

# Uniformación del Diagnóstico de la Brucelosis en las Américas\*

## II. Reevaluación de la prueba de seroaglutinación en uso

VICTOR MOYA, BENJAMIN D. BLOOD Y BORIS SZYFRES

*Se hace una evaluación de los materiales, métodos y resultados de la prueba de aglutinación para el diagnóstico de la brucelosis tanto humana como animal, de diez países de América, a fin de conocer los progresos alcanzados y estudiar las variaciones existentes en cuanto a la estandarización de antígenos y técnicas.*

La prueba de aglutinación, no sólo es el método más seguro para el diagnóstico serológico de la brucelosis humana y animal, sino también el más usado universalmente. En la práctica, sin embargo, los resultados son muchas veces dispares, debido a la variación que existe entre los antígenos y técnicas usados en los diferentes países y aun en diversos laboratorios de un mismo país.

Murdock y colaboradores, en 1950-1951 (1), hicieron, bajo los auspicios de la Oficina Sanitaria Panamericana, una evaluación de la prueba de seroaglutinación, y con tal objeto analizaron 36 antígenos usados en las Américas (17 para prueba en placa y 19 para prueba en tubo), procedentes de 29 laboratorios oficiales y particulares, de 12 países americanos y europeos. Los resultados obtenidos revelaron variaciones apreciables en la sensibilidad de los antígenos y en la forma de hacer e interpretar la prueba.

El presente trabajo es una evaluación similar a la anterior, hecha con el propósito de conocer los progresos alcanzados, estudiar las variaciones que todavía existen e investigar sus posibles causas.

En el texto se ha usado una clave para designar los países y los antígenos, por lo

que sólo las autoridades de cada uno de ellos podrán identificar los resultados de los antígenos que se empleen dentro de su propia jurisdicción y compararlos con los de los demás países.

### Material y métodos

Participaron en esta evaluación diez países (Argentina, Brasil, Canadá, Colombia, Chile, Estados Unidos, México, Perú, Surinam y Uruguay), y proporcionaron un total de 14 antígenos para prueba en tubo y 24 para prueba en placa. Los laboratorios participantes también suministraron la información relativa a la elaboración del producto y a la técnica e interpretación de las pruebas respectivas.

La presente reevaluación comprende: 1) análisis de la información suministrada por los laboratorios productores, y 2) control de laboratorio de las muestras de antígeno recibidas.

Las pruebas de control se hicieron e interpretaron según los métodos del Departamento de Agricultura de Estados Unidos (2), ampliamente aceptados en las Américas como pauta para la estandarización de los antígenos. Todos éstos fueron sometidos a las siguientes pruebas: control de pureza y

Centro Panamericano de Zoonosis, Oficina Sanitaria Panamericana, Azul, Argentina.

\* Manuscrito recibido en diciembre de 1963.

esterilidad, determinación del pH, determinación del volumen celular, y prueba de sensibilidad. También se midió el número de gotas por ml. del gotero incluido junto con los antígenos en placa.

La sensibilidad de los antígenos en estudio se determinó por pruebas comparativas de aglutinación en placa, usando un antígeno de referencia de sensibilidad estándar y un grupo de 20 muestras de sueros bovinos de títulos escalonados, desde negativos hasta 1:200 ó más. Como antígeno de referencia se utilizó el que elabora el Centro Panamericano de Zoonosis, cada lote del cual se ajusta, en cuanto a sensibilidad, al antígeno del Departamento de Agricultura de Estados Unidos.

Las reacciones se hicieron probando cada suero en cuatro diluciones (1:25, 1:50, 1:100 y 1:200), y en el caso de los antígenos en estudio, las pruebas de aglutinación, se efectuaron siguiendo las indicaciones del laboratorio productor. Los resultados se codificaron asignando un punto a cada dilución completa, y medio punto a las incompletas. La suma de los puntos de cada antígeno en las distintas diluciones de las 20 muestras de sueros, determinó su correspondiente "valor total de aglutinación".

Para calificar la sensibilidad, se compararon los valores totales del antígeno en estudio con los del antígeno estándar. Se aceptó como satisfactorio un antígeno con una diferencia de hasta 3 puntos, en más o en menos, en el "valor total de aglutinación", siempre que no más de una de las 20 muestras de suero examinadas, tuviera una variación de 1 punto (una dilución).

