hubieran estado entre las que deben considerarse como de transición, donde los diferentes caracteres se presentan necesariamente confundidos. En el supuesto de que la incidencia de un estado o afección determinada sea la misma en la población de todos los tipos de zona que se hayan escogido, habrá motivo para pensar que probablemente ésa es también la incidencia en el conjunto del territorio; si, por el contrario, aparecen diferencias notables, el conocimiento de las variaciones tendrá seguramente más interés que la determinación exacta de una media para todo el país.

Infiérese de cuanto antecede que no es lo mismo, ni mucho menos, escoger las muestras que convienen a las encuestas de esta clase y las que se necesitan para hacer estimaciones de la población o de la producción agrícola de un país, en las cuales han de establecerse con la mayor exactitud posible las cifras correspondientes y necesitan, en consecuencia, emplear métodos muy rigurosos para que la recogida de muestras se extienda a todo el territorio.

Se ha sugerido ya la posibilidad de escoger al azar las zonas de las regiones características en que se vaya a practicar la encuesta, método de selección que representa una precaución útil cuando ninguna otra consideración pertinente aconseje preferir determinadas zonas a otras.

Con frecuencia puede haber motivos para incluir en la muestra, por ejemplo, a una ciudad pequeña, en atención a la abundante información de base de que allí se disponga; y estará perfectamente justificado hacerlo así, aun reconociendo que el hecho mismo de que se hayan reunido esos datos puede muy bien indicar que no se trata de una zona característica. Será prudente, por eso, no limitar la selección a las ciudades de esa clase.

Otra precaución útil es incluir en la muestra más de una de las zonas que se consideran representativas de un determinado conjunto de condiciones. Los resultados obtenidos en dos o más de ellas serán una valiosa indicación del grado en que esas zonas son realmente semejantes y evitarán además que se interprete equivocadamente un resultado anormal debido, por ejemplo, a una epidemia local reciente.

4.4 Selección de sujetos en las zonas escogidas

Para escoger a los individuos en las zonas donde se practique la encuesta, deberán emplearse métodos rigurosos de muestreo, sobre todo si se trata de una encuesta de objetivo múltiple. Una selección hecha enteramente al

azar quizá ponga de manifiesto situaciones bien definidas, como en el caso de que prácticamente todos los habitantes de una zona, salvo en los grupos más jóvenes, tengan anticuerpos de la poliomielitis, pero puede llevar a conclusiones engañosas si lo que se estudia, por ejemplo, son los caracteres genéticos de la población.

El mejor procedimiento para escoger al azar una muestra de individuos consiste, por lo general, en hacer una relación de todas las viviendas de la zona estudiada y, en la lista así obtenida, designar las familias al azar. La inclusión de familias enteras en la encuesta con la anotación de todas las indicaciones interesantes facilita además la investigación de ciertas características, particularmente el estudio de los factores genéticos y alimentarios y de la incidencia de ciertas infecciones. La descripción de los diversos métodos que pueden aplicarse para ello se ha hecho con frecuencia. La preferencia que convenga dar a unos u otros dependerá de las circunstancias locales.

En los grupos de edad suele ser importante que el muestreo se haga rigurosamente al azar. (El examen detallado de la cuestión de los grupos de edad se hará más adelante.) Habrán de evitarse, en consecuencia, ciertas prácticas como la de escoger sólo familias con niños para que la proporción de niños sea mayor. Las familias sin niños han de tener las mismas probabilidades que las otras de formar parte de la muestra.

Siempre que convenga examinar por separado dos grupos económico-sociales diferentes en una gran ciudad, convendrá muchas veces hacerlo dividiéndola en zonas y escogiendo sectores distintos para situar las muestras de cada grupo. Cuando así se haga, se prescindirá de los individuos que en el sector no pertenezcan al grupo económicosocial estudiado. En las muestras tomadas en ciudades pequeñas y en zonas rurales, seguramente será mejor no hacer ninguna diferencia entre los distintos grupos económicosociales, son perjuicio de que, el hacer el análisis de los datos, se tenga en cuenta la distinción si se trata de caracteres que requieren evaluación separada.

En lugar de hacer el muestreo por familias, se pueden utilizar también como punto de partida otras instituciones o unidades: las clínicas, las escuelas, el ejército, las fábricas, etc., donde en general la toma de muestras se hace con más facilidad. La muestra es entonces interesante sobre todo para estudiar determinados grupos de edad de la población; así ocurre, por ejemplo, en el caso de los escolares, con la salvedad de que muchas veces el grupo así obtenido no es del todo representativo de los grupos de edad correspondientes en el conjunto de la población, porque cuando en una colectividad la asistencia a la escuela se limita al 50 % de los niños de un grupo de edad determinado es muy probable que entre ellos y los del otro 50 % haya diferencias en la posición económicosocial y quizá en ciertos caracteres raciales o de otra índole.

