

ALGUNOS ESTUDIOS SOBRE LA INFECCION LISTERICA EN MEXICO¹

DR. ADOLFO PÉREZ-MIRAVETE²

Se señala la importancia de difundir los conocimientos sobre la infección listérica como medio de conocer la extensión de la enfermedad en el país. Se revisan los datos recogidos en México en relación con las dos manifestaciones más frecuentes de listeriosis: meningoencefalitis y granuloma infantiséptico. Se valoran, en función de la experiencia acumulada por el autor, las reacciones serológicas como medio diagnóstico de la infección listérica materna y se comparan los datos obtenidos con los recogidos en la infección experimental en animales. Dado lo exiguo de los datos con los que actualmente se cuenta, se hace patente la necesidad de ampliar estas investigaciones en nuestro país. (GAC. MÉD. MÉX. 99: 107, 1969).

EL TRABAJO que ahora se presenta pretende llamar la atención sobre una enfermedad infecciosa que requiere, más que ninguna otra, como factor singular para su diagnóstico, el que clínicos y microbiólogos estén advertidos de la presencia del patógeno en la co-de casos que se describen en un país o munidad a la que atienden. El número una área geográfica, como ha sido señalado por numerosos autores,^{1 a 4} casi siempre reflejan el interés que se ha puesto en difundir los conocimientos básicos sobre la infección. De ahí el

propósito nuestro de insistir en hablar sobre infección listérica en México, en donde, a juzgar por lo que ha llegado a nuestro conocimiento, sólo se han aislado 15 cepas del parásito responsable de esta infección.^{5 a 10}

Aunque posiblemente el bacilo que ahora conocemos como *Listeria monocytogenes* ya había sido visto y superficialmente descrito desde 1891 por Hayem³ en Francia y aún anteriormente en Rusia, según algunos autores soviéticos, la descripción inconfundible de este agente infeccioso se acredita a Murray y cols.¹¹ en 1926, quienes publicaron su hallazgo como el de una nueva especie bacteriana capaz de producir una infección en conejos y coba-

¹ Trabajo de ingreso a la Academia Nacional de Medicina, presentado en la sesión ordinaria del 6 de noviembre de 1968.

² Académico numerario. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas. Instituto Politécnico Nacional.

yos caracterizada por una notable respuesta monocítica. Pirie en la misma época, confiesa Murray,¹² lo encuentra en roedores africanos, aunque su trabajo es publicado hasta 1927. Hasta 1929 todos los datos recogidos se referían siempre a una infección que afectaba exclusivamente a animales y es, hasta esta fecha, que se tiene el primer dato que relaciona a *Listeria monocytogenes* con una infección humana. En Dinamarca, Nyfeldt² aísla un microorganismo indiferenciable del descrito por Murray, de la sangre de enfermos con mononucleosis infecciosa y así el autor cree estar en presencia del agente causal de ese padecimiento. La interpretación del hallazgo no fue muy feliz, según confiesa el mismo Nyfeldt a Seeliger² puesto que no pudo ser posteriormente confirmada por otros autores, otros investigadores, tales como Burn,¹³ pero sí sirvió de incentivo para que asociaran la presencia del mismo germen a la producción de infecciones perinatales humanas en 1933, y Schultz y cols.,¹⁴ Poston y cols.¹⁵ y Carey,¹⁶ entre otros, lo encontraran en el líquido cefalorraquídeo de meningíticos unos años después. Como un dato interesante de carácter un tanto anecdótico, vale la pena de recordar aquí un caso, relatado por Seeliger y Cherry,² de un soldado francés muerto de meningitis a fines de la segunda Guerra Mundial, de quien aislaron Dumond y Cotoni un pequeño bacilo Gram positivo que no pudieron identificar. Por esta razón fue guardado en la colección del Instituto Pasteur, y 20 años después fue identificado por Paterson como *Listeria mono-*

cytogenes. Así como éste parecen haberse descrito otros casos que no pudieron comprobarse y que los mismos autores hace llegar a 29 antes de 1939 o a 55, según una publicación posterior de Seeliger.⁴ De 1940 a 1949, el número de infecciones humanas que aparecieron en la literatura fue bastante escaso y suman 40 casos, contrastando con el siguiente quinquenio en el que se informó sobre el diagnóstico de 221 casos en todo el mundo. Para esta época ya se había despertado un gran interés en el diagnóstico y localización de la infección listérica lo que ha dado lugar a un aumento progresivo en el número de casos descritos, hasta llegar a nuestros días en los que podemos afirmar que únicamente no se ha encontrado *L. monocytogenes* en aquellos países en los que no se ha investigado o en los que los microbiólogos que ejercen en ellos no se han familiarizado con su existencia, puesto que es un hallazgo que cae a las manos de cualquiera que estudia rutinariamente líquidos cefalorraquídeos procedentes de meningíticos. El problema radica así, en difundir los conocimientos sobre el microorganismo que nos ocupa y la enfermedad que produce, de tal modo que a ningún laboratorista pase desapercibida la presencia de este bacilo o que no se permita desecharlo confundiénolo con un contaminante con los que tiene muchas semejanzas morfológicas. El incremento en el número de casos nos está indicando, dice Gray,¹ el aumento del interés en diagnosticar la enfermedad y el mayor conocimiento de las características del germen que hacen más fácil

su identificación y no un aumento real en el número de casos que implique una diseminación excepcional de la enfermedad.

Otro aspecto que hay que conservar en la mente es el hecho de que los datos recogidos hasta ahora, principalmente los resultados de las encuestas serológicas, nos conducen a pensar que la infección listérica, en forma inaparente o atenuada, está muy difundida en la especie humana y posiblemente en muchas especies animales. La gran cantidad de individuos que presentan anticuerpos en su suero nos lo está indicando. Gray³ anota que, además del hombre, 37 especies de mamíferos, 17 especies de aves, peces, crustáceos, algunos insectos como garrapatas y moscas han sido capaces de infectarse en forma natural. También ha sido encontrado el microorganismo en forrajes ensilados, agua corriente, agua de albañal, suelo lodoso, polvo de habitaciones, etc., por lo que la epidemiología y epizootiología de esta infección es extraordinariamente compleja y lo mismo puede originarse el padecimiento por contaminación externa que por activación de un proceso latente. El paso de infección a enfermedad es un acontecimiento cuyos factores desencadenantes se ignoran, excepción hecha de algunas circunstancias como las que concurren en el embarazo en las que el producto ofrece, con su extraordinaria susceptibilidad, una magnífica oportunidad para que la infección se manifieste.

