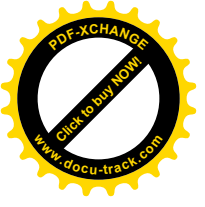


**DETERMINACIÓN DE LA PREVALENCIA DE ANTICUERPOS DE Brucella Sp.  
MEDIANTE PRUEBA ROSA DE BENGALA EN TRABAJADORES  
DE DERIVADOS LÁCTEOS (QUESOS) DEL CORREGIMIENTO  
DEL ESPINO – MUNICIPIO DE SAPUYES NARIÑO COLOMBIA**

**OSCAR RICARDO BACCA SÁNCHEZ  
ALEXANDER JAVIER PORTILLO GÓMEZ**

**UNIVERSIDAD DE NARIÑO  
FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS  
PROGRAMA MEDICINA VETERINARIA  
PASTO – COLOMBIA  
2004**



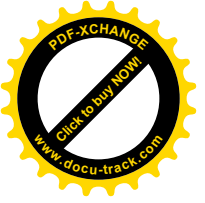
**DETERMINACIÓN DE LA PREVALENCIA DE ANTICUERPOS DE Brucella Sp  
MEDIANTE PRUEBA ROSA DE BENGALA EN TRABAJADORES  
DE DERIVADOS LÁCTEOS (QUESOS) DEL CORREGIMIENTO  
DEL ESPINO – MUNICIPIO DE SAPUYES NARIÑO COLOMBIA**

**OSCAR RICARDO BACCA SÁNCHEZ  
ALEXANDER JAVIER PORTILLO GÓMEZ**

**Tesis de grado presentada como requisito para optar al título de  
Médico Veterinario**

**Presidente  
JUAN MANUEL ASTAIZA MARTÍNEZ  
Medico Veterinario Zootecnista**

**UNIVERSIDAD DE NARIÑO  
FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS  
PROGRAMA MEDICINA VETERINARIA  
PASTO – COLOMBIA  
2004**



## NOTA DE ACEPTACIÓN

---

---

---

---

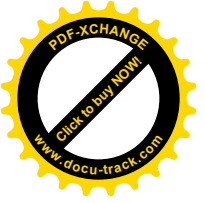
---

FERNANDO SANSÓN GUERRERO  
Jurado Delegado

JUAN BERNARDO SERRANO TRILLOS  
Jurado

JUAN MANUEL ASTAIZA MARTINEZ  
Presidente

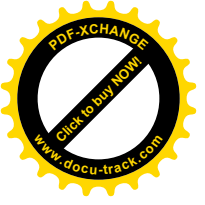
San Juan De Pasto, Agosto del 2003



**DEDICO A:**

A mi poder superior por crear la vida,  
A mis padres por darme la vida,  
A Maria José, la razón de mi vida,  
Y a mi equipo América de Cali....

**OSCAR RICARDO BACCA SANCHEZ.**



## **DEDICO A:**

Dios,

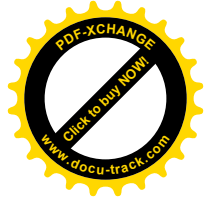
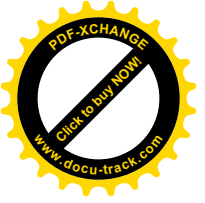
Mis padres por darme su ejemplo de vida, sus ganas de vivir y servir, su amor, su confianza, su trabajo y toda su vida.

Mis hermanos que son mis verdaderos amigos.

Mis verdaderos amigos que son mis hermanos

Todos aquellos que aportaron en mi formación personal y profesional.

**ALEXANDER JAVIER PORTILLO GOMEZ**



## AGRADECIMIENTOS

Los autores expresan sus agradecimientos a:

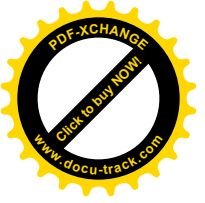
JUAN MANUEL ASTAIZAMARTINEZ  
FERNANDO SANSÓN GUERRERO

M.V.Z.  
MEDICO PATÓLOGO  
GASTROINTESTINAL

JUAN BERNARDO SERRANO TRILLOS  
KATIA BENAVIDES ROMO  
JAIRO EDUARDO ESPAÑA  
CARLOS SOLARTE PORTILLA  
LUIS ALFONSO SOLARTE PORTILLA

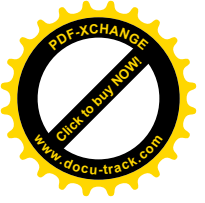
M.V.Z.  
M.V.  
Zootecnista.  
Zootecnista, MScm, PhD.  
Zootecnista.

Empresarios trabajadores de derivados lácteos del corregimiento del Espino municipio de Sapuyes.



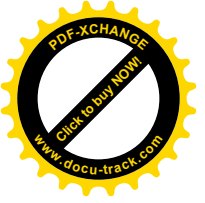
## CONTENIDO

	Pág
GLOSARIO	
RESUMEN	
ABSTRACT	
INTRODUCCIÓN	16
1. DEFINICIÓN Y DELIMITACIÓN DEL PROBLEMA	18
2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA	20
3. OBJETIVOS	21
3.1 OBJETIVO GENERAL	21
3.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS	21
4. MARCO TEORICO	22
4.1 ETIOLOGIA	22
4.2 MORFOLOGÍA Y TINCIÓN	23
4.3 ANATOMÍA CELULAR Y COMPOSICIÓN	23
4.4 CARACTERÍSTICAS DE CRECIMIENTO	23
4.5 RESISTENCIA	24
4.6 DIVERSIDAD	24
4.7 RESERVORIOS ZOOLOGICOS Y GEOGRAFICOS	26
4.8 EPIDEMIOLOGIA	26
4.9 PATOGENIA Y ANATOMÍA PATOLÓGICA	28
4.10 MANIFESTACIONES CLÍNICAS	29



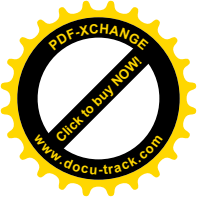
<b>4.10.1 Según el curso de la enfermedad</b>	<b>30</b>
<b>4.10.2 Según su localización</b>	<b>30</b>
<b>4.11 ASPECTOS INMUNOLÓGICOS</b>	<b>32</b>
<b>4.12 DIAGNOSTICO</b>	<b>32</b>
<b>4.12.1 Diagnóstico directo</b>	<b>33</b>
<b>4.12.2 Diagnóstico indirecto</b>	<b>37</b>
<b>4.13 TRATAMIENTO</b>	<b>42</b>
<b>4.14 PRONOSTICO</b>	<b>43</b>
<b>4.15 PROFILAXIS</b>	<b>43</b>
<b>5. DISEÑO METODOLOGICO</b>	<b>45</b>
<b>5.1 LOCALIZACIÓN</b>	<b>45</b>
<b>5.2 POBLACIÓN DE ESTUDIO Y MUESTRA</b>	<b>45</b>
<b>5.3 TÉCNICAS DE RECOLECCIÓN Y ANÁLISIS DE LA INFORMACIÓN</b>	<b>46</b>
<b>5.4 PRUEBAS DE LABORATORIO</b>	<b>46</b>
<b>6. PRESENTACIÓN Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS</b>	<b>47</b>
<b>7. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES</b>	<b>48</b>
<b>7.1 CONCLUSIONES</b>	<b>48</b>
<b>7.2 RECOMENDACIONES</b>	<b>48</b>
<b>8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	<b>50</b>





## LISTA DE TABLAS

	<b>Pág.</b>
Tabla 1. Terapéuticos y concentración mínima de inhibición usadas en el tratamiento de brucelosis	24
Tabla 2. Géneros de <u>Brucella</u> y huéspedes naturales	26



## GLOSARIO

**AEROBIO:** microorganismo que crece y vive en presencia de oxígeno libre.

**AGAR:** sustancia coloide e hidrófila que se extrae de varias especies de algas rojas. Cuando se suspende en un medio líquido y se calienta a 100° C el agar se disuelve cuando se deja enfriar a 43° C se convierte en un gel sólido. Se utiliza en medios de cultivo para bacterias.

**AMINOÁCIDO:** cualquiera de una clase de compuestos orgánicos que contienen el grupo amino (- NH<sub>2</sub>) y el carboxilo (- COOH) y que se encuentran de forma natural en tejidos vegetales y animales.

**ANAEROBIO:** microorganismo que crece y vive en ausencia de oxígeno.

**ANTICUERPO:** proteínas séricas especializadas producidas por linfocitos B en respuesta a un inmenso número de antígenos deferentes (>10<sup>7</sup>) a los que el animal puede estar expuesto.

**ANTÍGENO:** cualquier sustancia capaz, bajo condiciones apropiadas de inducir una respuesta inmunitaria específica y de reaccionar con productos de dicha respuesta; esto es con anticuerpos específicos, linfocitos T específicamente sensibilizados o ambos.

**BACTEREMIA:** presencia temporal de bacterias en la sangre.

**BIOPSIA:** recogida y examen normalmente microscópico de un tejido, obtenido de un cuerpo vivo. Generalmente se realiza para determinar si un tumor es benigno o maligno.

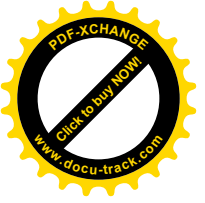
**BIOTINA:** miembro del complejo vitamínico B requerido o hallado en cualquier forma de vida estudiada.

**BIOTIPO:** grupo de individuos que tienen el mismo genotipo.

**BRUCELOSIS:** infección por Brucella sp. Produce diferentes síndromes en cada especie animal incluso el hombre.

**COCOBACILO:** célula bacteriana oval intermedia entre las formas coco y bacilo.

**ESPONDILITIS:** osteomielitis de las vértebras.



**FOSFOLIPIDOS:** cualquier lípido que contenga fósforo, incluyendo aquellas con una estructura de glicerol o una estructura de esfingosina o de una sustancia parecida. Son los principales lípidos de las membranas celulares.

**GRANULOMA:** masa de aspecto tumoral o nódulo de tejido granular con fibroblastos de crecimiento activo y formación de capilares.

**HEMOCULTIVO:** agregación de sangre, usando equipo y técnicas estériles, a un medio adecuado, normalmente un caldo.

**HOSPEDADOR:** animal o planta que alberga y proporciona sustento a otro organismo (el parásito).

**INCUBACIÓN:** provisión de condiciones adecuadas para el crecimiento y desarrollo, como para el cultivo de bacterias y de tejidos.

**INMUNOGLOBULINA:** proteínas que se encuentran en la fracción gammaglobulina de la sangre; son anticuerpos que defienden al organismo frente al ataque de sustancias proteicas o polarizadas extrañas, que actúan de antígeno.

**LEUCOCITO:** célula sanguínea incolora con movimiento ameboide cuya función principal es la de protección frente a los microorganismos productores y comprenden a los granulocitos.

**LISOSOMA:** orgánulo intracelular pequeño que aparece en el citoplasma de la mayoría de las células. Contiene varias enzimas hidrolíticas y normalmente interviene en el proceso de digestión intracelular localizada.

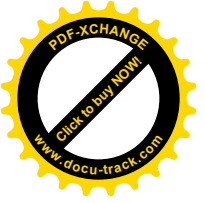
**MACROFAGO:** cualquiera de las células fagocíticas, grandes y mononucleares derivadas de las células de la médula ósea, los promonocitos de los cuales derivan los monocitos, entran en la corriente sanguínea y están unos pocos días antes de transformarse en macrófagos. Forma el sistema mononuclear fagocítico.

**MICROORGANISMO:** organismo microscópico; los de interés veterinario son las bacterias, virus, rickettsias, hongos y protozoos.

**MILOPEROXIDASA:** proteína sanguínea con actividad peroxidasa que se sintetiza en los gránulos positivos de los promielocitos, en los mielocitos y en los neutrófilos; posee propiedades bactericidas, fungicidas y viricidas.

**NICOTINAMIDA:** amida del grupo B de las vitaminas o niacinamida.

**OSTEOARTRITIS:** enfermedad articular degenerativa no inflamatoria, caracterizada por la degeneración del cartílago articular, la hipertrofia de los márgenes óseos y cambios en la membrana sinovial.



**OSTEOMIELITIS:** inflamación del hueso.

**OXIDASA:** cualquier tipo de enzimas que catalizan la reducción del oxígeno molecular; independientemente del peróxido de hidrógeno.

**PASTEURIZACIÓN:** método que consiste en calentar la leche u otros líquidos a una temperatura de 60°C durante 30 minutos, destruyendo las bacterias patógenas y retrasando considerablemente el desarrollo de otras bacterias.

**pH:** logaritmo negativo de la concentración de iones hidrógeno; medida del grado de acidez o de alcalinidad de una solución.

