

# MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO DE LA FIEBRE ONDULANTE (BRUCELOSIS) CON EL RESULTADO DE UN CENSO DE 8,124 PERSONAS\*

Por los Dres. S. E. GOULD e I. F. HUDDLESON

Tiene por propósitos este trabajo: (a) describir sucintamente la ejecución y la interpretación de los métodos de laboratorio que se consideran más útiles actualmente en el diagnóstico de la fiebre ondulante (brucelosis), y (b) presentar algunos de los resultados de un censo del mal en un hospital importante.

**Métodos de laboratorio.**—Los métodos de laboratorio que pasan por más útiles son: (1) la intradermorreacción con brucelergina; (2) la reacción opsónica (opsonocitofágica); (3) la aglutinorreacción rápida; y (4) el cultivo (aislamiento) de la brucela.<sup>1</sup>

(1) La brucelerginorreacción se verifica inyectando intradérmicamente en el brazo 0.1 cc de un suspensoide de nucleoproteína (1:2,000), aislada de las células de la brucela, y haciendo la lectura al cabo de 48 horas (*Fig. 1*).

(2) La opsonorreacción con brucela se realiza incubando una mezcla de un cultivo vivo de 48 horas de *Brucella abortus* y de sangre citrada del enfermo, en un bañomaría a 37 C por 30 minutos. La mezcla consiste en 0.1 cc de una suspensión salina de microbios de una turbidez de 6 mm, medida por el aparato de Gates, y 0.1 cc de sangre con una dilución de 0.8 por ciento de citrato (obtenida agregando 5 cc de sangre a 0.2 cc de citrato de sodio al 20 por ciento en solución salina). Luego se verifica un frote de la mezcla en un portaobjetos, se seca rápidamente con un abanico eléctrico, y se trata con 0.5 cc de colorante de Hasting por 30 segundos, después de lo cual se agrega 1 cc de agua destilada de un pH de 6.4, y se deja actuar por 10 minutos. Se examinan 25 leucocitos polimorfonucleares, clasificándose su potencia opsónica según el número de brucelas que se cuenten en cada célula, en esta forma: negativa, si no hay bacterias fagocitadas; leve, si hay de 1 a 20; moderada, de 21 a 40; y pronunciada, más de 40 (*Fig. 2*).

(3) La aglutinorreacción rápida se ejecuta en una placa de vidrio que se divide con una regla en cuadrados de una pulgada y reposa en una caja de iluminación en campo oscuro. En cada uno de cinco cuadrados se coloca la siguiente cantidad respectiva de suero del enfermo: 0.08 cc, 0.04 cc, 0.02 cc, 0.01 cc, y 0.004 cc. Utilízase un cuentagotas graduado, agregando una gota de antígeno rápido a cada cantidad de

\* Tomado del *Jour. Am. Med. Assn.*, dbre. 11, 1937, p. 1971.

<sup>1</sup> Huddleson, I. F.: "Brucella Infections in Animals and Man," Nueva York, Commonwealth Fund, 1934. Keller, A. E.; Pharris, Crit., y Gaub, W. H.: "Diagnosis of Undulant Fever," *Jour. Am. Med. Assn.*, 107: 1369, obra. 24, 1936.

suero, para formar concentraciones séricas de 1:25, 1:50, 1:100, 1:200 y 1:500 respectivamente. El contenido de cada uno de los cinco cuadrados es luego completamente mezclado con un palillo de dientes limpio, pasando en orden inverso de la concentración de 1:500 a la de 1:25. Luego se retira de la caja la placa de vidrio, se inclina hacia atrás y hacia adelante lentamente por unos dos minutos y se vuelve a colocar en la caja. Se le aplica entonces la luz y se lee el resultado (*Fig. 3*).

(4) El cultivo (aislamiento) de la brucela se verifica en esta forma: (a) Al obtener un hemocultivo se agregan 10 cc de sangre a 10 cc de citrato de sodio esterilizado al 4 por ciento, en solución salina, se incuba a 37 C por 20 días en un jarro en el cual se suplanta 10 por ciento del aire por bióxido de carbono (*Fig. 4*). La sangre íntegra no coagulada constituye un medio sumamente satisfactorio para el aislamiento de la brucela, mientras que la concentración final de 2 por ciento de citrato de sodio sirve para retardar la acción de las opsoninas, si las hay en la sangre. A plazos de cuatro días se abre el jarro y se extraen 0.5 cc de la mezcla de sangre y citrato, y se inoculan en una película inclinada de agar-hígado.<sup>2</sup> Esa película recién inoculada de agar, también se incuba a la atmósfera de 10 por ciento de bióxido de carbono. Cada cuatro días todos los tubos de cultivo son estudiados en cuanto a colonias. (b) Prepáranse para cultivo conforme a los métodos establecidos, ejemplares de orina, heces, bilis, líquido cefalorraquídeo, u otro material infeccioso. Ese material es inoculado en placas de agar-hígado que contengan violeta de genciana a una concentración de 1:200,000. La mitad de las placas se incuban aerobiamente por 10 días; la otra mitad es colocada en un recipiente que contenga 10 por ciento de bióxido de carbono, e incubada a 37 C por tres días.

