

BRUCELOSIS

Una patología generalmente subdiagnosticada en Humanos y que impacta negativamente en la producción pecuaria y desarrollo de nuestros países.

Juan Lucas Sbriglio
Dr. Humberto Sbriglio
Bioq. Sergio Sainz

La brucelosis es una zoonosis de origen animal que, por sus características epidemiológicas y evolutivas, genera un importante impacto social y económico; ocasiona enormes pérdidas a la industria pecuaria y representa un verdadero riesgo ocupacional para las personas que trabajan con derivados pecuarios o que consumen productos crudos provenientes de animales infectados. La patología en animales y humanos es de distribución cosmopolita y continúa causando morbilidad en todo el mundo. Si bien se desconoce su incidencia real, se sabe que puede ser hasta 26 veces mayor que la reportada oficialmente. En algunos países la brucelosis es un problema de importancia para la salud humana y que merece una pronta atención (Tabla 1).

Tabla 1. Casos de brucelosis humana en América Latina 1997-2002 (1)

Año	Colombia	Ecuador	Perú	Venezuela	México	Argentina	Chile
2002	ND*	ND	901	7	3.013	0	12
2001	27	ND	372	7	3.013	ND	11
2000	ND	0	1.872	1	2.171	507	9
1999	42	5	ND	ND	2.719	353	21
1998	82	10	1.269	3	3.550	ND	4
1997	42	5	ND	11	3.387	376	ND

ND: no disponible

La bacteria tiene una alta virulencia, reconocida por el personal de laboratorios clínicos donde son frecuentes los contagios debidos a la manipulación inadecuada de las muestras contaminadas. A pesar de que existen vacunas para animales, no hay una vacuna eficiente y segura para los humanos. El tratamiento antibiótico, en caso de infección, debe ser prolongado y no siempre es curativo.

LA HISTORIA:

La brucelosis humana fue conocida antiguamente como la fiebre de Malta, fiebre ondulante y fiebre mediterránea, su cuadro clínico fue descrito por primera vez por Marston en 1859. La historia de esta enfermedad se remonta a fines del siglo XIX en la isla de

Malta, donde las tropas inglesas allí apostadas, sufrían el embate de una afección que ocasionaba la muerte de una regular número de soldados. Ante esta situación el Gobierno Inglés en 1904 envió una comisión investigadora llamada "Mediterranean Fever Commission" presidida por el médico anatómo-patólogo militar David Bruce quien ya en 1887, había descubierto unos microbios pequeños en bazos hipertrofiados de soldados fallecidos en Malta. Al cabo de un año consiguió el aislamiento y cultivo de la bacteria a la que llamó *Micrococcus Melites*. En 1905 el médico maltés Themistokles Zammit determinó el papel de las cabras y el consumo humano de sus sub-productos (queso, leche, etc.) en la enfermedad.

En 1896 el Veterinario danés Bang, identificó al microbio causante del aborto epizootico bovino, pero fue en 1918 cuando la microbióloga norteamericana Alice Evans, comparó los microbios aislados de Bruce y de Bang comprobando su semejanza y en 1920 se engloban con el nombre *Brucella* en honor a su descubridor.

A partir de aquí, diferentes investigadores hallan bacterias en variados animales, que forman parte del genero *Brucella*. Actualmente este genero incluye 7 especies: *B. mellitensis*, *B. abortus*, *B. suis*, *B. neotomae*, *B. canis*, *B. ovis* y *B. maris* (Mamíferos marinos). Con la excepción de *B. ovis* y *B. neotomae*, todas son patógenas para el hombre (Ver tabla 2). Ahora sabemos que la bacteria responsable de la fiebre de Malta es la *B. melitensis*.

Tabla 2. Especies del género *Brucella* (6)

Especie	Biovar	Patogenicidad para el hombre	Huésped natural preferido (reservorio)	Contagio ocupacional
<i>B. melitensis</i>	1	Alta	Cabras y ovejas	***
	2	Alta		
	3	Alta		
<i>B. abortus</i>	1-7	Moderada	Bovinos	Frecuente
<i>B. suis</i>	1	Alta	Cerdos	Frecuente
	2	Sin notificación	Cerdos y liebres	
	3	Alta	Cerdos	
	4	Moderada	Perros	
	5	Alta	Cerdos	
<i>B. ovis</i>	***	Sin notificación	Ovejas	***
<i>B. neotomae</i>	***	Sin notificación	Ratas	***
<i>B. canis</i>	***	Baja	Perros	***