#### Análisis de la información suministrada por los laboratorios

Los 38 antígenos recibidos se pueden clasificar como se indica en el Cuadro 1.

Para el análisis ulterior, los antígenos se clasificaron en antígenos de uso humano y de uso animal. Entre los primeros sólo se incluyeron los que se utilizan en forma exclu-

siva para este propósito (5 para reacción en placa y 7 en tubo), mientras que se consideraron de uso animal, todos los restantes.

#### Elaboración de los antígenos

En el Cuadro 2 se muestran las diferentes especies y cepas de *Brucella* empleadas en la preparación de los antígenos estudiados.

Si bien en la elaboración puede usarse cualquier cepa lisa (S) de las tres especies de *Brucella*, se ha comprobado que entre ellas existen variaciones en sensibilidad (3, 4). Además, no es aconsejable el empleo de *Br. melitensis* y *Br. suis* por el peligro que significa para el personal encargado de la

CUADRO 1—Estudio comparativo de la prueba de aglutinación, de brucelosis. Clasificación de los 38 antígenos estudiados.

Especie animal	Antígeno placa	Antígeno tubo	Total
Humano	5	7	12
Humano y animal	4	2	6
Bovino	10	5	15
Bovino y suino	1	—	1
Bovino y caprino	1	—	1
Bovino, suino, caprino, y ovino.	3	—	3
Totales . . . . .	24	14	38

CUADRO 2—Especies y cepas de *Brucella* usadas en la preparación de los antígenos estudiados.

Especies y cepas	Antígeno placa		Antígeno tubo	
	hu-mano	ani-mal	hu-mano	ani-mal
<i>Br. abortus</i> 3	—	1	—	—
<i>Br. abortus</i> 19	—	1	—	—
<i>Br. abortus</i> 99	—	—	1	1
<i>Br. abortus</i> 413 . . .	—	1	—	1
<i>Br. abortus</i> 1119 . . .	4	16	3	5
<i>Br. abortus</i> "avirulenta".	1	—	1	—
<i>Br. melitensis</i> A-13-D . . .	—	—	1	—
<i>Br. suis</i> A-12.	—	—	1	—
Totales . . . . .	5	19	7	7

CUADRO 3—Medios de cultivo empleados en la preparación de los antígenos estudiados.

Medios de cultivo	Antígeno placa		Antígeno tubo	
	hu-mano	ani-mal	hu-mano	ani-mal
Agar papa . . . . .	1	16	2	5
Agar papa, triptosa, hidrolisado de levadura . . . . .	—	—	—	1
Agar papa, dextrosa 10% . . . . .	—	1	—	—
Agar papa, dextrosa, inf. hígado . . . . .	1	—	—	—
Agar triptosa . . . . .	—	1	2	—
Agar 3%, dextrosa, inf. carne proteosa No. 2 . . . . .	—	1	—	1
Agar, dextrosa, digesto pancreático de caseína . . . . .	1	—	1	—
Bruella agar Albimi . . . . .	1	—	1	—
Agar triptosa soya No. 520 . . . . .	1	—	1	—
Totales . . . . .	5	19	7	7

elaboración. La cepa de elección es *Br. abortus* 1119, tanto por su estabilidad y baja virulencia, como por la conveniencia que ofrece de establecer la uniformidad en la preparación de los antígenos. Esta cepa fue utilizada en el 83 % de los antígenos para prueba en placa, y en el 57 % de los antígenos para prueba en tubo.

Tal como se indica en el Cuadro 3, los laboratorios emplearon diferentes medios de cultivo en la elaboración de los antígenos.

El agar papa fue el medio más utilizado, especialmente en la preparación de los antígenos de placa y tubo para uso animal. Cabe hacer notar la gran diversidad de medios usados en la elaboración de los antígenos para uso humano.

Las botellas sembradas se incubaron entre 34° y 37,5°C., durante un lapso que varió entre 45 y 90 horas. En la recolección del cultivo, se emplearon varios tipos de soluciones. En orden de frecuencia, la más usada fue la solución salina al 0,85 %, a la que se añadió fenol al 0,5 % (24 antígenos) y en segundo término, esta misma solución, pero sin fenol (11 antígenos). En 4 antígenos se empleó la solución salina isotónica

amortiguada y en uno, la solución salina al 12 % fenolada y glicerizada.