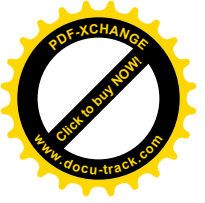
**POLIMORFONUCLEAR:** que tiene un núcleo tan profundamente lobulado o tan dividido que parece ser múltiple.

**PROTEÍNA:** cualquier compuesto orgánico grande, formado por uno o más polipéptidos que son cadenas de aminoácidos articulados mediante enlaces peptídicos entre el grupo de un aminoácido y el grupo amino del siguiente.

**PROTEOGLICANO:** cualquiera de un grupo de glicoproteínas encontrado primariamente en tejido conectivo y formando por subunidades de glicosaminoglicanos unidos a un núcleo proteico. Llamado también mucopolisacárido.

**TIAMINA:** vitamina B1.

**ZOONOSIS:** enfermedad de los animales transmisible al hombre o viceversa.



## RESUMEN

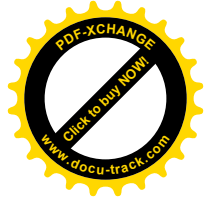
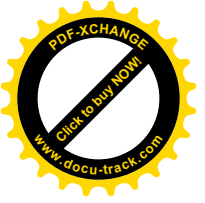
La brucelosis es una zoonosis de gran extensión e importancia en las ganaderías de cría y leche Colombiana que afecta a la población humana. La expresión "brucelosis humana", es más correcta que las denominaciones "fiebre ondulante" o "fiebre de Malta", que hacen referencia a una de sus características clínicas o a una localización geográfica, respectivamente. La enfermedad se transmite por dos mecanismos claramente definidos: por contagio directo, mediante contacto, inoculación o inhalación, o por vía indirecta, a través de la ingestión de productos lácteos contaminados. El contacto con materiales infectados (abortos, placentas, estiércol, etc.) es probablemente el mecanismo principal. La ingestión de leche o productos lácteos no pasteurizados de procedencia casera supone todavía un mecanismo importante de contagio. La Organización mundial de la salud indica que la enfermedad es curable, el diagnóstico temprano y el tratamiento adecuado con antibióticos específicos, elimina las bacterias del organismo, tanto el hombre como los animales de compañía pueden recibir tratamiento.

Los primeros casos reportados en Colombia fueron hacia el año de 1.935, en operarios del matadero Municipal de Bogotá; de aquí en adelante los estudios realizados en diferentes departamentos del país, fueron destinados a personas relacionadas con el manejo de carne y de ganado. Esta es una de las razones principales por la cual se quiso determinar la prevalencia de *Brucella* sp. mediante prueba de rosa de bengala en trabajadores de derivados lácteos (quesos) del corregimiento del Espino, municipio de Sapuyes, Nariño-Colombia, y conocer si esta actividad significaba un factor de riesgo para adquirir la infección, en comparación con una actividad diferente.

Se escogieron al azar sesenta (60) individuos del grupo casos y sesenta (60) individuos del grupo controles, a los cuales se les tomo muestras de la vena cefálica, aproximadamente 5 ml de sangre y se procesaron en el laboratorio de la Clínica Veterinaria Carlos Martines de la Universidad de Nariño.

Se estableció una diferencia significativa entre la prevalencia de anticuerpos contra *Brucella* sp. entre los trabajadores de derivados lácteos (quesos), y personas de corregimiento de El Espino, cuya actividad es diferente.

La prevalencia de anticuerpos contra *Brucella* sp. determinada mediante prueba de Rosa de Bengala es de 1,66 % en trabajadores de derivados lácteos (quesos) del Corregimiento del Espino, Municipio de Sapuyes, Nariño, Colombia, 0% en personas de la misma región, cuya actividad es diferente y 0,83% para el total de las muestras.



## ABSTRACT

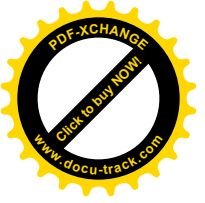
The brucellosis is an extensive and important zoonosis among the Colombian livestock and milk farming, which affects the human population. The expression “human bruchelosis” is more correct that the denominations “undulating fever” or “fever of Malta”, which are refered to one of the clinic characteristics or to a geographic location, respectively. The sickness is passed on by two clear ways: direct contagion, by touching, by inoculating or inhaling, or just by a direct way, through ingestion of contaminated dairy products. The contact with infected material (abortions, dung, etc) is probably the main way of contagion. The ingestion of milk or diary products without being pasteurized since they are made at home, mean an important mechanism of contagion. The world health organization points out that this illness is treated, the early diagnosis and the proper treatment with specific antibiotic, eliminate the bacterias from the body in human beings and animals as well.

The first cases reported in Colombia appeared in 1.935, workers from the municipal abattoir in Bogotá were infected; since that time the researchs in different departments of Colombia had been bound for people who were related with meat and livestock manage. This is one of the main reasons that made researchers show that *Brucella* sp. Prevails by means of Rosa de Bengala proof on milk products workers (cheese) from Espino Area, municipality of Sapuyes, Nariño-Colombia; furthermore, to know if this activity would have been a reason of risk to acquire the infection, by comparison with people who worked in a different activity.

At random, sixty (60) people were chosen from the group “cases” and sixty (60) people from the group “controls”, whom were taken a blood sample from the cephalic vein, approximately 5 mls of blood were processed in the laboratory of veterinarian Clinic of Carlos Martinez at Nariño University.

It was set a main difference between the prevailence of antibodies against *Brucella* sp. In milk products workers (cheese), and among people from el Espino minicipaly, who have a different activity.

The prevail of antibodies against *Brucella* sp. Determined by means of rosa de Bengala proof is 1.66% in milk products workers (cheese) in Sapuyes municipality, Nariño – Colombia, 0% in people from the same region but with a different activity and 0.83% for the total of samples taken.



## INTRODUCCIÓN

La brucelosis es una enfermedad infecto – contagiosa producida por el agente bacteriano denominado *Brucella*, asociada a la reproducción donde se manifiesta clínicamente.

Es una enfermedad de notificación obligatoria en el país, de amplia distribución mundial, continúa siendo una de las principales zoonosis que afectan al hombre (salud pública) y sería causa principal de la existencia, según la Organización Mundial de la Salud (OMS), de aproximadamente quinientas mil (500.000) personas infectadas por esta bacteria. Teniendo en cuenta que millones de estos casos no se reconocen y por tanto no se documentan.

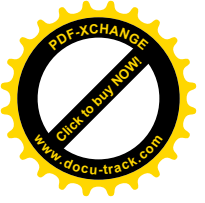
La misma institución reporta que esta enfermedad afecta a las siguientes especies animales: bovinos, porcinos, caprinos, ovinos, camélidos, caninos, equinos y mamíferos silvestres.

Las distintas especies del genero *Brucella* actúan provocando la enfermedad en los animales de manera selectiva, de la siguiente forma:

*B. abortus* en bovinos, *B. suis* en cerdos, *B. mellitensis* en pequeños rumiantes, *B. ovis* en ovejas, *B. canis* en perros y *B. Neotomae* en roedores. Todas las especies animales tienen posibilidad de ocasionar infecciones cruzadas, siendo algunas de estas patógenas para el hombre.

De igual manera ésta entidad indica que la enfermedad es curable, el diagnóstico temprano y el tratamiento adecuado con antibióticos específicos, elimina las bacterias del organismo; tanto el hombre como los animales de compañía, pueden recibir tratamiento. El perro y el caballo deben ser excluidos de la reproducción y cuando se diagnostica la enfermedad y ésta se instala, produce afecciones de distinto grado y deja secuelas de importancia diversa, muchas de ellas, de carácter irreversible, por lo tanto el diagnóstico precoz tiene fundamental importancia en el pronóstico.

Los bovinos adquieren la enfermedad comúnmente por vía oral, sin embargo los aerosoles de material contaminado, favorecen la transmisión por vía conjuntival y respiratoria. En raras ocasiones y cuando existe una cantidad abundante del agente bacteriano, la enfermedad puede penetrar a través de la piel; Los animales gestantes pueden transmitir la enfermedad al ternero en el útero, o bien a través de la leche contaminada. El hombre no debe consumir productos lácteos crudos o sin pasteurizar, excepto de tener la certeza que los animales que dieron origen a estos productos estén libres de brucelosis. El consumo de carne no reviste riesgo ya que los cambios químicos (pH ácido) en los músculos, ocurridos 24 horas después de la muerte del animal, provocan también la muerte de los bacilos.



Según la OMS, en Colombia los primeros casos reportados en 1.935, se presentaron en los operarios del matadero municipal de Bogotá. Su sintomatología fue: episodios recurrentes de fiebres nocturnas, acompañadas en su mayoría de escalofríos, sudoración, cefalalgias, dolores reumáticos y ciertas afecciones gástricas. Años más tarde 1.974, se encontraron nuevos casos en el Departamento de Cundinamarca.

Cleves afirma que:

en 1.952 el comité colombiano de Brucellosis, en un estudio de mil setecientas cuarenta y tres (1.743) personas de doce (12) departamentos del país, relacionados con manejo de carne y de ganado; encontró una positividad del cincuenta y seis por ciento (56%), en 1.970 se ubicó en Medellín un cuarenta y ocho por ciento (48%) de PREVALENCIA entre cuatrocientos cuarenta (440) personas relacionados con estos medios de riesgo<sup>1</sup>.

Schroeder dice que: esta es una enfermedad de tipo ocupacional considerada una zoonosis<sup>2</sup>; Esta es una de las principales razones por la cual se debe determinar si existe o no prevalencia de *Brucella* sp. mediante prueba rosa de bengala en trabajadores de derivados lácteos (quesos) del Corregimiento del Espino, Municipio de Sapuyes, Nariño, Colombia, de esta forma conocer los niveles de anticuerpos de estas personas y tomar las medidas necesarias.

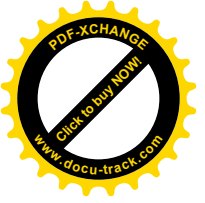
Además se requiere realizar un estudio comparativo de casos y controles en el cual los casos (o personas de riesgo) serán los trabajadores de las queseras y los controles, personas de la misma región cuya actividad sea diferente.

---

<sup>1</sup> CLEVES, Oscar. La presencia de aglutinal del bacilo de bang en la sangre de los obreros del matadero municipal de Bogotá. Bogotá, Universidad Nacional. 1935. p.8.

<sup>2</sup> SCHROEDER, Hans. Fisiología de la reproducción. Celsus. Bogotá. 1.999. p. 670





## 1. DEFINICIÓN Y DELIMITACIÓN DEL PROBLEMA

Según Mariño:

El diagnóstico de Brucelosis humana se relaciona en su mayoría con personas expuestas y con factores de riesgo elevado. Según la organización mundial de la salud, se reporta a escala mundial, cerca de quinientos mil (500.000) casos de Brucelosis confirmada cada año, pero es posible que millones de estos no se reconozcan y por tanto no se documenten. En niños su presentación es rara, no existen datos estadísticos a cerca de su frecuencia en Colombia, lo que nos lleva a pensar que esta entidad podría estar subdiagnosticada en nuestro medio<sup>3</sup>.

En Colombia la Brucelosis bovina afecta el siete por ciento (7%) de la ganadería, principalmente destinados a la cría y producción de leche, dieciséis por ciento (16%) de predio infectados, aproximadamente.

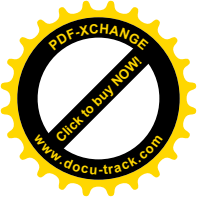
La mayor presentación de casos ocurre en los departamentos de Cundinamarca, Boyacá, Nariño, Caquetá, Casanare, Arauca, Córdoba y Sucre. Las pérdidas anuales son ocasionadas por la considerable reducción en la producción de leche en vacas infectadas, hasta de un veinte por ciento (20%), esto es más o menos treinta y nueve mil quinientos (39.500) toneladas de leche; Otra causa son los abortos, ciento sesenta y tres mil (163.000) terneros, aproximadamente y el sector ganadero afectado ha gastado más de doce mil cien millones (12.100'000.000) en costos de tratamientos en vacas, novillas y toros que a la postre no son curativos de la enfermedad<sup>4</sup>.

En Colombia en el año de 1.992 se presentaron un total de cuarenta y ocho (48) casos en Bovinos distribuidos en diecisiete (17) departamentos, dando como resultado, un mayor número en el Departamento del Putumayo con diecinueve por ciento (19%) y Casanare con veintinueve por ciento (29%). Para 1.994 se reportaron cincuenta y un (51) casos; Para el año de 1.995 se incrementó el número de casos de cuarenta por ciento (40%), en 1.996 se registraron veintiocho (28) casos y en 1.997 se incrementó el número de casos.

En el departamento de Nariño en su periodo comprendido entre 1.996 – 2.000 se presentaron veinte (20) muestras positivas en bovinos<sup>5</sup>. Las cuales fueron enviadas a las instalaciones de ICA Bogotá solo para confirmación.