EL MICROORGANISMO:

Morfología. *Brucella* es una bacteria Gram negativa que es observada al microscopio como cocobacilos de 0,5 a 0,7 µm de diámetro y de 0,5 a 1,5 µm de largo. No produce



cápsula ni esporas y tampoco posee movilidad. Su temperatura óptima de crecimiento es de 37 °C en un pH de 6,6 a 7,4. Es aeróbica estricta teniendo un transporte de electrones basado en citocromos utilizando el oxígeno o el nitrato como aceptor final de electrones. Es catalasa positiva y a pesar de ser considerada un organismo fastidioso por sus requerimientos en el cultivo puede crecer en medios nutritivos mínimos. Se trata de un patógeno intracelular "facultativo".

Después de su entrada en el organismo, la bacteria invade primero los ganglios linfáticos regionales; si vence esta barrera del sistema inmunitario, se propaga, por vía linfática o sanguínea, en el hígado, bazo y genitales. Se aloja, paradójicamente, en las células fagocíticas. Si resiste el ataque del sistema inmunitario, la bacteria empieza a multiplicarse en diferentes órganos. Lo mismo que en otras bacterias gramnegativas, los componentes de la envoltura celular de *Brucella* tienen mucho que ver con esa resistencia. No es de extrañar, por tanto, que este microorganismo, que se ha adaptado a medios tan hostiles como el interior de los fagocitos, posea una membrana peculiar.

Como célula bacteriana, la *Brucella* puede ser dividida en varias fracciones, todas mayoritariamente antigénicas, en donde la fracción lipopolisacárido (LPS), que forma parte de la pared celular, es el principal elemento antigénico activo (ver Figura 1). El LPS está compuesto por un oligosacárido unido a un lípido A (que es parte de la membrana celular) y a una proteína (antígeno M). El oligosacárido tiene dos regiones distintas, un centro de polisacárido y un polisacárido de antígeno "O". El LPS es una molécula que se encuentra expuesta hacia el exterior de la membrana externa, orientación que facilita la inducción de anticuerpos dirigidos contra el antígeno "O", que es de gran valor en el diagnóstico de la brucelosis y en la identificación serológica de las especies de *Brucella*. Además es inmunodominante, porque la mayor parte de los anticuerpos en la respuesta humoral están dirigidos hacia este antígeno.

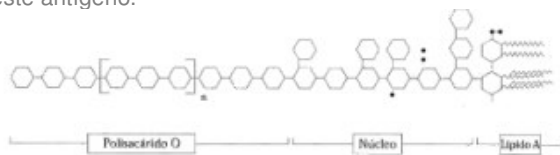


Figura No. 1. Estructura del lipopolisacárido (LPS) de *Brucella*. El polisacárido O está formado por un homopolímero lineal de 10 a 100 perosaminas. El núcleo está compuesto de glucosamina, glucosa, manosa, quinovosamina y contiene poca cantidad de ácido 3-deoxy-D-nanno octulosónico (KDO) y fosfato. El lípido A (endotoxina) de *Brucella* tiene un esqueleto disacárido de alaninoglucoosa y ácidos grasos de larga cadena.

La envoltura celular de *Brucella* es similar en estructura a las Enterobacteriaceae, sin embargo, tiene características que la diferencian de otras bacterias Gram negativas (ver Figura 2). El polisacárido O es capaz de producir reacción cruzada con anticuerpos contra el polisacárido O de *Yersinia enterocolitica* O:9, *Pseudomonas maltophilia* S555, *Vibrio cholera* O1, *E. coli* O157:H7, *Xanthomonas maltophilia* y *Francisella tularensis*.

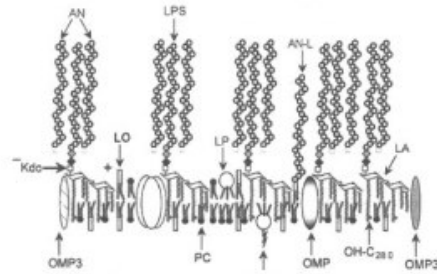
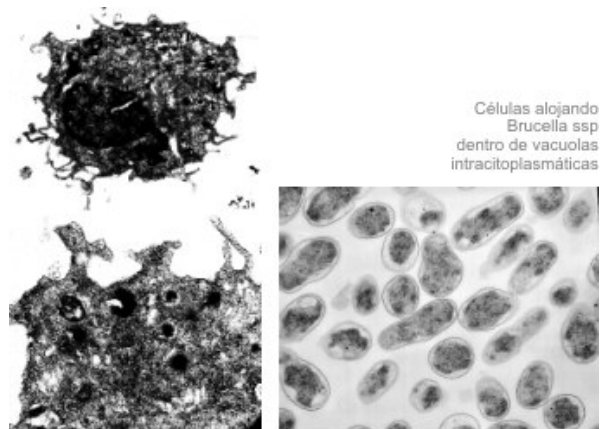