Se ha demostrado que el contacto prolongado de la suspensión bacteriana con el medio de cultivo, puede afectar la sensibilidad del antígeno por la absorción de agar soluble y posiblemente por otras sustancias (4, 5). La información recogida en este estudio, correspondiente a 29 antígenos, indica que, en algunos casos (26 antígenos), el contacto de la suspensión con el medio de cultivo varió desde pocos minutos hasta una hora, y en otros (3 antígenos), de 2 a 48 horas.

La falta de centrifugación de la suspensión bacteriana, también afecta la sensibilidad del antígeno. En la revisión efectuada se encontró que, en la gran mayoría de los laboratorios productores, la pasta bacteriana se obtuvo por centrifugación. Sólo en 4 de ellos no se usó este procedimiento.

Otro factor que afecta la sensibilidad, es el agua de condensación y el líquido sobrenadante de la siembra, por lo que es importante eliminarlos antes de iniciar la cosecha. La información recogida no permite asegurar que todos los laboratorios observen esta práctica.

En la mayoría de los antígenos de uso animal (69 %), la inactivación de la suspensión madre se efectuó a 100°C. durante 20–30 minutos, mientras que en la elaboración de los antígenos de uso humano, hubo una gran variación, especialmente en cuanto a temperatura y tiempo de inactivación. Además, algunos laboratorios emplearon sustancias químicas para este fin.

La concentración celular se midió por diversos procedimientos, según se indica en el Cuadro 4.

En la casi totalidad de los antígenos de uso animal (placa y tubo), la concentración celular se halló por el método volumétrico de Fitch (5). Por el contrario, en los antígenos de uso humano, sólo 3 laboratorios utilizaron este método, mientras que 5 hicieron la determinación por métodos nefelométricos o recuentos bacterianos, y otros 4 ó

CUADRO 4—Métodos usados para determinar la concentración celular de los antígenos estudiados.

Concentración celular	Antígeno placa		Antígeno tubo	
	hu-mano	ani-mal	hu-mano	ani-mal
Nefelómetro MacFarland (tubo No. 3 × 10) . . . . .	1	—	1	—
Tubo Trommsdorff . . . . .	—	—	—	1
Tubo Fitch-Hopkins . . . . .	—	18	3	6
Standard Pyrex No. 25. . . . .	—	—	1	—
Recuento bacteriano. . . . .	1	—	1	—
No se indica o no se determina	3	1	1	—
Totales. . . . .	5	19	7	7

CUADRO 5—Métodos empleados en el control de la sensibilidad de 38 antígenos para la prueba de aglutinación en brucelosis.

Prueba de sensibilidad	Antígeno placa		Antígeno tubo	
	hu-mano	ani-mal	hu-mano	ani-mal
Antígeno patrón y sueros de diferentes títulos . . . . .	2	14	1	5
Antígenos conocidos (lotes anteriores o comerciales) y sueros de diferentes títulos	1	3	4	1
Suero patrón. . . . .	—	1	—	—
Aglutinación con sueros positivos y negativos. . . . .	1	—	1	1
Suero específico de conejo. . . . .	1	—	1	—
Sin especificar . . . . .	—	1	—	—
Totales. . . . .	5	19	7	7

no la determinaron, o bien, no indicaron el método empleado. Tal como se ha demostrado, los métodos de opalescencia y el recuento conducen a errores apreciables en la evaluación de la concentración (5, 6), lo que también puede repercutir en la sensibilidad.

En el Cuadro 5 se muestran los procedimientos utilizados por los laboratorios productores en la prueba de sensibilidad propiamente dicha, la cual es el ajuste más importante en la uniformación de antígenos.

De un total de 38 antígenos, se estanda-

rizó la sensibilidad de 22, usando un antígeno patrón y sueros de diferentes títulos; la de 9 antígenos, se estandarizó con lotes anteriores o con antígenos comerciales, y la de 6, sólo con sueros. En la práctica, el primero es el método que ha dado mejores resultados. La comparación con lotes anteriores adolece del defecto de que los pequeños errores en lotes sucesivos se van acumulando. En el caso de uniformación contra antígenos de otros laboratorios, puede ocurrir que éstos no sean de sensibilidad satisfactoria.