**Interpretación.**—(1) La reacción de la brucelergina es negativa si sólo aparece eritema. Una reacción negativa suele excluir brucelosis. La reacción es positiva si además del enrojecimiento se presentan edema o induración que midan de 0.5 a 7.5 cm o más, de diámetro. Una prueba positiva es específica en cuanto a sensibilización a las brucelas, y se debe a infección previa o actual, pero no indica el estado inmunológico del enfermo, el cual puede determinarse después por la prueba opsónica.

(2) La prueba opsónica (opsonocitofágica) a la brucela en un sujeto negativo a la intradermorreacción, revelará casi siempre una fagocitosis baja o nula. Un sujeto positivo a la intradermorreacción se clasifica como infectado cuando menos de 40 por ciento de sus leucocitos polimorfonucleares revelan hiperfagocitosis, y como infectado, pero dudoso en cuanto a inmunidad, si 40 a 60 por ciento de los leucocitos polimorfonucleares revelan hiperfagocitosis. Un sujeto positivo a la intradermo-

<sup>2</sup> Recientemente en los laboratorios del Michigan State College, en East Lansing, han elaborado un medio nuevo y superior llamado agar Bacto-Tryptose (Difco), para el aislamiento de la brucela.

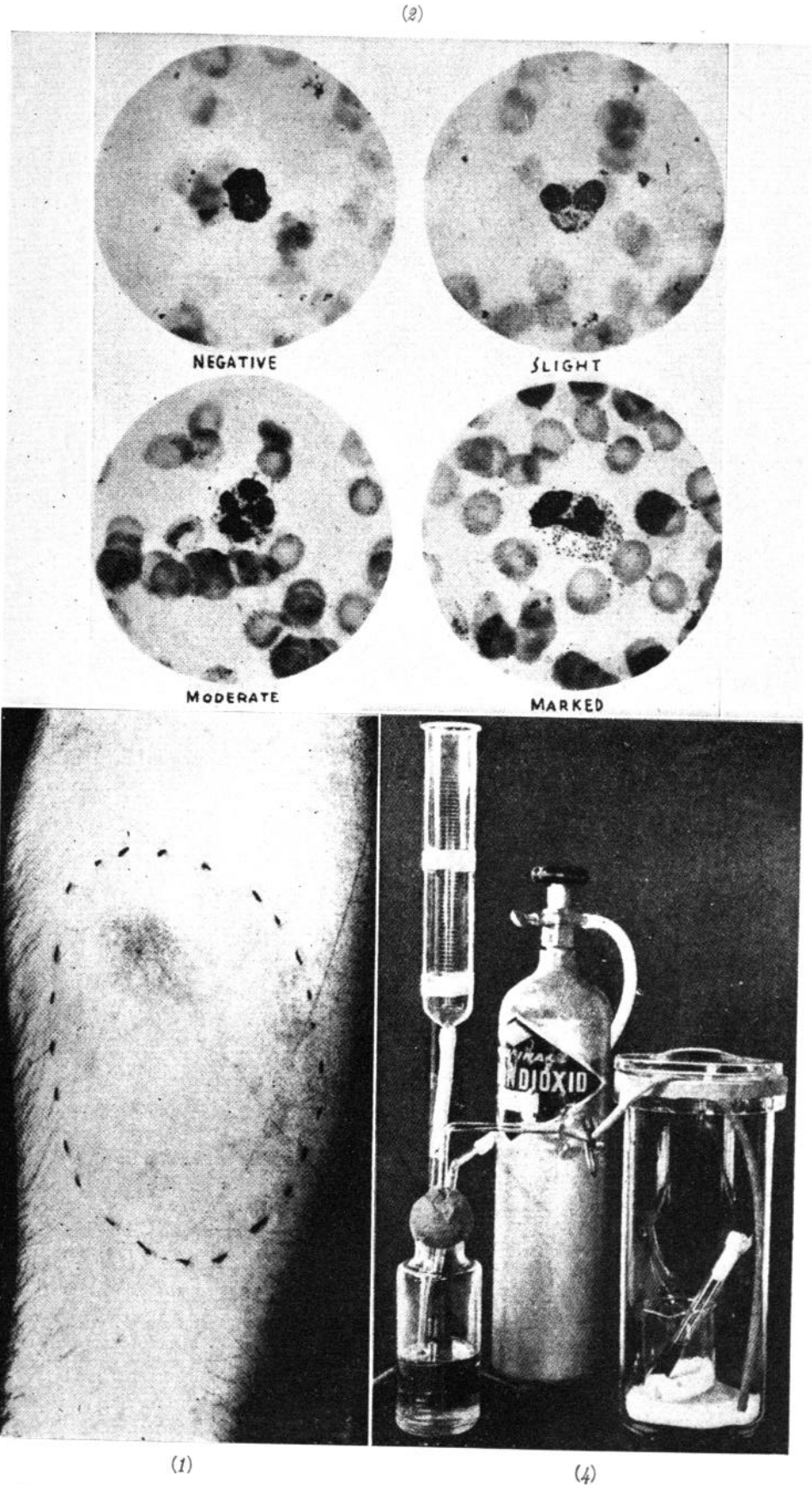


FIG. 1.—Brucelerginorreacción positiva. Obsérvese el extenso edema.

FIG. 2.—Opsonorreacción para la brucelosis, en que un leucocito polimorfonuclear presenta fagocitosis negativa, leve, discreta y acentuada, de brucellas.

FIG. 4.—Aparato utilizado para producir una atmósfera de bióxido de carbono al 10% para el cultivo de la brucella.