Figura No. 2. Modelo propuesto de la membrana externa de *Brucella*. Tomado y modificado de Freer E. et al. *J. Bacteriol.* 1996. Hapteno nativo: AN. Lípido de ornitina: LO. Lipopolisacárido: LPS. Hapteno ligado: AN-L. Ácido 3-deoxy-D-nanno octulosónico: Kdo. Proteínas de membrana externa tipo 3: OMP3. Fosfatidilcolina: PC. Lipoproteína: LP. Ácido graso saturado con cadena ácida de 30 carbonos con OH en carbono 28: OH-C 28:0. OMP3.

Patogénesis de *Brucella*. Los animales infectados son la principal fuente de dispersión de la bacteria, siendo las secreciones genitales o mamarias el principal vehículo de contaminación. *Brucella* tiene la capacidad de adherirse y penetrar las conjuntivas o la piel lesionada de humanos, luego es fagocitada por polimorfonucleares neutrófilos (PMN) y por monocitos, sobreviviendo intracelularmente, de esta manera evade los mecanismos de defensa celulares y humorales. Así la bacteria se asegura un mecanismo de transporte dentro de los fagocitos, diseminándose a diferentes órganos y produciendo, cuando destruye a sus células transportadoras, las bacteriemias características que definen el cuadro clínico. *Brucella* también es capaz de inducir su propia internalización en células que no son fagocíticas activas como los fibroblastos y células epiteliales y una vez dentro de la célula consigue establecerse en el retículo endoplásmico donde permanece y se multiplica. La localización final de *Brucella* en los tejidos de los animales preñados es la placenta, donde alcanza concentraciones muy altas de aproximadamente 1010 bacterias por cm³. Esto produce finalmente una placentitis severa con infección del feto y aborto.



Células alojando *Brucella* ssp dentro de vacuolas intracitoplasmáticas

Factores de virulencia. A diferencia de muchas bacterias patógenas intracelulares, *Brucella* no posee los tradicionales factores de virulencia como plásmidos o bacteriófagos lisogénicos que le confieran virulencia, no

produce exotoxinas, no tiene cápsula que la proteja de la fagocitosis, ni muestra variación antigénica. Sin embargo, es una bacteria muy virulenta y patogénica en su huésped natural. En su contacto inicial con el huésped *Brucella* es fagocitada por el PMN o el macrófago no activado localizándose dentro de vacuolas intracitoplasmáticas. De alguna manera es capaz de evadir los mecanismos microbicidas intracelulares permaneciendo y multiplicándose dentro de las vacuolas, sugiriendo una buena adaptación a la vida intracelular. *Brucella* es capaz de evadir o resistir los mecanismos de defensa de los PMN y Monocitos porque ha demostrado ser muy eficiente en su vida intracelular y tiene gran capacidad de diseminarse y de producir bacteriemias frecuentes, que se asocian a los cuadros febriles. Es muy probable que la composición de la membrana externa de *Brucella* y dentro de esta el LPS sea el responsable de esta especial resistencia a diferentes mecanismos microbicidas.

Lo controversial de esta infección es que a pesar de que su agente causal tenga poca actividad biológica *in vitro* e *in vivo* y que no posea factores de virulencia clásicos, es muy contagioso, patogénico, eficiente en autoperpetuarse en los rebaños y productor de grave enfermedad en los hospederos no naturales como los humanos. Además, la enfermedad es muy difícil de curar y a pesar del tratamiento con antibióticos es capaz de hacerse crónica y producir complicaciones mortales.

LA ENFERMEDAD:

La OMS en 1968 afirmó que: "la brucelosis es responsable de más enfermedades, miserias y pérdidas económicas que cualquier otra enfermedad animal conocida que afecte a los humanos". Por sus características, la brucelosis no puede ser entendida, tratada y mucho menos erradicada, si no es con trabajo interdisciplinario de Médicos, Veterinarios, Bioquímicos, Científicos y Biólogos.