La muestra puede completarse cuando así convenga con algunos subgrupos especiales como, por ejemplo, las mujeres embarazadas, que en los documentos aparecerán bien diferenciados del grupo principal. Para la localización de los sujetos que deban formar parte de esos subgrupos, se aplicarán métodos adecuados al caso particular. Su selección se hará por procedimientos efectivamente aleatorios.

4.5 Tratamiento de los grupos de edad

Como los caracteres epidemiológicos en el individuo varían grandemente según la edad y como esas variaciones tienen interés principal en muchos estudios, es importante que todos los grupos de edad estén adecuadamente representados en la muestra. Con frecuencia es preferible que la proporción de los grupos de edad más jóvenes sea mayor por ser más rápidos los cambios que en ellos se producen.

Un procedimiento para obtener una muestra en la que cada grupo de edad tenga la representación numérica que le corresponda consiste en estratificar o agrupar por edades la población en estudio y en escoger al azar dentro de cada grupo el número correspondiente. El método tiene, sin embargo, dos inconvenientes graves; en primer lugar, requiere el establecimiento de una lista por edades de toda la población de la zona en estudio, que puede dar mucho trabajo cuando la población es numerosa, y, en segundo lugar, la muestra que se obtiene escogiendo simplemente al azar en los grupos de edad consta de muy pocas familias enteras. Es preciso, pues, buscar otros métodos.

Cuando la distribución por grupos de edad que se quiere obtener coincide con la de la población, es decir, cuando no es necesario aumentar, por ejemplo, la proporción de los grupos de edad más jóvenes, la selección al azar por familias o por individuos dará en la muestra una distribución muy semejante a la de la población total. Aun así, pueden producirse variaciones, sea por efecto del mismo carácter aleatorio de la selección, sea porque efectivamente haya alguna diferencia en la distribución por grupos de edad de las poblaciones de las distintas zonas; diferencias que pueden falsear las comparaciones de las cifras medias respectivas de la variable en estudio correspondientes a los diferentes grupos de edad en cada zona. Más adelante se expone un método para eliminar ese inconveniente en el análisis estadístico, cuyas complicaciones de cálculo acaso hagan preferible prescindir de su aplicación.

La otra solución consiste en escoger la muestra de manera que la distribución por grupos de edad se ajuste a un esquema preestablecido, que coincida con el de la población general o que reserve una proporción superior a los grupos de edad más jóvenes. La manera más sencilla de proceder será incorporar a la muestra a todos los individuos escogidos al azar mientras no se haya cubierto la cifra prevista para cada grupo de edad;

pero cuando se necesita obtener una proporción mayor de los grupos de edad más jóvenes, los resultados de semejante procedimiento no son del todo satisfactorios, porque si después de la selección al azar se hace por ejemplo un examen sistemático de las familias de un sector o de un grupo de sectores de una ciudad, las últimas familias examinadas, que vivirán en una parte determinada de la ciudad, no estarán representadas en la muestra más que por los niños, desventaja evidente sobre todo por reducir la comparabilidad entre los grupos de jóvenes y los viejos. Para obviar esta dificultad cabe eliminar durante la recogida de muestras una proporción de los grupos de edad superiores. Si se desea que en la muestra las proporciones de los niños de 0 a 4,9 años y de 5 a 9,9 años sean respectivamente triple y doble que las de las existentes en la población, habrá que eliminar a uno de cada tres niños del grupo de 5 a 9,9 años y a dos de cada tres individuos de los grupos de más edad. Los cupos previstos en cada grupo pueden cubrirse, pues, según lo que se acaba de indicar. Los criterios de eliminación empleados tenderán a incorporar a la muestra el mayor número posible de familias completas. En ciertos casos podrá ser útil hacer una selección preliminar de familias en número algo mayor del que en definitiva sea necesario y establecer una lista por edades de todos los miembros de esas familias.

Si se hace una distribución por edades, quizá se considere también conveniente hacerla por sexos, de modo que en cada grupo de edad estén varones y hembras en igual número.

Incluso cuando se han introducido los correctivos adecuados en los efectivos de los distintos grupos de edad, la selección al azar dentro de cada uno de ellos puede introducir variaciones en la distribución por edad, que acaso desvirtúen la comparabilidad cuando la edad modifique rápidamente el valor de la variable en estudio. Para evitar el inconveniente se ha sugerido que sólo se incorporen a la muestra niños en edades determinadas, con exclusión de los que tengan edades intermedias, criterio que no parece aplicable más que cuando la recogida de muestras se hace en escuelas e instituciones análogas y siempre que sea posible precisar la edad de los niños con suficiente exactitud.

4.6 Reajuste de las estimaciones en atención a las desigualdades en la distribución por edad

Cuando no se han tomado disposiciones especiales para la distribución por edades en las muestras de las diferentes zonas y los factores epidemiológicos que han de estudiarse están considerablemente influidos por la edad, podrá mejorarse la precisión de las comparaciones entre los valores medios de todos los grupos de edad en las diferentes zonas reajustándolos para tener en cuenta las diferencias de la distribución de los grupos de edad ;

con ese fin se calculará el valor medio de cada grupo de edad en una zona y se establecerá la media ponderada de estos valores, tomando los coeficientes de ponderación proporcionalmente a la importancia numérica de una distribución típica de los grupos de edad, que corresponda aproximadamente a la distribución media de las muestras de todas las zonas. La aplicación de este método requiere que todos los grupos de edad estén adecuadamente representados en cada muestra ; por ello, y para simplificar el cálculo, conviene que los grupos no sean demasiado reducidos.

