

Brucelosis: Importancia en la salud pública y el ámbito pecuario, su control y diagnóstico.

Francisco Suárez Güemes¹; Beatriz Arellano Reynoso¹ y Efrén Díaz Aparicio².

¹Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UNAM; ²CENID – Microbiología, INIFAP SAGARPA

Descripción:

La brucelosis es una enfermedad infecto-contagiosa de origen bacteriano, causada por los cocobacilos Gram negativos del género *Brucella*, que afecta al humano así como a diferentes especies de mamíferos domésticos y silvestres. La brucelosis es de distribución mundial y se considera enzoótica en México y la zoonosis bacteriana más importante.

El impacto se ve reflejado en las grandes pérdidas económicas en el sector agropecuario, que resultan de la enfermedad en el ganado y de las restricciones aplicadas tanto a los animales infectados como a los productos de éstos, además de la importancia en salud pública. Los signos más relevantes en los animales son los abortos en el tercer tercio de la gestación y la orquitis y epididimitis en los machos.

Los hospederos animales, excretan gran cantidad de bacterias junto con los tejidos y productos de aborto; en menor medida por excreciones genitales que contaminan los sitios donde se encuentran como el suelo de los corrales, la paja de las camas, el agua de arroyos, canales y pozos. *Brucella* es excretada en la leche, por lo que el humano adquiere la enfermedad a través de productos lácteos no controlados, principalmente leche y queso fresco, también se adquiere la infección al inhalar polvo o pelo contaminado, a través de abrasiones o cortaduras en la piel, por salpicaduras en la conjuntiva, por aerosoles formados en algún proceso, a través de una transfusión de sangre o de un trasplante de tejido, por auto inoculación accidental de sangre del animal infectado o de vacunas. A causa de esto, la brucelosis es considerada como una enfermedad ocupacional entre los vaqueros, veterinarios, matanceros y técnicos de laboratorio.

Brucella spp. posee afinidad por todos los órganos en el humano, causando una inflamación granulomatosa. La enfermedad comienza con síntomas inciertos y una condición febril prolongada con una posible linfadenopatía, hepatoesplenomegalia

moderada y después de 4 -6 semanas de curso se puede localizar en diferentes órganos, manifestándose como brucelosis pulmonar, granulomas hepáticos, brucelosis osteoarticular, endocarditis, meningitis, brucelosis genitourinaria, etc. El tratamiento con antibióticos no está permitido en animales de producción y el tratamiento en humanos con antibióticos es largo y aun no existen vacunas para estos últimos.

La brucelosis es una enfermedad de notificación obligatoria para los médicos. De acuerdo a los reportes generados por la Dirección General de Epidemiología de la SSA, en el año 2008 se presentaron un total de 1950 casos confirmados de Brucelosis en humanos y en el año 2009 se contabilizaron 2157 casos, siendo los estados de mayor incidencia: Guanajuato (544 casos), Jalisco (242 casos), Sonora (144 casos), Michoacán (141 casos) y Nuevo León (120 casos). Estos números, aunado a los casos no reportados y/o mal diagnosticados, sugieren la importancia de la enfermedad en nuestro país. Lo anterior debe sensibilizar tanto a las autoridades, profesionistas y productores de la importancia del control y erradicación de la enfermedad en los animales domésticos, la principal fuente de transmisión hacia los humanos en México.

Para controlar la enfermedad en nuestro país, está vigente la Campaña Nacional contra la Brucelosis en los Animales, regida por la Norma: NOM-041-ZOO-1995, Campaña Nacional contra la Brucelosis de los Animales; publicada en el Diario Oficial de la Federación el 20 de agosto de 1996 y su Aclaración el 20 enero de 1997. Las estrategias de la campaña están dirigidas, según la posibilidad de la zona, de entrar en las categorías de control o erradicación de la enfermedad:

- Muestreo serológico, diagnóstico para la posterior segregación y eliminación de los animales reactivos positivos.
- Muestreo serológico y diagnóstico, vacunación de hembras jóvenes y adultas, programas de manejo de hato infectado.
- Vacunación masiva de hembras.
- Caracterización de la distribución de la enfermedad y prevalencia, usando el muestreo serológico y diagnóstico a gran escala, tanto de bovinos, ovinos y caprinos.
- Amplia cobertura de vacunación en áreas de alto riesgo, incluyendo las zonas endémicas de brucelosis humana.
- Establecimiento de un programa de certificación de hato libre.