Mucho es lo que se ignora sobre esta enfermedad infecciosa tan proteica en sus manifestaciones y tan compleja en

su ecología, lo que ofrece una magnífica oportunidad para contribuir al conocimiento de ella. Gray y Killinger³ anotan que los factores más relevantes que han contribuido al mal conocimiento de la infección listérica son: la poca sospecha o inadvertencia de la existencia del bacilo que hace que frecuentemente se deseché tomándolo como un difterioide contaminante; las dificultades inherentes al aislamiento de algunos tejidos animales que no se sabe por qué causa impiden el desarrollo de los cultivos y dan lugar a falsos resultados negativos; la poca disponibilidad de una prueba serológica que revele específicamente los anticuerpos antilisteria; el erróneo criterio de que la aparición de una infección listérica es un acontecimiento excepcionalmente raro; la imposibilidad de reproducir en el animal de experimentación algunas de las enfermedades humanas con las que se ha asociado este agente infeccioso y, por último, la incapacidad de localizar con facilidad a los reservorios naturales. No es fácil resolver los problemas que implica el estudio de cada uno de estos factores, pero es precisamente el desconocimiento de ellos lo que debe servir de estímulo a cualquier investigador. Lo que ahora vamos a exponer no son sino algunos de nuestros modestos intentos de estudiar la infección con objeto de tratar de resolver, por una parte aspectos generales de la misma y, por otra, el intentar conocer la participación de la infección listérica en la patología infecciosa de México. Nuestros esfuerzos han sido dirigidos al diagnóstico y manejo de

dos de los cuadros más típicos de la infección listérica: la infección perinatal conocida como granuloma infantil séptico y la infección meningítica tanto del niño como del adulto.

Nos referiremos primero a la meningoencefalitis listérica por ser este padecimiento el que presenta, aparentemente, menos problemas en su diagnóstico bacteriológico, e insistimos en lo aparente de la facilidad en el diagnóstico por las razones que se verán después.

Entre las manifestaciones de la enfermedad listérica es la meningitis la que con mayor frecuencia se diagnostica en los Estados Unidos ya que, según Gray,¹⁷ el 77% de las cepas por él estudiadas fueron de origen meníngeo. En Dinamarca Jensen y Bojsen-Moeller¹⁸ consideran a *L. monocytogenes* como la segunda causa de meningitis en los grupos de enfermos de menos de 10 días o más de 50 años de edad. Dentro de nuestra extremada pobreza de datos, en México parece existir la misma situación, aunque esto posiblemente se explique por el hecho de que las estadísticas de meningitis se enriquecen más por los hallazgos accidentales que en otras modalidades de la infección en las cuales se requiere una búsqueda más sistemática. De cualquier modo la meningoencefalitis es uno de los cuadros clínicos más importantes y al que debemos la primera llamada de atención sobre la existencia de la infección listérica en México puesto que, si es verdad que se había publicado desde 1959 una encuesta serológica en sueros humanos y de gatos, producto de la inquietud constante del Dr. Varela¹⁹

siempre en la búsqueda de cosas nuevas, no fue sino hasta el año siguiente que Gardida y Vergara⁵ informaron sobre el primer caso humano de meningoencefalitis listérica encontrado en el Hospital Infantil de México.

La infección es prevalente en la primera infancia, de las 359 cepas meníngeas de Gray, al menos el 50% fueron aisladas de niños menores de un año, aunque el mismo autor asegura que el segundo grupo de edad más afectado es el de personas mayores de 40 años. En estos dos grupos la mortalidad es de 49 a 68% (70% en Alemania según Seeliger) en contraste con la mortalidad global que es de 34.4%. Los síntomas son totalmente inespecíficos y no se diferencian fundamentalmente de cualquier otro tipo de meningitis aguda, aunque se dice que ésta frecuentemente se inicia con un cuadro gripal y que los casos subagudos fácilmente se confunden con la meningitis tuberculosa. Los cambios físicos y químicos en el L.C.R. son los mismos encontrados en cualquier meningitis infecciosa: hiperproteinorraquia, hipoglucorraquia y pleocitosis, a base tanto de polimorfonucleares como de mononucleares, aunque, de acuerdo con Seeliger,⁴ una buena orientación diagnóstica la proporciona la abundancia de monocitos en el líquido. La bacterioscopía revela bacilos Gram positivos intra y extracelulares, de tamaño corto, que fácilmente pueden confundirse con *Diplococcus pneumoniae*, *Streptococcus* u otros *Corynebacteria*. Estos bacilos, además, no siempre son numerosos y pueden pasar desapercibidos o pueden observarse al

microscopio pero posteriormente no cultivar, quizás porque se presente una situación similar a la ya observada en las infecciones cerebrales de los bovinos, donde una substancia aparentemente derivada del tejido cerebral actúa como inhibidor impidiendo el desarrollo del cultivo. Para obviar estos inconvenientes se puede hacer el diagnóstico por inmunofluorescencia, como lo propone Eveland²⁰ o por el método de refrigeración que aconseja Gray.²¹ Con relación a este último método nuestra experiencia es la siguiente:

