

# MANUAL DE BRUCELOSIS

# MANUAL DE BRUCELOSIS

A. RODRÍGUEZ TORRES  
A. ORDUÑA DOMINGO  
X. ARIZA CARDENAL  
I. MORIYÓN URÍA  
R. DIAZ GARCÍA  
J. M. BLASCO MARTÍNEZ  
A. ALMARAZ GÓMEZ  
F. MARTÍNEZ NAVARRO  
C. RUIZ COSÍN  
R. ABAD FERNÁNDEZ

JUNTA DE CASTILLA Y LEÓN  
Consejería de Sanidad y Bienestar Social  
2001

EDITA: JUNTA DE CASTILLA Y LEÓN  
Consejería de Sanidad y Bienestar Social  
*Dirección General de Salud Pública*

DEP. LEGAL: ZA - Nº 34 - 2002

IMPRIME: HERALDO DE ZAMORA  
artes gráficas  
Santa Clara, 25 - 49015 ZAMORA

Reservados todos los derechos. Se prohíbe la reproducción de cualquier parte de este libro, así como su inclusión en sistemas de almacenamiento de datos y su transmisión por cualquier medio, sea electrónico, mecánico, fotográfico, de grabación o de otro tipo, sin la previa autorización de los titulares del copyright.

# ÍNDICE

## MANUAL DE BRUCELOSIS

Presentación .....	11
La Brucelosis. Etiología y origen de la infección humana .....	13
A. ORDUÑA DOMINGO	
Bacteriología del género <i>Brucella</i> .....	21
L. MORIYÓN Y R. DÍAZ	
Brucelosis animal: la enfermedad y medidas para su control y erradicación	31
J.M. BLASCO	
Epidemiología y prevención de la brucelosis. La brucelosis como enferme- dad profesional .....	45
A. ALMARAZ Y A. RODRÍGUEZ TORRES	
Estudio epidemiológico de la brucelosis en España .....	63
F. MARTÍNEZ NAVARRO	
Brucelosis humana en Castilla y León: Aspectos epidemiológicos .....	79
C. RUIZ COSÍN	
Patogenia de la brucelosis humana .....	99
A. ORDUÑA	
Clínica de la brucelosis humana .....	113
J. ARIZA	
Diagnóstico microbiológico de la brucelosis .....	121
A. ORDUÑA	
Tratamiento de la brucelosis .....	141
J. ARIZA	

## Presentación

El presente Manual nace con la vocación de constituir una obra de referencia y consulta para los profesionales sanitarios y para todas aquellas personas interesadas en la problemática planteada por la brucelosis.

Se trata, pues, de una obra especialmente valiosa, tanto por el rigor científico en su confección como por lo completo de sus contenidos y, también, por la escasez o práctica inexistencia, hasta el momento, de literatura especializada en castellano sobre esta materia.

El profundo rigor científico que se trasluce en cada una de las páginas del *Manual* es tributario de la participación de prestigiosos profesionales en su elaboración: profesores universitarios, especialistas de laboratorio, investigadores y epidemiólogos. Quisiera aprovechar esta oportunidad para transmitir, a todos ellos, el reconocimiento y la gratitud que merece un trabajo bien hecho.

En cuanto a los contenidos de este Manual, podemos afirmar que constituye un completo recorrido por todos los aspectos de importancia sanitaria relacionados con la brucelosis. Comenzando por una exhaustiva descripción de sus características bacteriológicas, se despliega en un total de diez capítulos el análisis de los aspectos más destacables de la afectación en animales y sus medidas de control; la epidemiología y profilaxis de la infección humana; la evolución y situación actual en España y en Castilla y León; su patogenia, aspectos clínicos, diagnóstico y tratamiento. Todo ello configura una excelente revisión y actualización de los puntos de mayor interés referentes a esta enfermedad.

El Manual de Brucelosis, por fin, viene a cubrir editorialmente un área temática para la cual no existía material especializado en castellano, lo que no hace sino aumentar más, si cabe, la relevancia de esta edición.

CARLOS FERNÁNDEZ CARRIEDO  
*Consejero de Sanidad y Bienestar Social*  
*Junta de Castilla y León*

# LA BRUCELOSIS. ETIOLOGÍA Y ORIGEN DE LA INFECCIÓN HUMANA

A. ORDUÑA DOMINGO\*

M.A. BRATOS PÉREZ\*

R. ABAD FERNÁNDEZ\*\*

L. RUIZ GARCÍA\*

M. DE FRUTOS SERNA

A. RODRÍGUEZ TORRES\*

\* Departamento de Microbiología. Hospital Universitario.  
Facultad de Medicina. Valladolid.

\*\* Laboratorio Regional de Brucelosis.  
Servicio Territorial de Sanidad y Bienestar Social. Valladolid

## HISTORIA

La Brucelosis es una antropozoonosis producida por una bacteria Gram-negativa, intracelular facultativa que presenta una elevada tendencia a producir infecciones crónicas tanto en el hombre como en los animales. En el momento actual, la brucelosis se mantiene como la principal zoonosis a nivel mundial y es una de las primeras causas de enfermedad en el hombre y en los animales domésticos. Está producida por una bacteria del género *Brucella*, así denominada en honor de su descubridor David Bruce. Éste descubrió el origen bacteriano de la fiebre de Malta (posteriormente denominada fiebre Mediterránea o fiebre ondulante) en 1887 al estudiar el bazo de soldados británicos muertos como consecuencia de la enfermedad adquirida durante su estancia en la Isla de Malta. Los estudios microscópicos de los cortes de bazo de estos pacientes mostraron unas bacterias de pequeño tamaño que se teñían con azul de metileno y con el método de coloración de Gram aparecían como Gram-negativas. Además, consiguió su aislamiento después de inocular muestras de bazo procedente de estos pacientes en un agar enriquecido. Al cabo de 68 horas de incubación a 37°C aparecieron unas colonias pequeñas y redondeadas formadas por bacterias que morfológica y tintorialmente eran idénticas a las observadas previamente en los cortes de bazo de los pacientes fallecidos por fiebre de Malta. La inoculación de las bacterias a un mono le produjo la muerte, aislándose la misma bacteria en el hígado y en el bazo del animal. Esta bacteria fue inicialmente denominada *Micrococcus melitensis*.

Por otra parte, aunque el aborto epidémico del ganado vacuno era conocido con anterioridad en el estado de Louisiana en Estados Unidos, la bacteria causante, *Brucella abortus*, no fue aislada hasta 1895 cuando el veterinario Bernhard Bang en Copenhague la obtuvo a partir de productos de abortos de ganado vacuno. Fue Alice Evans en 1918 quien estableció la relación de *Brucella abortus* con *Brucella melitensis*, y en 1920 Karl F. Meyer sugirió incluir a estas bacterias dentro del nombre genérico de *Brucella*. Más confusa fue la identificación de *Brucella suis*, causante del aborto enzoótico en el ganado porcino, ya que inicialmente su descubridor Jacob Traum la identificó en 1914 como *Brucella abortus*.

El diagnóstico serológico de la brucelosis comenzó en 1897 cuando Almroth Wright y colaboradores describieron una técnica de seroaglutinación en tubos capilares útil para el diagnóstico. Esta técnica constituye el antecedente del método actual de seroaglutinación en tubo denominado seroaglutinación de Wright en honor de su descubridor.

## ETIOLOGÍA

Desde un punto de vista epidemiológico la brucelosis se presenta como una zoonosis de extraordinaria complejidad debida a la variedad de especies de *Brucella* implicadas y a las características epidemiológicas que presenta cada una de ellas.

Hasta hace pocos años se reconocían 6 especies diferentes de *Brucella* subdivididas en 15 biovariedades que se distinguían entre sí por algunas de sus propiedades bioquímicas y culturales. Así clásicamente se describían *Brucella melitensis* (3 biovariedades), *Brucella abortus* (7 biovariedades), *Brucella suis* (5 biovariedades), *Brucella neotomae*, *Brucella ovis* y *Brucella canis*. Sin embargo, los estudios de hibridación del genoma y de secuenciación de los genes 16S rRNA de *Brucella* han demostrado una homología superior al 95% entre las diferentes especies. Esta homología genética ha llevado a agrupar desde el punto de vista taxonómico a todas las especies de *Brucella* dentro de una única especie *Brucella melitensis*, y a considerar a cada una de las antiguas especies como biovariedades de la especie *Brucella melitensis*. Así, la nomenclatura propuesta para las antiguas especies y biovariedades de *Brucella* sería: *Brucella melitensis* biovar *melitensis* 1, *Brucella melitensis* biovar *melitensis* 2, *Brucella melitensis* biovar *melitensis* 3, *Brucella melitensis* biovar *abortus* 1, etc. A pesar de ello y con objeto de evitar confusiones se mantiene la terminología antigua excepto cuando se trata de nombrarlas con fines taxonómicos.

Recientemente se han aislado nuevas cepas de *Brucella* procedentes de diferentes mamíferos marinos entre los que se encuentran delfines, marsopas, focas, etc. para las que inicialmente se propuso la creación de una nueva especie: *Brucella maris*. Los estudios genómicos llevados a cabo sobre estas cepas de *Brucella* y las especies clásicas terrestres demuestran que las cepas de *Brucella* de origen marino son diferentes a las especies clásicas. Los estudios realizados sobre el 16S rRNA de las cepas marinas han demostrado que existe identidad genómica entre las cepas procedentes de la misma especie de animal marino hospedador. Por el contrario, se ha constatado la existencia de importantes diferencias entre las cepas marinas en función de la especie del animal hospedador de procedencia, lo que sugiere la existencia de diferentes biovariedades marinas.

## ORIGEN DE LA INFECCIÓN HUMANA

En general existe una elevada especificidad de especie entre las especies de *Brucella* y los animales hospedadores fuente de infección humana. Así, el aislamiento de *B. melitensis* de un paciente de brucelosis suele indicar que la fuente de infección para el hombre procede de ganado ovino o caprino, mientras que la infección humana por *B. abortus* suele tener un origen bovino. En el caso de *B. suis*, como se describe más adelante, la epidemiología es más complicada por la diversidad de sus reservorios.

A pesar de esta especificidad de especie, el abanico de hospedadores potenciales es muy amplio debido a la capacidad de *Brucella* para adaptarse a las distintas especies de animales domésticos y salvajes de cada país o región. Esto da origen a que la fuente de infección de la brucelosis para el hombre pueda variar según las regiones y a que existan importantes diferencias en el comportamiento epidemiológico de la infección en función de la especie de *Brucella*, del animal hospedador y de la actividad humana. Aunque hay algunas especies de *Brucella* que no infectan al hombre (*B. neotomae*, *B. ovis* y rara vez *B. canis*), el resto de las especies son patógenas para el hombre. La virulencia varía según las especies, siendo *B. melitensis* la especie que mayor número de casos humanos produce y la que habitualmente origina cuadros más graves, no existiendo diferencias entre sus tres biovariedades. Los principales reservorios y fuentes de infección para el hombre de *B. melitensis* son el ganado ovino y el ganado caprino, aunque en algunas áreas o regiones pueden tener importancia como fuente de infección otras especies animales como los bóvidos o los camélidos.

*B. abortus* es la especie de *Brucella* más extendida en la naturaleza, aunque en general es menos patógena para el hombre que *B. melitensis*. Incluso es frecuente que el hombre sufra infecciones subclínicas, muchas de ellas diagnosticadas

serológicamente en estudios retrospectivos. Dentro de las biovariedades de *B. abortus*, la más patógena para el hombre es *B. abortus* biovar 1, seguida de las biovariedades 3 y 6. El resto de biovariedades de *B. abortus* infectan mucho menos frecuentemente al hombre. Afecta habitualmente al ganado bovino, el cual constituye la principal fuente de infección humana. Más raramente infecta al ganado ovino y menos frecuentemente al ganado caprino y porcino. El ganado caballar muestra con frecuencia evidencias serológicas y clínicas de infección cuando convive con ganado bovino infectado.

*B. suis* presenta un riesgo de infección humana mucho menor que *B. melitensis* y *B. abortus*, y su distribución geográfica se encuentra mucho más limitada. Las biovariedades 1 y 3 son las que más frecuentemente infectan al hombre y su origen suele ser porcino. La biovariedad 2 tiene su principal reservorio en las liebres, las cuales pueden infectar al ganado porcino y ambas especies animales, a su vez, pueden ser fuente de infección para el hombre. Sin embargo, la biovariedad 2 es poco virulenta para el hombre y han sido muy pocos los casos documentados de infección humana por esta biovariedad. La biovariedad 4 está restringida a los renos y caribús. En el hombre produce un cuadro clínico muy similar a *B. melitensis* con quien fue confundida en un principio. La biovariedad 5 afecta de forma natural a los roedores de la región del Cáucaso y ha originado infecciones humanas graves por accidentes de laboratorio.

Sin embargo, la brucelosis presenta una gran capacidad de adaptación a los cambios sociales y a las modificaciones en las prácticas agropecuarias, lo que con frecuencia da origen a variaciones en el comportamiento epidemiológico y en la distribución geográfica de las diferentes especies y biovariedades de *Brucella*. Así, en Sudamérica *B. suis* biovar 1 se ha establecido en el ganado bovino y éste constituye en el momento actual una fuente de infección más importante para esta biovariedad que el ganado porcino. Otra modificación en el comportamiento de la *Brucella* inducido por la actividad humana deriva del hecho de que las vacunas frente a *B. abortus* no protegen de una forma efectiva al ganado frente a la infección por *B. melitensis*. Esto ha originado un importante problema de salud pública en algunos de los países mediterráneos y de la península arábiga como los países del sur de Europa, Israel, Kuwait y Arabia Saudí donde la brucelosis por *B. melitensis* en el ganado bovino aparece como una infección emergente.

## DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA

La distribución geográfica de la brucelosis humana depende de la distribución de la brucelosis animal, de las especies de animales hospedadores participantes en



valores inferiores a 0,01/100.000 habitantes en los países desarrollados hasta cifras superiores a 200/100.000 habitantes en los países árabes y algunos países sudamericanos como Perú (Figura 1). Estas elevadas incidencias de la enfermedad humana son debidas fundamentalmente a factores socioculturales y al éxito o fracaso de las medidas de control de la enfermedad en los animales domésticos. Los hábitos alimenticios y las medidas higiénicas sobre los alimentos, así como el contacto con los animales y el riesgo ocupacional constituyen los principales factores que intervienen en la transmisión de la enfermedad al hombre.

Las especies y biovariedades de *Brucella* suelen tener una distribución geográfica bastante bien delimitada. Así, *Brucella melitensis* persiste como el principal problema zoonosario en el área Mediterránea (sur de Francia, Portugal, España, Italia, península balcánica, Oriente Medio y norte de África), América Latina, algunas regiones de Asia en especial los países árabes y repúblicas centroasiáticas de la antigua Unión Soviética, Subcontinente Indio, y África. También existe una distribución geográfica de las distintas biovariedades y así en Europa *B. melitensis* biovar 3 predomina en Francia, mientras que en Italia la mayoría de las infecciones están producidas por el biovar 2.

La infección por *B. abortus* ha sido prácticamente erradicada del centro y norte de Europa. Persisten focos de infección en ganado vacuno con casos esporádicos de infección humana en áreas de Rusia, Albania, Grecia y antigua Yugoslavia. En América del Norte la infección por *B. abortus* ha disminuido considerablemente en los últimos años. La infección persiste en Canadá pero restringida a algunos focos en manadas de bisontes habiendo sido erradicada del ganado bovino. En Estados Unidos permanecen focos de infección por *B. abortus* en el ganado vacuno en algunos estados como Texas. En contraposición, la infección está muy extendida por todo Méjico y al igual que este país, la infección por *B. abortus* es endémica y es un problema sanitario de primera magnitud en la mayoría de los países de Centroamérica y Sudamérica. Los datos existentes son muy imprecisos pero diferentes estudios realizados de forma puntual han mostrado que en algunas regiones la prevalencia puede superar el 30% del ganado bovino. En Asia la infección se encuentra irregularmente extendida, siendo importante en algunos países árabes como Irán, y otros países como Tibet, Indonesia y Filipinas. En Australia y Nueva Zelanda ha sido prácticamente erradicada del ganado bovino, aunque, como se ha mencionado anteriormente, persiste un reservorio salvaje habiéndose aislado cepas de *B. abortus* biovar 3 en roedores. En África la prevalencia de la infección por *B. abortus* varía según los países y regiones pero es especialmente importante en Egipto, en las regiones limítrofes del Sáhara, Marruecos, Mauritania, Senegal, Benin, Togo y Nigeria, en los países centroafricanos (Congo, Burundi, Ruanda y Zaire) y en Sudáfrica.

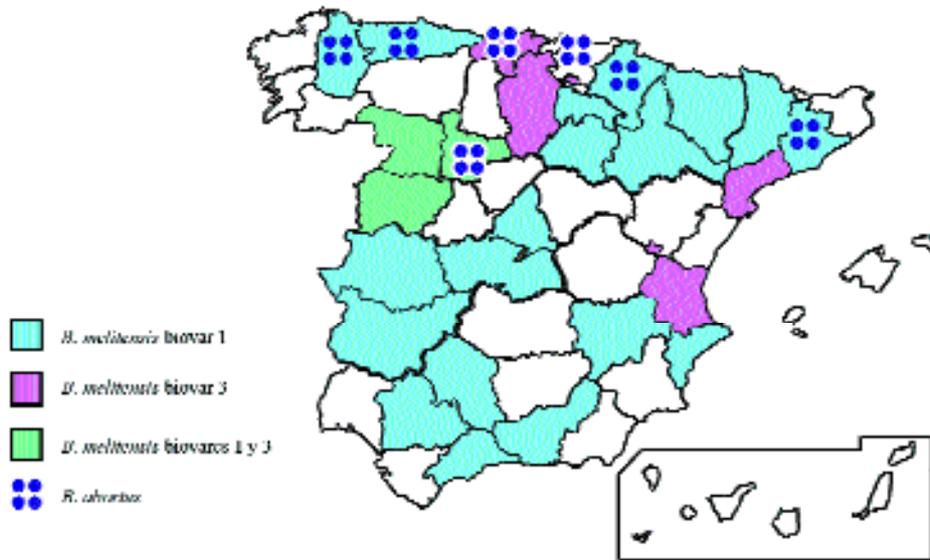


FIGURA 2. Distribución geográfica de las especies y biovars de *Brucella* aislados de pacientes de brucelosis.

*B. suis* biovariedades 1 y 3 son prevalentes en Latinoamérica, China, algunas regiones del Sudeste de Asia y Oceanía. *B. suis* biovar 2 está confinada a Europa, el biovar 4 a regiones árticas de Alaska, Canadá y Rusia y el biovar 5 infecta a pequeños roedores de las regiones transcaucásicas de Rusia. *B. canis* rara vez puede originar enfermedad en el hombre, encontrándose restringida a la infección canina en países como Estados Unidos, Argentina, Méjico, Japón, China, Túnez y España.

En España existe un predominio absoluto de la infección humana por *B. melitensis* con una distribución geográfica característica de los diferentes biovars (Figura 2). Así *B. melitensis* biovar 3 predomina en Castilla y León mientras que el biovar 1 tiene un predominio absoluto en Andalucía, Extremadura y Aragón. Zonas limítrofes como Burgos presentan ambos biovars 1 y 3, de la misma forma que éstos aparecen en otras regiones como el Levante español o Cantabria. Del biovar 2 se han aislado pocas cepas de origen humano comparativamente con las aisladas de los biovars 1 y 3 y su distribución es bastante uniforme por toda España. El número de cepas de origen humano de *B. abortus* es escaso y la inmensa mayoría es biovar 1, no habiéndose aislado ninguna

*B. abortus* biovar 2 ni 4 las cuales, por otra parte, se han aislado de ganado bovino.

## BIBLIOGRAFÍA

- BRICKER BJ, EWALT DR, MACMILLAN AP, FOSTER G, BREW S. «Molecular characterization of *Brucella* Strains isolated from marine mammals». *J Clin Microbiol* 2000; 38:1258-1262.
- CORBEL M.J. «International Committee on Systematic Bacteriology. Subcommittee on the Taxonomy of *Brucella*». Report of the Subcommittee during the XIV International Congress of Microbiology. *Int J Syst Bacteriol*. 1988;38:450-452.
- NIELSEN K, DUNCAN J.R. (eds.). «Animal Brucellosis». *CRC press, Inc.* Boca Raton, Florida (USA). 1989.
- RODRÍGUEZ TORRES A, ABAD R, ORDUÑA A. *Epidemiologie de la brucellose animal et humaine en Espagne*. In M. PLOMMET (ed). «Prevention of Brucellosis in the Mediterranean countries». pp. 63-74. *Pudoc Scientific Publishers*. Wageningen. Holanda. 1992.
- RODRÍGUEZ TORRES A, ABAD R, ORDUÑA A. «Especies y biovars del género *Brucella*. Etiología de la brucelosis en España». *Enf Infecc y Microbiol Clin* 1992; 10:43-48.
- YOUNG E.J., CORBEL M.J. (eds.). «Brucellosis: Clinical and laboratory aspects». *CRC press, Inc.* Boca Raton, Florida (USA). 1989.

# BACTERIOLOGÍA DEL GÉNERO *BRUCELLA*

IGNACIO MORIYÓN  
RAMÓN DIAZ  
IGNACIO LÓPEZ-GOÑI

Departamento de Microbiología. Universidad de Navarra

## INTRODUCCIÓN

Los miembros del género *Brucella* son bacterias gram-negativas, patógenos intracelulares facultativos. Son capaces, por lo tanto, de multiplicarse tanto en el interior de las células del hospedador, en el que estimulan una respuesta inmune celular y humoral, como en otras condiciones. Este comportamiento guarda una relación con la estructura y fisiología de la bacteria y es un reflejo de su posición taxonómica. Un breve conocimiento de la biología básica de *Brucella* es necesario para entender ciertos aspectos del diagnóstico y tratamiento (Capítulos 8 y 9) y profundizar en los mecanismos de patogenicidad (Capítulo 6).

## TAXONOMÍA Y FILOGENIA

El análisis del ácido nucleico de 16S del ribosoma (16S rRNA), la composición lipídica y ciertos aspectos de su fisiología y biología general sitúan a *Brucella* dentro de la subdivisión  $\alpha$ -2 de la Clase *Proteobacteria*, en la que están también otros patógenos intracelulares animales (riquetsias), así como destacados patógenos y endosimbiontes de vegetales (*Agrobacterium* y *Rhizobium*) (Figura 1), las propias mitocondrias y ciertas bacterias de la tierra. Por tanto, parece que la asociación intracelular con eucariotas es una tendencia evolutiva compartida con otros miembros de la subdivisión  $\alpha$ -2. Esto es coherente con ciertas hipótesis sobre la patogenicidad y explica las reacciones cruzadas con otros miembros de esta subdivisión en pruebas serológicas y moleculares (ver más adelante).

Clásicamente, las brucelas se han agrupado en una serie de especies diferentes (*B. melitensis*, *B. abortus*, *B. suis*, *B. neotomae*, *B. ovis* y *B. canis*) siguiendo, entre otros, el criterio de su huésped animal preferente. Además, dentro de algunas de estas especies se pueden distinguir biotipos o biovariedades siguiendo cri-

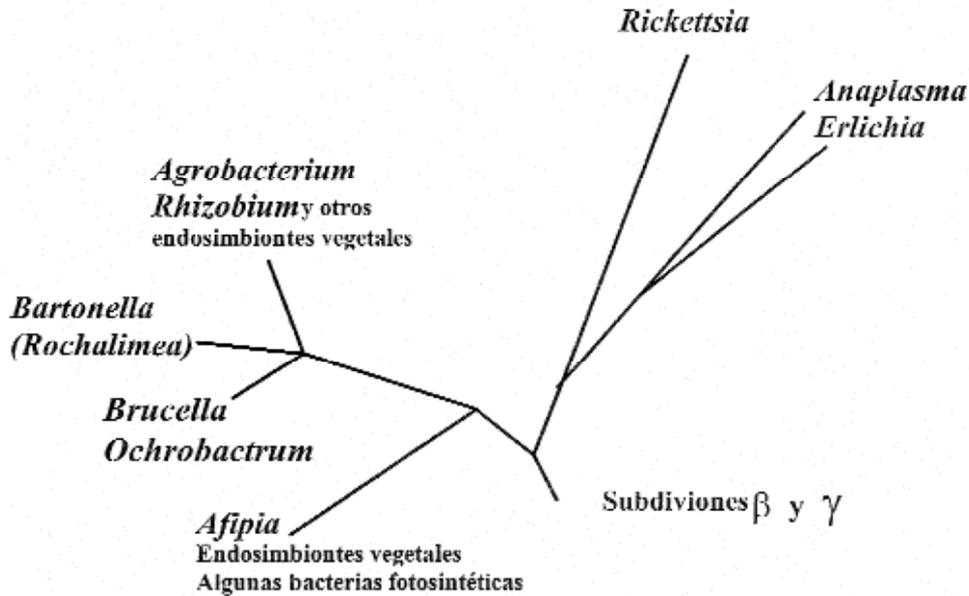


FIGURA 1. Relaciones (basadas en las secuencias del 16S RNA ribosomal) entre *Brucella* y las bacterias más importantes del subgrupo  $\alpha$ -2 de la Clase Proteobacteria. Las ramas representan «distancias» evolutivas (entre los 16S RNA ribosomales), pero no tiempos. Por otros procedimientos, la divergencia entre *Brucella* y sus parientes más próximos (*Agrobacterium*-*Rhizobium* y *Bartonella*) se ha estimado que puede haber ocurrido hace 250 millones de años.

terios como la sensibilidad a colorantes, tipo serológico y otros (ver Capítulo 8). Sin embargo, dentro de la subdivisión  $\alpha$ -2, las brucelas son un grupo muy homogéneo y se ha discutido si se deberían de incluir en una sola especie (*B. melitensis*), dando a las actuales la categoría de biovariedades (*B. melitensis* biovar *abortus*, biovar *suis*, biovar *neotomae*, etc.), o si, por el contrario, las especies clásicas (*B. melitensis*, *B. abortus*, *B. suis*, etc...) deberían de prevalecer. Sea cual fuere el resultado de la controversia, la denominación clásica es práctica y es aconsejable que el clínico y el bacteriólogo médico la mantengan para evitar confusiones<sup>1</sup>.

<sup>1</sup> Además de las razones de tipo práctico, no hay razones científicas definitivas para eliminar las especies clásicas. Para esto, habría que aceptar la validez general de la llamada definición genómica de especie, que se basa en ciertos valores del % de hibridación de los DNAs y la  $T_m$  del DNA híbrido derivados de estudios con enterobacterias. Dada la enorme diversidad de los procariotas, hay que preguntarse si tales valores son de aplicación general. Además, la definición genómica prescinde de características importantes, como el rango de huésped, el grado de aislamiento genético (variable de unos ambientes a otros), etc..., que son de gran significación biológica.

## ESTRUCTURA

### LA ENVOLTURA CELULAR

La estructura más característica de las bacterias gram-negativas es su envoltura celular, formada por una membrana citoplasmática, una membrana externa y un espacio periplasmático intermedio. Este último contiene enzimas, entre ellos muchos que detoxifican agentes nocivos procedentes del medio, proteínas relacionadas con el transporte de nutrientes, varias de las enzimas sobre las que actúan los antibióticos  $\beta$ -lactámicos y, como componente estructuralmente más importante, un gel glucopeptídico (mureína o peptidoglicano) responsable de la forma e integridad osmótica de la bacteria. La membrana externa contiene, distribuidos asimétricamente, fosfolípidos, proteínas y un lipopolisacárido (LPS) (Figura 2). La asimetría en la distribución del LPS, junto con sus propiedades y las de las proteínas que actúan como poros en la membrana externa (porinas), hace que ésta actúe como una barrera de permeabilidad frente a muchos solutos hidrofílicos e hidrofóbicos.

Siendo *Brucella* un gram-negativo, su envoltura celular se adapta al modelo descrito. Sin embargo, la membrana externa de *Brucella* es diferente de la de los gram-negativos típicos (enterobacterias y pseudomonas). En primer lugar, es relativamente permeable a agentes hidrófobos como los colorantes, detergentes y sales biliares, con diferencias entre especies y biotipos que se reflejan en las técnicas bacteriológicas de tipificación (ver Capítulo 8). En segundo lugar, es resistente a los péptidos catiónicos bactericidas presentes en lisosomas y fluidos corporales (lisozima, lactoferrina, defensinas,...) y a otras policaciones bactericidas como la polimixina B<sup>2</sup>. Estas características se relacionan con ciertas propiedades de los componentes de la membrana externa. La envoltura de *Brucella* contiene, entre otros fosfolípidos, fosfatidil-colina, lo que es poco común en patógenos gram-negativos, y lípidos de ornitina. Los fosfolípidos y el LPS (ver más adelante) poseen ácidos grasos de cadena más larga que lo habitual en los gram-negativos típicos. Es posible que estas características se relacionen con la tinción positiva de las brucelas por el método de Stamp (ácido-alcohol resistentes modificado). Los componentes más importantes se describen a continuación.

**El LPS y los haptenos nativos.** Como en otras bacterias gram-negativas, el LPS consta de una parte glucolípídica (lípidos A), inserta en la membrana exter-

<sup>2</sup> En esta característica resistencia a la polimixina B se basa, en parte, el carácter selectivo del medio de cultivo de Farrell que se emplea para el aislamiento a partir de muestras de origen animal.

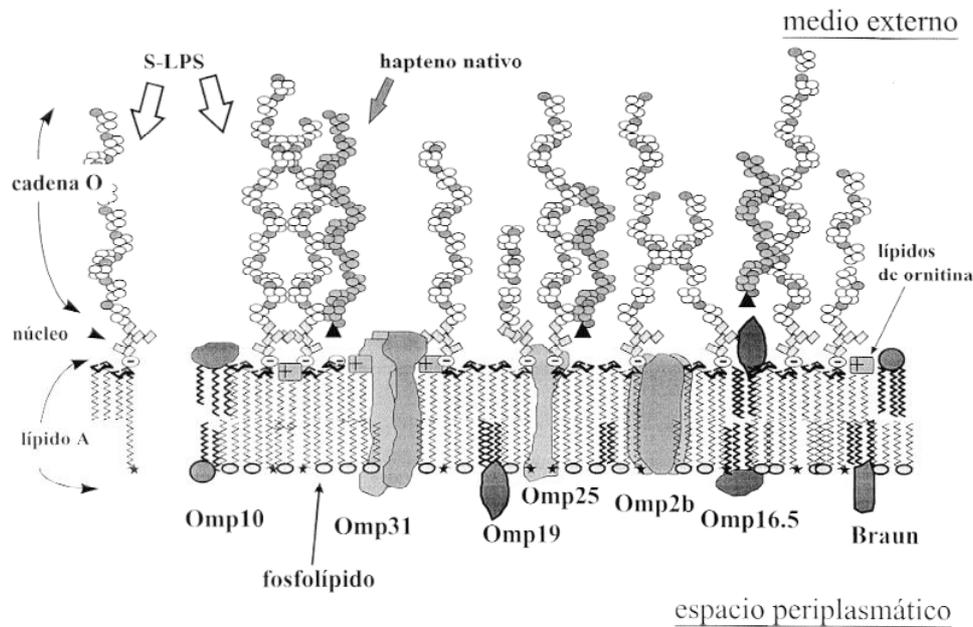


FIGURA 2. Modelo esquemático de la membrana externa de *Brucella melitensis* en fase lisa (S). A la izquierda, se representa el LPS-S con sus tres secciones principales que, del exterior de la bacteria hacia el espacio periplasmático, son: la cadena O (largo trecho repetitivo de N-formil-perosamina); el núcleo (un reducido número de azúcares diferentes); y el lípido A (dos aminoazúcares unidos a ácidos grasos, con algunos de estos últimos posiblemente atravesando el grueso de la membrana). El dibujo principal muestra la topología del LPS, los haptenos nativos y las proteínas. Omp31 no está presente en *B. abortus*.

na y por tanto no expuesta en la superficie, y otra polisacáridica dirigida hacia el exterior (Figura 2). Esta última se divide en dos secciones: el núcleo, más interno, y la cadena O. Hay especies de *Brucella* (*B. ovis*, *B. canis*) que de forma natural siempre carecen de cadena O auténtica (especies rugosas) y otras que característicamente la poseen (*B. melitensis*, *B. abortus*, *B. suis*, *B. neotomae*; especies lisas), aunque pueden perderla accidentalmente por mutación (mutantes rugosos o R). La presencia de LPSs rugosos (LPS-R), sean naturales o por mutación, hace que existan dos tipos diferentes de superficies celulares. Esta diferencia es importante, ya que las brucelas habitualmente patógenas para el hombre (*B. melitensis*, *B. abortus* y *B. suis*) poseen LPS en fase lisa (LPS-S) y éste es marcadamente inmunodominante en la respuesta serológica. Por esto último, la generalidad de las pruebas serológicas detectan anticuerpos frente al LPS-S, y el

empleo de suspensiones bacterianas o antígenos deficientes en la cadena O conduce a errores diagnósticos<sup>3</sup>.

El lípido A de *Brucella* es químicamente diferente del de las gram-negativas clásicas y está formado por un disacárido de diaminoglucosa sustituido con beta-hidroxiácidos y otros ácidos grasos de cadena larga. A esta composición diferente se debe el que algunas de las actividades características de los LPS relacionadas con la endotoxicidad, como la pirogenicidad, sean diferentes en *Brucella*, lo que podría tener significación en la patogénesis. Como antígeno, el lípido A no parece tener relevancia diagnóstica.

No se conoce en detalle la estructura del núcleo del LPS, si bien se sabe que contiene 2-ceto, 3-deoxioctulosonato (Kdo), glucosa, galactosa y quinovosamina, y que carece de heptosa. Con anticuerpos monoclonales, se han descrito dos epitopos en el núcleo, pero su importancia diagnóstica en la brucelosis humana es escasa. En otras bacterias gram-negativas, son el núcleo y el lípido A del LPS los que juegan un papel crítico en la impermeabilidad frente a agentes hidrófobos. El LPS de *Brucella* es diferente a este nivel, ya que no actúa como tal barrera.

La cadena O (polisacárido O) contiene los epitopos relevante en el diagnóstico serológico realizado con las pruebas que detectan anticuerpos frente al LPS-S (todas aquellas que emplean suspensiones celulares o extractos que contienen LPS-S). Este polisacárido está formado sólo por un tipo de azúcar, la N-formilperosamina, sin ramificaciones. En el biotipo 1 de *B. abortus* el único enlace es el  $\alpha$ -1,2 y en *B. melitensis* biotipo 1 hay un enlace  $\alpha$ -1,3 por cada cuatro enlaces  $\alpha$ -1,2. Por tanto, en el polisacárido O del primero de estos biotipos hay trechos de más de cinco azúcares con el mismo enlace, mientras que en el del segundo hay un enlace (el  $\alpha$ -1,3) ausente en el primero. Esto genera tres tipos básicos de epitopos, según confirman los estudios con anticuerpos monoclonales: el A o abortus (5 o más azúcares en  $\alpha$ -1,2); el M o melitensis (que contiene el enlace  $\alpha$ -1,3), y el C o común (4 o menos azúcares con enlaces  $\alpha$ -1,2). Por tanto, el esquema clásico de Wilson y Miles, según el cual hay sólo los epitopos A y M en distintas proporciones en *B. abortus* (Am o A>M) y *B. melitensis* (aM o A<M), se sustituye por otro en el que *B. abortus* y *B. melitensis* del biotipo 1 serían AC y MC, respectivamente. Aunque estos datos son útiles para entender el serotipado de las

<sup>3</sup> Estos errores pueden ser de dos tipos. En primer lugar, la ausencia de la cadena O hace que no se detecten los anticuerpos frente a ella, que son los más abundantes. En segundo lugar, las suspensiones de bacterias R no son estables y tienden a aglutinarse espontáneamente, por lo que podrían dar lugar a lecturas positivas falsas en las pruebas de aglutinación. Por esta razón, el control de calidad (fase S) de los antígenos es absolutamente crítico.

brucelas S, la generalidad de los anticuerpos producidos en la infección reconocen el epitopo C. Por esto, en el diagnóstico serológico, es irrelevante el origen (*abortus* o *melitensis*) del antígeno (suspensión celular o LPS-S) y no es posible distinguir el serotipo (AC, MC o AMC) infectante.

Existen varias bacterias gram-negativas que poseen también derivados de la perosamina en su LPS (*Yersinia enterocolitica* serotipo O:9; *Salmonella* del grupo N [O:30], *Vibrio cholerae*, *Escherichia coli* O:157 y otras). *Y. enterocolitica* O:9 posee una cadena O muy próxima a la de *B. abortus*, con N-formil-perosamina en enlaces  $\alpha$ -1,2. Su reacción cruzada es la más intensa, y la única que hay que tener en cuenta en el diagnóstico en áreas en las que exista tal serotipo.

Además de la cadena O del LPS, las brucelas en fase S contiene un segundo polisacárido habitualmente llamado hapteno nativo. Salvo en la unión al núcleo del LPS, el hapteno nativo es químicamente idéntico a la cadena O<sup>4</sup>. Su papel biológico, sin embargo, podría ser diferente, pues el hapteno nativo podría representar una molécula de superficie que, inserta entre los LPS-S, contribuiría a dar a la superficie características de tipo S sin incrementar la densidad de LPS y sus secciones internas.

**Las proteínas de la membrana externa.** Como en otras bacterias gram-negativas, la membrana externa de *B. abortus* contiene varias proteínas cuantitativamente mayoritarias en las condiciones habituales de cultivo. Sus características se resumen a continuación, siguiendo su nomenclatura original.

*Grupo 1.* De peso molecular aparente 88.000-94.000 (88-94K) y posiblemente relacionada con ciertas funciones de la biosíntesis de la propia envoltura.

*Grupo 2.* De peso molecular aparente 36-38K, son equivalentes a las porinas de otros gram-negativos, formando en estado nativo agrupaciones triméricas por las que penetran ciertos solutos. Dos genes, *omp2a* y *omp2b*, codifican estas porinas, pero sólo el segundo parece expresarse *in vitro*.

*Grupo 3.* De peso molecular aparente 25-31K y codificadas en los genes *omp25* y *omp31*. Se han descrito interacciones muy fuertes con el LPS, pero su papel es desconocido.

<sup>4</sup> Existe una cierta confusión en el uso de los términos hapteno nativo, cadena O libre y polisacárido B. Los dos primeros han sido empleados de forma equivalente. El segundo, en rigor, debe emplearse para un polisacárido presente en el mutante rugoso *B. melitensis* 115 que es químicamente equivalente al hapteno nativo, si bien se ignora si es precursor biosintético o un elemento estructural. Algunos autores consideran erróneamente que el polisacárido B (polyB) es un glucano cíclico periplasmático sin actividad serológica, lo que es contrario a su definición original por inmunoprecipitación en gel.

**Lipoproteínas.** Existen varias lipoproteínas de bajo peso molecular en la envoltura de *Brucella* y se conocen los genes de tres de ellas (*omp19*, *omp16* y *omp10*). También se ha descrito una lipoproteína de peso molecular 9-8K, unida covalentemente al peptidoglicano.

La topología de estas proteínas en la membrana externa de *B. melitensis*, según se deduce de su estructura y de los estudios con anticuerpos monoclonales, se describe en la Figura 2. Hay pequeñas diferencias en los perfiles proteicos de la membrana externa de las distintas especies. La más característica afecta a las proporciones relativas de los grupos 2 y 3. En *B. abortus* los grupos 2 y 3 están en cantidades iguales en los extractos obtenidos con detergentes, pero en *B. ovis* y *B. melitensis* la relación grupo 3/grupo 2 está aumentada (*B. abortus* tiene una gran delección en el gen que codifica la *Omp31* por lo que esta proteína está ausente). La mayoría de las proteínas citadas presentan epitopos en la superficie de *B. abortus* y *B. melitensis*, pero, como cabría esperar, su grado de exposición es menor que en los mutantes R o que en *B. ovis*. Aunque faltan estudios detallados en brucelosis humana, todas estas proteínas parecen inducir una respuesta serológica significativamente menos intensa que el LPS-S.

**Componentes periplasmáticos.** La composición del periplasma de *Brucella* es casi desconocida, pues sólo recientemente se han descrito métodos para obtener su contenido. Son excepciones una superóxido dismutasa-Cu/Zn, una catalasa y ciertos glucanos circulares de función desconocida. El peptidoglicano (presente en el periplasma) parece tener una composición semejante al de otras bacterias.

## COMPONENTES CITOSÓLICOS

El análisis por inmunoelectroforesis no revela apenas diferencias cualitativas entre las distintas especies de *Brucella* que se han estudiado y muestra que hay reacciones cruzadas con algunas de las bacterias taxonómicamente próximas (Figura 1). Por el contrario, no hay reacciones cruzadas significativas entre *Brucella* y las bacterias gram-negativas con las que sí hay reacciones cruzadas a nivel del LPS<sup>5</sup>. Las proteínas citosólicas inducen anticuerpos y también hipersensibili-

<sup>5</sup> El examen de la presencia de anticuerpos frente a componentes citoplasmáticos es útil en la diferenciación de las infecciones causadas por *Brucella* y por *Y. enterocolitica* serotipo O:9, u otros gram-negativos con los que existen reacciones cruzadas en el LPS, tal y como se ha demostrado con sueros de paciente con brucelosis. Por contra, las reacciones cruzadas a nivel citoplasmático que existen con las bacterias taxonómicamente próximas no son observables en las pruebas habituales, pues en éstas los anticuerpos que se detectan son específicos del LPS-S.

dad retardada, pero es muy probable que también lo hagan otras de distinta localización celular<sup>6</sup>.

## CARACTERÍSTICAS FISIOLÓGICAS

La membrana externa de *Brucella* no protege a la bacteria frente a agentes hidrófobos como sales biliares, detergentes o ciertos colorantes. Esto explica que *Brucella* no crezca en medios selectivos que contienen tales compuestos, como por ejemplo el medio de McConkey. Se han descrito parcialmente varios sistemas de transporte de sustratos en *Brucella* (azúcares y hierro), que necesariamente han de tener algún componente en la membrana citoplasmática, pero el conocimiento de esta faceta de su biología es muy imperfecta.