Agente:

Los microorganismos del género *Brucella*, son coco-bacilos Gram negativos, intracelulares facultativos, no móviles, y no forman esporas. Crecen lentamente en los medios básicos, los medios de cultivo de elección son el Agar Brucella y Agar Tripticosa Soya; el medio de Farrel se utiliza cuando se intenta el aislamiento de muestras clínicas o de tejidos contaminados. Su crecimiento se puede mejorar mediante la adición de sangre o suero y en algunos casos con la adición de CO₂, el cual es esencial para ciertos biotipos. Su metabolismo es aerobio; el crecimiento no se da bajo condiciones estrictas de anaerobiosis. Estos microorganismos tienen poca o nula acción fermentativa sobre los carbohidratos en medios convencionales. Oxidan ciertos aminoácidos, así como intermediarios del ciclo de la urea. Son catalasa positivos y usualmente oxidasa positivos, reducen nitratos e hidrolizan la urea en diferentes grados. Además, no producen hemólisis y no utilizan el citrato como única fuente de carbono. La diferenciación entre especies y biotipos se realiza mediante pruebas que permitan la caracterización fenotípica de antígenos de superficie (lipopolisacárido), requerimientos de CO₂, producción de H₂S, susceptibilidad a fagos, sensibilidad a colorantes (tionina y fucsina), producción de ureasa y propiedades metabólicas. Las bacterias del género *Brucella* son susceptibles a la desinfección con cloro, pero son resistentes al cloruro de benzalconio.

Los componentes de su envoltura celular tienen mucho que ver con su resistencia a los factores ambientales, poseen una envoltura celular compleja formada por una membrana citoplasmática, una membrana externa y un espacio periplásmico intermedio. La membrana externa está en contacto con el medio y presenta un componente principal que es el lipopolisacárido (LPS), el cual es un antígeno inmunodominante. Las bacterias de este género se pueden clasificar según la naturaleza del LPS en especies de fenotipo liso y de fenotipo rugoso. Entre las especies de *Brucella* que poseen LPS liso están: *B. abortus*, *B. suis*, *B. melitensis*, *B. neotomae*, *B. pinnipedialis*, *B. ceti* y *B. microti*; mientras que las especies rugosas (*B. canis* y *B. ovis*) carecen de la cadena O que se encuentra afectada por mutaciones naturales. El LPS consta de tres unidades estructurales: Un glicolípido (lípidos A), un núcleo oligosacárido y un polisacárido (cadena O). Otros componentes de la membrana externa son: una serie de glucanos circulares, el polisacárido B, fosfolípidos y las proteínas de membrana externa.

Las especies arriba mencionadas tienen un hospedero preferencial, aunque algunas de éstas pueden afectar a más de una especie animal: *B. abortus* es una especie lisa que afecta principalmente al ganado bovino, aunque también causa enfermedad en ovinos, caprinos y equinos. *B. melitensis*, especie lisa que causa enfermedad en caprinos, ovinos y bovinos. *B. suis*, cuyo huésped preferente es el cerdo, aunque también afecta a los bovinos. *B. ovis*, especie rugosa que solo afecta ovinos. *B. canis*, especie rugosa que afecta a cánidos. *B. neotomae* ha sido aislada de la rata del desierto. En los mamíferos marinos también se han identificado las siguientes especies de *Brucella*: *B. ceti* aislada de cetáceos y *B. pinnipedialis* encontrada en pinnípedos. De las especies arriba mencionadas, cuatro resultan patógenas para el humano: *B. melitensis*, *B. abortus*, *B. suis* y *B. canis*.

En el 2007 se describió una especie nueva especie de brucela, *B. microti* la cual fue aislada en el ratón de campo (*Microtus arvalis*) y en el zorro rojo (*Vulpes vulpes*). En 2009 se identificó a *B. inopinata* como una nueva especie, aislada originalmente de un implante mamario de una mujer de 71 años de edad. En ese mismo año se identificaron mediante pruebas bioquímicas, PCR y secuenciación unos aislamientos de primates no humanos (*Papio spp*), los cuales tienen semejanza morfológica con *Brucella*; dichos aislamientos fueron asociados a retención de placenta, aborto y nacimiento de crías muertas. Al realizar el análisis de las secuencias, estos aislamientos representan un linaje nuevo dentro del género. Sin embargo, aun no se han llegado a confirmar características de alguna especie de las ya conocidas, por lo que probablemente será una especie nueva.