En un trabajo que realizamos con Ramírez Aguilar y Trejo⁹ estudiamos 387 muestras de líquido cefalorraquídeo procedentes de enfermos con síntomas meníngicos que fueron admitidos en el Hospital Infantil y el Hospital de la Raza del I.M.S.S. En todos los casos, los líquidos correspondían a lactantes o preescolares en los que, después de la exploración clínica, se había hecho el diagnóstico presuntivo de meningoencefalitis. Algunos de estos líquidos eran purulentos (aproximadamente el 30%) y otros no. En todos los casos se practicó el examen de rutina en el hospital de origen y se completó con un cultivo que dio, en la mayoría de los casos un resultado negativo. Las muestras fueron enriquecidas con 1 ml de caldo triptosa y se conservaron en el refrigerador (0 a 4°C) de 30 a 75 días, resemebrándose posteriormente en gelosa triptosa. Cuando se obtenía un cultivo se seleccionaban colonias por el método de Henry, se comprobaba su movilidad, sus caracteres fisiológicos siguiendo las

indicaciones de Seeliger² y Gray y Killing³ y su patogenicidad al conejo por vía conjuntival, según la técnica de Anton.²² La tipificación serológica fue hecha por nosotros originalmente y comprobada por el Dr. Shubert del Communicable Diseases Center de Atlanta, Ga. En estas condiciones logramos aislar 2 cepas de *L. monocytogenes* del serotipo 1 que dieron lugar, como posteriormente se comprobó en las historias clínicas correspondientes, a dos casos mortales de meningitis en los que nunca se estableció un diagnóstico etiológico. Posteriormente, considerando que los diagnósticos efectuados por el método que nosotros empleamos no tendría más que un valor retrospectivo o epidemiológico, intentamos aislar *Listeria* del LCR de la misma procedencia empleando un filtro Millipore de tipo Suinny con la intención de retener en el filtro la más mínima cantidad de bacilos que hubiere. Se cultivó posteriormente el filtro invertido sobre una caja de gelosa triptosa sin haberse obtenido ningún resultado positivo en más de 200 muestras estudiadas. La explicación del fracaso podría estar en la falla del organismo para iniciar el cultivo o a la presencia del inhibidor supuesto por Gray en el tejido cerebral que obstaculizara el cultivo. Desgraciadamente lo exiguo de la muestra de que disponíamos no nos permitió efectuar los controles debidos y no se pudo eliminar la posibilidad de que estos líquidos no contuvieran *Listeria*.

Además de los dos casos que relatamos y el de Gardida y Vergara⁵ del que ya hicimos mención como el pri-

mer caso en México, se han consignado en la literatura nacional otro caso informado por Olarte y cols.⁶ y uno de Bessudo y cols.¹⁰ todos ellos del Hospital Infantil de México. Parecen haberse encontrado más casos, tanto en el Hospital de la Raza³⁰ como en otras instituciones, pero no han aparecido en ninguna publicación que haya llegado a nuestras manos.

Con relación a la "granulomatosis infantiséptica" o septicemia perinatal, como se le ha dado en llamar a la septicemia por *Listeria* que afecta al recién nacido o al producto aún en el vientre materno, esta enfermedad parece no estar tan uniformemente distribuida como la modalidad meníngea, puesto que Gray asegura¹⁷ que mientras que en Europa es la más común de las enfermedades listéricas, en cambio en los Estados Unidos constituye únicamente el 2% de los casos.

La infección en el producto se establece más comúnmente durante el último trimestre del embarazo, pudiendo ocurrir la muerte del feto o afectar gravemente al niño que llega a término. De acuerdo con Potel,²³ uno de los clínicos que más experiencia tienen en el manejo de casos de granulomatosis infantiséptica, los síntomas son muy poco característicos y generalmente llevan al obstetra o al pediatra a diagnósticos erróneos. El mismo autor asegura que los trastornos respiratorios y circulatorios son los más prominentes, tales como disnea, respiración forzada, ataques apnéicos transitorios o fatales, temperatura subnormal, cianosis, repudio de bebidas, vómito, convulsiones,

descargas prematuras de meconio, heces mucosas, diarrea, roseolas ocasionales o exantema papular. Si el niño sobrevive a ese estado más de tres días, sobreviene una meningitis purulenta que da lugar a un desenlace fatal. De los pocos signos característicos, asegura Potel²³ debe considerarse la aparición de granulomas múltiples en la pared posterior de la faringe, por lo que el examen de este órgano, aunque difícil en el recién nacido, no debe omitirse cuando se sospecha infección listérica. La monocitosis generalmente no se presenta. La infección del feto parece seguir la vía transplacentaria como consecuencia de la bacteremia materna; el líquido amniótico muy frecuentemente está infectado y la diseminación por ingestión o aspiración de este líquido puede ser la responsable del gran número de nódulos miliares vistos en los tractos respiratorio y digestivo en la necropsia. Este signo de contaminación amniótica nos sirvió como orientación en una de nuestras primeras investigaciones realizadas con Giono⁷ para localizar infecciones perinatales listéricas en niños que habían nacido en la Unidad de Gineco-Obstetricia del Centro Médico Nacional del I.M.S.S., en donde examinamos entre diciembre de 1961 y enero y febrero de 1962, 33 casos de amnionitis que se presentaron en 4 837 niños que fueron atendidos en esa época. De ellos aislamos por hemocultivo 4 cepas de *Listeria monocytogenes* en 4 casos que evolucionaron con cuadros graves de listeriosis, terminando fatal-

los datos clínicos y bacteriológicos se anotan en las tablas 1, 2, 3 y 4.

Las cepas fueron identificadas en la misma forma que se anotó en los casos de las cepas meningicas y la tipificación fue realizada por el Dr. M. Gray y actualmente forman parte de la colección que dejó el mismo doctor en el Veterinary Research Laboratory en Montana.

somáticos de los tipos 1 y 4b que fueron los únicos identificados por Gray en nuestras cepas. Los resultados están dados en la tabla 5 y en ella se observa el número no despreciable de mujeres con título de 1:160 o más que Seeliger⁴ considera como significativo (16.6% de embarazadas y 7.9% de no embarazadas empleando antígenos somáticos; 3.6% de embarazadas y 4.8% de no

TABLA 1
RELACION DEL NUMERO DE NACIMIENTOS, MUERTE PERINATAL
Y AISLAMIENTO DE *LISTERIA*

M E S	NÚMERO DE NACIMIENTOS			Casos de amnionitis	Aislamiento de <i>Listeria</i> de la sangre de los niños	Casos de aislamiento en las madres
	Nacidos vivos	Nacidos muertos	T o t a l			
Diciembre	1 596	32	1 628	7	2	0
Enero	1 673	10	1 683	10	1	0
Febrero	1 568	8	1 576	16	1	1
TOTAL	4 837	50	4 887	33	4	1

En esta misma época y queriendo establecer un diagnóstico precoz de la infección listérica en las embarazadas el autor intentó con Giono²⁴ aislar el parásito de la vagina de estas enfermas, con muy poca fortuna, puesto que de 2 121 secreciones examinadas, únicamente se logró aislar una cepa de *L. monocytogenes*, que fue enviada también al Dr. Gray para su confirmación. El estudio en este mismo grupo de mujeres se completó con la investigación de anticuerpos anti-*listeria* en sus sueros. Se emplearon una reacción de aglutinación con antígenos flagelares y

embarazadas empleando antígenos flagelares).