Todas las especies de *Brucella* son aerobias que respiran O<sub>2</sub>, si bien hay diferencias en los requerimientos de CO<sub>2</sub> según especies y biotipos (ver Capítulo 8) y también en las cadenas respiratorias que se revelan en la prueba de la citocromo C oxidasa y la capacidad de reducir nitratos. El metabolismo es oxidativo y no fermentador, y destaca el que (al menos *B. abortus* y *B. melitensis*) no lleven a cabo una glicolisis clásica, oxidando los azúcares parcialmente por una vía afín a la de las pentosas. Sin embargo, hay diferencias en los perfiles oxidativos de varios pentosas según las especies y biotipos. También es sabido que el eritritol estimula el crecimiento de las brucelas S y para su transporte y metabolismo existen proteínas específicas cuyos genes se han caracterizado. Los sustratos que se incorporan directamente al ciclo de Krebs (como el lactato o el glutamato) parecen ser oxidados más rápidamente y de forma general.

Todas las especies de *Brucella* tienen una capacidad biosintética reducida, aunque este carácter está menos marcado en *B. suis*. Por esta razón, las brucelas son nutricionalmente exigentes y, si bien es posible formular medios definidos (al menos para las especies lisas), crecen más rápido en medios complejos que contengan aminoácidos, bases y vitaminas y otros factores de crecimiento<sup>7</sup>. Todo esto es reflejo, posiblemente, de su adaptación a la vida parasitaria.

<sup>6</sup> El LPS no participa en la hipersensibilidad retardada, y su presencia en los extractos antigénicos empleados en este tipo de pruebas puede inducir una reacción mediada por sus anticuerpos específicos que puede durar más de 24 horas e interferir con la interpretación de la hipersensibilidad retardada. Por el lo, los alérgenos deben ser obtenidos de cepas R estables como *B. melitensis* 115 o *B. abortus* RB51, pues caso de darse una contaminación con LPS, esta precaución elimina la cadena O inmunodominante.

<sup>7</sup> En relación con el crecimiento lento de *B. abortus* y *B. melitensis* y, posiblemente, con las vías de oxidación de los azúcares, está el que se necesiten tiempos de incubación largos para el diagnóstico bacte-

## CARACTERÍSTICAS GENÉTICAS

El DNA de *Brucella* contiene un 58-59% de G + C y el tamaño total del genoma se ha estimado en aproximadamente  $3,2 \times 10^6$  pares de bases. Ese tamaño es menor que el de *E. coli* ( $4,7 \times 10^6$  pares de bases). Por otro lado, dos características genéticas de *Brucella* llaman especialmente la atención. En primer lugar, la existencia de dos cromosomas circulares en la mayoría de las especies y biotipos (con un tamaño, en *B. melitensis*, de 2.100 kpb y 1.150 kpb). En segundo lugar, la ausencia de plásmidos<sup>8</sup>. Esta segunda refleja, muy probablemente, la adaptación a un nicho ecológico (el ambiente intracelular) estable y sin competencia microbiana, en el que no es necesaria la plasticidad genética que se deriva de los plásmidos y que es propia de ambientes (intestino, tierra, etc.) con gran cantidad de microbios. Esta es una circunstancia en cierta medida afortunada, ya que tanto el confinamiento en ambientes de por sí hostiles y normalmente libres de bacterias, como la ausencia de plásmidos propios, hacen difícil la adquisición y transmisión de resistencias frente a los antibióticos, lo que podría explicar la ausencia de cepas resistentes frente aquéllos que habitualmente se emplean en el tratamiento. Por otro lado, la presencia de dos cromosomas posiblemente sea reflejo del origen evolutivo de *Brucella*, pues varios de sus parientes próximos poseen megaplásmidos<sup>9</sup> que, por adquisición de genes esenciales generarían cromosomas auténticos.

Las distintas especies del género *Brucella* muestran más de 95% de homología en el DNA. Este es el dato sobre el que, como ya se ha mencionado, se ha sugerido que el género *Brucella* contiene una única especie. Sin embargo, se ha encontrado polimorfismo en determinadas secuencias del DNA que coinciden con las especies clásicas e incluso con las biovariedades, lo que se ha empleado para desarrollar pruebas para la rápida identificación de las mismas.

Se ha demostrado que la expresión genética de *Brucella* varía según ciertas condiciones que se piensa representan el ambiente hostil de los fagocitos y, también, que es diferente en los medios de cultivo normales y en los macrófagos. Esto

riológico y el que los métodos de cultivo que detectan el crecimiento por el desprendimiento de CO<sub>2</sub> sean relativamente ineficientes.

<sup>8</sup> Tampoco se han descrito hasta el momento la existencia de fagos liso génicos en *Brucella*, que podrían favorecer el intercambio genético. Sí se han descrito, sin embargo, fago líticos empleados para la identificación y taxonomía.

<sup>9</sup> Los megaplásmidos son plásmidos de gran tamaño, típicos de *Rhizobium* o *Agrobacterium*. A pesar de su tamaño, no se pueden considerar cromosomas ya que, como los plásmidos normales, llevan genes que no son esenciales para la vida de la bacteria portadora, aunque en circunstancias especiales puedan suponer una ventaja adaptativa (la presencia de dos cromosomas no es un hecho exclusivo de *Brucella*).

supone la existencia de sistemas de sensores-reguladores y, en *Brucella*, se han descrito al menos dos sistemas de regulación genética que dependen de estímulos ambientales. Uno de ellos regula genes esenciales para la virulencia, modula las propiedades de la membrana externa y se relaciona con la habilidad de penetrar en células fagocíticas. Futuros estudios en este área permitirán conocer mejor la biología de este importante patógeno.

### AGRADECIMIENTOS

Los autores muestran su agradecimiento a la CICYT por el continuo apoyo a la investigación sobre *Brucella* y brucelosis que se realiza en el Departamento de Microbiología de la Universidad de Navarra (proyecto en curso AGL200-0305-CO1).

### BIBLIOGRAFÍA

- ALTON, G. G., L. M. JONES, R.D. ANGUS and J. M. VERGER. 1988. *Techniques for the brucellosis laboratory*. INRA, Paris.
- MORIYON, I. e I. LÓPEZ-GOÑI. 1998. *Structure and properties of the outer membranes of Brucella abortus and Brucella melitensis*. Int. Microbiol. 1: 19-26.
- MORENO, E. *Evolution of Brucella*. 1992. En M. PLOMMET (ed.), «Prevention of Brucellosis in the Mediterranean countries», pp. 198-218. Pudoc Scientific Pub., Wageningen, Holanda.

# BRUCELOSIS ANIMAL: LA ENFERMEDAD Y MEDIDAS PARA SU CONTROL Y ERRADICACIÓN

J. M. BLASCO  
Unidad de Sanidad Animal.  
Servicio de Investigación Agraria  
Zaragoza

## INTRODUCCIÓN

Las bacterias pertenecientes al género *Brucella* son importantes patógenos de animales domésticos y silvestres, que presentan un relativamente amplio espectro de huéspedes. Por el momento se conocen seis especies que, si bien poseen cierta especie-especificidad, también producen infecciones cruzadas. Estas especies son: *B. abortus* (que parasita fundamentalmente al ganado vacuno), *B. melitensis* (al ovino y caprino), *B. suis* (al porcino), *B. neotomae* (rata del desierto), *B. ovis* (ovino) y *B. canis* (perro). Recientemente, microorganismos con las características de *Brucella* se han aislado también en varias especies de mamíferos marinos, y aunque una nueva especie ha sido propuesta (*B. maris*), esta proposición todavía no ha sido aceptada. Con la excepción de *B. ovis* y *B. neotomae*, todas son patógenas para el hombre, siendo la brucelosis una de las zoonosis más importantes en muchos países. Salvo *B. canis* y *B. neotomae*, todas las especies del género han sido aisladas en España.

Al no existir prácticamente vías de transmisión directa en la especie humana, el reservorio de la enfermedad para el hombre son los animales. Así, la especie humana se infecta bien de una forma directa por contacto directo con los animales infectados sobre todo por vía conjuntival o a través de la mucosa oronasal, o bien, de una forma indirecta, por ingestión de productos animales contaminados (principalmente leche y derivados). La brucelosis es una enfermedad profesional y las profesiones en contacto con la ganadería (matarifes, carniceros, ganaderos, veterinarios, personal de laboratorios, etc.) son las que presentan un mayor riesgo de contraerla.

En los últimos años se ha realizado un importante esfuerzo en nuestro país que, a través de Campañas Nacionales de erradicación, ha logrado reducir notablemente la prevalencia de la infección por *B. abortus* en el ganado bovino. Sin embargo, pese a que también existe una Campaña Nacional de erradicación de la infección por *B. melitensis* en el ganado ovino y caprino (RD 2611 de 1996), el esfuerzo realizado no ha sido adecuado y esta infección mantiene todavía una elevadísima prevalencia en España (Tabla 1). De hecho, cada vez resulta más frecuente que explotaciones de ganado bovino saneadas de *B. abortus*, que se localizan en las proximidades de rebaños ovinos o caprinos, sufran brotes importantes de infección por *B. melitensis*. Por ello, teniendo presente el elevado censo de ganado ovino (más de 20 millones de cabezas) y caprino (alrededor de 3 millones y medio), no es de extrañar que en España la inmensa mayoría de los casos humanos sean debidos a *B. melitensis*. En consecuencia, hablar de brucelosis humana en nuestro país es prácticamente equivalente a hablar de brucelosis ovina (sobre todo) y caprina en la mayor parte de los casos. Puesto que no se conocen técnicas totalmente eficaces de profilaxis de la brucelosis humana, su control en nuestro

COMUNIDAD AUTÓNOMA	REBAÑOS		ANIMALES	
	ANALIZADOS	% POSITIVOS	ANALIZADOS	% POSITIVOS
Aragón	5.444	64,6	1.359.908	3,4
Valencia	2.190	55,7	287.001	4,4
Murcia	3.010	55,3	476.872	3,4
Cataluña	3.368	45,9	509.369	5,6
Madrid	792	39,2	196.084	3
Castilla-León	18.016	35,3	3.747.747	2
Andalucía	24.896	31,7	2.346.014	3
Castilla-La Mancha	10.276	17,4	2.521.220	1,4
La Rioja	490	15,8	82.758	0,2
Extremadura	15.729	12,5	2.875.335	1
Navarra	2.402	9,5	385.864	0,6
Cantabria	3.129	3,1	121.097	0,3
Galicia	31.140	1,4	346.232	1,4
Baleares	1.619	1	64.960	0,3
Asturias	6.844	0,8	139.077	0,02
País Vasco	10.426	0,6	228.278	0,07
Canarias	2.679	0	104.574	0
<b>TOTAL</b>	<b>134.502</b>	<b>20,1</b>	<b>15.897.632</b>	<b>2,1</b>

TABLA 1. Prevalencia colectiva e individual de la brucelosis ovina y caprina en España. (Fuente: Subdirección General de Sanidad Animal del MAPA, datos de la Campaña 1997).

país pasa obligatoriamente por el control y erradicación de la enfermedad en el ganado ovino y caprino.

## PATOGENIA Y CUADRO CLÍNICO

Inmediatamente después de la penetración e independientemente de la vía de entrada, las *Brucellae* son transportadas, libres o en el interior de células fagocíticas, hasta los ganglios linfáticos más próximos al lugar de entrada. Si las bacterias no son destruidas, pueden sobrevivir largos periodos de tiempo en el interior de las células del sistema reticuloendotelial. El mecanismo exacto de esta supervivencia intracelular es desconocido, aunque pudiera estar directamente relacionado, entre otros factores, con la estructura particular de la membrana externa de la bacteria (ver capítulo 2). Los ganglios linfáticos responden a la agresión por medio de una hiperplasia reticuloendotelial y linfática, que puede tardar varias semanas en producirse y persistir durante meses. Cuando las bacterias no son aisladas y destruidas en los ganglios, se produce su diseminación a través de la vía linfática o más frecuentemente a través de la sangre. La bacteriemia puede persistir intermitentemente durante meses, dependiendo de la resistencia del hospedador. Por tanto, la diseminación hematogena permite la colonización del bazo, útero, placenta, glándula mamaria, ganglios linfáticos y de otros órganos como el testículo, epidídimo y glándulas sexuales accesorias en los machos. Las *Brucellae*, al igual que la mayoría de las bacterias intracelulares facultativas, producen inflamaciones crónicas de carácter granulomatoso en los órganos que parasitan. Su interacción con los componentes del suero (anticuerpos, complemento, etc.), neutrófilos, macrófagos, fibroblastos y células epiteliales da como resultado la producción de una amplia variedad de sustancias capaces de activar los macrófagos, expandir clones de linfocitos T, estimular la hematopoyesis y, en resumen, inducir una reacción inflamatoria.

La especial afinidad que estas bacterias tienen por el endometrio grávido y por la placenta fetal, condiciona que la principal manifestación clínica de la infección en los animales sea el aborto durante el último tercio de la gestación o el nacimiento de animales prematuros poco viables, con el consiguiente aumento de la mortalidad perinatal. La razón de esta afinidad, la forma en que la infección progresa por el endometrio y el mecanismo desencadenante del aborto no se conocen con precisión. Sin embargo, existen evidencias de que las endotoxinas bacterianas no son desencadenantes del aborto y lo más probable es que se produzca como consecuencia de las lesiones inflamatorias en la placenta y de las consiguientes alteraciones de la circulación sanguínea materno-filial.

En los machos, las principales manifestaciones clínicas son las alteraciones testiculares y la disminución de la fertilidad. En infecciones experimentales pueden observarse otros síntomas tales como fiebre, depresión generalizada, mami-tis, osteoartritis y sinovitis, que suelen pasar desapercibidos en condiciones naturales.

## EPIDEMIOLOGÍA

La brucelosis suele aparecer por primera vez en un rebaño tras la compra de animales infectados. Por desgracia, en la inmensa mayoría de las explotaciones de ganado ovino y caprino en España se realizan grandes trasiegos de animales (compras de reposición, préstamos de sementales, etc.), lo que facilita la diseminación de la infección y dificulta extraordinariamente su control. Solamente cuando los animales excretan la bacteria por la leche (los ganglios supramamarios constituyen uno de los órganos de localización preferente) o a través de los exudados vaginales tras el aborto, son peligrosos para el resto de animales y para el hombre. En el momento del aborto (e incluso en partos normales) y en los días siguientes (hasta 60 días después), los animales infectados excretan miles de millones de bacterias que contaminan el medio y facilitan la diseminación de la infección. Esta vía de excreción es la más importante para el mantenimiento de la infección en el rebaño. La inmensa mayoría de los animales se infecta de una forma directa a través de mucosa oronasal, bien por ingestión de materias contaminadas o bien por inhalación del polvo de los establos. Por otra parte se ha dudado de la existencia de transmisión sexual de la infección. Sin embargo, nosotros hemos demostrado que alrededor del 20% de los carneros con serología positiva excretan *B. melitensis* por el semen, por lo que la transmisión sexual no debería descartarse. Finalmente, una de las vías más sutiles y peligrosas para la transmisión y mantenimiento de la brucelosis animal la constituye el fenómeno de infección latente, es decir, la existencia de animales nacidos de madres infectadas que se infectan «*in utero*», o consumiendo leche infectada durante la lactación. Este fenómeno ocurre aproximadamente en el 10% de los hijos de madres infectadas y estos animales, que son seronegativos (y por tanto, indetectables en las campañas de control), excretan la bacteria al medio, con el consiguiente riesgo epidemiológico. Es destacable la gran resistencia a la desecación de estas bacterias, que contribuye a que puedan permanecer viables durante largo tiempo en la paja y polvo de los establos (hasta 10 semanas), o en los alimentos, como la leche, mantequilla y queso (en algunas variedades de queso hasta seis meses). Su supervivencia en el medio exterior varía mucho en función de las condiciones ambientales. Aunque la luz solar directa las destruye en pocas horas, en determinadas condiciones de humedad y temperatura puede sobrevivir durante varios meses, lo que dificulta todavía más el control de la infección.

Ya hemos mencionado que los principales reservorios de la enfermedad son los rumiantes domésticos. Otras especies animales que pueden convivir con ellos, tales como perros, gatos y roedores, también son susceptibles de padecer la infección, aunque no existen evidencias de que ello sea muy relevante desde el punto de vista epidemiológico. Sin embargo, un problema bien distinto lo constituye la fauna silvestre (jabalíes, venados y liebre, sobre todo), que pueden padecer la enfermedad y mantenerla a través de un ciclo silvestre específico, constituyendo un reservorio y un riesgo de transmisión potencial tanto para el hombre como los rumiantes domésticos.

## DIAGNÓSTICO

Además de las observaciones clínicas realizadas por los veterinarios, el diagnóstico de la brucelosis animal puede basarse en pruebas de laboratorio directas, mediante el aislamiento bacteriológico, o indirectas, mediante la demostración de una respuesta serológica o celular específicas. Sin embargo, debido a la posibilidad de reacciones cruzadas con otras bacterias, la presencia de anticuerpos o la existencia de una respuesta celular en un determinado animal no significa necesariamente que éste sufra una infección activa por *Brucella*. Por ello, los resultados del diagnóstico indirecto deben siempre interpretarse a la luz de los datos clínicos y bacteriológicos.

### *Diagnóstico bacteriológico*

La brucelosis animal puede diagnosticarse presuntivamente mediante el examen microscópico de frotis de escobillones vaginales, de placenta, de fetos abortados o de semen, coloreados por los procedimientos de Gram, Köster o Stamp. Una persona experimentada puede realizar este diagnóstico presuntivo con una cierta garantía, debiendo confirmarlo siempre mediante el aislamiento bacteriológico sobre un medio de cultivo, que es la prueba de diagnóstico más específica. La utilización de muestras correctas y la disponibilidad de medios selectivos adecuados permiten realizar el diagnóstico bacteriológico con garantía en la mayor parte de los casos. La muestra más recomendable es el escobillón tomado directamente de la vagina de los animales abortados. Además, la leche es una muestra muy recomendable ya que más del 80% de los animales infectados excretan *Brucella* por la leche. El cultivo en agar sangre en una atmósfera conteniendo un 10% de CO<sub>2</sub> (salvo para el caso de *B. canis* que no crece en presencia de este gas) es el más simple y utilizado de los procedimientos bacteriológicos. Sin embargo, en Veterinaria, se hace indispensable la utilización de medios selectivos, ya que las muestras proceden de lugares normalmente hospedados por una rica flora comensal (vagina, leche, fetos abortados, etc.). Para el aislamiento de *B. abortus* se usa el medio

selectivo de Farrell, que contiene una serie de antibióticos a los que dicha especie es resistente. Sin embargo, un significativo porcentaje de cepas de *B. melitensis* no crece debido a la presencia en este medio de una alta concentración de bacitracina. Por ello, para el aislamiento de *B. melitensis* se recomienda usar, además del medio de Farrell, el medio semiselectivo de Thayer-Martin modificado, que permite aumentar la sensibilidad del cultivo. Las colonias de *Brucella* en aislamiento primario no suelen ser visibles hasta los 3-5 días de incubación. Ante un crecimiento característico sobre un medio selectivo, una tinción de Gram (cocobacilos gram-negativos) y las pruebas de oxidasa y ureasa son suficientes para garantizar un diagnóstico certero de brucelosis. Para la identificación a nivel de especie y para la tipificación en biovariedades, lo más conveniente es enviar las cepas aisladas a un laboratorio especializado (ver capítulo correspondiente).

Es preciso tener en cuenta que estas bacterias son unas de las más peligrosas hablando en términos de capacidad para transmitirse a la especie humana. Por lo tanto, todos los trabajos de manipulación de muestras, siembras, etc., deben realizarse adoptando las máximas precauciones. La utilización de guantes, gafas de seguridad y mascarilla es la precaución mínima que debe adoptarse, incluso cuando se manipulan las vacunas vivas B19 y Rev 1 (usadas para la vacunación de los animales), que pueden producir infecciones en el hombre.

#### *Diagnóstico serológico*

El diagnóstico bacteriológico no es posible utilizarlo como prueba individual en las campañas de control por el elevado número de animales a analizar. Por ello, para el diagnóstico colectivo de la infección se utilizan pruebas indirectas, basadas en la detección de una respuesta inmune humoral (pruebas serológicas) o celular (pruebas alérgicas o estimulación linfocitaria) frente a antígenos específicos de *Brucella*. De estos dos tipos de diagnóstico indirecto, el basado en la detección de anticuerpos en el suero sanguíneo (y lácteo, en el caso de las vacas de ordeño), es el que se utiliza mayoritariamente en las campañas de control de la enfermedad que se realizan en los animales.

Para el diagnóstico serológico de la brucelosis animal se han empleado muchas técnicas tratando de encontrar la ideal, es decir aquella que siendo simple de realizar y económica, sea muy sensible y específica. Esta prueba todavía no ha sido desarrollada pero actualmente es posible aproximarse bastante a la situación ideal, siempre que tengamos en cuenta la complejidad antigénica de *Brucella* y la evolución de la respuesta inmune frente a sus antígenos. Las *Brucellae* son bacterias con una estructura antigénica compleja, siendo el lipopolisacárido (LPS), el hapteno nativo (HN), y las proteínas citoplasmáticas y de membrana externa (ver

capítulo 2 en este Manual) los antígenos más significativos. Estos antígenos no estimulan por igual la respuesta inmune y, además, la evolución de ésta depende de si el proceso infeccioso cursa hacia la curación o hacia la cronicidad, de la existencia o no de reinfecciones y de la existencia o no de vacunación. Por su localización estructural en la superficie de la célula y su elevada inmunogenicidad, el LPS-S es el antígeno de superficie dominante en las especies en fase lisa (S) y por tanto, frente al que primero aparecen anticuerpos en el suero en los animales tras la infección o vacunación, pudiendo a su vez ser detectados mediante la utilización de las pruebas serológicas denominadas «clásicas» (Aglutinación y Fijación del Complemento), que utilizan suspensiones de bacterias en fase S como antígeno. Un aspecto práctico controvertido ha sido el relativo a la especificidad antigénica de los antígenos usados para diagnosticar las infecciones por *Brucellae* en fase S, ya que se ha dudado si los obtenidos de *B. abortus* serían adecuados para el diagnóstico de las infecciones producidas por *B. melitensis* y viceversa. Sin embargo, debido a la existencia mayoritaria de un epítipo común en el LPS de las diferentes especies en fase S, la cepa usada para obtener los antígenos es irrelevante desde el punto de vista diagnóstico. Por contra, debido a que el LPS de las especies en fase rugosa (R) *B. canis* y *B. ovis* carece de los epitopos propios del LPS-S, para diagnosticar las infecciones que producen es preciso usar sus antígenos de superficie específicos (LPS-R).

Uno de los grandes objetivos de muchos investigadores es poner a punto una prueba serológica, que además de poder ser automatizada, posea la sensibilidad y especificidad necesarias para diagnosticar correctamente la infección y diferenciar los animales infectados de los vacunados. Desde el punto de vista teórico, también debería servir para conocer si una reacción positiva, lo es como consecuencia de la estimulación antigénica por *Brucella* o por microorganismos que poseen epitopos comunes (ver capítulo 2). Finalmente, esta prueba debería además diferenciar los animales epidemiológicamente peligrosos (excretadores activos) de los que no lo son. En estas condiciones, la pauta diagnóstica más recomendable consistiría en combinar una prueba de «screening» que detectase la mayor proporción posible de animales con anticuerpos frente a *Brucella*, con otra de gran especificidad, que detectase de entre estos últimos sólo los verdaderamente infectados.

En la actualidad se dispone de suficiente tecnología para diagnosticar eficientemente la brucelosis animal, si bien con las pruebas serológicas existentes no siempre es posible detectar la totalidad de los animales infectados. Además, la elevada prevalencia de la enfermedad en muchas CCAA españolas obliga a que la vacunación de los animales de reposición con las vacunas vivas *B. abortus* B19 (para el ganado bovino) y *B. melitensis* Rev 1 (para el ovino y caprino) sea un instrumento de profilaxis imprescindible. Como contrapartida, la vacunación difi-

culta la interpretación de los resultados serológicos puesto que con las técnicas serológicas convencionales no siempre es posible determinar con certeza si un animal posee anticuerpos como consecuencia de una infección natural o de una vacunación reciente. Además, las técnicas diagnósticas clásicas tampoco son capaces de diferenciar los anticuerpos debidos a la infección de aquéllos debidos a la respuesta secundaria que ocurre como mecanismo de defensa en animales previamente vacunados cuando tienen contacto con la bacteria.

Los resultados de sensibilidad y especificidad de las diferentes pruebas serológicas utilizadas para el diagnóstico de la infección por *B. melitensis* en ganado ovino, como principal problema en España y como ejemplo representativo de la brucelosis en los rumiantes (los resultados son muy similares para el ganado bovino y caprino), se presentan en la Tabla 2. Como prueba de «screening» oficial se usa la aglutinación rápida con antígeno Rosa de Bengala (RB), que si se realiza correctamente, posee una sensibilidad próxima al 100%, pero que presenta una gran cantidad de resultados falsos positivos, particularmente en caso de antecedentes de vacunación subcutánea de los animales de reposición. Otra prueba que podría usarse como screening es el ELISA indirecto (iELISA), que proporciona unos resultados muy similares a los de la prueba RB, presentando también una baja especificidad en las condiciones de vacunación mencionadas (Tabla 2). En el ganado bovino

ANIMALES	Nº sueros	Número de sueros positivos en					
		RB	FC	GD	iELISA	cELISA	
Infectados por <i>B. melitensis</i>	55	55 (100) <sup>a</sup>	51 (92.7) <sup>a</sup>	50 (90.9) <sup>a</sup>	55 (100) <sup>a</sup>	53 (96.3) <sup>a</sup>	
Libres de <i>Brucella</i>	60	0 (100) <sup>b</sup>	0 (100) <sup>b</sup>	0 (100) <sup>b</sup>	0 (100) <sup>b</sup>	0 (100) <sup>b</sup>	
Vacunados con Rev 1							
Vía de vacunación	Tiempo tras vacunación <sup>c</sup>						
SUBCUTÁNEA	4-7	30	29 (3.3) <sup>b</sup>	29 (3.3) <sup>b</sup>	21 (30) <sup>b</sup>	30 (0) <sup>b</sup>	9 (70) <sup>b</sup>
	16-19	28	24 (14.3) <sup>b</sup>	15 (46.4) <sup>b</sup>	1 (96.4) <sup>b</sup>	25 (10.7) <sup>b</sup>	4 (85.7) <sup>b</sup>
	25	18	11 (38.9) <sup>b</sup>	4 (77.8) <sup>b</sup>	0 (100) <sup>b</sup>	16 (11.1) <sup>b</sup>	2 (88.9) <sup>b</sup>
CONJUNTIVAL	3-4	36	31 (13.9) <sup>b</sup>	15 (30.6) <sup>b</sup>	0 (100) <sup>b</sup>	16 (55.5) <sup>b</sup>	13 (63.9) <sup>b</sup>
	8	20	15 (25) <sup>b</sup>	2 (90) <sup>b</sup>	0 (100) <sup>b</sup>	15 (25) <sup>b</sup>	3 (85) <sup>b</sup>
	19	11	1 (81.8) <sup>b</sup>	0 (100) <sup>b</sup>	0 (100) <sup>b</sup>	3 (72.7) <sup>b</sup>	2 (89.5) <sup>b</sup>

a. Porcentajes de sensibilidad = número de animales infectados por *B. melitensis* que dan resultado positivo en el test / número total de animales infectados analizados x 100.

b. Porcentajes de especificidad = número de animales libres de *Brucella* o vacunados con Rev 1 que dan resultado negativo en el test / número total de animales analizados de cada grupo x 100.

c. muestreos en semanas tras la vacunación.

TABLA 2. Sensibilidad y especificidad de las pruebas serológicas RB, FC, GD, iELISA y cELISA con sueros de ovejas libres de *Brucella*, infectadas por *B. melitensis* o vacunadas con vacuna viva Rev 1. (MARÍN *et al.*, 1999, *Clin Diagn Lab Immunol.* 6, 269-272).

lechero, una técnica de screening muy adecuada y de sensibilidad similar a la de RB es la denominada Prueba del anillo (Ring Test), que se realiza en la leche. El iELISA también puede usarse para la detección de anticuerpos en leche.

Como prueba confirmatoria en las Campañas Nacionales de erradicación se utiliza la Fijación del Complemento (FC), que posee una sensibilidad bastante elevada, pero una especificidad muy mediocre en condiciones de vacunación subcutánea (Tabla 2). Existen también otras pruebas confirmatorias, que aunque no están autorizadas oficialmente, podrían tener utilidad. De entre ellas, destaca el ELISA de competición (cELISA), técnica que posee una sensibilidad equivalente a la de la FC, pero que es mucho más específica para analizar sueros de animales vacunados. Por otra parte, la prueba de Precipitación en Gel (GD), proporciona unos resultados muy similares a los del cELISA (Tabla 2), con la ventaja adicional de que es mucho más sencilla y no requiere equipamiento sofisticado.

Independientemente de todo lo mencionado, la manera más sencilla de reducir la interferencia producida por la vacunación es utilizar la vía conjuntival para la administración de las vacunas B19 y Rev 1. La especificidad de todos los tests serológicos mencionados mejora notablemente en caso de vacunación conjuntival (Tabla 2).

### **Medidas de control y erradicación**

En la inmensa mayoría de las situaciones epidemiológicas, los rumiantes domésticos son las principales especies afectadas y las que intervienen mayoritariamente en el ciclo epidemiológico humano. Al no existir ningún procedimiento totalmente efectivo para prevenir este contagio humano, la única posibilidad de evitarlo pasa obligatoriamente por la erradicación de la enfermedad en los rumiantes. Hasta ahora, el único procedimiento conocido para lograrlo consiste en la detección de los animales infectados mediante pruebas de diagnóstico adecuadas y su inmediata eliminación por sacrificio. Sin embargo, la aplicación de este programa de erradicación por sacrificio no siempre es posible, bien porque la prevalencia en las especies afectadas es demasiado elevada, bien porque las condiciones socioeconómicas de los países afectados no lo permiten, o bien por las dos cosas a la vez, que suele ser lo más frecuente. Existe una cierta tendencia a considerar que los programas de control de tipo diagnóstico y sacrificio («test and slaughter»), aplicados con éxito para la erradicación de la brucelosis bovina en los países del norte de Europa son perfectamente válidos también en todas situaciones epidemiológicas y socioeconómicas. No solamente esto no es cierto en los países en vías de desarrollo, sino que los programas de erradicación de esta naturaleza están fracasando en algunas CC.AA. españolas que presentan prevalencias

elevadas. Mientras que en zonas con una prevalencia baja y un elevado nivel socioeconómico, la vacunación debería estar incluso desaconsejada, el uso de vacunas resulta imprescindible en regiones con elevada prevalencia, independientemente de su situación socioeconómica. Por lo tanto, la aplicación de un programa de profilaxis vacunal en los rumiantes es imprescindible para controlar la difusión de la enfermedad en la mayoría de situaciones. Sin embargo, estos programas de vacunación, por muy eficientemente que se ejecuten, nunca pueden por sí solos lograr la erradicación de la brucelosis. En consecuencia, para conseguir la erradicación de la enfermedad será preciso aplicar un programa de profilaxis vacunal, combinado con un programa de detección de los animales infectados y su sacrificio inmediato. La complementación de ambos programas ha sido y continúa siendo uno de los principales problemas en el control colectivo de la brucelosis, pero no el único.

Como requisito imprescindible para abordar con garantía cualquier programa de control de la brucelosis bovina, ovina y caprina en una determinada región, su Administración debería disponer de medios financieros, materiales y humanos en cantidad y calidad suficiente. Además, cualquier programa que se ejecute debe ser diseñado con continuidad en el tiempo, ya que una campaña de control debe abordarse teniendo presentes unos plazos mínimos de 10 a 20 años para obtener resultados. Por otra parte, como requisito previo antes de iniciar cualquier tipo de actuación, la situación epidemiológica real debería conocerse perfectamente mediante una investigación epidemiológica sobre una muestra representativa en las diferentes especies animales afectadas. Finalmente, las condiciones de explotación y los hábitos de manejo deben conocerse con precisión para poder ser controlados, en particular los movimientos de ganado, factor capital para el éxito de cualquier programa de erradicación de la enfermedad.

En aquellas regiones en las que la prevalencia sea elevada, los sistemas de producción sean extensivos y los recursos financieros disponibles limitados, la puesta en marcha de un programa de vacunación sobre la totalidad de los efectivos es la única estrategia de actuación posible para detener el progreso de la infección y mantenerla a unos niveles de prevalencia razonables. La vacunación sistemática, indiscriminada y repetida en el tiempo de todos los animales de la zona de actuación con una vacuna adecuada, conduce a una disminución notable de la prevalencia al cabo de los años. Este es el único programa de control eficaz para ser aplicado durante muchos años en rumiantes en regiones con elevada prevalencia colectiva (más del 20% de los rebaños infectados), baja tecnificación del ganadero y con escasez de recursos técnicos y financieros en la Administración. En la gran mayoría de los países en vías de desarrollo, y en muchas regiones españolas, es la única estrategia posible para disminuir la prevalencia con el tiempo hasta

alcanzar niveles compatibles con la instauración de un programa de erradicación definitiva. La única base de este programa es la vacunación con una vacuna de buena calidad, realizada en la totalidad de los animales presentes y aplicada con la continuidad necesaria en el tiempo para garantizar el nivel inmunitario de la población.

Por otra parte, la utilización de programas de vacunación compatibles con la erradicación es la estrategia más económica y eficiente para el control de la brucelosis en aquellas regiones con prevalencias moderadas y capaces de poner en marcha un sistema de identificación individual (en España ya es obligatorio) y de control de los movimientos pecuarios. Este programa se basa en la vacunación de los animales de reposición (entre los 3 y 6 meses de edad) con una vacuna adecuada y en el diagnóstico serológico ulterior, realizado repetidamente en animales mayores de 14-18 meses, y procediendo al sacrificio de los seropositivos. Este programa combinado podría recomendarse en regiones con prevalencia moderada (por ejemplo cuando menos del 10% de los rebaños están infectados) y con condiciones epidemiológicas, técnicas y financieras muy favorables. Este programa combinado precisa la identificación individual de todos los efectivos y el control riguroso de los movimientos pecuarios y es el que, en teoría, se utiliza oficialmente para el control de la brucelosis de los pequeños rumiantes en España.

Las vacunas vivas *B. abortus* B19 y *B. melitensis* Rev 1, obtenidas en los años 30 y 50, respectivamente, han tenido y tienen una relevancia crucial en el control de la brucelosis en muchos países, incluido el nuestro. La vacunación de las terneras de reposición con la vacuna viva *B. abortus* B19 y de las cabras y corderas de reposición con vacuna viva *B. melitensis* Rev 1 es una técnica de reconocida eficacia para la profilaxis de la brucelosis en los rumiantes. Además, ambas vacunas pueden ser utilizadas también en animales adultos para acelerar el control de la enfermedad en aquellas regiones con prevalencias elevadas y escasos recursos. Ambas vacunas, administradas por el método clásico (vía subcutánea a dosis completas —alrededor de  $5-10 \times 10^{10}$  para la vacuna B19 y de  $1-2 \times 10^9$  para la Rev 1—) producen una infección generalizada en los animales vacunados, con multiplicación activa en los órganos linfoides y ganglios linfáticos. Por tanto, ambas vacunas basan su buena capacidad inmunógena en su relativamente elevada persistencia en los animales vacunados, que lleva aparejada la inducción de una respuesta serológica de gran intensidad y duración frente a los antígenos S usados en las pruebas serológicas, con la subsiguiente interferencia en el diagnóstico. Esta interferencia ha sido esgrimida por parte de la comunidad científica como el principal inconveniente de ambas vacunas y ha logrado crear una importante corriente internacional para desaconsejar su uso (de hecho, la vacuna B19 ya sólo se autoriza con carácter excepcional en España), en favor de otras nuevas vacunas

(cepas en fase R carentes de LPS-S), que presentan evidentes ventajas potenciales pero cuya eficacia ha sido insuficientemente valorada. Sin embargo, el inconveniente mencionado debe también ser contemplado como relativo ya que existen diferentes posibilidades técnicas para minimizarlo, al menos en parte, haciendo compatibles la vacunación con la erradicación.

Una de las vías para la interpretación correcta de los resultados serológicos tras la vacunación reside en la utilización de tests diagnósticos capaces de diferenciar los anticuerpos vacunales de aquellos originados por la infección. Si bien este aspecto no está totalmente resuelto, el uso de pruebas diagnósticas como GD y cELISA, podría contribuir de una forma importante a minimizar el problema. Sin embargo, la vía más adecuada para hacer compatible un programa de vacunación con estas vacunas vivas con la erradicación, reside en la utilización de la vacunación conjuntival y en el sentido común para evaluar la respuesta serológica inducida tras la vacunación. El procedimiento de vacunación conjuntival con B19 (una inoculación de  $5 \times 10^9$ ) produce inmunidad adecuada en ganado bovino frente a *B. abortus*, induciendo tan sólo una respuesta serológica débil y transitoria. Este procedimiento confiere también protección en bovino frente a *B. melitensis*, una especie cada vez más frecuentemente aislada en España en las vacas. La repetición de esta vacunación entre 3 y 12 meses después de la primera refuerza significativamente la eficacia protectora de la vacuna B19, de una forma equivalente o incluso superior a la conferida por la vacunación subcutánea, sin inducir una respuesta serológica persistente. Esta limitada respuesta serológica hace del procedimiento conjuntival una herramienta ideal para la revacunación de las terneras que fueron vacunadas subcutáneamente y quedaron mal protegidas y también para la vacunación de vacas adultas en rebaños infectados o con riesgo, y resulta perfectamente compatible con un programa de erradicación por sacrificio, particularmente cuando se respetan intervalos de tiempo razonables tras la vacunación y se utilizan los tests diagnósticos adecuados. En lo que concierne a los pequeños rumiantes, el procedimiento de vacunación conjuntival con Rev 1 (una sola dosis de  $1 \times 10^9$  UFC) confiere a los corderos y cabras de reposición una protección muy elevada frente a *B. melitensis* (similar a la conferida por la vacunación subcutánea estándar), induciendo una respuesta serológica de poca intensidad y corta duración, haciendo de este método la herramienta de profilaxis ideal, ya que es compatible con un programa de erradicación por sacrificio (Tabla 2).

Además del relativo problema de las interferencias diagnósticas, estas vacunas poseen inconvenientes que deben ser conocidos para tratar de minimizarlos. En primer lugar, existe una extendida creencia que las vacunas Rev 1 y B19 son productos invariables de país a país y de laboratorio a laboratorio, ignorándose que pueden existir grandes variaciones de su actividad biológica en función de las

diferentes condiciones usadas en su producción y conservación. Por ello, la estandarización y determinación de la actividad biológica de las vacunas B19 y Rev 1 de acuerdo a las normas internacionales, constituye uno de los pilares esenciales para la ejecución correcta de cualquier campaña de profilaxis vacunal en un determinado país. Por otra parte, la vacuna B 19 puede producir algunos efectos secundarios, ya que es capaz de inducir alteraciones testiculares e infecciones persistentes en una proporción importante de los toros vacunados y puede producir un 1-3% de abortos e infecciones mamarias persistentes con excreción activa en leche en las vacas vacunadas en la edad adulta. Además, tras una inoculación accidental esta cepa vacunal puede provocar infección en el hombre. La vacuna Rev 1 provoca abortos cuando se vacunan animales gestantes, si bien este efecto abortivo se minimiza cuando se usa por vía conjuntival. Además, la cepa Rev 1 puede infectar a la especie humana (veterinarios sobre todo) durante su manipulación. Puesto que se trata de una cepa resistente a la estreptomycin, el médico debe prestar una atención especial ante esta eventualidad.

## BIBLIOGRAFÍA RECOMENDADA

- ALTON G, 1990. «B, melitensis». En: *Animal Brucellosis*. K Nielsen & J Duncan Ed, CRC Press, Boca Ratón, FL, p 283.
- BLASCO JM, MARIN C, BARBERAN M, MORIYÓN I, GAMAZO C, JIMÉNEZ DE BAGUÉS M, 1990. «Brucelosis ovina». *Monografía Ovis* n° 8, Mayo 1990.
- BLASCO JM, NICOLETTI P, VERGER JM, MORIYÓN I, LOPEZ I, DIAZ R, PLOMMET M, 1994. «Brucelosis bovina». *Monografía Bovis* n° 57. Abril 1994.
- BLASCO JM, DIAZ R, 1993. «*Brucella melitensis* Rev 1 vaccine as a cause of human brucellosis». *Lancet*, 342, 805.
- BLASCO JM, GAMAZO C, 1994. «Brucelosis animal». *Investigación y Ciencia*, n° 219, Noviembre 1994.
- BLASCO JM, 1997. «A review on the use of *B. melitensis* Rev 1 vaccine in adult sheep and goats». *Prev Vet Med*, 31, 275.
- MACMILLAN A, 1990. «Conventional serological tests». En: *Animal Brucellosis*. K. Nielsen & J. Duncan, Eds, CRC Press, Inc. Boca Ratón, FL, p 153.
- NICOLETTI P, 1990. «Vaccination». En: *Animal Brucellosis*. K. Nielsen & J. Duncan, Eds, CRC Press, Inc. Boca Ratón, FL, p 283.
- NIELSEN K, KELLY L, GALL D, NICOLETTI P, KELLY W, 1995. «Improved competitive enzyme immunoassay for the diagnosis of bovine brucellosis». *Vet Immunol Immunopath* 46, 285.
- OLSEN SC, 2000. «Immune responses and efficacy after administration of a commercial *Brucella abortus* strain RB51 vaccine to cattle. *Vet Therapeutics*, 1, 183-187.
- PLOMMET M, 1984. «Progres recents en immunisation contre l'infection par *Bucella abortus*. Immunisation chez les bovins». *Prev Vet Med*, 2, 205.

# EPIDEMIOLOGÍA Y PREVENCIÓN DE LA BRUCELOSIS. BRUCELOSIS COMO ENFERMEDAD PROFESIONAL

A. ALMARAZ GÓMEZ  
A. RODRÍGUEZ TORRES

## I. INTRODUCCIÓN

La brucelosis es una antropozoonosis, en la que el hombre es un huésped accidental. Su principal reservorio son los animales domésticos a los que produce una infección asintomática o con clínica de orquiepididimitis en los machos y mastitis y aborto epizootico en las hembras. La infección humana supone un fallo en la cadena epidemiológica puesto que el contagio interhumano, es excepcional<sup>1</sup>.

La enfermedad existe en todo el mundo, especialmente en la cuenca mediterránea, la península de Arabia, el subcontinente Indio y en partes de Méjico, América Central y Sudamérica<sup>2</sup>.