Factores de virulencia

La característica principal del género *Brucella* es la habilidad de sobrevivir dentro de las células fagocíticas y no fagocíticas, multiplicarse e invadir a nuevas células; sin embargo, esta habilidad está representada por una gran variedad de factores y hasta el momento ningún factor único ha sido demostrado como el responsable de la virulencia de estas bacterias.

En contraste con otros patógenos, en *Brucella* **no** se han descrito factores de virulencia clásicos como exotoxinas, plásmidos, citolisinas, cápsula, fimbria, flagelos, fagos lisogénicos, formas resistentes, variación antigénica, lipopolisacárido endotóxico o inductores de apoptosis.

Solo dos componentes de la membrana externa se reconocen como factores de virulencia potenciales: el LPS y las proteínas de membrana externas.

El LPS es el principal determinante antigénico que despierta la respuesta inmune humoral, ya sea por medio de la vacunación, o por la exposición natural de los animales a las cepas de campo; es por estas mismas razones que juega un papel muy importante en el diagnóstico, pues la detección de animales positivos a brucelosis se realiza con metodologías dirigidas a detectar anticuerpos contra el LPS.

Otro de los factores de virulencia de *Brucella* es el Sistema de Secreción tipo IV (SSTIV), el cual es un sistema multiprotéico, que en el caso de muchas bacterias les permite secretar al exterior diversas moléculas como proteínas y ADN. Las moléculas efectoras secretadas por este sistema les permiten permanecer en su hospedero. Este SSTIV se encuentra en estudio para conocer qué tipo de moléculas son efectoras en *Brucella*.

Respuesta inmune hacia *Brucella* spp.

La respuesta inmune hacia *Brucella* está mediada principalmente por la respuesta inmune celular, ya que se trata de un microorganismo intracelular. Durante el curso de la infección algunas bacterias logran ser destruidas dentro de los fagocitos (macrófagos); es así que los péptidos resultantes de esa desintegración pueden ser presentados por medio del Complejo Principal de Histocompatibilidad de clase II a los linfocitos T. Lo anterior despierta una respuesta celular del tipo Th1, con la producción de interferón γ (INF- γ) por las células T CD4⁺; el INF- γ es crucial en el control de la brucelosis y el principal activador de los macrófagos. Aunque en menor grado, también se pone en marcha la respuesta de tipo humoral, con la consecuente producción de anticuerpos (dirigidos principalmente hacia el LPS); éstos solo son efectivos contra las brucelas que se encuentran circulando en sangre o en el medio extracelular y no pueden tener acceso a las bacterias intracelulares que se están replicando. Este hecho es importante en la prevención de la brucelosis ya que está relacionado con la vacunación y explica porqué deben utilizarse vacunas vivas tales como las cepas de *B. abortus* S19 ó RB51 para bovinos y la cepa vacunal de *B. melitensis* Rev1 para ovinos y caprinos, las cuales despiertan la respuesta celular tipo Th1. Las bacterinas solo despiertan la inmunidad humoral que no confiere la protección adecuada.

Otro hecho relevante de la respuesta inmune contra las brucelas y la vacunación con cepas vivas es la aplicación de una sola dosis vacunal en la vida del animal, la cual es suficiente para desencadenar la respuesta inmune celular.

Distribución:

Como se mencionó anteriormente, la brucelosis animal es endémica en México y muy pocos estados o regiones están libres de la enfermedad o se encuentran en fase de erradicación. De acuerdo a datos oficiales, solamente el sur de Sonora y el Estado de Yucatán se encuentran en fase de erradicación, mientras que el norte de Sonora es reconocido como Zona libre de brucelosis. Figura 1.



Libre	Erradicación	En control	
Norte de Sonora	Sur de Sonora	Aguascalientes	Michoacán
	Yucatán	Baja California	Morelos
		Baja California Sur	Nayarit
		Campeche	Nuevo León
		Coahuila	Oaxaca
		Colima	Puebla
		Chiapas	Querétaro
		Chihuahua	Quintana Roo
		Distrito Federal	San Luís Potosí
		Durango	Sinaloa
		Guanajuato	Tabasco
		Guerrero	Tamaulipas
		Hidalgo	Tlaxcala
		Jalisco	Veracruz
		México	Zacatecas

Figura 1. Tomado de: SENASICA <http://www.senasica.gob.mx/?id=802>. Situación actual de la presencia de brucelosis animal en México. Última modificación: 9 de Noviembre de 2009 13:50:08 por *Salud Animal* .