<sup>3</sup> Brucelosis. Olga Mariño/ Bogotá Colombia. 2001. URL: [http:// www.olgamariño-brucella.htm](http://www.olgamariño-brucella.htm). p.2

<sup>4</sup> ICA, División de zoonosis regional Nariño. Boletín sobre brucelosis humana N° 1. Pasto, Colombia. 2002; p. 8.



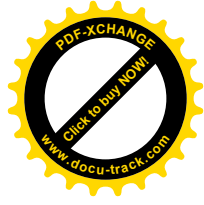
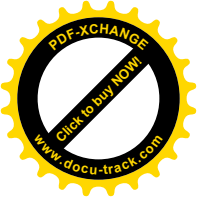
La cepa *Brucella* comúnmente aislada y tipificada serológicamente en humanos es la especie B. Abortus tipo 1. En el Departamento de Nariño se ha realizado un total de ciento cuarenta y ocho (148) muestras en humanos, de las cuales Diez y ocho (18) fueron positivas para una seropositividad del 12,8%<sup>6</sup>.

En el año 2.001 el Instituto Departamental de Salud ha tomado conciencia de la importancia como zoonosis de la enfermedad, por lo cual es importante realizar estudios para conocer la prevalencia de esta zoonosis en las zonas lecheras del departamento y especialmente donde se procesan subproductos lácteos sin la debida pasteurización.

---

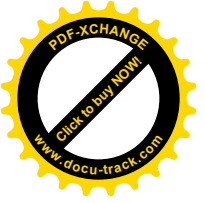
<sup>5</sup> ICA, Manual de técnicas serológicas para el diagnóstico de brucelosis. Bogotá, Colombia, 2000. p. 15.

<sup>6</sup> MIER, José Eal, I de Mier S., Morales A., Jurado A, Serrano Juan, Benavides K. Brucelosis pulmonar. Pasto, Colombia; 2.001. p. 5.



## 2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

¿Existen niveles de anticuerpos de Brucella sp. en trabajadores que laboran subproductos lácteos (queso) en el Corregimiento del Espino, y esta labor es un factor de riesgo para adquirir esta infección?



### 3. OBJETIVOS

#### 3.1 OBJETIVO GENERAL

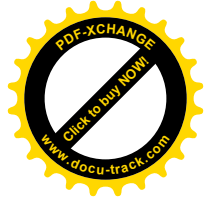
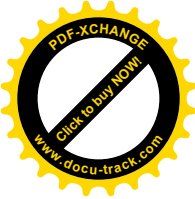
Determinar titulaciones positivas contra Brucella sp. mediante prueba de Rosa de Bengala en trabajadores de derivados lácteos (quesos) del Corregimiento del Espino, Municipio de Sapuyes, Nariño, Colombia y en personas de la misma región, cuya actividad sea diferente.

#### 3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

3.2.1 Establecer la prevalencia actual de Brucella sp. en los trabajadores de derivados lácteos del corregimiento del Espino, municipio de Sapuyes Departamento de Nariño.

3.2.2 Determinar si la diferencia entre los casos (personas con el riesgo) y los controles (personas de la región cuya actividad es diferente) es significativa.

3.2.3 Informar los resultados del presente trabajo a las autoridades correspondientes.



## 4. MARCO TEORICO

### 4.1 ETIOLOGÍA

Según Ángel,

esta enfermedad fue descrita en 1814 por Burnet y por Marston en 1863. La fuente de infecciones está constituida esencialmente por las diferentes especies que afectan al ganado bovino (*B. abortus*), caprino y ovino (*B. mellitensis*), suino (*B. suis*) y *B. canis* en el perro y todas afectan la salud humana<sup>7</sup>.

El mismo autor reporta que, el género Brucella esta conformado por cocobacilos Gram negativos, aerobios no esporulados, que tienen tendencia a la colonización intracelular (facultativo) fundamentalmente del sistema mononuclear fagocítico. Genéticamente el género Brucella parece monoespecífico.

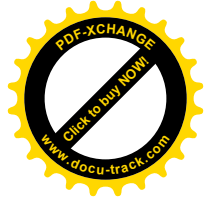
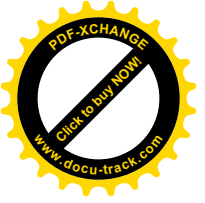
A pesar de mantenerse la nomenclatura que clasifica el género en seis especies conocidas, con sus respectivos biotipos, Ángel comunica que los estudios de hibridación de ADN indican que estos organismos constituyen una especie única, Brucella mellitensis, con múltiples biovariedades. Solo cuatro de ellas son patógenas para el hombre, presentando mayor virulencia las variedades: mellitensis y suis. El crecimiento in vitro es muy lento, por lo que ante la sospecha debe mantenerse en incubación hasta 4 y 6 semanas antes de considerarlo negativo.

Ferrero precisa que:

como bacteria Gram negativa su membrana citoplásmica está recubierta por una capa rígida de proteoglicano formada por fosfolípidos, proteínas y lipopolisacáridos endotóxicos siendo esta última molécula la que forma el antígeno responsable de la reacción antígeno – anticuerpo utilizada en las distintas pruebas serológicas para el diagnóstico. Alguna de las determinantes antigénicas son comunes a otros gérmenes Gram negativos, lo que justifica su reacción cruzada con ellos (*Escherichia coli* y *Yersinia enterocolitica*)<sup>8</sup>.

<sup>7</sup> ÁNGEL, Gilberto. Interpretación clínica de laboratorio. 4ª. Ed. Bogotá, Colombia: Panamericana, 1993. p. 607

<sup>8</sup> FERRERO, Miguel. Neurobrucelosis. Segovia España, 1998 <http://www.meditex.com.es/Inferreror@meditex.es> p. 17



## 4.2 MORFOLOGÍA Y TINCIÓN

Según Chung,

los microorganismos del género Brucella son cocobacilos pequeños que tienen un tamaño entre 0,5 – 1,5  $\mu\text{m}$  de largo por 0,5 a 0,7  $\mu\text{m}$  de ancho, son inmóviles, no se tiñen de forma bipolar y carecen de cápsula. Esta bacteria se tiñe de rojo con el método de Machiavelo y con el de Ziehl Neelsen modificado<sup>9</sup>.

## 4.3 ANATOMÍA CELULAR Y COMPOSICIÓN

Jacques informa que:

las conductas porínicas de la capa proteica externa presentan pequeñas diferencias en cuanto a su diámetro en las distintas especies. Estas diferencias pueden explicar la sensibilidad de la especie a los colorantes como la anilina utilizada con fines de identificación<sup>10</sup>.

## 4.4 CARACTERÍSTICAS DE CRECIMIENTO

Chung expone que:

los microorganismos del género Brucella crecen en aerobiosis y atmósferas con bajas concentraciones de  $\text{O}_2$  pero no en anaerobiosis, la concentración de  $\text{CO}_2$  y la tensión deben ser elevadas. Los cultivos no deben considerarse negativos hasta tanto no hayan transcurrido veintiún (21) días de incubación. Su temperatura óptima de crecimiento es de 37° C y el intervalo de temperatura para crecimiento está comprendido entre 20 y 40° C. El pH óptimo de crecimiento está entre 6,8 a 9,2<sup>11</sup>.

De acuerdo con el autor antes citado, también se afirma que estos microorganismos son positivos a la catalasa y oxidasa. El aislamiento es posible únicamente en medios nutritivos complejos, porque el cultivo de la Brucella requiere ciertos aminoácidos, tiamina, biotina, nicotinamida, pantotenato cálcico y trazas de magnesio.

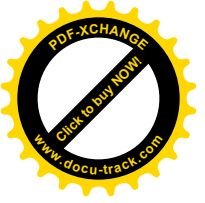
Según Jacques,

el aislamiento de material muy contaminado exige la adición de sustancias que inhiben el crecimiento de la flora acompañante, para tal

<sup>9</sup> CHUNG, Yuan. Tratado de microbiología veterinaria. España, Acribia, 1983. p. 673.

<sup>10</sup> JACQUES, Nicolet. Compendio de bacteriología médico veterinaria. Zaragoza, España: Acribia, 1986. p. 82.

<sup>11</sup> CHUNG, Op cit., p. 254.



fin se utilizan Polimixina B, Acticlona, Bacitracina y el Cristal Violeta. Las colonias son pequeñas, húmedas, brillantes y suelen aparecer al cabo de varios días<sup>12</sup>.

#### 4.5 RESISTENCIA

Chung, informa que:

respecto a la viabilidad de la Brucella, dice que esta puede permanecer viable en la orina, leche, agua, incluso en tierra húmeda hasta cuatro meses, que resiste la congelación y la descongelación pero es destruida por la temperatura de pasteurización, por el calentamiento a 60° C, durante 10 minutos y por los desinfectantes usuales como: fenol, formol, cloro y roccal. Además reporta sensibilidad a la Estreptomicina, Eritromicina, Tetraciclina, pero existen variaciones según la especie y cepa (Tabla 1)<sup>13</sup>.

Ha sido motivo de investigación la causa por la cual este patógeno sobrevive a los mecanismos intracelulares de destrucción, encontrando al lipolisacárido como el principal factor implicado. Además se ha encontrado la producción de monofosfato de adenina y guanina por parte de la Brucella, lo que al parecer inhibe la función de los lisosomas, el sistema de degranulación y activación de mieloperoxidasas y la producción del factor de necrosis tumoral (Ferrero, 4).

Tabla 1. Terapéuticos y concentración mínima de inhibición usadas en el tratamiento de brucelosis

QUIMIOTERPIA	CONCENTRACIÓN MÍNIMA DE INHIBICIÓN (mg/mol)
Estreptomicina	2
Gentamicina	0,25 – 1
Tetraciclina	0,5 – 1

Jacques 1986,84

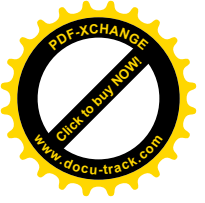
#### 4.6 DIVERSIDAD

Jacques (88), en su libro, señala las diferentes especies de Brucella y anota las siguientes características<sup>14</sup>:

<sup>12</sup> JACQUES, Op cit., p. 82.

<sup>13</sup> CHUNG, Yuan. Op cit., p. 284

<sup>14</sup> JACQUES, Op cit., p. 88



a. **Brucella mellitensis**. La Brucella mellitensis produce una infección asintomática y de curso crónico. Ocasiona a veces abortos repetidos o el nacimiento de animales débiles. Hay eliminación de gérmenes en la leche y orquitis en moruecos.

Por su parte, Chung afirma que las colonias son rugosas y cuando se hacen pares seriados estas predominan sobre las lisas (igual que la Brucella abortus, Brucella suis y Brucella neotomae)<sup>15</sup>.

b. **Brucella suis**. La enfermedad presenta un curso crónico después de una fase aguda. En los cerdos causa trastorno de la fertilidad acompañándose de abortos, en los machos origina orquitis y epididimitis. Presenta alteraciones anatomopatológicas en los ganglios linfáticos (linguales, pelvianos y del mesométrio) y en órganos (bazo y testículos) en forma de nódulos y granulomatosas o abscesos. Los títulos de anticuerpos son más bajos que los que se presentan en la Brucella bovina.

c. **Brucella ovis**. El mismo autor reporta que la afección del epidídimo del morueco merma la calidad del esperma. Las hembras gestantes infectadas pueden abortar. El diagnóstico se basa en el mismo principio que el de las demás Brucelosis, pero para las pruebas serológicas debe utilizarse el antígeno específico de Brucella ovis.

d. **Brucella canis**. Es causante de infección en el perro, de curso a menudo asintomático o sin manifestaciones típicas. Se caracteriza por la presentación de abortos en el último tercio de la gestación o por el nacimiento de cachorros débiles. Los machos sufren epididimitis, prostatitis, tumefacción escrotal; por regla general padecen esterilidad, también se han aislado de caninos con discoespondilitis.

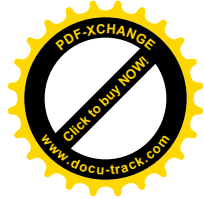
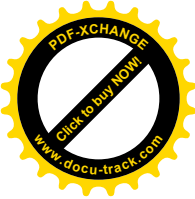
e. **Brucella abortus**. Mier sostiene que en el ganado bovino y si la vaca esta en gestación el germen tiene predilección sobre el útero gestante, el cual produce una sustancia llamada ERITRITOL, que estimula el crecimiento del germen, produciendo endometritis ulcerativa, que da el aborto en cualquier etapa de la gestación primordialmente entre los 4 – 6 meses. Luego de presentado el aborto la bacteria regresa a los ganglios linfáticos y permanece latente hasta una nueva gestación<sup>16</sup>.