Como preservativo del producto terminado se usó, en la mayoría de los casos (30 de un total de 38 antígenos analizados), el fenol 0,5%. Sólo en 2 antígenos de placa se emplearon colorantes bacteriostáticos únicamente. No se suministró información con respecto a los 6 antígenos restantes.

#### Técnicas e interpretación de las pruebas

Para efectuar la prueba en tubo, los siete laboratorios productores de este antígeno para uso humano propusieron 3 técnicas diferentes. La primera (4 laboratorios) consistió en hacer diluciones dobles del suero, con solución salina, y agregar un volumen igual de antígeno a cada tubo; la segunda (2 laboratorios), agregar a 2 ml. de antígeno, las cantidades correspondientes de suero para obtener diluciones dobles a partir del título 1:25; y la tercera (1 laboratorio), hacer con solución salina, diluciones dobles del suero y agregar 2 gotas de antígeno coloreado y concentrado.

En estos antígenos se recomendó hacer la lectura de la prueba en dos formas; es decir, después de una incubación de 48 horas a 37°C. (6 casos) o después de 4 horas a 48°-52°C., seguida de refrigeración durante la noche y centrifugación a 2.000 r.p.m., por espacio de 10 minutos (1 caso).

Tres fabricantes de este tipo de antígeno de uso humano señalaron como título significativo para la prueba en tubo, una

aglutinación 1:100-1:160; los 4 restantes no suministraron información al respecto.

Con relación a los antígenos para la prueba en tubo de uso animal, la mayoría de los laboratorios productores (6 de 7), sugirieron el empleo de la técnica del Departamento de Agricultura de Estados Unidos (2 ml. de antígeno por tubo y 0,08 ml.; 0,04 ml.; 0,02 ml.; y 0,01 ml. de suero no diluido, para obtener diluciones desde 1:25 hasta 1:200). Hizo excepción un laboratorio, el cual recomendó efectuar la dilución empleando 1 ml. de un antígeno casi 3 veces más concentrado (0,13 %) que el usado en el procedimiento anterior.

En estos antígenos se indicaron diferentes formas para hacer la lectura de la reacción: después de 48 horas de incubación a 37°C. (2 laboratorios); después de una incubación a 37°C. por diferentes períodos, seguida por otra a temperatura ambiente (4 laboratorios), y después de 2 horas a 52°C. y 22-24 horas a temperatura ambiente (1 laboratorio). Este último corresponde al antígeno concentrado mencionado antes.

Los fabricantes de antígenos para prueba en placa, tanto de uso humano como animal, recomendaron la técnica descrita por Huddleson (7). Las disparidades observadas entre los diferentes laboratorios, se refieren principalmente al tiempo de la lectura, sobre todo en los 5 antígenos de uso humano. En cambio, en la mayoría de los antígenos de uso animal (11 de 18), se indicó hacerla a los 8 minutos, lo que está de acuerdo con lo aconsejado originalmente por Donham y Fitch (8).

La mayoría de los laboratorios que producen antígenos para placa (16 de 19) y tubo (6 de 7) de uso animal, señalaron como título significativo una aglutinación completa a 1:100. En el caso del antígeno concentrado (0,13 %), se consideró como positiva toda reacción a partir del título 1:50.

Los datos ya expuestos demuestran que en la prueba en tubo existen algunos hechos interesantes. Los laboratorios que diluyen el suero con solución salina y luego mezclan

una cantidad igual de suero diluido y de antígeno obtienen una concentración final del reactivo dos veces menor que los que agregan directamente, a una cantidad fija de antígeno, cantidades variables de suero no diluido (0,08; 0,04, etc.). Además se observaron en esta prueba variaciones con respecto al tiempo y temperatura de incubación empleados, lo que indudablemente influye en los resultados finales (5).

#### Exámenes de laboratorio de los antígenos recibidos

##### *Antígenos para prueba en tubo*

Las pruebas de pureza y esterilidad, así como el pH, fueron satisfactorias en todos los antígenos examinados. El volumen celular, en la mezcla final suero-antígeno y los resultados de la prueba de sensibilidad, se resumen en el Cuadro 6.