En 1967 se realizó una encuesta semejante en Puebla, con Victoria y Vanzini⁸ tanto en óbitos fetales como en niños cuyo nacimiento estaba relacionado con signos de amnionitis, logrando aislar dos cepas de *L. monocytogenes* que fue tipificada como 4b en dos niños nacidos muertos. Los datos recogidos en el hospital de Puebla señalan que en la época de nuestro estudio se atendieron 172 partos con 14 muertes perinatales, 13 de las cuales se atribuyeron a una causa séptica, por lo

TABLA 2

PRINCIPALES DATOS CLINICOS DE LOS CASOS ESTUDIADOS

NÚMERO	TIEMPO DE APARICION DE LOS SINTOMAS	SEXO	MEIN- GITS	TEMPERATURA	EXANTEMA	OTROS SIGNOS RELEVANTES	EVOLUCION	TRATAMIENTO	Tipo de <i>Listeria</i>
25984	24 horas	Masculino	No	Baja	No hay	Equimosis, cianosis, cabeza grande, piel de mal olor.	Recuperóse sin secuelas	Penicilina 50 000 U cada 8 horas	Tipo 1
27343	1 hora	Masculino	No	Baja	Si hay después de 24 horas	Equimosis, ictericia, hepatomegalia, insuficiencia respiratoria, edema y cianosis.	Murió a las 26 horas de nacido	No se administraron antibióticos	Tipo 1
29719	3 horas	Femenino	Si	Baja	Si hay después de 13 horas	Insuficiencia respiratoria, cianosis +, edema + +, convulsiones y grito cefálico.	Murió a las 26 horas de nacido. Cabeza en hiperflexión.	Penicilina 500 000 U cada 12 horas	Tipo 4b
30410	72 horas	Femenino	No	40 °C	Si hay después de 48 horas	Hepatomegalia, no toma líquidos, evacuaciones verdes, cianosis.	Mejora al día siguiente de aplicar te-traciclina; se recupera sin secuelas.	Penicilina 1 000 U cada 12 horas, sol. glucosada al 5% oral, te-traciclina 50 mg. cada 12 horas. Clo-ramfenicol.	Tipo 4b

CARACTERES GENERALES DEL CULTIVO DE CEPAS DE *LISTERIA* ESTUDIADAS

CEPA	Gelosa triptosa X	Gelosa triptosa telurito	Gelosa sangre	Catalasa	Crecimiento en caldo	Leche tornasolada	Sin a 37°C	Gelatina 22°C	Voges-Proskauer	Rojo de metilo
*KC225	1 mm. ATWOBP	GOp	2 mm. HPTBE	+	US	R	M	M	+	+
** (1) del HI	1 mm. ATEOBP	GOp	1.5 mm. HPTBE	+	US	R	M	M	+	+
** (2) del HI	1 mm. ATEOBP	GOp	2 mm. HPTBE	+	US	R	M	M	+	+
25984	1 mm. ATEOBP	GOp	1 mm. HPTBE	+	US	R	M	M	+	+
27343	1 mm. ATEOBP	GOp	1 mm. HPTBE	+	US	RI	M	M	+	D'
29719	1 mm. ATEOBP	GOp	1 mm. HPTBE	+	US	R	M	M	+	—
30410	1 mm. ATEOBP	Np	1.5 mm. HPTBE	+	US	R	M	M	+	D'
847	1 mm. ATEOBP	Np	1.5 mm. HPTBE	+	US	R	M	M	+	+
228	1 mm. ATEOBP	GOp	2 mm. HPTBE	+	US	R	M	M	+	+

A.—Azulosa (HENRY). T.—Translúcida. E.—Borde Entero. O.—Centro Opaco. B.—Brillante. W.—Borde Ondulado. P.—Plana. N.—Negro. G C.—Gris Claro. G O.—Gris Oscuro. P.—Pequeña Puntiforme. H.—Hemolítica (Beta) U.—Turbiedad Uniforme. S.—Sedimento Pulverulento. R.—Reducción en 48 horas. I.—Acido en 96 horas. M.—Móvil. * Cepa del CDC de Atlanta, Ga. ** Cepas del Hospital Infantil, —Dudoso

que la frecuencia de aislamiento de *Listeria* (555 por 10^5) fue bastante superior a la que obtuvimos en la ciudad de México (82.6 por 10^5).

En un intento de conocer el por qué del fracaso en el aislamiento de *Listeria* cuando se intentó hacerlo en la secreción vaginal, se estudiaron con Sandoval²⁵ algunos de los factores que pudieran haber influido en nuestro poco éxito. Los factores estudiados fueron los siguientes: pH de la secreción, antagonismo ejercido por otras bacterias vaginales, posible acción bactericida de la secreción cervical, así como la sensibilidad de los medios de cultivo empleados en el estudio anterior. Nuestros resultados indicaron que *L. monocytogenes* es bastante sensible a los pH ácidos particularmente cuando éstos están condicionados por altas concentraciones de ácido láctico (un pH de 6.5 ajustado con ácido láctico es inhibitorio). Fueron probadas, por el método de la estría cruzada la posible actividad antagónica de las siguientes bacterias: *Escherichia coli*, *Klebsiella*, *Streptococcus faecalis*, *Streptococcus pyogenes*; *Micrococcus*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Proteus mirabilis*. Estas especies fueron escogidas porque en un trabajo previo²⁶ se había encontrado que ellas formaban parte importante de la flora vaginal. Excepción hecha de *Pseudomonas*, ninguna de las especies anotadas ejerció actividad antagónica frente a cinco cepas de *Listeria* que nos sirvieron de organismos de prueba. En cuanto a la actividad inhibitoria del moco cervical, se probó ésta en gelosa triptosa en la que se sembró una capa de medio mezclado

con un inóculo de *L. monocytogenes*. Se hicieron pozas en la gelosa que se llenaron con 0.03 ml. de moco normal y diluciones del mismo al 1:10, 1:100 y 1:1000. En ningún caso, ni con ninguna de las cepas de listeria que probamos, logramos comprobar actividad inhibitoria del moco y aún, en algunos casos, el organismo creció en los bordes mismos de las pozas.

