

BRUCELOSIS

MONOGRAFIA DEL POSTGRADO DE
ENFERMEDADES INFECCIOSAS

NANCY PIÑEYRO REPETO



5075



Noviembre 1994.-
Recibido y aprobado
para su publicación
Escuela de Graduados

[Handwritten signature]

BRUCELOSIS. Revisión bibliográfica.

INTRODUCCIÓN.

La brucelosis es una enfermedad infecciosa, producida por bacterias del género *Brucella*, que afecta tanto a animales (sobre todo domésticos) como al hombre, constituyéndose así en una zoonosis. Esta enfermedad se encuentra distribuida en todo el mundo. En nuestro país es poco frecuente, y se la consideraba casi desaparecida desde el año 1964, en que se inició la vacunación de terneras, pero desde 1990 a la fecha se han diagnosticado algo más de cien casos, originados a partir de cerdos que han ingresado en forma ilegal al país, y que han incumplido por tanto con requisitos sanitarios.

En el Uruguay ésta es una enfermedad estrechamente vinculada a la actividad laboral, ya que afecta principalmente a personas que realizan tareas relacionadas con la faena de animales.

Se impone por tanto, la consideración diagnóstica de esta entidad y un minucioso interrogatorio epidemiológico en los casos clínicos compatibles, y fundamentalmente, la puesta en funcionamiento de medidas sanitarias y preventivas pertinentes. De estas últimas depende la disminución de su impacto en la salud humana, en los costos que la atención de estos pacientes demanda y en la producción ganadera del país, con su consecuente repercusión en las exportaciones.

HISTORIA.

Esta enfermedad existe desde hace muchos años, afectando sobre todo a animales.

Se la ha conocido a través del tiempo y en diferentes lugares con distintos nombres: melitococia, fiebre ondulante, fiebre de Malta, fiebre del Mediterráneo.

Cuando afecta a los animales se la denomina como: aborto contagioso, aborto infeccioso, aborto epizoótico. En bovinos se la conoce como enfermedad de Bang.

La enfermedad en el hombre fue descrita en 1860 por Morston. En 1887 Bruce aisló *Brucella melitensis* del bazo de varios soldados que fallecieron de fiebre de Malta.

En los primeros años de este siglo se descubrió que esta enfermedad era una zoonosis y también que el reservorio de *B. melitensis* era la cabra. Estos conceptos se reafirmaron con la

observación realizada en dependencias del ejército británico donde se prohibió el consumo de leche de cabra y de los productos manufacturados a partir de la misma, comprobándose la llamativa disminución de casos de enfermedad, respecto a la población general.

En 1911 Bang comprobó que la brucelosis del ganado bovino se debía a *B.abortus* y en 1930 Hardy y colaboradores descubrieron que *B.suis* también producía brucelosis en humanos.

En 1969 un empleado de laboratorio presentó infección debida a *B.canis*

En nuestro medio, el doctor Antonio Casamagnaghi diagnosticó por primera vez *B.abortus* en bovinos en el año 1928. La Policía Sanitaria Animal constata la difusión de la infección en el ganado bovino del país, no encontrándose la afección en otras especies como ovinos, equinos y cabras.

En 1931 se comunica el hallazgo de los primeros casos de brucelosis humana en nuestro país.

El Profesor Pablo Purriel comienza sus investigaciones sobre la enfermedad en 1938 y en el año 1942 crea el "Centro de Investigación y Estudio de la Brucelosis", como dependencia del Banco de Seguros del Estado, publicando en 1944 su monografía sobre el tema en la que analiza más de 70 casos en los que se basa para describir las peculiares formas de presentación de la enfermedad en nuestro medio .

En 1964 se inició la vacunación de bovinos con la cepa 19 de *B.abortus* obteniéndose inmejorables resultados a punto tal que, los pocos casos diagnosticados, se han presentado en sólo en personas profesionalmente vinculadas al manejo de vacunas. Es muy diferente la situación con *B.suis* , de la cual se han diagnosticado aproximadamente una centena de casos desde inicio de la década del 90, como lo expone la doctora Rosa Niski en su trabajo realizado con 89 pacientes asistidos por el Banco de Seguros del Estado desde el año 1990 al año 1997. De estos pacientes, 79 pertenecen al sexo masculino y el 97.7 % de los mismos corresponde a trabajadores de plantas frigoríficas, trabajando el 62% del total de infectados en la realización de la faena. En 81 de los pacientes estudiados la enfermedad se manifestó por fiebre, sudoración, Artralgias, mialgias ,astenia. Dentro de las manifestaciones localizadas predominaron las osteoarticulares. Un paciente presentó endocarditis brucelósica, debiendo destacarse que el mismo presentaba como antecedente una valvulopatía reumática.

El 27% de los pacientes estudiados evolucionó favorablemente y el 73% restante presentó la forma crónica.(29)

CARACTERÍSTICAS DEL GÉRMEN.

En el género *Brucella* se diferencian clásicamente seis especies: *B.abortus*, *B.suis*, *B.melitensis*, *B.ovis*, *B.canis* y *B.neotomae*. Recientemente se ha aislado una nueva cepa procedente de

animales mamíferos marinos , la cual ha sido denominada *B. maris*.(28). Dentro de las tres primeras especies , se distinguen distintos biotipos gracias a características bioquímicas o comportamiento ante sueros monoespecíficos A (abortus) y M (melitensis)(16). Los biotipos son: para *B. abortus*:1,2,3,4,5,6,7y 9; para *B. melitensis*:1,2,y 3 y para *B. suis* :1,2,3 y 4.

Recientemente la realización de estudios con hibridación de ADN ha permitido establecer que el género *Brucella* está constituido por una sola especie :*B. melitensis*, la cual presenta diversas biovariedades pero, con fines taxonómicos y para evitar confusiones, se sigue utilizando la nomenclatura antes mencionada.

Las brucelas son cocobacilos Gram negativos pequeños, inmóviles, se les puede encontrar aislados ó en grupos, no presentan plásmidos, no tienen flagelos ni cápsula y no forman esporas. Son aerobios estrictos, aunque algunas especies requieren 5-10% de CO₂ para su aislamiento primario. Son organismos productores de catalasa pero la producción de oxidasa, ureasa y H₂S es variable según las especies.

Su crecimiento es lento debiendo esperarse hasta tres o cuatro semanas para considerar que un cultivo es negativo.

Los medios a utilizar para el aislamiento de estas bacterias no son los habituales; requieren tiamina, biotina y niacina. Es común que se utilice el medio bifásico de Castañeda para su cultivo.

Al multiplicarse estos gérmenes forman colonias esferoidales de 2-7 mm que presentan aspecto húmedo, son traslúcidas y levemente opalescentes.

Las distintas especies varían en cuanto en sus reacciones bioquímicas, huésped específico y patogenicidad para el ser humano.

Veremos a continuación las propiedades bioquímicas de cada especie.

B. melitensis:

- En medio peptonado produce H₂S en pequeñas cantidades.
- Crece en medios con fucsina básica y tionina.
- Posee antígeno "M" predominante.

B. abortus:

- Suele necesitar CO₂ para su desarrollo, sobre todo en el desarrollo primario,
- En general produce H₂S en las primeras 24 a 48 hs, de su desarrollo.
- No crece en tiamina.
- Posee antígeno "A" predominante.

B. suis:

- Puede no producir H₂S o producirlo en grandes cantidades.
- Su crecimiento es favorecido por tionina e inhibido por fucsina básica.

B. neotomae:

- Produce H₂S.
- No crece en fucsina básica pero si en tionina.
- Posee antígeno "A" predominante.

B. ovis:

- Requiere atmósfera con 5% a 10% de CO₂.
- No produce ácido sulfúrico.
- Crece en medios con tionina y fucsina básica.
- Tiene antígeno rugoso. No posee antígeno "A" ni "M".
- Tiene aglutinación cruzada con *B. canis*.

B. canis:

- No produce ácido sulfúrico.
- No crece en fucsina pero sí en tionina.
- Tiene un antígeno rugoso. (19)

ESTRUCTURA ANTIGENICA

El principal componente antigénico de brucelas es el lipopolisacárido de su pared. El mismo puede presentar reacciones cruzadas con otros gérmenes Gram negativos tales como: *Yersinia enterocolitica*, *Francisella tularensis*, *Salmonella* 0,3, *E. coli* 0:157 y *Vibrio cholerae* si las especies de brucelas se encuentran en fase lisa.

La expresión de antígenos varía según el germen se encuentre en su fase lisa o rugosa. Dos determinantes antigénicos son los más conocidos: "A" (*abortus*) y "M" (*melitensis*) y sólo se presentan en la fase lisa. *B. abortus* y *B. suis* expresan el antígeno "A". *B. melitensis* expresa el antígeno "M".

B. canis y *B. ovis* sólo se encuentran en fase rugosa, por lo cual no presentan los antígenos antes mencionados. Esta característica está vinculada a la ausencia de virulencia para el ser humano manifiesta por estas especies.