En los antígenos de uso humano para prueba en tubo, fue posible observar notables variaciones con respecto al antígeno de referencia. Así, en el volumen celular hubo cifras que variaron de 0,004 a 0,3 %, y sólo un antígeno, de los 7 analizados, se encontró dentro de los límites normales. El grado de sensibilidad también mostró grandes variaciones, ya que el antígeno de sensibilidad más baja tuvo 16 puntos menos que el total de aglutinación obtenido con el estándar, y el antígeno de mayor sensibilidad, tuvo 8 puntos más que el patrón. Igualmente, en los sueros individuales, la mayoría de los antígenos acusaron más de 1 punto de variación, en más de una de las 20 muestras examinadas. A partir de estas consideraciones, de los 7 antígenos para tubo de uso humano, sólo el antígeno G3 pasó satisfactoriamente la prueba de sensibilidad y por lo tanto fue el único que pudo considerarse aceptable.

En los antígenos para tubo de uso animal, las variaciones no fueron tan marcadas. El único antígeno (I1) que, en su concentración, se separó significativamente del

CUADRO 6—Volumen celular y prueba de sensibilidad de antígenos empleados en las Américas, para la prueba de aglutinación en tubo, de brucelosis.

Antígeno (clave)	Uso	Porcentaje volumen celular	Prueba de sensibilidad		Aceptable
			Variación en el total de aglutinación (20 sueros)*	No. de sueros individuales con más de 1 punto de diferencia**	
—	Antígeno de referencia	0,045	0,0 puntos	0 sueros	—
A8	Humano	0,3	+7,0 “	7 “	no
A9	“	0,013	-5,0 “	4 “	no
A10	“	0,105	-16,0 “	12 “	no
A11	“	0,6	+8,0 “	10 “	no
F2	“	0,004	-7,5 “	12 “	no
G3	“	0,04	-2,0 “	0 “	sí
G4	“	0,035	+1,5 “	3 “	no
A13	Animal	0,045	0,0 “	0 “	sí
B3	“	0,046	+1,5 “	1 “	sí
E6	“	0,041	+2,5 “	1 “	sí
G2	“	0,038	+6,5 “	5 “	no
H2	“	0,048	+0,5 “	1 “	sí
I1	“	0,135	-3,5 “	1 “	no
J2	“	0,049	+1,5 “	0 “	sí

\* Total de puntos de diferencia con respecto a la prueba con el antígeno de referencia. Cada punto equivale a una dilución.

\*\* Número de sueros en los cuales hubo diferencia de una dilución o más, en comparación con la prueba hecha con el antígeno de referencia.

resto, fijó como título diagnóstico un título menor que el de los demás (1:50 en lugar de 1:100). Sólo en 2 antígenos (G2 e I1) la diferencia en la sensibilidad sobrepasó 3 puntos al total de aglutinación del estándar, y uno de ellos (G2) presentó diferencias mayores de 1 punto en más de una muestra individual. En consecuencia, pudieron considerarse satisfactorios 5 antígenos para tubo de uso animal de un total de 7.

#### *Antígenos para prueba en placa*

En los 24 antígenos de placa, las pruebas de pureza y esterilidad fueron satisfactorias y el pH tuvo un margen de variación de 6,4-7,4, es decir, estuvo dentro de los límites que no afectan la sensibilidad. Los resultados del volumen celular y de la prueba de sensibilidad se muestran en el Cuadro 7.

De los 5 antígenos de uso humano analizados, uno solo (A7), tuvo un volumen celular similar al de referencia. Sin embargo, no resultó satisfactorio por presentar fenó-

menos de zona y porque su sensibilidad mostró 20,5 puntos más que el valor total de aglutinación del patrón. Dentro de este mismo grupo, el antígeno A1, aunque sólo tuvo 0,5 puntos de diferencia en el total de aglutinación, tampoco pasó la prueba de sensibilidad por presentar variaciones de un punto o más en varias de las 20 muestras de suero. De acuerdo con estos resultados, ninguno de los antígenos para placa, de uso humano, pudo considerarse satisfactorio.

En los antígenos de uso animal, los valores del volumen celular fueron más uniformes y, en muchos casos, muy parecidos al antígeno de referencia. Tomando los valores extremos, éstos variaron de 8 a 17,5%. Diez de los 19 antígenos examinados, tuvieron una diferencia de más de 3 puntos, en comparación con el valor total de aglutinación del antígeno de referencia, o presentaron una variación de una dilución o más en varias muestras de suero. De acuerdo con estos resultados, sólo pudieron consi-

CUADRO 7—Volumen celular y prueba de sensibilidad de antígenos empleados en las Américas, para la prueba de aglutinación en placa, de brucelosis.