Se probaron también los medios de cultivo que habían sido empleados en el trabajo anterior (gelosa triptosa, gelosa sangre, gelosa GC y gelosa triptosa con 0.03% de telurito de potasio). Se sembró un inóculo conocido y se logró la recuperación casi integral del inóculo en gelosa triptosa y gelosa sangre (98 a 100%), menos en gelosa telurito (65 a 67%) y mucho menos en gelosa GC (43 a 47%). Cuando el inóculo se mezcló con secreciones vaginales la pérdida de listerias fue mucho más acentuada y sólo en 5 casos de 39 sembrados se logró la recuperación casi total del microorganismo, en tanto que en 19 casos se perdieron totalmente. No pudimos establecer ninguna relación entre pH o el organismo predominante en la flora y la actividad antilisterica que exhibía el exudado.

Recientemente hemos tratado de ampliar nuestra experiencia con relación al empleo de los métodos serológicos en el diagnóstico de la infección listérica, a sabiendas de que estos métodos no son admitidos por muchos autores³ que consideran que es difícil de resolver el problema que plantea la existencia de antígenos heterogenéticos, comunes entre *Listeria monocytogenes*

y otros organismos que muy frecuentemente parasitan al hombre y los animales domésticos. Originalmente se inició el estudio con la intención de valorar una nueva técnica de titulación de anticuerpos, propuesta por Njoku-Obi y cols.,²⁷ empleando el método de inhibición de la hemólisis. Para hacer esta valoración estudiamos un grupo de 250 mujeres embarazadas en cuyos sueros se practicaron reacciones de aglutinación con antígenos somáticos y flagelares de los tipos 1 y 4b monovalentes, reacciones de fijación de complemento con antígenos de los mismos tipos y reacción de inhibición de la

hemólisis siguiendo la técnica de Njoku-Obi y cols.²⁷ para la obtención de la hemolisina y cepas de gran actividad hemolítica proporcionadas por Eveland de la Escuela de Salud Pública de la Universidad de Michigan, en Ann Arbor. Los resultados de las pruebas serológicas fueron comparadas con el desenlace del embarazo tratando de estimar si había alguna correspondencia entre la presentación del aborto o muerte perinatal y los títulos altos de anticuerpos revelados por estas pruebas. Los datos obtenidos por nosotros y su valoración estadística son resumidos en las tablas 6 a 12.

TABLA 6

INVESTIGACION DE ANTICUERPOS ANTILISTERIA EN 250 SUEROS DE MUJERES EMBARAZADAS UTILIZANDO ANTIGENOS SOMATICOS.
ANTIGENO SOMATICO 1

Títulos de aglutinación con antígeno somático del tipo¹

	Neg.	1:20	1:40	1:80	1:160	1:320	1:640	Total
Número	39	21	49	55	48	31	7	250
Por ciento	15.6	8.4	19.6	22.0	19.2	12.2	2.8	100
Casos con aborto	8	2	7	15	19	10	3	64
Por ciento de abortos	20.5	19.3			37.2			
X ²		0.040			6.8			
Probabilidad		Mayor de 0.05			Menor de 0.01			

TABLA 7

INVESTIGACION DE ANTICUERPOS ANTILISTERIA EN 250 SUEROS DE MUJERES EMBARAZADAS UTILIZANDO ANTIGENOS SOMATICOS.
ANTIGENO SOMATICO 4b

Títulos con antígeno somático del tipo 4b

	Neg.	1:20	1:40	1:80	1:160	1:320	1:640	Total
Número	52	40	69	63	26	0	0	250
Por ciento	20.8	16.0	27.6	25.2	10.4	0.0	0.0	100
Casos con aborto	12	8	16	15	9	0	0	60
Por ciento de abortos	23.07	22.7			34.6			
X ²					3.2			
Probabilidad					Mayor de 0.05			

TABLA 8

REACCIONES DE AGLUTINACION EN 250 SUEROS DE MUJERES
EMBARAZADAS EMPLEANDO ANTIGENO FLAGELAR
TIPO 1 DE LISTERIA

Títulos con antígeno flagelar tipo 1

	<i>Neg.</i>	<i>1:20</i>	<i>1:40</i>	<i>1:80</i>	<i>1:160</i>	<i>1:320</i>	<i>Total</i>
Número	170	30	30	14	6	0	250
Por ciento	68	12	12	5.6	2.4	0	100
Casos con abortos	33	5	11	4	3	0	56
Por ciento de abortos	19.4		27.02			50	
X ²			1.6			20.6	
Probabilidad		Mayor de	0.05		Menor de	0.01	

TABLA 9

REACCIONES DE AGLUTINACION EN 250 SUEROS DE MUJERES
EMBARAZADAS EMPLEANDO ANTIGENO FLAGELAR
TIPO 4b DE LISTERIA

Títulos con antígeno flagelar tipo 4b

	<i>Neg.</i>	<i>1:20</i>	<i>1:40</i>	<i>1:80</i>	<i>1:160</i>	<i>1:320</i>	<i>Total</i>
Número	242	7	1	0	0	0	250
Por ciento	96.8	2.8	0.4	0	0	0	100
Casos con aborto	49	6	0	0	0	0	55
Por ciento de abortos	20.24		75			0	
X ²			60.1				
Probabilidad		Menor de	0.01				

TABLA 10

REACCIONES CUANTITATIVAS DE FIJACION DE COMPLEMENTO
EN 250 SUEROS DE MUJERES EMBARAZADAS
EMPLEANDO ANTIGENO DE TIPO 1

Unidades Kolmer

	<i>Neg.</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>	<i>8</i>	<i>16</i>	<i>32</i>	<i>Total</i>
Número	122	9	33	1	49	29	7	250
Casos con abortos	22	1	0	0	13	11	2	57
Por ciento de abortos	18.03		27.3			30.6		
X ²			2.4			4.3		
Probabilidad		Mayor de	0.05		Menor de	0.01		