A excepción de *B. canis*, las demás especies presentan un ácido ciclopropano de 19 carbonos que es útil para identificación por cromatografía en fase líquida y gaseosa.

EPIDEMIOLOGÍA.

En todo el mundo se ha detectado infección por *Brucella*, en el ser humano y, en mayor proporción en animales, pero la distribución de distintas especies y biotipos no es homogénea.

Las zonas más afectadas en el mundo comprenden los países ganaderos del Mediterráneo, el golfo arábigo, el sub-continente de la India, partes de México, América Central y de América del Sur. Ha reemergido en Malta y Oman.

Según datos de OPS/OMS del año 1986, *B. abortus* presentaba mayor difusión a nivel mundial en animales domésticos. En seres humanos, la brucelosis causada por *B. Melitensis* es la que predomina a nivel mundial. Países como Perú, Kuwait y Arabia Sudita son los que presentan mayor incidencia de infecciones agudas.

B. melitensis y *B. suis* están irregularmente distribuidas lo mismo que *B. canis*. La brucelosis porcina es poco frecuente en gran parte de Asia y Oceanía. Es enzoótica en la mayoría de los países de

América Latina, la cuál es considerada la zona de mayor prevalencia en el mundo.

B. neotomae se encuentra limitada a pocos focos vinculados a ciertas especies de ratas que habitan zonas desérticas de Estados Unidos. No se ha demostrado que afecte a otras especies animales ni al hombre.

B. ovis se la encuentra fundamentalmente donde la cría de ovinos es un recurso importante, y no afecta al hombre.

La ocurrencia de infección en seres humanos está en relación con la prevalencia de la misma en reservorios animales. Así se ha visto que el control y la erradicación de la brucelosis bovina tiene un efecto positivo en la reducción de la incidencia de la infección en seres humanos.

En nuestro país no hay reservorio animal de *B. melitensis* y se habían eliminado los escasos focos de *B. suis*, además de iniciarse en 1964 la vacunación obligatoria de terneras en 1964, lo cual había contribuido eficazmente a la casi desaparición de la enfermedad humana hasta 1990.

En los animales la enfermedad se manifiesta principalmente por aborto ó expulsión prematura de fetos en todas las especies.

Los bovinos sufren infección principalmente por *B. abortus*, predominando el biotipo 1. En América Latina se han hallado además los biotipos 2, 3 y 4.

B. suis y *B. melitensis* también pueden infectar al ganado bovino.

Los porcinos son afectados generalmente por *B. suis*, de la cual en A. Latina solamente se ha comprobado infección por el biotipo 1.

También pueden ser infectados por *B. abortus*, infección ésta que no se trasmite de un animal a otro y que generalmente cursa en forma asintomática.

La infección del ganado caprino es provocada por *B. melitensis* y en raras ocasiones por *B. suis* y *B. abortus*.

En ovinos se distinguen dos manifestaciones de la enfermedad: la brucelosis clásica y la epididimitis del carnero.

La brucelosis clásica es causada por *B. melitensis* y fundamentalmente provoca abortos.

La epididimitis del carnero es causada por *B. ovis* y se asocia a esterilidad por lesión de los órganos genitales del animal. En las ovejas gestantes puede provocar aborto y también mortalidad neonatal. El ganado ovino también puede verse afectado ocasionalmente por *B. suis* y *B. abortus*.

En los equinos *B. suis* y *B. abortus* producen una bursitis fistulosa, siendo rara la ocurrencia de abortos. El hombre puede adquirir el germen a partir de las lesiones abiertas de un equino.

La infección por *B. canis* puede ser endoepizoótica en perros, los que también pueden infectarse por *B. abortus*, *B. suis* y *B. melitensis*.

El búfalo doméstico (*Bubalis bubalis*) y los yaks (*Bos grunniens*) pueden adquirir la infección por *B. abortus* que se manifiesta de manera similar a como lo hace en los bovinos.

Se ha comprobado infección en alpacas (*Lamas pacos*) por *B. melitensis* tipo 1.

Animales silvestres como caribúes, algunos roedores, bóvidos silvestres y también artrópodos como garrapatas pueden contraer la enfermedad.

Se ha aislado *Brucella* en aves silvestres y domésticas, aunque esto es poco común.(16)

B. maris también puede producir infección en seres humanos, la que se ha observado en personas que por su ocupación están en contacto con focas y ballenas. La ocurrencia de casos es infrecuente.(27)

La transmisión de la enfermedad al hombre puede ser directa ó indirecta, producida por contacto, ingestión, inhalación o inoculación. La transmisión por contacto, que se produce a partir de bovinos y porcinos infectados, se relaciona estrechamente con la ocupación de las personas que la adquieren lo que sucede por la manipulación de fetos o contacto con secreciones vaginales y excrementos de animales enfermos. En estos casos los gérmenes ingresan al organismo por lesiones en la piel o por contacto con la mucosa conjuntival. Veterinarios, carniceros, pastores, trabajadores rurales y obreros de mataderos, adquieren generalmente la enfermedad por esta vía.

La adquisición de la enfermedad por ingestión se produce principalmente por el consumo de leche cruda o productos lácteos elaborados con leche sin pasteurizar y cuya materia prima proviene de animales infectados. La leche de cabra u oveja infectada por *B. melitensis* es la fuente más frecuente, pero también la leche de vaca y los productos lácteos que contengan *B. abortus* pueden originar casos esporádicos. No es frecuente que las brucelas sobrevivan cuando los productos mencionados son acidificados. En países como México y Arabia Saudita, donde la enfermedad causada por *B. melitensis* es endémica, la incidencia de la misma es mayor en mujeres que en hombres, y también en otras zonas en que el mismo germen es endémico se ha encontrado frecuentemente infección en niños.(7)

Las brucelas resisten el salado y ahumado de la carne , pero no se ha comprobado la adquisición de la enfermedad a partir de productos cárnicos preparados de esta manera.

La ingestión de músculo es poco infecciosa, pero la ingestión de ganglios linfáticos y médula ósea puede provocar infección.(19)

También pueden ingerirse los gérmenes con el agua o verduras crudas contaminadas con excrementos de animales.

La transmisión por inhalación de partículas se produce cuando las mismas se encuentran suspendidas en el aire y llegan al organismo a través del aparato respiratorio. Por este mecanismo pueden verse afectados trabajadores rurales que inhalan partículas procedentes de tejidos fetales ó en mataderos y frigoríficos en que el aire también puede estar contaminado, lo mismo que en laboratorios si no se toman las debidas precauciones (centrifugas correctamente tapadas) al centrifugar muestras de material infectado. Algunos autores consideran a la brucelosis como una de las 10 primeras

enfermedades que con mayor frecuencia se adquieren en el laboratorio (7).

La transmisión por inoculación se da principalmente en veterinarios por la manipulación y administración de vacunas.

Aunque constituyen casi una excepción, se han comprobado algunos casos de transmisión interhumana por vía sexual y por trasplante de órganos.(24)

En los animales la enfermedad se produce por ingestión o por vía venérea. Fetos, envolturas fetales, y secreciones vaginales, procedentes de animales infectados, contaminan pasturas, forrajes y el agua, los que al ser ingeridos por otros animales que se alimentan en las inmediaciones, pueden provocar infección y contribuir a la diseminación de la misma. En caprinos, caninos y en menor proporción en bovinos, las crías pueden infectarse durante el amamantamiento.

Los animales que contraen la infección generalmente curan en forma espontánea, pero eliminan Brucelas en leche y orina por lapsos variables.

En el animal grávido las Brucelas ocasionan la necrosis de los cotiledones placentarios por lo que el producto de la gestación muere por falta de nutrientes, principalmente oxígeno. El tropismo del germen por el tejido placentario y fetal bovino se debe a la presencia del alcohol polihídrico de cuatro carbonos eritritol, el cual actúa como fuente eficiente de hidratos de carbono para *B.abortus* en fase virulenta.(26)

Esta sustancia no está presente en los tejidos fetales de la mujer gestante.

En condiciones ambientales favorables, las Brucelas pueden sobrevivir por tiempo prolongado, habiéndose hallado que en suelos húmedos pueden permanecer viables 72 días, en la leche 17 días y en agua de mar 25 días.(26) La exposición a la luz solar las destruye en pocas horas.

PATOGENIA.

Como fue expresado con anterioridad, las Brucelas ingresan al organismo por contacto con la piel lesionada, con conjuntivas sanas, a través del tracto respiratorio o del aparato digestivo.

Cualquiera sea la puerta de entrada, los gérmenes alcanzan los vasos linfáticos y luego los ganglios, siendo generalmente vehiculizados por neutrófilos dentro de los cuales comienzan a multiplicarse, pasando también a la sangre por lo que la vía hematogena llega a constituir otra forma de diseminación. De esta manera se establece una infección sistémica donde los órganos preferentemente afectados son aquellos que constituyen el sistema retículo endotelial (S.R.E), dentro de cuyas células los gérmenes permanecen acantonados, predisponiendo a recaídas o cronicidad de la enfermedad si la misma no es correctamente tratada (25) y dando lugar a manifestaciones clínicas como linfadenopatías y/o hepatoesplenomegalia.