En España, si bien la disminución de su incidencia ha sido notable en los últimos años, pasando de una incidencia acumulada de 22,33 casos en 1984 a 5,45 por 100.000 habitantes en el año 1997, aún sigue siendo un problema sanitario y social de primera magnitud, especialmente en algunas CC.AA. como Extremadura (45,83‰00), Aragón (12,57‰00), Castilla la Mancha (12,31‰00), Castilla-León (9,99‰00) y Andalucía (8,21‰00). En Galicia, Asturias, Cantabria y el País Vasco la endemia es muy baja y en Baleares y Canarias la enfermedad es prácticamente inexistente<sup>3,4</sup>.

## II. EPIDEMIOLOGÍA

La transmisión de la brucelosis a partir de los animales, se produce a través de dos tipos de mecanismos claramente definidos: por contagio directo, mediante contacto, inoculación o inhalación de productos contaminados, o por vía indirecta a través de la ingestión de leche o derivados lácteos contaminados.

## II.1. RESERVORIO Y FUENTE DE INFECCIÓN

La brucelosis es una zoonosis y la gran mayoría de todos los casos humanos derivan directa o indirectamente de la exposición animal.

Existen cuatro especies de *Brucella* que son patógenas para el hombre cada una de ellas con un tropismo selectivo, aunque no exclusivo, por determinadas especies animales: *B. abortus* (ganado bovino), *B. Melitensis* (cabra y oveja), *B. suis* (ganado porcino) y *B. Canis* (perros). El patrón de severidad de la enfermedad en los humanos es en orden decreciente como sigue: *B. melitensis*, *B. suis*, *B. abortus* y *B. canis*<sup>5</sup> (Tabla 1).

La identificación de las especies de *Brucella* de muestras humanas, pueden proporcionar una pista sobre la probable fuente de infección así como servir de barómetro de la prevalencia de la enfermedad en animales. Según datos el laboratorio regional de Brucelosis de Valladolid, durante el período comprendido entre 1974 y 1995, más del 98% de las cepas biotipadas procedentes de casos humanos corresponden a *B. melitensis*. *B. abortus* representa menos de 1% y no se han identificado en ningún caso *B. suis* ni *B. canis*. Así pues las especies animales de interés zoonótico son fundamentalmente el ganado ovino y caprino, siendo mucho menor el riesgo a partir de los bóvidos y prácticamente inexistente para suidos y cánidos.

Las hembras de ganado bovino son muy infectantes durante el mes siguiente al parto o aborto. La placenta, membranas etc... así como los restos de abortos están muy contaminados, y también lo están las heces y orina, pasando los gérmenes al medio ambiente y a animales vecinos. Posteriormente el germen se acan-

Especies de <i>Brucella</i>	Huésped natural	Virulencia
<i>B. mellitensis</i>	Oveja, cabra	Elevada
<i>B. abortus</i>	Bóvidos	Moderada
<i>B. suis</i>	Cerdo	Elevada
<i>B. canis</i>	Perro	Baja

Young EJ. An overview of human Brucellosis. Clin Infect Dis 1995; 21(2): 283-290. (modificado)

TABLA 1. *Especies de género Brucella patógenas para el hombre, huésped natural y virulencia.*

tona en las ubres y otras zonas, y se produce una eliminación intermitente crónica a través de la leche<sup>6</sup>.

El papel de los reservorios salvajes en la epidemiología de la brucelosis permanece controvertido. En Europa las liebres son reservorio de *B. suis* biovar 2 y pueden transmitir la enfermedad a los animales domésticos<sup>7</sup>. La posibilidad de que dichos reservorios salvajes, actúen como fuente de infección para la población es remota<sup>5</sup>. El reciente aislamiento de una cepa diferente de *Brucella* denominada provisionalmente *Brucella maris*, de animales marinos en el Reino Unido y USA, posiblemente patógena para el hombre<sup>8</sup> extiende el rango ecológico de género y potencialmente su alcance como zoonosis<sup>9,10</sup>.

La adquisición de la enfermedad por contacto con muestras biológicas contaminadas en trabajadores de laboratorios o con vacunas vivas, constituye un caso especial que será abordado más adelante.

## II.2. MECANISMOS DE TRANSMISIÓN

La brucelosis se transmite al hombre a partir del animal infectado, quien constituye el auténtico reservorio de la enfermedad. El germen puede penetrar en el organismo por múltiples vías.

### INGESTIÓN

La infección puede producirse a través del tubo gastrointestinal, pero es mucho más frecuente su paso por la orofaringe ya que el pH ácido del estómago puede destruir la *brucella*, excepto en los casos de inóculo masivo<sup>11,2</sup>. Los pacientes que utilizan antiácidos, pueden desarrollar brucelosis rápidamente cuando se exponen a la infección, debido a la ausencia del efecto bactericida de los jugos gástricos.

La ingestión de leche cruda, no pasteurizada infectada y sus derivados es uno de los más comunes modos de transmisión de la enfermedad en zonas endémicas. Los casos que se producen en el medio urbano reconocen en general este origen. El queso fresco, no curado, de procedencia casera y en consecuencia no sometido a control sanitario, es el principal vehículo de esta forma de contagio, dando lugar a brotes epidémicos y siendo el factor aislado que se encuentra con más frecuencia como responsable de la aparición de casos de brucelosis en nuestro país<sup>12-16</sup>. En los quesos fermentados, la acidificación destruye los gérmenes. La carne no suele ser vehículo de transmisión ya que temperaturas de 70°C durante 10 minutos, destruyen las *brucellas*<sup>6</sup>, que por otra parte se encuentran en baja concentra-

ción en el tejido muscular<sup>17</sup>. Otros productos animales como hígado, carne o sangre son raramente transmisores de la enfermedad, debido a que no son consumidos crudos habitualmente. No obstante han sido ocasionalmente implicados en la transmisión de la enfermedad<sup>18,19</sup>. Se han descrito brotes hídricos (agua contaminada por aguas residuales de mataderos, etc.) o por alimentos vegetales de consumo crudo, pero no son habituales.

### *INOCULACIÓN*

La autoinoculación accidental de vacuna de *Brucella* viva, puede suceder durante el proceso de vacunación de animales. Igualmente, la adquisición de la enfermedad puede ser el resultado de un accidente biológico que implique pinchazo en personal sanitario de laboratorios.

### *CONTACTO*

El contacto con animales infectados o sus productos es probablemente el mecanismo principal de transmisión de la enfermedad. Las brucellas penetran a través de la piel sana o macerada y de las mucosas nasal y conjuntiva.

Este mecanismo es el más frecuente en el medio rural y en relación con actividades agrícolas y ganaderas, pudiendo llegar a ser el responsable del 60-70% de todos los casos registrados. Pastores, veterinarios, matarifes, manipuladores de carnes, pieles y otros productos de animales infectados constituyen la población a riesgo de este mecanismo de transmisión.

La salpicadura accidental de vacuna de brucella viva en los ojos durante la vacunación de animales es una vía de entrada bien conocida entre los veterinarios con el consiguiente desarrollo de brucelosis oftálmica y sistémica.

### *INHALACIÓN*

La ruta inhalatoria ocurre habitualmente como un riesgo profesional entre pastores, trabajadores de mataderos<sup>20</sup>, camiceros, trabajadores de plantas de procesamiento de carne, veterinarios, trabajadores de la lana, etc. En la limpieza de establos y apriscos se producen auténticos aerosoles cargados de brucellas que pueden infectar por inhalación. Por otra parte, la inhalación de aerosoles es la ruta más frecuente de infección entre los trabajadores de laboratorios<sup>21</sup>.

La dosis infectante de brucella en aerosoles es de tan sólo 10-100 microorganismos. De hecho, es uno de los microorganismos investigados como potencial arma biológica<sup>22</sup>.

*TRANSMISIÓN DE PERSONA A PERSONA*

La transmisión interhumana de la enfermedad, ha suscitado grandes polémicas en los últimos años. La transmisión madre a hijo durante el parto<sup>23-25</sup>, a través de la leche materna<sup>26</sup>, o por vía sexual<sup>27-29</sup> parecen estar razonablemente documentadas aunque de cualquier forma, la trascendencia de estas posibles vías de transmisión en la perpetuación de la enfermedad no deja de ser anecdótica<sup>30</sup>. Se han comunicado casos de brucelosis transmitidos por transfusiones de sangre de donantes en fase de bacteriemia pero asintomáticos<sup>31</sup> o trasplantes de médula ósea<sup>32</sup>.

## II.3. POBLACIÓN SUSCEPTIBLE

Excepto en el caso de la adquisición de la enfermedad por ingestión de leche o derivados lácteos contaminados, el riesgo deriva fundamentalmente de exposiciones profesionales a animales o productos biológicos infectados con brucella.

En la *tabla 2*, se resumen los aspectos más relevantes de la cadena epidemiológica de la enfermedad.

MECANISMO	VEHÍCULO	PUERTA DE ENTRADA	POBLACIÓN A RIESGO
INGESTIÓN	<ul style="list-style-type: none"> <li>Lecha cruda</li> <li>Derivados lácteos</li> </ul>	Orofaringe Mucosa digestiva	<ul style="list-style-type: none"> <li>Población general</li> </ul>
CONTACTO	<ul style="list-style-type: none"> <li>Productos animales contaminados (placenta, abortos, heces, secreciones vaginales....)</li> </ul>	Piel erosionada Conjuntiva Mucosa nasal	<ul style="list-style-type: none"> <li>Trabajadores en contacto con animales o sus productos (pastores, veterinarios, matarifes..)</li> <li>Laboratorios</li> </ul>
INHALACIÓN	<ul style="list-style-type: none"> <li>Aerosoles en laboratorios (muestras biológicas contaminadas, vacunas vivas)</li> <li>Aerosoles en establos, apriscos, lana...</li> </ul>	Mucosa nasal	<ul style="list-style-type: none"> <li>Laboratorios</li> <li>Trabajadores de la lana</li> <li>Limpieza de establos o apriscos</li> </ul>
INOCULACIÓN	<ul style="list-style-type: none"> <li>Vacunas vivas</li> <li>Muestras contaminadas</li> </ul>	Piel sana (accidente biológico)	<ul style="list-style-type: none"> <li>Laboratorios</li> <li>Veterinarios (vacuna)</li> </ul>

TABLA 2. *Mecanismo de transmisión de la brucelosis.*

### III. PRESENTACIÓN DE LA ENFERMEDAD

La brucelosis tiene dos patrones epidemiológicos que, en muchas ocasiones, se entremezclan<sup>33</sup>:

- Patrón urbano-alimentario, por consumo de leche cruda y quesos frescos.
- Patrón rural-laboral, por exposición profesional al ganado infectado, por contacto o inhalación.

En España, los perfiles epidemiológicos difieren según las regiones en función de la cabaña ganadera, tipo de explotación, hábitos alimentarios y saneamiento de los productos lácteos. En ambas Castillas el reservorio casi exclusivo es la oveja, predomina el contagio directo por exposiciones ocupacionales y los casos se reparten en todas las edades productivas con clara preferencia por los varones. En Andalucía, la fuente de infección es sobre todo la cabra y el contagio por ingestión es frecuente.

La estacionalidad típica de la enfermedad se mantiene con un mayor predominio de casos a finales de primavera y principios de verano. En nuestro país, la enfermedad tiene una cierta tendencia estacional (desde el mes de marzo hasta el comienzo del verano) relacionada con la biología de los óvidos y se asocia más frecuentemente al sexo, siendo el riesgo de padecer la infección tres veces superior en el varón que en la mujer y el máximo entre los 31-40 años.

### BRUCELOSIS ADQUIRIDA EN LABORATORIOS

La brucelosis es la infección bacteriana adquirida en el laboratorio, notificada con más frecuencia. El personal con mayor riesgo es el de los laboratorios de investigación donde se manipulan cultivos *de Brucella* en cantidades importantes, pero también se han declarado casos en laboratorios clínicos por contacto cutáneo con cultivos o con especímenes clínicos infecciosos de animales como sangre o flujo uterino, por aerosoles, por pipetear con la boca, por inoculaciones accidentales, y por salpicaduras en los ojos, la nariz o la boca.

Los factores que parecen influir sobre el resultado de un accidente biológico con preparados vacunales incluyen: ruta de exposición, dosis de vacuna inoculada, y estado inmunológico previo de la víctima<sup>29</sup>. La aerosolización de la vacuna en los ojos, conlleva un mayor riesgo de infección que los pinchazos con agujas, quizá teniendo en cuenta el volumen de vacuna inoculado. Si el sujeto tiene anti-

cuerpos preexistentes frente a *Brucella* en el momento del accidente, el resultado es generalmente una reacción local, autolimitada a veces acompañada de síntomas generales, como fiebre y escalofríos. Esto se cree es debido a una respuesta alérgica, aunque la naturaleza de la reacción permanece aún sin identificar. En ausencia de anticuerpos preexistentes, existe riesgo de desarrollar brucelosis aguda, aunque dicho riesgo parece ser pequeño. Recientemente, se han descrito en nuestro país brotes de brucelosis entre trabajadores de laboratorios, en los que se ha identificado la inhalación de aerosoles contaminados como mecanismo de transmisión<sup>21,34,35</sup>.

#### IV. PREVENCIÓN Y CONTROL

El agente causal de la enfermedad es conocido como lo son las vías de transmisión de los animales al hombre. Las técnicas para el diagnóstico bacteriológico y serológico están disponibles aunque infrautilizadas. Se conocen una variedad de agentes antimicrobianos eficaces frente a la infección. La eliminación de la brucelosis humana puede ser llevada a cabo mediante la erradicación de la enfermedad en los animales. Los métodos para realizar este objetivo son también conocidos. Lo que está fallando en amplias zonas del mundo son los recursos y el compromiso.

Las actuaciones de salud pública destinadas al control de la brucelosis humana, incluyen por una parte las de una adecuada **vigilancia epidemiológica**, que permita conocer la situación de la enfermedad y los avances conseguidos y por otra las de **profilaxis general y específica** sobre la cadena epidemiológica.

##### IV.1. VIGILANCIA EPIDEMIOLÓGICA

La brucelosis es una enfermedad de declaración obligatoria desde 1944. De acuerdo con el RD 2210/95, de 28 de Diciembre de 1995 (BOE de 24 de Enero de 1996) sobre declaración obligatoria al Sistema Nacional de Salud, y para la Red Nacional de Vigilancia Epidemiológica, la Brucelosis está englobada como de Enfermedad de Declaración Obligatoria Numérica Semanal con informe anual descriptivo. Todo caso sospechoso de brucelosis deberá ser declarado semanalmente de forma numérica. Así mismo, por tratarse de una zoonosis, también se notificará a las autoridades de agricultura correspondientes<sup>36,37</sup>.

Ante un caso sospechoso de brucelosis, es el médico de atención primaria, quien está en la mejor situación para recoger la información epidemiológica necesaria que facilitará extraordinariamente la tarea de los responsables de salud

<b>Datos de filiación</b>	Identificación, fecha nacimiento, edad, sexo, domicilio,
<b>Datos clínicos</b>	Fecha inicio, síntomas, complicaciones, ingreso hospitalario, diagnóstico de brucelosis anterior.
<b>Datos de laboratorio</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Aislamiento (producto biológico, especie)</li> <li>• Serología (técnica, título, seroconversión)</li> </ul>
<b>Datos epidemiológicos</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Tipo de caso (sospechoso/probable, confirmado)</li> <li>• Contacto con animales (especie, tipo de contacto, saneamiento, vacunación, abortos, reposiciones)</li> <li>• Contacto con productos de laboratorio</li> <li>• Consumo de leche o derivados lácteos crudos</li> </ul>
<b>Datos del declarante</b>	Fecha, médico, centro.

Centro Nacional de Epidemiología. Protocolos de las enfermedades de declaración obligatoria. Madrid. Ministerio de Sanidad y Consumo, 1996.

TABLA 3. *Encuesta epidemiológica de Brucelosis.*

pública. En la *tabla 3*, se resumen los datos imprescindibles a tener en cuenta para la investigación y declaración de un caso de brucelosis propuestos en la encuesta específica del Ministerio de Sanidad y Consumo<sup>37</sup>. Todo brote epidémico, además de su comunicación inicial, si procede, debe ser encuestado y, dentro de un período de tres meses tras su finalización, se remitirá a nivel nacional un informe con datos complementarios. Si se constata transmisión alimentaria debe utilizarse el formulario específico para este tipo de brotes.

En estudios realizados recientemente en nuestro país sobre la evaluación de sistema de vigilancia epidemiológica de la brucelosis, se han establecido que la sensibilidad del SVE-EDO es del 60% en el País Vasco<sup>38</sup> y del 52% en Galicia<sup>39</sup>. Ambos estudios coinciden en que en la práctica totalidad de los casos la declaración se realiza bajo confirmación analítica, lo que contradice la filosofía del sistema basado en una declaración bajo sospecha clínica para una identificación rápida de problemas de Salud Pública.

## IV.2. PREVENCIÓN

Una norma fundamental es que, mientras siga existiendo brucelosis animal en especies vecinas al hombre, seguirá habiendo casos de brucelosis humana. Por tanto, como es norma general en las zoonosis transmisibles la actuación preventi-

va fundamental será tratar de erradicar la enfermedad de las especies animales receptivas a la infección. Las actuaciones preventivas sobre la especie humana son de más limitada eficacia desde el punto de vista colectivo o de Salud Pública.

Para la planificación y realización del control de la brucelosis en una zona, se han seleccionado (FAO/OMS 1986) 5 estrategias básicas, siendo evidente que pueden complementarse entre sí<sup>40</sup>.

1. Prevención de la difusión entre animales y protección de rebaños y zonas libres de brucelosis.
2. Eliminación de animales infectados por el método de investigación y sacrificio, para obtener rebaños indemnes de brucelosis. Se considera que un programa de eliminación por investigación y sacrificio sólo está justificado económicamente cuando la prevalencia de animales infectados en un área es del 2% o menor. Si la prevalencia es mayor, se recomienda una campaña previa de inmunización.
3. Inmunización masiva para reducir las tasas de infección en determinados rebaños.
4. Medidas inespecíficas para reducir la difusión de la infección.
5. Educación sanitaria y preparación profesional como actividades básicas.

#### IV.2.1. *Actuaciones sobre el reservorio*

El objetivo final de la lucha frente a la brucelosis animal debe ser la erradicación de la enfermedad. Las medidas a desarrollar para conseguir tal objetivo han de ser siempre de carácter colectivo, tomando el rebaño o explotación como unidad mínima de actuación y diagnóstico y mejor aún, el municipio, comarca o región, lo que exige unas decisiones político-administrativas correctas y firmes en las que se han de valorar las disponibilidades humanas, técnicas y financieras reales.

Estas medidas incluyen:

- Identificación de rebaños.
- Sangrado de todos los animales con edad superior a los 18 meses.
- Diagnóstico serológico.
- Separación inmediata con sacrificio, destrucción e indemnización de los positivos.
- Vacunación de la totalidad de los animales de reposición, antes de la madurez sexual.

- Medidas higiénicas básicas tales como la destrucción de envolturas fetales, camas y estiércoles que se encuentren en lugares contaminados.

En España según datos del Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, sólo el 0,65% de los bóvidos analizados han resultado positivos a la brucelosis, estando el 97,23% de los establos analizados libres de la enfermedad. En dicho informe se cita también, que CCAA como Asturias, Baleares, Galicia, Navarra y el País Vasco, están muy próximas a la erradicación<sup>41</sup>.

En cuanto a la brucelosis caprina y ovina, el número de establos libres de esta enfermedad fue del 75,8% en 1995, lo que supone un discreto aumento sobre el año anterior (76,52%). Sin embargo, el número de animales seropositivos ha disminuido del 3,17% en 1994 al 2,84 en 1995. Cabe señalar que comunidades como Asturias, Baleares, Canarias, País Vasco, Galicia y Navarra se han examinado la práctica totalidad de sus censos con índices de positividad que oscilan entre el 0,0% de Canarias y el 0,64% de Asturias<sup>41</sup>.

#### IV.2.2. Actuaciones sobre los mecanismos de transmisión

Las directrices fundamentales de lucha contra los mecanismos de transmisión son:

- Calentamiento adecuado de los productos de origen animal y prohibición del consumo en fresco de leche, queso, carnes, etc... de acuerdo con la legislación vigente. Tiene gran interés evitar la ingestión de leche que no haya sido previamente hervida o pasteurizada y prohibir la fabricación de quesos y otros derivados lácteos sin haber realizado previamente la pasteurización.
- Manipular con precaución los animales infectados y sus productos, fomentando la higiene personal y las normas de educación sanitaria sobre protección personal (traje cerrado, guantes, gafas, mascarillas...).
- Saneamiento de establos y apriscos.
- Alejamiento de establos y estercoleros de las viviendas.
- Prohibición del tránsito de animales por las calles.
- Prohibición de la utilización para la bebida, o riego de cultivos de consumo crudo, de aguas que puedan estar contaminadas con brucella.
- En los laboratorios donde se manipulan muestras clínicas humanas o animales potencialmente contaminados por brucella, se recomiendan prácticas

de bioseguridad de nivel 2 y en los que se manipulan cultivos o se llevan a cabo estudios con animales infectados prácticas de bioseguridad de nivel 3 y de bioseguridad animal de nivel 3<sup>42</sup>.

- En el medio rural evitar en las cuadras y establos la remoción de polvo.

#### IV.2.3. Actuaciones sobre la población susceptible

Las actuaciones preventivas sobre la población susceptible, dependen exclusivamente de la eficacia de las actividades de educación sanitaria, ya que como veremos más adelante no existe hasta el momento ninguna vacuna eficaz en la prevención de la enfermedad en humanos.

Según el Comité Mixto FAO/OMS de expertos en brucelosis<sup>40</sup>, las bases de la Educación Sanitaria en el control de la Brucelosis, son las siguientes:

1. En ganaderos: Información sobre el concepto de brucelosis y sus características, consecuencias para la salud humana y la producción animal y legislación, con el fin de que colabore en las medidas de prevención y control.
2. En personal que trabaja en contacto directo con animales: Concepto y características de la enfermedad, consecuencias para la salud humana, especies afectadas, mecanismos de transmisión al hombre y medidas preventivas con el fin de que apliquen en la práctica estas medidas.
3. Población general: Concepto y mecanismo de transmisión de la brucelosis al hombre, síntomas y medios de prevención de la enfermedad, con el fin de la aplicación práctica de estos conocimientos y colaboración en las campañas sanitarias.

Desde 1906, se ha intentado desarrollar una vacuna inocua y eficaz para proteger al hombre de la enfermedad<sup>43</sup>. Las dos primeras generaciones, de gérmenes muertos y vivas atenuadas respectivamente, se abandonaron por su escasa eficacia y elevada reactividad<sup>44-48</sup>. La tercera generación de vacunas, está integrada por las vacunas de fracciones antigénicas: La primera, utilizada por la Dra. Vershilova en la antigua URSS<sup>49</sup> y posteriormente, Roux en Francia utilizando complejos de proteína y polisacáridos extraídos mediante ácido acético de la pared de la cepa 19 de *B. abortus*<sup>50,51</sup> y fracción antigénica insoluble en fenol de la cepa M15 de *B. melitensis* y *B. abortus* biotipo 1, cepa B19. Esta última fue comercializada en Francia en 1985 por el laboratorio Pasteur Mérieux<sup>41</sup>.

Estas vacunas no han demostrado su eficacia y plantean problemas de violentas reacciones en los individuos infectados, lo que obliga a comprobar previamente a su administración que el individuo no ha tenido contacto anterior con el germen mediante la determinación de anticuerpos anti-brucella por una reacción intradérmica. Produce dolor local en el 50% de los vacunados, fiebre en el 5-24% y con menor frecuencia, eritema, induración y mialgias. En la actualidad, ninguna de estas tres vacunas se considera aceptable para uso humano.

### **BRUCELOSIS COMO ENFERMEDAD PROFESIONAL (DAÑOS DERIVADOS DEL TRABAJO)**

Desde la aparición de la Ley 31/1995 de Prevención de Riesgos Laborales, surge el término «Daños derivados del trabajo» definido en el punto 3, Art. 4 de dicha ley como «Las enfermedades, patologías o lesiones sufridas con motivo u ocasión del trabajo». Por otra parte, en su disposición adicional primera (Definiciones a Efectos de la Seguridad Social), establece que... «Tanto la definición de los conceptos de accidente de trabajo, enfermedad profesional, accidente no laboral y enfermedad común, como el régimen jurídico establecido para estas contingencias en la normativa de la Seguridad Social, continuarán siendo de aplicación en los términos y con los efectos previstos en dicho ámbito normativo».

En el art. 116 del Real Decreto Legislativo 1/1994 de 20 de Junio por el que se aprueba el texto refundido de la Ley General de la Seguridad Social (LGSS) (BOE de 29 de Junio), se establece el concepto de Enfermedad Profesional: «Se entenderá por enfermedad profesional la contraída a consecuencia del trabajo ejecutado por cuenta ajena en las actividades que se especifiquen en el cuadro que se apruebe por las disposiciones de aplicación y desarrollo de esta ley, y que está provocada por la acción de los elementos o sustancias que en dicho cuadro se indiquen para cada enfermedad profesional».

La Lista de Enfermedades Profesionales vigente en nuestro país, a efectos de riesgos biológicos, es la contenida en el Real Decreto 1995/1978 de 12 de Mayo (BOE de 25 de Agosto). En el anexo de dicha ley se citan los procesos, junto con las actividades en que se dan tales riesgos laborales. En su epígrafe D, se refiere a las Enfermedades Infecciosas y Parasitarias, con cuatro grupos. Las situaciones en las que puede adquirirse brucelosis como Enfermedad profesional, se recogen en los grupos 3 y 4:

«Enfermedades infecciosas y parasitarias transmitidas al hombre por los animales o sus productos y cadáveres»

- Trabajos susceptibles de poner en contacto directo con animales, vectores o reservorios de infección o sus cadáveres.
- Manipulación o empleo de despojos o animales.
- Carga o descarga de transportes y manipulación de productos de origen animal.
- Personal al servicio de laboratorios de investigación biológica o clínica (humana o veterinaria) y especialmente los que comporten utilización o cría de animales con fines científicos.
- Personal sanitario al servicio de hospitales, sanatorios y laboratorios.»

«Enfermedades infecciosas y parasitarias del personal que se ocupa de la prevención, asistencia y cuidado de enfermos».

- Trabajos del personal sanitario y auxiliar con estos enfermos, tanto en instituciones abiertas y cerradas y como en servicios a domicilio.
- Trabajos en laboratorios de investigación y análisis clínicos.
- Trabajos de toma, manipulación y empleo de sangre humana o sus derivados y aquellos otros que entrañen contacto directo con estos enfermos.

Son requisitos para que adquieran la categoría de profesional, la notificación mediante el correspondiente «Parte de Enfermedad Profesional» y que el afectado esté incluido en el Sistema de la Seguridad Social de España, en el Régimen General o en alguno de los Regímenes Especiales como trabajador por cuenta ajena. La aceptación del «carácter profesional» de una enfermedad infecciosa, corresponde a las «Comisiones Provinciales de Valoración» del INSALUD o de las Consejerías con competencias transferidas. (RD 2609/1982).

La «declaración» de Enfermedad Profesional Infecciosa o Parasitaria origina una preceptiva «investigación epidemiológica» por parte de la Inspección Provincial de Trabajo, con el auxilio de técnicos de los Centros y Gabinetes Provinciales de Seguridad e Higiene en el Trabajo. Dicha investigación tiene por fin «determinar el origen» exclusivamente profesional de la infección declarada. Para demostrar la relación laboral entre enfermedad declarada y el trabajo que realiza el afectado, debe efectuarse una encuesta o investigación que descubra la fuente de infección o reservorio, la vía de contagio y la ausencia de otras posibilidades de contagio en la vida común (familia, hobbies, vida sexual, prácticas de riesgo...). Hay que valorar la «condición de trabajo» como característica que pueda tener una influencia significativa en la generación de los riesgos para la seguridad del trabajador con especial referencia a la «naturaleza de los agentes biológicos presentes en el ambiente de trabajo» (Ley 31/95, art 4 punto b) Apartado 7º).

Por último, el Real Decreto 664/1997 de 12 de Mayo sobre la protección de los trabajadores contra los riesgos relacionados con la exposición a agentes biológicos durante el trabajo (BOE de 24 de Mayo de 1997), se procede a la transposición al Derecho español del contenido de las directivas europeas 90/679/CEE de 26 de Noviembre, 93/88/CEE de 12 de Octubre y 95/30/CE de 30 de Junio.

En él se establece una clasificación de los agentes biológicos en cuatro grupos en función del riesgo de infección. *Brucella* está incluido en el grupo 3: «aquel que puede causar una enfermedad grave en el hombre y presenta un serio peligro para los trabajadores, con riesgo de que se propague a la colectividad y existiendo generalmente profilaxis o tratamiento eficaz». Asimismo, se establecen las medidas de contención en los diferentes grupos de agentes biológicos.

La producción de una infección o parasitación de origen laboral supone un fracaso de la prevención de los riesgos profesionales, correspondiendo la responsabilidad al empresario, aunque muchas veces participa en su desencadenamiento, la accidentabilidad de los trabajadores y/o su negativa a reconocerse y protegerse<sup>52</sup>.

### **Situación en España**

En 1995 y 1996, se registraron en España, 183 y 189 casos de Brucelosis como enfermedad profesional (EP) respectivamente. Estas cifras suponen un 3,1% y 2,8% del total de EP declaradas en estos años y suponiendo que todas ellas hayan sido declaradas al Sistema de Enfermedades de Declaración Obligatoria (EDO), las brucelosis de origen profesional habrían supuesto el 6,76% del total de las brucelosis en 1995 y el 9,06% en 1996. Estas cifras resultan llamativamente bajas por lo que hay que suponer que existe una infradeclaración de la enfermedad como patología profesional.

Efectivamente, en un estudio publicado por el Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo (INHST) en 1991<sup>53</sup>, en el que se analizan los casos de brucelosis declarados a partir de tres fuentes diferentes: registro de (EDO), partes de Enfermedad Profesional y registro de Incapacidad Laboral Transitoria del INSALUD se llega entre otras a las siguientes conclusiones:

- El 70% de los Partes de Brucelosis como Enfermedad Profesional y el 63,5% de los de ILT, no está incluido dentro del Sistema EDO.
- El sistema EDO recoge el 75,4% del total de casos de brucelosis.
- El registro de Enfermedades Profesionales, recoge solamente entre el 9% y el 13% del total de Brucelosis de origen laboral que se producen en nuestro país.

- Los casos de brucelosis atribuibles realmente a exposiciones laborales, oscila entre un 29,0% y un 46,0%.

En otros estudios realizados en España, la exposición profesional, supone un porcentaje de casos que oscila entre el 26% y el 75%<sup>54-57</sup>.

En cuanto a las características epidemiológicas de las brucelosis profesionales, hasta un 65,7%, se producen en trabajadores del sector agrícola (39.2%) y ganadero (26.5%). Además la práctica de una actividad ganadera complementaria parece constituir un factor de riesgo en la adquisición de la enfermedad, en otros colectivos como los de mineros y trabajadores de la construcción, formando éstos el tercer grupo profesional de riesgo (5,1%). Globalmente, en cuanto a sectores de producción, la actividad económica agroganadera, aporta el 57,6% de los casos, muy por encima del resto de sectores de actividad.

La brucelosis es una enfermedad que origina procesos de incapacidad de larga duración con una media de 76,3 día de ILT y un 35,1% con duraciones superiores a los 75 días. Además, el porcentaje de pacientes que refiere secuelas de la enfermedad, oscila entre un 26% y 33%, según el sector de actividad.

Las curvas epidémicas de casos humanos, difieren sustancialmente en función del tipo de ganado, coincidiendo los períodos de exacerbación con la épocas de cubrición, gestación y parto, características de cada especie. El antecedente de aborto animal se presenta como un factor fundamental en el desarrollo de la enfermedad humana, oscilando entre el 71,5 y el 89,0%, pudiéndose considerar de naturaleza brucelósica en torno al 90% de los mismos.

Los aspectos deficitarios relativos a las instalaciones ganaderas, identificados con más frecuencia son: inadecuadas condiciones de limpieza (35%), compartir comederos y/o bebederos (87%), la proximidad de la vivienda a instalaciones ganaderas (28%), la presencia cercana de estercoleros (35%), la posible contaminación de las aguas de bebida (10%) y las deficientes condiciones higiénico-sanitarias de la vivienda (30%).

## BIBLIOGRAFÍA BÁSICA

- YOUNG EJ. *Brucella species*. En: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R eds. «Principles and Practice of Infectious Diseases». New York: Churchill Livingstone, 1994: 2053-2060.
- YOUNG EJ. «An overview of human Brucellosis». *Clin Infect Dis* 1995; 21(2): 283-290.
- CORBEL MJ. «Brucellosis: an overview». *Emerg Infect Dis* 1997; 3(2): 213-221.
- YOUNG EJ. «Brucellosis: current epidemiology, diagnosis and management». *Curr Clin Top Infect Dis* 1995; 15: 115-128.

- TAKKOUCHE B, GESTAL OTERO JJ. *La nueva cara de la brucelosis humana*. Santiago de Compostela: Servicio de publicaciones e Intercambio Científico, Universidad de Santiago de Compostela, 1996.
- Joint FAO/WHO Expert Committee on Brucellosis (sixth report). WHO Technical Report Series No. 740. Geneva: WHO. 1986.
- CALBO TORRECILLAS F, BAUTISTA NAVAJAS JM, OÑA COMPÁN S. «Enfermedades Infecciosas y parasitarias de origen profesional (daños derivados del trabajo)». En: *Accidentes Biológicos en profesionales Sanitarios*. Ministerio de Sanidad y Consumo. 1997.

## BIBLIOGRAFÍA

1. RODRÍGUEZ TORRES A, FERMOSE GARCÍA J. «Brucelosis». *Medicine* 1987; 76: 13-21.
2. YOUNG EJ. «Brucella species». En: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R eds. *Principles and Practice of Infectious Diseases*. New York: Churchill Livingstone, 1994: 2053-2060.
3. Instituto de Salud Carlos III. Ministerio de Sanidad y Consumo. Comentario epidemiológico de las Enfermedades de declaración Obligatoria (EDO) y Sistema de Información Microbiológica (SIM). España. Año 1996. Boletín Epidemiológico Semanal, 1997; 5(1): 1-8.
4. Instituto de Salud Carlos III. Ministerio de Sanidad y Consumo. Comentario epidemiológico de las Enfermedades de declaración Obligatoria (EDO) y Sistema de Información Microbiológica (SIM). España. Año 1997. Boletín Epidemiológico Semanal, 1998; 6(1): 1-7.
5. YOUNG EJ. «An overview of human Brucellosis». *Clin Infect Dis* 1995; 21(2): 283-290.
6. CORTINA GREUS P y GONZÁLEZ ARRAEZ JI. «Brucelosis». En: Piedrola Gil G et al, eds. *Medicina Preventiva y Salud Pública* 9ª ed. Barcelona: Masson, 1991; 762-772.
7. MIKOLICH DJ, BOYCE JM. «Especies de Brucella». En: Mandel; dougla, Bennett. *Enfermedades Infecciosas. Principios y Práctica*. 3ª Ed. Panamericana. Buenos Aires, 1991.
8. CORBEL MJ. «Brucellosis: an overview». *Emerg Infect Dis* 1997; 3(2): 213-221.
9. ROSS HM, FOSTER G, REID RJ, JABANS KL, MACMILLAN AP. «Brucella infection in sea mammals». *Vet Rec* 1994;132:359
10. EWALT DR, PAYEUR JB, MARTIN BM, CUMMINS DR, MILLER WG. «Characteristics of a Brucella species from a bottlenose dolphin (*Tursiops truncatus*)». *J Vet Diagn Invest* 1994;6:448-452.
11. RODRÍGUEZ ZAPATA M, SOLERA SANTOS J, SANCHEZ MARTÍNEZ L, ALVAREZ-MON M. «Brucelosis. Aspectos patogénicos. Clínica, diagnóstico y tratamiento. Formas específicas de la enfermedad». *Medicine* 1998; 79: 15-24.
12. CASTELL J, RULLÁN JV, PEIRÓ AF, NIETO-SANDOVAL A. *Estudio de un brote epidémico de 81 casos de brucelosis consecutivo al consumo de queso fresco sin pasteurizar*.
13. ARNOW P. «Brucellosis in a group of travellers to Spain». *JAMA* 1984; 251: 505-507.
14. VAZQUEZ J, GONZÁLEZ DE QUEVEDO M, PARDO J, IRANZO A, SUREDA MD, ANDRÉS MD. «Brucellosis en la provincia de Almería: estudio retrospectivo en el período 1988-1990». *Aten Primaria* 1994; 1: 31-34.
15. TALAMANTE S, CALDERÓN C, CORTÉS C, CALATAYUD A. «Estudio epidemiológico de la brucelosis en la provincia de Valencia (1943-1989)». *Rev San Hig Pub* 1991; 3: 259-267.
16. PALACIOS F, LAHOZ B. «Brucellosis en una zona de baja incidencia [carta]». *Atención Primaria* 1996; 17(5) 108-109.
17. SADLER WW. «Present evidence on the role of meat in the epidemiology of human brucellosis». *Am J Public Health* 1960; 50: 540-4.
18. SYRJAMAKI C, MIGLIAZZO A, YARBOROUGH JW, et al. «Brucella abortus endocarditis following ingestion of cow's blood». *Nebr Med J*. 1984; 69: 141-3.
19. CHAN J, BAXTER C, WENMAN WM. «Brucellosis in a Inuit child probably related to caribou meat consumption». *Scan J Infect Dis* 1989; 21: 337-8.

20. LUNA A, RODRÍGUEZ DE CEPEDA A, SUÁREZ T. «Análisis de un brote epidémico de brucelosis en trabajadores de un matadero». *Rev Esp Salud Pública* 1998; 72:137-146.
21. MARTÍN MAZUELOS E, NOGALES MC, FLÓREZ C, GÓMEZ MATEOS JM, LOZANO F, SANCHEZ A. «Outbreak of *Brucella mellitensis* among microbiology laboratory workers». *J Clin Microbiol* 1994; 32: 2.035-2.036.
22. FRANZ DR, JAHRLING PB, FRIEDLANDER AM, MCCLAIN DJ, HOOVER DL, RUSSEL W et al. «Clinical recognition and management of patients exposed to biological warfare agents». *JAMA*, 1997; 278(5): 399-411.
23. SINGER R, AMITAI Y, GEIST M, SHIMONOVITZ S, HERZOG N, REIS A, et al. «Neonatal brucellosis possible during delivery [letter]». *Lancet* 1991; 338: 127-128.
24. POOLE PM, WHITEHOUSE DB. «A case of abortion consequent upon infection with *Brucella abortus* biotype 2». *J Clin Pathol* 1972; 25: 882-884.
25. SCHREYER P, CASPI E, LEIBA Y. «*Brucella* septiemia in pregnancy». *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 1980; 10: 99-107.
26. AL EISSA YA. «Probable breast-milk borne brucellosis in a young infant». *Ann Trop Paediatr* 1990; 10(3): 305-307.
27. RUBEN B, BAND JD, WONG P, COLVILLE J. «Person to person transmission of *Brucella mellitensis*». *Lancet* 1991; 337: (8732) 14-15.
28. MANTUR BG, MANGALGI SS, MULIMANI B. «*Brucella melitensis* - a sexually transmissible agent». *Lancet* 1996; 347: 1763. (ref 4 de 3 Corbel)
29. YOUNG EJ. «Brucellosis: current epidemiology, diagnosis and management». *Curr Clin Top Infect Dis* 1995; 15: 115-128.
30. PEÑA GARCÍA P, GUTIERREZ ALTÉS A. «Brucellosis». *Enferm Infecc Microbiol Clin* 1993; 11(8): 403-409.
31. ECONOMIDOU J, KALAFATAS P, VALOPOULOUT et Al. «Brucellosis in two thalassemia patients infected by blood transfusions from the same donor». *Acta Haematol* 1976; 55: 244-249.
32. NAPARSTEK E, BLOCK CS, SLAVIN S. «Transmission of brucellosis by bone marrow transplantation». *Lancet* 1982; 1: 574-575.
33. TAKKOCHE B, GESTAL OTERO JJ. *La nueva cara de la brucelosis humana*. Santiago de Compostela: Servicio de publicaciones e Intercambio Científico, Universidad de Santiago de Compostela, 1996.
34. OLLE GJ, CANELA SJ. «An outbreak of *Brucella mellitensis* infection by airborne transmission among laboratory workers». *Am J Public Health* 1987;77:335-338.
35. MONTES J, RODRIGUEZ MA, MARTÍN T, MARTÍN F. «Laboratory acquired meningitis caused by *Brucella abortus* strain 19». *J Infect Dis* 1986;154: 915-916.
36. CENTRO NACIONAL DE EPIDEMIOLOGÍA. *Definiciones de casos y formularios de notificación al nivel central de las enfermedades de declaración obligatoria*. Madrid. Ministerio de Sanidad y Consumo, 1996.
37. CENTRO NACIONAL DE EPIDEMIOLOGÍA. *Protocolos de las enfermedades de declaración obligatoria*. Madrid. Ministerio de Sanidad y Consumo, 1996.
38. COLL JORDÁ D, ARTEAGOITIA AXPE, JM, MARTÍNEZ NAVARRO, F. «Evaluación de la vigilancia epidemiológica de la Brucelosis en la Comunidad Autónoma de País Vasco». *Rev San Hig Pub* 1997; 71:181-187.
39. L. ABRAIRA GARCÍA, A MUÑOZ ARE, E. AMADO FERNÁNDEZ Y JF MARTÍNEZ NAVARRO. «Evaluación de un sistema de vigilancia. Aplicación a la vigilancia epidemiológica de la brucelosis en Galicia durante el año 1996». *BES* .1997 vol 5, nº 28: 265-268.
40. Joint FAO/WHO Expert Committee on Brucellosis (sixth report). WHO Technical Report Series No. 740. Geneva: WHO. 1986.
41. MINISTERIO DE AGRICULTURA, PESCA Y ALIMENTACIÓN. Secretaría General de Producciones y Mercados Agrarios. *Situación de la sanidad animal en España*. Año 1995.