Cuando la distribución por edad de las muestras difiera considerablemente de la distribución por edad de la población, por ser mayor la proporción de sujetos jóvenes incluidos, y se hayan de obtener los valores medios para el conjunto de la población, se procederá a calcular las medias ponderadas en forma análoga, con coeficientes de ponderación que correspondan a la distribución por grupos de edad de la población.

4.7 Magnitud de la muestra

El número de los individuos que deben entrar en una muestra de sector (poblado, barrio de una ciudad, etc.) depende mucho de la naturaleza de las informaciones que se han de recoger en la encuesta y del grado de precisión requerido.

En las determinaciones cualitativas (afectados o no afectados), el error típico del porcentaje de afectados en una muestra de *n* individuos tomados al azar en una población numerosa puede calcularse por medio de la conocida fórmula

$$100 \sqrt{\frac{pq}{n}}$$

en la que *p* representa la proporción de afectados en la población y *q* = 1 - *p* la de no afectados. También puede naturalmente expresarse ese error típico como porcentaje del número estimado de individuos afectados. Los valores típicos en una muestra de 100 son :

<i>p</i> %	<i>E.T.</i>	<i>E.T. expresado en % de afectados</i>
90	3,0	3 %
80	4,0	5 %
50	5,0	10 %
20	4,0	20 %
10	3,0	30 %
5	2,2	44 %

En los dos tercios aproximadamente de todas las muestras, los errores reales estarán comprendidos entre los límites dados por el valor real más o menos el error típico, y aproximadamente en 19 de cada 20 casos en los

límites dados por el valor real más o menos el error típico multiplicado por dos. Así, en una población con un 20 % de afectados, los dos tercios de las muestras darán valores comprendidos entre el 16 % y el 24 %, y 19 muestras de cada 20, valores comprendidos entre el 12 % y el 28 %. Con una proporción de afectados del 80 %, los límites correspondientes serán respectivamente del 76 % y el 84 %, y del 72 % y el 88 %.

Los errores típicos varían en razón inversa de la raíz cuadrada del efectivo de la muestra. Así, en muestras de 25 individuos los errores típicos serán el doble de las cifras que acaban de indicarse, y en las muestras de 400 individuos quedarán reducidos a la mitad.

Para comparar los distintos grupos de edad de una muestra, ha de tenerse en cuenta que los errores típicos correspondientes a los porcentajes de los diferentes grupos dependen del efectivo de los grupos y que, por lo tanto, serán sensiblemente mayores que el error típico correspondiente al conjunto de la muestra ; pero con frecuencia es posible combinar muestras procedentes de zonas análogas para realizar comparaciones por grupos de edad, con lo que la operación gana en exactitud y se simplifica la presentación de los resultados.

La precisión de las determinaciones del porcentaje medio de afectados en todos los grupos de edad aumenta considerablemente cuando se hace una previa uniformación de los grupos y si es importante la extensión de los porcentajes relativos a los diferentes grupos de edad. Así, en una población con un 50 % de afectados, compuesta por cinco grupos de edad de la misma importancia numérica con un porcentaje de afectados de 10, 30, 50, 70 y 90 % en cada uno de ellos, el error típico de una muestra de 100 individuos escogidos de manera que los distintos grupos tengan igual representación (20 en cada grupo) es de 4,1 %, mientras que en una muestra escogida al azar sería del 5,0 %. La muestra uniformada tiene, pues, en este caso la misma precisión que una muestra formada por un número una vez y media mayor de individuos escogidos al azar. Cuando no se ha uniformado la distribución por edades de la muestra, puede obtenerse un aumento semejante de exactitud mediante la uniformación de las estimaciones por edad. Adviértase que, en el ejemplo citado, no sería apreciable el aumento de precisión que se hubiera obtenido subdividiendo la muestra en 10 grupos de edad con 5, 15, 25 . . . 95 % de afectados.

Teniendo en cuenta todos esos factores, el Grupo considera que la magnitud conveniente para las muestras de grupos de población que se desea comparar es de 300-600. Para que los resultados sean satisfactorios, lo mismo el número de los individuos que su distribución por edad dependen en gran parte de la naturaleza del problema en estudio y de la situación epidemiológica. Así, por ejemplo, en las encuestas sobre poliomielitis se ha propuesto el empleo de muestras de 425 individuos distribuidos por grupos de edad en la forma siguiente :

<i>Grupo de edad</i>	<i>Número de individuos</i>
6-11 (<i>meses</i>)	25
1	25
2	25
3	25
4	25
5-9	50
10-14	50
15-19	50
20-29	50
30-39	50
40 +	50
	<u>425</u>

Verdad es que en zonas donde prácticamente todos los habitantes, a excepción de los muy jóvenes, tienen anticuerpos de la poliomielitis se han utilizado con éxito muestras mucho más pequeñas; pero en las encuestas de objetivo múltiple conviene emplear muestras bastante numerosas, ya que son muchas las informaciones, algunas mal delimitadas, que se espera obtener de los especímenes de sangre. Cuando se considera suficiente para un determinado objetivo una muestra menor, podrá reducirse el número de las determinaciones de laboratorio empleando sólo una parte de la muestra.