EL lipopolisacárido (L.P.S) de la pared celular de las Brucelas, sería el más importante factor de virulencia con que cuentan las mismas ya que las que se presentan en fase lisa son más virulentas y resistentes a los mecanismos de lisis intracelular de los polimorfonucleares (P.M.N) (23). Dicho L.P.S tiene actividad endotóxica pero no produce fiebre ni fenómeno de Shwazman(2). Aquellos gérmenes que se encuentran en fase rugosa tienen un defecto en la cadena "o" del polisacárido y son poco o nada virulentas (2). Así, *B. canis* y *B. ovis*, que son naturalmente rugosas, tienen un espectro de huéspedes muy limitado. *B. melitensis* y *B. suis* en general son mas virulentas que *B. abortus* y *B. canis* para los seres humanos (23). Las Brucelas son gérmenes intracelulares facultativos, con capacidad de multiplicarse en el interior de monocitos y macrófagos desde donde pueden ser liberados en forma intermitente. Dicha facultad los protege de la acción lítica de anticuerpos y muchos antibióticos de nula actividad intracelular. En el ser humano normal el suero puede ejercer actividad bactericida contra algunas de las especies de *Brucella* y consigue opsonizar microorganismos que luego son fagocitados por P.M.N. Las cepas de *B. melitensis* suelen resistir la bacteriolisis sérica. Los mecanismos por los cuales las *Brucellas* evitan la destrucción intracelular en los P.M.N son poco conocidos, pero se piensa que algunas propiedades de la pared bacteriana podrían contribuir:

- 1) Producción de adenina y 5' guanosina monofosfato, sustancias que suprimen el sistema mieloperoxidasa de los neutrófilos.
- 2) Sustancias que inhiben la fusión entre los fagosomas y los lisosomas de los macrófagos.
- 3) Enzimas que protegen contra la destrucción oxidativa, como la superóxido dismutasa.(11).

B. abortus forma granulomas de células epiteliales que luego de aproximadamente 6 meses comienzan a resolverse hasta desaparecer. En el caso de *B. suis* se ha constatado la formación de abscesos, producto de la acumulación de neutrófilos y destrucción celular. *B. melitensis* produce mayor toxicidad sistémica pero menor formación de abscesos.

En la protección contra la reinfección por *Brucella* los anticuerpos humorales desempeñan un pobre papel y la fase bactericida coincide con la instalación de la inmunidad mediada por células. El control de la infección depende de linfocitos T específicos que excretan linfoquinas, las que a su vez activan los mecanismos bactericidas de los macrófagos.

En la infección reciente se produce inicialmente el aumento de inmunoglobulina M (IgM) seguido de la síntesis de inmunoglobulina G (Ig G) luego de 7 a 14 días. Ambas inmunoglobulinas siguen en aumento, con predominio de IgG. Durante la recuperación de la enfermedad los títulos de IgG disminuyen en el curso de algunos meses, mientras que bajos títulos de IgM pueden persistir varios meses después de la infección.

La continuidad de títulos altos de IgG, o una segunda elevación de los títulos de estos anticuerpos, puede indicar persistencia de la infección ó su recidiva.(12)

CLÍNICA

El período de incubación de la enfermedad varía entre 8 y 20 días, pudiendo ser mas prolongado, inclusive de varios meses.(2)

B.abortus es la especie que puede presentarse con períodos de incubación más prolongados.(19)

Las formas de presentación de la brucelosis como enfermedad son variadas y han sido clasificadas de forma distinta por diferentes autores. Así, por ejemplo el Dr. F. Ramaciotti distingue un estado de invasión que puede presentarse en forma aguda ó sub-aguda y posteriormente un período de estado.

Hay quienes consideran cinco formas de presentación posibles y se basan además en hallazgos directos e indirectos de la presencia del germen (25):1) Enfermedad subclínica, con escasa sintomatología, cultivos negativos y serología positiva. La relación entre casos asintomáticos y sintomáticos podría variar entre 1:1 y 12:1 (15).

2) Forma bacteriémica en que la enfermedad cursa con sintomatología y signología sistémica y cultivos y serología positivos.

3) La forma serológica se refiere a aquella que se da en personas que están en contacto con animales o consumen productos derivados de los mismos sin pasteurizar, presentando manifestaciones sugestivas de enfermedad con cultivos negativos y serología positiva. Para su diagnóstico se consideran títulos de aglutininas plasmáticas superiores a 1:160 o ascenso de las concentraciones de anticuerpos específicos.

4) En la brucelosis localizada los signos y síntomas están relacionados con las estructuras afectadas, los cultivos de las mismas son positivos y la serología puede ser positiva o negativa.

5) Forma crónica : es la que plantea mayores dificultades diagnósticas y en la que se describen tres categorías:

- a) pacientes con sintomatología clínica reiterada y pruebas sugestivas de actividad de la enfermedad.
- b) Pacientes con sintomatología de enfermedad localizada de larga evolución.
- c) Pacientes en los que no se verifica enfermedad a pesar de que persisten con malestar general.

Es así que, casos esporádicos de la enfermedad, pueden ser difíciles de diagnosticar debido a la variabilidad del período de incubación y la sintomatología proteiforme con que suele presentarse.

La enfermedad puede presentarse de manera insidiosa en aproximadamente la mitad de los casos. Generalmente se caracteriza por sintomatología inespecífica y variada como fiebre, chuchos de frío, astenia, anorexia, adelgazamiento, sudores predominantemente nocturnos, con característico olor a paja fermentada y del cual se ha aislado *Brucella* (19), depresión, dolores articulares y mialgias, que predominan en miembros inferiores,

sobre todo en músculos flexores (28). Síntomas como epístaxis, vómitos y constipación pueden sumarse al cuadro clínico. En algunos casos puede presentarse con diarrea. Un tercio de los pacientes presentan tos seca o productiva. La fiebre suele ser de hasta 39°-40°, remitente, intermitente o continua y ocurre en todos los pacientes en algún momento de la enfermedad. Puede darse por un período de semanas o meses cuando no es tratada. Actualmente el patrón clásico de fiebre "ondulante" se ve con menor frecuencia, lo que probablemente se deba al uso temprano de antibióticos (2). Es raro que la enfermedad se presente como sepsis grave o coagulación intravascular diseminada.

En el examen físico en formas no localizadas puede hallarse hepatomegalia de tamaño variable hasta en el 50% de los casos, esplenomegalia en porcentaje similar y adenomegalias hasta en un 25%(2), principalmente axilares cervicales e inguinales, configurando un síndrome mononucleósido. Se han observado casos de adenitis supurada, lográndose aislar el germen a partir de estas lesiones.(19). Hasta el 5% de los pacientes pueden presentar lesiones cutáneas en forma de erupción papulonodular no pruriginosa, que en general se encuentra en tronco y extremidades , también puede presentarse un eritema nudoso.

En niños y adolescentes la enfermedad se manifiesta de modo similar a como lo hace en el adulto, pero es frecuente que predominen síntomas de la esfera digestiva (anorexia, vómitos, dolores tipo cólico).(7).

En la mujer embarazada es muy raro que esta infección sea causa de aborto, aún en la enfermedad no tratada. La ausencia de eritritol en la placenta humana, la actividad anti-Brucella del líquido amniótico humano y probablemente otros factores influyen para que ésta infección no afecte la gestación. En aquellos casos en que el aborto se produce el mismo parecería estar relacionado con la fiebre alta y la bacteriemia pero no con la infección misma. De todas maneras el tratamiento de la madre está indicado si se realiza el diagnóstico (18).

LOCALIZACIONES ESPECIFICAS

Localización osteoarticular.

Es muy frecuente que huesos y articulaciones estén involucrados en ésta infección, lo cual ocurre hasta en un 40 % de casos para algunos autores (23). Dentro de éstos la sacroileitis es la de mayor incidencia, y está relacionada en forma predominante con la infección causada por *B.melitensis* . También se observan casos de periartritis, espondilitis, osteomielitis y bursitis.

La periartritis afecta sobre todo grandes articulaciones como coxofemoral, rodilla, tobillos y más raramente hombro y articulación esternoclavicular. Puede observarse mono o poliartritis, presntándose, esta última en general en forma migratoria, similar a la fiebre reumática(28). Se comprueba autentica artritis sólo en el 5 % de los pacientes que refieren artralgias, los hallazgos radiológicos

suelen ser nulos pero en líquido sinovial puede presentar celularidad aumentada a predominio linfocitario y el cultivo del mismo suele ser positivo casi en el 50 % de los casos.