42. OHASIS Home. Biosafety Information. Safety Manuals. BMBL-Section VII-Bacterial Agents. 7c.html.
43. GESTAL G, CORTINA P, DELGADO M. «Vacunas de aplicación nos sistemática de uso poco frecuente». En: *Vacunaciones Preventivas. Principios y aplicaciones*. Barcelona: Masson, 1998: 491-506.
44. AIJAN N. *Las vacunaciones*. Lyon: Pasteur Mérieux 1991; 136-137.
45. STRADY A, LIENARD M, GILLANT JC, BARRAT F, PONCELET S, LAUDAT P et al. «Vaccination brucellique en milieu professionnel exposé. Etude prospective». *Presse Med* 1992; 30:1408-1412.
46. BERTRAND A. «Brucellose: Faites actuels». *Med Mal Infect* 1988; 18: 620-624.
47. ELBERG SS. *Guide pour le diagnostic, le traitement et la prophylaxie de la brucellose humaine*. OMS, VHP/81.31Rev 1.
48. SPINK W, HALL J, FINSTAD J, MALLET E. «Immunization with viable brucella organism». *Bull WHO* 1962; 26: 409-419.
49. VERSHILOVA PA, DRANOVSKAYA EA, MALIKOV VE. «Experimental study of brucella chemical vaccine». *Dev Biol Stand* 1984; 56:553.
50. ROUX J. «Les vaccinations dans les bruceloses humaines et animales». *Bull Inst Pasteur* 1972; 70: 145-202.
51. ROUX J. «La vaccination humaine contre les brucelloses». *Bull Acad Natl Med* 1986; 170(2): 289-292.
52. CALBO TORRECILLAS F, BAUTISTA NAVAJAS JM, OÑA COMPÁN S. «Enfermedades Infecciosas y parasitarias de origen profesional (daños derivados del trabajo)». En: *Accidentes Biológicos en profesionales Sanitarios*. Ministerio de Sanidad y Consumo. 1997.
53. INSTITUTO NACIONAL DE SEGURIDAD E HIGIENE EN EL TRABAJO. *Brucelosis: Estudio descriptivo sobre factores de riesgo laboral y condiciones de trabajo*. Ministerio de Trabajo y seguridad Social. Madrid, 1991.
54. PÉREZ RENDÓN J, ALMENARA J, RODRÍGUEZ A. «Características epidemiológicas de la brucelosis en el distrito de atención primaria de salud Sierra de Cádiz». *Atención Primaria* 1997; 19(6): 290-295.
55. LÓPEZ MV, ORTIZ H. «Estudio epidemiológico de la brucelosis en la provincia de Cuenca». *Rev San Higiene Pública* 1986; 60(9-10): 963-979.
56. ARRIBAS JL, et al. «Epidemiología de la brucelosis. Estudio retrospectivo de de 246 casos hospitalarios». *Rev Clin Esp* 1989; 185(2): 60-64.
57. GRASA MI, LEOZ A, GIL A, ANTÓN F, PINILLA J, LABARGA P et al. «Brucelosis: 50 casos. Estudio epidemiológico-clínico y valoración de métodos diagnósticos». *An Med Intern* 1992; 2: 59-63.

# ESTUDIO EPIDEMIOLÓGICO DE LA BRUCELOSIS EN ESPAÑA

FERRÁN MARTÍNEZ NAVARRO  
*Jefe Área Vigilancia en Salud Pública*  
LUISA P. SÁNCHEZ SERRANO  
*Área Vigilancia en Salud Pública*  
ALBERTO LARROSA MONTAÑÉS  
*Programa de Epidemiología de Campo*  
Centro Nacional de Epidemiología  
Instituto de Salud Carlos III  
Ministerio de Sanidad y Consumo

## ESTUDIO EPIDEMIOLÓGICO DE LA BRUCELOSIS EN ESPAÑA

Desde 1989 se observa un cambio en la tendencia de la brucelosis. Por primera vez, desde que esta enfermedad es de declaración obligatoria<sup>1</sup>, muestra una tendencia decreciente cuya prolongación nos hace pensar en una posible ruptura de su comportamiento cíclico multianual al no apreciar indicios del inicio de una nueva onda epidémica. Al contrario, la tendencia desde 1989 es la de un decrecimiento continuo (gráfico 1).

### De la evolución temporal

La evolución secular de la brucelosis se caracteriza por presentar ciclos multianuales cuyas tasas de incidencia oscilan entre tasas máximas, alrededor de 20, y mínimas, de 10 por 100.000 habitantes. La tendencia secular es estable entre 1944 y 1990 ( $b=0,014$ ), mientras que a partir de ese año (1991-98) se aprecia una inversión de su signo ( $b=-0,55$ ), mostrando una dinámica decreciente muy acusada.

<sup>1</sup> Es de declaración obligatoria desde 1943. En este estudio, sin embargo, no hemos utilizado los casos declarados ese año por la baja calidad de la información recogida comenzando, por tanto, en 1944.

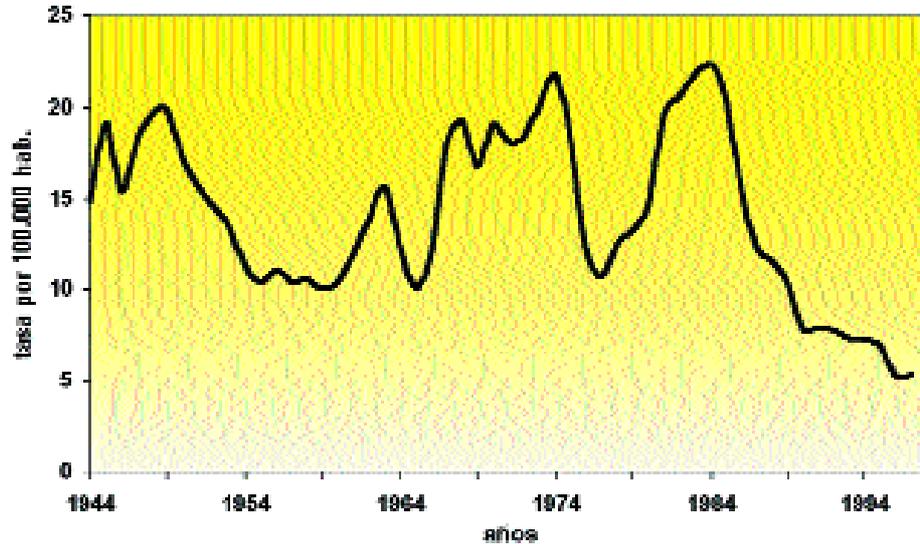


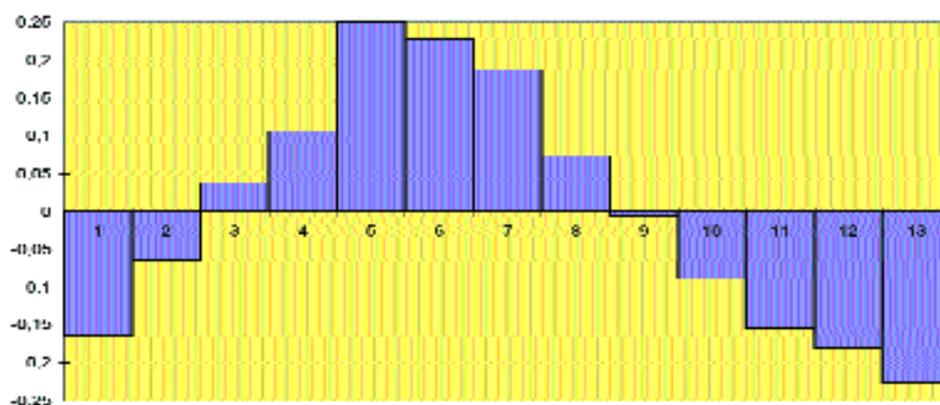
GRÁFICO 1: *Incidencia de la brucelosis en España, 1943-98.*

Pero, el rasgo más característico de la brucelosis lo constituye la existencia de ciclos epidémicos multianuales, considerando como ciclo el período de tiempo, en el que la incidencia de la enfermedad incluye los casos que ocurren entre dos valores mínimos, siempre y cuando describan una onda multianual. El conocimiento del comportamiento de estas ondas es necesario toda vez que contribuyen a una mejor comprensión de su epidemiología y de su proceso de difusión. En España se han producido 3 grandes ondas epidémicas:

- a) 1944-55, con una duración media ponderada de 6 años, simétrica, mesocúrtica y de difusión lenta;
- b) 1966-77, de características similares en cuanto a duración, forma y difusión, si bien ésta aparece más simétrica;
- c) 1978 a 1990 de características idénticas a las dos ondas anteriores;
- d) a partir de 1991 no se observa ninguna nueva onda.

En conjunto, estas ondas tienen la misma duración media, difusión lenta, simétricas y mesocúrticas (cuadro 2), con una amplia meseta en sierra. En suma son ondas muy similares, que no han modificado su dinámica a través del tiempo.

Parámetros de difusión <sup>2</sup>	España 1943-55	España 1966-77	España 1978-90
retardo medio ponderado	6,06	6,38	6,57
desviación típica	3,24	3,20	3,27
simetría	0,16	0,0002	0,14
curtosis	1,96	1,89	2,16
coeficiente de difusión	0,48	0,50	0,49
R <sup>2</sup>	0,99	0,98	0,99

CUADRO 1: *Dinámica de difusión de la brucelosis en España.*GRÁFICO 2: *España. Brucelosis, coeficiente cociente estacional, 1977-89.*

El tercer componente de la serie temporal corresponde al comportamiento estacional interanual (gráfico 2). La serie está dividida en 13 períodos cuatrisesimanales, correspondiendo los valores positivos a los comprendidos entre el 3 y el 8, y de ellos los de máxima incidencia son el 5, 6 y 7. Estos corresponden con el período de reproducción de los animales y, en consecuencia, con la mayor eliminación de brucelas, a través de la leche, placenta, orina, etc. No se aprecian dife-

<sup>2</sup> Cliff A; Haggett P: Methods for the Measurement of Epidemic Velocity from Time-Series Data, Int.J.Epidemiology,1982, 11,1:82 -89.

rencias cuando analizamos esta información de forma detallada para las Comunidades Autónomas.

Otras características epidemiológicas relacionan a la brucelosis con la transmisión alimentaria, cuya importancia está disminuyendo, pero sobretudo con un riesgo laboral relacionado con la actividad ganadera y la manipulación de los productos y subproductos ganaderos.

### **I. Del espacio-tiempo**

Un rasgo epidemiológico importante de la brucelosis, en España, ha sido su dinámica, caracterizada por la invasión de nuevos territorios, Castilla y León, y por las fuertes tendencias —crecientes y decrecientes— observadas en sus territorios endémicos. De hecho, podemos apreciar que, en los últimos 50 años, ha existido tendencia positiva en 4 Comunidades Autónomas; 6 la han presentado decreciente; y en 5 la incidencia ha sido estable. Sólo dos, Baleares y Canarias, no tiene casos o éstos son esporádicos.

Entre 1977-89 los incrementos más significativos de la tendencia corresponden a Castilla y León, Castilla la Mancha y Extremadura y los descensos más acusados a Aragón, Navarra y La Rioja. Y en el último período estudiado (1990-98) sólo Extremadura mantiene la tendencia creciente, probablemente debido al impacto de algunos brotes alimentarios<sup>3</sup>. En resumen, los mayores descensos de la tendencia se han producido, por tanto, en Aragón, Navarra y La Rioja. Mientras que un cambio en la tendencia se produjo en Castilla y León, Andalucía y Castilla la Mancha, que presentaron incrementos importantes, de tipo epidémico, entre los años 1960 y 80.

Así pues, el carácter general del descenso del último periodo indica que el descenso detectado, en estos últimos años, es un movimiento general, no limitado a algunas áreas geográficas (gráfico 3.1 a 3.4).

<sup>3</sup> Dos brotes importantes se produjeron con 80 casos (Badajoz, 1996) y 139 casos (Jaraiz de la Vera, Cáceres, 1997), ambos relacionados con el consumo de queso fresco.

Comunidades Autónomas	1944 - 98 tendencia (b)	1977 -89 tendencia (b)	1990 - 98 tendencia (b)
Andalucía	- 0,06	0,06	- 0,63
Aragón	- 1,49	- 1,60	- 1,91
Asturias	0,093	0,16	- 0,22
Cantabria	0,13	0,21	- 0,38
Castilla la Mancha	0,39	0,96	- 0,56
Castilla y León	0,78	1,68	- 4,00
Cataluña	- 0,18	- 0,20	- 0,13
País Valenciano	- 0,14	- 0,12	- 0,21
Extremadura	0,55	0,83	0,76
Galicia	0,05	0,07	- 0,44
Madrid	- 0,09	- 0,05	- 0,08
Murcia	- 0,10	- 0,03	- 0,25
Navarra	- 2,28	- 2,60	- 0,58
País Vasco	- 0,04	0,008	- 0,07
La Rioja	- 1,83	- 1,86	- 0,74

CUADRO 2: *Brucelosis. Tendencia en las diferentes Comunidades Autónomas*<sup>4</sup>.

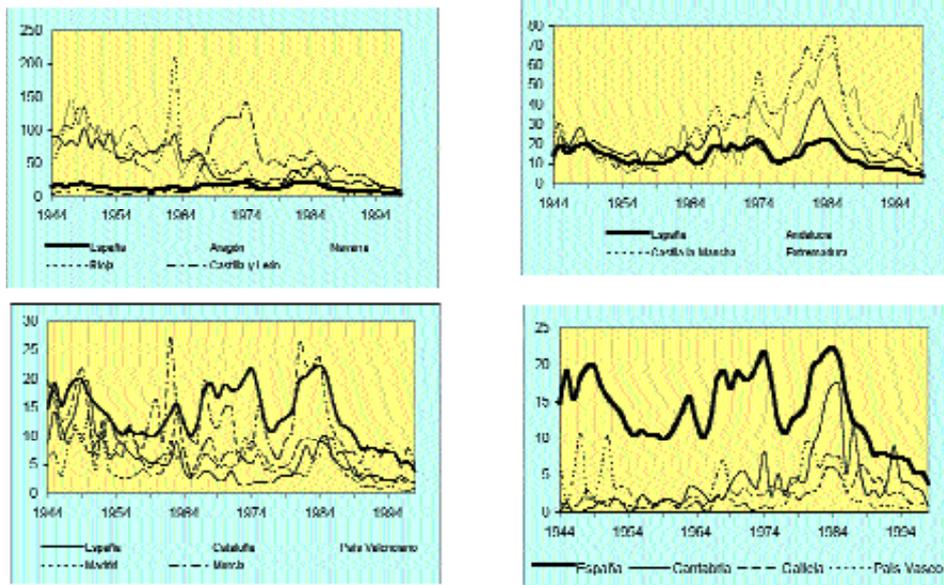
El análisis del riesgo atribuible poblacional<sup>5</sup>, es una aproximación mejor para valorar el significado de los cambios epidemiológicos temporoespaciales observados (gráficos 3.5 a 3.8). Mide la proporción de la incidencia que puede ser atribuida a factores de riesgo existentes, en este caso en cada Comunidad Autónoma, tomando como hipótesis que tiene el mismo riesgo que el total de España.

Como podemos observar (cuadro 3) existen diferencias para cada Comunidad Autónoma en los diferentes ciclos, así como para el mismo ciclo por Comunidades Autónomas. Así tenemos:

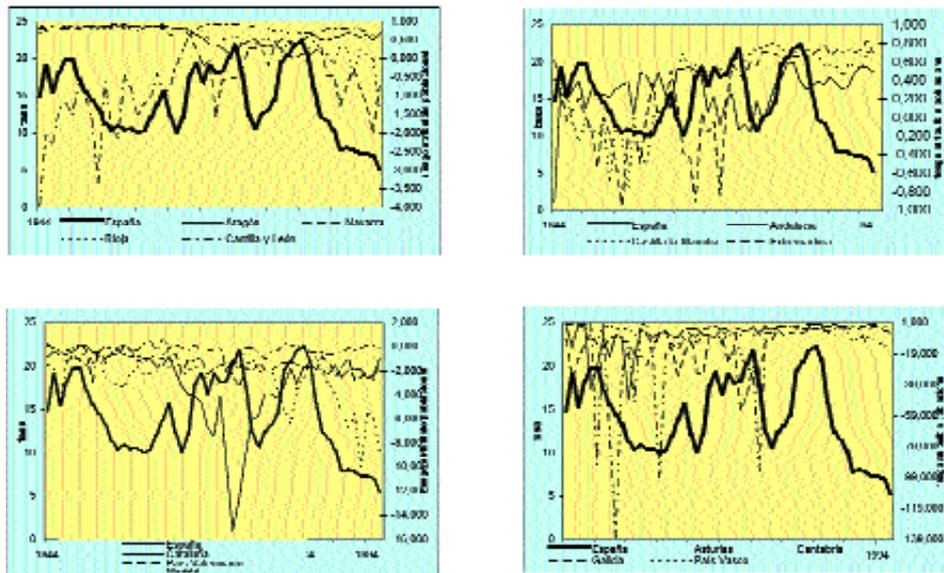
- I. Para la primera de las ondas (1944-55) la distribución de riesgos en Aragón, La Rioja y Navarra es muy alta, siendo su incidencia muy elevada destacando, claramente, del resto de las Comunidades Autónomas. Esta situación se mantiene durante todo el período con escasas variaciones.

<sup>4</sup> No se ha incluido Baleares y Canarias por la escasa incidencia de la enfermedad.

<sup>5</sup> Nieto García FJ, Peruga Urrea A: «Riesgo atribuible: sus formas, usos e interpretación». *Gaceta Sanitaria*, 1990, 18,4:112-117.



Gráficos 3.1 a 3.4



Gráficos 3.5 a 3.8

GRÁFICO 3: *Brucelosis en España. Incidencia y Riesgo atribuible poblacional por Comunidades Autónomas.*

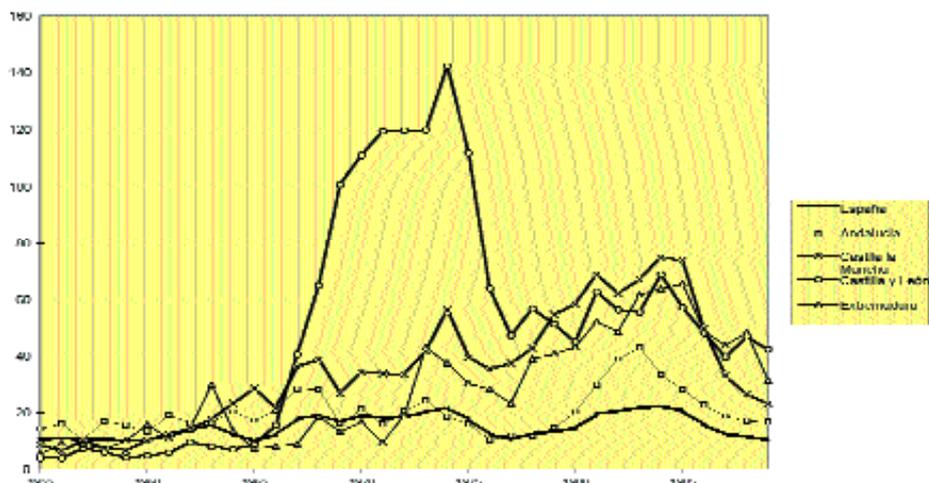
Comunidades Autónomas	onda 1944 -55	onda 1966 -77	onda 1978 -90
Andalucía	0,185	0,188	0,330
Aragón	0,810	0,550	0,475
Asturias	-92,82	-5,648	-1,581
Cantabria	-20,56	-3,275	-0,860
Castilla la Mancha	0,042	0,562	0,685
Castilla y León	-1,313	0,809	0,691
Cataluña	-0,260	-5,416	-1,927
País Valenciano	-0,537	-1,545	-1,381
Extremadura	0,082	0,222	0,666
Galicia	-10,551	-15,013	-2,904
Madrid	-1,318	-1,767	-2,325
Murcia	-0,191	-0,364	-0,175
Navarra	0,848	0,274	0,089
País Vasco	-2,499	-4,072	-2,207
La Rioja	0,822	0,628	0,378

CUADRO 3: *Brucelosis. Riesgo atribuible poblacional para cada onda epidémica.*

- II. El segundo ciclo (1966-77) presenta algunos cambios respecto al ciclo precedente, debido al incremento del riesgo observado para Castilla y León, producido por la epidemia que duró de 1962 a 1980, y tuvo un gran impacto en las regiones vecinas: Castilla la Mancha y Extremadura. Se mantiene la pérdida progresiva de importancia en Navarra, Aragón y La Rioja.
- III. Por último, el tercer ciclo (1978-90) incorporó a Andalucía. Se mantiene la importancia de las regiones que se incorporaron en el ciclo precedente.

Es importante destacar el comportamiento epidémico observado entre 1960 a 1990, tanto en zonas nuevas como en las endémicas donde se han observado importantes incrementos de su incidencia, con tasas muy elevadas, curvas bimodales y un patrón de difusión espacial probablemente secundario al foco castellano (gráfico 4). Esta epidemia ha sido uno de los acontecimientos epidemiológicos —junto a la tuberculosis, enfermedad meningocócica y SIDA— más importantes de la segunda mitad del siglo. Se inició, probablemente, a partir de la onda menor producida entre los años 1959-65, apreciándose en las dos Castillas y Extremadura, difundiéndose posteriormente a Andalucía.

Como podemos observar, la dinámica epidémica ha sido diferente en cada una de las Comunidades Autónomas estudiadas. Un claro comportamiento en Castilla

GRÁFICO 4: *Epidemia de Brucelosis. (1959-80).*

y León, una onda epidémica más tardía en Andalucía, o un crecimiento continuado, constituyendo una onda larga en Castilla la Mancha y, en menor medida, en Extremadura.

El estudio de los parámetros de la velocidad de difusión de las ondas, sólo en aquellas Comunidades Autónomas con endemia elevada, corrobora el comportamiento señalado. Para ello hemos determinado, en primer lugar, las ondas epidémicas que hay en cada una de las Comunidades y, posteriormente, los parámetros de la velocidad de la onda. De acuerdo con ello, el período de tiempo entre 1960 y 1980 se ha caracterizado por una mayor similitud entre las Comunidades Autónomas, consecuencia del impacto epidémico, siendo su retardo medio ponderado, asimetría y coeficientes de difusión similares.

Parámetros de difusión	1944-57	1958-75	1976-91
retardo medio ponderado	7,0	9,8	8,5
desviación estándar	3,7	5,0	3,7
simetría	0,2	-0,11	0,06
curtosis	2,0	1,9	2,4
coeficiente de difusión	0,40	0,30	0,44

CUADRO 4: *Brucelosis parámetros de difusión de las ondas en Andalucía.*

Parámetros de difusión	1944-56	1957-73	1974-90
re taro medio ponderado	6,0	7,5	9,3
desviación estándar	3,6	4,3	4,5
simetría	0,08	0,4	-0,3
curtosis	1,9	2,3	2,1
coeficiente de difusión	0,40	0,35	0,34

CUADRO 5: *Brucelosis parámetros de difusión de las ondas en Aragón*

Parámetros de difusión	1944-64	1962-80	1981-90
re taro medio ponderado	11,0	8,0	6,6
desviación estándar	6,1	3,1	3,6
simetría	0,1	-0,1	0,1
curtosis	1,7	1,5	1,9
coeficiente de difusión	0,23	0,56	0,41

CUADRO 6: *Brucelosis parámetros de difusión de las ondas en Castilla y León.*

Parámetros de difusión	1944-59	1960-90
re taro medio ponderado	6,6	18,2
desviación estándar	4,4	7,5
simetría	0,54	-0,41
curtosis	2,2	2,2
coeficiente de difusión	0,32	0,20

CUADRO 7: *Brucelosis parámetros de difusión de las ondas en Castilla la Mancha.*

Parámetros de difusión	1944-55	1956-65	1966-77	1978-89
re taro medio ponderado	5,0	6,0	7,7	6,5
desviación estándar	3,2	2,6	3	3,2
simetría	0,43	-0,5	-0,6	-0,05
curtosis	2,1	2,1	2,3	2,0
coeficiente de difusión	0,43	0,59	0,59	0,47

CUADRO 8: *Brucelosis parámetros de difusión de las ondas en Extremadura*

Parámetros de difusión	1944-57	1958-67	1968-91	1980-90
retardo medio ponderado	5,9	4,8	5,9	4,8
desviación estándar	3,0	2,7	4,6	2,7
simetría	0,1	0,2	0,6	0,3
curtosis	1,9	1,8	1,9	2,1
coeficiente de difusión	0,49	0,51	0,27	0,55

CUADRO 9: *Brucelosis parámetros de difusión de las ondas en Navarra.*

Parámetros de difusión	1944-57	1958-67	1968-91
retardo medio ponderado	6,2	7,7	8,5
desviación estándar	3,0	3,8	
simetría	0,2	-0,04	
curtosis	2,2	2,3	
coeficiente de difusión	0,52	0,42	0,27

CUADRO 10: *Brucelosis parámetros de difusión de las ondas en La Rioja.*

Así, se ha conformado un espacio endémico que corresponde a Andalucía, Aragón, Castilla la Mancha, Castilla y León, Extremadura y La Rioja. De ellos, sólo Castilla y León puede considerarse como una zona endémica nueva ya que antes de la epidemia de 1962 a 1993<sup>6</sup> la brucelosis tenía una incidencia muy baja excepto en Soria, que localizada en el Macizo Ibérico es limítrofe con Aragón y La Rioja y constituía, junto con Málaga y Granada, los focos endémicos tradicionales. Como puede apreciarse los cambios más importantes se han producido, en sentido decreciente en Navarra y La Rioja y en sentido creciente, en Castilla y León, Castilla la Mancha, Extremadura y Andalucía.

## II. Las razones del cambio

Dos son, por tanto, los hechos más sobresalientes de la brucelosis en España. El primero, la ampliación de la zona endémica, en concreto la incorporación de

<sup>6</sup> Las causas de este importante brote y su posterior difusión a las zonas endémicas clásicas fue relacionado con la sustitución de ganado ovino productor de lana por otras especies de producción polivalente como carne, leche y, naturalmente, lana. (Martínez Navarro JF, Fuentes Piaget L, Catalá Villanueva FJ, Rabadán Asensio A, Nájera Morrondo E: Estudio epidemiológico de la brucelosis en España. Rev. San. Hig. Públ, 1978, 52:1-54,

Castilla y León donde la epidemia finalizó con el mantenimiento de una endemia elevada. El segundo, el descenso general de la incidencia que se ha producido desde 1990. Nos vamos a referir, fundamentalmente, a las razones del cambio observado en la tendencia ya que el primer aspecto ya ha sido tratado.

Una posibilidad sería la existencia de un descenso espúreo relacionado con la disminución en la declaración de casos. Durante los últimos 15 años se han producido importantes modificaciones en la estructura política y espacial del Estado, incluyendo en ello la vigilancia epidemiológica<sup>7</sup>. Parece lógico, por ello, descartar, en primer lugar, su impacto en la declaración de casos. Los estudios de evaluación de la vigilancia epidemiológica realizados, entre 1994-98, por el Programa de Epidemiología Aplicada de Campo<sup>8</sup>, han estimado baja la sensibilidad, alto en Valor Predictivo Positivo y tardía la declaración (cuadro 11) lo que indica la existencia de un grado importante de subdeclaración, así como lentitud

Indicadores	Aragón (1996) <sup>9</sup>	Cantabria <sup>10</sup> (1996)	Galicia (1997) <sup>11</sup>	País Vasco <sup>12</sup> (1994)
sensibilidad (%)	65,7	41,2	52	60
valor predictivo positivo	88	84	93	100
tasa incidencia declarada	5,98	4,06	1,04	1,13
tasa incidencia estimada	9,92	8,86	1,93	1,9
tiempo en declarar (en días)	32	29	no determinado	28

CUADRO 11: *Indicadores Cuantitativos de la calidad de la Vigilancia de la Brucelosis.*

<sup>7</sup> La declaración de casos ha presentado durante los últimos 20 años dos importantes modificaciones. La primera, a principios de los años 80, se inició con la reorganización del Estado, con la creación del Estado de las Autonomías, e implicó una profunda descentralización de la vigilancia epidemiológica, cuya mejora, gestión e intervención pasó a ser responsabilidad de las Comunidades Autónomas fue una reforma menor al limitarse a una ampliación de la lista de enfermedades a declarar, y a normalizar la declaración de los brotes.

<sup>8</sup> Programa de Epidemiología Aplicada de Campo es un programa de entrenamiento en epidemiología mediante el servicio. Consta de 2 años de formación teórico-práctica.

<sup>9</sup> Sánchez Serrano LP, Ladrero O, Martínez Navarro JF: Brucelosis en Zaragoza. Evaluación del sistema de vigilancia epidemiológica de las EDO. Bol. Epidem. Sem, 1998,6,6:57-64.

<sup>10</sup> Vitoria Raymuno L, Martínez Navarro JF: Evaluación de la vigilancia epidemiológica (EDO) de la brucelosis en Cantabria. Documento no publicado. Memoria PEAC.

<sup>11</sup> Abraira GL, Martínez Navarro JF: Evaluación de un sistema de vigilancia epidemiológica: la brucelosis en Galicia. Documento no publicado. Memoria PEAC.

<sup>12</sup> Coll Jordà D, Arteagoitia Axpe JM, Martínez Navarro JF: Evaluación de la Vigilancia Epidemiológica de la brucelosis a través del sistema de Enfermedades de declaración obligatoria en la Comunidad Autónoma Vasca en 1994. Bol. Epidem. Sem, 1996,3,24:242-244

en la respuesta debido a que la notificación se hace cuando se tiene la seguridad del diagnóstico y no cuando existe la sospecha del caso. En nuestra opinión, los indicadores de calidad influyen en la tasa de incidencia, que sería más elevada si se mejorase la captación de casos. No creemos que afecten a las tendencias analizadas, ya que por el análisis de otras enfermedades los cambios en el sistema de vigilancia no están modificando las tendencias de las enfermedades, debido a la flexibilidad de nuestro sistema de vigilancia. Así pues, existe una subdeclaración pero la tendencia descendente no está relacionada con el sistema de vigilancia.

Por ello, nuestra hipótesis acerca del cambio observado en la tendencia de la brucelosis, estaría más bien relacionado con la modificación de la política referente al ganado ovino y caprino seguida, a principios de los noventa, por la Unión Europea<sup>13</sup> y aplicada en España. Esta Decisión implicó un cambio en las políticas de saneamiento por brucelosis que tradicionalmente estaban dirigidas al ganado bovino y no al caprino ni al ovino, responsables de la epizootia y epidemiología en España. La razón estaba en el escaso interés económico de unas especies ganaderas cuyas cabañas son absorbidas por el mercado nacional. La citada Decisión ha dirigido, de manera prioritaria, los programas de saneamiento animal al ganado caprino y ovino.

Las principales características del actual Plan Nacional de Erradicación de la Brucelosis Ovina y Caprina<sup>14</sup> en su desarrollo para el período 1990-96 y continuado en los años siguientes, están contenidas las Decisiones, del Consejo Europeo, 90/242, 90/424 y 90/638 y su objetivo es alcanzar la cofinanciación comunitaria, para la erradicación de la brucelosis, en el año 1998. En España el Real Decreto 2611/96 regula los Programas nacionales de Erradicación de Enfermedades y crea el Comité Nacional de Cooperación y Seguimiento de los Programas Nacionales, cuya misión es evaluar la situación epizootológica de las enfermedades controladas mediante Programas.

En el caso de la brucelosis el criterio aplicado está formulado en términos epizootológicos, ya que implica una diferente intervención en función al grado de enzootia. Las medidas adoptadas son, por tanto, las siguientes:

<sup>13</sup> Decisión del Consejo 90/242/CEE: Decisión del Consejo, de 21 de mayo de 1990, por la que se establece una acción financiera comunitaria para la erradicación de la brucelosis en los ovinos y caprinos.

<sup>14</sup> Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación: Programa Nacional de Erradicación de la Brucelosis Ovina y Caprina, año 1998. Documento no publicado.

1. Áreas con prevalencia anual inferior al 2%: cribado serológico y sacrificio de los positivos. La población diana son animales de más de 6 meses. En esta zona no se vacuna.
2. Áreas de prevalencia anual superior al 2%:
  3. vacunación a los animales comprendidos entre 3 y 6 meses. La vacuna se aplicará a dos generaciones.
  4. Cribado y sacrificio sólo en animales mayores de 18 meses.
  5. Áreas con alta incidencia de la enfermedad: la vacunación se realizará como medida especial de urgencia y los animales de esa zona serán marcados para ser diferenciados del resto.
6. Otras medidas aplicadas hacen referencia a la necesidad de la identificación de los rebaños y los animales así como la prohibición de movimiento de ganados sin calificar, explotaciones vacunadas de emergencia, etc.

La situación de partida era mala, no sólo por la situación epidemiológica (cuadro 12) sino, también, por la epizootológica (cuadro 13). En efecto, de acuerdo con los datos de saneamiento disponibles<sup>15</sup> las tasas de establos infectados, entre 1991-93, eran muy altas en el período inmediatamente posterior a la Decisión

zonas de endemia	Tasa incidencia	RR (IC)	p
alta	16,89	7,10 (6,49; 7,76)	0,0000000
baja	2,39		

CUADRO 12: *Brucelosis: tasa de incidencia según nivel de endemia (1991-93).*

	Infectados	no infectados
zona alta endemia	44329	107345
zona baja endemia	15733	137431

RR = 2,85 (2,80; 2,89) p = 0.0000000

CUADRO 13: *Tasa de establos infectados según el nivel de endemia.*

<sup>15</sup> Dirección General de la Producción Agraria. Subdirección de Sanidad Animal, años 1991, 1992, 1993.

90/242. La importancia de esta situación radica en el papel que los establos tienen en el mantenimiento de focos enzoóticos y, por tanto, en el mantenimiento de la situación. Sin embargo, debido a la diferente intensidad en la aplicación de las campañas de saneamiento en las diferentes Comunidades Autónomas no apreciamos diferencias en las tasas de animales infectados entre las zonas endémicas y no (2,79 vs 2,43, respectivamente).

El desarrollo del Programa se ha incrementado de manera progresiva, pero las tasas de animales infectados (cuadro 14) y establos infectados (cuadro 15) experimenta pocas variaciones. La tasa de infección en los establos y en los animales se sitúa alrededor de 2 por 100, y las fluctuaciones anuales pueden ser debidas a las variaciones regionales observadas en la aplicación del Programa, es decir, que éste se aplique anualmente en zonas diferentes y los agregados nacionales estén indicando los diferentes riesgos existentes en las zonas donde se aplica y, por tanto, no ser extrapolables al total de España. O, bien, porque el intervalo entre la aplicación de las medidas y la disminución de la incidencia necesite de mayor

actividades	1990	1991	1992	1993	1994	1995	1996
censo ganadero	27.700.000	27.597.000	27.452.000	26.819.000	27.297.000	26.216.000	24.928.158
de ellos >12m	22.504.000	23.270.000	22.277.000	20.955.730	20.260.000	18.979.000	20.000.000
animales investigados	2.145.364	5.414.970	7.444.102	7.514.389	7.936.428	10.936.428	13.539.684
% investigados	7,74	19,62	27,12	28,02	29,07	41,72	54,31
positivos	50.488	91.871	185.564	217.071	251.975	306.186	339.088
tasa de infectados	2,35	1,69	2,49	2,9	3,71	2,84	2,5

CUADRO 14: *Plan Nacional de Erradicación de la Brucelosis ovina y caprina. España.*

años	explotaciones investigadas	explotaciones infectadas	% infectadas
1991	56.419	15.967	28,30
1992	92.337	20.172	21,85
1993	85.765	20.802	24,25
1994	97.394	22.871	23,48
1995	107.828	26.084	24,19
1996	131.138	30.057	22,92

CUADRO 15: *Plan Nacional de Erradicación de la Brucelosis: Control Establos.*

tiempo, pero en este caso no se correspondería con la disminución de los casos humanos, donde sí se aprecia una fuerte caída de la incidencia.

En cualquier caso, es evidente que debemos de realizar una evaluación con mayor, y más detallada información de la disponible, así como mediante estudios observacionales diseñados adhoc para la evaluación. Igualmente, otros factores deben de ser tenidos en cuenta, tales como la progresiva modernización de la producción ganadera, de sus productos así como la del mercado, que supone la reducción de productos lácteos de elaboración artesanal no higienizada, las nuevas exigencias de los consumidores, factor éste que sí puede haber tenido un gran impacto en la reducción de la infección<sup>16</sup>.

<sup>16</sup> Sánchez Serrano LP, Mangas Gallardo I, Martínez Navarro JF, Cano Portero R y Hernández Pezzi G: Epidemiological Surveillance of Brucellosis: foodborne epidemic outbreaks. 4<sup>th</sup> World Congress Food-borne Infections and Intoxications. 7 -12 June 1998. Proceedings, vol.1:245 -249

# BRUCELOSIS HUMANA EN CASTILLA Y LEÓN: ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS

CARMELO RUIZ COSÍN  
M<sup>a</sup> JESÚS RODRÍGUEZ RECIO  
MILAGROS GIL CUESTA  
Servicio de Epidemiología.  
Consejería de Sanidad y Bienestar Social.  
Junta de Castilla y León.  
Valladolid.

## INTRODUCCIÓN

Este capítulo presenta una exposición esencialmente descriptiva de la evolución de la brucelosis en Castilla y León. No pretende ofrecer ninguna explicación de causalidad, ya que para ello sería necesario un estudio multidisciplinario que valorase la magnitud del impacto de las condiciones sociales, demográficas, económicas y sanitarias, fundamentalmente de la evolución de la cabaña ganadera así como de la amplitud e intensidad de las campañas de saneamiento ganadero, en la evolución de la enfermedad.

La Brucelosis es una zoonosis incluida entre las Enfermedades de Declaración Obligatoria desde 1943. En Castilla y León, la Orden de la Consejería de Sanidad y Bienestar Social de 1 de agosto de 1985 (BOCyL de 22 de agosto de 1985) determinó el carácter de declaración nominal, aportando la posibilidad de conocer las características epidemiológicas personales para esta enfermedad.

A lo largo de la exposición que sigue, se ha utilizado como fuente de información de casos y tasas nacionales el Sistema de Enfermedades de Declaración Obligatoria nacional para el periodo 1945-1998 (archivos del Centro Nacional de Epidemiología). Los casos y tasas regionales hasta el año 1983 proceden de la misma fuente y a partir de ese año, del Sistema de Enfermedades de Declaración Obligatoria regional. Para el cálculo de tasas se han utilizado las proyecciones de población publicadas por el Instituto Nacional de Estadística.

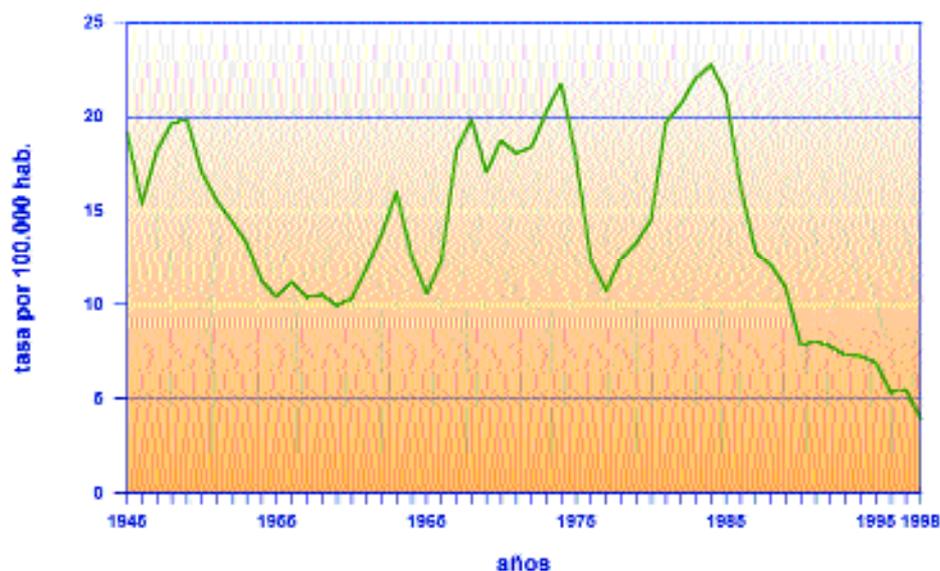
### EVOLUCIÓN TEMPORAL HISTÓRICA:

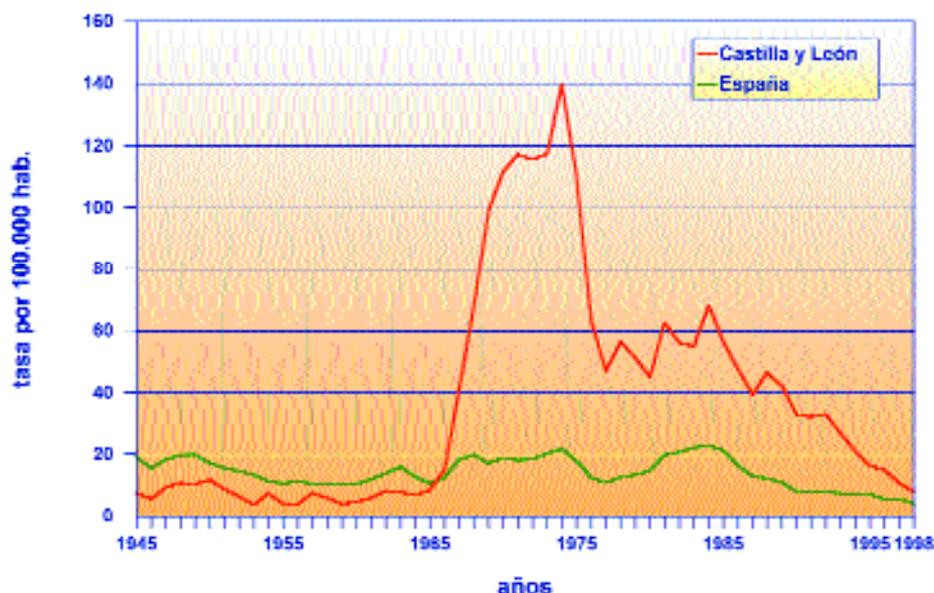
La evolución de la **brucelosis en España** se caracteriza por presentar ciclos epidémicos multianuales cuyas tasas de incidencia oscilan entre un máximo de 20 y un mínimo de 10 por 100.000 habitantes. Se han producido tres grandes ondas epidémicas: la primera entre 1944 y 1955, la segunda entre 1966 y 1977 y la tercera y última, entre 1978 y 1990. A partir de 1991 no se observa ninguna nueva onda. La tendencia secular es estable en el periodo 1945-1990, mientras que a partir de ese año muestra una dinámica decreciente muy acusada. **Gráfico 1.**

La contribución de cada Comunidad Autónoma a los diferentes ciclos nacionales es variable. Si se observa la evolución que ha seguido la **brucelosis en Castilla y León** conjuntamente con la de España, el año 1966 marca dos periodos claramente diferenciados: entre 1945 y 1965 la tasa comunitaria se mantuvo por debajo de la nacional, experimentando en 1966 un brusco ascenso y superando claramente a ésta, manteniéndose por encima hasta la actualidad. **Gráfico 2.**

Para una mejor comprensión, se divide la evolución histórica en cuatro periodos: **1945-1965; 1966-1977; 1978-1990 y 1991-1998.**

**Gráfico 1: Incidencia de la brucelosis en España, 1945-1998.**



**Gráfico 2: Incidencia de la brucelosis en Castilla y León, 1945-1998.**

1. Entre 1945-1965, la incidencia regional de brucelosis puede catalogarse de baja o muy baja ya que sus tasas están por debajo del 75% y 50% de los valores nacionales. Por tanto, durante este periodo, el riesgo de brucelosis en Castilla y León es inferior al nacional. **Gráfico 3.**
2. El segundo y tercer periodo representan al menos dos ciclos epidémicos multianuales. El brusco ascenso iniciado en 1966 alcanza su máximo en 1974 (tasa de 140 casos por 100.000 habitantes). La causa de esta situación, que llegó a ser calificada de hiperepidémica fue atribuida «al cambio de un ganado lanero y de carne a un ganado de leche y carne, a consecuencia de la crisis económica lanera, debido a la liberación de la importación de la lana del año 1962, así como a la profunda crisis que afecta a la ganadería de nuestro país»<sup>(1)</sup>.