Al decidir el volumen que la muestra ha de tener para un determinado objetivo, convendrá no perder de vista la magnitud de los errores de laboratorio y de otra índole ajenos al muestreo que puedan influir en los resultados. De nada sirve emplear muestras muy grandes cuando se sabe, por ejemplo, que hay diferencias entre las determinaciones hechas por los distintos laboratorios que colaboran en la encuesta o que esas determinaciones varían considerablemente con el tiempo, a no ser que puedan tomarse medidas especiales para eliminar esos errores mediante el intercambio de las muestras o por otro procedimiento.

4.8 Descripción de las técnicas empleadas para la recogida de muestras

Es importante que en el informe en que se dé cuenta de la encuesta se haga una descripción del procedimiento que se ha seguido en la recogida de muestras, y que se indiquen con precisión los límites de las zonas en que se ha practicado la encuesta, de manera que sea posible identificarlas en caso de que ulteriormente se considere necesario proceder a una nueva encuesta en los mismo lugares para apreciar los cambios que se hayan producido. También convendrá exponer el método de muestreo empleado para la selección de los individuos en las diferentes zonas.

4.9 Recogida de muestras en poblaciones animales

La recogida de sueros animales en el curso de las encuestas serológicas a que se refiere el presente informe no tiene por objeto hacer un estudio de las enfermedades de animales en sí mismas, sino complementar la información

proporcionada por los especímenes de suero humano con datos sobre los reservorios animales de la infección en el hombre. No hace falta, pues, aplicar técnicas tan rigurosas de muestreo al azar como las que antes se han descrito para las poblaciones humanas.

En la elección de animales y en la determinación del número de los que deben incorporarse a la muestra se tropieza con dificultades que se hacen inmediatamente aparentes y que dependen, respecto a diversas especies salvajes, de la escasez e inaccesibilidad de los individuos, y, respecto a muchos animales domésticos destinados por razones económicas al sacrificio, de la relativa brevedad de su vida. Aun así, convendrá no regatear esfuerzos, siempre que se prepara una encuesta en una zona determinada, para obtener un número suficiente de especímenes de suero procedentes, en lo posible, de fracciones representativas de poblaciones animales locales que tengan contactos de diferente grado con el hombre como, por ejemplo, los cerdos criados en libertad y los criados en pocilga, las reses bovinas en dehesas y las vacas lecheras estabuladas, los rebaños de ovejas y cabras transhumanas y los que no cambian de pastos, los perros del campo y los de la ciudad, las aves de corral que viven en libertad y las que están en gallineros. En cuanto a los animales salvajes, son escasas las posibilidades de obtener muestras de las diferentes especies en cantidad suficiente; deberán aprovecharse, pues, todas las ocasiones que se presenten para reunir el mayor número posible de especímenes con ayuda de los diversos grupos dedicados a hacer estudios sobre los animales salvajes, por ejemplo, sobre las migraciones de las aves y sobre otras cuestiones de ecología natural o sobre procedimientos de captura para reducir el número de ciertos animales salvajes. Cuando se pueda escoger entre varias especies salvajes para la toma de especímenes de sangre, convendrá dar preferencia a las que albergan ectoparásitos comunes a distintas especies incluso a veces la humana.

No debe descuidarse la conveniencia de obtener sueros de animales salvajes en los focos naturales de infección donde la población humana puede estar esparcida. Los datos obtenidos en esas condiciones han sido muchas veces de gran utilidad para esclarecer la historia natural de ciertas infecciones en el hombre.

5. CONSIDERACIONES TECNICAS SOBRE LOS METODOS DE RECOGIDA, TRANSPORTE Y TRATAMIENTO DE LA SANGRE EN LAS ENCUESTAS DE OBJETIVOS MULTIPLES

5.1 Recogida de especímenes de sangre humana

Las vénulas constituyen el medio más satisfactorio de recoger sangre en condiciones de esterilidad sobre el terreno. Se considera que las pruebas a que se refiere el presente informe requieren que se extraiga en cada sujeto un volumen total de unos 26 ml. Cuando no se juzgue indicado extraer

esta cantidad de un solo individuo (por ejemplo, de un lactante de corta edad), convendrá trabajar sobre una muestra de población más numerosa con objeto de que la cantidad de sangre recogida sea suficiente para los distintos objetivos previstos.