Las espondilitis se ven sobre todo en pacientes de edad avanzada, frecuentemente de sexo masculino y se presenta con intenso dolor localizado generalmente en zona lumbar, fiebre, síntomas generales y en ocasiones hemocultivos positivos.(2). Hasta un 20 % de éstos casos pueden asociarse con abscesos paravertebrales. En el estadio temprano de la infección las radiografías pueden ser normales siendo útiles para el diagnóstico la tomografía computarizada (sobre todo para diagnóstico de abscesos paravertebrales) o el centellograma óseo. En casos evolucionados las radiografía puede mostrar disminución del espacio discal o erosiones del cuerpo vertebral. En nuestro medio el Dr Pablo Purriel, en su extensa monografía sobre brucelosis(9) se interesa especialmente en la localización vertebral de la misma, aportando que un 62% de los pacientes por él estudiados , presentaron lesiones vertebrales. Destaca que la ausencia de supuración es característica, lo que probablemente se deba a que la mayoría de sus pacientes son infectados por B. Bovis.

Los casos en que se constata tenosinovitis y bursitis se presentan con inflamaciones de tejidos periarticulares erráticos.

Localización a nivel del sistema nervioso.

La afección del sistema nervioso es poco frecuente: menos del 2% de los casos (23) a 5% (2), y puede manifestarse de múltiples formas, aunque en los últimos años este polimorfismo clínico ha disminuido. Dentro de estas formas la meningitis aguda ó crónica continúa siendo la mas frecuente, cuya presentación es la habitual para este síndrome, debiendo tenerse en cuenta que más del 50% de los casos no presenta rigidez de nuca (2). El líquido céfalo raquídeo (L.C.R) es claro, con proteínas elevadas, disminución de la concentración de glucosa y celularidad aumentada a predominio linfocitario. Algunos autores manifiestan que las posibilidades de aislar el germen del L.C.R son escasas (23), pero otros sostienen que se le puede hallar hasta en la mitad de los casos(2). Los anticuerpos contra las distintas especies de Brucella sí pueden detectarse en el L.C.R.

Los síndromes radicales o meningopolirradicales no son frecuentes y se manifiestan como mono ó polirradiculitis, siendo el nervio ciático el más afectado.(19).

La afección medular en forma de mielitis aguda o subaguda es poco común.

Se han descrito accidentes vasculares transitorios causados por afectación vascular del S.N.

Menos frecuente aún es el hallazgo de abscesos cerebrales causados por Brucella, que pueden manifestarse por cefalea, déficit neurológicos focales ó coma y cuyo diagnóstico se confirma por estudios imagenológicos (21).

Es frecuente que los pacientes con brucelosis presenten cuadros de depresión ó psicosis, que pueden verse desde el inicio de la enfermedad.

Localización en el aparato respiratorio.

La frecuencia con que se constatan síntomas del aparato respiratorio causada por *Brucella* varía, según distintos autores, entre 2% a 25%(2) (23) (11). Se manifiesta por tos y/o disnea y en contados casos se encuentran derrame pleural y empiema (23). Los estudios radiológicos pueden mostrar infiltrados pulmonares, adenopatías parahiliares, e imágenes nodulares únicas ó múltiples. Del estudio de la expectoración raramente se recuperan *Brucellas*, pero sí es posible hallarlas en el líquido pleural ó en muestras de biopsia pleural (23).

Localización genitourinaria.

En general la sintomatología de este aparato se presenta en asociación con elementos clínicos de infección sistémica. Los testículos son los órganos que con más frecuencia se encuentran afectados ya que el 5% de los hombres presentan una orquiepididimitis, que puede ser bilateral y la que no es habitual que cause esterilidad.

Es raro que el riñón se vea involucrado. Puede hallarse discreta alteración de la función renal y escasa alteración del sedimento urinario sin que presenten alguna patología definida en el parénquima renal. Entidades nosológicas como pielonefritis o glomérulonefritis son de infrecuente presentación.

La prostatitis es una rara manifestación de la enfermedad, hallándose en el 1% de los casos.

Se ha aislado *Brucella* de orina sin que riñón ni vías urinarias se encuentren afectadas.

Localización cardiovascular.

Una de las más frecuentes causas de muerte por brucelosis es la endocarditis (22). Afortunadamente, la afección de las válvulas cardíacas se da en menos del 2% de los casos de brucelosis, siendo más frecuente que el proceso se de en la válvula aórtica y en segundo lugar la válvula mitral. Sigue generalmente un curso agudo, en el contexto clínico de la enfermedad sistémica, con inestabilidad hemodinámica y escasa respuesta al tratamiento antibiótico, por lo que suele requerirse tratamiento quirúrgico para reparación valvular. Para su diagnóstico precoz son fundamentales la utilización de métodos de detección rápida del germen y la ecocardiografía.

Otras formas en que esta infección afecta el corazón consisten en miocarditis, pericarditis, aneurismas de aorta y vasos cerebrales (23).

Localización gastrointestinal

En la esfera digestiva, los síntomas causados por la enfermedad suelen ser: anorexia, náuseas, vómitos, dolor abdominal, diarrea o constipación.

Es raro que la brucelosis cause peritonitis espontánea, aunque se han reportado casos debidos a *B. melitensis*.

Otra manifestación infrecuente de esta enfermedad es la producción de ascitis, cuyo líquido tiene las características bioquímicas de un trasudado y del cual en algunos casos se ha conseguido aislar el germen. Como forma excepcional Bourantes (4) presenta una paciente en la que el líquido de ascitis era un exudado, presumiblemente consecuencia de inflamación peritoneal.

Localización hepatobiliar

Como órgano integrante del S.R.E , el hígado está afectado en la mayoría de los casos, pero la manifestación de la misma es poco notoria. Lo más común es el hallazgo de hepatomegalia, pero la ictericia es sumamente infrecuente. La elevación de la fosfatasa alcalina es leve, lo mismo que la de las transaminasas, siendo extremadamente raro que la elevación de las mismas alcance valores similares a una hepatitis viral. (23).

Las lesiones histopatológicas halladas varían de acuerdo a la especie de *Brucella* implicada en la infección.

B. abortus provoca granulomas de similares características a los hallados en la sarcoidosis, con células epitelioides sin caseificación.

B. melitensis produce acumulos de células mononucleares y necrosis. También puede simular una hepatitis viral o encontrarse granulomas epitelioides.

Las lesiones causadas por *B. suis* provocan abscesos supurados que pueden afectar hígado y bazo.(11).

Las lesiones hepáticas se resuelven con tratamiento antibiótico adecuado y no es común que dejen secuelas o que exista riesgo de cirrosis.

Otras complicaciones son la colecistitis y pancreatitis brucelar, en extremo excepcionales.

Localización en el sistema hematológico.

Las manifestaciones más comunes suelen ser anemia, leucopenia y trombocitopenia. La V.E.S suele ser normal, en algunos pacientes llega a 70 mm en la 1º hora.

En aproximadamente 5% de los pacientes suele encontrarse leucocitosis ó linfocitosis relativa en un 65%, alteraciones que pueden persistir por tiempo prolongado, aún con buena evolución clínica.

Son de rara presentación cuadros hematológicos graves como pancitopenia , hematofagocitosis, anemia hemolítica autoinmune y C.I.D. La pancitopenia moderada puede deberse a hiperesplenismo,

mecanismo autoinmune o hipoplasia medular. Cuando es intensa debe descartarse la presencia conjunta de un síndrome hematofagocítico (S.H.R). La brucelosis causa hasta un 5.3% de los S.H.R. diagnosticados (10), siendo considerados como tales aquellas citopenias que involucren como mínimo dos líneas celulares lo que no pueda ser explicado por otra causa, debiéndose encontrar además histiocitos hemofagocíticos que representen al menos el 2% de las células nucleadas de la médula ósea.

Localización ocular.

Esta localización es infrecuente y se expresa por alteraciones limitadas de la agudeza visual con exploración oftalmológica frecuentemente normal, aunque ocasionalmente pueden hallarse exudados al fondo de ojo.

Brucelosis crónica

Este término generalmente se utiliza para denominar casos que presentan más de seis meses de evolución luego de realizado el diagnóstico, pero su definición es imprecisa.

Spink (23) considera tres grupos:

- 1) Pacientes que presentan signos de infección en forma reiterada y en los que se comprueba actividad de la enfermedad, podría deberse a que no recibieron un tratamiento adecuado y debe considerarse la posibilidad de una recaída.
- 2) Pacientes con elementos de infección en los que se encuentran signos de localización de la misma.
- 3) Pacientes en los que no se encuentran elementos de infección pero refieren manifestaciones pérdida de memoria, indiferencia, irritabilidad, insomnio y en cuyo diagnóstico deben descartarse cuadros psiquiátricos o simulación.

Recaídas de la enfermedad.

Esta es una característica de la enfermedad a la que deberá prestarse debida atención, ya que es relativamente frecuente que suceda. Esto en parte podría explicarse por la capacidad del microorganismo de sobrevivir en el medio intracelular en los macrófagos, sobre todo si no ha mediado un tratamiento correcto en forma y tiempo.

