

DISCREPANCIAS DEL DIAGNOSTICO DE LA BRUCELOSIS HUMANA

UN ESTUDIO CLÍNICO Y DE LABORATORIO*

HAROLD J. HARRIS, M.D., F.A.C.P.

Westport, Condado de Essex, Nueva York, Estados Unidos

Desde hace mucho han existido desacuerdos y confusiones sobre el diagnóstico de laboratorio de la brucelosis humana. Unos afirman que los cultivos de sangre y las reacciones de aglutinación negativos bastan para excluir terminantemente la brucelosis. Otros estiman que es esencial cierto título de aglutinación para formular un diagnóstico, en ausencia de cultivos positivos. Otros, en fin, consideran que se puede establecer un diagnóstico con razonable exactitud, en el caso de enfermedad crónica, en presencia de cultivos y de reacciones de aglutinación negativos, o de un bajo título de aglutinación, mediante el empleo de otros métodos de laboratorio combinados con la observación clínica. Sólo en un punto hay acuerdo general: el descubrimiento del microorganismo es la única prueba en la cual se puede basar con certeza un diagnóstico.

Como no hay criterios uniformes de diagnóstico, tampoco existe acuerdo general acerca de lo que realmente constituye la brucelosis crónica. El cuadro clínico es vago por lo general. Algunos pacientes, cuando se diagnostica que padecen brucelosis, no están dispuestos a renunciar a este diagnóstico como explicación de todos sus síntomas y afecciones subsiguientes a consecuencia de una neurosis relacionada o coincidente. En realidad, el comportamiento neurótico puede ser causado por una infección por *Brucella* o agravarse debido a ella. Las afecciones subsiguientes pueden deberse a complicaciones o secuelas no identificadas de la brucelosis, por ejemplo, una artritis atípica o una espondilitis. Por lo tanto, la

formulación de un diagnóstico de psiconeurosis nunca debe ser suficiente para excluir la brucelosis, que puede coexistir con la afección total o contribuir a ella.

Se han realizado algunos adelantos en la conciliación de los puntos de vista opuestos. Esto constituye uno de los resultados más valiosos del intercambio de ideas y experiencias que tiene lugar en los Congresos Interamericanos sobre Brucelosis. Diversos participantes en ellos, especialmente McCullough y varios investigadores científicos en veterinaria, han puesto de relieve la importancia de la estandarización de los antígenos y de las técnicas de las pruebas de aglutinación. Poco a poco, los laboratorios de los diversos países van adoptando dichos estándares, pero esto no se practica aún con carácter universal.

Una debilidad todavía persistente entre muchos médicos consiste en no reconocer que, incluso cuando se utilizan métodos adecuados para la ejecución de las pruebas de aglutinación, un considerable porcentaje de las infecciones crónicas benignas, pero activas, no se descubren debido a la falta de reacción de los anticuerpos. (Hoy no hay apenas excusas para no identificar la enfermedad febril aguda, a menos que haya sido reprimida mediante la administración de antibióticos de amplio espectro antes de haberse aplicado las medidas para el diagnóstico, entre ellas, cultivos y pruebas de aglutinación repetidos).

En 1932, a pesar de la imperfección de los métodos y servicios de laboratorio con que se contaba, se emprendió un estudio encaminado a elaborar y aplicar métodos que permitieran distinguir la brucelosis crónica de las otras muchas afecciones cuya apariencia adopta.

* Este trabajo fue presentado en el IV Congreso Interamericano de Brucelosis, celebrado en Lima, Perú, del 6 al 8 de octubre de 1957.

METODO DE ESTUDIO

Se enviaron especímenes de sangre de todos los pacientes con enfermedad no diagnosticada, aguda o crónica, a la División de Laboratorios e Investigaciones del Departamento de Salud Pública del Estado de Nueva York, para que se sometieran a la prueba estándar de aglutinación macroscópica (en tubo). Poco después de haber Huddleson expuesto la técnica de la prueba opsonocitofágica, se utilizó como método complementario. Durante varios años, los Laboratorios de Investigación Lilly sometieron a pruebas de fijación del complemento partes de todos los especímenes de sangre de dichos pacientes. En mi laboratorio particular se llevaron a cabo cultivos de sangre según la técnica de Castañeda, y, además, se emplearon técnicas de cultivo más completas siempre que se consideró conveniente. Las pruebas cutáneas se reservaron para el final, debido a la probabilidad de que se presentara la estimulación por aglutininas, anticuerpos fijadores del complemento y opsoninas. (En un escaso número de casos se utilizaron las pruebas de Signorelli modificadas por Minoprio (1)).