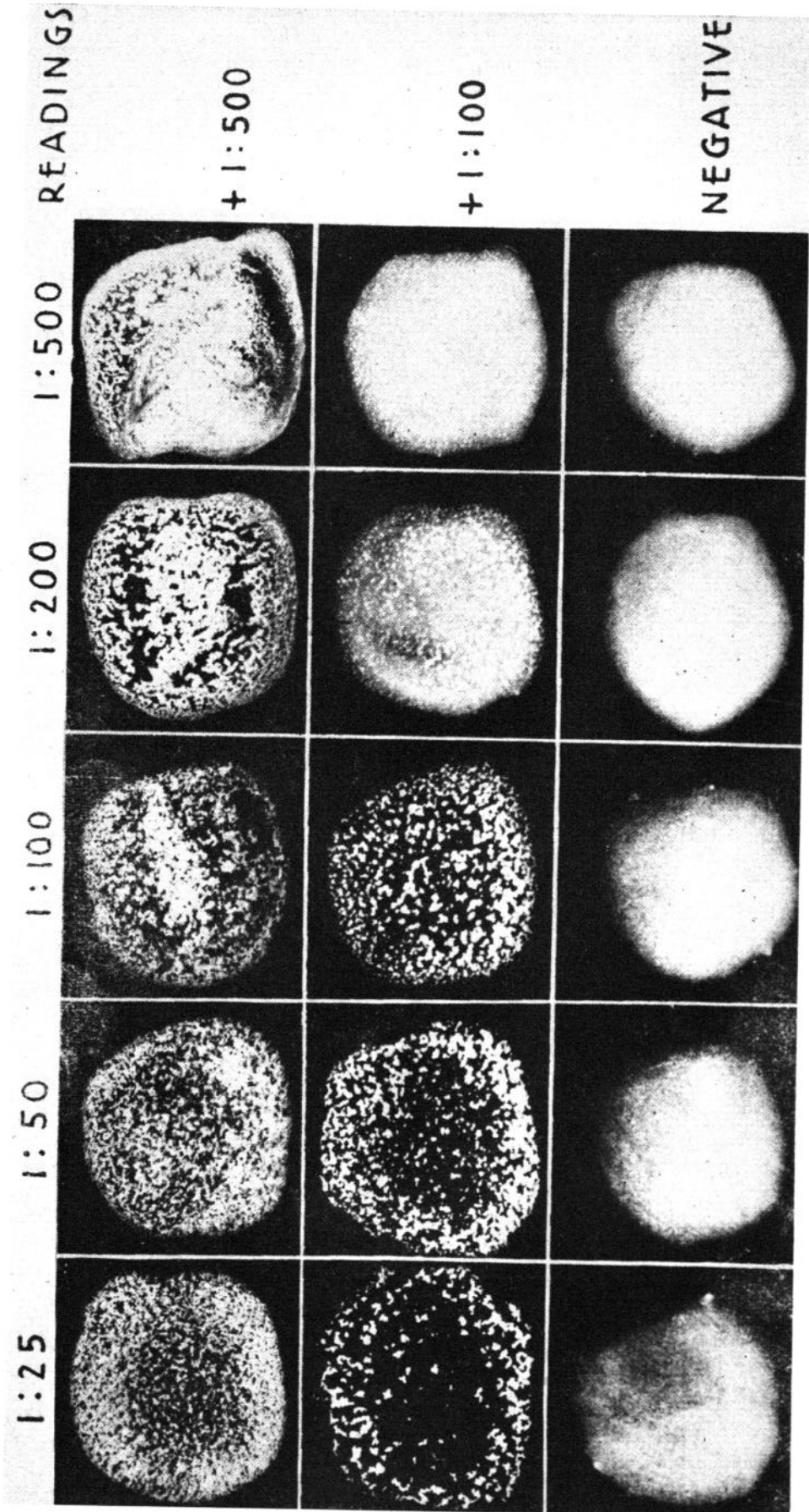


FIG. 3.—Agglutinorreactión rápida. Obsérvese la aglutinación completa en las diluciones de suero al 1:500 y 1:100.

rracción se considera inmune si 60 por ciento o más de los polimorfonucleares revelan hiperfagocitosis de las brucelas.

Una aglutinorreacción negativa no excluye la brucelosis. Una positiva comprende aglutinorreacción completa a un título de más de 1:25.

Los cultivos pueden ser positivos para la infección activa o para los portadores.

**Sumario.**—(1) La brucelergina es la reacción más sensible para el diagnóstico de la brucelosis, y si es negativa suele excluir el mal.

(2) Si esa reacción resulta positiva, debe verificarse luego la prueba opsonica para determinar si existen infección o inmunidad.

(3) Una aglutinorreacción negativa no excluye la brucelosis. La prueba de aglutinación sólo es diagnóstica en un pequeño porcentaje de los casos, y no aporta información en cuanto al estado inmunológico del sujeto.

(4) Los portadores de brucelas pueden revestir alguna importancia en la propagación del mal.

Un estudio de la frecuencia de la brucelosis fué verificado en el Hospital y Enfermería de la ciudad de Eloise, Michigan, cuyo abasto de leche estaba parcialmente infectado por brucelas. Entre 8,124 sujetos comprobados, 10.3 por ciento resultaron positivos a la brucelergina, correspondiendo el coeficiente menor (6.2 por ciento) a los hospitalizados que habían permanecido menos tiempo en el establecimiento, y el máximo (15.4 por ciento) a los casos mentales que habían estado más tiempo allí. Los 845 positivos fueron luego clasificados con la opsonorreacción, en infectados e inmunes, resultando infectados 623 (73.7 por ciento), por ser nula, leve, o moderada la fagocitosis. Los 775 negativos a la brucelergina fueron comprobados con la técnica de la aglutinación rápida, y sólo uno reveló