En pacientes que luego de realizado el tratamiento se ven nuevamente expuestos al germen puede tratarse de una reinfección, no una recaída.

La mayoría de las recaídas ocurren dentro de los seis primeros meses de finalizada la terapia. El período medio de tiempo transcurrido entre la finalización de la terapia y la aparición de recaída fue de 70 días según un estudio realizado por Javier Ariza y colaboradores (3).

Estos autores también hallaron que la mayoría de los episodios de recaída presentaron sintomatología aguda y florida, pero también hallaron casos de presentación insidiosa, que fueron comprobados por hemocultivos positivos. La presentación en forma insidiosa fue mas frecuente en la recaída que al inicio de la enfermedad. También encontraron pacientes que desarrollaron formas localizadas de la enfermedad, durante la recaída, que no estaban presentes en el curso de la enfermedad inicial.

Javier Ariza y colaboradores analizaron cinco factores de riesgo de recaída de la enfermedad en el grupo de pacientes que estudiaron:

- 1) Pacientes que fueron tratados con planes de antibioticoterapia de segunda elección. Esto se relacionaría con la farmacocinética y concentración intracelular alcanzada por el antibiótico empleado.
- 2) Pacientes con cultivos de sangre positivos
- 3) Enfermedad de menos de 10 días de duración al iniciarse el tratamiento. Aunque parezca contradictorio, esta situación también fue comprobada en estudios realizados por Spink. Estaría relacionada con una disminución del estímulo antigénico debido al inicio precoz del tratamiento, lo que alteraría la respuesta inmunológica.
- 4) Los casos de recaída predominan en pacientes de sexo masculino. Podría estar relacionado con el hecho de que el hierro aumenta la virulencia de las Brucelas y a que en la mujer es mas frecuente la anemia ferropénica.
- 5) Casos que cursan con plaquetopenia (< 150 por $10^3/\text{mm}^3$)

PARACLÍNICA.

EL diagnóstico de la enfermedad es clínico-epidemiológico y se confirma por estudios bacteriológicos y/o serológicos.

Los estudios de rutina empleados en el laboratorio son poco orientadores en los casos de brucelosis. El hemograma suele mostrar leucocitosis normal, pudiendo encontrarse plaquetopenia y, algo mas frecuentemente, anemia. La velocidad de eritrosedimentación puede encontrarse dentro de valores normales o algo elevada, pero no es específica. Suele aumentar su valor cuando aparecen complicaciones articulares.

Los antecedentes epidemiológicos deben interrogarse cuidadosamente ya que suelen ser orientadores.

Por lo antedicho es de fundamental importancia confirmar de modo directo o indirecto la presencia del germen en el organismo, para arribar así al diagnóstico de la enfermedad.

Siempre que se envíen al laboratorio muestras orgánicas de pacientes con sospecha clínica de brucelosis, deberá adjuntarse esta información para que se tomen las debidas precauciones en su manejo, evitando así la formación de aerosoles, que es el modo por el cual con mas frecuencia se trasmite la infección dentro del laboratorio alcanzando un porcentaje del 80% (13).

El trabajo de cultivo debe realizarse en una cabina de seguridad biológica y quienes manipulan las muestras deben utilizar ropas protectoras.(9).

Los métodos directos logran el aislamiento del germen por el cultivo de sangre y médula ósea, con los cuales se obtiene el mayor rendimiento, pero también puede realizarse a partir de líquido pleural, L.C.R, orina, líquido articular y otros productos biológicos. El cultivo de muestras de médula ósea debe reservarse para casos de difícil diagnóstico y para aquellos casos en que el paciente ha sido tratado con antibióticos

Deben obtenerse hemocultivos múltiples. Para los mismos es habitual que se emplee el medio bifásico de Castañeda, que contiene medio de cultivo con digerido de soja-caseína dado que se le considera eficaz y seguro para el personal de laboratorio y que no es necesario realizar subcultivos (8).El material debe ser incubado en atmósfera que contenga 5-10 % de CO₂ como mínimo durante 21 días, dado que los gérmenes del género *Brucella* crecen lentamente. Se obtienen colonias no hemolíticas y con la técnica de Gram se observan cocobacilos gramnegativos , aerobios estrictos, que no fermentan lactosa ni glucosa, oxidasa positivos. La identificación definitiva y biotipificación se realiza en laboratorios especializados. La misma se basa en: 1) producción de H₂S. 2) Requerimiento de CO₂ para el crecimiento. 3)Aglutinación en sueros monoespecíficos. 4)Producción de ureasa 5) Capacidad de crecer en medios con fucsina básica y tionina. 6) Tipificación por fagos: Se utiliza para diferenciar los biotipos 3 a 9 de *B.abortus* de *B.melitensis*. (9).

Debido a la demora establecida con la técnica comentada, se han buscado otros métodos de diagnóstico directo, como hemocultivos por métodos de detección automática (Bactec), por método radiométrico o no radiométrico, con el cual en aproximadamente 10 días se llega al diagnóstico, o el sistema de lisis-centrifugación, con un promedio de detección de 3.1 días (14).

Aunque en nuestro medio su uso aún está poco difundido, la amplificación de ácido desoxirribonucleico (ADN) por la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR), ha demostrado alta sensibilidad y especificidad para el diagnóstico de *Brucella*.

Mediante su uso es posible la obtención rápida de resultados. Se realiza utilizando la secuencia 16S rRNA de *B.abortus*.(20).

Serología.

Casi todas las pruebas serológicas que se utilizan para el diagnóstico de brucelosis detectan la existencia de anticuerpos contra el LPS de la membrana externa, ya sea empleando células enteras o LPS de *B.abortus*.

Cuando se utiliza el antígeno de *B.abortus* debe tenerse en cuenta que no es útil para el diagnóstico de *B.canis*, la cual sólo tiene fase rugosa porque no posee el polisacárido "o" liso.

Para el diagnóstico de *B.canis* deben utilizarse antígenos extraídos de *B.canis* o *B.ovis*.

La seroaglutinación en tubo y la prueba de Rosa de Bengala detectan la fracción aglutinante de los anticuerpos que se encuentran en el suero. Para la seroaglutinación una cifra de 100 u/ml o mayor, y cifras en aumento en muestras subsiguientes, son altamente sugestivas de infección activa.

Las pruebas anteriormente mencionadas, no diferencian entre IgG e IgM. Si el suero es tratado con 2-mercapto etanol esta sustancia disuelve las uniones disulfúricas, impidiendo la aglutinación de las IgM, pero no de las IgG. Para la prueba de 2-mercaptoetanol en la infección activa se encuentran títulos superiores a 1/160 y también tiene valor diagnóstico la cuadruplicación de los títulos en el transcurso de dos semanas. También se puede realizar el seguimiento de la enfermedad por los valores de títulos de IgG, ya que su disminución se relaciona con una buena respuesta de la enfermedad al tratamiento, mientras que una elevación puede indicar recaída.

La prueba de Coomb y la de fijación del complemento detectan anticuerpos no aglutinantes, estos son anticuerpos incompletos y se encuentran en mayor cantidad que los aglutinantes. Son pruebas sensibles pero requieren altas diluciones para que sean diagnósticas. Estas técnicas están indicadas fundamentalmente cuando existe una fuerte sospecha clínica pero los resultados obtenidos por las pruebas anteriores son negativos o no definitivos.

La técnica de ELISA ha demostrado ser sensible y específica. Este método permite detectar anticuerpos de tipo IgM, IgG, e IgA. IgM es la primera en disminuir en la evolución, aún cuando el paciente no haya recibido tratamiento. Los títulos de IgG pueden detectarse durante 2-3 años. En casos de recaída, IgG e IgA aumentan.

TRATAMIENTO.

Se ha demostrado in vitro que múltiples antibióticos son activos contra *Brucella*, pero esta actividad no siempre es efectiva in vivo. Es necesario tener en cuenta que este germen es intracelular facultativo y se ha comprobado que para obtener buenos resultados se necesita que el tratamiento sea suficientemente prolongado y que se empleen dos drogas en forma simultánea; de esta forma se ha reducido el porcentaje de recaídas.(6).

Evaluando los resultados del uso de distintas combinaciones de drogas, dosis y duración del tratamiento, se han elaborado planes terapéuticos cuya recomendación ha variado en el tiempo.

En 1970 se preconizó el uso de tetraciclina más estreptomina. Actualmente, y desde 1986 se recomienda, por parte del Comité de Expertos en Brucelosis de la OMS/FAO, tratar la enfermedad aguda en el adulto con doxiciclina 200 mg/día y rifampicina 600-900 mg/día durante seis semanas.

La doxiciclina tiene vida media más prolongada que la tetraciclina, lo que permite mantener niveles terapéuticos con menos tomas diarias, y se prefiere la rifampicina a la estreptomina debido a que

esta última debe administrarse en forma parenteral por su mala absorción digestiva y a que es potencialmente neurotóxica (23). La misma dificultad en la administración presenta la gentamicina aunque es muy efectiva, siempre que se le emplee en combinación con otra droga.