La brucelosis es una enfermedad que además de afectar a la salud humana provoca un gran impacto en las economías regionales que va en desmedro de la producción pecuaria y del valor comercial de sus derivados: puede generar barreras en la comercialización de los animales y de sus productos derivados, además de las pérdidas que produce por abortos.

La aparición de esta patología en humanos siempre se asocia a la enfermedad en el ganado. Para lograr un adecuado control de la enfermedad en el hombre es fundamental el desarrollo de programas de vacunación del ganado. Asimismo, la vigilancia epidemiológica en la población expuesta es fundamental, ya que un diagnóstico temprano permite una rápida mejoría, que evita las complicaciones secundarias a la cronicidad de la enfermedad.

La enfermedad en el ganado. La bacteria generalmente se localiza en los tejidos reticuloendoteliales, órganos reproductivos (horquitis y epididimitis), articulaciones y huesos (osteomielitis o mal de la cruz en equinos infectados con *B. abortus*).

Ocasiona infecciones crónicas caracterizadas por bacteriemias recurrentes o persistentes que culminan en el aborto en vacas, ovejas y cabras, además de infectar los órganos reproductivos del macho y causarles lesiones de consideración.

La enfermedad acostumbra cursar sin signos externos. Las manifestaciones clínicas más frecuentes son los abortos (causa hasta 65% de los abortos en vacas, cerdos, ovejas y cabras), el nacimiento de animales inviables y las alteraciones en el aparato genital de los machos. En los animales infectados, las bacterias son excretadas durante el aborto o parto; se encuentran en grandes cantidades (hasta diez billones de brucelas por gramo) en el calostro y leche, en el exudado vaginal y en los órganos del abortado.

Es una enfermedad netamente reproductiva aunque no venérea (salvo en los cerdos cuya eyaculación es intrauterina y en los caninos donde esta vía de contagio también es probable) lo que le confiere tanto sanitaria como económicamente una importancia que no debe subvalorarse. Es por esta razón que la OMS (organización, mundial de la salud) y otros organismos han establecido planes para eliminar y erradicar la Brucelosis tanto en Europa como en América Latina como es el Programa PANAFTOSA, en el que se encuentra incluido nuestro país.

En nuestro país contamos con un plan de erradicación de la brucelosis con vacunación obligatoria en ganado bovino de hembras entre 3 a 9 meses de edad con una vacuna viva atenuada (Cepa 19). Merece especial mención la introducción en Chile, en 1997, de la vacuna "RB-51" para uso en ganado bovino que tiene como principales ventajas la eliminación de falsos positivos, se puede aplicar a cualquier edad y la inoculación accidental en el ser humano no produce la enfermedad.

Aunque muchos países han erradicado *B. abortus* del ganado bovino, en otras áreas, la infección por *B. melitensis* esta emergiendo como un importante problema de la salud pública, debido principalmente a que la vacuna *B. abortus* no protege efectivamente contra la infección por *B. melitensis*. Un problema similar ha surgido en Brasil y Colombia, donde la infección por *B. suis* biovar 1 ha aparecido también en los bovinos. Debido a que cada especie de *Brucella* tiene rasgos epidemiológicos característicos, con cada nuevo tipo se incrementa la complejidad de la interacción con el ser humano. El cuadro de estas interacciones permanece incompleto, ya que pueden emerger nuevos tipos y los ya existentes se adaptan a los cambios.

La enfermedad en los humanos. La brucelosis es una enfermedad infecciosa que puede manifestarse de una manera aguda o crónica. El periodo de incubación es usualmente de una a tres semanas, pero eventualmente puede ser de varios meses. La enfermedad puede ser leve, autolimitada o severa. Se constituye como una enfermedad debilitadora caracterizada por un comienzo agudo o insidioso, fiebre continua intermitente o irregular de duración variable, escalofríos, sudor nocturno, fatiga, anorexia, pérdida de peso, cefalea, artralgias, mialgias y malestar generalizado.

La sintomatología de la brucelosis es parecida a la de otras enfermedades febriles, pero con un marcado efecto en el sistema músculo esquelético. Existen adenopatías en el 50% de los casos agudos y esplenomegalia en un 30%. Las complicaciones osteoarticulares se observan en un 20-60% de



los casos, la manifestación articular más común es la sacroileitis. Los síntomas urogenitales pueden dominar la presentación clínica en algunos pacientes, de los cuales, las formas más comunes son la orquitis y la epididimitis. Sin tratamiento, la tasa de letalidad es menor de 2% y, por lo común, sucede a consecuencia de la endocarditis. Cuando la enfermedad es aguda, la toxemia extrema, la trombopenia y la endocarditis pueden llevar a la muerte del individuo. Como promedio, la recuperación ocurre en uno o tres meses, aunque la laxitud permanece por un período más prolongado. Si el proceso persiste por más de un año se considera el diagnóstico de brucelosis crónica. En estos casos el paciente puede presentar febrículas, astenia, pérdida de peso, ansiedad o depresión.