un título indicativo (más de 1:25), mientras que de los 845 positivos, 111 (13.1 por ciento) revelaron un título indicativo. También resultaron positivos a la aglutinorreacción 33 (5.3 por ciento) de los 623 infectados, comparado con 78 (39.6 por ciento) entre los 222 inmunes. El tamaño de las intradermorreacciones reveló muy poca o ninguna relación con el estado de infección o de inmunidad, pues el porcentaje de las de más de 75 cm de diámetro fué muy poco mayor entre los inmunes (30.2), que entre los infectados (22). También se hicieron hemocultivos en los 845 positivos a la brucelergina, y urocultivos en 370 infectados, aislándose la brucela de la sangre en cuatro casos activos (*abortus*, 1; y *suis*, 3). Además, se aisló la *Br. suis* de la orina de un portador, y de la orina y heces de otro. Esas infecciones tipo *suis* probablemente no fueron contraídas de la leche. Al cabo de cinco meses se repitieron las tres reacciones en 99 sujetos negativos, 133 infectados, y 84 inmunes, resultando de los 99 negativos, cinco infectados y cuatro inmunes; de los 103 infectados, tres negativos, 69 infectados y 33 inmunes; y de los 84 inmunes, cuatro infectados y 80 inmunes; es decir, que hubo bastante acuerdo con las primeras pruebas.

De este estudio cabe deducir que el coeficiente de infección varió en relación con el tiempo que había durado la estancia en la institución; que la reacción de la brucelergina es mucho más sensible que la aglutinorreacción para descubrir la infección, y que la última sólo resulta positiva en un pequeño porcentaje de los casos, de modo que debe utilizarse más bien para confirmación que para diagnóstico. Es de notar que los nueve que resultaron positivos en el segundo estudio, fueron mujeres, lo cual se interpretó en el sentido de que las nuevas infecciones procedían de leche infectada, o de portadores del sexo femenino.