El uso de rifampicina y trimetoprin-sulfametoxazol, (TMP-SMZ) también sería una opción válida, aunque se ha presentado mayor porcentaje de recaídas que con los planes anteriores. (25). Algunos autores recomiendan el uso de TMP-SMZ en monoterapia en niños menores de 6 años en quienes está contraindicado el uso de tetraciclinas y, para disminuir el número de recaídas sugieren el empleo concomitante de gentamicina durante los cinco primeros días de iniciado el tratamiento.

La rifampicina es bactericida, difunde a través de lípidos y obtiene una buena distribución en el organismo, incluso SNC. No destruye bacterias que se encuentran en medio intracelular (12).

Su efecto sumado al de la ceftriaxona se emplea para el tratamiento de la brucelosis en las pacientes gestantes. (6). Las cefalosporinas de tercera generación alcanzan niveles adecuados en le LCR y en los fagocitos y estarían especialmente indicadas en casos de meningitis causados por *Brucella*, siempre en combinación con rifampicina (9).

PREVENCIÓN

La medida que se ha demostrado mayor eficacia para el control y prevención de la enfermedad en humanos ha sido la eliminación de la infección en animales domésticos. Esta eliminación se consigue de diferente manera según las especies.

Para bovinos, ovinos y caprinos se cuenta con vacunas, cuyo uso ha mostrado buenos resultados en países donde se la ha administrado de manera adecuada durante el tiempo indicado.

En la elaboración de la vacuna para bovinos se utiliza la cepa 19 de *B. abortus*. Dicha vacuna se administra a terneras de 3 a 6 meses de edad, brinda protección durante toda la vida del animal y protege aproximadamente al 65-80% de los animales vacunados (16).

En nuestro país esta vacuna se usó a partir de 1964, hasta hace tres años, en que se abandonó su uso por encontrarse actualmente la brucelosis bovina en etapa de erradicación.

Para la vacunación de cabras y ovejas se usa la cepa Rev-I de *B. melitensis* viva y atenuada (17). En zonas de baja prevalencia puede ser de utilidad el sacrificio de los animales reactivos.

No se cuenta con vacunas para cerdos, por lo cual deben sacrificarse los animales infectados y los que se encuentran en contacto con estos, para conseguir la eliminación del foco.

Los perros infectados deben eliminarse ya que tampoco hay vacunas contra *B. canis*.

No se ha aprobado aún el uso de vacunas en humanos (22).

Trabajadores de mataderos o frigoríficos, trabajadores rurales y veterinarios, quienes por su profesión están particularmente

expuestos a esta enfermedad, deben contar adecuada información y protección.

En frigoríficos y mataderos el lugar destinado a la matanza debe estar separado del resto de la planta y contar con buena circulación de aire. Es también importante el uso de ropa protectora y la adecuada desinfección del lugar al finalizar las tareas.

Cuando se sacrifican animales con serología positiva la faena debe hacerse al final del día extremando precauciones y protección de los trabajadores.

La leche de cabra y oveja y los productos elaborados con ésta, deberán ser pasteurizados para su consumo. En su defecto la leche debe hervirse (17).

Es una enfermedad de notificación obligatoria y como enfermedad laboral, la asistencia del paciente está cubierta por el Banco de Seguros. Conocido un caso debe descubrirse la fuente y estudiarse aquellas personas vinculadas a la misma y también los animales sospechosos, eliminando a los que son reactivos.

BIBLIOGRAFÍA

- 1) ANGEL G., ANGEL M. Brucelosis. Interpretación clínica del laboratorio. Quinta edición. Pag. 118-119.
- 2) ARIZA J. Brucelosis. Farreras-Rozman Séptima edición. Pag 2312- 2317.
- 3) ARIZA J. y colaboradores. Characteristics of and risk factors for relapse of Brucelosis in humans. *Clinical Infectious Diseases* 1995; 20:1241-9.
- 4) BOURANTAS K.L y col. A 54 year-old stockbreeder with ascitis. *Lancet* 1997; 349:994.
- 5) BRASELLI A. MEROVICH E. Antibióticos. Uso racional en la clínica médica. Cap 4. Pag. 54-60.
- 6) BRASELLI A. PURTSCHER H. SAVIO E. Brucelosis. Enfermedades infecciosas. Tomo 2. Pag. 229-235.
- 7) CHOMEL B. Changing trends in the epidemiology of human brucellosis in California 1973 to 1992: a shift toward food borne transmission. *The Journal of Infectious diseases* 1994;170:1216-23.
- 8) DE TODD-SANFORD-DAVIDSON. Diagnóstico y tratamiento en el laboratorio clínico. Tomo 2. Pag. 1603-1617.
- 9) LENNETE. Microbiología clínica. Cuarta edición. Capitulo 32. Pag. 482-486.
- 10) LOPEZ-GOMEZ. Síndrome hematofagocítico reactivo con coagulación intravascular diseminada secundario a brucelosis aguda. *Enfermedades infecciosas Microbiología clínica*. Volumen 12 n °10 diciembre 1994.
- 11) MANDEL, DOUGLAS Y BENNETT. Enfermedades infecciosas 4º edición. Tomo 2. Capitulo 205.
- 12) MANDEL, DOUGLAS Y BENNETT. Enfermedades infecciosas. 4º edición. Tomo 1. Capítulos 21 y 22.
- 13) MARTIN-MAZUELOS E. Outbreak of *Brucella melitensis* among microbiology laboratory workers. *Journal of clinical microbiology*. Aug. 1994. Vol. 32 n°8 :2035-2036.
- 14) NAVAS E. Detección de *Brucella* en hemocultivos. *Enfermedades infecciosas Microbiología clínica* 1994. Vol. 12 n°5: 272-273.
- 15) MORBIDITY AND MORTALITY WEEKLY REPORT. Brucellosis outbreak at a pork processing plant. February 25 1994. Vol. 43. N°7. Pag. 113-116.
- 16) ORGANIZACIÓN PANAMERICANA DE LA SALUD. Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. 2º edición 1986. Pag. 14-35.
- 17) ORGANIZACIÓN PANAMERICANA DE LA SALUD. El control de las enfermedades transmisibles en el hombre. 15º edición 1992. Pag. 30-33.
- 18) OSCHERWITZ STEVEN L. Brucellar bacteremia in pregnancy. *Clinical infectious disease*. 1995; 21: 714-5.
- 19) RAMACCIOTTI F. Brucellosis. 3º edición.
- 20) ROMERO C. GAMAZO G. PARDO M. Specific detección of *Brucella* DNA by PCR. *Journal of clinical microbiology*. Mar. 1995. Pag. 615-617.
- 21) SANTINI C. BAIOCCHI P. A case of brain abscess due to *Brucella melitensis*. *Clinical*

- infectious diseases 1994; 19: 977-8.
- 22) SUNGUR CEM. Fatal *Brucella melitensis* endocarditis in a hemodialysis patient. *Nephron* 1994; 67: 234-235.
 - 23) YOUNG E. An overview of human Brucellosis. *Clinical infectious disease* . 1995; 21: 283-90.
 - 24) WYATT H. V. *Brucella melitensis* can be transmitted sexually. *The lancet*. Vol. 348 aug. 31, 1996 : 615.
 - 25) ZABALA TRUJILLO I. Brucellosis. *Clinicas de infectología de norteamérica* 1995. Vol.8: 241-257.
 - 26) ZINSSER. *Microbiología* 20º edición . Capitulo 41: 827-833 .
 - 27) CORBEL M.J. Brucellosis: an overview. *Emerging infectious diseases*. 1997 april-june. Vol.3. Number 2. <http://www.cdc.gov/ncidod/vol3no2/corbel.htm>
 - 28) PURRIEL P. Brucellosis. *Estudio de esta enfermedad en el Uruguay*. 1ª edición 1994.
 - 29) NISKI R. XXVII Congreso Nacional de Medicina Interna 1999 Pag 58-64.

Protocolo ley 26.04.01
fecha de registro que fue
excedido de novena / 10 por SA
Prof. Dr. T. Lopez. Se reunio a
la Escuela de Graduados



BRUCELOSIS.

MONOGRAFIA DEL POSTGRADO DE ENFERMEDADES INFECCIOSAS.

Revisión bibliográfica.

INTRODUCCIÓN.

La brucelosis es una enfermedad infecciosa, producida por bacterias del género *Brucella*, que afecta tanto a animales (sobre todo domésticos) como al hombre, constituyéndose así en una zoonosis. Esta enfermedad se encuentra distribuida en todo el mundo.

En nuestro país es poco frecuente, y se la consideraba casi desaparecida desde el año 1964, en que se inició la vacunación de terneras, pero desde 1990 a la fecha se han diagnosticado algo más de cien casos, originados a partir de cerdos que han ingresado en forma ilegal al país, y que han incumplido por tanto con requisitos sanitarios.

En el Uruguay ésta es una enfermedad estrechamente vinculada a la actividad laboral, ya que afecta principalmente a personas que realizan tareas relacionadas con la faena de animales.