Patogenia de la brucelosis.

Las bacterias del género *Brucella* penetran al organismo principalmente por la vía oral, aunque también puede hacerlo por la vía conjuntival, por inhalación, a través de heridas e incluso en el semen y la transmisión congénita. La bacteria es fagocitada por los macrófagos pero resiste a la acción bactericida de éstos, pudiendo multiplicarse dentro del fagocito, ya que es un parásito intracelular facultativo. Después de haber sido fagocitada es transportada a los linfonodos regionales. Allí siguen multiplicándose tras su diseminación hematógena, teniendo un tropismo por los órganos del tracto reproductor y el feto en las hembras gestantes. El período de incubación varía de unas dos semanas hasta 253 días y el signo más aparente- que es el que causa más daño en las explotaciones- es el aborto en el tercer tercio de la gestación, nacimiento de crías débiles y muerte posterior de las mismas; también puede haber orquitis y epididimitis.

Diagnóstico

El diagnóstico oficial se realiza por medio de pruebas serológicas, las cuales en bovinos incluyen: la prueba de Rosa de Bengala al 8%, como una prueba tamiz; la prueba de Rivanol y la prueba de fijación del complemento como pruebas confirmatorias, así como la prueba de Inmunodifusión Radial (IDR), la cual permite distinguir entre animales infectados y los animales vacunados con la cepa lisa de *B. abortus* S 19; cabe mencionar que los animales vacunados con la cepa rugosa de *B. abortus* RB51 no son detectados por esta prueba. En cabras las pruebas son casi las mismas, pero la prueba de rosa de bengala se utiliza con el antígeno al 3% como una prueba tamiz y la prueba de fijación del complemento como prueba confirmatoria, también se utiliza la prueba de IDR para el diagnóstico de *B. melitensis*. En el caso de la brucelosis ovina causada por *B. ovis* el diagnóstico se realiza mediante la prueba de Inmunodifusión Doble en Gel (IDG), con el extracto salino caliente como antígeno y la fijación del complemento. El aislamiento bacteriológico es la prueba confirmatoria; sin embargo, solo se realiza en laboratorios especializados.

Medidas de control:

Vacunación y vacunas

La vacunación tiene que ser considerada como una herramienta importante para evitar la transmisión de la brucelosis entre los animales. En la actualidad en México, tanto las vacunas RB51 como la cepa 19, son consideradas en la norma para su uso en bovinos; y para ovinos y caprinos se utiliza la cepa Rev1 de *B. melitensis*. Sin embargo, el uso de vacunas solamente no es suficiente para el control de la enfermedad, sobretodo en explotaciones con alta prevalencia de brucelosis. Hasta el momento no existen vacunas para combatir la brucelosis en ovinos (*B. ovis*), cerdos (*B. suis*), ni perros (*B. canis*).

El control de la brucelosis requiere de medidas de bioseguridad adicionales como son el monitoreo serológico continuo, con la finalidad de identificar oportunamente animales que empiezan la enfermedad y evitar que contagien otros animales sanos al momento del parto o el aborto. Es importante además la segregación de animales enfermos hasta que terminen su ciclo productivo para su eliminación paulatina, ya que la presencia de animales seropositivos representa un factor de riesgo importante. Se debe contemplar el diagnóstico de la brucelosis a los animales de reemplazo antes de introducirlos y cuarentena de los mismos. Otra de las medidas adicionales a considerar es no alimentar a las crías con la leche de madres brucelosas. El control de la enfermedad se reflejará directamente en la producción láctea de la explotación.

Literatura consultada

Alton, G. G., L.M. Jones, R.D. Angus, and J.M. Verger, 1988. Techniques for the brucellosis laboratory. INRA, Paris, France.

Celli, J. and J. P. Gorvel, 2004. Organelle robbery: *Brucella* interactions with the endoplasmic reticulum. *Curr. Opin. Microbiol.* 7:93-97.

Detilleux, P. G., B. L. Deyoe, and N. F. Cheville, 1990. Penetration and intracellular growth of *Brucella abortus* in nonphagocytic cells in vitro. *Infect. Immun.* 58(7):2320-2328.

Diario Oficial de la Federación. 20 de agosto de 1996. Norma Oficial Mexicana NOM-041-ZOO-1995, Campaña Nacional contra la Brucelosis en los animales.