El control de la enfermedad en animales tiene un gran impacto en la reducción de su incidencia en humanos. El prolongado período de postración y los elevados costos del tratamiento de la brucelosis en humanos, tienen un gran impacto en las economías familiares y nacionales, debido a que afecta primordialmente a la población económicamente activa, o sea, el grupo de edades comprendido entre 15 y 44 años. Este grupo está seguido por el de 5 a 14 años, y la menor frecuencia de casos corresponde a los menores de 1 año.

La infección por brucelosis puede ser adquirida por contacto directo con la sangre del animal infectado con soluciones de continuidad en piel de humanos o a través la mucosa conjuntival, o a través el tracto digestivo por consumo de productos lácteos no pasteurizados y muy ocasionalmente por inhalación de aerosoles. Por lo tanto, están expuestos a adquirirla quienes trabajan con ganado como médicos veterinarios, laboratoristas y trabajadores de frigoríficos y mataderos. Las labores más riesgosas para el contacto son: la atención de partos, el sacrificio y el procesamiento manual de la carne del animal. La infección interhumana es poco común, aunque se han reportado casos por transfusión sanguínea y trasplante de médula.

Para la definición de caso, la OMS recomienda:

- Caso presunto: caso que es compatible con la descripción clínica y está vinculado epidemiológicamente a casos presuntos o confirmados en animales o, a productos de origen animal contaminados.
- Caso probable: caso presunto con resultado positivo en la prueba de Rosa de Bengala.
- Caso Confirmado: caso presunto o probable que es confirmado en laboratorio.

DIAGNÓSTICO:

El diagnóstico definitivo y confirmativo se basa en pruebas de laboratorio.

Se considera que el método más confiable para el diagnóstico de una enfermedad infecciosa es el aislamiento e identificación del agente etiológico. En el caso de *Brucella*, el aislamiento e identificación del microorganismo se debe hacer siempre mediante hemocultivo, estos procedimientos son lentos (de una a cuatro semanas), tediosos, poco exitosos, y por su contagiosidad, de gran riesgo para la salud de los

profesionales encargados del estudio. Por estas razones, el examen bacteriológico no siempre es practicable, lo que hace que el diagnóstico se realice generalmente por métodos serológicos rápidos relativamente fáciles de aplicar.

La demostración de anticuerpos específicos es la prueba más comúnmente empleada. Para *Brucella*, se utilizan la prueba de Rosa de Bengala (RB), el método de fijación de complemento (FC), la aglutinación estándar en tubo, la prueba de aglutinación con 2-mercaptoetanol, la prueba de Coombs y determinación de IgG, IgA e IgM por ELISA. Actualmente se han incorporado pruebas de análisis genómico por Biología Molecular, aunque todavía, de muy poca difusión y disponibilidad. Para detectar los anticuerpos divalentes la reacción de aglutinación es el método más práctico, pero en los casos crónicos los títulos de aglutinación pueden ser muy bajos, creando errores interpretativos por no saber si se trata de una antigua infección o de una persona que ha estado en contacto con *Brucella* sin padecer la enfermedad. La demostración de los anticuerpos, llamados univalentes, mediante la técnica de Coombs ayuda a resolver este problema, pues aumentan en los casos crónicos a la vez que disminuyen los anticuerpos divalentes detectados mediante la técnica de aglutinación. Las pruebas de hipersensibilidad mediante la inoculación intradérmica de extractos de *Brucella* poseen solo valor epidemiológico, pues tanto los pacientes con brucelosis como los curados o individuos sanos que han estado en contacto, pueden dar reacción positiva. En síntesis, en nuestro país, el diagnóstico de brucelosis se confirma con el cumplimiento de alguna de las siguientes tres situaciones:

- Aislamiento de *Brucella* sp de una muestra clínica.
- Alza de 4 veces o más en los títulos séricos de aglutinación para *Brucella* entre las fases agudas y de convalecencia de muestras obtenidas en un lapso de 2 o más semanas de separación y estudiadas en el mismo laboratorio.
- Demostración de *Brucella* sp por inmunofluorescencia en una muestra clínica.