La segunda onda epidémica tiene su máximo en 1984 siendo de inferior magnitud (tasa de 68 casos por 100.000 habitantes) **Gráficos 4 y 5.**

3. Durante el cuarto periodo, en 1992 se inicia la tendencia claramente decreciente que ha marcado la evolución de los últimos años, seguramente deter-

Gráfico 3: Incidencia de la brucelosis en Castilla y León, 1945-1965.

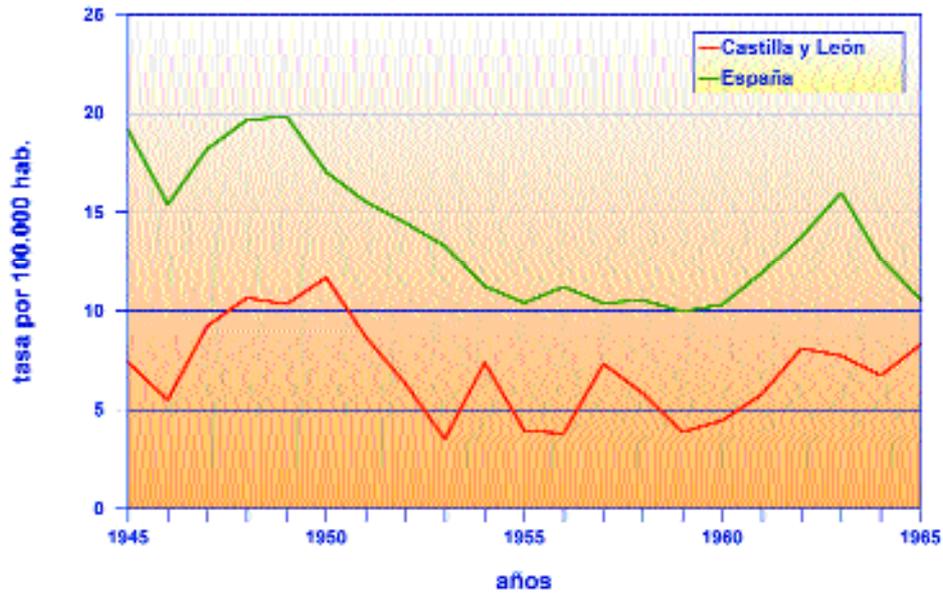
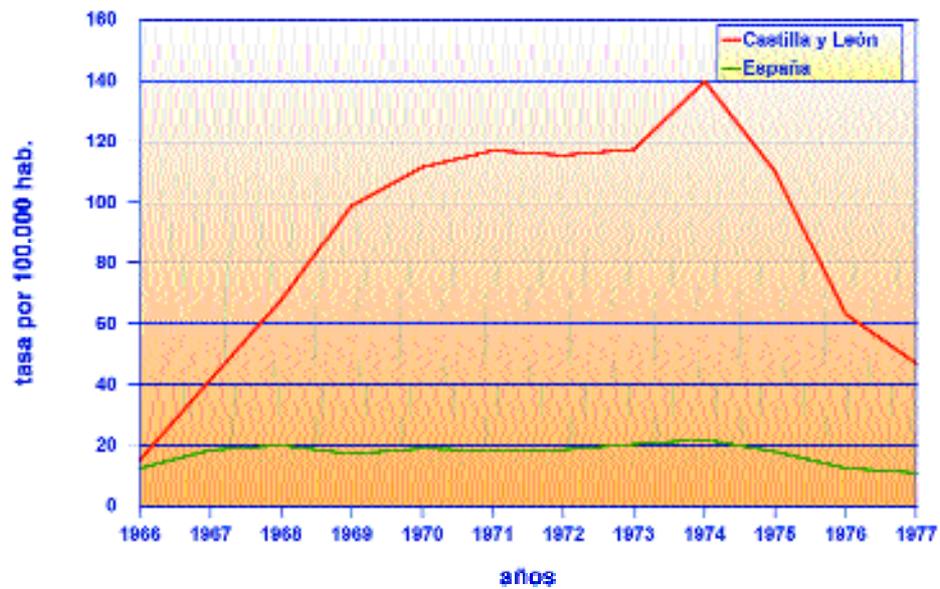
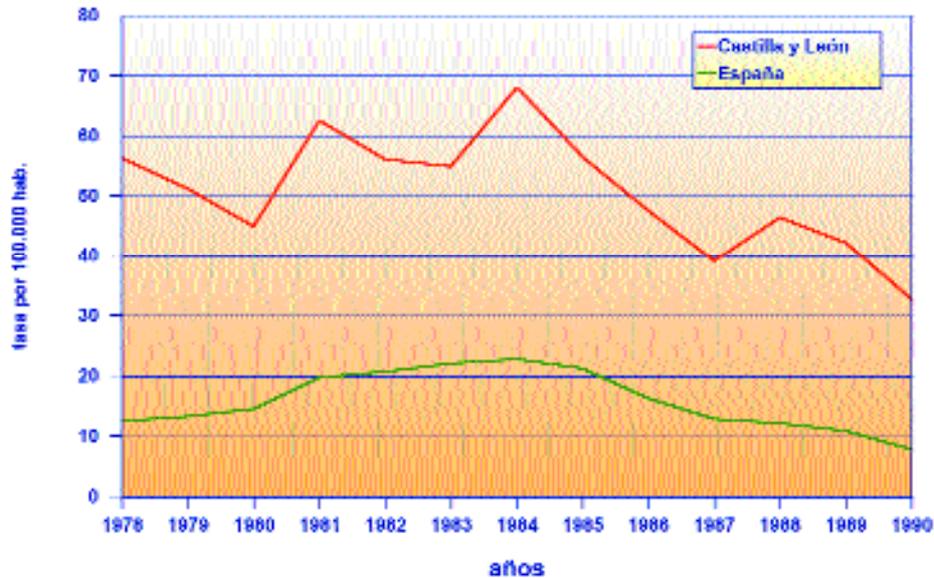


Gráfico 4: Incidencia de la brucelosis en Castilla y León, 1966-1977.

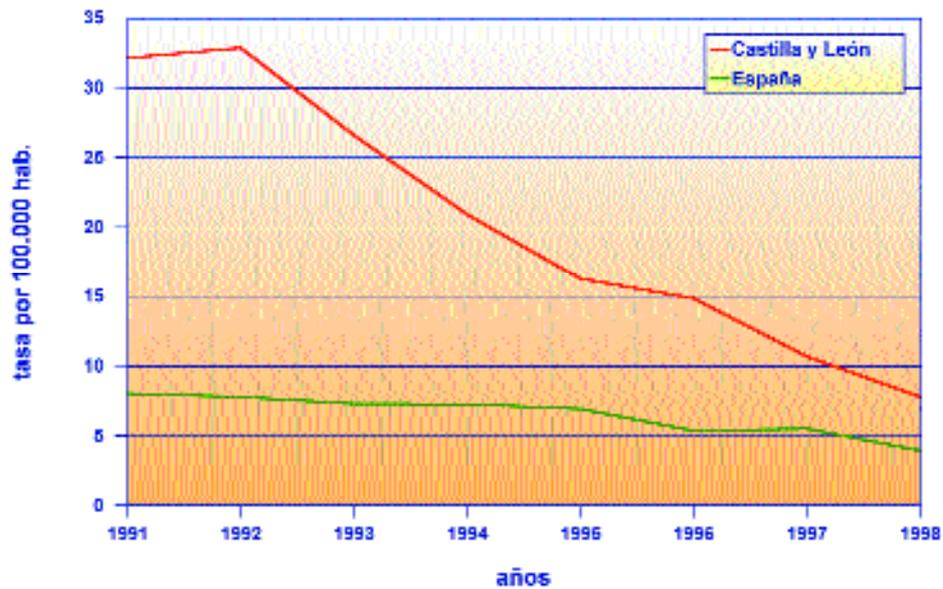
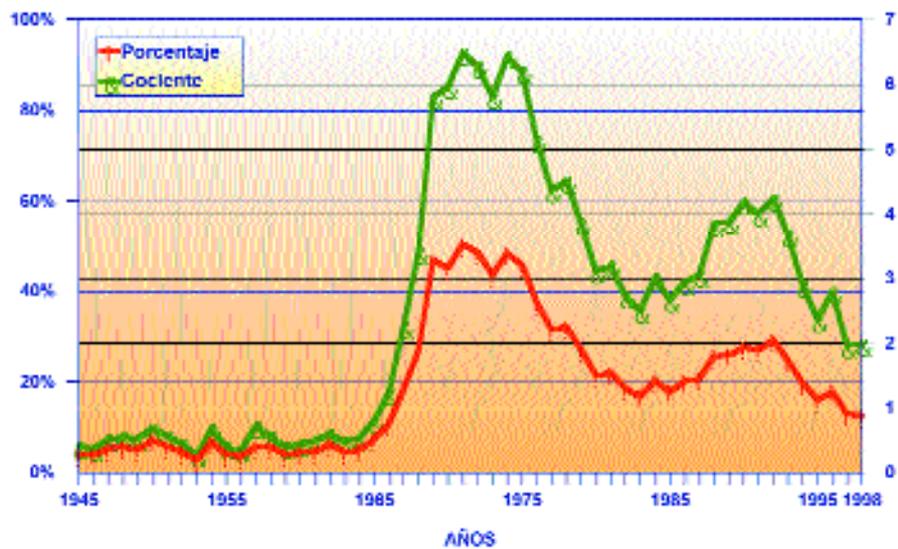


**Gráfico 5: Incidencia de la brucelosis en Castilla y León, 1978-1990.**

minado por la extensión e intensificación de las estrategias de control en el reservorio animal<sup>(2,3)</sup>. No se aprecian indicios de inicio de una nueva onda epidémica. Sin embargo, la situación comparativa respecto a la situación nacional permite calificarla como incidencia muy alta ya que los valores de incidencia presentan una desviación superior a más del 50% del valor nacional. **Gráfico 6.**

Las intervenciones que se han realizado en los últimos años en los efectivos ganaderos, de acuerdo con lo señalado en las normas que las regulan, pretenden la erradicación de la enfermedad para garantizar la libre circulación de los animales y sus productos entre los países miembros de la Unión Europea, tal como lo obligan las disposiciones europeas en la materia.

El **gráfico 7** nos muestra el riesgo de brucelosis en Castilla y León valorado como el cociente de la tasa autonómica entre la tasa nacional. Se puede destacar que en el momento de máxima incidencia, año 1974, la tasa autonómica multiplicó por 6,4 la tasa nacional y en la actualidad, se mantiene en el doble. También está representado el porcentaje de casos de brucelosis de Castilla y León sobre el total nacional. Durante el periodo de máxima incidencia los casos de Castilla y

**Gráfico 6: Incidencia de la brucelosis en Castilla y León, 1991-1998.****Gráfico 7: Porcentaje de casos de brucelosis en Castilla y León sobre el total nacional y cociente tasa autonómica/tasa nacional, 1945-1998**

León llegaron a representar hasta un 50% de todos los declarados en España. En los últimos años este porcentaje ha descendido hasta el 13%.

### EVOLUCIÓN TEMPORO-ESPACIAL 1960-1998:

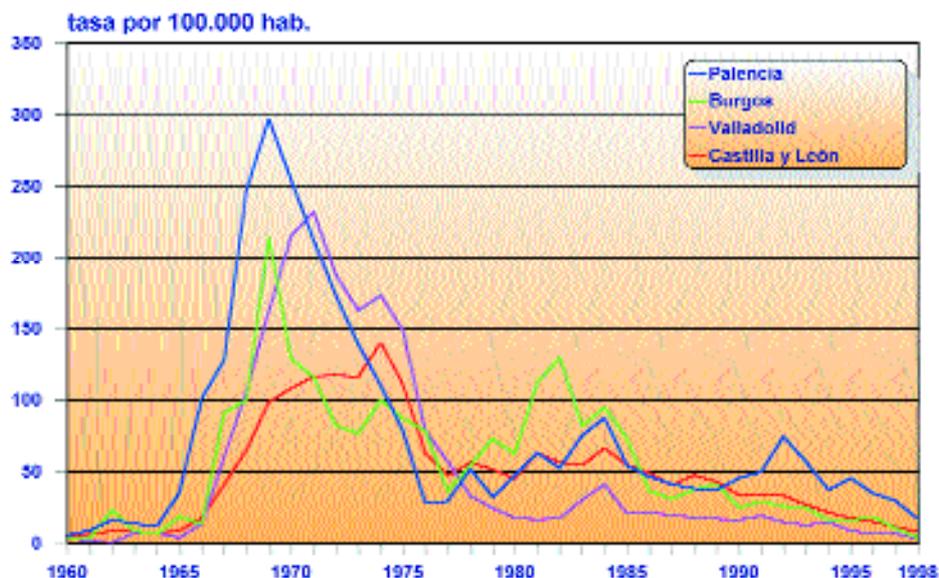
Los **gráficos 8 a 10** muestran la evolución de la tasa de incidencia en cada una de las nueve provincias, comparándola con la que se registra como media regional.

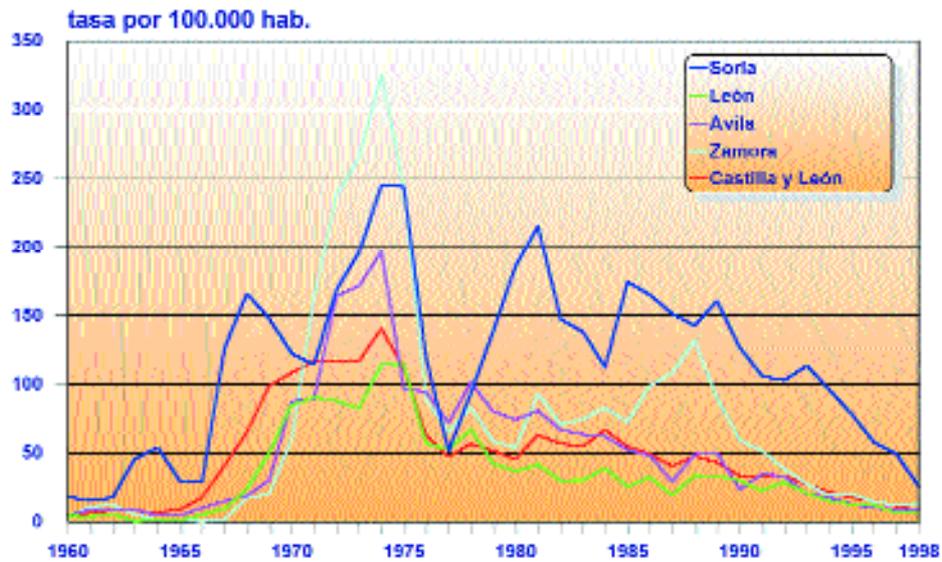
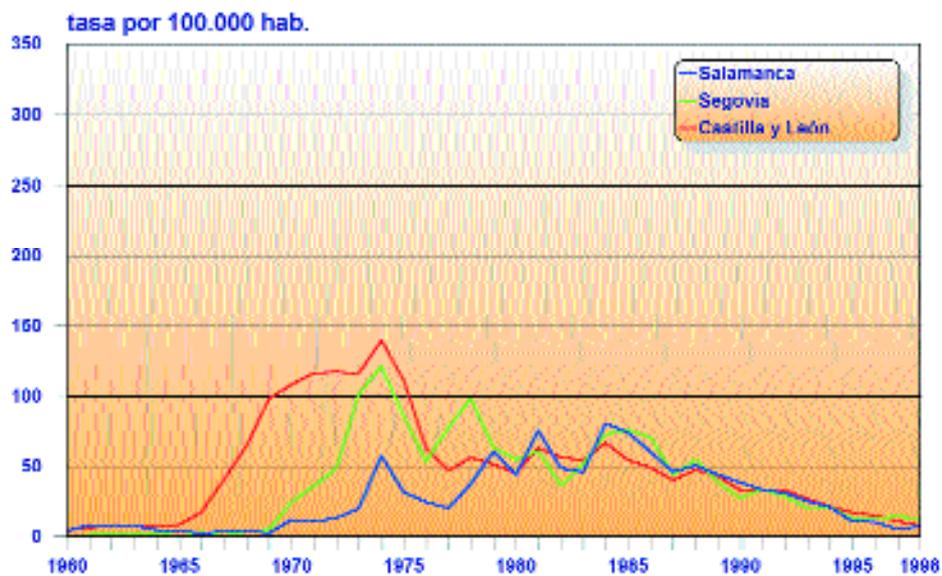
Hasta 1965 la situación en todas las provincias muestra una incidencia inferior a la nacional, excepto en la provincia de Soria donde la tasa de incidencia superaba la regional y nacional.

Las ondas epidémicas producidas en Castilla y León se difunden de manera diferente por las distintas provincias. Se pueden agrupar las mismas en tres grupos de similar evolución:

- **Palencia, Burgos y Valladolid:** La primera provincia en iniciar el ascenso es Palencia en 1965, seguida por Burgos y Valladolid en 1966, alcanzando

**Gráfico 8: Incidencia de la brucelosis en Castilla y León, 1960-1998.**



**Gráfico 9: Incidencia de la brucelosis en Castilla y León, 1960-1998.****Gráfico 10: Incidencia de la brucelosis en Castilla y León, 1960-1998.**

el máximo de incidencia en 1969 las dos primeras y en 1971 la última. La incidencia máxima de este grupo la alcanza Palencia con cerca de 300 casos por 100.000 habitantes. En esta provincia la incidencia desciende rápidamente hasta 1977, a diferencia de lo que sucede en Burgos y Valladolid que sufren otro pico de incidencia aunque de menor magnitud en 1974. Durante el periodo 1977-1990, las tres provincias sufren un nuevo ciclo epidémico multiannual que alcanza su máximo en distintos momentos: Burgos en 1982 y Palencia y Valladolid en 1984. A partir de 1992, sólo se aprecia un nuevo ciclo epidémico en Palencia, siendo la tendencia en los años 90 francamente decreciente.

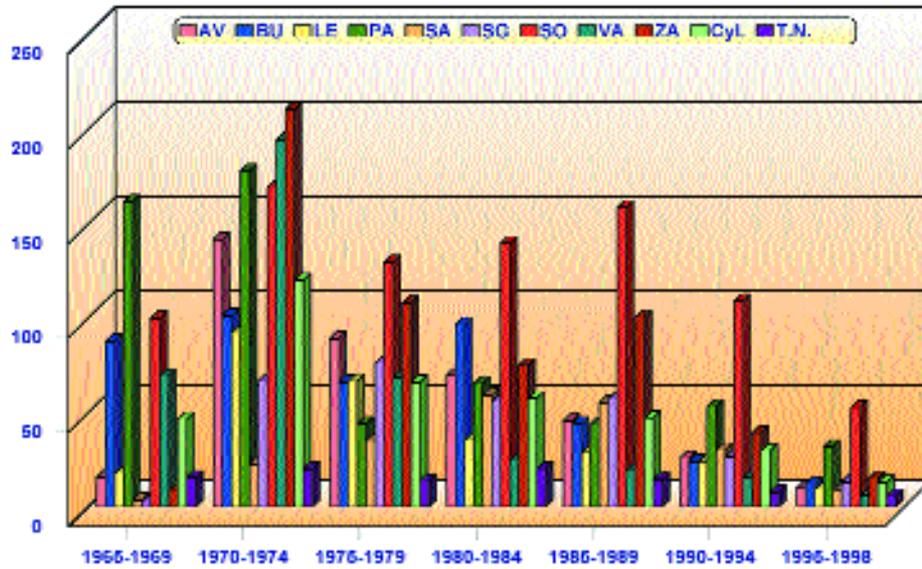
- **Soria, León, Ávila y Zamora:** la tendencia claramente ascendente en este grupo de provincias se inicia en Soria en el año 1967, seguida de León en 1968 y Ávila y Zamora en 1970. Las cuatro provincias alcanzan el pico en 1974. La incidencia máxima de este grupo la alcanza Zamora con 325 casos por 100.000 habitantes. En la provincia de Soria la tasa de incidencia de brucelosis es siempre superior a la regional observándose mayor número de ciclos epidémicos multiannuals que en el resto de las provincias. Sin embargo, a partir de 1993 no se aprecia ningún nuevo ciclo epidémico, siendo la tendencia claramente decreciente. Para el resto de las provincias de este grupo, esta tendencia se inicia ya en 1990.
- **Segovia y Salamanca:** estas dos provincias se presentan de forma separada por su comportamiento semejante. Durante el periodo de máxima incidencia en Castilla y León (1966-1977) presentan aumento tardío (1970 y 1973 respectivamente) y máximo en 1974 con incidencias inferiores a la regional. La tendencia decreciente observada en todas las provincias se inicia en este caso más tempranamente.

Los **gráficos 11 y 12** muestran la tasa media de brucelosis y la media de los casos por quinquenio, a partir de 1965, momento en que se considera que Castilla y León alcanza la situación de incidencia muy alta.

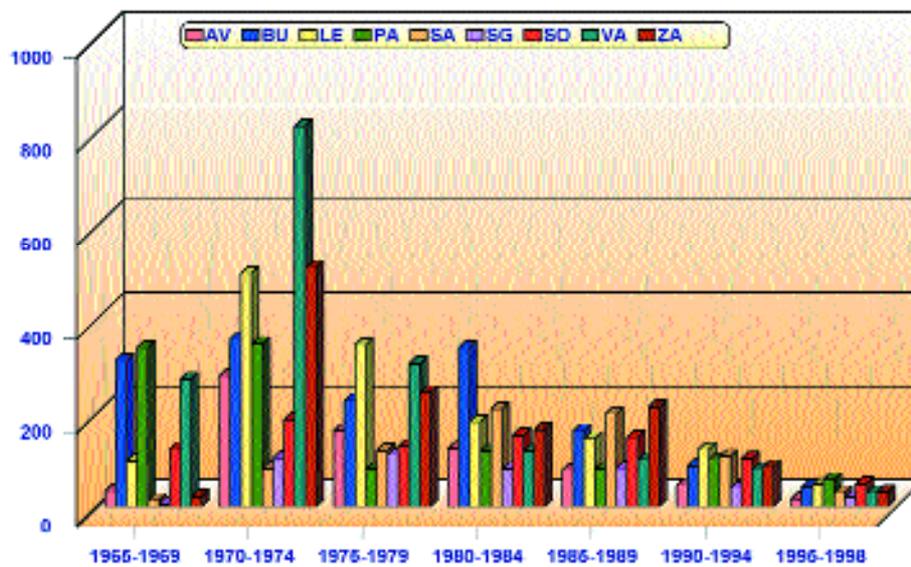
El gráfico 11 nos muestra durante cada uno de los quinquenios considerados la incidencia (media del periodo) comparada de cada una de las provincias conjuntamente con el valor regional y nacional.

Sin entrar en consideraciones históricas, es relevante que en los 5 últimos periodos considerados, la máxima incidencia la presenta la provincia de Soria, con valores que llegan a multiplicar por 3 la tasa regional. Igualmente, se obser-

**Gráfico 11: Tasa media de brucelosis por quinquenio**  
tasa por 100.000 hab.



**Gráfico 12: Media de los casos de brucelosis provinciales por quinquenio**  
nº de casos



va el carácter ondulante multianual de la enfermedad y el predominio de las tasas más elevadas en el periodo 1970-1974.

El gráfico 12 nos presenta la contribución en términos absolutos del número de casos por provincia que, lógicamente, está determinado por el tamaño poblacional de las mismas.

### LA SITUACIÓN RECIENTE

Tradicionalmente se ha considerado a la brucelosis, particularmente en nuestro medio, como una enfermedad fundamentalmente del medio rural, con una incidencia máxima entre finales de abril y julio —vinculada a la biología del principal animal reservorio (la oveja)—, que afecta mayoritariamente a varones y con carácter profesional<sup>(4,5,6,7)</sup>.

Se describen a continuación las características recientes que presenta la brucelosis en Castilla y León:

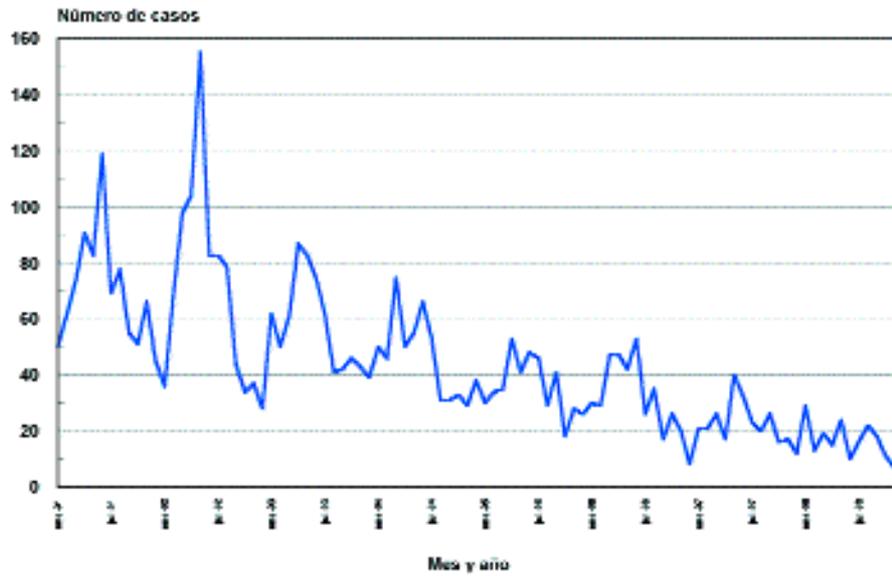
- Evolución temporal. El gráfico 13 nos muestra la evolución, por mes, desde 1991 a 1998; cabe destacar el mantenido y significativo descenso de la incidencia de la enfermedad, así como que empieza a perderse el carácter estacional que ha sido descrito rutinariamente.
- Evolución espacial. Los gráficos 14 y 15 nos presentan la comparación espacial (tasa media de incidencia) para los periodos 1990-1994 y 1995-1998 y nos muestra la intensa disparidad de la afectación entre las diferentes provincias de nuestra región, que oscilan entre 108,46<sup>oo/ooo</sup> para Soria y 15,15<sup>oo/ooo</sup> para Valladolid en el periodo 1990-1994 y desde 52,24<sup>oo/ooo</sup> para Soria y 5,86<sup>oo/ooo</sup> para Valladolid en el periodo 1995-1998.

A efectos de una categorización en 6 intervalos de incidencias se ha utilizado el intervalo de clase geométrico, según la metodología utilizada en el Boletín Epidemiológico Semanal n° 1649, de 1984.

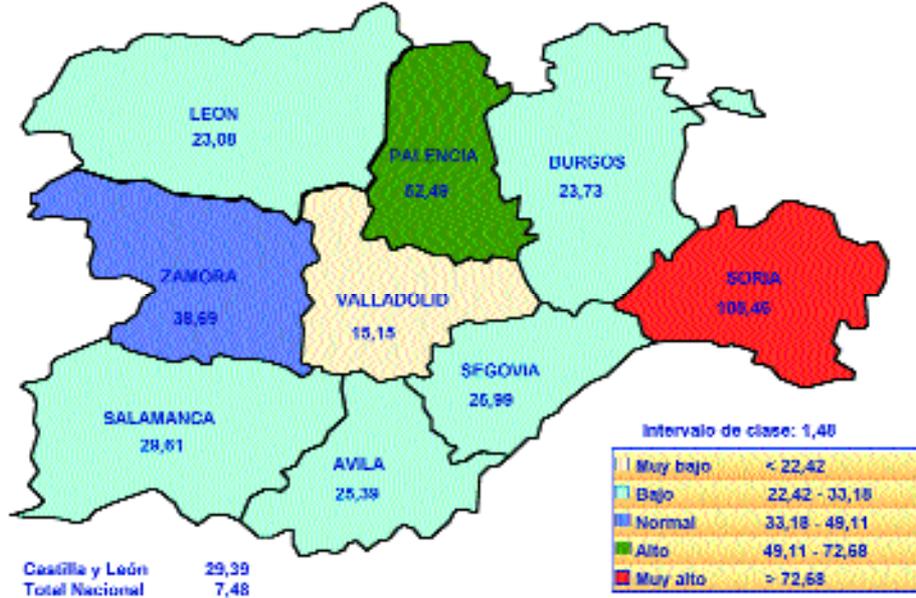
De esta manera se nos muestra, durante los dos periodos considerados, que la provincia de Soria tiene la consideración (intrarregional) de incidencia muy alta; Palencia tiene la consideración de incidencia alta y Zamora de incidencia normal.

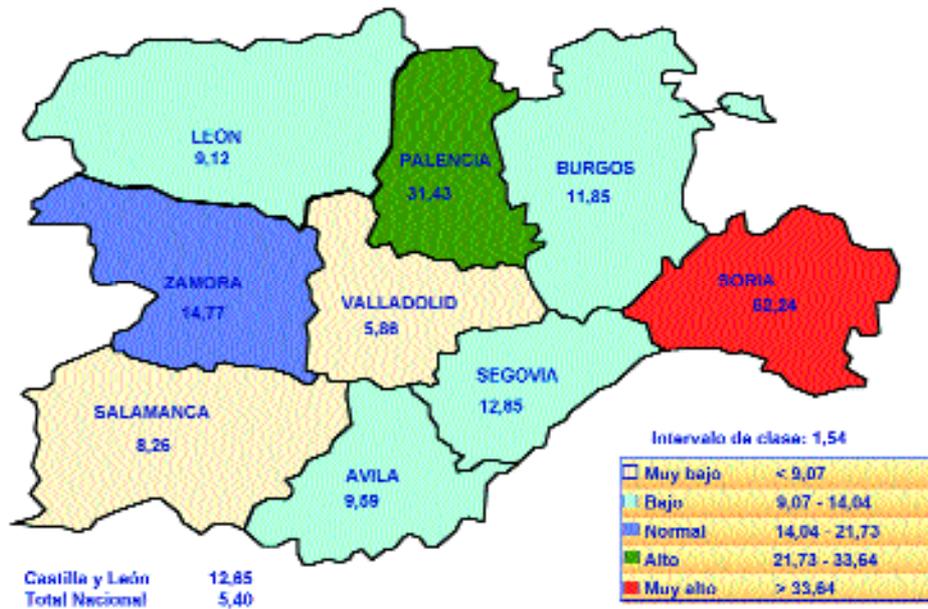
Valladolid tiene la consideración de muy baja, Ávila, Burgos, León y Segovia tienen la consideración de incidencia baja y Salamanca oscila entre incidencia baja y muy baja.

**Gráfico 13: Serie mensual de casos de brucelosis en Castilla y León, 1991-1998.**



**Gráfico 14: Brucelosis Castilla y León. Tasa media de incidencia. Años 1990-1994**



**Gráfico 15: Brucelosis Castilla y León. Tasa media de incidencia. Años 1995-1998**

- La comparación rural-urbano

Como antes se ha mencionado, se puede considerar la brucelosis como un riesgo eminentemente rural que, circunstancialmente, puede expresarse en el medio urbano en razón a las características de consumo o de actividad profesional.

El gráfico 16 nos muestra la comparación de la tasa de incidencia rural, urbana y global desde 1991 a 1998.

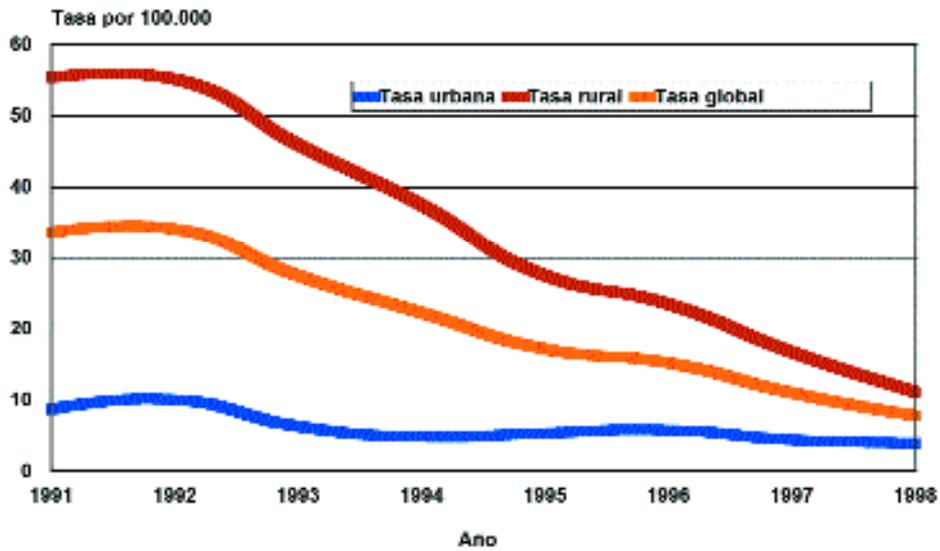
Es reseñable que hay una importante disminución de las 3 tasas consideradas.

La tasa de incidencia en el medio rural tiene un descenso desde 55,29<sup>oo/ooo</sup> en el año 1991 a 11,06<sup>oo/ooo</sup> en el año 1998 con una disminución del 79,9 % en ese periodo.

La tasa de incidencia en el medio urbano tiene un descenso desde 8,63 <sup>oo/ooo</sup> en el año 1991 a 3,93<sup>oo/ooo</sup> en el año 1998 con una disminución del 54,46 %.

El riesgo inherente al medio rural sigue siendo más intenso que el del medio urbano, aunque se ha reducido de 6,4 veces en 1991 a 2,81 en el año 1998. Por otra parte, la comparación intrarregional en el medio rural (gráfico 17) también nos muestra una gran disparidad entre las diferentes provincias.

**Gráfico 16: Evolución de las tasas de incidencia de brucelosis en Castilla y León 1991-1998**



**Gráfico 17: Brucelosis Castilla y León. Tasa media de incidencia en medio rural. Años 1995-1998.**



Utilizando la metodología del intervalo de clase geométrico para establecer las comparaciones, se determina que para el periodo considerado (1995-1998), en el medio rural, las provincias de Palencia y Soria tienen la consideración de incidencia muy alta; la incidencia tiene la consideración de baja para Burgos y Zamora y muy baja para las restantes.

- Las características personales: sexo, edad y medio

Para definir las características personales se han tomado los casos notificados entre 1993 y 1998.

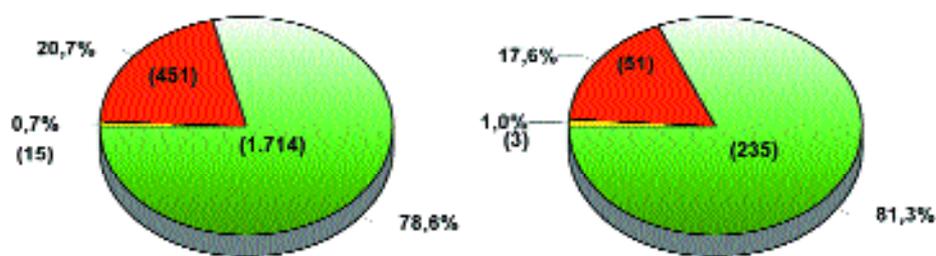
La brucelosis sigue siendo una enfermedad del sexo masculino tanto en el medio rural como urbano con un 78,6% y 81,3% de los casos respectivamente. Gráfico 18.

En cuanto a la relación sexo-edad, la brucelosis, en los dos sexos, expresa su mayor frecuencia en la población activa, aunque esa característica es mucho más evidente en varones. Gráfico 19.

La distribución exclusivamente por edad muestra la misma característica de afectación fundamentalmente de la población activa, no apreciándose mucha diferencia entre los diferentes tramos etarios entre los 15 y los 64 años. Gráfico 20.

**Gráfico 18: Brucelosis en Castilla y León  
Distribución de los casos por sexo**

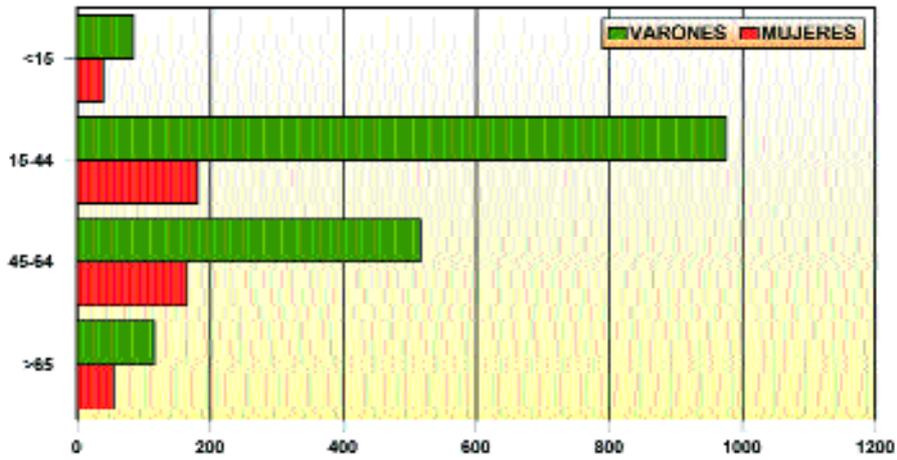
**MEDIO RURAL Y URBANO 1993 - 1998**



**RURAL = 2.180 URBANO = 289**

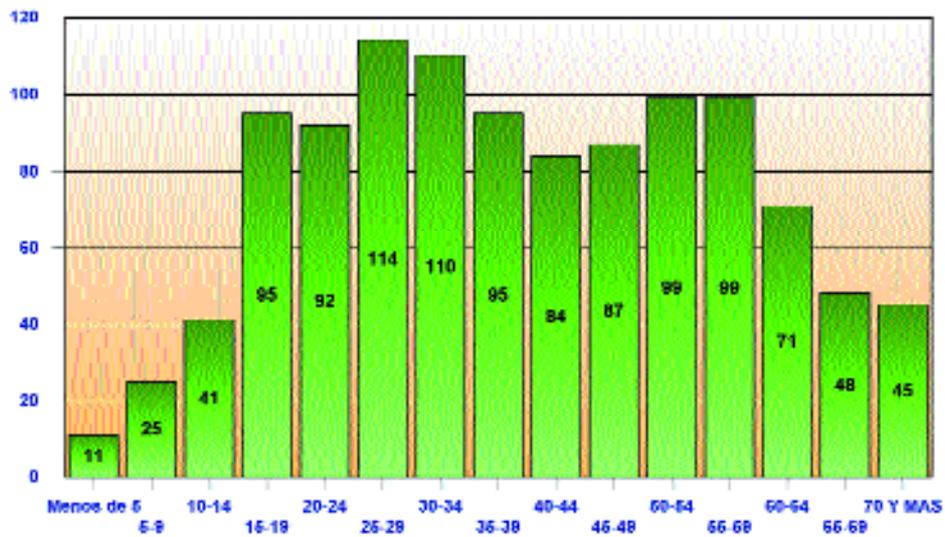
**VARONES MUJERES NO CONSTA**

**Gráfico 19: Brucelosis en Castilla y León.  
Distribución por grupo de edad y sexo. 1993-1998**



\* Se excluyen los casos en los que no consta la edad.

**Gráfico 20: Brucelosis en Castilla y León. 1993-1998  
Distribución por grupo de edad\*.**



\* Se excluyen los casos en los que no consta la edad.

- El carácter profesional

El gráfico 21 nos muestra la distribución de los casos notificados de acuerdo a la codificación del Instituto Nacional de Estadística<sup>(8)</sup>.

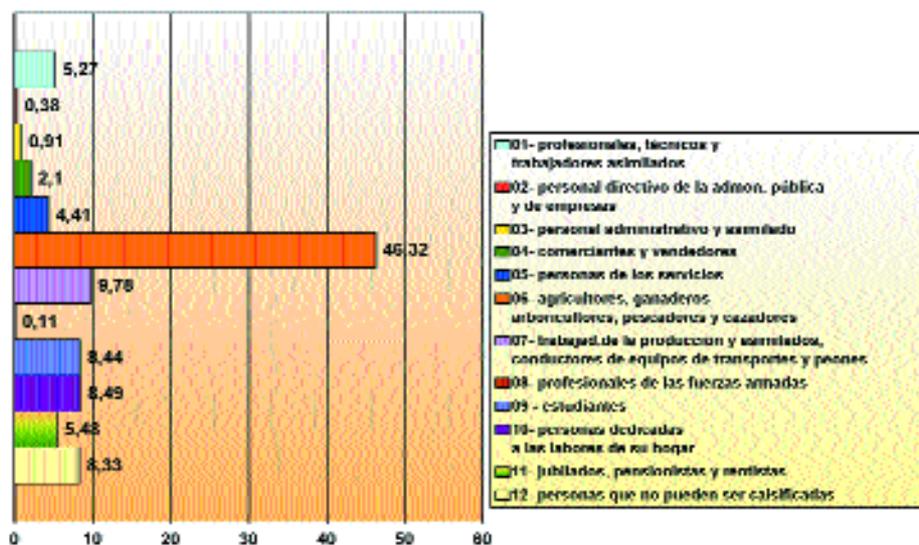
Es especialmente reseñable que el 46,32% de los casos pertenecen al grupo 6, correspondiente a agricultores, ganaderos, aricultores, pescadores y cazadores, lo que traduce que la brucelosis sigue siendo principalmente un riesgo ligado a la actividad profesional agropecuaria.