Las alteraciones más destacadas, según Jacques son la retención de secundinas y la inflamación fibrinopurulenta y necrozante de los cotiledones. A pesar del restablecimiento clínico sin complicaciones, la infección persiste sobre todo en los

<sup>15</sup> CHUNG, Op cit., p. 285

<sup>16</sup> MIER, Op cit., p. 3.





ganglios linfáticos supramamarios, con eliminación intermitente en la leche. En el toro se observa orquitis, epididimitis, con necrosis y granulomas y no afecta la calidad del esperma, pero en cronicidad, produce eliminación intermitente. En la oveja y cabra es rara la infección con estas manifestaciones y en equinos son típicas las infecciones esporádicas con: bursitis, tendovaginitis y artritis<sup>17</sup>.

#### 4.7 RESERVORIOS ZOOLOGICOS Y GEOGRAFICOS

La especie Brucella se clasifica como parásitos intracelulares obligados. Cada una de las especies tiene un hospedador diferente que sirve de reservorio natural a infección. Las Brucellas clásicas son: Brucella abortus, Brucella suis, Brucella mellitensis que provocan una infección cuyos síntomas son distintos en cada una de ellas. Las distintas biovariedades de Brucella abortus y Brucella suis, han limitado la gama de hospedadores al igual que su distribución geográfica. A veces la distribución geográfica de un determinado hospedador determina la distribución de la especie o biovariedad. Cada una de las nuevas especies del género Brucella, (Brucella neotomae, Brucella ovis, Brucella canis) se circunscriben en una sola especie hospedados (Chung, 284) tal como se indica en la Tabla 2.

#### 4.8 EPIDEMIOLOGÍA

El hombre puede adquirir la enfermedad accidentalmente según el doctor Mier, como huésped secundario. Los principales mecanismos de adquisición son: inoculación conjuntiva, respiración por inhalación, cutánea y/o digestiva. Los tres primeros intervienen cuando hay un contacto más o menos directo con el ganado enfermo, mientras que la vía digestiva se adquiere tras la ingesta de productos lácteos sin pasteurizar<sup>18</sup>.

Tabla 2. Géneros de Brucella y huéspedes naturales

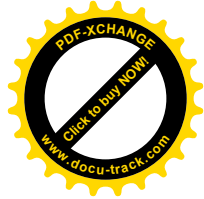
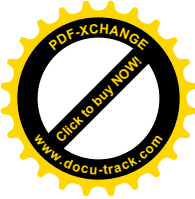
ESPECIE BRUCELLA	HUÉSPED NATURAL	INFECTA AL HOMBRE
B. mellitensis	Cabra, oveja	Sí
B. abortus	Vaca	Sí
B. suis	Cerdo, roedores	Sí
B. canis	Perro	Sí
B. ovis	Oveja	No
N. neotomae	Roedores	No

Ferrero, 1987

Según Cotrina, (1991, 48), la brucelosis es una enfermedad profesional que

<sup>17</sup> JACQUES, Op cit., p. 89

<sup>18</sup> MIER, Op cit., p. 2.



abarca a las personas encargadas de criar o cuidar al ganado, o que trabajan en empresas destinadas a la elaboración de productos de origen animal, como los mataderos. Por supuesto se incluyen en esta clasificación a los trabajadores del servicio veterinario, laboratorios de diagnóstico y de producción de vacunas y antígenos específicos.

El mismo autor dice que, al considerar los riesgos de infección por brucelosis en el ser humano, hay que tener presente que a esta se le cataloga como una enfermedad profesional de primer orden. Sin embargo, las tasas de ataque y los riesgos de adquirir la infección varían ostensiblemente de una labor a otra, aún dentro de los sectores de mayor exposición.

Acerca de este tema, Blood afirma que los métodos oficiales o privados de pasteurización comercial convierten la leche cruda contaminada por Brucella de forma natural, en apta para el consumo. Sin embargo la mayoría de los casos en el hombre son de tipo profesional y se observa en veterinarios, ganaderos y carniceros<sup>19</sup>.

Bolívar, en un estudio sobre la prevalencia de brucelosis entre el personal que labora en los mataderos, concluyó que no había relación estadística significativa entre la antigüedad en el oficio y la adquisición del padecimiento, y no pudo comprobar que la edad del trabajador influyera en la frecuencia de la infección<sup>20</sup>.

Cotrina informa que la prevalencia de la brucelosis en la población humana de diferentes países, e incluso en regiones distintas de un mismo país, está influenciada directamente por los hábitos alimentarios. También está condicionada por la cobertura de los métodos para el procesamiento de la leche y sus productos, el control sobre la faena de los animales para consumo, los métodos de crianza y explotación animal, así como el nivel higiénico del personal y del ambiente<sup>21</sup>.

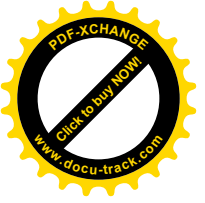
Según Cotrina, las especies de Brucella, presentes en una región o territorio determinado tienen notable influencia en la infección del ser humano, por lo que en lugares infectados con B. Mellitensis, la incidencia suele ser mayor, en relación de su virulencia, poder patógeno y carácter epidémico<sup>22</sup>.

<sup>19</sup> BLOOD, Henderson. Medicina veterinaria: volumen II. 7ª ed. México: Interamericana. Mc Graw Hill, 1992. p.729

<sup>20</sup> BOLÍVAR, Jorge A. Brucelosis en personal de un matadero de Caldas, Colombia: Manizales. Bol. of. Sanit Panam. 1979. p. 63

<sup>21</sup> COTRINA, Marey. Brucelosis. Problema Sanitario y Económico. La Habana, Cuba: Historial científico Pécnica. 1991. p.51

<sup>22</sup> Ibid



El mismo autor reporta que en orden decreciente con relación a la incidencia en el ser humano siguen los territorios afectados por B. suis. El tercer lugar corresponde a las zonas donde predomina la brucelosis causada por B. abortus. La vía más frecuente de infección en el ser humano es la ingestión de leche o productos lácteos (quesos caseros) obtenidos de animales enfermos, sin que dichos productos hayan recibido previamente un tratamiento térmico adecuado que garantice su inocuidad para el consumidor, los vectores mecánicos (otros animales incluso el hombre) pueden difundir la infección.

Merck, reporta que se han recobrado Brucellas en fetos y en estiércol que han permanecido en el ambiente fresco durante más de dos meses y que la exposición a la luz solar directa destruye el microorganismo en unas pocas horas<sup>23</sup>.

#### 4.9 PATOGENIA Y ANATOMÍA PATOLÓGICA

Chung (285) comenta que después de invadir el organismo; la Brucella es fagocitada por leucocitos, polimorfonucleares y macrófagos. Algunas Brucellas mueren, pero otras se multiplican dentro de estas células y las destruyen. Los microorganismos se propagan por vía linfática hasta los ganglios linfáticos y, sino son detenidos, invaden la corriente sanguínea. La bacteriemia puede acarrear la aparición de focos de infección en las células del sistema reticuloendotelial del hígado, bazo, médula ósea y en otros órganos, como el riñón. Dentro de las células fagocitarias, la Brucella está protegida contra la acción de anticuerpos y muchos antibióticos<sup>24</sup>.

De igual manera, este autor reporta que la reacción tisular a Brucella consiste en la formación de granulomas con células epiteliales, células gigantes, linfocitos y células plasmáticas; la Brucella abortus suele originar una forma de enfermedad leve con granulomas, no caseosos en hígado y otros órganos del sistema reticuloendotelial. La Brucella suis ocasiona una enfermedad más grave con complicaciones locales supuradas y granulomas que pueden clasificarse. La Brucella mellitensis origina la forma aguda más grave de la enfermedad con síntomas que pueden ser incapacitantes.

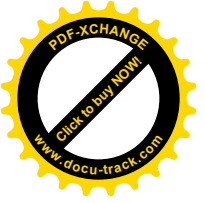
De acuerdo a lo reportado por el doctor Mier, las localizaciones específicas son<sup>25</sup>:

- Osteoarticular: sacroileitis, espondilitis.
- Neurobrucelosis: meningitis, encefalitis.

<sup>23</sup> MERCK. Manual Merck de medicina veterinaria. 1ª. Ed. Barcelona, España: Océano, 1993. p.769

<sup>24</sup> CHUNG, Op cit., p. 285.

<sup>25</sup> MIER, Op cit., p. 2.



- Genitourinaria: orquiepididimitis uni o bilateral, prostatitis, la infección en gestantes no produce aborto.
- Cardiovascular: endocarditis, afecta válvulas principalmente la aorta que lleva a sepsis grave y de difícil control antibiótico.
- Abscesos hepáticos.

Según Braunwald, los macrófagos activados pueden matar la Brucella y este es el mecanismo que produce curación e inmunidad espontánea. Los granulomas de la Brucelosis curan finalmente con fibrosis y a menudo con calcificación. Aunque la Brucelosis es causa frecuente de aborto en animales, no hay indicios de que el aborto en la especie humana se produzca con frecuencia por esta enfermedad<sup>26</sup>.

#### 4.10 MANIFESTACIONES CLÍNICAS

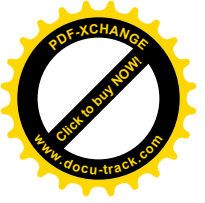
Según Tarradas,

en el hombre la enfermedad es de carácter septicémico, de comienzo repentino e insidioso, con fiebre continua, intermitente o irregular. La sintomatología de una brucelosis aguda incluye escalofríos, sudores profusos y aumento de temperatura. La temperatura puede ser normal por la mañana y llegar a 40° C por la tarde (fiebre ondulante), los sudores se presentan por la noche y se caracterizan por un olor particular. Se produce insomnio, impotencia sexual, constipación, anorexia, cefaleas, artralgias y dolores generalizados. La enfermedad produce alteraciones sobre el sistema nervioso, que traducen en irritación, nerviosismo y depresión, que pueden perdurar meses o incluso años<sup>27</sup>.

Everett manifiesta que la brucelosis esta documentada como una enfermedad de síntomas no específicos. Además de la fiebre se encuentran otros síntomas prominentes como sudoración, malestar, anorexia, fatiga, pérdida de peso y depresión. Las complicaciones más frecuentes son linfadenopatías y hepatoesplenomegalia. Respecto a la capacidad de la brucelosis para afectar a cualquier organismo o sistema y producir una clínica enormemente variada, Ferrero afirma que en su inicio puede ser totalmente inespecífica, dificultando su diagnóstico precoz, aunque en zonas endémicas puede ser más sencillo por el alto índice de sospecha, no hay ninguna agrupación sindrómica que sea

<sup>26</sup> BRAUNWALD, Wilson. Principios de medicina interna, 12ª Ed, México: Interamericana, Mc Graw Hill; 1991. p. 735

<sup>27</sup> TARRADAS, Carlos. Zoonosis transmitida por Animales de Experimentación. Córdoba, Colombia. 2000, p. 9



específica, por ello se la puede agrupar según el curso de la enfermedad y su localización de la siguiente manera<sup>28</sup>:

**4.10.1 Según el curso de la enfermedad:** Según Braunwald (736), la brucelosis se clasifica de dos formas por su curso<sup>29</sup>:

- **Brucelosis aguda.** El período de incubación de la Brucelosis aguda puede oscilar entre 7 - 21 días, pero puede durar meses. Muchas veces el comienzo es insidioso con fiebre ligera y sin síntomas localizados. Malestar, debilidad, cansancio, cefalea, dolor de espalda, mialgias, sudores y escalofríos son las manifestaciones más destacadas. La mayoría de los enfermos tiene anorexia y pierden peso. La infección por Brucella mellitensis puede ser de comienzo brusco con fiebre alta. Es típico que haya multitud de síntomas subjetivos, pero pocos hallazgos físicos. Cuando aparecen signos físicos, las principales manifestaciones son esplenomegalia, 10 - 20% de los enfermos, adenopatía 15% y hepatomegalia menos del 10%.
- **Brucelosis Crónica.** Se define como aquel proceso que dura más de un año desde el comienzo de la enfermedad. Sus manifestaciones son complejas y abarcan a pacientes con recaídas, tengan o no infecciones localizadas y también a los que no tienen signos de infección (ejemplo: falta de fiebre, ni de Brucelosis activa por serología o cultivo). Aunque los primeros padecen una Brucelosis clara, es dudoso que los últimos tengan una Brucelosis activa. Es muy probable que sus molestias fatiga y debilidad sean funcionales. Una complicación poco frecuente que aparece en veterinarios que extraen placentas de animales infectados, consiste en una erupción maculo - eritematosa, papulosa y pustulosa de manos o brazos, que se supone debido a una reacción de hipersensibilidad a los antígenos de Brucella.