Antígeno (clave)	Uso	Porcentaje (volumen celular)*	Prueba de sensibilidad		Aceptable
			Variación en el total de aglutinación (20 sueros)**	No. de sueros individuales con más de 1 punto de diferencia†	
—	Antígeno de referencia	11,0	0,0 puntos	0	—
A1	Humano	2,5	+0,5 “	6	no
A5	“	2,0	-7,0 “	7	no
A6	“	6,0	-16,5 “	10	no
A7	“	12,0	+20,5 “	12	no
B1	“	5,0	+5,5 “	4	no
A2	Animal	10,5	-1,5 “	0	sí
A3	“	13,5	+0,5 “	0	sí
A4	“	12,0	+5,0 “	3	no
A12	“	11,5	0,0 “	0	sí
B2	“	9,5	0,0 “	0	sí
C1	“	8,0	-2,5 “	1	sí
C2	“	8,0	+1,5 “	5	no
D1	“	17,5	-3,5 “	1	no
E1	“	12,0	-4,5 “	3	no
E2	“	8,0	+4,0 “	2	no
E3	“	9,0	+9,5 “	5	no
E4	“	8,5	+10,5 “	6	no
E5	“	9,5	-1,0 “	3	no
E7	“	11,5	+4,5 “	6	no
E8	“	10,5	+5,0 “	4	no
F1	“	11,5	+1,5 “	1	sí
G1	“	12,5	+2,0 “	0	sí
H1	“	11,5	+1,0 “	0	sí
J1	“	11,5	-0,5 “	0	sí

\* Volumen celular del antígeno antes de agregar el suero.

\*\* Puntos de diferencia con respecto al antígeno de referencia, comparando los valores totales de aglutinación.

† Número de muestras en las cuales hubo diferencia de una dilución o más, con respecto a la prueba con el antígeno de referencia

derarse satisfactorios 9 antígenos para placa, de uso animal.

El control de los 15 goteros suministrados por los fabricantes, se hizo midiendo el número de gotas por ml., y demostró lo siguiente: 11 dieron de 27 a 35 gotas por ml., y 4, de 36 a 56 gotas por ml.

En suma, los Cuadros 6 y 7 demuestran que el volumen celular fue bastante uniforme en los antígenos de tubo y placa para uso animal, y no así en los antígenos de uso humano. Esto se explica porque en los antígenos de uso animal—con excepción de uno—este ajuste se hizo por tubos Fitch-Hopkins, mientras que en la elaboración de los antígenos de uso humano, se

utilizaron diferentes métodos o no se hizo tal determinación. También los antígenos para prueba en tubo de uso animal, tienen una sensibilidad similar. La variación observada en los antígenos para placa de uso animal, se puede explicar, además del diferente volumen celular, por el uso de distintas cepas, por los tiempos de lectura diferentes y por los goteros mal calibrados.

Es posible que varios de los antígenos, tanto de tubo como de placa, fueran elaborados con cepas disociadas. Una indicación en tal sentido son los fenómenos de zona observados y las reacciones dispares con varias muestras de suero.

## Discusión

Después de muchos años de experiencia, se acepta universalmente que la prueba de aglutinación es de gran valor en el diagnóstico de la brucelosis tanto humana como animal. Sin embargo, en la práctica se tropieza con algunas dificultades debido a la falta de uniformidad en los antígenos y técnicas empleados, así como al diferente criterio usado para interpretar la prueba (9, 10). Por estas razones, muchas veces no coinciden ni los diagnósticos hechos en países distintos, ni siquiera los hechos en laboratorios de un mismo país. Las consecuencias de esta situación son deplorables, ya que la diferencia en el diagnóstico desconcerta por igual a médicos y enfermos. No menos importantes son las repercusiones de esas discrepancias en la prevención de la brucelosis, ya que la base del control de la brucelosis animal es un diagnóstico correcto, sin el cual toda campaña profiláctica está condenada al fracaso. Estos hechos también afectan de un modo especial el comercio internacional de ganado. Animales exportados por un país con certificación que los acredita libres de brucelosis, han sido encontrados reactores en el país de destino. Esta diferencia no sólo entorpece el comercio internacional de ganado, sino que constituye un serio escollo en el mejoramiento de la hacienda en países que dependen de la importación de reproductores.