Se impone por tanto, la consideración diagnóstica de esta entidad y un minucioso interrogatorio epidemiológico en los casos clínicos compatibles, y fundamentalmente, la puesta en funcionamiento de medidas sanitarias y preventivas pertinentes. De estas últimas depende la disminución de su impacto en la salud humana, en los costos que la atención de estos pacientes demanda y en la producción ganadera del país, con su consecuente repercusión en las exportaciones.

HISTORIA.

Esta enfermedad existe desde hace muchos años, afectando sobre todo a animales.

Se la ha conocido a través del tiempo y en diferentes lugares con distintos nombres: melitococia, fiebre ondulante, fiebre de Malta, fiebre del Mediterráneo.

Cuando afecta a los animales se la denomina como: aborto contagioso, aborto infeccioso, aborto epizoótico. En bovinos se la conoce como enfermedad de Bang.

La enfermedad en el hombre fue descrita en 1860 por Morston. En 1887 Bruce aisló *Brucella melitensis* del bazo de varios soldados que fallecieron de fiebre de Malta.

En los primeros años de este siglo se descubrió que esta enfermedad era una zoonosis y también que el reservorio de *B. melitensis* era la cabra. Estos conceptos se reafirmaron con la observación realizada en dependencias del ejército británico donde se prohibió el consumo de leche de cabra y de los productos manufacturados a partir de la misma, comprobándose la llamativa disminución de casos de enfermedad, respecto a la población general.

En 1911 Bang comprobó que la brucelosis del ganado bovino se debía a *B. abortus* y en 1930 Hardy y colaboradores descubrieron que *B. suis* también producía brucelosis en humanos.

En 1969 un empleado de laboratorio presentó infección debida a *B. canis*

En nuestro medio, el doctor Antonio Casamagnaghi diagnosticó por primera vez *B. abortus* en bovinos en el año 1928. La Policía Sanitaria Animal constata la difusión de la infección en el ganado bovino del país, no encontrándose la afección en otras especies como ovinos, equinos y cabras.

En 1931 se comunica el hallazgo de los primeros casos de brucelosis humana en nuestro país.

El Profesor Pablo Purriel comienza sus investigaciones sobre la enfermedad en 1938 y en el año 1942 crea el "Centro de Investigación y Estudio de la Brucelosis", como dependencia del Banco de Seguros del Estado, publicando en 1944 su monografía sobre el tema en la que analiza más de 70 casos en los que se basa para describir las peculiares formas de presentación de la enfermedad en nuestro medio .

En 1964 se inició la vacunación de bovinos con la cepa 19 de *B. abortus* obteniéndose inmejorables resultados a punto tal que, los pocos casos diagnosticados, se han presentado en sólo en personas profesionalmente vinculadas al manejo de vacunas. Es muy diferente la situación con *B. suis* , de la cual se han diagnosticado aproximadamente una centena de casos desde inicio de la década del 90, como lo expone la doctora Rosa Niski en su trabajo realizado con 89 pacientes asistidos por el Banco de Seguros del Estado desde el año 1990 al año 1997. De estos pacientes, 79 pertenecen al sexo masculino y el 97.7 % de los mismos corresponde a trabajadores de plantas frigoríficas, trabajando el 62% del total de infectados en la realización de la faena. En 81 de los pacientes estudiados la enfermedad se manifestó por fiebre, sudoración, Artralgias, mialgias ,astenia. Dentro de las manifestaciones localizadas predominaron las osteoarticulares. Un paciente presentó endocarditis brucelósica, debiendo destacarse que el mismo presentaba como antecedente una valvulopatía reumática.

El 27% de los pacientes estudiados evolucionó favorablemente y el 73% restante presentó la forma crónica.(29)

CARACTERÍSTICAS DEL GÉRMEN.

En el género *Brucella* se diferencian clásicamente seis especies: *B. abortus*, *B. suis*, *B. melitensis*, *B. ovis*, *B. canis* y *B. neotomae*.

Recientemente se ha aislado una nueva cepa procedente de animales mamíferos marinos, la cual ha sido denominada *B. maris*. (28). Dentro de las tres primeras especies, se distinguen distintos biotipos gracias a características bioquímicas o comportamiento ante sueros monoespecíficos A (*abortus*) y M (*melitensis*) (16). Los biotipos son: para *B. abortus*: 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 y 9; para *B. melitensis*: 1, 2, y 3 y para *B. suis*: 1, 2, 3 y 4.

Recientemente la realización de estudios con hibridación de ADN ha permitido establecer que el género *Brucella* está constituido por una sola especie: *B. melitensis*, la cual presenta diversas biovariedades pero, con fines taxonómicos y para evitar confusiones, se sigue utilizando la nomenclatura antes mencionada.

Las brucelas son cocobacilos Gram negativos pequeños, inmóviles, se les puede encontrar aislados ó en grupos, no presentan plásmidos, no tienen flagelos ni cápsula y no forman esporas. Son aerobios estrictos, aunque algunas especies requieren 5-10% de CO₂ para su aislamiento primario. Son organismos productores de catalasa pero la producción de oxidasa, ureasa y H₂S es variable según las especies.

Su crecimiento es lento debiendo esperarse hasta tres o cuatro semanas para considerar que un cultivo es negativo.

Los medios a utilizar para el aislamiento de estas bacterias no son los habituales; requieren tiamina, biotina y niacina. Es común que se utilice el medio bifásico de Castañeda para su cultivo.

Al multiplicarse estos gérmenes forman colonias esferoidales de 2-7 mm que presentan aspecto húmedo, son traslúcidas y levemente opalescentes.

Las distintas especies varían en cuanto en sus reacciones bioquímicas, huésped específico y patogenicidad para el ser humano.

Veremos a continuación las propiedades bioquímicas de cada especie.

B. melitensis:

- En medio peptonado produce H₂S en pequeñas cantidades.
- Crece en medios con fucsina básica y tionina.
- Posee antígeno "M" predominante.

B. abortus:

- Suele necesitar CO₂ para su desarrollo, sobre todo en el desarrollo primario,
- En general produce H₂S en las primeras 24 a 48 hs, de su desarrollo.
- No crece en tiamina.
- Posee antígeno "A" predominante.

B. suis:

- Puede no producir H₂S o producirlo en grandes cantidades.

-Su crecimiento es favorecido por tionina e inhibido por fucsina básica.

B. neotomae:

-Produce H₂S.

-No crece en fucsina básica pero sí en tionina.

-Posee antígeno "A" predominante.

B. ovis:

-Requiere atmósfera con 5% a 10% de CO₂.

-No produce ácido sulfúrico.

-Crece en medios con tionina y fucsina básica.

-Tiene antígeno rugoso. No posee antígeno "A" ni "M".

-Tiene aglutinación cruzada con *B. canis*.

B. canis:

-No produce ácido sulfúrico.

-No crece en fucsina pero sí en tionina.

-Tiene un antígeno rugoso.(19)

ESTRUCTURA ANTIGENICA

El principal componente antigénico de brucelas es el lipopolisacárido de su pared. El mismo puede presentar reacciones cruzadas con otros gérmenes Gram negativos tales como: *Yersinia enterocolitica*, *Francisella tularensis*, *Salmonella* 0,3, *E.coli* 0:157 y *Vibrio cholerae* si las especies de brucelas se encuentran en fase lisa.

La expresión de antígenos varía según el germen se encuentre en su fase lisa o rugosa. Dos determinantes antigénicos son los más conocidos: "A" (*abortus*) y "M" (*melitensis*) y sólo se presentan en la fase lisa. *B. abortus* y *B. suis* expresan el antígeno "A". *B. melitensis* expresa el antígeno "M".

B. canis y *B. ovis* sólo se encuentran en fase rugosa, por lo cual no presentan los antígenos antes mencionados. Esta característica está vinculada a la ausencia de virulencia para el ser humano manifiesta por estas especies.

A excepción de *B. canis*, las demás especies presentan un ácido ciclopropano de 19 carbonos que es útil para identificación por cromatografía en fase líquida y gaseosa.

EPIDEMIOLOGÍA.

En todo el mundo se ha detectado infección por *Brucella*, en el ser humano y, en mayor proporción en animales, pero la distribución de distintas especies y biotipos no es homogénea.

Las zonas más afectadas en el mundo comprenden los países ganaderos del Mediterráneo, el golfo arábigo, el sub-continente de la India, partes de México, América Central y de América del Sur. Ha reemergido en Malta y Oman.

Según datos de OPS/OMS del año 1986, *B. abortus* presentaba mayor difusión a nivel mundial en animales domésticos. En seres humanos, la brucelosis causada por *B. Melitensis* es la que predomina a nivel mundial. Países como Perú, Kuwait y Arabia

Sudita son los que presentan mayor incidencia de infecciones agudas.