En conclusión, a la luz de los datos disponibles, se podría destacar:

1. Marcada tendencia descendente de la tasa de afectación humana. Es destacable que desde la máxima incidencia alcanzada en 1974 con un número de casos de 3.681 y una tasa de 139,64<sup>00/000</sup> habitantes se ha descendido a una situación con 194 casos y una tasa de 7,77<sup>00/000</sup> habitantes en 1998, lo implica una reducción, desde los niveles máximos, del 94%.

2. La brucelosis en Castilla y León afecta principalmente a población con actividad agrícola y ganadera y relacionada.

**Gráfico 21: Distribución de los casos de brucelosis según profesión  
Castilla y León. 1993 - 1998**



3. En los últimos años se pierde el carácter estacional que presentó con anterioridad.

4. Se pudiera correlacionar la favorable evolución de la afectación humana a las actuaciones realizadas sobre la cabaña ganadera y al descenso de la población dependiente del sector ganadero.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Subsecretaría de la Salud. Consulta Conjunta de las Oficinas Regionales de Europa y Mediterráneo Oriental de la O.M.S. sobre Brucelosis en la Cuenca Mediterránea. (Valladolid, octubre 1977). Año 1977. *Boletín Epidemiológico Semanal*, 1977; 1.300
2. Decreto 141/86 de la Junta de Castilla y León, de 18 de septiembre de 1986, sobre Campañas de Saneamiento Ganadero. ("B.O.C. yL." n° 108, de 24 de septiembre de 1986, p. 1.723)
3. Real Decreto 2611/1996, de 20 de diciembre, por el que se regulan los programas nacionales de erradicación de enfermedades de los animales. ("B.O.E." n° 307, de 21 de diciembre de 1996: 38115-38133)
4. Dirección General de Salud Pública. Ministerio de Sanidad y Seguridad Social. Situación Brucelosis, 1978. Año 1978. *Boletín Epidemiológico Semanal*, 1977; 1.365, :25-27.
5. Dirección General de Salud Pública. Ministerio de Sanidad y Consumo. La Brucelosis en España. Situación en 1984. Año 1985. *Boletín Epidemiológico Semanal*, 1985; 1713:332-334.
6. Dirección General de Salud Pública. Ministerio de Sanidad y Consumo. La Brucelosis en España. Distribución espacial. Año 1985. *Boletín Epidemiológico Semanal*, 1985; 1714:339-341.
7. Martínez Navarro JF, y cols. Estudio epidemiológico de la brucelosis en España. *Rev. San. Híg. Púb.* 1978; 52:1177-1230.
8. Delegación Territorial de Salamanca. Junta de Castilla y León. Brucelosis. Incidencia y Evolución en la provincia de Salamanca. (y II) *Boletín Epidemiológico de Salamanca*. 1998; 451:33-36.

**CASOS Y TASAS DE BRUCELOSIS.  
CASTILLA Y LEÓN. 1960 - 1998**

AÑO	CASOS	TASA
1960	136	4,46
1961	340	5,78
1962	383	8,09
1963	329	7,71
1964	210	6,7
1965	311	8,41
1966	509	17,28
1967	1177	40,48
1968	1790	64,57
1969	2616	98,21
1970	2877	108,01
1971	3095	116,2
1972	3103	116,91
1973	3069	116,03
1974	3681	139,64
1975	2909	110,72
1976	1639	62,58
1977	1224	46,88
1978	1463	56,2
1979	1327	51,13
1980	1161	44,9
1981	1620	62,77
1982	1452	56,49
1983	1.397	54,20
1984	1.756	66,44
1985	1.444	54,39
1986	1.246	48,88
1987	1.021	40,14
1988	1.199	47,24
1989	1.082	42,74
1990	839	33,17
1991	841	32,90
1992	864	33,00
1993	695	26,59
1994	556	21,31
1995	432	17,17
1996	369	14,70
1997	274	10,95
1998	194	7,77

## PATOGENIA DE LA BRUCELOSIS HUMANA

A. ORDUÑA DOMINGO  
L. LÓPEZ URRUTIA  
M.A. MIGUEL GÓMEZ  
P. GUTIÉRREZ RODRÍGUEZ  
J. M. FERNÁNDEZ FERNÁNDEZ  
A. RODRÍGUEZ TORRES  
Dpto. Microbiología. Facultad de Medicina.  
Universidad de Valladolid

La patogenia de la brucelosis humana continúa siendo una incógnita en la mayoría de sus aspectos ya que son muchas las dificultades que se han encontrado para su esclarecimiento. Por una parte, no se dispone de un modelo animal experimental que permita reproducir con cierto grado de similitud la enfermedad humana. Por otra parte, no se han identificado los determinantes de patogenicidad que expliquen satisfactoriamente la evolución de la enfermedad en el hombre. Además, el comportamiento clínico y patogénico de la infección brucelar se diferencia sustancialmente del que presentan otras bacterias gram negativas intra y extracelulares, lo que impide comparar los mecanismos patogénicos utilizados por unas y otras bacterias.

El cuadro clínico y la evolución de la brucelosis varía de forma importante en función de la especie animal afectada. En el hombre la infección brucelar presenta una gran tendencia hacia la cronificación y se caracteriza fundamentalmente por fiebre ondulante, y focalización (artritis, orquitis, osteomielitis, endocarditis, etc.). Por el contrario, en los mamíferos rumiantes la principal manifestación clínica es el aborto y en los ratones la enfermedad cursa como una septicemia de la que curan en pocas semanas. Estas diferentes evoluciones parecen indicar que la actividad patogénica de *Brucella* es diferente según la especie animal afectada, y que la forma de interaccionar con los sistemas inmunitarios no específicos y específicos varía según la especie animal hospedadora.

Por otra parte, no cabe duda de que en gran medida la tendencia hacia la cronificación y a la aparición de recidivas que tienen las infecciones producidas por el género *Brucella* viene determinada por las especiales características de este

género bacteriano. *Brucella* es una bacteria gram negativa que se comporta como patógeno intracelular facultativo que puede desarrollarse y multiplicarse en el interior de las células fagocíticas humanas. Precisamente esta capacidad para sobrevivir en células de vida media larga como los macrófagos explica en parte la evolución hacia la cronicidad de esta enfermedad. Además, la supervivencia en el interior de las células infectadas permite que *Brucella* se encuentre durante la mayor parte de su ciclo vital al abrigo de los factores humorales bactericidas de la sangre y tejidos y de los antibióticos, siendo ésta una de las causas del fracaso antibiótico en la brucelosis humana. Por otra parte, la respuesta inmunitaria humoral ha mostrado ser ineficaz en la eliminación de la infección, lo que origina que la evolución de la enfermedad dependa fundamentalmente de los sistemas de defensa celular tanto específicos como inespecíficos. Así pues, la actividad patogénica de las brucelas se basa fundamentalmente en su capacidad para evadir la actividad bactericida intracelular de las células fagocíticas y la modulación de la respuesta inmunitaria humoral y celular por parte de algunos de los componentes de las brucelas.

## PAPEL DEL COMPLEMENTO

El complemento constituye uno de los principales mecanismos de defensa frente a las infecciones producidas por bacterias gram negativas. Uno de los principales componentes de la envoltura externa de las bacterias gram negativas es el lipopolisacárido (LPS), el cual presenta la capacidad de activar el complemento por la vía alternativa, lo que explica en parte el papel de contención de la infección del suero en las primeras fases de la enfermedad. Sin embargo, el LPS de las brucelas se caracteriza por ser un activador del complemento más débil que el LPS de las enterobacterias, lo que estaría relacionado con una mayor resistencia de *Brucella* a los factores séricos.

No está claro el papel del complemento en la resistencia frente a las infecciones producidas por las brucelas. Estudios iniciales indicaban que el suero fresco de ganado bovino era capaz de lisar cepas de *B. abortus*. Estudios más recientes indican que el suero fresco, y por tanto con complemento, de animales vírgenes de infección o de animales infectados recientemente es capaz de destruir «in vitro» a las brucelas. Sin embargo, el suero fresco de animales infectados con anterioridad y con complemento e IgG específica frente a brucela (y por tanto con el mecanismo de activación del complemento por la vía clásica) es ineficaz para la destrucción de las brucelas. Esto parece indicar que existe una gran dependencia de las IgM específicas para la activación del complemento por la vía clásica y con efecto sobre la viabilidad de las brucelas, mucho más que si esta activación dependiera de las IgG específicas.

## **FUNCIONES DE LOS FAGOCITOS EN LA DEFENSA FRENTE A LAS INFECCIONES**

En los procesos infecciosos, y una vez que los microorganismos han penetrado en el interior del hospedador, uno de los primeros sistemas de defensa que se ponen en marcha es el sistema fagocítico. Éste juega un papel crucial en la defensa frente a las infecciones pues no sólo consigue en la mayoría de las ocasiones la eliminación del patógeno, si no que constituye un eficaz mecanismo de retraso de la progresión de la infección, dando tiempo para que se activen los mecanismos inmunitarios específicos.

Después de la penetración de un microorganismo en el interior de un organismo superior, se produce una gran extravasación y afluencia de leucocitos, principalmente polimorfonucleares neutrófilos, desde los vasos sanguíneos hacia el foco de infección en un proceso largo y complejo que incluye diferentes fases como la marginación de los leucocitos, la extravasación y la migración. La migración hacia el foco de infección es seguida por los leucocitos siguiendo gradientes de concentración (quimiotaxis) de diversas sustancias microbianas y mediadores celulares que se originan en el foco de infección y que producen la estimulación y migración dirigida de los leucocitos (quimiotaxis). Una vez que los fagocitos se ponen en contacto con los microorganismos se produce la adherencia de éstos, lo que conlleva generalmente la estimulación de diferentes receptores de la superficie de las células (receptores para los fragmentos Fc de las inmunoglobulinas, receptores para el complemento, receptores para polisacáridos, etc.) y por tanto la activación de varias de las funciones de los fagocitos. Se produce la ingestión o englobamiento del microorganismo en un fagosoma sobre el que se vierte el contenido de los lisosomas presentes en los fagocitos (desgranulación y formación del fagolisosoma) (Figura 1).

Simultáneamente a la formación del fagolisosoma se activan un conjunto de mecanismos capaces de producir la muerte de los microorganismos acantonados en los fagolisosomas (Figura 1). Por una parte, se activan los sistemas bactericidas  $O_2$ -independientes contenidos en los lisosomas como las proteínas catiónicas, la lactoferrina y una gran variedad de enzimas. Por otra parte, se activan los sistemas bactericidas  $O_2$ -dependientes, los cuales constituyen el principal mecanismo bactericida de las células fagocíticas.

La activación de los sistemas bactericidas  $O_2$ -dependientes se inician con la activación del shunt hexosa-monofosfato en un proceso denominado explosión oxidativa (Figura 2). Como consecuencia de este proceso se genera un conjunto de radicales intermediarios del oxígeno (ROIs). Entre estos radicales se encuen-

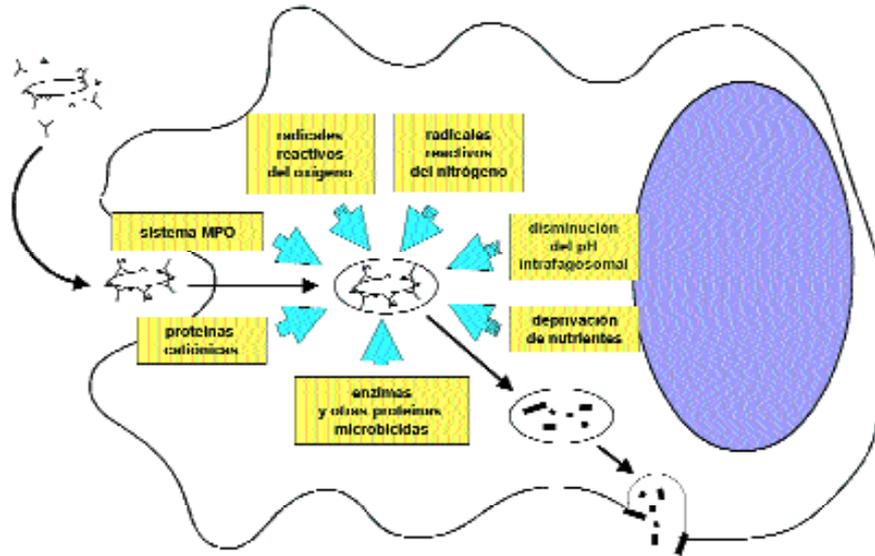
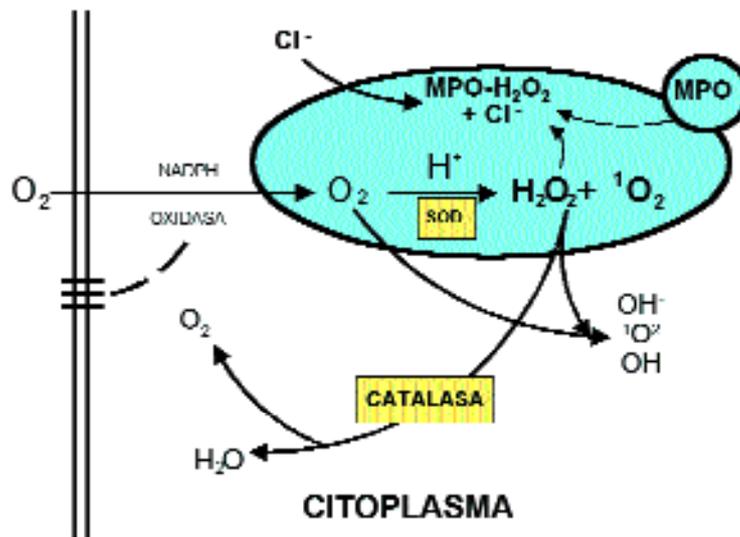


FIGURA 1. Funciones de las células fagocíticas.



SOD: superóxido-dismutasa. MPO: mieloperoxidasa.

FIGURA 2. Explosión oxidativa y mecanismos bactericidas  $O_2$  dependientes.

tran el anión superóxido ( $O_2^-$ ), el oxígeno singlet ( $^1O_2$ ), el peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ) y los radicales hidroxilo ( $OH^-$ ,  $\cdot OH$ ). Estos radicales poseen un elevado potencial oxidante capaz de inactivar los sistemas enzimáticos de las bacterias fagocitadas, produciéndoles la muerte.

Además del efecto bactericida directo de los ROIs, la explosión oxidativa activa otros sistemas bactericidas de gran eficacia como son los sistemas mieloperoxidasa-dependientes (MPO) y óxido-nítrico dependientes (NO). La MPO en presencia de peróxido de hidrógeno oxida los iones cloro e iones yodo activándolos y produciendo la halogenación de las proteínas, ácidos nucleicos y lípidos microbianos, y por tanto su destrucción.

La activación del sistema NO se inicia con la oxidación de la L-aspargina a L-citrulina por acción de las óxido-nítrico sintasas celulares. Esto da lugar a la producción de NO, el cual interacciona con los radicales intermediarios del  $O_2$  procedentes de la explosión oxidativa originando la producción de los radicales intermediarios del nitrógeno (RNIs). Entre éstos se encuentran el peroxinitrito, dióxido de nitrógeno, S-nitrosotioles etc. Estos presentan acción microbicida sobre multitud de microorganismos al inactivar las enzimas metabólicas que contienen grupos Fe no Hem, al unirse a proteínas con grupos tiol o al producir la deaminación de los ácidos nucleicos.

## RELACIÓN DE *BRUCELLA* CON LOS FAGOCITOS

En 1953, Elberg y Schneider estudiando la motilidad de los fagocitos en presencia de *Brucella* o de sus antígenos, observaron que las cepas virulentas de *Brucella* y sus antígenos inhibían la migración de los leucocitos de cobayas sanos, mientras que las cepas avirulentas carecían de tal efecto. Años después, Braun et al. en 1958 observaron que las cepas rugosas avirulentas de *B. abortus* eran ingeridas más rápidamente y resistían peor la acción bactericida de los macrófagos que las cepas lisas y virulentas, y que éstas se multiplicaban con mayor velocidad en el interior de los fagocitos.

En cualquiera de los casos, para que las brucelas sean destruidas han de ser ingeridas por los fagocitos y han de estar ubicadas en el interior de los fagosomas, hecho que parece suceder con la mayoría de las brucelas. Sin embargo, existen evidencias de que la verdadera ingestión no sucede en todos los casos y que algunas brucelas siguen procesos de internalización diferentes a los de la fagocitosis. De los estudios realizados hasta el momento actual se deduce que no existen diferencias entre la fagocitosis de *Brucella* y otras bacterias extracelulares. Las bru-

celas no poseen cápsulas anti-fagocíticas, sino que por el contrario han desarrollado mecanismos de adhesión a las células. Son capaces de adherirse a los polimorfonucleares y a los fagocitos mononucleares mediante interacciones tipo lectina y esta adherencia es estabilizada por lípidos bacterianos. Esta adherencia tiene lugar sobre las proteínas con afinidad por lectinas presentes en la superficie de los fagocitos a través del 1,2 glucano cíclico periplásmico y del lípido que contiene ornitina (OCL) presentes en la brucela. La bacteria así absorbida promueve su internalización probablemente sin formar verdaderos fagosomas. Algunas de las lectinas identificadas en la superficie de *Brucella melitensis* y *Brucella abortus* parecen estar relacionadas con la patogenicidad para el hombre, ya que estas lectinas no se encuentran o su concentración es mínima en brucelas no patógenas para el hombre como *B. neotomae* y *B. suis*. La eficacia de este mecanismo de internalización y su significado patogénico es por el momento una incógnita.

Estudios recientes realizados por Pizarro-Cerda et al demuestran que al menos algunas brucelas pueden escapar a la acción de los sistemas bactericidas de los fagocitos localizándose y multiplicándose en la región perinuclear, dentro de compartimentos diferentes a los fagosomas y que semejan autofagosomas. Según estos autores, algunas brucelas utilizarían un mecanismo de autofagia para penetrar en la célula y alcanzar los compartimentos de multiplicación intracelular en el retículo endoplásmico rugoso. En estos compartimentos las brucelas se encuentran fuera del alcance de los contenidos lisosomales, y por tanto al abrigo de los mecanismos bactericidas celulares. La elección de una vía u otra de internalización de las brucelas parece depender de varios factores, y entre ellos de la opsonización con anticuerpos específicos y/o complemento. Es bien conocido que la opsonización con complemento o anticuerpos favorece la fagocitosis y destrucción de las brucelas debido muy probablemente al englobamiento de *Brucella* en verdaderos fagosomas y la activación de los sistemas bactericidas celulares. A pesar de ello, la opsonización por sí misma no parece resolver la infección ya que la existencia de elevados títulos de anticuerpos no es suficiente para la eliminación de la infección, al menos en el hombre.

Otro de los mecanismos cuya intervención se ha postulado en la supervivencia intracelular de *Brucella* es el bloqueo de la desgranulación y por tanto de la fusión fagosoma-lisosoma. Canning et al, en diferentes trabajos, encuentran que *Brucella* libera dos sustancias, 5' guanosina monofosfato y adenina, capaces de bloquear la desgranulación de los polimorfonucleares. Sin embargo, la mayoría de los autores que han estudiado la fagocitosis encuentran que *Brucella* induce la desgranulación aunque en menor cuantía que la inducida por otras bacterias. Este fenómeno ha sido observado por nuestro grupo al comparar la desgranulación inducida durante la fagocitosis de *Brucella melitensis* 16 M con la inducida durante la fago-

citosis de *S. aureus*. Estos hallazgos han sido reafirmados por Pizarro-Cerda et al ya que encuentran que mientras algunas de las brucelas lisas y virulentas se colocan con enzimas lisosomales en verdaderos fagosomas, otras brucelas se ubican en los autofagosomas lejos de los contenidos lisosomales.

### **Resistencia a los sistemas bactericidas de los fagocitos**

Las relaciones de *Brucella* con los sistemas bactericidas constituyen uno de los aspectos más interesantes de la patogenia de la brucelosis. Aunque desde comienzos de los años 80 se sabía que las brucelas resistían la acción de los sistemas bactericidas  $O_2$ -independientes, es recientemente cuando el grupo de trabajo dirigido por R. Díaz e I. Moriyón de la Universidad de Navarra ha descrito el mecanismo de la resistencia de *Brucella* a la acción de las proteínas catiónicas de los lisosomas de los fagocitos. Esta resistencia se basa en la incapacidad de dichas proteínas para interactuar con el lipopolisacárido de la membrana externa de *Brucella*, y por tanto la incapacidad de dichas proteínas para atravesar la pared bacteriana y penetrar en el interior de las brucelas.

Sin embargo, son los mecanismos  $O_2$ -dependientes los más importantes para el rechazo de las infecciones microbianas. En términos generales parece que la explosión oxidativa juega un papel capital en la defensa de los fagocitos frente a las infecciones producidas por *Brucella*. Entre los enzimas que producen las brucelas se encuentran la catalasa y la superóxido-dismutasa (SOD), las cuales pueden interferir con la explosión oxidativa y por ello han sido relacionadas con la resistencia de *Brucella* a la actividad bactericida de los fagocitos (Figura 2).

La catalasa actúa sobre el  $H_2O_2$  desdoblándolo en  $H_2O$  y  $O_2$ . De esta forma, la catalasa bloquea la acción bactericida directa del  $H_2O_2$  y la acción bactericida mediada por la mieloperoxidasa, la cual necesita  $H_2O_2$  para su activación. Huddleson y Stahl en 1943 afirmaron que la virulencia de *Brucella* era paralela a su actividad catalasa, lo que posteriormente fue reafirmado por Macrae y Smith. Sin embargo, la intervención de la catalasa en la supervivencia intracelular de *Brucella* no está clara, ya que a los estudios iniciales de Huddleson y Stahl y Macrae y Smith que apoyaban su participación, se opusieron otros como los de Fitzgeorge et al en 1965 que no encontraron relación entre la cantidad de catalasa producida por las diferentes cepas de *Brucella* y la supervivencia intracelular.

Por otra parte, estudios experimentales realizados por Jiang et al con macrófagos murinos infectados con *Brucella* demuestran que la estimulación de la explosión oxidativa con azul de metileno aumenta de forma muy importante la capacidad bactericida frente a *Brucella* de los macrófagos murinos. Por el contrario, la

utilización de inhibidores o bloqueantes de los ROIs como la catalasa o la SOD, reduce significativamente la actividad bactericida de los macrófagos murinos frente a *Brucella*. Estudios similares realizados por nuestro grupo con células fagocíticas humanas corroboran estos resultados en el hombre.

Por último, estudios recientes realizados con brucelas mutantes que han perdido la capacidad de producir catalasa muestran que aunque inicialmente los macrófagos tienen una mayor actividad bactericida sobre las brucelas mutantes catalasa-defectivas, a medio y largo plazo estas mutantes presentan unos niveles de supervivencia intracelular similares a los de las brucelas productoras de catalasa. Esto indica que la catalasa puede intervenir en la supervivencia intracelular de las brucelas en los fagocitos, pero no explica por ella sola la resistencia de *Brucella* a su actividad bactericida.

Otro enzima presente en las brucelas y que pudiera intervenir en la resistencia frente a los mecanismos  $O_2^-$ -dependientes es la superóxido-dismutasa (SOD). Esta enzima actúa sobre los aniones superóxido convirtiéndolos en  $H_2O_2$  y  $O_2$  de menor capacidad oxidativa. Las brucelas poseen dos tipos de SOD, una Cu/Zn SOD y una Mn SOD. Estas enzimas parecen tener una intervención limitada en la actividad patogénica de *Brucella* ya que las cepas virulentas y las avirulentas producen niveles similares de SOD. Sin embargo, las cepas mutantes de *Brucella* deficientes en Cu/Zn SOD parecen tener menor capacidad de supervivencia en ratones infectados experimentalmente que las cepas naturales.

Queda por establecer la relación de *Brucella* con el sistema óxido-nítrico dependiente. Este sistema parece tener importancia como mecanismo defensivo frente a las infecciones por algunos microorganismos como *Leishmania*, *Mycobacterium*, *Listeria* o *Toxoplasma*. Este sistema está presente en algunas células como los hepatocitos, las células endoteliales y los fagocitos de ciertas especies animales como los roedores. En el caso del hombre el papel del NO es controvertido. Parece que el sistema óxido-nítrico dependiente, aunque está presente en los macrófagos, tiene relativamente poca importancia como mecanismo de defensa de estas células en personas sanas. Sin embargo, se han obtenido evidencias de que la producción de NO por parte de estas células de pacientes con diferentes infecciones como la tuberculosis se encuentra muy aumentada. En el caso de la brucelosis, los estudios realizados sobre modelos murinos parecen demostrar que *Brucella* resiste la acción del NO, teniendo en cuenta que la ingestión de *Brucella* por macrófagos murinos en presencia de  $IFN\gamma$  (interferón  $\gamma$ ) induce la producción de NO. Más aún, estudios realizados por nuestro grupo demuestran que el lipopolisacárido (LPS) de *Brucella* induce la producción de NO en los macrófagos de rata incluso en ausencia de citocinas.

En este sentido se sabe que existen una serie de factores bacterianos que actúan como estimulantes de las funciones bactericidas  $O_2$ -dependientes y NO-dependientes de los fagocitos. Entre ellos destacan los lipopolisacáridos de las bacterias gram negativas. En efecto, los LPS de las enterobacterias constituyen un potente inductor de la explosión oxidativa y de la activación de la producción de NO inducible, aumentando la capacidad bactericida de los fagocitos. Sin embargo, en términos comparativos con la capacidad estimuladora del LPS de las enterobacterias, el LPS de *Brucella* se comporta como un inductor débil de la explosión oxidativa y de la producción de NO. Por tanto, la cantidad de ROIs y RNIs inducida por la ingestión de *Brucella* sería inferior a la inducida por *E. coli*, y como consecuencia, las actividades bactericidas  $O_2$  y NO dependientes de los fagocitos serían menores durante la fagocitosis de *Brucella*, lo que ayudaría a explicar la mayor capacidad de *Brucella* para sobrevivir en el interior de los fagocitos.

Otro aspecto interesante de la resistencia de *Brucella* a los fagocitos es la adaptación de estas bacterias al entorno hostil que supone para ellas el fagolisosoma. Se ha demostrado que los patógenos intracelulares facultativos son capaces de expresar algunas proteínas a elevadas concentraciones cuando son fagocitados. En el caso de *Brucella* se han descrito varias proteínas de respuesta al estrés con pesos moleculares entre 17 KDa y 62 KDa. Muchas de estas proteínas son producidas por las brucelas no sólo durante la fagocitosis sino también cuando se han recreado condiciones de shock ácido semejantes a las presentes en los fagolisosomas. Entre éstas se encuentran la GroEL y la DnaK. Esta última tiene un particular interés ya que parece estar implicada en la resistencia de *B. suis* frente a los macrófagos. Se ha observado que cepas mutantes DnaK defectivas son incapaces de multiplicarse en el interior de los macrófagos, mientras que las cepas salvajes que producen esta proteína resisten la acción bactericida de los macrófagos. Otras proteínas como la HtrA (High-temperature-requirement A protein) parecen estar implicadas en la protección frente a los sistemas bactericidas  $O_2$ -dependientes.

## IMPORTANCIA DE LA ENVOLTURA EXTERNA EN LA PATOGENIA

La membrana externa de *Brucella* constituye la estructura de relación de la *Brucella* con el medio externo, y por tanto, con los sistemas defensivos del hospedador. Aparte de su importancia como mecanismo de evasión a los sistemas bactericidas  $O_2$ -independientes, la membrana externa es el soporte de componentes fundamentales en la patogenia de la brucelosis. Los componentes de la envoltura externa al interactuar con los diferentes sistemas celulares y humorales desencadenan una cascada de respuestas que participan de los mecanismos pato-

génicos de la enfermedad. Entre estos componentes los mejor conocidos y estudiados son el lipopolisacárido y las proteínas de la envoltura externa.

### **El lipopolisacárido**

El lipopolisacárido de *Brucella* es el componente más exterior de la envoltura externa de *Brucella* (ver capítulo 2). Es una estructura que ha sido relacionada con la patogenicidad de las brucelas basándose en las diferencias existentes entre los lipopolisacáridos de las brucelas lisas y virulentas y los de las brucelas rugosas y avirulentas. Además, se comporta como el antígeno inmunodominante ya que la mayoría de los anticuerpos producidos durante la infección brucelar se dirigen contra él.

Desde el punto de vista patogénico el lipopolisacárido de *Brucella* presenta una variada actividad biológica interaccionando con sistemas humorales como el complemento y con diferentes sistemas celulares induciendo la producción de gran número de mediadores. Sin embargo, en general el LPS de *Brucella* es menos activo que el LPS de otras bacterias gram negativas como el *E. coli*. Esto es, se necesita mayor concentración de LPS de *Brucella* para conseguir el mismo efecto que el LPS de *E. coli*. Así por ejemplo, y siempre comparando su actividad con la del LPS de *E. coli*, el LPS de *Brucella* es poco tóxico para la mayoría de los animales de experimentación ensayados como los ratones, el conejo o los embriones de pollo. Es un activador débil del complemento por la vía alternativa y presenta una capacidad muy baja para activar las funciones y actividades de las células fagocíticas, siendo su capacidad para inducir la explosión oxidativa o la producción de NO del orden de cien veces inferior a la que posee el LPS de *E. coli*. Precisamente, la escasa capacidad para activar el complemento y la baja actividad inductora de la producción de NO por las células endoteliales podrían estar relacionadas con la rara aparición del shock endotóxico como cuadro clínico en la brucelosis humana, en contraposición con la elevada frecuencia con que este cuadro aparece en las bacteriemias por enterobacterias.

Por el contrario, el LPS de *Brucella* se comporta como un buen inductor de la producción de mediadores celulares de la respuesta inmunitaria y de la activación policlonal de linfocitos B, siendo su capacidad similar e incluso superior al presentado por los LPS de las enterobacterias. Sin embargo, y al contrario que los LPS de las enterobacterias, el LPS de *Brucella* estimula la producción de IL-1 y precisa la mitad de dosis que el LPS de *E. coli* para producir TNF- $\alpha$  (factor de necrosis tumoral), si bien es un mal inductor de la producción de IFN $\gamma$ . Esta capacidad inductora de la producción de mediadores celulares relaciona la infección por *Brucella* con la respuesta inmunitaria. Así, durante la infección por *Bru* -

*cella* se produce una intensa respuesta inmunitaria humoral, con elevados títulos de anticuerpos frente al polisacárido O del LPS y una fuerte respuesta celular caracterizada por la hipersensibilidad retardada, ésta modulada en gran parte por las citocinas inducidas por el LPS. Sin embargo, y a pesar de los elevados títulos de anticuerpos alcanzados frente al polisacárido O, la respuesta inmunitaria humoral es poco eficaz desde el punto de vista protector, al menos en el caso del hombre. Por el contrario, en el ratón estos anticuerpos protegen al animal de la reinfección.

A pesar de todo ello, existen varios datos que cuestionan la importancia del LPS de *Brucella* como determinante de patogenicidad. En primer lugar, la principal diferencia estructural entre el LPS de las cepas lisas de *Brucella* y las rugosas radica en que el LPS de las cepas rugosas carece de gran parte de la cadena polisacáridica O. El resto de la molécula, el lípido A y el núcleo de KDO, es idéntico en los LPS de las cepas lisas y rugosas, y es preciso tener en cuenta que la inmensa mayor parte de las propiedades biológicas del LPS reside en el lípido A.

En segundo lugar, algunas especies rugosas de *Brucella* como *B. canis* y *B. ovis* son virulentas para sus hospedadores naturales, si bien es cierto que son poco virulentas o no lo son en absoluto para otros animales. Por último, *B. neotomae* es una especie lisa y sin embargo no es virulenta.

### **Proteínas de la membrana externa**

Las proteínas de la envoltura externa (OMP, Outer Membrane Proteins) de *Brucella* constituyen un conjunto de proteínas con variadas funciones para la bacteria, muchas de ellas no bien conocidas. Algunas forman parte de los poros o canales de la envoltura externa y por tanto regulan los intercambios con el medio externo. De esta forma pueden intervenir en la adaptación de la bacteria al ambiente intracelular dentro del fagocito. Otras proteínas forman parte de los anclajes de la envoltura externa al peptidoglicano.

Algunas de estas proteínas han sido implicadas en la virulencia de *Brucella* por cuanto diferentes estudios han demostrado la presencia de anticuerpos en animales que habían sufrido la enfermedad. Esto ha hecho que se haya inferido a estos anticuerpos una cierta capacidad protectora, si bien siempre inferior a la inferida a los anticuerpos anti-LPS en los ratones. Estos anticuerpos también han sido hallados en personas infectadas, aunque la respuesta serológica frente a estas proteínas es muy inferior a la producida frente al LPS.

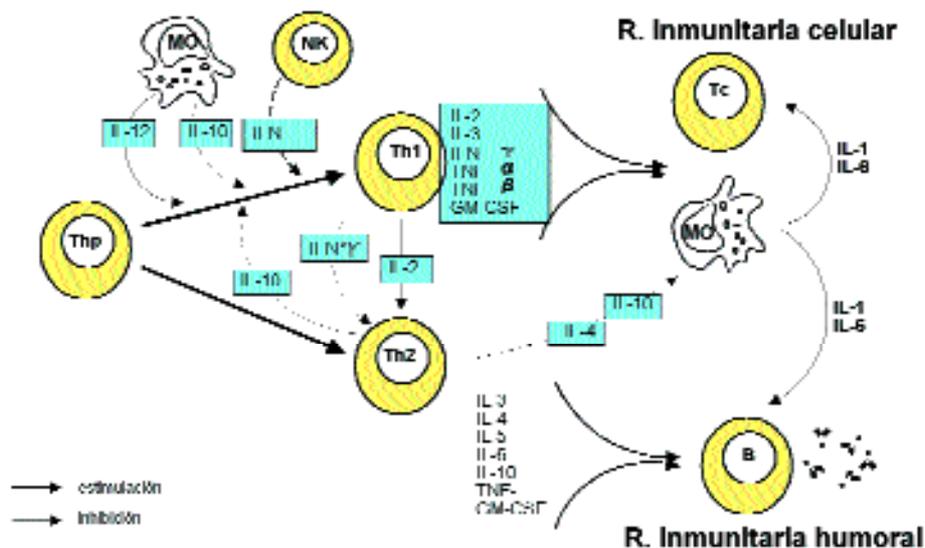


FIGURA 3. Producción de interleucinas y células diana de la respuesta inmunitaria sobre la que actúan.

MO: macrófago. Th1 y Th2: linfocito Th1 y Th2. B: linfocito B. NK: linfocito «natural killer»

## INTERVENCIÓN DE LAS CITOCINAS EN LA PATOGENIA DE LA BRUCELOSIS

Son muchos los estudios que se han realizado para determinar el efecto de las citocinas sobre la supervivencia intracelular de *Brucella*, si bien la mayoría de los estudios se ha realizado sobre células de origen murino.

En la defensa y rechazo de la infección brucelar el papel fundamental es asumido por la respuesta inmunitaria celular y más en concreto por los macrófagos activados. La estimulación de la respuesta inmunitaria y en particular la producción de IFN $\gamma$  por los linfocitos Th constituye el elemento central en la defensa frente a la infección por *Brucella* (Figura 3). El IFN $\gamma$  actúa sobre los macrófagos murinos aumentando su capacidad bactericida frente a *Brucella* al incrementar la explosión oxidativa y la producción de NO. A pesar de ello, y como se ha visto anteriormente, esta actividad no consigue la completa eliminación de las brucelas intracelulares. En este aumento de la capacidad brucelicida de los macrófagos mediada por el IFN $\gamma$  parece intervenir el TNF- $\alpha$  ya que la adición de anticuerpos anti-TNF- $\alpha$  inhiben la capacidad bactericida del macrófago. Sin

embargo, paradójicamente la adición de TNF- $\alpha$  a los cultivos de macrófagos infectados por *Brucella* no mejora la capacidad bactericida de éstos. Otro hecho interesante es que la fagocitosis de *B. abortus* viva por macrófagos murinos induce en éstos la producción de TNF- $\alpha$ , fenómeno que no sucede con la ingestión de *B. abortus* muerta.

Un aspecto importante que pudiera estar relacionado con la actividad patogénica de *Brucella* en el hombre es el hecho de que las brucelas producen un factor proteico que inhibe la expresión de TNF- $\alpha$  por los macrófagos humanos y, sin embargo, este factor es inactivo en los macrófagos murinos.

Por otra parte, los macrófagos murinos vírgenes no producen IL-1 durante la ingestión «in vitro» de brucelas tanto vivas como muertas, mientras que aquellos macrófagos procedentes de ratones infectados por *Brucella* producen IL-1 cuando son cultivados «in vitro» con brucelas vivas. Por el contrario, en todos los casos los macrófagos producen grandes cantidades de IL-6. Ambas interleucinas son importantes mediadores de la respuesta inmunitaria (Figura 3). La IL-1 producida por el macrófago infectado presenta una elevada actividad efectora en la respuesta inmune. Es un potente coestimulador de las células presentadoras del antígeno y de los linfocitos T, induce la proliferación de linfocitos B y la producción de inmunoglobulinas, induce la producción de proteínas de respuesta de fase aguda por el hígado, activa los fagocitos e interviene en los procesos inflamatorios y en la producción de fiebre.

Por su parte, la IL-6 interviene como coestimulador de los linfocitos T, crecimiento de los linfocitos B y producción de inmunoglobulinas. Además induce la producción del factor C3 del complemento, proteína C reactiva, fibrinógeno y otras proteínas plasmáticas de la respuesta de fase aguda. Así pues, gran parte de los síntomas presentes en la brucelosis se pueden explicar en función de la producción de estas citocinas.

## BIBLIOGRAFÍA:

- BALDWIN, CL AND WINTER, AJ. *Macrophages and Brucella. Immunology Series*. 1994; 60:363-380.
- FREER E, PIZARRO CERDÁ J, WEINTRAUB A, BENGOCHEA JA, MORIYON I, HULTENBY K, GORVEL JP, MORENO E. «The outer membrane of *Brucella ovis* shows increased permeability to hydrophobic probes and is more susceptible to cationic peptides than are the outer membranes of mutant rough *Brucella abortus* strains». *Infect Immun* 1999;67:6181-6.
- FREER E, MORENO E, MORIYON I, PIZARRO CERDÁ J, WEINTRAUB A, GORVEL JP. «*Brucella-Salmonella* lipopolysaccharide chimeras are less permeable to hydrophobic probes and more sensitive to cationic peptides and EDTA than are their native *Brucella* sp. counterparts». *J Bacteriol* 1996; 178:5867-76.

- LIAUTARD J-P, GROSS A, DORNAN J, KOHLER S. «Interactions between professional phagocytes and *Brucella* spp.» *Microbiología Sem.* 1996; 12:197-206.
- LOPEZ URRUTIA L, ALONSO A, NIETO ML, BAYON Y, ORDUÑA A, SANCHEZ CRESPO M. «Lipopolysaccharides of *Brucella abortus* and *Brucella melitensis* induce nitric oxide synthesis in rat peritoneal macrophages». *Infect Immun* 2000; 68:3 1740-5.
- MARTÍNEZ DE TEJADA G, PIZARRO CERDÁ J, MORENO E, MORIYÓN I. «The outer membranes of *Brucella* spp. are resistant to bactericidal cationic peptides». *Infect Immun* 1995;63:3054-61.
- NIELSEN K and DUNCAN JR (eds) *Animal Brucellosis*. (1990). CRC Press, Inc. Boca Raton, Florida (USA).
- ORDUÑA A, ORDUÑA C, EIROS JM, BRATOS MA, GUTIERREZ P, ALONSO P, RODRIGUEZ TORRES A. «Inhibition of the degranulation and myeloperoxidase activity of human polymorphonuclear neutrophils by *Brucella melitensis*». *Microbiología* 1991;7:113-9.
- ORDUÑA A, RODRÍGUEZ TORRES A. «Intracellular survival mechanisms in *Brucella*». En *Brucella and Brucellosis in man and animals*. E. Tumbay, S. Hilmi, O. Ang (eds). pag 39-51. FEMS. Estambul.
- SERRE A. «Immunology and pathophysiology of human brucellosis». (1989) En *Brucellosis: Clinical and laboratory aspects*. E. J. Young y M. J. Corbel (eds). pag 85-97. CRC Press, Inc. Boca Ratón, Florida (USA).
- SMITH, LD, and FICHT AT. «Pathogenesis of *Brucella*». *Crit Rev Microbiol.* 1990; 17:209-230.

# CLÍNICA DE LA BRUCELOSIS HUMANA

DR. JAVIER ARIZA CARDENAL  
Servicio de Enfermedades Infecciosas.  
Hospital de Bellvitge. Universidad de Barcelona

## INTRODUCCIÓN

La brucelosis se caracteriza por su extraordinario polimorfismo clínico, su curso ondulante y su tendencia a presentar recaídas y evolucionar a la cronicidad, debido a la capacidad de supervivencia intracelular del microorganismo causal. En cierto modo, el cuadro clínico viene determinado por la especie de *Brucella* responsable de la infección. Así, *B. melitensis* tiene mayor virulencia y muestra predisposición al desarrollo de recaídas y evolución a la cronicidad, *B. suis* produce con frecuencia formas localizadas crónicas con necrosis y supuración, mientras *B. abortus* se caracteriza por su menor invasividad, responsable de frecuentes formas asintomáticas y de fácil control terapéutico. En nuestro país la enfermedad se debe casi exclusivamente a *B. melitensis*.

Siguiendo su evolución natural, la infección puede autolimitarse en el intervalo de unos meses tras varias ondas febriles. Otras veces se establece una localización de la infección o el proceso no se resuelve espontáneamente y tiende a la recurrencia y a la cronificación. Cierta número de pacientes sufren una infección por completo asintomática. El período de incubación oscila en la mayoría de los casos entre 10 y 20 días, si bien algunas veces los síntomas aparecen más tardíamente, inclusive tras un período de varios meses. En estos casos, el antecedente epidemiológico, que es un elemento de gran importancia para establecer una sospecha diagnóstica, puede pasar desapercibido.