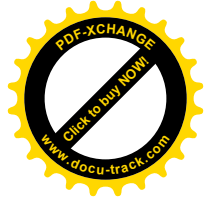
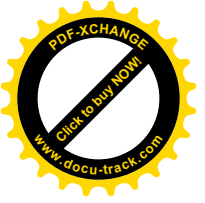
**4.10.2 Según su localización.** Ferrero clasifica la brucelosis, en dos tipos<sup>30</sup>:

- **Brucelosis Generalizada y Focal.** El período de incubación es variable entre una a ocho semanas aunque puede ser mayor. La forma de presentación es aguda en un 50% y subaguda en el resto. Los síntomas iniciales pueden ser: fiebre, sudoración, nocturna, astenia, artromialgias, lumbalgia, cefalea, anorexia, insomnio, depresión, entre otros. Esta sintomatología aparece del 20% al 90% de los casos y constituye la clínica sistémica de la Brucelosis generalizada. No presenta un patrón febril específico, puede presentar fiebre irregular (también se le denomina "fiebre ondulante o mantenida") picos vespertinos, o incluso autolimitante. En muchos casos con neurobrucelosis no se

<sup>28</sup> FERRERO, Miguel. Neurobrucelosis. Segovia España, <http://inferreror@meditex.es>. 1998. p. 17

<sup>29</sup> BRAUNWALD, Op cit., p. 736

<sup>30</sup> FERRERO, Op cit., P. 17



ha detectado fiebre inicial, aunque también puede ocurrir que la brucelosis aconteciera como un cuadro febril inespecífico muchos años atrás; en la exploración física general aparecen pocos signos clínicos: adenopatía del 10 - 20%, esplenomegalia 20 - 50%, de casos pudiendo haber hepatomegalia.

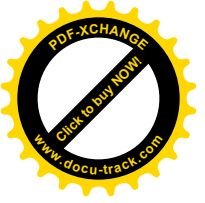
Cuando la enfermedad se presenta afectando un órgano o aparato específico se ha denominado en muchas ocasiones "Brucelosis Focal" o "Complicaciones de la Brucelosis". Se presenta en el 1 a 30% de los enfermos, con más frecuencia son el diagnóstico y el tratamiento retrasado. Lo más frecuente es la osteoarticular del 20 - 80% de los casos; otras complicaciones focales que siguen en frecuencia son: genitourinarios, cardiovasculares, digestivos, cutáneos, pulmonares, hematológicos y otros.

Braunwald comenta que:

las formas localizadas pueden darse en cualquier región anatómica, pero las más frecuentes son: osteomielitis, abscesos esplénicos, infecciones del sistema genitourinario, las formas pulmonares y la endocarditis. La osteomielitis suele afectar a las vértebras, siendo la región lumbo sacra la localización más frecuente. La infección se sitúa en el espacio discal afectando dos vértebras adyacentes. Hay alteraciones precoces en gammagrafía ósea, que van seguidas de signos radiográficos, de osteoporosis, erosión anterior del platillo vertebral y formación de osteofitos en "pico de loro". La artritis, que es mucho menos frecuente que la osteomielitis, afecta muchas veces la rodilla. Pueden aparecer abscesos esplénicos que acaban dando zonas de calcificación. Se observan a veces orquiepididimitis y otras infecciones localizadas como en riñón y próstata, cuyas manifestaciones clínicas son mucho más escasas<sup>31</sup>.

Son más raras las complicaciones neurológicas, según Braunwald, como: meningoencefalitis, mielitis, radiculitis, neuropatía periférica y solo ocasionalmente hay manifestaciones de neumonía o derrame pleural. La endocarditis es la causa frecuente de la mortalidad en enfermos de Brucelosis. Se ha señalado que predomina en varones, que afecta más a menudo la válvula aórtica, tiene un comienzo insidioso provoca vegetaciones voluminosa, y ulceradas, se acompaña con mucha frecuencia de insuficiencia cardiaca congestiva y embolias arteriales y su curación suele exigir el tratamiento con antibióticos como la sustitución quirúrgica de la válvula.

<sup>31</sup> BRAUNWALD, Op cit., p. 735



#### 4.11 ASPECTOS INMUNOLÓGICOS

Chung declaró, que una de las características de infección por Brucella es la aparición de una hipersensibilidad de tipo retardado a la endotoxina del microorganismo. Esta hipersensibilidad aparece a los varios días siguientes a la infección y puede intensificar la respuesta inflamatoria<sup>32</sup>.

Según Ángel, la enfermedad produce dos tipos de anticuerpos, ambos específicos: el aglutinante, que aparece 15 a 20 días después de iniciada la enfermedad y pertenece al grupo de las inmunoglobulinas IgG e IgM y los bloqueantes que son del tipo A y aparece después de la décima semana<sup>33</sup>.

Jacques, dice que las Brucellas siendo parásitos intracelulares facultativas, promueven la sensibilización de los linfocitos T y la activación de los macrófagos, muy poco después de la infección<sup>34</sup>.

Esta respuesta puede evidenciarse in vitro, con varios métodos como la prueba de estimulación de linfocitos, así como la prueba intradérmica (cutirreacción).

#### 4.12 DIAGNÓSTICO

Braunwald indica que:

la Brucelosis es una enfermedad susceptible de confundirse con muchas enfermedades habituales, pueden parecerse a su forma más frecuente de presentación (o sea fiebre sin síntomas ni signos físicos de Idealización). Entre ellas están las mononucleosis infecciosa, fiebre tifoidea y otras. La enfermedad debe sospecharse más en granjeros, matarifes, veterinarios y otras personas expuestas a tejidos infectados o productos animales. La mayor parte de las pruebas usuales de laboratorio no son útiles. El recuento de leucocitos puede ser normal o bajo y la velocidad de eritrosedimentación pueden ser normales<sup>35</sup>.

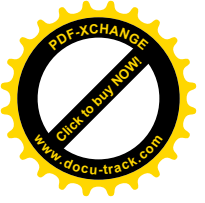
Spink reporta que el diagnóstico en humanos se basa en pruebas especiales de laboratorio que el médico indica basado en los síntomas del paciente. Es importante que el médico tenga en cuenta el peligro de contagio en que están los

<sup>32</sup> CHUNG, Op cit., p.287

<sup>33</sup> ÁNGEL, Gilberto. Interpretación clínica de laboratorio. 4ª Ed. Bogotá, Colombia, Panamericana, 1993. p. 94

<sup>34</sup> JACQUES Op cit. p. 86.

<sup>35</sup> BRAUNWALD, Op cit., p.736



ganaderos que mantienen un contacto muy estrecho con el ganado para que él pueda orientarse mejor cuando hay casos que pueden parecer febriles por paludismo o resfriados muy frecuentes<sup>36</sup>.

En el boletín informativo del Ministerio de Salud, la enfermedad se describe después de mucho tiempo, el tratamiento, es poco seguro y costoso. Los exámenes de laboratorio se pueden hacer por medio de muestras bacteriológicas o cultivos de Brucella, también por medio de pruebas serológicas realizadas en laboratorios especializados<sup>37</sup>.

**4.12.1 Diagnóstico directo.** Las principales pruebas directas para determinar esta zoonosis son:

**a. Cultivo.** Montes menciona que el aislamiento de Brucella sp. constituye el método diagnóstico definitivo. Los medios más utilizados para ello son el caldo triptosa, el agar para Brucella y el agar triptosa. Suele obtenerse por hemocultivo o cultivo de médula ósea y más raramente, por cultivo de líquido cefalorraquídeo, líquido articular, exudado purulento, entre otros. En los procesos agudos, incluso cuando la extracción de los hemocultivos se practica en fase afebril, el porcentaje de aislamiento oscila entre el 90 - 95% de los casos. En casos de fracaso terapéutico o reinfección este porcentaje no suele superar el 60%, en los últimos años, debido a la importante sobrecarga de trabajo, los sistemas manuales de hemocultivo han ido sustituyéndose por aparatos de lectura automática<sup>38</sup>.

De igual manera, Montes indica que el género Brucella, debido a su escasa producción de CO<sub>2</sub>, lento crecimiento y baja actividad metabólica, se ha convertido en paradigma para la evaluación de la sensibilidad de estos nuevos sistemas. Cabe destacar que todos los aparatos estudiados presentan falsos negativos, circunstancia que obliga, en aquellas áreas donde la enfermedad es endémica, hacer subcultivos a todos los hemocultivos con sospecha de Brucelosis<sup>39</sup>.

El aislamiento de Brucella sp. a partir de hemocultivo suele ser la primera fuente diagnóstica de la enfermedad en áreas geográficas con muy baja incidencia. En

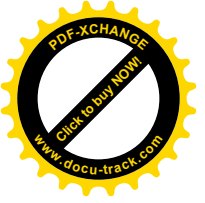
<sup>36</sup> SPINK, William W. The nature of brucellosis. Minneapolis: University of Minnesota Press, 1976. p.15

<sup>37</sup> MINISTERIO DE SALUD, DIRECCIÓN GENERAL DE SALUD PÚBLICA. Brucelosis. Boletín Informativo. Bogotá, Colombia. 2.000 p.8

<sup>38</sup> MONTES, Isaías. Diagnóstico de brucelosis. Plasencia (Cáceres) España.1994. 1- 5 p. Servicio de microbiología. Hospital Virgen de Puerto Rico. p.2

<sup>39</sup> Ibid. p. 3





casos de muestras contaminadas (abscesos, restos placentarios, entre otros) deben utilizarse medios selectivos de los que, si bien hay varios descritos, probablemente el más accesible y práctico para la mayoría de los laboratorios es el medio modificado de Thayer - Martín.

Los laboratorios Merck, informan que mediante la adición de diversos antibióticos (Thayer Martín suplemento I), así como por aditivos estimulantes específicos del crecimiento (Thayer Martín suplemento II), que completan al sustrato basal, con o sin adición de hemoglobina, consigue inhibir totalmente el crecimiento de flora acompañante<sup>40</sup>.

- **AGAR THAYER – MARTÍN**  
**COMPOSICIÓN (g / litro)**

Proteosa – pegona	15.0
D(+) glucosa	1.0
Almidón soluble	1.0
Hidrogenofosfato dipotásico	4.0
Dihidrogenofosfato potásico	1.0
Cloruro sódico	5.0
Agar – agar	12.0

- **Empleo e Interpretación.** Caliéntese previamente el medio de cultivo durante unos 30 minutos en estufa a 37° C. A continuación, se siembra con el material objeto de ensayo y se incuba hasta 48 horas en "cámara húmeda" en atmósfera que contenga 5 - 10% de CO<sub>2</sub>. las colonias crecidas se someten individualmente a investigación para su identificación. Dentro de los criterios diagnósticos importantes están:

1. Morfología típica de las colonias que estén aisladas.
2. Tinción de frotis según Gram.

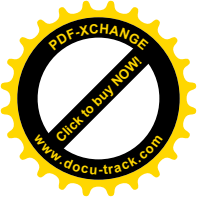
El suplemento I para el agar Thayer - Martín, es una mezcla liofilizada, estéril, de antibióticos y sirve como agente selectivo para la inhibición de la flora perturbadora acompañante. El suplemento II para el agar Thayer - Martín es una mezcla liofilizada, estéril de sustancias activas, químicamente definidas, que favorecen el crecimiento de microorganismos exigentes. Se incorpora, en forma disuelta, a los correspondientes medios de cultivo, después de su esterilización.

- **THAYER - MARTÍN SUPLEMENTO I (composición Mg. por vía oral):**

Vancomicina	0,6.
Colistina	1,5.

- **THAYER - MARTÍN SUPLEMENTO II (composición Mg. por vía oral):**

<sup>40</sup> MERCK. Op cit., p. 179



Tiaminio dicloruro	0,006.
Glutamina	20,0.
L – cistina	2,2.
L – cisteinio cloruro	51,8.
Adenina	2,0.
Guanina clorhidrato	0,06.
Ácido 4 - aminobenzóico	0,026.
Vitamina B - 12	0,02
Cocarboxilasa	0,2.
Nicotinamida – adenina – dinucleótido	0,5.
nitrato	0,04.

- **Empleo.** Disolver el liofilizado en el vial, por adición de agua destilada estéril. La preparación del agar Thayer - Martín se lleva a cabo mezclando el contenido disuelto de un vial de suplemento I Thayer - Martín y otro suplemento II Thayer - Martín en 200 ml de medio de cultivo basal de agar Thayer - Martín (base), estéril, dejado enfriar a unos 50° C y todavía líquido. A continuación el medio de cultivo completo se vierte en placas o se preparan tubos inclinados. Guardados en nevera (+ 2° C hasta + 8° C), estos liofilizados son conservados durante 3 años, por lo menos. El agar Thayer - Martín, listo para el uso, es conservable en nevera (+ 2° C hasta + 8° C) durante 6 meses, por lo menos (Laboratorio Merck, 181).