Las cantidades de sangre que parecen necesarias en diversos análisis son aproximadamente las siguientes :

Sangre oxalatada 6 ml o citratada	{	Sangre total	{	0,5 ml — Grupos sanguíneos
				0,5 ml — Hematología
		Plasma *		1,0 ml o más — Análisis bioquímicos
		Hematíes		2,0 ml — Hemoglobinopatías
		empacados *		

Sangre coagulada 20 ml 10 ml aproximadamente de suero — Inmunología

* Ambas fracciones se obtienen del mismo espécimen, es decir, que se emplean por separado los eritrocitos y el plasma contenidos en 5 ml aproximadamente de sangre oxalatada.

Se estudiará además la morfología de los hematíes mediante una extensión de sangre en portaobjetos.

Como hacen falta dos tipos de espécimen, uno de sangre oxalatada (o citratada) y otro de sangre coagulada, el método más sencillo de recogida consistirá en emplear dos vénulas de diferente tamaño y un dispositivo para extracciones múltiples.¹ Se puede así con una sola punción recoger en un tubo 20 ml de sangre coagulada y en otro 6 ml de sangre oxalatada (o citratada).

La muestra de sangre oxalatada (o citratada) se consumirá en la serie de análisis prevista. No se empleará, en cambio, más que una pequeña parte del suero recogido (unos 10 ml, aproximadamente) en el periodo subsiguiente a la extracción ; la parte restante se conservará con objeto de hacer otros estudios años más tarde. En definitiva, uno de los principales objetivos de estas encuestas serológicas es establecer un banco de sueros para la investigación en lo porvenir. En las pruebas iniciales pueden emplearse cantidades no mayores de 0,5 ml.

El grupo considera que las operaciones de recogida de sueros podrían encomendarse a un personal especializado que se agregara a ciertos equipos de la OMS que operan ya sobre el terreno (en encuestas sobre tuberculosis, pian u otros problemas) o, previo el oportuno acuerdo, por los laboratorios que colaboran con la Organización, epidemiólogos, los servicios locales de sanidad, etc.

5.1.1 Análisis hematológicos

La determinación de la hemoglobina total y del índice hematocrito debe practicarse sin pérdida de tiempo en el mismo lugar en que se haga la extracción. Para otras determinaciones se hará una centrifugación de la

¹ Como el aparato que fabrica la Beckton-Dickinson Company.

muestra con objeto de separar el plasma de los eritrocitos (hematíes empacados); estos últimos se enviarán sin pérdida de tiempo por vía aérea (a 4°C) al laboratorio competente.

5.1.2 *Análisis bioquímicos*

Después de separados los hematíes y el plasma en el lugar donde se haya hecho la extracción, se enviará la fracción plasmática congelada en nieve carbónica o, si no fuera posible emplear ese procedimiento, mantenida a una temperatura que oscile entre -5° y -10°C , que se obtiene mediante una mezcla de hielo y sal. Siempre que se pueda hacer, se determinarán las proteínas plasmáticas totales en el laboratorio local.

5.1.3 *Estudios inmunológicos*

Para estos estudios ha de separarse el suero del coágulo el mismo día de la extracción; la temperatura se mantendrá al nivel más bajo posible, sin llegar a la congelación. Una vez separado, se enviará el suero refrigerándolo, pero sin congelarlo, al laboratorio donde se haya de hacer su examen. En el transporte puede ser útil emplear el material que utilizan los servicios de transfusión de sangre.

La cuestión del almacenamiento del suero debe ser todavía objeto de estudio, ya que algunos problemas teóricos y prácticos están pendientes de solución. Se recomienda encarecidamente que lo antes posible se emprenda un estudio en colaboración sobre los métodos de conservación y los efectos que tengan en la persistencia de los anticuerpos en los sueros. En la actualidad el medio más eficaz que puede emplearse es sin duda alguna la congelación rápida y el almacenamiento a una temperatura igual o inferior a -70°C . Por lo que hasta ahora se sabe, incluso los elementos más lábiles de un suero (complemento, properdina, factores accesorios) soportan sin alteración el tratamiento. Se considera, sin embargo, que ese método de conservación no puede aplicarse durante largo periodo de tiempo, ni en gran escala. La conservación de sueros a temperaturas más altas presenta algunas dificultades teóricas y prácticas. Según Greaves,¹ « la congelación del suero a temperaturas superiores a -60°C no es completa . . . ». La posibilidad existe, pues, de que incluso a una temperatura mantenida entre -40°C y -60°C , durante el largo periodo requerido para los fines previstos, se produzca una estratificación de proteínas y una desnaturalización acompañada tal vez de una disminución de actividad en los anticuerpos. Es sabido que la conservación a temperaturas vecinas a -20°C , por ejemplo, en un refrigerador eléctrico, provoca la estratificación y desnaturaliza-

¹ Greaves, R. I. N. (1954) Theoretical aspects of drying by vacuum sublimation, en Harris, R. J. C., ed., *Biological applications of freezing and drying*, Nueva York, página 72.

ción de las proteínas séricas. Por esas y otras razones, como el peligro de que se produzca una avería mecánica, se ha llegado a la conclusión de que no es practicable el almacenamiento en estado de congelación a la baja temperatura necesaria para que no se alteren las proteínas séricas ni los títulos en anticuerpos.