TABLA 11

REACCIONES CUANTITATIVAS DE FIJACION DE COMPLEMENTO
EN 250 SUEROS DE MUJERES EMBARAZADAS
EMPLEANDO ANTIGENO DEL TIPO 4b

Unidades Kolmer

	<i>Neg.</i>	2	3	4	8	16	32	<i>Total</i>
Número	155	27	13	2	44	9	0	250
Casos con abortos	35	5	4	1	10	2	0	57
Por ciento de abortos	22.6	23.1			22.6			
χ^2		0.007			Valores idénticos			
Probabilidad		Mayor de 0.05						

TABLA 12

INVESTIGACION DE ANTIGUERPOS ANTILISTERIA EN 250 SUEROS
DE MUJERES EMBARAZADAS POR REACCIONES
DE INHIBICION DE LA HEMOLISIS

Título máximo de inhibición de la hemólisis

	<i>Neg.</i>	1:8	1:32	1:128	1:512	1:2048 ó más	<i>Total</i>
Número	83	1	19	18	12	113	250
Casos con abortos	21	0	6	7	2	27	63
Por ciento de abortos	25.3	0	31.5	38.8	12.5	23.8	

En las tablas anteriores se puede observar que hay una correspondencia estadísticamente significativa entre los títulos con antígenos somáticos y flagelares del tipo 1 mayores de 1 : 60 y la presentación del aborto. Esta correspondencia no se establece cuando se emplea el antígeno somático 4b, quizás en parte debido a la pequeña cantidad de reacciones positivas que se obtuvieron con este antígeno. Esto puede estarnos indicando una baja frecuencia de infecciones con este tipo, aunque los resultados de la tipificación de las pocas cepas aisladas en México no justifican la explicación, ya que se han aislado en igual número cepas de los dos

tipos, aunque dado el escaso número de cepas que se han aislado estos datos pueden no ser representativos. Por otra parte, hay que pensar que todas las reveladas por los métodos serológicos deben ser infecciones subclínicas y no infecciones evidentes como lo fueron las que dieron origen al aislamiento de las cepas. En cuanto a las reacciones de fijación de complemento la interpretación es prácticamente la misma de las reacciones de aglutinación cuando se emplea el antígeno de tipo 1, y se toman en cuenta títulos mayores de 8 unidades Kolmer. Los resultados de las reacciones de inhibición de la hemólisis en cambio, fueron total-

mente erráticos por lo que se puede pensar en la existencia de inhibidores no específicos que impiden la correcta respuesta y hacen imposible la interpretación.

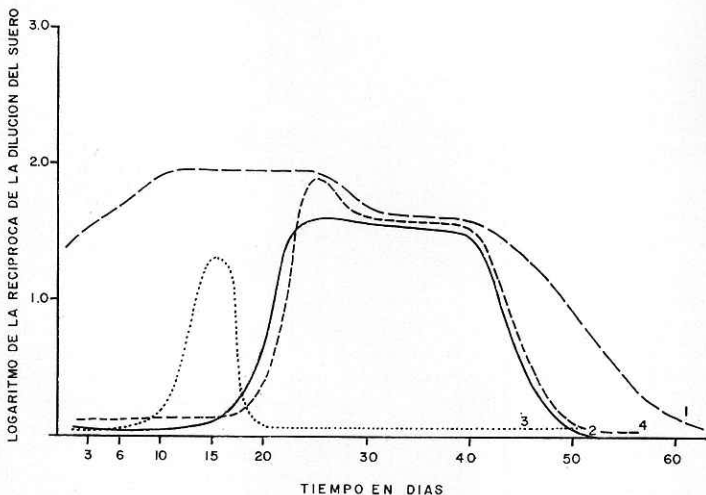
Intentando comprobar lo anterior en

vencia del animal por más de 60 días; 4) inoculación por vía endovenosa de una suspensión de *Streptococcus faecalis*. Tanto esta suspensión como las de *Listeria* fueron igualadas a una opacidad equivalente al No. 9 del nefeló-

FIGURA 1.

INOCULACION EN ANIMALES

Sensibilidad y especificidad de las reacciones de aglutinación tanto con anticuerpos homólogos como heterólogos de los 4 grupos de conejos utilizados. Títulos con antígeno flagelar de *Listeria monocytogenes* tipo 1.



animales de experimentación, se inoculaban cuatro grupos de conejos en la siguiente forma: 1) Inoculación de *L. monocytogenes* del tipo 1 por vía endovenosa; 2) inoculación de la misma suspensión por vía conjuntival; 3) inoculación de una suspensión de *Staphylococcus aureus* por vía endovenosa en dosis tal que permitiera una supervi-

metro de Mac Farland. Se determinó el título de anticuerpos los días 3, 6, 10, 15, 20, 30, 40, 50 y 60 después de la inoculación y con los datos obtenidos se trazaron las curvas de respuesta que se indican en las figuras 1 y 2.

El estudio de estas curvas justifica, hasta cierto punto, la adopción de un horizonte diagnóstico puesto que al pa-

recer los estímulos heterólogos no son de tal magnitud que provoquen una respuesta muy alta de anticuerpos; sin embargo, hay que hacer notar, en la

En conclusión, se puede decir que hemos podido corroborar que existe la infección listérica en nuestro país, no sólo como infección meningítica espo-

FIGURA 2

INOCULACION EN ANIMALES

Sensibilidad y especificidad de las reacciones de aglutinación tanto con anticuerpos homólogos como heterólogos de los 4 grupos de conejos. Títulos con antígeno somático tipo 1 de *Listeria monocytogenes*.