TRATAMIENTOS:

A pesar de los extremos estudios realizados en los últimos 15 años, la terapia antibiótica óptima para el tratamiento de brucelosis está aún en discusión.

Debido a que la localización de la *brucella* es intracelular, para su tratamiento se requiere la asociación de más de un antimicrobiano, por varias semanas. La OMS recomienda, para brucelosis aguda en adultos, Rifampicina 600 a 900 mg y Doxaciiclina 200 mg por un mínimo de 6 semanas.

Las complicaciones de la infección, tales como meningoencefalitis o endocarditis requieren de una terapia con rifampicina, tetraciclina y un amino glucósido.

La Rifampicina ha sido recomendada como tratamiento de elección para la infección sin complicación en los niños, (debiendo ser su uso restringido en lo posible por ser una de las drogas de elección en el tratamiento de la tuberculosis y así evitar una posible resistencia bacteriana) teniendo como alternativa Cotrimoxazol, aunque el uso combinado dé mejores resultados.

PALABRAS FINALES:

El contagio directo a través de la piel es el mecanismo más frecuente, al menos en el medio rural, siendo menos frecuente la vía digestiva, inhalatoria o por inoculación accidental o ambos. El íntimo contacto con los citados animales y sus productos derivados (carnes y leche), por parte de granjeros, carniceros, trabajadores de frigoríficos y personal que manipula esos productos, ofrece mayor oportunidad para la propagación al hombre, que otras infecciones transmitidas por animales domésticos. En consecuencia, esta enfermedad se halla más difundida que la triquinosis, ornitosis, toxoplasmosis y carbuncos.

La medida más eficaz para prevenir la infección en humanos, sería la erradicación de la enfermedad en los animales susceptibles, pues mientras existan reservorios de los microorganismos existirá la enfermedad. Las medidas profilácticas deben tender a evitar la contaminación cuando se manejan productos procedentes de animales enfermos. La pasteurización de la leche y productos lácteos reduce en gran parte los casos de brucelosis, pero es más difícil que los profesionales como veterinarios, matarifes e incluso investigadores puedan quedar libres del riesgo de padecer la infección.

BIBLIOGRAFÍA:

- Dres. Pila PÉRez. "Estudio clínico de la brucelosis humana". Cuba.
- Pedro Pons, A Farreras VP. "La Brucelosis humana". Salvat, Barcelona España.
- Epidemiología molecular de un foco primario de brucelosis en el Estado de México. Diana S Leal Klevezas, Alberto Barbabosa Pliego, Marcial Flores Trujillo, Ahidé López Merino, Juan P Martínez Soriano. Biotecnología Aplicada 1999; Vol. 16 No. 3, pp. 149-153
- Fiebre de Malta. A. Rodríguez Burgos, R. Díaz García. <http://www.canalsocial.net>
- Prevalencia de brucelosis bovina mediante ELISA competitivo en el Municipio La Cañada de Urdaneta, estado Zulia, Venezuela. Gerardo D'Pool, Sergio Rivera Pirela, Teresita Torres, Mario Pérez, Arelis García, Osiris Castejón y Nelda Rojas. <http://www.serbi.luz.edu.ve>
- Brucella: una bacteria virulenta carente de los factores de virulencia clásicos. Enrique Freer; Rocío Castro-Arce. Revista Costarricense de Ciencias Médicas 2001; 22(1,2):73-82). <http://www.scielo.sa.cr>
- BRUCELOSIS ANIMAL. José M.a Blasco y Carlos Gamazo. Investigación y Ciencia, Noviembre 1994. <http://coli.usal.es>
- COMPARATIVE ANALYSIS OF PROTEINS EXTRACTED BY HOT SALINE OR RELEASED SPONTANEOUSLY INTO OUTER MEMBRANE BLEBS FROM FIELD STRAINS OF BRUCELLA OVIS AND BRUCELLAMELITENSIS. C. Gamazo, A. J. Winter, I. Moriyón, J. I. Kiezu Boj, J. M. Blasco y R Díaz. Infection and Immunity, n.deg. 57, páginas 1419-1426, 1989.
- Manual Merck de Veterinaria quinta edición.
- Nota del doctor Enrique Laval (ex director del hospital de enfermedades infecciosas en Santiago de Chile). <http://www.sochif.cl>
- Entrevista con el Dr. Patricio Dayenoff.