Díaz E, Hernández G, Valero G, Arellano B. Diagnóstico de brucelosis animal. México D.F. INIFAP, 2001.

Dirección General de Epidemiología SSA, Boletín Epidemiológico de la Secretaría de la Salud. [serial online] Semana 52 de 2009. Available from URL: <http://www.dgepi.salud.gob.mx>

Foster G, Osterman BS, Godfroid J, Jacques I, Cloeckeaert A. *Brucella ceti* sp. nov. and *Brucella pinnipedialis* sp. nov. for *Brucella* strains with cetaceans and seals as their preferred hosts. *Int J Syst Evol Microbiol* 2007; 57 (Pt 11): 2688-93.

Godfroid J., Cloeckeaert A., Liautard J.P., Kohler S., Fretin D., Walravens K., Garin-Bastuji B., Letesson J.J, 2005. From the discovery of the Malta fever's agent to the discovery of a marine mammal reservoir, brucellosis has continuously been a re-emerging zoonosis. *Vet. Res.* 36(3): 313-326.

Hatipoglu C.A., Yetkin A., Ertem G.T., Tulek N, 2004. Unusual clinical presentations of brucellosis. *Scand. J.Infect. Dis.*; 36(9): 694-697.

Herrera López Enrique. Programas de control en Hatos bovinos infectados con diferentes prevalencias de Brucelosis. Memorias del IV Foro Nacional de Brucelosis, FMVZ, UNAM, 26-27 de noviembre del 2007, D.F, México.

Herrera E, Palomares G, Díaz-Aparicio E, 2008. Milk production increase in a dairy farm under a six-year Brucellosis control program. *Ann N Y Acad Sci.* 1149:296-9.

Kalaycioglu S., Imren Y., Erer D., Zor H., Arman D, 2005. *Brucella* endocarditis with repeated mitral valve replacement. *J. Card. Surg.* 20(2):189-192.

Luna-Martinez, J. E. and C. Mejia-Teran, 2002. Brucellosis in Mexico: current status and trends. *Vet. Microbiol.* 90(1-4):19-30.

Mantur B.G., Akki A.S., Mangalgi S.S., Patil S.V., Gobbur R.H., Peerapur B.V, 2004. Childhood brucellosis-a microbiological, epidemiological and clinical study. J. Trop.Pediatr.; 50(3):153-157.

Moreno E, Moriyón I, 2002. *Brucella melitensis*: a nasty bug with hidden credentials for virulence. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 99:1-3.

Ozden M., Demirdag K., Kalkn A., Ozdemir H., Yuce P, 2005. A case of brucella spondylodiscitis with extended, multiple-level involvement. South Med. J. 98(2): 229-231.

Pizarro-Cerda J, Méresse S, Parton RG, van der Goot G, Sola.Landa A, Lopez-Goñi I, Moreno E, Gorvel JP, 1998. *Brucella abortus* transits through the autophagic pathway and replicates in the endoplasmic reticulum of nonprofessional phagocytes. Infect. Immun. 66: 5711-5724.

Robichaud S., Libman M., Behr M., Rubin E, 2004. Prevention of laboratory –acquired brucellosis. Clin. Infect. Dis.; 38(12):e119-e122.

Sangari, F. J. and J. Aguero, 1996. Molecular basis of *Brucella* pathogenicity: an update. Microbiologia. 12(2):207-218.

Seidel G., Pardo C.A., Newman-Toker D.,Olivi A., Eberhart C.G., 2003. Neurobrucellosis presenting as leucoencephalopathy: the role of cytotoxic T lymphocytes. Arch. Pathol. Lab. Med. 127(9): e 374-e 377.

Taliani G., Bartoloni A., Tozzi A., Bartalesi F., Corti G., Paradisi F, 2004. Lumbar pain in a married couple who likes cheese: brucella strikes again. Clin. Exp. Rheumatol. 22(4): 477-480.

Tunc M., Durukan H. Bilateral several visual loss in brucellosis, 2004. Occul. Immunol. Inflamm.12(3): 233-236.

Velásquez MO, Domínguez OJ, Lecuona OLA, 1998. La brucelosis como problema de Salud Pública en México. III Foro Nacional Brucelosis Memorias Acapulco, Guerrero México 20 y 21 de Julio; 13-16.

Wortmann G, 2004. Pulmonary manifestations of other agents: *Brucella*, Q-fever, tularemia and smallpox. Respir. Care Clin.N. Am.10(1): 99-109.