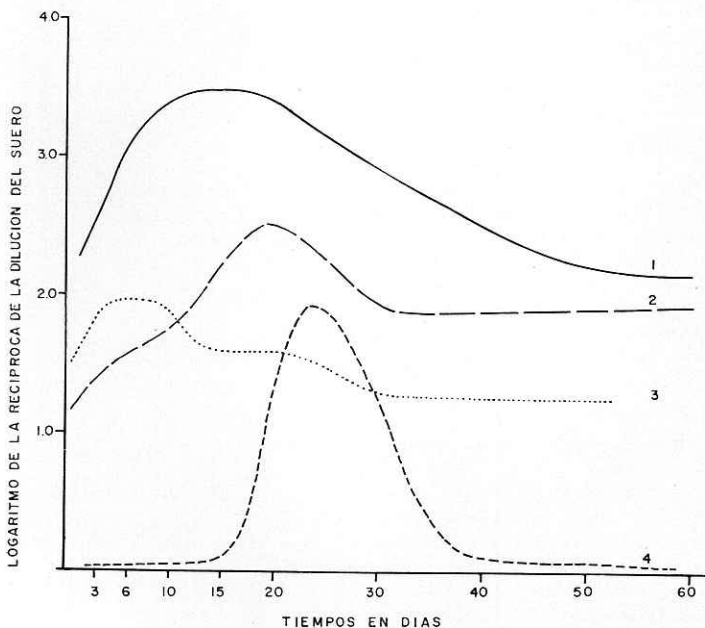


figura 2 que la estimulación con *Streptococcus faecalis* sí produce una respuesta semejante a la de *Listeria*, como ya había sido anotado por Gray.³

rádica, sino como un problema perinatal que iguala en frecuencia a como aparece en otras partes del mundo (82.6 por 10⁵ partos en México y 555

por 10^5 en Puebla comparado con 67 por 10^5 encontrado por Hood²⁸ en Louisiana y 150 por 10^5 establecido por Bruenning y Fritsch²⁹ en Leipzig). Se recomienda el método de Gray de incubación en el refrigerador por tiempo prolongado, que si bien no nos proporciona un diagnóstico oportuno puede darnos datos que enriquezcan la epidemiología de la infección listérica, en su forma meníngea. Es indispensable que clínicos y microbiólogos tomen en cuenta la infección listérica como una enfermedad perinatal cuya frecuencia en el niño debe ser establecida. Las reacciones de aglutinación y fijación de complemento pueden ser auxiliares útiles en el diagnóstico de la infección materna si se interpretan con cautela y, posiblemente, la elevación del título puede tener aún más significación como lo afirman Gray y Killinger.³ En la interpretación de estas reacciones debe adoptarse un horizonte diagnóstico que posiblemente sea peculiar para cada área geográfica.

SUMMARY

Attention is called on the existence of the listeric infection in Mexico, mainly as a problem which affects newborn babies. The frequency of this perinatal infection in Mexico is similar or higher than in other countries (82.6 per 10^5 in Mexico City and 555 per 10^5 in the City of Puebla).

Gray's enrichment method by incubation of the specimen at low temperature was applied in the study of spinal fluids from children with diagnosis of meningitis. Two strains of *Listeria mo-*

nocytogenes were isolated by this procedure.

Serological methods were carried out trying to obtain an early diagnosis of listeric infections in the pregnant women. Three techniques were employed: agglutination with flagellar and somatic antigens, complement fixation and haemolysis inhibition. The results were compared with the frequency of abortion in the same group of women. A statistically significant correlation between high titres of antibodies obtained by agglutination or complement fixation and the presence of miscarriage was found.

The isolation of *Listeria monocytogenes* from vaginal discharges of pregnant women before delivery was attempted without any success. One strain of listeria was isolated from 2121 vaginal discharges studied.

Up to date, 15 strains of *L. monocytogenes* have been isolated in Mexico. All of them belong to the types 1 and 4 b.

REFERENCIAS

1. Gray, M. L.: *Listeria monocytogenes and listeric infections in the diagnosis laboratory*. Ann. N. York Acad. Sci., 98: 686, 1961.
2. Seeliger, H. P. R. y Cherry, W. B.: *Human listeriosis. Its nature and diagnosis*. U. S. Dep. Health, Ed. & Welfare, P.H.S., C.D.C., Atlanta, Ga., 1957.
3. Gray, M. L. y Killinger, A. H.: *Listeria monocytogenes and listeric infections*. Bact. Rev., 30: 309, 1966.
4. Seeliger, H. P. R.: *Listeriosis*. N. York, Hafner Pub. Co., 1961.
5. Gardida, A. y Vergara, L.: *Meningoencefalitis por Listeria monocytogenes. Historia de un caso*. Bol. Méd. Hosp. Inf. Méx., 17: 396, 1960.
6. Olarte, J.; Mendoza, P.; Vergara, L.