El laboratorio Oxoid limited (1981, 84) especifica también otros medios utilizados para el cultivo de Brucella como son el medio base para Brucella, y el suplemento selectivo para Brucella que son descritos a continuación:

- **MEDIO BASE PARA Brucella FORMULA (g / litro)**

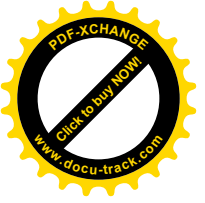
Peptona	10,0
'Lab – lemco en polvo	5,0
Dextrosa	10,0
Cloruro de sodio	5,0
Agar	15,0

pH 7,5 (aproximadamente)

Se pueden añadir los siguientes antibióticos al agar suero - dolosa:

Bacitracina	25,000 unidades por litro
Polimixina B	600 mcg por litro
Actidiona	100 mcg por litro

- **Técnica.** No se recomienda la adición de medios colorantes (violeta de genciana) como agentes selectivos, ya que pueden dar lugar a un crecimiento escaso en cepas de Brucella. Este medio se recomienda para ser utilizado conjuntamente con el método de la tira colorante de Cruickshank, permitiendo así la diferenciación de cepas.



1. Se impregnan tiras de papel filtro con Fuchina básica a 1:200 o Tionina 1:600. se dejan secar.
2. Se colocan las tiras en forma paralela sobre la superficie del agar suero - dextrosa y después se cubren con una capa fina del mismo medio. A continuación, se deja que se solidifique el medio.
3. Se inoculan las cepas de Brucella a probar, haciendo trazos perpendiculares a las tiras.
4. Se examina. Las cepas resistentes crecen sobre la tira, pero las cepas sensibles muestran inhibición de crecimiento hasta 10 mm por fuera de la tira.

Los patrones de crecimiento típicos son como siguen:

	Fuchina básica	Tionina
	1:200	1:600
<u>Brucella abortus</u>	crecimiento	sin crecimiento
<u>Brucella mellitensis</u>	crecimiento	crecimiento
<u>Brucella suis</u>	sin crecimiento	crecimiento

- **SUPLEMENTO SELECTIVO PARA Brucella**  
**FORMULA (por vía oral)**

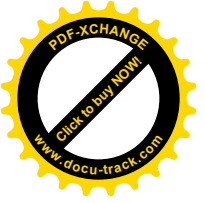
Polimixina B	2,500 UI = 5,000 UI/litro
Bacitracina	12,500 UI = 25,000 UI/litro
Cicloheximida	50 mg = 100 mg/litro
Ácido nalídixico	2,5 mg = 5 mg/litro
Nistatina	50,000 UI = 100,000 UI/litro
Vancomicina	10 mg = 20 mg/litro

- **TÉCNICA**

1. Para el cultivo directo de Brucella sp. a partir de leche, se transfieren las muestras a tubos estériles y se mantiene a 40° C durante 18 horas.
2. Se retira una alícuota de la crema de gravedad con un asa espiral y se extiende sobre una placa de agar suplementado, por medio de una barra de vidrio curvada estéril.
3. Se incuban las placas a 37° C en una atmósfera que contenga 10 – 20% (v/v) de anhídrido carbónico y se examina cada dos días hasta el décimo día.
4. Las colonias de Brucella aparecen convexas de 1 - 2 mm de diámetro, con bordes intactos redondeados y puede identificarse por la aglutinación en porta.

Braunwald indica que:

las muestras de Brucella deben etiquetarse como sospechosas de brucelosis y deben ser procesadas únicamente por laboratorios dotados de instalaciones de bioseguridad de nivel 3, debido a los peligros que encierra para el personal de laboratorio. Los cultivos de médula que son positivos en la



Brucelosis aguda en muchas ocasiones en que los hemocultivos no lo son. También es probable que sigan siendo positivos en fases más tardías de la enfermedad a pesar de la administración de antibióticos<sup>41</sup>.

Añade además que según como la enfermedad evolucione, la bacteriemia se vuelve menos frecuente y los microorganismos pueden aislarse entonces en los ganglios linfáticos infectados o en los granulomas del bazo, hígado o hueso en total, sólo un 15 a 20% de los casos de Brucelosis se confirma por cultivo. En la Brucelosis localizada puede ser necesaria la biopsia para aislar Brucella y confirmar el diagnóstico. El diagnóstico en la mayor parte de los casos de Brucelosis se hace mediante pruebas serológicas.

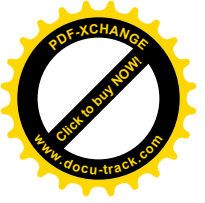
- b. Examen microscópico.** Según Montes una vez observado el crecimiento en el medio difásico o cuando el aparato automático de hemocultivo detecta un posible crecimiento, a simple tinción de Gram permite hacer el diagnóstico presuntivo de la enfermedad. Brucella sp presenta unas características tintoriales especiales: aunque no es una bacteria ácido – alcohol resistente, no sufre decoloración con ácidos débiles. También la tinción de Gram es peculiar: si el tiempo de exposición al alcohol - acetona es muy breve (simple arrastre por el porta del decolorante, en vez de tiempos de decoloración más prolongados), presenta una decoloración irregular, pudiendo observarse en la misma muestra la coexistencia de pequeños cocobacilos gramnegativos y grampositivos. No es extraño, en contra de los que se cree, tener un diagnóstico presuntivo de brucelosis por hemocultivo en dos o tres días<sup>42</sup>.
- c. Subcultivo y aspecto colonial.** El mismo autor dice que el subcultivo del medio difásico o del frasco procedente del aparato automático, en medio con agar - sangre o agar - chocolate, muestra el crecimiento, al cabo de 48 horas, de pequeñas colonias brillantes, de diferente tamaño y de color" miel claro. Si no se observan cuidadosamente las placas, en casos con crecimiento de escaso número de colonias, se puede falsear erróneamente algún diagnóstico. Tras la tinción de Gram de estas colonias para observar su aspecto característico, se realizará la reacción de a oxidasa (positiva) y aglutinación con suero específico frente a Brucella, suficiente para identificar el aislamiento.

**4.12.2 Diagnóstico indirecto.** Las pruebas serológicas indican las titulaciones de anticuerpos específicos presente en cada paciente. Las más utilizadas, según Montes, se anotaran a continuación<sup>43</sup>:

<sup>41</sup> BRAUNWALD, Op cit. p. 736.

<sup>42</sup> MONTES, Isaías. Op cit., p.3.

<sup>43</sup> Ibid. p. 5



**a. Aglutinación:** En sus diferentes modalidades, es la prueba más utilizada debido a su rapidez y sensibilidad. El aumento significativo de título de anticuerpos es la base diagnóstica de la enfermedad.

- Rosa de Bengala: Según Mariño, la prueba Rosa de Bengala, es una técnica de escrutinio rápido que pone de manifiesto las aglutininas totales de cualquier especie en pacientes con brucelosis aguda o crónica, dicha prueba puede permanecer positiva durante meses o años después de haber terminado el tratamiento, por lo cual no se recomienda como prueba de seguimiento<sup>44</sup>.

Montes, utiliza como antígeno en una suspensión bacteriana a la que se da el colorante Rosa de Bengala, enfrentándola al suero sin diluir del enfermo. Proporciona una aproximación diagnóstica en pocos minutos con una sensibilidad y especificidad muy altas. Presenta elevado grado de correlación con la seroaglutinación y por su simplicidad, es muy útil como prueba de despistaje inicial o screening. Sus falsos negativos se limitan a enfermos con procesos de pocos días de evolución y a algunos casos de enfermedad de curso muy prolongado<sup>45</sup>.

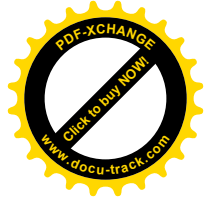
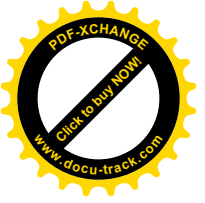
Según la Office International des Epizooties para la preparación de los antígenos utilizados en las pruebas de aglutinación en placa de Rosa de Bengala y de fijación del complemento se aconseja utilizar las cepas 99 o 119 - 3 del biovar 1 de B. Abortus. Estos antígenos suelen presentarse en forma de suspensiones de células enteras de Brucella inactivada y estandarizada en solución salina fenolada al 0,5%. Deben utilizarse las líneas germinales originales de la cepa 99 (Weybridge) y 119 - 3 (USDA) de Brucella abortus<sup>46</sup>.

El Manual de Técnicas Serológicas para el Diagnóstico de Brucelosis (2000, 6) indica que en las pruebas in vitro, los antígenos particulados, en este caso células completas de Brucella abortus, interactúan con los anticuerpos para producir una aglutinación visible produciendo una reacción de tipo secundario que depende de las proporciones óptimas de los reactantes. La aglutinación inespecífica de las Brucellas lisas se reduce a pH 3,6, mientras que en estas condiciones se mantiene la actividad de los anticuerpos específicos IgG1, razón por la cual se emplea en esta prueba de aglutinación un antígeno celular teñido con el colorante Rosa de Bengala (RB), tamponado a pH 3,6. La técnica ha sido evaluada por diversos autores y ha demostrado elevada sensibilidad aunque requiere prueba confirmatoria debido a su especificidad relativamente baja. Se recomienda como sustituto de la prueba de tamiz,

<sup>44</sup> MARIÑO, Olga. Brucelosis. Bogotá, Colombia, 2001, p. 2.

<sup>45</sup> MONTES, Op. cit. p.5

<sup>46</sup> OIE, Office International Des Epizooties. Manual de Normas Para Pruebas de Diagnóstico. Estados Unidos. 2000. p. 4 (consulta vía Internet URL: <http://oie.int>. Estados Unidos. 2000. p.1).



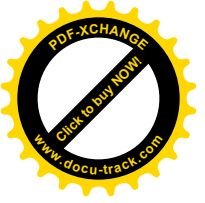
aglutinación rápida en placa, ya que esta última es considerada de poco valor diagnóstico en la actualidad.

La prueba de Rosa de Bengala, es esencialmente la misma prueba de tarjeta y junto con la prueba conocida como aglutinación acidifica en placa (BPAT) son las tres pruebas clasificadas como de antígeno acidificado que han comprobado ser las aglutinaciones de mejor funcionamiento en cuanto a especificidad. La prueba de la tarjeta es la prueba de campo y se encuentra como kit comercial y la BPAT es la empleada en USA.

Se describe aquí la prueba Rosa de Bengala que para nuestras condiciones ha comprobado ser la de mejor rendimiento, cabe aclarar que esta prueba detecta anticuerpos contra las especies de Brucella: mellitensis, abortus y suis. La sensibilidad de la prueba es afectada por la temperatura de los reactivos, por lo que es indispensable que los reactivos, antígeno y sueros (anticuerpos) se encuentren a temperatura ambiente para su reacción confiable. El antígeno puede deteriorarse si no se mantiene en refrigeración. A continuación se describe la técnica:

## MATERIALES REQUERIDOS

1. **Placas.** Se recomienda la utilización de un vidrio plano o una losa de cerámica dividido en cuadros de 15 mm. a 30 mm. de lado. Se debe evitar producir rayaduras en esta placa y debe mantenerse muy bien lavada con detergente después de cada prueba y jugar cuidadosamente con agua destilada y secar en horno.
2. **Pipetas.** Para la medición de los reactivos, utilizar micropipetas automáticas bien calibradas para dispensar cantidades exactas de 30  $\mu$ l.
3. **Antígeno.** Antígeno de Brucella abortus cepa 119-3 acidificado a pH 3,6 y colorado con colorante Rosa de Bengala bajo los estándares internacionales (Altón y col 1988). Disponible comercialmente, debe ser almacenado a 4° C y no se debe congelar en ningún momento.
4. **Mezclador.** No se requiere equipo especial. La utilización de palillos de madera desechables es suficiente para mezclar los reactivos.
5. **Caja de lectura.** Una caja con una superficie blanca translúcida iluminada desde dentro o una lámpara de luz indirecta son suficientes.
6. **Suero control.** Obtenido de referencia y almacenado congelado en alícuotas de pequeño volumen y llevado a temperatura ambiente en el momento de la prueba



- **MÉTODO**

Llevar los sueros y el antígeno a temperatura ambiente ( $22^{\circ}\text{C} + / - 4^{\circ}\text{C}$ ) solamente la cantidad indispensable de antígeno debe ser sacado del refrigerador.

Colocar una gota de  $30\ \mu\text{l}$  de sueros controles positivo y control negativo en sitios previamente definidos para ellos y colocar sueros problema en lugares sucesivos en la placa de trabajo.

Cuando los sueros hayan sido colocados agitar el antígeno para homogenizarlo y añadir una gota de igual volumen en cada gota de suero.

Inmediatamente después de colocar todas las gotas de antígeno, mezclar el suero y el antígeno exhaustivamente. Mover la placa en círculos amplios 6 veces en el sentido de las manecillas del reloj y 6 veces en el sentido contrario.