Otra posibilidad está en liofilizar el suero, aunque este tratamiento, aplicado incluso con las mayores precauciones, puede deteriorar algunos de los delicados elementos que intervienen en las reacciones serológicas, como, por ejemplo, el factor accesorio en la prueba de neutralización. También se altera en cierta medida el complemento, por lo que es posible que de algún modo los efectos del tratamiento deterioren los anticuerpos específicos. Añádase a ello que se hace necesario respetar estrictamente las condiciones requeridas para una liofilización óptima y que el costo inicial del tratamiento es caro. Las condiciones de conservación de un suero liofilizado son, en cambio, mucho más fáciles puesto que basta una temperatura entre 2°C y 4°C, en lugar -76°C cuando el suero se conserva en estado de congelación. La liofilización además simplifica mucho el transporte y la manipulación de los sueros, por lo que ha de considerarse como el método más indicado para conservarlos. Convendría examinar también las posibilidades de conservar los sueros en ampollas herméticamente cerradas a 1°C, sin congelarlas en ningún momento, método que por ahora no puede preconizarse a falta de suficiente información general.

Cualquiera que sea el método que se emplee, los sueros deben conservarse en fracciones de 0,5 ml o de 1,0 ml, cada una en una ampolla de vidrio neutro herméticamente cerrada. Los sueros de referencia que contienen cantidades conocidas de anticuerpos se conservarán en las mismas condiciones que los procedentes de la encuesta para que sea así posible evaluar las alteraciones que hayan podido producirse durante un almacenamiento prolongado.

5.2 Recogida de especímenes de sangre de animales

Las consideraciones técnicas aplicables a la recogida de sueros animales son muy semejantes a las que acaban de exponerse, pero suelo ser difícil observar en las operaciones normas idénticas a las que presiden la recogida de sueros humanos. Una condición mínima que debe respetarse siempre es que no transcurran más de 24 horas entre el momento de extraer la sangre y el de separar el suero del coágulo. Después de la separación, se conservará el suero a una temperatura entre 2° y 4°C hasta que se haga su congelación o liofilización.

Habrà de ponerse atención en el problema del transporte intercontinental de los sueros animales. Muchos países, como los Estados Unidos de América, el Reino Unido y Australia, someten la importación de sueros de animales a ciertas restricciones. Una de las condiciones previas para

cualquier estudio de cierta amplitud habrá de ser el conocimiento de estas restricciones.

6. ENUMERACION DE LOS EXTREMOS SOBRE LOS QUE DEBE RECOGERSE INFORMACION EN LA ENCUESTA

Sin perjuicio de que antes de precisar con detalle la información que convenga recoger en los diferentes tipos de encuesta sea evidentemente necesario haber hecho un estudio muy detenido de la cuestión, se enumeran a continuación los conceptos principales de las informaciones que deben registrarse y se añaden algunas explicaciones generales :

- 1) Identidad del dador ;
- 2) Datos de interés epidemiológico o estadístico
 - a) sobre la persona
 - b) sobre la familia
 - c) sobre la colectividad o la localidad ;
- 3) Datos sobre el espécimen de sangre.
 - a) recogidos al hacer la extracción
 - b) recogidos en el laboratorio.

6.1 Identidad del dador

Nombre, nombre del cabeza de familia, domicilio, población, nombre de la escuela (si se trata de un niño), número de orden correspondiente a la familia o al individuo en el protocolo de la encuesta. Clave para referir el espécimen de sangre al sujeto.

6.2 Datos de interés epidemiológico

a) *Sobre la persona*

Edad (con indicación del crédito que merece el dato consignado), sexo, estado civil, situación económicosocial, parentesco entre el sujeto y el cabeza de familia, origen étnico, religión, talla, peso, vacunaciones anteriores, profesión. Con respecto a las mujeres se añadirán otros datos : embarazo, lactancia, etc.

b) *Sobre la familia*

Número de sus miembros con indicación de edades, números de orden en el protocolo de la encuesta de los que hayan sido objeto de extracción de sangre, situación económicosocial, medios de existencia, condiciones de vida, vida colectiva (escuelas, cuarteles, etc.), contacto con animales.

c) *Sobre la colectividad en que se practique la encuesta*

Carácter urbano o rural, número de habitantes, principales ocupaciones de los habitantes, industrias más importantes, situación geográfica y medios de comunicación (para las poblaciones rurales), servicios médicos existentes, indicaciones especiales sobre los usos alimentarios predominantes, las condiciones de la vivienda y la situación sanitaria, instalación de animales domésticos dentro o fuera de las casas, clases de animales familiares, exposición colectiva a los vectores de enfermedades; se indicará asimismo si los especímenes de sangre se han recogido por muestreo estadístico de toda la comunidad o en escuelas, clínicas de lactantes, grupos industriales, hospitales o casas de socorro.