- y Gardida, A.: *Infección por Listeria monocytogenes en la C. de México. Su hallazgo en dos niños con meningitis y en una persona adulta con septicemia*. Bol. Méd. Hosp. Inf. Méx., 20: 161, 1963.
7. Pérez-Miravete, A. y Giono, S.: *La infección perinatal listérica en México. II. Aislamiento de Listeria monocytogenes en septicemia del recién nacido*. Rev. Inst. Sal. Enf. Trop. Méx., 23: 104, 1963.
8. Victoria, R.; Vanzini, V. y Pérez-Miravete, A.: *Aislamiento de Listeria monocytogenes relacionada con aborto y muerte perinatal en la C. de Puebla*. Rev. Inv. Salud Pública, 27: 129, 1967.
9. Ramírez-Aguilar, A.; Pérez-Miravete, A. y Trejo, S.: *Aislamiento de Listeria monocytogenes en LCR de niños con diagnóstico de meningoencefalitis*. Bol. Méd. Hosp. Inf. México, 24: 655, 1967.
10. Bessudo, D.; Sánchez, J. M. y Martínez, A.: *Un caso de meningitis purulenta producida por Listeria monocytogenes*. Bol. Méd. Hosp. Inf. Méx. 22: 321, 1965.
11. Murray, E. G. D.; Webb, R. A. y Swann, M. B. R.: *A disease of rabbit characterized by large mononuclear leucocytosis caused by a hitherto undescribed bacillus, Bacterium monocytogenes (n. sp.)*. J. Pathol. Bacteriol. 29: 407, 1926.
12. Murray, E. G. D.: *A retrospect of listeriosis. Second Symposium on listeric infection*. Editado por M. L. Gray. Montana State College, Bozeman, 1963.
13. Burn, C. G.: *Clinical and pathological features of an infection caused by a new pathogen of the genus Listerella*. Am. J. Path. 12: 341, 1936.
14. Schultz, E. W.; Terry, M. C.; Brice Jr., A. T. y Gebhardt, L. P.: *Bacteriological observations on a case of meningoccephalitis*. Proc. Soc. Exper. Biol. Med. 31: 1021, 1934.
15. Poston, M. A.; Upchurch, S. E. y Booth, M.: *Listerella meningitis*. J. Pediat., 11: 515, 1939.
16. Casey, B. W.: *Infection with an organism of the genus Listerella. Report of a case of acute cerebro-spinal meningitis with recovery*. J. Pediat. 8: 626, 1936.
17. Gray, M. L.: *Listeric infection in the United States. Second Symposium on listeric infection*. Editado por M. L. Gray, Montana State College, Bozeman, 1963. p. 290.
18. Jensen, O. y Bojsen-Moeller, J.: *The frequency and clinical types of human listeriosis. A four year study in Denmark. Second Symposium on listeric infection*. Editado por M. L. Gray. Montana State College, Bozeman, 1963. p. 252.
19. Varela, G.; Schnaass, G. y Gómez, J.: *Hallazgo de Listeria monocytogenes*. Rev. Inst. Sal. Enf. Trop. Méx. 19: 251, 1959.
20. Eveland, W. C.: *Demonstration of Listeria monocytogenes in direct examination of spinal fluid by fluorescent antibody technique*. J. Bacteriol. 85: 1448, 1963.
21. Gray, M. L.; Stafseth, H. J.; Thorp, F.; Sholl, L. B. y Riley, W. E.: *A new technique for isolating Listerellae from the bovine brain*. J. Bacteriol. 55: 471, 1948.
22. Anton, W.: *Kritisch-experimenteller Beitrag zur Biologie des Bakterium monocytogenes. Mit besonderer Berücksichtigung seiner Beziehung zur infektiösen Mononukleose des Menschen*. Zentr. Bakteri. Parasitenk. Abt. I Orig. 131: 89, 1934.
23. Potel, J.: *Zur Granulomatosis infantisepica*. Zentr. Bakteri. Parasitenk. Abt. I Orig. 158: 329, 1952.
24. Giono, S. y Pérez-Miravete, A.: *La infección perinatal listérica en México. I. Investigación de Listeria monocytogenes en exudado vaginal*. Rev. Inst. Sal. Enf. Trop. Méx. 23: 95, 1963.
25. Pérez-Miravete, A. y Sandoval, D.: *Estudio de algunos factores que afectan el aislamiento de Listeria monocytogenes de exudado vaginal*. Rev. lat-amer. Microbiol. Parasitol. 8: 71, 1966.
26. Pérez-Miravete, A.: *Estudios sobre flora vaginal. X. Microorganismos de la flora vaginal y cervical de exudados estudiados en la C. de México*. Rev. lat-amer. Microbiol. 6: 51, 1963.
27. Njoku-Obi, A. N.; Jenkins, E. M.; Njoku-Obi, C.; Adams, J. y Covington, V.: *Production and nature of Listeria monocytogenes hemolysins*. J. Bacteriol. 86: 1, 1963.
28. Hood, M.: *Listeriosis as an infection*

- of pregnancy manifested in the newborn. *Acta Pediat.* 48: 631, 1961.
29. Ruffolo, E. H.; Wilson, R. B. y Weed, L. A.: *Listeria monocytogenes as a cause of pregnancy wastage.* *Obst. & Gynecol.* 19: 533, 1962.
30. Méndez, D.: *Cuadros clínicos de listeriosis.* *Rev. lat.-amer. Microbiol. Parasitol.* 8: 101, 1966.
31. Roch, E.; Varela, G. y Bravo-Beche-
relle, M.: *Influencia de la listeriosis en la mortinatalidad en la C. de México.* *Rev. Inst. Sal. Enf. Trop. Méx.* 23: 125, 1963.

COMENTARIO OFICIAL

DR. JOSÉ SOSA-MARTÍNEZ¹

LA DETERMINACIÓN de la etiología de las enfermedades infecciosas ha pasado por varias fases en una transformación gradual ocasionada por la adquisición de conocimientos filosóficos y por avances en la técnica de aislamiento y estudio de los agentes patógenos. A partir del descubrimiento del papel patógeno de las bacterias y de los virus efectuado por Pasteur, las develaciones sucesivas de la etiología de las enfermedades infecciosas: estreptococcias, estafilococcias, cólera, tuberculosis, gonorrea, sífilis, etc., fueron ocurriendo a velocidad casi vertiginosa para aquellos tiempos. Después, una vez resueltos los problemas fáciles de diagnóstico etiológico vino una época de velocidad decreciente en donde las dificultades técnicas de aislamiento unidas a la necesidad de investigaciones más sistemáticas ocasionaron no solamente una disminución en el número de descubrimientos sino también confusiones en cuanto al papel etiológico de algunos microorganismos en relación a ciertas enfermedades.

fluenzae la causa de la influenza.

En épocas recientes, los adelantos en la tecnología de medios de cultivo de agentes patógenos, por ejemplo, de cultivo de tejidos en el aislamiento de virus, nos llevaron

a una fase en que los congeladores de los laboratorios se llenaron de virus recuperados de los más diversos estados patológicos, y aún de personas normales, sin que se conocieran sus propiedades etiopatogénicas, al grado que hasta hubo la necesidad de formar un grupo de virus denominados "huérfanos", por ejemplo los ECHO, término formado por las siglas de virus huérfanos humanos citopatogénicos entéricos.

Sin embargo, desde hace tiempo ha existido un capítulo importante en la investigación bacteriológica: aquél en donde se conoce la existencia de una infección pero no se encuentran los casos clínicos o no se logra hacer el diagnóstico.

Lo anterior es la resultante de complejos fenómenos en donde entran en juego factores como: baja frecuencia de casos, variación en las manifestaciones clínicas, infecciones subclínicas predominando sobre los casos de enfermedad, situación ecológica especial, dificultades técnicas en el diagnóstico de laboratorio, etc. Así recordemos ejemplos pertinentes: a) antes de 1948, en México difícilmente se observaban casos de poliomiелitis paralítica, a pesar de que el 100 por ciento de la población joven y adulta había sufrido la infección por el poliovirus; b) El *Trypanosoma cruzi* abunda en la naturaleza infectando vectores, como triato-

¹ Académico numerario. Escuela Superior de Medicina, Instituto Politécnico Nacional.