Una vez que el antígeno y el anticuerpo hayan sido mezclados, permitir agitación durante 4 minutos en un mezclador automático o hacer agitaciones periódicas durante los 4 minutos y leer los resultados exactamente al final del período.

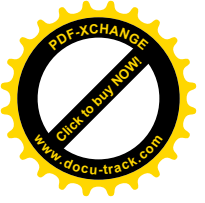
## **LECTURA DE LA PRUEBA**

La presentación de aglutinación fina con borde transparente o formación de grumos definidos se interpretará como resultado POSITIVO.

El resultado de la prueba se interpretará como NEGATIVO cuando no se produzca aglutinación, esto es coloración rosada uniforme sin grumos de ninguna naturaleza y sin formación de bordes.

El resultado será SOSPECHOSO si se presenta aglutinación perceptible y tenue, formación de borde, en tal caso proceder a confirmar por una prueba más sensible.

- **Seroaglutinación en tubo o placa con pocillos:** Montes expone que enfrenta diluciones crecientes del suero problema a una cantidad constante de Brucella abortus. Este antígeno reacciona tanto con anticuerpos de esa especie como frente a los de Brucella mellitensis y Brucella suis que son las tres especies responsables en la práctica de la totalidad de enfermos con brucelosis. El título positivo de 1/160 se considera, en un país endémico como España, el punto de corte en el diagnóstico de la enfermedad. Su



interpretación requiere conocer los antecedentes del enfermo y valorar las características clínicas presentes puesto que, al inicio de la enfermedad o en casos muy avanzados de la misma, la prueba puede ser, como el de Rosa de Bengala, negativa. Debido a que los anticuerpos responsables de la seroaglutinación son fundamentalmente de la clase IgM, lo habitual es que vayan descendiendo en el trascurso de 3 – 6 meses, con o sin curación de la enfermedad<sup>47</sup>.

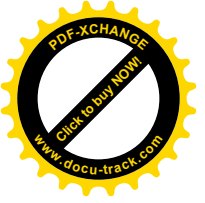
- **Prueba de Coombs:** Es considerada por Montes de gran interés para el diagnóstico de la brucelosis crónica. Se utiliza para demostrar la presencia de anticuerpos aglutinantes y no aglutinantes IgG. El suero de Coombs (inmunoglobulina humana) se encargaría de facilitar la aglutinación de los anticuerpos no aglutinantes del suero problema, fijados a la suspensión antigénica de Brucella abortus. El título obtenido es, por ello, como mínimo el de la aglutinación y generalmente es mucho más elevado, tanto mayor es el tiempo de evolución de la enfermedad. Pueden persistir en ocasiones de forma prolongada y con titulación elevada, incluso en pacientes con tratamiento adecuado y buena evolución clínica. Hay que citar como posibles falsos positivos las reacciones cruzadas con *Vibrio cholerae*, *Francisella tularensis* y *Yersinia enterocolitica* 09.

- Prueba estandarizada de aglutinación en tubo: Braunwald (736) reporta que la prueba estandarizada de aglutinaciones en tubo (PEA) para Brucella ha sido la más usada en el diagnóstico de Brucelosis. Con ella se determinan los anticuerpos dirigidos principalmente contra los antígenos lipopolisacáridos de Brucella. Se considera positivo un título mayor o igual a 1:160 e indica exposición reciente o anterior a Brucella, o a los antígenos que tiene reacción cruzada con las especies Brucella (pruebas cutáneas para Brucella vacunación de cólera o infección por *Vibrio cholerae*, *Francisella tularensis* o *Yersinia enterocolitica*).

El mismo Braunwald comunica que, un ascenso cuatro o más veces del título de anticuerpos en muestras de suero extraídas con un intervalo de 1 a 4 semanas indica una exposición reciente a Brucella o a los antígenos tipo Brucella. Las parejas de muestras deben estudiarse el mismo día y en el mismo laboratorio. En la mayoría de los enfermos, las determinaciones sucesivas de PEA revelan una elevación de título de anticuerpos en la primera o segunda semana de la enfermedad y a las tres semanas prácticamente todos los enfermos presentan seroconversión. Si la sospecha de Brucelosis esta muy fundada, debe hacerse diluciones de hasta 1:1280, pues hay falsos negativos debido a anticuerpos bloqueantes capaces de obstaculizar la aglutinación a títulos hasta 1:640. Los títulos de PEA inferiores a 1:160 son una prueba en contra de la Brucelosis activa.

<sup>47</sup> MONTES, Op cit., p. 6.





Igualmente este informa que, los métodos de diagnóstico de la Brucelosis utilizan los antígenos de Brucella abortus pues los anticuerpos para Brucella mellitensis y Brucella suis dan reacciones cruzadas con Brucella abortus. Sin embargo, los anticuerpos para Brucella canis no reaccionan con el antígeno de Brucella abortus y necesitan estudios serológicos especiales para detectar esos antígenos. Los títulos de anticuerpos de IgM se elevan pronto en la Brucelosis (generalmente en la primera semana de infección), alcanzan su máximo hacia los tres meses y descienden luego paulatinamente. Pero pueden persistir títulos altos durante años.

Según Braunwald,

los anticuerpos de IgG aparecen 2 a 3 semanas después del comienzo de la enfermedad llegan a su acmé hacia las ocho semanas y se mantienen mientras dura la infección activa. Al curar los títulos de anticuerpos IgG disminuyen rápidamente y desaparecen, por lo general en un año. Si los anticuerpos IgG se mantienen altos indican persistencia de infección. En las recaídas, se elevan los títulos de inmunoglobulina IgM e IgG. El empleo de 2 mercaptoetanol en la PEA distribuye la actividad aglutinante de los anticuerpos IgM y permite medir exclusivamente el anticuerpo aglutinante IgG. En contraste a la elevación de anticuerpos IgM, un solo título mayor o igual a 1:160 en la PEA con 2 - mercaptoetanol es una prueba evidente de infección actual o muy reciente<sup>48</sup>.

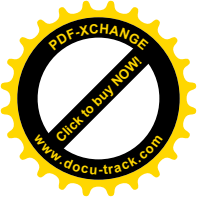
#### 4.13 TRATAMIENTO

Ferrero indica que:

no hay un consenso definido en el tratamiento de la Brucelosis, pero los requisitos generales de acción contra la Brucella de cualquier terapéutico debe ser que tengan capacidad de penetración y actividad intracelular. Ninguno de los antibióticos disponibles actualmente es capaz de erradicar por sí solo al germen, con una alta tasa de residuos cuando fueron utilizados en su inicio como monoterapia. Desde hace décadas se han utilizado mezclas de varios, combinando propiedades como la actividad, sinérgica, la acción intracelular y la capacidad bactericida de al menos uno de los agentes. En general se usan combinaciones de dos fármacos y son frecuentes los de tres a cuatro fármacos<sup>49</sup>.

<sup>48</sup> BRAUNWALD, Op cit., p.736.

<sup>49</sup> FERRERO, Op cit., p. 13.



Braunwald, señala que:

el tratamiento de elección de la Brucelosis es la combinación de Tetraciclina, 30 mg/ kg. diario, dividido en cuatro tomas iguales, vía oral durante 3 a 6 semanas más estreptomycin 15 mg / kg en 12 h, por vía intramuscular durante las dos primeras semanas. En enfermos de brucelosis localizada se aconseja una duración más prolongada de la tetraciclina. Los pacientes con residuos suelen curar al repetir el tratamiento; la tetraciclina no debe usarse en embarazadas ni en niños menores de ocho años, por el riesgo de que aparezca coloración amarillenta de los dientes<sup>50</sup>.

La acción concomitante de doxiciclina 100 mg oralmente dos veces al día por veintiún (21) días y rifampisina 900 mg una vez al día por seis (6) semanas. Durante el embarazo no se deben utilizar aminoglucósidos y estreptomycin pues han sido poco eficaces.

Cedeño comenta que el tratamiento en animales es antieconómico debido a las altas dosis y costos de las drogas y los resultados se consideran insatisfactorios<sup>51</sup>.

#### 4.14 PRONÓSTICO

Braunwald, sostiene que:

antes incluso de la época antimicrobiana, la mortalidad de la brucelosis era inferior al 5% y sólo en un 15% de casos de la enfermedad duraba más de tres meses. Con la quimioterapia la mortalidad es inferior al 2% y los casos prolongados y con complicaciones son raros. Si la enfermedad se prolonga más de 1 a 2 meses, deben buscarse otras causas, una previa enfermedad subyacente no sospechada o una complicación de la brucelosis<sup>52</sup>.

#### 4.15 PROFILAXIS

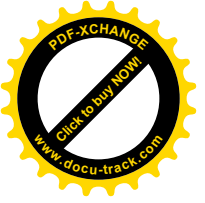
Según Braunwald,

La eliminación de la brucelosis humana es erradicar la brucelosis animal. Esto puede conseguirse inmunizando a los animales con una vacuna de Brucella viva, atenuada, que produce inmunidad. El riesgo de adquisición de la brucelosis puede disminuir usando leche y productos lácteos pasteurizados, evitando la exposición a tejidos de animales infectados, protegiendo las posibles fuentes de entrada de

<sup>50</sup> BRAUNWALD, Op cit., p. 736.

<sup>51</sup> CEDEÑO QUEVEDO, Darío. Sanidad animal. Colombia. Lerner Ltda. 1996. p.50

<sup>52</sup> BRAUNWALD, Op cit., p. 737



las personas en riesgo (veterinarios, inspectores de carne, matarifes, etc.) con apósitos protectores sobre las heridas o erosiones cutáneas y mediante el uso de guantes, trajes y gafas protectoras<sup>53</sup>.

Tarradas sostiene que:

una medida de profilaxis consiste en la vacunación de personas en riesgo con una vacuna que utiliza la cepa de B. abortus aplicada por escarificación de la piel. Otras medidas son la higiene personal, la utilización de desinfectante a base de cloramina acuosa cáustica al 0.5% para el lavado de manos, desinfección de instalaciones (cloramina al 5%, soda cáustica al 8 o 10%) utilización de ropa protectora (batas, botas) que se desinfectará con una solución de cloramina al 2% o una solución de jabón fenólico al 3%<sup>54</sup>.

Blood dice que:

es necesaria la cooperación del gobierno para todos los niveles, tanto regional, como nacional, para que el programa tenga éxito. La cooperación se logra únicamente con un esquema intensivo de educación. El propietario de un rebaño infectado debe reconocer el problema y expresar su voluntad de cooperar. La experiencia revela que debe impresionarse al propietario en los peligros que entraña la enfermedad para la salud de los humanos y con las pérdidas económicas que pueden ocurrir a causa de los animales infectados<sup>55</sup>.

En cuanto a la prevención de la Brucelosis en animales Green recomienda que las medidas preventivas son importantes en criaderos grandes pero, no hay medias de control legales y la Brucelosis canina es una enfermedad notificable. No se cuenta con vacunas y los resultados de estudios experimentales son pocos satisfactorios<sup>56</sup>.

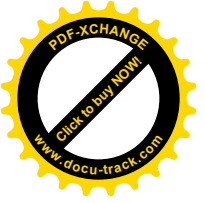
---

<sup>53</sup> Ibid. p. 737.

<sup>54</sup> TARRADAS, Op cit., p. 9

<sup>55</sup> BLOOD, Op cit., p.735

<sup>56</sup> GREEN, Graig. Enfermedades infecciosas en perros y gatos. 2ª Ed, México, Mc Graw Hill, Interamericana, 2000. p.708



## 5. DISEÑO METODOLÓGICO

### 5.1 LOCALIZACIÓN.

El corregimiento de El Espino, forma parte del municipio de Sapuyes, y conforma una de las zonas de la cuenca lechera de Nariño.

El corregimiento de El Espino, Municipio de Sapuyes, ubicado a 80 km al sur occidente de la ciudad de San Juan de Pasto, limitando al norte con el municipio de Tuquerres, al sur con la comunidad y el Municipio de Guachucal, al Oriente con Malaver y Santander, y al Occidente con Panamal. Su altura sobre el nivel del mar es de 3.000 metros, una temperatura media de 12° C, precipitación anual de 1.177 mm. Localizado a 1° 32' 43" de latitud norte y 77° 37' 10" de longitud Oeste de Greenwich. Según el meridiano de Bogotá esta localizado a 3° 22' 18".

Fuente: Agustín Codazzi 1995.

### 5.2 POBLACIÓN DE ESTUDIO Y MUESTRA.

Se planteo la Hipótesis nula Donde:

H<sub>0</sub>: La presencia de la enfermedad es independiente del trabajo realizado.

H<sub>1</sub>: La presencia de la enfermedad es dependiente del trabajo realizado.

a. Cálculo del tamaño de muestra.

Procedimiento: Estudio de prevalencia por muestreo CePanZo mediante la siguiente fórmula se determina el número de personas a muestrear.