## MANIFESTACIONES SISTÉMICAS

El comienzo de la enfermedad es muy variable, habitualmente de forma aguda o subaguda, con fiebre elevada, escalofríos, sudación profusa de olor característico, cefalea, quebrantamiento general y artromialgias, síntomas que se establecen en el intervalo de unos días. La observación de bradicardia relativa a la intensidad de la fiebre, es un dato clínico sutil, presente en algunos casos y descrito también

en otras enfermedades infecciosas sistémicas. Actualmente, el patrón clásico de fiebre ondulante se observa con menor frecuencia que hace unos años, ya que los pacientes son atendidos en una fase más precoz de la enfermedad en numerosos casos o, a menudo, su curso está interferido por la antibioticoterapia. La presentación en forma de sepsis grave es rara y el desarrollo de shock séptico y coagulación intravascular diseminada (CID) es excepcional. Las formas clínicas solapadas, con períodos de evolución prolongados, cursan con febrícula, astenia y artralgias y son más características de las áreas con menor nivel sanitario. Alrededor de la tercera parte de los pacientes presenta tos seca o productiva, sin que se objetiven datos significativos en la exploración física respiratoria o en radiografía de tórax. Más del 20% tienen estreñimiento y, con menor frecuencia, diarrea entre el 5 y el 10%. Puede palparse hepatomegalia blanda, ligera o moderada en más del 50% de los casos, esplenomegalia en más del 30% y adenopatías en alrededor del 15%. Algo más del 5% de los pacientes presentan lesiones cutáneas, habitualmente en forma de una erupción papulonodular no pruriginosa, de elementos pequeños, predominante en el tronco y las extremidades; la presencia de un eritema nudoso-like es menos frecuente. El estudio histológico de estas lesiones cutáneas revela una infiltración linfocitocítica de la dermis de carácter granulomatoso, de la que puede aislarse en ocasiones el microorganismo.

## LOCALIZACIONES ESPECÍFICAS

El desarrollo de localizaciones específicas es característico de la brucelosis y se observa en alrededor del 30% de los pacientes. Pueden presentarse en cualquier fase de la enfermedad, si bien su frecuencia aumenta de forma significativa, en relación con el tiempo de evolución de la infección antes del inicio del tratamiento. Pueden ir acompañadas de síntomas sistémicos, pero éstos pueden ser poco expresivos o incluso inexistentes. A menudo, se presentan varias localizaciones conjuntamente.

### 1. Osteoarticulares

Son con mucho, las más frecuentes y de mayor significación clínica.

a) *Sacroilíitis*. Es hoy en día la más prevalente entre las localizaciones osteoarticulares (10-15%), predominando en la población joven de ambos sexos. El dolor y la impotencia funcional son a veces notables y se mantienen varias semanas, pero las secuelas son poco significativas. Las maniobras sacroilíacas y la presión sobre el punto sacroilíaco son dolorosos. En ocasiones, el cuadro clínico puede ser poco llamativo y de evolución benigna, pasando desapercibido. Puede ser bilateral o ir asociada a una espondilitis lumbar, factores todos ellos que difi-

cultan el diagnóstico. La interpretación de la radiografía de las sacroilíacas requiere una calidad técnica muy buena de la placa y resulta a menudo dudosa. A veces la hipercaptación visible en la gammagrafía con tecnecio es muy discreta. La aportación de las técnicas radiológicas más modernas, como la TAC o la RNM no es necesaria en la mayoría de casos.

b) *Espondilitis*. Se presenta en el 5-10% de los pacientes, se caracteriza por su gravedad y afecta sobre todo a varones de edad avanzada. Se acompaña en muchas ocasiones de fiebre, síntomas generales y hemocultivos positivos en una fase precoz de la enfermedad. Se localiza con mayor frecuencia en el segmento lumbar y afecta más de un nivel en el 10% de los casos. De manera característica el dolor es muy intenso, de carácter inflamatorio, aumenta con las maniobras de Valsalva y produce gran impotencia funcional. El paciente suele tener contractura de la musculatura paravertebral y dolor más o menos selectivo a la presión vertebral. Su confirmación diagnóstica inicial puede ser difícil ante la escasa expresividad de las exploraciones complementarias más rutinarias, por lo que cualquier dolor vertebral persistente debe hacer sospechar espondilitis. Las alteraciones radiológicas tardan varias semanas en aparecer, siendo las más tempranas la disminución del espacio discal o las erosiones del cuerpo vertebral, en especial en forma de epifisitis del ángulo anterosuperior. La hipercaptación en las gammagrafías con radioisótopos suele ser menos manifiesta que en las espondilitis piógenas. La práctica sistemática de una TAC o mejor una RNM en los pacientes con la sospecha o el diagnóstico de espondilitis es altamente recomendable. La definición de las lesiones es mucho mejor, con lo que se puede perfilar el diagnóstico y seguir más estrictamente la evolución. Ello es especialmente importante en los casos que se acompañan de extensión paravertebral o absceso osifluente, presente en alrededor del 15% de los casos de espondilitis.

c) *Coxitis*. En contraste con el protagonismo que se le reconocía en los tratados clásicos, la incidencia actual de la coxitis es baja, alrededor del 3%, pero a veces tiene una evolución grave. En el paciente adulto, a menudo deja secuelas funcionales, que acaban abocando a la implantación de una prótesis de cadera.

d) *Artritis periféricas*. Aunque más del 65% de los pacientes refieren artralgiás diversas y erráticas entre sus síntomas generales, sólo un grupo reducido, inferior al 5%, desarrollan una auténtica artritis periférica de grandes o pequeñas articulaciones. El curso clínico es variable, a veces autolimitado en días o semanas sin tratamiento específico, por lo que algunos autores las incluyen entre las artritis reactivas, relacionadas con un mecanismo patogénico de inmunocomplejos. No obstante, en cierto número de ocasiones, no distinguibles de los anteriormente mencionados, ni desde el punto de vista clínico, ni en las características del líquido articular, que suele ser un líquido inflamatorio inespecífico, el aislamiento del

microorganismo en dicho líquido articular, demuestra la naturaleza séptica de estas artritis. Con todo, en la mayoría de los casos la evolución es benigna, sin secuelas significativas, a diferencia de la evolución habitual de otras artritis sépticas.

e) *Inflamación tejidos blandos periarticulares*. Con notable frecuencia, entre un 10 y 15%, los pacientes desarrollan inflamación de los tejidos blandos periarticulares (tenosinovitis, bursitis), que se caracterizan por su curso errático. Su evolución es benigna y su importancia clínica estriba en que pueden plantear el diagnóstico diferencial con las auténticas artritis.

f) *Otras osteoartritis*. La osteomielitis no vertebral es anecdótica, predominando en la localización condrocostal o esternoclavicular. Su evolución clínica suele ser complicada, respondiendo con dificultades al tratamiento médico.

## 2. Neurobrucelosis

La afectación del SNC es, hoy en día, mucho menos frecuente (2-5%). Los tratados clásicos describían su gran polimorfismo clínico, acusado meningotropismo con predominio en las meninges basales y en la localización espinal y afección más frecuente del VIII par. Estas características se han visto en cierta forma modificadas. La mayoría de los casos actuales corresponden a meningitis, con un componente más o menos manifiesto de encefalitis, de curso relativamente agudo o solapado y crónico. Puede observarse todo tipo de focalidad neurológica y, en los casos de larga evolución, a veces hidrocefalia. La afectación vascular del SNC no es rara y puede manifestarse como accidentes isquémicos transitorios y otras veces como hemorragia subaracnoidea. Las formas de meningopolirradiculitis son poco frecuentes. En ocasiones se establece una epiduritis o un absceso epidural secundario a espondilitis. Rara vez los pacientes desarrollan mononeuritis o síntomas inespecíficos, como parestesias o temblor. El LCR es generalmente claro, con celularidad de predominio linfocítico, glucosa normal o baja y proteínas elevadas. Para el diagnóstico diferencial con la meningitis tuberculosa, que suele plantearse, no es útil la determinación de la adenosinadeaminasa en LCR, ya que puede estar aumentada en ambos procesos. Con cierta frecuencia, se plantea el diagnóstico de esta localización en un paciente con títulos serológicos positivos para *Brucella* en sangre. Es posible aislar el microorganismo del LCR al menos en la mitad de los casos. Las pruebas serológicas en el LCR tienen gran valor diagnóstico, pero hay que tener en cuenta que los títulos observados suelen ser bajos; la mayor sensibilidad del método de ELISA es en estos casos de especial utilidad.

## 3. Localización respiratoria

La afección establecida del tracto respiratorio es rara (2%), pero puede ocurrir en cualquier localización. No hay ninguna evidencia de que esta sintomatología sea

más prevalente en los pacientes que adquieren la enfermedad por vía inhalatoria. La presencia de broncoespasmo y expectoración hemática son relativamente frecuentes. Las formas más habituales son los infiltrados pulmonares, que suelen ser pequeños y en ocasiones erráticos. Más raramente se observan auténticas neumonías, con o sin cavitación pulmonar, nódulos o derrame pleural. La mayoría de las veces no es posible certificar la especificidad de las lesiones, ya que el aislamiento de *Bruccella* en el esputo resulta muy difícil, pero sí puede aislarse del líquido pleural.

#### **4. Localización genitourinaria**

La orquiepididimitis es un síntoma característico de la enfermedad, que se presenta en más del 5% de los varones. La brucelosis debe tenerse siempre en cuenta en el diagnóstico diferencial de un varón joven con orquitis. En general es unilateral, más del 85% de los casos, con una participación menor del epidídimo respecto de otras orquiepididimitis infecciosas y de evolución benigna. Normalmente, retrógrada en un intervalo inferior a 30 días con un tratamiento adecuado, pero en algunos casos la infección persiste y condiciona una recaída de la enfermedad. Raramente adopta la forma de un absceso testicular y requiere desbridamiento quirúrgico; en un 20% de los casos queda como secuela un discreto engrosamiento del epidídimo a la palpación, pero no suele asociarse a atrofia y esterilidad, inclusive en los casos de afectación bilateral.

La localización en otros tramos del sistema excretor es mucho más rara, destacando la prostatitis (1%). Alrededor del 5% de los pacientes desarrollan una ligera disfunción renal, manifestada por una discreta elevación del BUN y de la creatinina sérica y mínimas anomalías del sedimento urinario. La presencia de una glomerulonefritis o una pielonefritis, con mayor expresión clínica, es muy rara y traduce una infiltración linfocitaria intersticial, con lesión glomerular focal o sin ella. La brucelosis en el embarazo no produce aborto con una frecuencia sensiblemente superior a la de cualquier infección sistémica que curse con bacteriemia; ello contrasta con lo que ocurre en la brucelosis animal, en la que debido al mayor contenido en eritritol de su útero por el que el microorganismo muestra un notable tropismo, el aborto es una manifestación característica.

#### **5. Localización cardiovascular**

Menos del 2% de los pacientes hospitalizados por brucelosis presentan endocarditis. Sin embargo, esta localización reviste gran importancia por su gravedad y por ser responsable de la mayoría de las muertes de la enfermedad en la actualidad. Puede afectar válvulas previamente sanas, con predominio de la válvula aórtica sobre la mitral en una proporción 3-4:1. Su curso clínico suele ser agudo, con sepsis grave, de difícil control por la antibioticoterapia, y desarrollo frecuente de inestabilidad hemodinámica, en particular en su localización aórtica.

Macroscópicamente se encuentran a menudo grandes vegetaciones, abscesos anulares miocárdicos, ulceración y destrucción valvular.

Algunos pacientes presentan alteraciones de la repolarización en el ECG sugestivas de afectación pericárdica, pero la observación de una pericarditis grave, con manifestación clínica, es excepcional y puede asociarse a endocarditis. El microorganismo puede cultivarse del líquido pericárdico.

### **6. Localización hepática**

El 50% de los enfermos tienen una discreta citólisis, y alrededor del 30%, elevación de la fosfatasa alcalina, en general de escasa importancia; esta alteración bioquímica no suele producir ninguna otra sintomatología a parte de una moderada hepatomegalia blanda, más o menos sensible, es fácilmente reversible con el tratamiento y no requiere por sí misma ninguna medida terapéutica adicional. El sustrato histológico es el de una hepatitis intersticial, a menudo de carácter granulomatoso. La ictericia es excepcional.

La observación de un absceso hepático es más característica de la infección originada por *B. suis*, pero puede producirse también raramente en la enfermedad debida a *B. melitensis* (1%). A menudo adopta un patrón evolutivo tórpido, planteando el diagnóstico diferencial con otros abscesos hepáticos; con cierta frecuencia se aprecian algunas calcificaciones en las imágenes radiológicas, que pueden sugerir el diagnóstico. Suele requerir maniobras de punción o drenaje para su solución.

### **7. Localización ocular**

La afectación ocular es poco frecuente (2%) y se limita en general a defectos transitorios de la agudeza visual, sin anomalías detectables en la exploración ocular o, a lo sumo, a la observación de pequeños exudados en el fondo del ojo. Se ha descrito todo tipo de formas clínicas, entre las cuales la uveítis es la más común. Rara vez se desarrolla una endoftalmitis grave. El pensamiento clásico es que estas lesiones se producen mediante un mecanismo de hipersensibilidad, pero en algunos casos, puede aislarse el microorganismo del humor vítreo poniendo de manifiesto la naturaleza infecciosa del proceso.

### **8. Sangre y médula ósea**

Una tercera parte de los pacientes tienen la VSG normal y en sólo el 10% ésta es superior a 70 mm en la primera hora y en el 1% superior a 100 mm. Entre el 5 y el 10% presenta una anemia importante, por bloqueo medular. Alrededor del 80% tiene un recuento leucocitario normal o con tendencia a la leucopenia, pero

sólo el 15% tiene leucopenia significativa; la observación de leucocitosis es rara (5%). Por el contrario, a menudo los pacientes tienen una linfocitosis relativa (65%), que puede cursar como un síndrome mononucleósico; estas anomalías de la serie blanca pueden persistir durante un tiempo prolongado, incluso después de haber seguido una buena evolución clínica. Más del 30% de los casos tienen una discreta plaquetopenia, pero la observación de trombocitopenia grave es rara, y el desarrollo de CID, excepcional. Menos del 5% desarrollan una pancitopenia y en estos casos se demuestra habitualmente hemofagocitosis en la médula ósea como expresión de la hiperactividad macrofágica.

### Brucelosis crónica

Este término, utilizado para referirse a situaciones muy diversas, ha sido origen de cierta confusión. Debería reservarse para los pacientes cuya enfermedad lleva un período de evolución superior a los 6 meses. Por el contrario, no debería aplicarse a situaciones clínicas, por el solo hecho de ser solapadas, formas localizadas o para referirse a pacientes que presentan síntomas inespecíficos mucho tiempo después de finalizado el tratamiento, mientras sus títulos serológicos se han negativizado. En cualquier caso, en un paciente concreto, más que intentar discernir si el diagnóstico apropiado es el de brucelosis aguda o crónica, lo importante es intentar determinar si existe o no actividad de la infección y si puede beneficiarse, por tanto, de un tratamiento antibiótico adecuado.

### BIBLIOGRAFÍA

1. PEDRO PONS A, FARRERAS VALENTÍ P. *La brucelosis humana*. Barcelona/Buenos Aires. Salvat Editores SA. 1944
2. SPINK WW. *The nature of brucellosis*. University of Minnesota Press, Minneapolis 1956.
3. BUCHANAN TM, FABER LC, FELDMAN RA. «Brucellosis in the United States 1960-1972. Part I. Clinical features and therapy». *Medicine* 1974; 53: 403-413.
4. RIVERO PUENTE A, MARAVÍ POMA E, BURUSCO M, DÍAZ R. «Brucellosis». *Monografías Médicas*. Pfizer. 1980.
5. RODRÍGUEZ TORRES A, FERMOSE GARCÍA J, LANDÍNEZ LAGUNERO R. BRUCELOSIS. *Medicine* (Barc) 1983; 48: 36-50.
6. ARIZA J. *Brucelosis. Perspectiva actual de la enfermedad. Perfil de las inmunoglobulinas específicas en el curso de su evolución*. Tesis Doctoral. Universidad Autónoma de Barcelona, 1988.
7. YOUNG EJ. «An overview of human brucellosis». *Clin Infect Dis* 1995;21: 283-289.
8. LÓPEZ-CORTÉS LF, CRUZ RUIZ M, GÓMEZ-MATEOS J, JIMÉNEZ-HERNÁNDEZ, JIMÉNEZ-MEJÍAS E, PACHÓN J, CASTILLO J. «Adenosina deaminase activity in the CSF of patients with aseptic meningitis: utility in the diagnosis of tuberculous meningitis or neurobrucellosis». *Clin Infect Dis* 1995; 20: 525-530
9. ARIZA J. «Brucellosis». *Curr Opin Infect Dis* 1996; 9: 126-131
10. COLMENERO JD, REGUERA JM, MARTOS F, SÁNCHEZ DE MORA D, DELGADO M, AUSSE M, MARTÍN FARFAN A, JUAREZ C. «Complications associated with *Brucella melitensis* infection: a study of 530 cases». *Medicine* 1996; 75: 195-211

TABLA 1. Síntomas y signos generales de la brucelosis

Síntomas y signos	Pacientes (%)
Fiebre (>38 °C)	70-90
Febrícula	10-30
Apirexia durante toda la evolución	<1
Escalofríos	75-80
Sudación	90-95
Artromialgias	65-70
Tos	30-35
Expectoración	10-15
Estreñimiento	20
Diarrea	5-10
Dolor abdominal	2
Temblor de extremidades superiores	2
Parestesias	<2
Edemas maleolares	2
Hepatomegalia	40-60
Esplenomegalia	30-45
Adenopatías	15-25
Lesiones cutáneas	5

TABLA 2. Frecuencia de las diversas localizaciones

Localizaciones	Pacientes (%)
Osteoarticular	30-35
Orquiepididimitis	5-10
Respiratoria	<5
Neurobrucelosis	2-10
Endocarditis	1-2
Pericarditis	1
Alteraciones visuales	2

## DIAGNÓSTICO MICROBIOLÓGICO DE LA BRUCELOSIS

A. ORDUÑA DOMINGO  
R. ABAD FERNÁNDEZ  
M.P. ZARZOSA SANTAMARTA  
A. DUEÑAS DÍEZ  
M.A. MANTECÓN  
J.M. EIROS BOUZA  
A. RODRÍGUEZ TORRES

<sup>1</sup> Dpto. de Microbiología, Hospital Universitario,  
Facultad de Medicina. Valladolid

<sup>2</sup> Laboratorio Regional de Brucelosis.  
Servicio Territorial de Sanidad y Bienestar Social. Valladolid

La brucelosis humana es una antropozoonosis en la que la fuente de infección es siempre de origen animal con la única excepción de las infecciones accidentales por la manipulación de vacunas vivas o de aislados de *Brucella* en el laboratorio. Por tanto, en todo diagnóstico de brucelosis en el hombre existe un antecedente epidemiológico de un contacto con ganado infectado o sus productos.

El gran polimorfismo con que se presenta la brucelosis humana dificulta con frecuencia el diagnóstico clínico de la enfermedad. En las áreas con una alta endemicidad es necesario pensar en una brucelosis ante un cuadro febril, sudoral o álgico que no se pueda explicar por otra causa. En nuestra experiencia, las manifestaciones álgicas u osteoarticulares son relativamente frecuentes como formas de comienzo, siendo más comunes a medida que evoluciona la enfermedad y el enfermo acude tardíamente a la consulta.

Por otra parte, la brucelosis se caracteriza por su elevada tendencia a la recidiva por fracaso terapéutico cuya frecuencia varía mucho en función de las pautas terapéuticas seguidas. Además, tampoco son nada infrecuentes las reinfecciones, muchas veces difíciles de distinguir de las recidivas en particular durante el primer año de evolución.

En la mayoría de los casos, todos estos problemas sólo se pueden resolver con la ayuda del laboratorio de bacteriología, el cual, por otra parte, es imprescindible para confirmar la sospecha clínica de la enfermedad. Además, el diagnóstico

bacteriológico de la brucelosis suministra datos de extraordinario interés para el conocimiento de la epidemiología de esta enfermedad.

Al igual que en la mayoría de las enfermedades infecciosas, el diagnóstico de laboratorio de la brucelosis puede ser directo, aislando e identificando las bacterias causantes de la enfermedad o demostrando sus productos, o bien indirecto, demostrando la existencia de una respuesta inmunitaria frente a *Brucella*.

## DIAGNÓSTICO DIRECTO

### 1. Cultivo y aislamiento

El aislamiento e identificación de *Brucella* en los productos patológicos tiene ventajas indudables sobre el diagnóstico indirecto, pues, además de suponer un diagnóstico de certeza absoluta, permite la determinación de especie y biotipo de gran interés en epidemiología.

Sin embargo, el diagnóstico directo presenta algunos inconvenientes. Las bacterias del género *Brucella* crecen lentamente en los medios de cultivo utilizados para su aislamiento, lo que origina un retraso en el diagnóstico de la enfermedad que en algunas ocasiones puede superar las tres semanas. Además, la identificación completa precisa de medios y técnicas especiales, muchos de las cuales sólo están desarrollados en centros especializados. Por último, las brucelas son bacterias cuya manipulación no está exenta de riesgos, y las contaminaciones entre el personal, aún en centros particularmente bien dotados y con personal especialmente entrenado, no son infrecuentes.

Las brucelas se pueden aislar de numerosas localizaciones, dependiendo del período evolutivo de la enfermedad, de la forma clínica y del momento y condiciones en que se realice la toma. En relación con la selección de la muestra más adecuada para obtener el mejor rendimiento diagnóstico del cultivo es necesario recordar algunos aspectos sobre la patogenia de la brucelosis. La puerta de entrada es muy variada. Las brucelas pueden penetrar en el organismo a través de la piel y mucosas, utilizando de preferencia la mucosa respiratoria, digestiva y conjuntival. A partir de la puerta de entrada, las brucelas alcanzan los ganglios regionales, donde son ingeridas por las células fagocíticas. Algunas de ellas sucumben a la acción de los mecanismos bactericidas de los polimorfonucleares neutrófilos y macrófagos, pero otras resisten y son capaces de multiplicarse en el interior de los fagocitos.

A la multiplicación en los ganglios regionales sigue una fase bacteriémica que coincide con la sintomatología aguda de la enfermedad. Un aspecto interesante de

la brucelosis humana es que la brucelemia no siempre se acompaña de fiebre. La fase bacteriémica finaliza cuando las brucelas son aclaradas del torrente circulatorio por los fagocitos y acantonadas en los órganos ricos en células del sistema fagocítico -mononuclear, desde donde son liberadas de forma intermitente a la sangre. A partir de la sangre las brucelas pueden alcanzar diferentes órganos colonizándolos y provocando la aparición de formas focalizadas, entre las que destacan por su frecuencia o gravedad las orquitis, osteoartritis, neurobrucelosis y endocarditis brucelar.

Así pues, la brucelemia es un fenómeno que aparece en todas las formas de la brucelosis, si bien, esto no implica la presencia permanente de las brucelas en la sangre, ya que la bacteriemia es intermitente. Por tanto, el hemocultivo es el método de elección para el aislamiento de brucelas variando su eficacia en función del momento y condiciones de su realización. En los casos de brucelosis focalizada, y según la forma clínica que presente el paciente, puede ser conveniente, además, la siembra de diferentes productos patológicos como el líquido cefalorraquídeo, el líquido sinovial, la punción medular, etc.

La eficacia diagnóstica del hemocultivo depende por una parte de la forma clínica y del momento y circunstancias en las que se realice la toma, y por otra de los requerimientos respiratorios y metabólicos de las bacterias y por tanto de los medios empleados para su aislamiento.

Las fases bacteriémicas son más frecuentes y prolongadas al comienzo de la enfermedad por lo que el mayor número de aislamientos corresponde a los períodos iniciales de las formas agudas, disminuyendo el porcentaje de aislamientos a medida que progresa la enfermedad. Así los porcentajes de positividad del hemocultivo en las fases tempranas de la enfermedad pueden superar el 85%. Sin embargo, el número de hemocultivos positivos no es en absoluto desdeñable en las formas evolutivas, crónicas y focalizadas, por lo que se recomienda su realización aún en estas formas clínicas. En estos casos está indicado hacer tres hemocultivos a intervalos de 30 minutos, práctica que mejora el porcentaje de hemocultivos positivos.

Aunque el mayor número de aislamientos tiene lugar durante los períodos febriles, en nuestra experiencia más de un 30% de los hemocultivos positivos proceden de enfermos apiréticos en el momento de la extracción sanguínea. Por ello, aunque el hemocultivo haya de realizarse con preferencia en los períodos febriles, puede igualmente llevarse a cabo en los momentos de apirexia. En cualquiera de los casos, no cabe duda de que el hemocultivo debe realizarse en todos los pacientes sospechosos independientemente de la forma clínica o evolutiva de la enfermedad, e independientemente de que se realicen cultivos de otras muestras o de

que se soliciten otras pruebas diagnósticas. Incluso, es preciso tener en cuenta que el hemocultivo puede ser la única prueba diagnóstica que sea positiva en algunas circunstancias como sucede en las fases muy precoces de la enfermedad o en algunas inmunodeficiencias.

El tratamiento antibiótico del paciente previa a la realización del hemocultivo es la causa más importante de los fracasos de éste. Esto obliga a realizar la toma de sangre antes de la iniciación de la antibioterapia, y si ello no fuera posible, es necesario interrumpir la antibioterapia durante un período mínimo de 48 horas antes de la realización del hemocultivo.

Las brucelas son aerobias estrictas, si bien algunas biovariedades de *B. abortus* (de la 1 a la 4) precisan ineludiblemente para su aislamiento de una atmósfera parcial del 5 al 10% de CO<sub>2</sub>. En España la incidencia humana de *B. abortus* es muy baja (menos del 2% de todos los aislamientos humanos), aunque la incidencia es mayor en las regiones donde predomina el ganado vacuno. Independientemente de los requerimientos de *B. abortus*, es recomendable la utilización en todos los casos de una atmósfera parcial de CO<sub>2</sub> ya que ésta estimula el crecimiento de todas las brucelas.

Por otra parte, las brucelas no precisan medios especialmente ricos para su multiplicación. La mayoría de las cepas crecen bien en medios con peptona, y su desarrollo mejora con la adición de sangre o suero. Sin embargo, hay que tener presente la sensibilidad de las brucelas a determinados factores como las sales biliares, algunos colorantes y detergentes. Incluso algunos anticoagulantes como el polianetol sulfonato sódico interfieren en el crecimiento de las brucelas disminuyendo el porcentaje de aislamientos por hemocultivo. Por consiguiente deberán preferirse frascos de hemocultivo que incorporen otros anticoagulantes, preferiblemente citrato.

Entre los diferentes métodos que se han desarrollado para la realización del hemocultivo, la preferencia de los bacteriólogos se ha decantado hacia el uso de la técnica de hemocultivo en medio bifásico de Ruiz Castañeda debido al peligroso manejo de las brucelas. Este consiste en la inoculación de 5 a 10 ml de sangre en frascos herméticamente cerrados que contienen simultáneamente un medio líquido (caldo triptosa) y un medio de cultivo sólido (básicamente agar triptosa) en una de las paredes del frasco. Este tipo de frascos permite realizar las resiembras sobre el medio de cultivo sólido sin necesidad de la peligrosa manipulación de estos microorganismos. Además, se evita la contaminación del medio de cultivo por microorganismos ambientales, hecho muy importante si se tiene en cuenta que los frascos han de ser cultivados durante largos períodos de tiempo.

El lento crecimiento de las brucelas hace preciso mantener en incubación los hemocultivos durante un tiempo mínimo de 30 días a 37°C, siendo aconsejable aumentar este período a 45 días. La incubación ha de llevarse a cabo en estufa de CO<sub>2</sub>, aunque es más conveniente la utilización de frascos de hemocultivo que lleven incorporado dicho ambiente. En general, el mayor número de hemocultivos positivos aparece entre la primera y segunda semana de incubación, no siendo raro el crecimiento en fechas posteriores. En nuestra experiencia utilizando el medio bifásico de Ruiz Castañeda, sólo el 3,2% de las cepas crecieron antes del 6º día de incubación. En el 76,2% se detectó crecimiento entre el séptimo y decimoquinto día de incubación, en el 13,5% entre el decimoquinto día y el vigésimo primero y el 7% de los hemocultivos crecieron con posterioridad al día 21 de incubación.

En los últimos años se han desarrollado diferentes sistemas de hemocultivos automáticos o semiautomáticos, algunos de los cuales se basan en la detección del CO<sub>2</sub> producido por las bacterias durante su crecimiento. Entre estos métodos uno de los más ensayados es el Bactec. Este permite la detección de más del 95% de los cultivos positivos antes del 7º día de incubación tanto en muestras pediátricas como de adultos. Estos sistemas tienen indudables ventajas como la reducción del tiempo de espera para el diagnóstico y la detección automática del crecimiento bacteriano con lo que se evitan las contaminaciones durante las resiembras. Sin embargo, tienen el inconveniente de que se carece de una orientación diagnóstica sobre la bacteria que ha crecido. Este desconocimiento puede originar infecciones accidentales entre el personal de laboratorio al realizar las resiembras para la identificación de las bacterias crecidas, y no tomar las precauciones que se tomarían ante la sospecha de que la bacteria crecida pudiera ser una *Brucella*. Por el contrario, en los medios bifásicos la morfología de las colonias crecidas en el medio sólido pueden orientar hacia el diagnóstico de *Brucella*, aumentándose la seguridad en las resiembras.

Por último, otra de las muestras preconizadas para el aislamiento de *Brucella* es el aspirado de médula ósea, basándose en el hecho de la reclusión y multiplicación intracelular de las brucelas en el sistema fagocítico mononuclear. Sin embargo, los resultados de los cultivos de médula ósea no mejoran en general a los del hemocultivo, y siempre resultan más incómodos para el paciente.

## 2. Identificación

La identificación de género es relativamente sencilla y se basa en su morfología y características tintoriales. Las brucelas son cocos o cocobacilos gram negativos, pequeños con un tamaño entre 0,5 y 1 µm. Son inmóviles, aerobios incapaces de crecer en condiciones de anaerobiosis estricta. El metabolismo es

principalmente oxidativo mostrando muy poca capacidad fermentativa sobre los carbohidratos en los medios de cultivo convencionales. Para su crecimiento precisa diferentes aminoácidos, tiamina, biotina y nicotinamida. No requieren sangre ni los factores X (hemina) ni V (dinucleótido de adenina y nicotinamida). Poseen catalasa, oxidasa, nitrataasa, ureasa, excepción hecha de *B. ovis*. Algunas de ellas producen SH<sub>2</sub>. Su temperatura óptima de crecimiento son los 37°C y se desarrollan entre 6,6 y 7,4 de pH.

La identificación de especie y biotipo precisa de técnicas más complicadas, la mayoría de las cuales sólo se pueden realizar en centros especializados. La identificación se basa en: el requerimiento de CO<sub>2</sub> para su crecimiento, el crecimiento en presencia de colorantes, la producción de SH<sub>2</sub>, el estudio del metabolismo oxidativo y la lisotipia. Estos estudios se completan con reacciones de aglutinación con antiseros monoespecíficos frente a los antígenos A, M y R del polisacárido O del lipopolisacárido (Tabla 1).

### 3. Detección de productos bacterianos: ácidos nucleicos

El desarrollo de las técnicas de amplificación genómica y su aplicación al diagnóstico e identificación microbiana ha despertado un gran interés entre los diferentes grupos que se dedican al estudio e investigación de la brucelosis. Estas técnicas se basan en la reproducción «in vitro» del fenómeno de replicación del DNA bacteriano (técnicas PCR o polymerase chain reaction y sus derivadas). Para ello se selecciona el segmento de DNA a amplificar cuya secuencia de nucleótidos (normalmente entre 200 y 800) reúna las características de especificidad (la secuencia sólo se encuentra en el DNA del género o especie microbiana objeto de estudio), ámbito (la secuencia se encuentra en todos los individuos de ese género o especie) y estabilidad (la región seleccionada ha de ser muy estable y sufrir pocas mutaciones). Se añaden dos secuencias de pocos nucleótidos (denominadas primers o iniciadores) que son complementarias a las secuencias de nucleótidos de los extremos de la región de DNA seleccionada para su amplificación. Por último, se añaden una DNA-polimerasa (taq polimerasa) y los cuatro nucleótidos, y siguiendo unas condiciones cíclicas muy estrictas de tiempo y temperatura en un termociclador, se consigue obtener millones de copias de DNA idénticos a los de la región acotada. Una vez obtenidas estas copias (amplificados), se procede a su identificación por diferentes métodos, de los que el más utilizado es la hibridación con sondas DNA específicas para la región acotada.

En muchas circunstancias se utiliza como plantilla objeto de la amplificación una región de RNA ribosómico, en cuyo caso es necesario realizar previamente una conversión del RNA a DNA complementario (cDNA) por acción de una transcriptasa reversa.

Especie	Requerimiento CO <sub>2</sub>	Producción CO <sub>2</sub>	Crecimiento en presencia de Tionina Fucsina	Ag	Hospedador preferente	Patogenicidad para el hombre				
<b>B. abortus biovar</b>	1	+	+	-	+	A	Ganado	Moderada		
	2	+	+	-	-	A	vacuno y			
	3	+	+	+	+	A	otros			
	4	+	+	-	+	M	bóvidos			
	5	-	-	+	+	M				
	6	-	+	+	+	A				
	9	-	+	+	+	M				
	<b>B. melitensis biovar</b>	1	-	-	+	+	M		Ganado ovino y caprino	Alta
		2	-	-	+	+	A			
3		-	-	+	+	AM				
<b>B. suis biovar</b>	1	-	+	+	-	A	Porcino	Alta		
	2	-	-	+	-	A	Porcino	Baja (raro)		
	3	-	-	+	+	A	Porcino	Alta		
	4	-	-	+	-	AM	Renos Caribúes	Moderada		
	5	-	-	+	-	M	Roedores	Alta		
<b>B. neotomae</b>	-	+	-	-	A	Rata desierto	No hay casos Descritos			
<b>B. ovis</b>	+	-	+	-	R	Ovino	No hay casos Descritos			
<b>B. canis</b>	-	-	+	-	R	Perros	Baja (raros)			

TABLA 1: Principales características biológicas de las especies y biovariedades de *Brucella*.

Estas técnicas en teoría permiten la detección en las muestras patológicas de un escaso número de brucelas, obteniéndose un diagnóstico directo muy sensible incluso en aquellos pacientes en los que no se consigue crecimiento bacteriano (vgr en caso de tratamientos antibióticos previos). Así, estas técnicas de amplificación genómica han demostrado ser útiles en la detección de *Brucella* en algunos productos animales como la leche. Sin embargo, desde el punto de vista del diagnóstico humano y hasta el momento actual, los resultados no son del todo

satisfactorios. La sensibilidad conseguida es todavía muy baja debido fundamentalmente a varios factores: presencia de inhibidores de la taq polimerasa en los productos patológicos, gran contaminación por el DNA de las células sanguíneas, dificultades para romper la pared celular bacteriana y liberar los ácidos nucleicos, labilidad del RNA cuando es utilizado como plantilla, etc.

Además, se desconoce el significado que tiene la detección de DNA bacteriano en determinadas localizaciones de brucelosis focalizada ya que se ignora cuanto tiempo puede persistir el DNA bacteriano una vez resuelta la infección.

## DIAGNÓSTICO INDIRECTO O SEROLÓGICO

La respuesta inmunitaria humoral humana frente a la brucelosis se caracteriza por una producción inicial de IgM e IgG específicas frente a los antígenos brucelares, fundamentalmente frente al lipopolisacárido, que aumenta rápidamente después de producirse la infección. En los pacientes con una brucelosis aguda y en los que el tratamiento ha sido eficaz, los títulos de IgM declinan rápidamente en los meses siguientes; a los 12 meses menos del 20 % de los pacientes presentan este tipo de anticuerpos. Por el contrario, los títulos de anticuerpos de clase IgG, aparte de alcanzar niveles más altos que los de clase IgM, disminuyen más lentamente, de forma que pueden ser detectados 2 años después de finalizado el tratamiento en más del 50% de los pacientes. Esto quiere decir que la curación clínica no mantiene una correlación estricta con la curación serológica ya que es frecuente que los títulos de anticuerpos permanezcan elevados en pacientes clínicamente curados. En los pacientes en los que fracasa el tratamiento y en aquellos en los que se produce una recidiva, los anticuerpos de clase IgG se mantienen elevados o incluso con mucha frecuencia pueden experimentar un aumento en el título.

La brucelosis humana es una de las enfermedades donde más técnicas y variantes técnicas de diagnóstico serológico se han utilizado, lo que indica las dificultades que entraña el diagnóstico indirecto y su interpretación en esta enfermedad. Esto advierte a su vez sobre el hecho de que por sí misma ninguna prueba resuelve los problemas de diagnóstico serológico en la mayoría de los casos y adquiere una especial relevancia en áreas o regiones endémicas de brucelosis, donde un porcentaje importante de la población ha tenido algún contacto previo con las brucelas. Por todo ello a la hora de interpretar los resultados de las pruebas serológicas es preciso tener en cuenta una serie de hechos.

En primer lugar, el diagnóstico serológico se basa en la detección de la respuesta inmunitaria humoral del organismo al contacto con la bacteria. Por tanto es

una respuesta de carácter individual y, aunque en general esta respuesta sigue unos patrones bastante homogéneos entre las personas enfermas, no siempre necesariamente ha de suceder así.

En segundo lugar, la respuesta serológica, y por tanto la seropositividad de un número muy importante de pruebas (en particular, aunque no exclusivamente, todas aquellas que detecten la presencia de IgG específica) persistirá durante períodos de tiempo muy largos, incluso varios años, después de haberse superado la infección. Esto es especialmente frecuente cuando persisten los contactos con las brucelas, como sucede en ganaderos y agricultores de áreas endémicas. Al margen de estos grupos, la persistencia en la seropositividad de las pruebas aparece con frecuencia en personas no vinculadas a áreas endémicas.

En tercer lugar, la interpretación de los resultados de las pruebas serológicas en las formas crónicas o de evolución prolongada de la enfermedad, en pacientes con recaídas o en pacientes con antecedentes de brucelosis es problemática. No existen criterios de curación exclusivamente serológicos. La negatividad de las pruebas serológicas descarta en la mayoría de los casos la brucelosis, pero su positividad, en especial en los casos mencionados no confirma la enfermedad.

En cuarto lugar, las brucelas presentan antígenos comunes con otras bacterias como *Francisella tularensis*, *Yersinia enterocolitica* O:9, *Vibrio cholerae* y otras bacterias gram negativas, por lo que pueden existir reacciones cruzadas con pacientes infectados por estas bacterias o vacunados frente a ellas (vgr. cólera).

Entre las pruebas más utilizadas para el diagnóstico de la brucelosis humana se encuentran: el Rosa de bengala, la seroaglutinación de Wright y la prueba de Coombs anti-*Brucella*. Estas pruebas se caracterizan por su enorme sencillez, por la gran cantidad de información que suministran dado el elevado grado de conocimiento que se tiene sobre su comportamiento en la brucelosis humana, el alto nivel de estandarización de los reactivos y, no menos importante que los anteriores, el bajo coste de estas pruebas. Otras, utilizadas en décadas pasadas, como es el caso de la reacción de fijación del complemento han dejado de utilizarse en el diagnóstico humano, aunque mantienen toda su vigencia en el diagnóstico de la brucelosis en el ganado y constituyen la técnica de referencia para el diagnóstico de la brucelosis de algunas especies animales como la bovina.

En los últimos años se han desarrollado nuevas técnicas que permiten un estudio más preciso de la respuesta humoral, distinguiendo entre las diferentes clases de inmunoglobulinas participantes en dicha respuesta. Nos referimos a la inmu-

nofluorescencia, el radioinmunoensayo (RIA) y el enzimoimmunoensayo (ELISA) y sus variantes.

De todas ellas, la prueba de rosa de bengala, la seroaglutinación de Wright (SAT), la prueba de Coombs anti-*Brucella* y el enzimoimmunoensayo son las que tienen un mayor predicamento, si bien no todas participan de la misma utilidad diagnóstica.

*Rosa de bengala.* Es una prueba rápida de aglutinación en porta. Las brucelas están suspendidas en tampón lactato pH3,6 y teñidas con rosa de bengala, lo que permite una mejor visualización de la reacción de aglutinación. Es una prueba de reciente introducción para el diagnóstico humano, ya que con anterioridad se venía aplicando para el diagnóstico de la brucelosis en el ganado.

Es una prueba que tiene una buena concordancia con la prueba de seroaglutinación en tubo. En nuestra experiencia la concordancia entre ambas pruebas sobre sueros diagnósticos (primeros sueros obtenidos con la sospecha diagnóstica) en pacientes de brucelosis supera en 95%, mientras que en sueros evolutivos (tomados para el control serológico) y sueros de antiguos pacientes, la concordancia supera el 90%. Pocas veces se encuentra un suero con rosa de bengala positivo y seroaglutinación negativa.

Se caracteriza fundamentalmente por su sencillez, lo que unido a su buena sensibilidad para la detección de anticuerpos frente a *Brucella* y a su buena especificidad la convierten en una buena prueba de screening siempre y cuando se tengan en cuenta sus limitaciones. En nuestra experiencia sobre un total de 102 sueros diagnóstico procedentes de pacientes con brucelosis la sensibilidad del rosa de bengala ha sido del 94,1% y la especificidad del 99,1% (Tabla 2).

Sin embargo, la prueba de rosa de bengala no tiene el mismo valor diagnóstico si se realiza en un área endémica o en un área urbana de una región no endémica. Es claro que el valor predictivo negativo de la prueba de rosa de bengala es muy alto (95,2%), y que su negatividad prácticamente excluye la infección brucelar. Sin embargo, el valor predictivo positivo depende mucho de la muestra de población tomada como control sano, y ésta ha de ser un reflejo de la población. Así, en un área endémica la prueba tiene un valor predictivo positivo relativamente bajo debido a la existencia de un porcentaje importante de personas sanas que presentan anticuerpos frente a *Brucella* por haber sufrido la infección con anterioridad, y por tanto tienen un rosa de bengala positivo. Por el contrario, en un área no endémica la prueba tiene un elevado valor predictivo positivo y su positividad en una persona con clínica compatible y antecedentes epidemiológi-

	Rosa de Bengala	Aglutinación	Prueba de Coombs	EIA comercial				EIA S-LPS			
				IgG	IgA	IgM	Total	IgG	IgA	IgM	Total
<b>Sensibilidad</b>	94,1	94,1	100	68,6	68,6	54,9	96,0	92,1	88,2	82,3	100
<b>Especificidad</b>	99,1	99,1	99,1	97,5	100	100	97,5	99,1	100	100	99,1
<b>Valor predictivo positivo</b>	98,9	98,9	99	95,8	100	100	97	98,9	100	100	99
<b>Valor predictivo negativo</b>	95,2	95,2	100	78,5	78,9	72,2	96,6	93,7	90,9	86,9	100

TABLA 2: Validez de las pruebas serológicas en el diagnóstico de la brucelosis humana. (n=102 sueros diagnósticos y 120 sueros control de donantes) (porcentajes).

cos es prácticamente diagnóstica, mientras que la negatividad en el rosa de bengala aumenta la probabilidad de excluir la enfermedad.