6.3 Datos sobre el espécimen de sangre

a) *Datos obtenidos en el lugar de la extracción*

Clave para referir el espécimen de sangre al sujeto; cantidad extraída y fecha de la extracción.

b) *Resultados de los exámenes de laboratorio*

Fecha, naturaleza de las pruebas practicadas, resultados, nombre de la persona que las haya practicado.

Las fichas deberán estar dispuestas de manera que se faciliten las operaciones mecánicas. También será conveniente preparar un breve manual de instrucciones para los equipos de encuesta sobre la manera de llenar las fichas.

6.4 Sueros de animales

Respecto a los sueros animales, la información que debe recogerse es más sucinta. Los datos esenciales son los siguientes:

- 1) Especie
- 2) Raza
- 3) Sexo
- 4) Edad (menos de 1 año, de 1 a 5 años, más de 5 años)
- 5) Objeto de la cría (producción de leche, producción de carne, etc.)
- 6) Vida libre o en establo
- 7) Movimientos del animal.

7. CRITERIOS APLICABLES A LA DISTRIBUCION DE LOS ESPECIMENES DE SUERO

7.1 Sueros de origen humano

En atención a la gran utilidad que los especímenes conservados pueden tener en lo porvenir, se recomienda que se restrinja rigurosamente su

distribución. Las peticiones de especímenes de suero deberán ser objeto de un severo examen crítico por especialistas en la materia de que se trate en cada caso. El Grupo sugiere que, oportunamente, el Director General establezca a esos efectos en la Secretaría de la OMS un servicio adecuado que funcione en contacto con los expertos que hayan de dictaminar sobre las peticiones.

7.2 Sueros de origen animal

Aunque con la conservación de estos sueros se persiguen sobre todo objetivos médicos, determinadas circunstancias podrían justificar que la OMS facilitase muestras para investigaciones sobre enfermedades de interés principalmente veterinario. En tales casos, podría ser útil la opinión de los expertos que designara la FAO.

8. NORMALIZACION DE PRUEBAS

Se trata de una actividad permanente de la OMS, en la que varios comités de expertos, y especialmente el de Patrones Biológicos, han hecho ya una gran labor (Véanse los informes correspondientes en la *Serie de Informes Técnicos* de la OMS). Con todo, las pruebas serológicas evolucionan constantemente y, siempre que se hagan modificaciones de procedimiento o que se empleen nuevas pruebas, importa mucho estimular a los investigadores que las apliquen para que describan con exactitud y detalle la técnica respectiva.

La distribución de reactivos normalizados, tanto los sueros como las cepas de virus, debe ser atribución de los laboratorios centrales de referencia que se establezcan en ejecución del propuesto programa intensificado de investigaciones. Convendría, sin embargo, que periódicamente se comprobara la comparabilidad de los resultados obtenidos por los diferentes laboratorios, lo que podría hacerse distribuyendo una serie de sueros desconocidos para su examen y cotejando después los resultados obtenidos por los diferentes laboratorios en la prueba del mismo espécimen.

Deberían conservarse en estado de congelación especímenes de ciertas hemoglobinas anormales poco frecuentes para que sirvieran como material de referencia.

El Grupo encare la importancia de que todas las pruebas estén normalizadas.

9. REGISTRO Y COMUNICACION DE LOS RESULTADOS

Los resultados de las pruebas practicadas con especímenes de sangre o de suero procedentes de colecciones internacionales y nacionales deberán comunicarse rápidamente a la OMS y, en su caso, a la FAO. Como los

métodos empleados por distintos investigadores pueden diferir en ciertos aspectos, se recomienda que se acompañe a los resultados de las pruebas una descripción completa de los métodos utilizados. Al mismo tiempo, esos resultados deben ponerse a disposición de las autoridades sanitarias locales. Mientras los autores no hagan públicos sus trabajos, sólo se hará una comunicación restringida de los resultados, que se limitará a las autoridades y demás interesados.

Con objeto de que los datos obtenidos en esas encuestas puedan llegar lo antes posible a conocimiento de quienes se interesen en tales trabajos, la OMS los reunirá y distribuirá en informes que se publicarán a intervalos apropiados.

Habrá que establecer un medio para registrar los resultados de las pruebas de manera que pueda reunirse toda la información relacionada con cada espécimen conservado en el banco de sueros. Con ese fin será necesario centralizar todos los datos, cuyo gran volumen no podrá evidentemente manejarse más que mediante un sistema de fichas perforadas.

10. RECOMENDACIONES SOBRE ORGANIZACION DE ENCUESTAS HEMATOLOGICAS DE OBJETIVO MULTIPLE Y DE UNA COLECCION INTERNACIONAL DE SUEROS

El Grupo de estudio ha llegado a la conclusión de que el método de encuestas de objetivo múltiple que se propone en el presente informe, aplicado a estudios inmunológicos y de otra clase, puede llevarse a la práctica y contribuir sin duda alguna en medida considerable al estudio de muchas enfermedades humanas y al progreso de los medios empleados para combatirlas. El Grupo considera en particular que los efectos a largo plazo de las medidas recomendadas tendrán con los años resultados de gran importancia para la salud mundial. Desde ese punto de vista, las colecciones internacionales de sueros confiadas a la gestión administrativa de la OMS son un elemento esencial.