Se efectuaron regularmente los recuentos sanguíneos y la determinación del índice de sedimentación. Se realizaron los otros exámenes físicos y de laboratorio necesarios para descartar otras enfermedades. En 108 pacientes se llevaron a cabo exámenes psiquiátricos (2), que comprendieron pruebas psicológicas de proyección.

CRITERIOS DE DIAGNOSTICO

En los pacientes que presentaban síntomas que indicaban la existencia de brucelosis, con cultivos negativos y de sangre o tejido, o de ambos, y que no habían sido sometidos anteriormente a pruebas cutáneas, ni tratados con antígenos de *Brucella*, se aplicaron los siguientes criterios:

1. Se formuló un diagnóstico provisional, si había aglutininas en títulos de 1:80 o superiores, o si la reacción de la fijación del

complemento era positiva a un título de 1:64 o mayor.

2. Se estableció un diagnóstico provisional, también sujeto a confirmación, si las aglutininas faltaban o las había en títulos inferiores a 1:80, y si los anticuerpos de fijación del complemento faltaban o se hallaban en títulos inferiores a 1:64, en presencia de una prueba cutánea positiva y de un grado significativo de fagocitosis de microorganismos vivos de *Brucella* (*vide infra*); si en la prueba opsonocitofágica no se observaba ninguna reacción de inmunidad, se concedió menos importancia a los demás hallazgos.

3. Si la prueba opsonocitofágica mostraba un grado significativo de fagocitosis de *Brucella* en presencia de otras pruebas negativas, se dio por supuesta una infección pasada o presente.

4. Si la prueba cutánea era positiva y los otros hallazgos de laboratorio negativos o no aportaban ningún dato, se consideró que la alergia a la *Brucella*, debida a una infección pasada o presente, podía ser una explicación de los síntomas.

5. Si no había aglutininas ni los anticuerpos de fijación del complemento, si la prueba cutánea era negativa y la opsonocitofágica no indicaba ninguna capacidad para fagocitar microorganismos vivos de *Brucella*, se consideró que la brucelosis, pasado o presente, había quedado excluida tan completamente como es posible hacerlo con los métodos actuales.

6. Se consideró que un índice de sedimentación normal tenía cierta importancia para el diagnóstico diferencial, aunque en algunos casos, comprobados por medio de cultivos, se registraron índices elevados. Se estimó que la leucopenia, con linfocitosis relativa o sin ella, tenía importancia similar. La eosinofilia, si no se explicaba por otros motivos, se consideró debida a alergia a la *Brucella*, especialmente en presencia de hipersensibilidad. La anemia inexplicada fue a menudo un indicio que condujo a nuevas investigaciones.

La reacción opsonocitofágica no se consideró "positiva" o "negativa", sino simplemente indicadora del grado de resistencia a la infección por *Brucella*. (Esta prueba, aunque de poco valor diagnóstico por sí misma, proporciona cierta información útil respecto al estado de inmunidad del paciente.) Habiendo o sin haber infección por *Brucella*, puede observarse una falta de resistencia (la llamada prueba negativa). Por otra parte, la actividad fagocítica, desde moderada a intensa, puede ocurrir sólo como resultado de una infección pasada o de una infección activa en el momento del examen.

(Este procedimiento de laboratorio ha caído en desuso porque sus resultados son variables si la técnica no es exacta, porque se le han dado muy variadas interpretaciones y porque el manejo de microorganismos vivos de *Brucella* constituye un peligro para el personal de laboratorio.)

Es interesante, y de cierta importancia práctica, el hecho de que no se puede inducir una respuesta fagocítica (o sólo una respuesta muy débil) en personas con prueba cutánea negativa, cuando se realizan experimentos para inmunizarlas con antígenos de *Brucella*.