Existe otro problema en la valoración de la prueba de rosa de bengala. Al ser una prueba fundamentalmente cualitativa (aunque se puede utilizar de una forma semicuantitativa repitiendo la aglutinación en porta con diluciones del suero) suministra muy poca información sobre la cantidad de anticuerpos, y por tanto no distingue entre una positividad debida a una enfermedad actual, con títulos elevados o un estado inmunitario por infección pasada con anterioridad. Ello obliga a la utilización de pruebas cuantitativas, fundamentalmente la seroaglutinación en tubo, la cual suministra una mayor aproximación a la cantidad de anticuerpos presentes en el suero del paciente.

Por otra parte, hay que tener en cuenta que entre un 5 y un 15% de los pacientes la prueba de rosa de bengala puede ser negativa. Ello es debido a varios factores entre los que destacan por su mayor frecuencia: un diagnóstico clínico muy precoz y por tanto todavía con ausencia de anticuerpos, y el diagnóstico de pacientes crónicos de larga evolución en los que no existan anticuerpos aglutinantes. En este último caso, el diagnóstico precisa de una prueba complementaria, que como la prueba de Coombs anti-*Brucella* nos demuestre la presencia de anticuerpos no aglutinantes.

*Seroaglutinación de Wright o seroaglutinación en tubo (SAT).* Es la prueba más difundida para el diagnóstico de la brucelosis en el hombre debido a la sencillez de su realización y al conocimiento que se tiene de ella en los pacientes de brucelosis. Consiste en el enfrentamiento en tubo de una suspensión estandarizada de brucelas con diluciones progresivamente crecientes de suero del paciente. La existencia de aglutinación indica la presencia de anticuerpos frente a *Brucella*. La mayoría de los anticuerpos que se ponen de manifiesto en la reacción de aglutinación están dirigidos frente al polisacárido O del lipopolisacárido liso de la envoltura externa de *Brucella*. Esto reviste una gran importancia ya que las cepas utilizadas en la suspensión han de ser lisas y por tanto que expresen en su superficie lipopolisacárido liso. Para su realización práctica requiere el empleo de suspensiones anti génicas de calidad, preparados de forma rigurosa y adecuadamente estandarizados. La utilización de suspensiones con un elevado porcentaje de brucelas en fase rugosa (y por tanto con LPS deficiente en polisacárido O) (ver capítulo 2), las variaciones en la concentración de la suspensión o las modificaciones de pH pueden originar importantes alteraciones en los títulos y hacer irreproducible la prueba, dando lugar a resultados de difícil interpretación.

En este tipo de pruebas intervienen fundamentalmente las IgM y en menor medida las IgG, aunque estas últimas pueden comportarse en algunos casos como anticuerpos incompletos o bloqueantes. La especie de *Brucella* utilizada en el diagnóstico no influye en absoluto en el resultado, ya que tanto *B. melitensis* como *B. abortus* presentan antígenos comunes en el lipopolisacárido y por tanto presentan reacciones serológicas cruzadas. Esta reactividad cruzada hace imposible que se pueda identificar mediante la serología cual es la especie de *Brucella* causante de la infección en un paciente de brucelosis. De hecho, la mayor parte de las pruebas de seroaglutinación comercializadas utilizan suspensiones de *B. abortus* (*B. abortus* biovar 1 cepas 99 Weybridge o cepa 1119-3 USDA) siendo así que la inmensa mayoría de las brucelosis humanas diagnosticadas en España lo son por *B. melitensis*.

Existen dos variantes de la seroaglutinación en tubo en la que se ponen de manifiesto la participación que tienen las IgM en la SAT. Son las pruebas de seroaglutinación en tubo con ditiotreitól (SAT-DTT) o con 2-mercaptoetanol (SAT-2ME). En ambos casos la adición de DTT o 2ME al tubo da aglutinación destruye la capacidad aglutinante de las IgM, pero no afecta a las IgG. Por tanto el título remanente cuando se utiliza DTT o 2ME en la SAT es debido a las IgG aglutinantes.

El título inicial de seroaglutinación en tubo con el que se presenta el paciente de brucelosis varía según el tiempo de evolución de la enfermedad antes de que se produzca la sospecha diagnóstica y se soliciten los análisis. La interpretación de

los resultados de la seroaglutinación depende de varios factores y el establecimiento de un título diagnóstico ha de ser valorado muy cuidadosamente y según las áreas y la experiencia del laboratorio. En este sentido es muy importante la calidad del antígeno utilizado. En general, un título de 1/80 (<sup>a</sup> 100 UI/ml) en área urbana o en zona no endémica en un paciente con clínica sugerente es muy indicativo de brucelosis. Sin embargo, en una zona rural endémica un título de 1/80 puede significar un recuerdo inmunológico de una infección pasada, por lo que es conveniente realizar pruebas complementarias como una prueba de SAT-DTT, un test de Coombs y/o la repetición de la serología en una nueva muestra tomada 7 a 10 días más tarde. En estos casos existe una elevada probabilidad de padecer una brucelosis cuando existe una disminución de los títulos de seroaglutinación previo tratamiento con DTT o 2ME, una prueba de Coombs con títulos muy elevados, o un aumento de al menos 4 veces el título de seroaglutinación o Coombs en el segundo suero en relación con el obtenido en primer lugar.

En la fase aguda de la enfermedad la seroaglutinación alcanza en general títulos más altos (1/320 o superiores). Sin embargo, en estos casos puede aparecer un fenómeno de prozona en la que los sueros son negativos a diluciones bajas (generalmente 1/20 o 1/40) pero son positivos con diluciones elevadas.

Al igual que tiene lugar con la prueba de rosa de bengala, y con una frecuencia variable que se puede cifrar entre el 5 y 15 %, la seroaglutinación en tubo puede ser negativa (Tabla 3). Esto puede suceder en diferentes ocasiones: en casos de diagnóstico precoz de la enfermedad antes de que tenga lugar la seroconversión, en algunos pacientes con una inmunodeficiencia idiopática o yatrogénica, en pacientes no respondedores, y en algunos casos en pacientes con brucelosis crónica. En todos estos casos el hemocultivo es una herramienta diagnóstica importante, en especial cuando se trata de pacientes diagnosticados muy precozmente. En este último caso, la repetición de la serología en una nueva muestra tomada 7 a 10 días más tarde aclarará el diagnóstico al producirse la seroconversión. En los casos de pacientes inmunodeprimidos y en el escaso número de pacientes no respondedores que pueden aparecer, la serología es de relativamente baja utilidad. En los pacientes con brucelosis crónica, la seronegatividad o presencia de títulos bajos en la prueba de seroaglutinación de Wright contrastan normalmente con títulos elevados en la prueba de Coombs anti-*Brucella* (la mayoría superiores a 1/640)(Tabla 4).

La aglutinación es bastante específica, por lo que los títulos positivos indican casi siempre un contacto previo con *Brucella*. Pueden aparecer falsos positivos en pacientes infectados con *Yersinia enterocolitica* O:9 o en personas inmunizadas frente a *Vibrio cholerae*. Pero éstas son circunstancias excepcionales en nuestro área. Más problemas puede originar la comunidad antigénica que *Brucella* presenta con *Francisella tularensis* debido a la posibilidad de brotes epidémicos de tularemia en nuestro país. En nuestra experiencia sobre un total de 56 pacientes diagnosticados de tularemia, 4 casos (7,1% del total de casos de tularemia) fue-

	Rosa de Bengala	Aglutinación	Prueba de Coombs	EIA IgG	S-LPS IgA	IgM	IgG,A,M
<b>Aguda</b>	68 94,4%	68 94,4%	72 100%	66 91,6%	62 86,1%	62 86,1%	72 100%
<b>Crónica</b>	28 93,3%	26 86,6%	30 100%	28 93,3%	28 93,3%	22 73,3%	30 100%

TABLA 3: Porcentaje de seropositividad en las distintas pruebas en función del cuadro clínico.

	Brucelosis aguda (n=72)		Brucelosis crónica (n=30)	
	SAT	Coombs	SAT	Coombs
<b>Negativa</b>	5,5	0	13,3	0
<b>1/20</b>	5,5	0	6,6	0
<b>1/40</b>	5,5	2,7	10,0	0
<b>1/80</b>	11,1	5,5	26,6	0
<b>1/160</b>	19,4	13,8	20,0	6,6
<b>1/320</b>	16,6	5,5	13,3	13,3
<b>1/640</b>	22,2	22,2	6,6	20,0
<b>≥ 1/1280</b>	13,8	50,0	3,3	60,0

TABLA 4: Distribución de los títulos de seroaglutinación de Wright (SAT) y Coombs anti-Brucella en pacientes de brucelosis aguda y crónica (porcentajes).

ron positivos en la seroaglutinación frente a *Brucella* desde el primer momento, y 3 pacientes más seroconvirtieron frente a *Brucella* en alguno de los controles realizados durante el seguimiento de la tularemia (Tabla 5). En cualquiera de los casos, en general los títulos de seroaglutinación frente a *Brucella* son muy inferiores a los que aparecen en la seroaglutinación frente a *Francisella tularensis*. Dada la coincidencia de factores de riesgo para ambas enfermedades en el mismo paciente (agricultores y ganaderos que además son cazadores o mujeres de cazadores), no es infrecuente que la seropositividad frente a *Brucella* sea debida a un recuerdo inmunológico por contactos anteriores con *Brucella*. Como se observa en la tabla 5, los títulos frente a *Brucella* no guardan relación con los títulos obtenidos frente a *Francisella tularensis*. En todos los casos excepto en los pacientes

	Brucelosis		Tularemia	
	SAT	Coombs	AT	MAG
<b>Paciente 1</b>	1/40	1/80	1/640	1/320
<b>Paciente 2</b>	1/160	1/160	1/1280	1/640
<b>Paciente 3</b>	1/20	1/20	1/1280	1/1280
<b>Paciente 4</b>	1/160	1/320	1/320	1/320
<b>Paciente 5</b>				
<b>mes 0</b>	Neg	Neg	1/160	1/160
<b>mes 2</b>	1/20	1/20	1/320	1/80
<b>mes 9</b>	1/20	1/20	1/80	1/80
<b>Paciente 6</b>				
<b>mes 0</b>	Neg	Neg	1/320	1/160
<b>mes 2</b>	1/40	1/40	1/320	1/320
<b>mes 4</b>	1/20	1/20	1/320	1/320
<b>Paciente 7</b>				
<b>mes 0</b>	Neg	Neg	1/1280	1/1280
<b>mes 2</b>	1/20	1/20	1/5120	1/1280

SAT: seroaglutinación de Wright; AT: aglutinación frente a *Francisella tularensis*

MAG: microaglutinación frente a *Francisella tularensis*.

TABLA 5: Reacciones cruzadas de los sueros de pacientes de tularemia en la seroaglutinación frente a *Brucella*. Correspondencia de títulos.

2 y 4, los títulos frente a *Brucella* son muy inferiores a los obtenidos frente a *Francisella tularensis* y sin significado diagnóstico frente a *Brucella* (inferiores a 1/80). En estos casos es muy probable que la seropositividad frente a *Brucella* sea debida a la reacción cruzada con *Francisella tularensis* tal y como se aprecia de forma más evidente en los casos 5, 6 y 7. En estos pacientes, los sueros iniciales son seronegativos frente a *Brucella*, pero a medida que progresa la respuesta inmunitaria en el transcurso de la tularemia, se vuelven positivos frente a *Brucella*. Por otra parte, los elevados títulos frente a *Brucella* observados en los pacientes 2 y 4 hacen sospechar que estos pacientes habían sufrido previamente una infección brucelar, y el padecimiento de la tularemia ha actuado como recuerdo inmunológico (ninguno de los 2 pacientes tenía brucelosis ni antecedentes de dicha enfermedad en los 2 años anteriores).

*Prueba de Coombs anti-Brucella.* Es una prueba que permite la detección de anticuerpos no aglutinantes. Es una prueba más compleja que la de la seroaglutinación.

nación y tan específica como ella. El suero se incuba con la suspensión de brucelas, después se lava la suspensión para eliminar los anticuerpos no unidos a las bacterias y por último, y una vez resuspendidas las brucelas se añade un antisero con anticuerpos anti-inmunoglobulinas humanas. Estos producirán la aglutinación de las bacterias al unirse a los anticuerpos incompletos del paciente fijados a las brucelas. Dadas sus características técnicas, la prueba de Coombs siempre ha de presentar títulos iguales o superiores a la de aglutinación.

La prueba de Coombs plantea problemas interpretativos similares a la seroaglutinación, aunque con algunas particularidades derivadas del tipo de anticuerpo que participa en la reacción. Estos son principalmente de clase IgG y se caracterizan por los elevados títulos que alcanzan, la larga persistencia después de la infección y ser los más abundantes en el transcurso de una respuesta inmunitaria secundaria o en el transcurso de una infección prolongada. Por tanto, la prueba de Coombs se caracteriza por tener títulos más altos que la seroaglutinación de Wright, y dadas las diferentes curvas evolutivas de las IgG e IgM las diferencias entre los títulos de una y otra prueba se acentúan a medida que transcurre el tiempo y evoluciona la enfermedad. Estas diferencias son más evidentes en los casos de brucelosis crónica o de evolución prolongada, en las cuales es frecuente encontrar reacciones de seroaglutinación negativas o con títulos muy bajos (1/20 o 1/40, y rara vez superan el título 1/320) y pruebas de Coombs con títulos muy elevados (superiores a 1/640 e incluso superiores a 1/10240).

La definición de título significativo de infección basado en la prueba de Coombs está sujeta a las mismas consideraciones epidemiológicas y clínicas que la seroaglutinación. En general, un título de 1/160 en un paciente sin antecedentes de brucelosis que procede de un área urbana o no endémica es muy indicativo de infección brucelar. Más problemática resulta la interpretación del Coombs en un área endémica por cuanto los títulos de Coombs suelen persistir por encima de 1/160 durante períodos de tiempo superiores a 2 años después de la curación. El diagnóstico en casos de reinfección o de recidiva plantea en general importantes problemas, siendo fundamental el conocimiento de los antecedentes de brucelosis y su evolución. En este tipo de pacientes suele aparecer un repunte o un mantenimiento de títulos altos tanto en la seroaglutinación como en el Coombs.

Otro caso frecuente en áreas endémicas es el diagnóstico de brucelosis en pacientes que relatan una historia de brucelosis de meses o incluso años, con sintomatología larvada. En estos casos, los títulos de Coombs suelen ser muy elevados (superiores a 1/640 e incluso a 1/10240) y se mantienen altos hasta dos y tres años, mientras que la seroaglutinación es negativa o presenta títulos muy bajos (en general inferiores a 1/80).

*Pruebas de enzimo inmunoensayo (ELISA).* Son las técnicas más recientemente incorporadas al diagnóstico y seguimiento de la brucelosis humana. En relación con las pruebas anteriormente citadas de rosa de bengala, seroaglutinación de Wright, y Coombs anti-*Brucella*, presentan algunas ventajas entre las que destacan la posibilidad de realizar estudios individualizados de cada clase y subclase de inmunoglobulinas específicas frente a los diferentes antígenos brucelares, y la posibilidad de automatizar las pruebas. Sin embargo, son técnicas que presentan serios inconvenientes. Por una parte, son pruebas muy caras comparadas con las anteriores, y por otra, plantean importantes problemas metodológicos y de interpretación. Entre ellos destaca la no existencia de unos estándares que permitan interpretar los resultados obtenidos tanto en términos diagnósticos como evolutivos, así como las dificultades que existen para la comparación de resultados entre las diferentes pruebas ELISA.

Las pruebas ELISA comerciales utilizan diferentes antígenos obtenidos de muy diferentes formas (extractos antigénicos sin definir, antígenos corpusculares sonificados, lipopolisacáridos, etc.), utilizan diferentes concentraciones de antígeno para revestir las placas y diferentes procedimientos metodológicos (tiempos y temperaturas de incubación, tipos de conjugados anti-inmunoglobulinas, etc.). Todo ello, unido a la no inclusión de controles o estándares universalmente conocidos o aceptados, origina una gran variabilidad de resultados que dificultan enormemente su interpretación. Otro aspecto importante en relación con la mayoría de las pruebas ELISA anti-*Brucella* comercializadas es la carencia de un sistema que permita cuantificar de forma reproducible y fiable la cantidad de anticuerpos presentes en el suero del paciente. La realización sistemática de una titulación mediante el sistema de ensayo de diluciones seriadas del suero resulta inviable económicamente.

El conocimiento de la clase de inmunoglobulina participante en la respuesta inmunitaria tiene interés para enfocar el diagnóstico de la brucelosis en el hombre. Pero es necesario tener en cuenta de que existen sus limitaciones. En principio podría suponerse que el estudio de la presencia de IgM específica al igual que sucede con otras enfermedades infecciosas, podría resolver el diagnóstico de la brucelosis. Sin embargo, el porcentaje de pacientes con brucelosis que presentan anticuerpos de clase IgM detectables en las diferentes pruebas de ELISA es relativamente bajo. En experiencia de Colmenero et al, utilizando un equipo de ELISA IgM anti-*Brucella* comercial sólo consigue una sensibilidad del 62%. Utilizando otros equipos comerciales para la detección de ELISA IgM específica, la sensibilidad hallada por nuestro grupo ha sido del 55% (Tabla 2). Hemos producido en nuestro propio laboratorio equipos de ELISA frente al lipopolisacárido de *Brucella* y hemos obtenido una sensibilidad en la prueba de ELISA IgM del 82%. Esta sensibilidad disminuye al 73% en el caso de pacientes con brucelosis cróni-

ca. Ariza et al, también con equipos producidos por ellos mismos consiguen una sensibilidad del 93%. Estos resultados muestran la enorme variabilidad en la sensibilidad de la prueba de ELISA IgM específica según las diferentes modalidades técnicas, e indica así mismo que en un elevado porcentaje de pacientes no es posible detectar esta clase de inmunoglobulina.

Y al contrario, las IgM específicas pueden persistir positivas en un porcentaje apreciable de pacientes durante períodos de tiempo superiores a 18 meses. Estos resultados indican que la prueba de ELISA IgM específica constituye un complemento para el diagnóstico de la brucelosis, y que su positividad es altamente indicativa de una brucelosis teniendo en cuenta que su negatividad no descarta la enfermedad y que puede haber casos de pacientes antiguos ya curados en los que persistan las IgM específicas.

La prueba de ELISA IgG resulta ser más sensible que la prueba de ELISA IgM alcanzando una sensibilidad superior al 92% en los equipos producidos en los propios laboratorios frente al lipopolisacárido, siendo notablemente inferior con los equipos comerciales (alrededor del 70%). La sensibilidad se mejora cuando se utiliza un conjugado policlonal que detecte simultáneamente IgG e IgM específicas (sensibilidades superiores al 90% en el caso de equipos comerciales y próximas al 100% con equipos de producción propia). Sin embargo, el valor diagnóstico de las IgG específicas disminuye por cuanto su persistencia en pacientes curados puede ser de varios años, e incluso puede ser positiva en personas que no refieren haber sufrido una brucelosis.

Esto es particularmente crítico cuando se trata de diagnosticar a pacientes con antecedentes de haber sufrido una brucelosis tiempo atrás, o cuando proceden de áreas endémicas. En estas circunstancias, el establecimiento de un valor umbral indicativo de brucelosis resulta altamente problemático ya que la mera detección de anticuerpos específicos no indica enfermedad, y menos cuando se utilizan estas técnicas en las que una de sus principales características, en determinadas circunstancias, es su alta sensibilidad.

## **BIBLIOGRAFÍA:**

- ARIZA J, PELLICER T, PALLARES R, FOZ A, GUDIOL F. «Specific antibody profile in human brucellosis». *Clin Infect Dis*. 1992;14:131-140.
- ARIZA J. «Brucellosis». *Curr Opin in Infect Dis*. 1996;9:126-131.
- CASANAS M.C., QUEIPO-ORTUNO M.I., RODRÍGUEZ TORRES A., ORDUÑA A., COLMENERO J.D., MORATA P. «Specificity of a polymerase chain reaction assay of a target sequence on the 31-kilodalton Brucella antigen DNA used to diagnose human brucellosis». *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 200; 20:127-31.

- CORBEL MJ, STUART FA, BREWER RA. «Observation on serological cross-reactions between smooth Brucella species and organisms of other genera». *Rev Develop Biol Stand* 1984;56:341-348.
- CUERVO M. *Respuesta inmunitaria humoral en la brucelosis humana y su utilidad para el diagnóstico serológico*. Tesis Doctoral. Universidad de Valladolid. Junio 1998.
- DIAZ R, MORIYÓN I, GAMAZO C, ALONSO-URMENETA B, DE LA VIUDA M. «Laboratory diagnosis of human brucellosis. Proceedings of Prevention of Brucellosis in Mediterranean Countries». CEC-CIHEAM 1991: 93-102. Oct 29-30; Valetta (Malta), CIHEAM 1992.
- ORDUÑA A, ALMARAZ A, PRADO A, GUTIERREZ MP, GARCIA PASCUAL A, DUEÑAS A, CUERVO M, ABAD R, HERNÁNDEZ B, LORENZO B, BRATOS MA, RODRÍGUEZ TORRES A. «Evaluation of an immunocapture-agglutination test (Brucellacapt) for serodiagnosis of human brucellosis». *J Clin Microbiol* 2000 Nov 38:11 4000-5
- PELLICER T, ARIZA J, FOZ A, PALLARÉS R, GUDIOL F. «Specific antibodies detected during relapse of human brucellosis». *J Infect Dis* 1988;157:918-924.
- RODRÍGUEZ TORRES A, FERMOSE J. «Brucellosis». *Medicine* (ed. Española) 1987; 76:3165-3177.
- RODRÍGUEZ TORRES A. «Diagnóstico de la brucelosis humana». *Rev Esp Reumatol* 1988; 15:204-214.
- ROMERO C, GAMAZO C, PARDO M, LOPEZ-GOÑI I. «Specific detection of Brucella DNA by PCR». *J Clin Microbiol* 1995;33:615-617.
- YOUNG EJ. «Serologic diagnosis of human brucellosis: analysis of 214 cases of agglutination test and review of the literature». *Rev Infec Dis* 1991; 13:3592-3572.

## TRATAMIENTO DE LA BRUCELOSIS

DR. JAVIER ARIZA CARDENAL

Servicio de Enfermedades Infecciosas. Hospital de Bellvitge

*Brucella* tiene la capacidad de sobrevivir y multiplicarse en el interior de las vacuolas de los fagocitos séricos y viscerales, donde queda protegida de la acción bactericida de los anticuerpos y de muchos antibióticos. Un tratamiento antibiótico adecuado debe tener, por tanto, una buena actividad *in vitro* y apropiada penetración intracelular. La valoración de la eficacia de una antibioterapia se halla dificultada por el curso ondulante de la enfermedad, su tendencia a desarrollar recaídas y la múltiple expresividad de sus manifestaciones clínicas. La delimitación precisa de la frecuencia de recaídas y de evolución a la cronicidad puede estar influido por criterios de subjetividad y variar de unos autores a otros.

A pesar de que el tratamiento de la brucelosis ha sido tema de continua controversia, hay ciertos aspectos que actualmente están bien establecidos:

1. La antibioterapia acorta el período natural de la enfermedad
2. La infección por *B. melitensis* es la que tiene mayor tendencia a cursar con recaídas y evolucionar a la cronicidad. Por el contrario, la infección originada por *B. abortus* ocasiona frecuentes formas asintomáticas y de fácil control terapéutico.
3. La prolongación de la antibioterapia constituye un punto decisivo para el éxito terapéutico.
4. Ningún antibiótico por sí solo logra una erradicación bacteriana suficientemente satisfactoria, por lo que es recomendable recurrir a asociaciones de antibióticos con efecto sinérgico o aditivo para conseguir mejores resultados en un menor período de tratamiento.
5. El desarrollo de recaídas cuando se utiliza una pauta antibiótica determinada no está en relación con diferencias en el grado de sensibilidad antibiótica de las diversas cepas a la terapéutica empleada.

6. Los microorganismos de los pacientes, aislados durante el episodio de recaída, mantienen una susceptibilidad antibiótica idéntica a la de las cepas de infección inicial, por lo que los episodios de recaída pueden tratarse con las mismas pautas de tratamiento.

Con la mayoría de los tratamientos se produce una respuesta inicial, observándose una defervescencia de la fiebre en unos pocos días. Algunos pacientes pueden experimentar un incremento de la fiebre y de sus síntomas generales, en general poco significativo, en las primeras 24-48 h de iniciado el tratamiento (efecto Spink), lo que traduce una rápida destrucción bacteriana. Sólo en casos excepcionales, esta respuesta paradójica adquiere gravedad clínica y requiere la administración de glucocorticoides para su control.

Las tetraciclinas son los antibióticos más eficaces y constituyen la base de cualquier combinación antibiótica utilizada, en razón de su gran actividad *in vitro* [concentración inhibitoria mínima (CIM) 0,12-0,25 mg/mL] y su penetración intracelular. La doxiciclina, por la comodidad de su posología y buena tolerancia, permite una administración prolongada y suele ser la más empleada. Debe recordarse la necesidad de separar la ingesta de productos lácteos o antiácidos un intervalo de 2 horas para asegurar la correcta absorción del antibiótico. También hay que tener en cuenta el riesgo de fototoxicidad, circunstancia que se observa con relativa frecuencia si no se toman las medidas de precaución convenientes, por lo que debe recomendarse a los pacientes el protegerse de la luz solar en lo posible, durante el tratamiento. El porcentaje de recaídas en la infección por *B. melitensis* tras una pauta de 3 semanas es del 30%, y tras una de 6 semanas, del 15%.

La estreptomycinina y los demás aminoglucósidos tienen una actividad *in vitro* buena (CIM de estreptomycinina de 0,5-1 mg/mL), pero una penetración intracelular deficiente, por lo que se han mostrado ineficaces utilizados como monoterapia. Sin embargo, asociados a las tetraciclinas consiguen un efecto sinérgico muy notable, demostrado tanto en los estudios *in vitro* como en los de experimentación animal y también en los resultados del tratamiento de la brucelosis humana. El aminoglucósido más empleado históricamente ha sido la estreptomycinina, con pocas complicaciones si el paciente no tiene factores subyacentes predisponentes para ototoxicidad. Con la asociación de doxiciclina (100 mg/12 h p.o. durante 45 días) y estreptomycinina (1 g/día por vía i.m. en los primeros 15 días, 750 mg en los pacientes mayores de 50 años), considerada el tratamiento clásico de la enfermedad, los fracasos terapéuticos son muy poco frecuentes y el porcentaje de recaídas no mayor del 5%. En los últimos años, tras el reconocimiento de la posibilidad y conveniencia de la utilización de la monodosis diaria en el manejo de los

aminoglucósidos, se ha incorporado la idea de sustituir a la estreptomina. La gentamicina a la dosis media de 4 mg/kg/d administrada en monodosis im durante 2 semanas puede ofrecer probablemente algunas ventajas y su empleo se recomienda en la actualidad. La combinación de doxiciclina-aminoglucósido es, entre las diversas pautas antibióticas disponibles, la que aporta una actividad antibiótica mayor y su indicación es especialmente necesaria en las formas más graves o complicadas de la enfermedad.

La rifampicina tiene una buena actividad *in vitro* (CIM 1 mg/mL) y una penetración intracelular adecuada, pero no proporciona resultados satisfactorios por sí sola. Suele administrarse a la dosis de 15 mg/kg y día (900 mg/d por término medio), en una sola dosis matutina en ayunas. Asociada a la doxiciclina ha mostrado una actividad antibiótica inferior a la de la combinación clásica, puesta de manifiesto especialmente cuando se utilizan pautas cortas de tratamiento (alrededor de 30 días). No obstante, si se administran ambas drogas durante 45 días, se consiguen buenos resultados en las formas no complicadas de la enfermedad. Por su comodidad y tolerancia y la posibilidad de prescindir de la utilización de aminoglucósidos por vía parenteral, es utilizada rutinariamente en muchas ocasiones y considerada la principal alternativa al tratamiento clásico. No obstante, no debe olvidarse que es sólo una alternativa oral y más cómoda, pero menos activa que el tratamiento clásico, que es el tratamiento de primera elección. En algunos pacientes se han observado niveles séricos de doxiciclina inferiores a los esperados cuando se utiliza esta combinación de doxiciclina y rifampicina, como consecuencia de la activación del metabolismo hepático que origina la rifampicina, lo que podría justificar algunos de los fallos clínicos observados.

El cotrimoxazol tiene una buena actividad *in vitro* (CIM, 6,25 mg/mL), pero los resultados obtenidos en los animales de experimentación han sido poco alentadores y su utilización en el tratamiento de la brucelosis humana, en pautas de 45 días de duración, se acompaña de un índice de fracasos inaceptable. Así pues, su empleo no se recomienda, excepto como alternativa secundaria y asociado a otras drogas.

Las fluoroquinolonas de 2ª generación tienen buena actividad *in vitro* (CIM 0,5 mg/mL) y alcanzan altas concentraciones tisulares intracelulares y extracelulares. Sin embargo, su actividad bactericida disminuye en el medio ácido intracelular del fagolisosoma y los datos obtenidos en la infección del ratón y en la brucelosis humana han sido poco satisfactorios. Además, su administración está contraindicada en niños y embarazadas, en los que el tratamiento de la enfermedad tropieza con la dificultad adicional de no poder disponer de las tetraciclinas. Las fluoroquinolonas de 3ª y 4ª generación son más activas, pero también pierden actividad en

el medio intracelular. Las combinaciones de doxiciclina o rifampicina con quinolonas o cotrimoxazol han sido utilizadas por algunos autores, pero existen pocos resultados contrastados y deben ser consideradas alternativas secundarias.

Los resultados disponibles respecto del uso de azitromicina en la infección experimental del ratón son contradictorios y la experiencia disponible de su utilización en brucelosis humana es muy escasa. Otros antibióticos, como las cefalosporinas de tercera generación o el imipenem, tienen una actividad *in vitro* relativamente buena, pero no son alternativas terapéuticas de interés.

El tratamiento de algunas situaciones clínicas requiere ciertas consideraciones. En la embarazada una opción razonable es la rifampicina administrada durante un mínimo de 2 meses o hasta el parto, dependiendo del momento de la gestación en el que tenga lugar la enfermedad. La brucelosis infantil tiene posiblemente una evolución más benigna que la del adulto, si bien la frecuencia de recaídas en los niños mayores de 7 años es similar a la de los adultos. Para la brucelosis en niños menores de 8 años, en los que el uso de tetraciclinas puede conllevar alteraciones en el proceso de la dentición, también la rifampicina puede ser la mejor alternativa, administrada durante 4-6 semanas y asociada los primeros días a un aminoglucósido; la combinación de rifampicina y cotrimoxazol durante 6 semanas se ha mostrado como una alternativa oral aceptable.

En una gran mayoría de casos, la presencia de las localizaciones más frecuentes, tales como sacroilíitis, afectación de partes blandas periarticulares, artritis periféricas etc. no tiene una gran significación en la evolución de la enfermedad, ya que no comportan una mayor frecuencia de recaídas y no requieren para su tratamiento una modificación de la antibioterapia convencional. Sin embargo, en algunas localizaciones especiales, como es el caso de las espondilitis, endocarditis y neurobrucelosis, es conveniente prolongar la administración de la antibioterapia oral. Así, en ciertos pacientes con espondilitis de evolución complicada, sobre todo si se acompañan de un absceso osifluente, es aconsejable un período mínimo de 8 semanas de doxiciclina; el absceso, si no es muy grande, puede curarse sólo con antibióticos. La inmovilización, mediante el reposo absoluto en cama o la implantación de un corsé ortopédico, es un elemento importante del tratamiento de los pacientes con espondilitis, para aliviar el dolor y evitar en lo posible las secuelas de carácter mecánico. La triple asociación de doxiciclina, rifampicina y aminoglucósidos suele utilizarse en los pacientes con endocarditis y neurobrucelosis, si bien su indicación no está suficientemente establecida. En los pacientes afectados de endocarditis se pretende con ello aumentar la actividad bactericida sérica, ya que esta infección es muy difícil de erradicar; la endocarditis aórtica requiere, la mayoría de las veces, un recambio valvular, para cuya indica-

ción rigen los mismos criterios actualmente utilizados en las restantes endocarditis infecciosas. Es prudente utilizar la triple terapia durante unas tres semanas y prolongar la antibioticoterapia oral con doxiciclina y rifampicina hasta completar un período no inferior a los 2 meses. El pronóstico de la endocarditis brucelar ha cambiado notablemente en los últimos años con el desarrollo de la cirugía cardíaca y de la antibioticoterapia. En los pacientes con neurobrucelosis, la triple asociación pretende contrarrestar los problemas de penetración antibiótica a través de la barrera hematoencefálica; puede seguirse una pauta similar a la referida para la endocarditis, aunque la duración de la pauta oral tiene que individualizarse y en algunos pacientes es aconsejable prolongarla durante meses, según la evolución clínica y los datos del LCR. También pueden requerir una prolongación de la antibioterapia los raros casos que cursan con formas abscesificadas, las osteoartritis muy establecidas y las orquiepididimitis persistentes.

En casos seleccionados de brucelosis grave, con repercusión sistémica muy importante, puede ser beneficiosa la adición de prednisona o metilprednisolona (1 mg/kg y día) durante los primeros días.

## **EVOLUCIÓN Y MANEJO PRÁCTICO DE LOS PACIENTES**

Con cualquiera de estas pautas de tratamiento, la respuesta inicial es rápida, desapareciendo la fiebre y los otros síntomas generales en pocos días. Tras el final del tratamiento algunos pacientes persisten con astenia, febrícula mínima, algias diversas u otros síntomas inespecíficos de difícil interpretación. En muchas ocasiones éstos desaparecen espontáneamente tras las primeras semanas o meses, pero en otros casos los pacientes acaban desarrollando una recaída de la enfermedad. Otros pacientes presentan recaída tras un intervalo libre asintomático. En cualquier caso, las recaídas suelen presentarse en el curso de los primeros meses, raramente tras un intervalo libre asintomático superior a los seis meses siguientes a la finalización del tratamiento. Su diagnóstico clínico puede resultar fácil el alrededor del 75 % de los casos, pero en el resto los síntomas pueden ser muy solapados. En general, los síntomas son más benignos que los observados durante la enfermedad inicial, aunque pueden presentarse nuevas focalidades y, en ocasiones, de notable gravedad. Si bien la eficacia de la antibioterapia es el principal factor relacionado con la presencia de recaídas, existen otras circunstancias asociadas dependientes del huésped y que conviene tener en cuenta. Los pacientes con una forma clínica inicial de la enfermedad más florida, con síntomas generales de mayor intensidad, mayor frecuencia de hallazgos a la exploración física (hepatomegalia, esplenomegalia y adenopatías) y de alteración de la bioquímica hepática y plaquetopenia, presentan recaída con mayor frecuencia, qui-

zás como expresión de una particular relación entre la virulencia del microorganismo y los mecanismos defensivos del huésped en estos casos. En el mismo sentido, también puede observarse una asociación entre la frecuencia de positividad de los hemocultivos y la presencia de recaídas. La brucelosis en el anciano es a menudo una enfermedad más grave, acompañada de una mayor frecuencia de localizaciones y complicaciones, pero excluida esta variable, la edad no es un factor de riesgo independiente de recaída de la enfermedad. Los hombres parecen recaer más que las mujeres, sin que se tenga una explicación clara para ello; se ha aludido a factores hormonales o bien al menor contenido de hierro en el organismo de la mujer, secundario a las pérdidas menstruales, como posibles explicaciones. De hecho, se ha demostrado un aumento de resistencia a la infección en animales con ferropenia y, a la inversa, el hierro se ha considerado un factor que aumenta la virulencia de *Brucella*. Los pacientes que reciben un tratamiento muy precoz pueden tener un mayor riesgo de recaer, como consecuencia de la posible interferencia producida en la respuesta inmunológica propia de la enfermedad no tratada. Una observación similar fue constatada en los pacientes con fiebre tifoidea y en animales con brucelosis. Ello no debe entenderse, por supuesto, como una contraindicación para iniciar un tratamiento precoz, ya que este pequeño riesgo se ve compensado con creces por el beneficio de acortar sensiblemente el período sintomático y evitar la aparición de localizaciones y de formas de evolución crónica. De hecho, los pacientes que reciben un tratamiento tardío a menudo desarrollan síntomas inespecíficos diversos, astenia y artromialgias que persisten meses después de finalizar el tratamiento y que podrían tener una base inmunológica.

Para el diagnóstico de recaída, la serología tiene la limitación de que en los primeros meses los títulos serológicos persisten a menudo elevados en pacientes que siguen una buena evolución clínica; hay que recordar que una variación serológica sólo se considerará valorable si es al menos de 2 diluciones, tras ser analizadas ambas muestras de suero en paralelo, es decir simultáneamente. En estas condiciones puede observarse un incremento serológico de IgG y con menor frecuencia de IgA, detectable en la seroaglutinación y con más fiabilidad en el test de Coombs y ELISA IgG e IgA.

En el diagnóstico de estas situaciones es particularmente necesario la práctica de hemocultivos, que pueden resultar positivos en alrededor del 60% de los pacientes con recaída, incluso en casos con una sintomatología muy escasa. En los casos con hemocultivos negativos la confirmación diagnóstica puede resultar muy difícil y la actitud práctica dependerá de la situación clínica. La evolución de los pacientes a largo plazo plantea también algunos problemas, ya que no existe un criterio definido de curación de la enfermedad y los títulos serológicos pueden

mantenerse durante mucho tiempo. Cualquier interpretación de la persistencia de títulos serológicos elevados debe hacerse a la luz de los datos clínicos y no justifica nunca por sí misma la decisión de una nueva terapéutica antibiótica. Ante la sospecha diagnóstica de recaída de la enfermedad se administrará de nuevo la antibioterapia con los mismos criterios utilizados para la enfermedad inicial.

Desde el punto de vista práctico, es aconsejable la práctica de un control clínico mensual durante los primeros 3 meses, así como a los 6 y 12 meses de seguimiento, junto con un estudio serológico rutinario en todos los pacientes al final del tratamiento y a los 3, 6 y 12 meses. Siempre que la situación clínica no sea satisfactoria deben practicarse hemocultivos y serología.

TABLA 1. *PORCENTAJE DE RECAÍDAS TRAS DIFERENTES PAUTAS DE TRATAMIENTO*

<b>Pautas de tratamiento</b>	<b>Recaídas (%)</b>
Tetraciclinas 21 días	30
Tetraciclinas 42 días	15
Tetraciclinas 21 días + estreptomicina 14 días	15
Tetraciclinas 30 días + estreptomicina 14 días	7-8
Doxiciclina 45 días + estreptomicina 14 días	3-5
Doxiciclina 45 días + netilmicina 7 días	14
Doxiciclina 45 días + gentamicina 7 días	14
Doxiciclina 30 días + rifampicina 30 días	38
Doxiciclina 45 días + rifampicina 45 días	5-15
Cotrimoxazol 45 días	40

TABLA 2. FACTORES ASOCIADOS A RECAÍDA EN LA BRUCELOSIS HUMANA

**Factor fundamental:**

- Antibioterapia: Tipo y tiempo corto de administración

**Factores significativos:**

- Infecciones por *Brucella melitensis*
- Presencia de localizaciones (endocarditis, neurobrucelosis, espondilitis, abscesos, algunas osteoartritis y orquitis)\*

**Factores de menor significación\*\***

- Gravedad de la forma clínica
- Positividad de los hemocultivos
- Sexo masculino
- Corta evolución de la enfermedad al inicio del tratamiento

\* Es aconsejable prolongar el tratamiento.

\*\* No justifican prolongar el tratamiento.

TABLA 3. CONTROLES RECOMENDADOS EN EL SEGUIMIENTO DE LOS PACIENTES CON BRUCELOSIS

Tiempo	Tipo de Control
Final del tratamiento	Control Clínico Serología
Post-tratamiento	
1 <sup>er</sup> mes	Control Clínico
2 <sup>o</sup> mes	Control Clínico
3 <sup>er</sup> mes	Control Clínico + Serología
6 <sup>o</sup> mes	Control Clínico + Serología
12 <sup>o</sup> mes	Control Clínico + Serología

\* Se practicarán hemocultivos y serología siempre que la situación clínica lo requiera.

**BIBLIOGRAFÍA**

1. SPINK WW. *The nature of Brucellosis*. Minneapolis. University of Minnesota Press. 1956.
2. ARIZA J. «Brucellosis 1984». *Medicina Interna (MTA)* 1984; 2 (3) :113-164
3. MARTÍN S, GUINEA L, CARRERO P et al. «La brucellosis después del tratamiento: diagnóstico de las recidivas». *Med Clin* 1992; 99:13
4. ARIZA J, GUDIOL F, PALLARÉS R et al. «Treatment of human brucellosis with doxycycline plus rifampin or doxycycline plus streptomycin, a randomized, double-blind study». *Ann Intern Med* 1992; 117: 25-30.
5. COLMENERO JD, FERNÁNDEZ GALLARDO LC, AGÚNDEZ JAG, SEDEÑO J, BENÍTEZ J, VALVERDE E. «Possible implications of doxycycline-rifampin interaction for treatment of brucellosis». *Antimicrob Agents Chemother* 1994; 38: 2798-2802.
6. ARIZA J, CORREDOIRA JC, PALLARÉS R et al. «Characteristics of and risk factors for relapse of brucellosis in humans». *Clin Infect Dis* 1995; 20: 1241-1249.
7. SOLERA J, RODRIGUEZ ZAPATA M, GEIJO P et al. «Doxycycline-rifampin versus doxycycline-streptomycin in treatment of human brucellosis due to *Brucella melitensis*». *Antimicrob Agents Chem - ther* 1995; 39: 2061-2067.
8. YOUNG EJ. «An overview of human brucellosis». *Clin Infect Dis* 1995; 21:283-290.
9. ARIZA J. «Brucellosis». *Curr Opin Infect Dis* 1996; 9: 126-131