Donde:

Z<sup>2</sup> = Valor tabular para una confianza del 98% = 1,96

P = Prevalencia estimada = 0.12 (Según la Regional del Instituto Colombiano Agropecuario ICA de Nariño - 2002)

q = 1 - P = 1 - 0.12 = 0.88

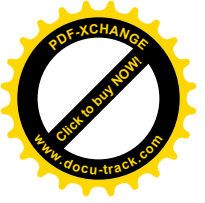
d<sup>2</sup> = Error de estimación máximo admitido = 5%

N<sub>0</sub> =  $\frac{(1.96)^2 \times 0.12 \times 0.88}{0.0025} = 162$

Como se conoce N (Puesto de salud de Sapuyes)

Se debe corregir por tamaño finito.

$$\frac{1}{N} = \frac{1}{N_0} + \frac{1}{N} = \frac{1}{N} = \frac{1}{162} + \frac{1}{94}$$



$$\frac{1}{N} = 0.006 + 0.0010$$

$$\frac{1}{N} = 0.006 + 0.0010$$

$$\frac{1}{N} = 0.0166$$

$$N = 1/0.0166 \approx 60$$

Según el diseño estadístico utilizado, se escogieron al azar sesenta (60) individuos del grupo casos y sesenta (60) individuos del grupo controles.

El mismo cálculo o diseño estadístico se utilizó para calcular el tamaño de la muestra de las personas de la misma región cuya actividad es diferente.

### **5.3 TÉCNICAS DE RECOLECCIÓN Y ANÁLISIS DE LA INFORMACIÓN.**

La recolección de las muestras a los ciento veinte (120) individuos se hizo teniendo las precauciones debidas del caso para evitar la transmisión de alguna enfermedad. Se utilizaron guantes quirúrgicos, jeringas desechables, agujas estériles, tubos esterilizados y secos.

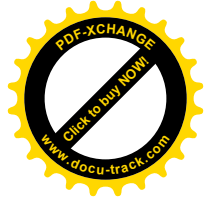
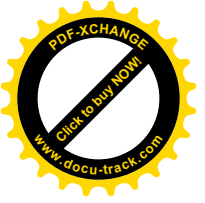
Se tomaron las muestras de la vena cefálica, aproximadamente 5 ml de sangre por persona. Cada muestra se identifico con un número, el nombre y actividad.

Las muestras de suero sanguíneo fueron procesadas en el laboratorio de la Clínica Carlos Martínez de la Universidad de Nariño.

### **5.4 PRUEBAS DE LABORATORIO**

Prueba Rosa de Bengala. Según Belalcazar y Corrella (1982, 47), afirma que la prueba Rosa de Bengala se realiza siguiendo los pasos que a continuación se detallan:

- a. Colocar 0,03 ml de plasma o suero problema sobre uno de los cuadros de la lámina de vidrio.
- b. Colocar una gota del antígeno Rosa de Bengala cerca de la gota de suero.
- c. Mezclar bien el suero y el antígeno utilizando un agitador distinto para cada muestra.
- d. Hacer girar la lámina o tarjeta durante cuatro minutos a razón de 10 a 12 movimientos por minuto.
- e. El resultado de la prueba se lee a los cuatro minutos sobre un fondo blanco. Las reacciones positivas presentan grumos de aglutinación que pueden ser grandes o pequeños.



## 6. PRESENTACIÓN Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Los resultados obtenidos de las muestras dan pie para aplicar la formula para la prevalencia, encontrándose los siguientes valores.

### PREVALENCIA PARA LOS CASOS

$$P = \frac{1}{60} \times 100$$

$$P = 1,66 \%$$

### PREVALENCIA PARA LOS CONTROLES

$$P = \frac{0}{60} \times 100$$

$$P = 0 \%$$

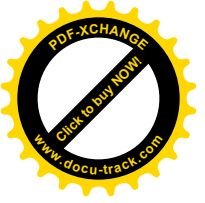
### PREVALENCIA DEL TOTAL DE MUESTRAS

$$P = \frac{1}{120} \times 100$$

$$P = 0,83 \%$$

El porcentaje de prevalencia del total de las muestras tomadas corresponde al 0.83%, teniendo en cuenta que el valor que se tomó como referencia de la prevalencia total del departamento es del 12.8% que corresponde al estudio realizado en pacientes humanos remitidos al ICA como posibles seropositivos.

Podemos determinar que la prevalencia estadísticamente no es significativa, pero definitivamente la actividad ocupacional reviste un riesgo para adquirir la infección por Brucella sp.



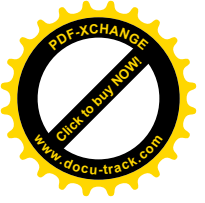
## 7. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

### 7.1 CONCLUSIONES

- La prevalencia de anticuerpos contra Brucella sp. determinada mediante prueba de Rosa de Bengala es de 1,66 % en trabajadores de derivados lácteos (quesos) del Corregimiento del Espino, Municipio de Sapuyes, Nariño, Colombia, 0% en personas de la misma región, cuya actividad es diferente y 0,83% para el total de las muestras.
- La prevalencia estimada del 12.8% para la parte estadística, en nuestro concepto no es un registro para determinar prevalencia ya que este valor fue tomado de un estudio que se realizó de un determinado número de posibles seropositivos reportados al ICA y no de una muestra de la población departamental.
- Encontramos una diferencia observable entre la prevalencia de anticuerpos contra Brucella sp. en los trabajadores de derivados lácteos (quesos) y personas del Corregimiento del Espino, Municipio de Sapuyes, Nariño, Colombia cuya actividad es diferente.
- Por el resultado obtenido podemos afirmar que la fabricación de derivados lácteos es un factor de riesgo para adquirir la enfermedad y por el valor de 0.83% podemos considerar que no es de alto riesgo.
- A pesar de ser un sector ligado a la actividad pecuaria, existe desconocimiento de las causas de infección por derivados lácteos, tanto los trabajadores de estos productos como las personas de la región susceptible a la propagación de Brucella sp.
- Mediante la prueba Rosa de Bengala se logra identificar niveles de anticuerpos contra Brucella abortus, siendo esta una prueba rápida y económica.

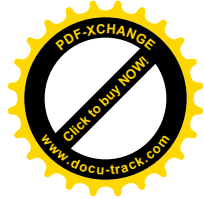
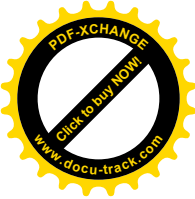
### 7.2 RECOMENDACIONES

- Implementar en la comunidad programas que permitan determinar los niveles de anticuerpos mediante pruebas serológicas de manera constante, llevando registros para que los casos positivos se atiendan inmediatamente.
- Mediante un equipo interdisciplinario, concientizar a las personas expuestas y susceptibles sobre el peligro y consecuencias de esta enfermedad zoonótica, mediante talleres, folletos, conferencias, charlas, etc.



- Para posteriores estudios realizar pruebas más específicas, para determinar la prevalencia de anticuerpos contra Brucella sp. tales como: Fijación del complemento.
- Confirmar mediante una prueba de Fijación del complemento a la persona positiva, que mantuvo títulos positivos durante el año e implantar el tratamiento inmediatamente.
- Implantar medidas de control más eficaces dentro de la población animal, realizando pruebas en leche y derivados lácteos, logrando así un menor nivel de exposición para la población humana circundante.
- Utilizar la técnica de muestreo para “entidades” con prevalencias esperadas menores al 2% recomendada por la OMS.
- Realizar mas estudios de prevalencia que tengan relación con la actividad profesional, para asi poder comparar estos porcentajes y determinar resultados mas reales.





## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ÁNGEL, Gilberto. Interpretación clínica de laboratorio. 4a. ed. Panamericana, Bogotá, Colombia, 1993. p. 607

BELALCÁZAR, Amparo y CORELLA, Francisco. Incidencia de Brucelosis en hatos lecheros del municipio de Pasto (N): Tesis Zootecnia Pasto, Colombia: Universidad de Nariño, facultad de Zootecnia, 1982. p. 47

BLOOD, Henderson. Medicina veterinaria: volumen II. 7a. ed. Interamericana. Mc Graw Hill, México:, 1992. p. 1570.

BOLÍVAR, Jorge A. Brucelosis en personal de un matadero de Caldas, Colombia. Manizales. Bol. of. Sanit Panam. 1979. p. 63.

BRAUNWALD, Wilson. Principios de medicina interna, 12a. ed, México: Interamericana, Mc Graw Hill; 1991. p. 1187.

CEDEÑO QUEVEDO, Darío. Sanidad animal. Colombia. Lerner. Ltda. 1996. p. 51.

CHUNG, Yuan. Tratado de microbiología veterinaria. España, Acribia, 1983. p. 673.

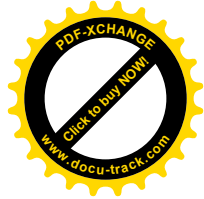
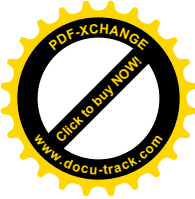
CLEVES, Oscar. La presencia de Aglutinal del Bacilo de Bang en la Sangre de los Obreros del Matadero Municipal de Bogotá. Bogotá, Colombia. Universidad Nacional. 1935. p. 130.

COTRINA, Marey. Brucelosis. Problema Sanitario y Económico. La Habana, Cuba. Historial científico Pécnica. 1991. p. 135.

FAJARDO, Rosita y CIFUENTES, Jorge. Diccionario geográfico de Colombia. IGAC; 3a ed. Santa Fé de Bogotá, Colombia. Instituto geográfico "Agustín Codazzi". 1996. p. 950.

FERRERO, Miguel. Neurobrucelosis. Segovia España, 1998. p. 17 . (Consulta vía internet URL: [Http Inferreror@meditex.es](http://Inferreror@meditex.es). Segovia España. 1998. p. 17.)

GREEN, Graig. Enfermedades infecciosas en perros y gatos. 2a. ed, México: Mc Graw Hill, Interamericana, 2000. p. 1014.



ICA, División de Zoonosis Regional Nariño. Boletín sobre Brucelosis Humana N° 1. Pasto, Colombia. 2000, p. 8.

ICA, Manual de Técnicas Serológicas para el Diagnóstico de Brucelosis. Bogotá, Colombia, 2000. p. 15.

JACQUES, Nicolet. Compendio de bacteriología médico veterinaria. Zaragoza, España. Acribia, 1986. p. 275.

LABORATORIO OXOID LIMITED. Manual Oxoid medios de cultivo ingredientes para su preparación y otros elementos de laboratorio. 4ª edición. Inglaterra. Turnergraphic Ltda. 1981. p. 360.

LABORATORIOS MERCK. Manual de medios de cultivo. Darmstadt, Alemania. Copyright. 1994. p. 364.

MARIÑO, Olga. Brucelosis. Bogotá, Colombia, 2001, p. 2. (Consulta vía internet URL: <http://olgamariño-brucella.htm>. Bogotá, Colombia, 2001. p. 2.)

MERCK. Manual Merck de medicina veterinaria. 1ª. ed. Barcelona, España: Océano, 1993. p. 2092.

MIER, José et al. Brucelosis pulmonar. Pasto, Colombia; 2001. p. 5.

MINISTERIO DE SALUD, DIRECCIÓN GENERAL DE SALUD PÚBLICA. Brucelosis. Boletín Informativo. Bogotá, Colombia. 2000. p. 5.

MONTES, Isaías. Diagnóstico de brucelosis. Plasencia (Cáceres) España. 1994. p. 5. Servicio de microbiología. Hospital Virgen de Puerto Rico.

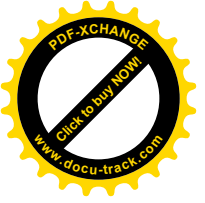
OIE, Office International Des Epizooties. Manual de Normas Para Pruebas de Diagnóstico. Estados Unidos. 2000. p. 4 (consulta vía Internet URL: [Http://oie.int](http://oie.int). Estados Unidos. 2000. p. 4).

OMS. Organización Mundial de la Salud. Vigilancia Epidemiológica. Madrid, España. 2000. p. 4.

SPINK, William W. The nature of brucelosis. Minneapolis: University of Minnesota Press, 1976. p. 15.

STUART, Walker. Microbiología. Indianápolis. Estados Unidos. Mc Graw Hill, interamericana; 1999. p. 526.

SCHROEDER, Hans. Fisiología de la reproducción.. Bogotá. Celsus, 1999. p. 878.



TARRADAS, Carlos. Zoonosis transmitida por Animales de Experimentación. Córdoba, Colombia. 2000, p. 9(consulta vía internet URL: [Http/Salasmr@uco.es](mailto:Http/Salasmr@uco.es) Córdoba, Colombia. 2000 p. 9 )

ZÚÑIGA, Martha. Brucelosis en manipuladores de carne en el matadero de Pasto. San Juan de Pasto. Colombia. 1979. p. 24.