Evidentemente, esta situación necesita ser modificada y así se ha reconocido en varias conferencias y reuniones internacionales. En los dos últimos Congresos Interamericanos de Brucelosis, se recomendó que los países de las Américas empleen antígenos y procedimientos similares en la prueba de seroaglutinación para el diagnóstico de la brucelosis humana y de la animal, y que una institución internacional buscara la forma de facilitar la estandarización de tales métodos. También se recomendó que cada país designara una autoridad central que tuviera a su cargo, en el ámbito

nacional, la unificación y estandarización de materiales y técnicas, la que, a su vez, debería ser periódicamente provista por una agencia internacional, de los reactivos necesarios con propósitos de referencia (11, 12).

Estos acuerdos han delineado perfectamente la conducta aconsejable a nivel nacional e internacional, pero tal como se ha comprobado en el presente trabajo, el objetivo final está todavía muy distante.

La información suministrada por los laboratorios demuestra que, si bien existe una tendencia general a la uniformación de los antígenos de uso animal, la mayor parte de los cuales fueron elaborados, correcta o incorrectamente, de acuerdo con una cierta técnica, no existe la misma tendencia en los antígenos de uso humano, los que, en general, se elaboraron sin ningún patrón.

Por su parte, los resultados de las pruebas de control efectuadas a propósito de este estudio (Cuadros 6 y 7), demuestran que, en el grupo de los antígenos de uso animal, son satisfactorios el 71,4% de los antígenos de tubo y el 47,3% de los de placa. En cuanto a los antígenos de uso humano, sólo alcanzan tal calificativo el 14,3% de los de tubo y el 0% de los de placa. Estos resultados se han obtenido con el empleo de un antígeno de referencia, el cual fue utilizado en atención a que la mayoría de los antígenos analizados habían sido elaborados siguiendo una técnica estándar.

Como conclusión de este estudio, resulta evidente la necesidad de una acción gubernamental que logre mejorar la calidad de los antígenos. Esta acción debiera abarcar desde la distribución de técnicas, cepas revisadas y antígenos de referencia, hasta el control oficial de los antígenos elaborados en cada país, a partir de un antígeno patrón.

## Resumen

Se hizo una evaluación de la prueba de seroaglutinación para el diagnóstico de la



brucelosis humana y de la animal, tal como actualmente se usa en los países americanos. Este estudio comparativo fue similar al efectuado en 1950-1951, también bajo los auspicios de la Oficina Sanitaria Panamericana, y tuvo por objeto conocer los progresos alcanzados, estudiar las variaciones que todavía existen e investigar sus posibles causas.

Participaron 10 países, los que suministraron un total de 38 antígenos (14 para prueba en tubo y 24 para placa). La primera fase del estudio comprendió el análisis de las técnicas empleadas en la elaboración de los antígenos, de los métodos para ejecutar las pruebas y del criterio usado para interpretar los resultados, todo lo cual se hizo basándose en la información proporcionada por los laboratorios productores. La segunda parte consistió en el examen de laboratorio de todos los antígenos recibidos, que incluyó: control de pureza y esterilidad, determinación del pH, determinación del volumen celular y prueba de sensibilidad.

Los resultados de esta evaluación muestran una tendencia a la uniformación de las técnicas de elaboración de los antígenos de uso animal y de la ejecución de las pruebas respectivas, pero no ocurre lo mismo con los antígenos y pruebas empleados en medicina humana. Por lo que respecta a los resultados de las pruebas de laboratorio, hechas comparativamente con el antígeno de referencia, el 71,4% de los antígenos de tubo, para uso animal, y el 47,3% para placa, resultaron satisfactorios. En cambio, sólo el 14,3% de los antígenos para tubo y ninguno de los antígenos para prueba en placa, de uso humano, fueron aceptables de acuerdo con el estándar.

Esta evaluación sugiere que las dependencias gubernamentales de los diferentes países, todavía no han tomado las medidas necesarias para asegurar la estandarización de antígenos y técnicas para la prueba de seroaglutinación, para el diagnóstico de la brucelosis.