Para establecer dichas colecciones y para iniciar estudios de alcance mundial sobre otras sustancias contenidas en la sangre habrá que tomar naturalmente una serie de medidas escalonadas. La primera consistirá en determinar si los métodos técnicos sugeridos en el presente informe son aplicables en la práctica y sobre todo en precisar las modificaciones que contribuyan a facilitar su empleo y a aumentar la exactitud y utilidad de los resultados, lo que no podrá conseguirse más que mediante la ejecución de estudios experimentales sobre el terreno en condiciones diferentes. Se recomienda encarecidamente, en consecuencia, a la OMS que por mediación de los equipos de encuesta sobre tuberculosis, enfermedades venéreas y treponematosiis, y otras cuestiones que tiene actualmente en acción

emprenda lo antes posible dichos estudios experimentales, los cuales al principio no deberán tener demasiada amplitud para no recargar excesivamente las pruebas de laboratorio y los trabajos suplementarios de los equipos. Un número relativamente reducido de pruebas practicadas en circunstancias diferentes bastará para hacer patentes las condiciones en que pueden llevarse a la práctica las ideas sugeridas en el presente informe.

Deberán tomarse las medidas oportunas para que pueda hacerse rápidamente el examen del material obtenido en los estudios experimentales y se compruebe en esa forma si los métodos de recogida y expedición se ajustan a las condiciones propias de las pruebas propuestas. Convendría, pues, ponerse en contacto con los laboratorios donde se tenga experiencia de las distintas pruebas a fin de obtener su colaboración en los estudios comparativos en que las pruebas que deban ser practicadas sobre un mismo material deberán ser simultáneamente confiadas de preferencia a laboratorios diferentes.

En los estudios experimentales propuestos convendría comprobar si los aparatos y el instrumental empleados actualmente en la recogida de sangre son adecuados para los fines previstos con objeto de favorecer la producción de modelos perfeccionados si fuera conveniente hacerlo así.

Habría que iniciar asimismo desde el principio estudios experimentales que tuvieran por objeto la comprobación de la estabilidad de los diversos anticuerpos en las condiciones de recogida, tratamiento y conservación propuestas en el presente informe.

El grupo recomienda, en consecuencia, que se aborde sin demora el problema de los medios de laboratorio que con cierta amplitud requieren las grandes encuestas. A esos efectos, las medidas más urgentes y más importantes que deberán tomarse serán las que tengan por objeto arbitrar los medios necesarios para el tratamiento y la conservación de los sueros en laboratorios convenientemente situados en las diferentes partes del mundo. Hará falta, pues, encontrar laboratorios adecuados, obtener su colaboración, hacer lo que proceda para dotarlos del material necesario y probablemente organizar una asistencia técnica suplementaria.

El establecimiento de los métodos aplicables al registro de los datos recogidos en las encuestas tiene capital importancia. Las sugerencias hechas en el presente informe son de carácter preliminar puesto que los datos que deben reunirse y el modelo de los cuestionarios preparados para recogerlos en condiciones de que puedan transcribirse después en fichas perforadas habrán de ser objeto de un estudio muy detenido que debería iniciarse cuanto antes. Será evidentemente indispensable establecer un servicio central que reúna los cuestionarios cumplimentados y tenga medios para llenar y manejar las fichas y mantenerlas al día con el resultado de las pruebas que se vayan practicando y para analizar los datos reunidos y publicar resúmenes periódicos de los resultados. La OMS debería encargarse de esa labor.

El Grupo de Estudio advierte que en el programa ampliado de investigaciones virológicas ya propuesto se atribuye prioridad a la producción de reactivos de referencia para trabajos de laboratorio y desea dejar constancia de su entera conformidad con esa recomendación, cuya aplicación considera indispensable para llevar adelante un programa como el previsto en el presente informe. Es interesante añadir que esos reactivos serán necesarios para el estudio de numerosas infecciones bacterianas y no bacterianas. La OMS debiera estudiar el modo de obtenerlos.

El Grupo de Estudio ha indicado ya que, por lo menos al principio, el impulso inicial para emprender una encuesta habrá de venir de algún problema sanitario inmediato. La OMS debería, en consecuencia, indagar si en algunos países están preparándose encuestas apropiadas y, en caso afirmativo, hacer lo posible para interesar a las autoridades competentes en la aplicación de las técnicas generales sugeridas en el presente informe. Ello no obstante, el Grupo hace constar su opinión de que no es indispensable relacionar las encuestas con problemas particulares de interés local.

El método de encuesta de objetivo múltiple ofrece posibilidades tan considerables que sería oportuno adoptarlo y darle la mayor aplicación posible con ocasión del Año de la Salud y de la Investigación Médica que las Naciones Unidas se proponen organizar en 1961.