El antígeno empleado para las pruebas cutáneas fue una suspensión de microorganismo inactivados de *Brucella abortus*. Se observó que el brucelergeno, un nucleado proteico de *Brucella*, produjo un 50% de reacciones menos que los microorganismos enteros inactivados, al ser ambos utilizados simultáneamente por diversos investigadores (3-6). Entre los pacientes con reacción positiva al microorganismo entero inactivado y con reacción negativa al brucelergeno, hubo uno cuya prueba de la aglutinación fue positiva con un título de 1:1280 y cuyo cultivo de sangre produjo *Brucella suis*, y otro cuya reacción de aglutinación mostró un título de 1:80 con cultivo positivo de las heces.

La prueba cutánea no se empleó en ningún paciente cuya enfermedad había empezado menos de tres meses antes, basándonos en la

teoría de que la sensibilidad dérmica puede requerir este plazo para su desarrollo, ni en ninguno que se hallaba en la fase febril aguda, en la cual cabe prever que las aglutininas y los anticuerpos fijadores del complemento se desarrollen al repetirse las pruebas, si es que no están ya presentes.

ACLARACION DE LOS DIAGNOSTICOS DUDOSOS

Cuando el tiempo de que se dispuso y la colaboración del paciente lo permitieron, los diagnósticos dudosos se pudieron aclarar generalmente de la siguiente manera:

a) si hubo una respuesta fagocítica a las pruebas cutáneas, acompañada de un grado proporcional de mejoramiento clínico, con respuesta a las aglutininas o sin ella, o

b) si se presentó una respuesta clínica y de laboratorio similar, después de un ensayo terapéutico con antígenos de *Brucella* en diluciones adecuadas, o

c) si, como ocurrió con menor uniformidad, hubo una respuesta clínica y de laboratorio similar en un ensayo terapéutico con antibióticos de amplio espectro.

En unos pocos casos se ha confirmado la existencia de una brucelosis vagamente hipotética, mediante el descubrimiento tardío del microorganismo.

RESULTADOS DEL ESTUDIO

A la mayoría de estos pacientes se les sometió a observación ulterior durante largos períodos, algunos por espacio de 25 años. Se siguió acumulando pruebas de que había algo inherentemente inapropiado en la reacción de aglutinación macroscópica para el descubrimiento de la brucelosis crónica, o en la manera de llevarla a cabo. Muchos de los pacientes tuvieron reacciones positivas de fijación del complemento en título significativo, frente a pruebas de aglutinación negativas. En un paciente, la sangre dio *Brucella abortus*, y su título de fijación del complemento fue de 1:512, pero el título de la aglutinación fue sólo de 1:80. Rara vez se aislaron microorganismos de *Brucella*

cuando los anticuerpos faltaron persistentemente.

En 1956, el Dr. Norman McCullough, Jefe de Laboratorio de Investigaciones Clínicas de los Institutos Nacionales de Higiene, del Servicio de Salud Pública de Estados Unidos, ofreció dicho laboratorio para efectuar pruebas de la aglutinación en una serie de casos sospechosos, empleando el antígeno y la técnica estándares recomendados desde hacía mucho tiempo por el *Bureau of Animal Industry* (Secretaría de Agricultura de los Estados Unidos), el Consejo Nacional de Investigaciones y el Comité Mixto OMS/FAO de Expertos en Brucelosis. De acuerdo con este ofrecimiento, se envió al Laboratorio de Investigaciones Clínicas (LIC) una parte de cada espécimen de sangre de 138 pacientes, y otra parte de los mismos especímenes se remitió a la División de Laboratorios e Investigaciones del Departamento de Salud Pública del Estado de Nueva York (ENY).

Entre esos 138 pacientes, había 64 de los que se sospechaba fundadamente que padecían brucelosis, basándose en otras pruebas de laboratorio y hallazgos clínicos. De este grupo de 64 casos, en el LIC se encontraron aglutininas en el suero de 41 (64%), en tanto que en el ENY se hallaron en 30 (46%). Sin embargo, en todos los casos, menos dos, los títulos notificados por el LIC fueron significativamente más altos que los hallados por el ENY. En 11 pacientes, las pruebas de la aglutinación fueron completamente negativas en el ENY, pero en el LIC mostraron títulos que variaron de 1:20 a 1:80.