#### REFERENCIAS

- (1) Murdock, F.; Roepke, M. H., y Blood, B. D.: Uniformación del diagnóstico de la brucelosis en las Américas. I. Estudios comparativos de los métodos de laboratorio en uso, *Bol. Of. San. Pan.*, 32:136-146, 1952.
- (2) United States Department of Agriculture: *Brucella abortus* antigen (Tube and plate methods), Animal Disease Eradication Division, Beltsville, Md., 1959.
- (3) Fitch, C. P.; Donham, C. R., y Bishop, L.: Monovalent and polyvalent antigens for use in the diagnosis of Bang's disease, *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 27:553-555, 1930.
- (4) Donham, C. R., y Fitch, C. P.: Rapid agglutination test for infectious abortion on cattle, *Jour. Inf. Dis.*, 55:60-71, 1934.
- (5) Fitch, C. P.; Donham, C. R.; Bishop, L., y Boyd, W. L.: Studies of the test tube agglutination test for the diagnosis of Bang's disease (Contagious abortion), *Univ. Minnesota, Agric. Exp. Station, Tech. Bull.*, 73:56, 1930.
- (6) Roepke, M. H., y Fitch, C. P.: Studies on the photoelectric and volumetric methods for the determination of the density of *Brucella abortus* antigens, *Cornell Vet.*, 30:1-13, 1940.
- (7) Huddleson, I. F.: The diagnosis of *Brucella* infection in animals and man by rapid macroscopic agglutination, *Michigan State College, Tech. Bull. No. 123*, 1932.
- (8) Donham, C. R., y Fitch, C. P.: The relation of the time element to the results obtained by the rapid agglutination test for the diagnosis of Bang's disease, *Jour. Am. Vet. Med. Ass.*, 80:839-847, 1932.
- (9) World Health Organization: FAO/WHO Joint Expert Panel on Brucellosis. Report of First Session, *WHO Tech. Rep. Ser. No. 37*, Geneva, 1951.
- (10) Spink, W. W.; McCullough, N. B.; Hutchings, L., y Mingle, C. K.: Diagnostic criteria for human brucellosis. Report No. 2 of the National Research Council, Committee on Public Health Aspects of Brucellosis, *Jour. Am. Med. Ass.*, 149:805-808, 1952.
- (11) Tercer Congreso Interamericano de Brucellosis, *Bol. Of. San. Pan.*, 30:185-186, 1951.
- (12) IV Congreso Interamericano de Brucellosis, Lima, Perú, 1957. *Bol. Of. San. Pan.*, 44:365-366, 1958.

### Diagnosis Standardization of Brucellosis in the Americas (Summary)

Results are reported of an evaluation of the seroagglutination test, for the diagnosis of human and animal brucellosis, as presently used in the countries of the Americas. This comparative study was similar to that carried out in 1950-1951, also under the auspices of the Pan American Sanitary Bureau. The purpose was to measure progress toward standardization, determine the differences that still exist, and investigate possible causes of such differences.

Ten countries provided a total of 38 antigens (14 for the tube test and 24 for the plate test). The first phase of the study consisted of an analysis of information provided by the producing laboratories concerning the technique used for preparing the antigens, the methods for conducting the test, and the criteria for interpreting the results. The second part consisted in the laboratory testing of the antigens, including

examinations for purity and sterility, determination of pH, measurement of cell volume, and tests for sensitivity.

The results of this evaluation show a tendency toward standardization of antigen and techniques as applied to animals, but not so with the antigen and testing procedure for human use. In comparison with the selected standard antigen, 71.4% of the tube-test antigens and 47.3% of the plate-test antigens for animal use gave satisfactory results. Only 14.3% of the tube-test antigens and none of the plate-test antigens for human use were acceptable when tested with the standard.

This evaluation suggests that appropriate government agencies have not yet taken sufficient measures to assure the standardization of antigen and techniques for the seroagglutination test for the diagnosis of brucellosis.

---

It takes just a modicum of realism to understand that time is neutral. It is not a servant, but must be mastered. It fights on the side that best utilizes it . . . It takes courage and patience and valor to move onward. A hundred hammer blows may smash a rock. Yet the blow that finally shatters it is no more vital than those that preceded it . . . Tyranny, like cancer, still hasn't been conquered. Because it is a lengthy struggle is no reason for surrendering. The cure for diseases, which scientists have been working on for centuries—may be discovered tomorrow morning.

*Walter Winchell*