En 23 de los sueros analizados en el LIC había aglutininas en títulos que oscilaron de 1:80 a 1:640. En sólo uno de estos pacientes el título encontrado en el ENY fue superior a 1:40.

En 7 sueros, las discrepancias fueron de 1:20 ó 1:40 en el LIC, y de 1:10 ó 1:20 en el ENY. Estas diferencias no se consideraron significativas.

Estos datos se presentan a continuación:

No. de pacientes	Título en el ENY	Título en el LIC
2	1:10	1:320
3	1:10	1:160
2	1:10	1:80
2	1:20	1:80
7	1:20	1:160
3	1:20	1:80
2	1:40	1:160
1	1:40	1:320
1	1:160	1:640
7	1:10 ó 1:20	1:20 ó 1:40
11	negativo	1:20 a 1:80

De los datos anteriores se deduce que hubo diferencias significativas en la titulación de los sueros de 34 de los 41 pacientes (82,9%).

Como prueba de que estas discrepancias se debieron más bien al antígeno que a la técnica empleada en el laboratorio del Departamento de Salud Pública del Estado de Nueva York, cabe señalar el hecho de la persistencia de aquéllas cuando se sometió a análisis, en tres ocasiones, la sangre de un mismo paciente. Cada vez, el ENY informó que el título era de 1:40 y el LIC notificó un título de 1:60.

RESUMEN Y CONCLUSIONES

1. Los criterios de diagnóstico aplicables al descubrimiento de la brucelosis aguda (o a la exacerbación aguda de la brucelosis crónica) son a menudo inapropiados en los casos de infección crónica benigna.

2. Si se emplean técnicas y antígenos estándar, se encontrará un porcentaje más alto de pruebas de aglutinación positivas.

3. El diagnóstico de la brucelosis crónica benigna puede depender de la coordinación de unos cuantos datos clínicos y de laboratorio, más bien que de los procedimientos estándar de laboratorio solamente.

4. Se reconoce que, incluso cuando se utilizan los métodos antes descritos, que exigen mucho tiempo, habrá de ocurrir un pequeño porcentaje de diagnósticos erróneos.

REFERENCIAS

- (1) Minoprio, José Luis, y Harris, Harold J.: Técnicas nuevas para el diagnóstico de la brucelosis, *Rev. Méd. Córdoba*, 43:428-436, 1955.
- (2) Harris, Harold J., y Kemple, Camilla: Chronic Brucellosis and Psychoneurosis, *Psychosom. Med.*, 106:414-426 (sobre-obra) 1954.
- (3) Angle, F. E.; Algie, W. H.; Baumgartner, L., y Lunaford, W. F.: Skin Testing for Brucellosis (Undulant Fever) in School Children, *Ann. Int. Med.*, 12:495, 1938.
- (4) Hagebusch, O. E., y Frei, Catherine F.: Undulant Fever in Children, *Am. Jour. Clin. Path.*, 11:497, 1941.
- (5) Wise, B.: An Evaluation of the Brucella Opsonocytophagic Test, *Am. Jour. Med. Sc.*, 250:520, 1940.
- (6) Harris, Harold J.: *Brucellosis (Undulant Fever) —Clinical and Subclinical*, 2a. ed., Paul B. Hoeber, Inc., Nueva York, 1950.

DISCREPANCIES IN THE DIAGNOSIS OF BRUCELLOSIS IN MAN—

A CLINICAL AND LABORATORY STUDY (*Summary and conclusions*)

1. The diagnostic criteria applicable to the detection of acute brucellosis (or acute exacerbations of chronic brucellosis) are often inadequate in the low-grade chronic infection.

2. A higher percentage of positive agglutination tests will be found if a standard antigen and technique are employed.

3. The diagnosis of low-grade chronic brucellosis may depend upon fitting together small amounts of clinical and laboratory data rather than on standard laboratory procedures alone.

4. It is recognized that, even when employing the time-consuming methods described, a small percentage of errors in diagnosis are bound to occur.