B. melitensis y *B. suis* están irregularmente distribuidas lo mismo que *B. canis*. La brucelosis porcina es poco frecuente en gran parte de Asia y Oceanía. Es enzoótica en la mayoría de los países de América Latina, la cuál es considerada la zona de mayor prevalencia en el mundo.

B. neotomae se encuentra limitada a pocos focos vinculados a ciertas especies de ratas que habitan zonas desérticas de Estados Unidos. No se ha demostrado que afecte a otras especies animales ni al hombre.

B. ovis se la encuentra fundamentalmente donde la cría de ovinos es un recurso importante, y no afecta al hombre.

La ocurrencia de infección en seres humanos está en relación con la prevalencia de la misma en reservorios animales. Así se ha visto que el control y la erradicación de la brucelosis bovina tiene un efecto positivo en la reducción de la incidencia de la infección en seres humanos.

En nuestro país no hay reservorio animal de *B. melitensis* y se habían eliminado los escasos focos de *B. suis*, además de iniciarse en 1964 la vacunación obligatoria de terneras en 1964, lo cual había contribuido eficazmente a la casi desaparición de la enfermedad humana hasta 1990.

En los animales la enfermedad se manifiesta principalmente por aborto ó expulsión prematura de fetos en todas las especies.

Los bovinos sufren infección principalmente por *B. abortus*, predominando el biotipo 1. En América Latina se han hallado además los biotipos 2, 3 y 4.

B. suis y *B. melitensis* también pueden infectar al ganado bovino.

Los porcinos son afectados generalmente por *B. suis*, de la cual en A. Latina solamente se ha comprobado infección por el biotipo 1.

También pueden ser infectados por *B. abortus*, infección ésta que no se trasmite de un animal a otro y que generalmente cursa en forma asintomática.

La infección del ganado caprino es provocada por *B. melitensis* y en raras ocasiones por *B. suis* y *B. abortus*.

En ovinos se distinguen dos manifestaciones de la enfermedad: la brucelosis clásica y la epididimitis del carnero.

La brucelosis clásica es causada por *B. melitensis* y fundamentalmente provoca abortos.

La epididimitis del carnero es causada por *B. ovis* y se asocia a esterilidad por lesión de los órganos genitales del animal. En las ovejas gestantes puede provocar aborto y también mortalidad neonatal. El ganado ovino también puede verse afectado ocasionalmente por *B. suis* y *B. abortus*.

En los equinos *B. suis* y *B. abortus* producen una bursitis fistulosa, siendo rara la ocurrencia de abortos. El hombre puede adquirir el germen a partir de las lesiones abiertas de un equino.

La infección por *B. canis* puede ser endoepizoótica en perros, los que también pueden infectarse por *B. abortus*, *B. suis* y *B. melitensis*.

El búfalo doméstico (*Bubalis bubalis*) y los yaks (*Bos grunniens*) pueden adquirir la infección por *B.abortus* que se manifiesta de manera similar a como lo hace en los bovinos.

Se ha comprobado infección en alpacas (*Lamas pacos*) por *B.melitensis* tipo 1.

Animales silvestres como caribúes, algunos roedores, bóvidos silvestres y también artrópodos como garrapatas pueden contraer la enfermedad.

Se ha aislado *Brucella* en aves silvestres y domésticas, aunque esto es poco común.(16)

B.maris también puede producir infección en seres humanos, la que se ha observado en personas que por su ocupación están en contacto con focas y ballenas. La ocurrencia de casos es infrecuente.(27)

La transmisión de la enfermedad al hombre puede ser directa ó indirecta, producida por contacto, ingestión, inhalación o inoculación. La transmisión por contacto, que se produce a partir de bovinos y porcinos infectados, se relaciona estrechamente con la ocupación de las personas que la adquieren lo que sucede por la manipulación de fetos o contacto con secreciones vaginales y excrementos de animales enfermos. En estos casos los gérmenes ingresan al organismo por lesiones en la piel o por contacto con la mucosa conjuntival. Veterinarios, carniceros, pastores, trabajadores rurales y obreros de mataderos, adquieren generalmente la enfermedad por esta vía.

La adquisición de la enfermedad por ingestión se produce principalmente por el consumo de leche cruda o productos lácteos elaborados con leche sin pasteurizar y cuya materia prima proviene de animales infectados. La leche de cabra u oveja infectada por *B.melitensis* es la fuente más frecuente, pero también la leche de vaca y los productos lácteos que contengan *B.abortus* pueden originar casos esporádicos. No es frecuente que las brucelas sobrevivan cuando los productos mencionados son acidificados. En países como México y Arabia Saudita, donde la enfermedad causada por *B.melitensis* es endémica, la incidencia de la misma es mayor en mujeres que en hombres, y también en otras zonas en que el mismo germen es endémico se ha encontrado frecuentemente infección en niños.(7)

Las brucelas resisten el salado y ahumado de la carne , pero no se ha comprobado la adquisición de la enfermedad a partir de productos cárnicos preparados de esta manera.

La ingestión de músculo es poco infecciosa, pero la ingestión de ganglios linfáticos y médula ósea puede provocar infección.(19)

También pueden ingerirse los gérmenes con el agua o verduras crudas contaminadas con excrementos de animales.

La transmisión por inhalación de partículas se produce cuando las mismas se encuentran suspendidas en el aire y llegan al organismo a través del aparato respiratorio. Por este mecanismo pueden verse afectados trabajadores rurales que inhalan partículas procedentes de tejidos fetales ó en mataderos y frigoríficos en que el aire también

puede estar contaminado, lo mismo que en laboratorios si no se toman las debidas precauciones (centrífugas correctamente tapadas) al centrifugar muestras de material infectado. Algunos autores consideran a la brucelosis como una de las 10 primeras enfermedades que con mayor frecuencia se adquieren en el laboratorio (7).

La transmisión por inoculación se da principalmente en veterinarios por la manipulación y administración de vacunas.

Aunque constituyen casi una excepción, se han comprobado algunos casos de transmisión interhumana por vía sexual y por transplante de órganos.(24)

En los animales la enfermedad se produce por ingestión o por vía venérea. Fetos, envolturas fetales, y secreciones vaginales, procedentes de animales infectados, contaminan pasturas, forrajes y el agua, los que al ser ingeridos por otros animales que se alimentan en las inmediaciones ,pueden provocar infección y contribuir a la diseminación de la misma. En caprinos, caninos y en menor proporción en bovinos, las crías pueden infectarse durante el amamantamiento.

Los animales que contraen la infección generalmente curan en forma espontánea, pero eliminan Brucelas en leche y orina por lapsos variables.

En el animal grávido las Brucelas ocasionan la necrosis de los cotiledones placentarios por lo que el producto de la gestación muere por falta de nutrientes, principalmente oxígeno. El tropismo del germen por el tejido placentario y fetal bovino se debe a la presencia del alcohol polihídrico de cuatro carbonos eritritol, el cual actúa como fuente eficiente de hidratos de carbono para *B.abortus* en fase virulenta.(26)

Esta sustancia no está presente en los tejidos fetales de la mujer gestante.

En condiciones ambientales favorables, las Brucelas pueden sobrevivir por tiempo prolongado, habiéndose hallado que en suelos húmedos pueden permanecer viables 72 días, en la leche 17 días y en agua de mar 25 días.(26) La exposición a la luz solar las destruye en pocas horas.

PATOGENIA.

Como fue expresado con anterioridad, las Brucelas ingresan al organismo por contacto con la piel lesionada, con conjuntivas sanas, a través del tracto respiratorio o del aparato digestivo.

Cualquiera sea la puerta de entrada, los gérmenes alcanzan los vasos linfáticos y luego los ganglios, siendo generalmente vehiculizados por neutrófilos dentro de los cuales comienzan a multiplicarse, pasando también a la sangre por lo que la vía hematógica llega a constituir otra forma de diseminación. De esta manera se establece una infección sistémica donde los órganos preferentemente afectados son aquellos que constituyen el sistema retículo endotelial (S.R.E), dentro de cuyas células los gérmenes

permanecen acantonados, predisponiendo a recaídas o cronicidad de la enfermedad si la misma no es correctamente tratada (25) y dando lugar a manifestaciones clínicas como linfadenopatías y/o hepatoesplenomegalia.

EL lipopolisacárido (L.P.S) de la pared celular de las Brucelas, sería el más importante factor de virulencia con que cuentan las mismas ya que las que se presentan en fase lisa son más virulentas y resistentes a los mecanismos de lisis intracelular de los polimorfonucleares (P.M.N) (23). Dicho L.P.S tiene actividad endotóxica pero no produce fiebre ni fenómeno de Shwazman(2).

Aquellos gérmenes que se encuentran en fase rugosa tienen un defecto en la cadena "o" del polisacárido y son poco o nada virulentas (2). Así, *B. canis* y *B. ovis*, que son naturalmente rugosas, tienen un espectro de huéspedes muy limitado. *B. melitensis* y *B. suis* en general son más virulentas que *B. abortus* y *B. canis* para los seres humanos (23). Las Brucelas son gérmenes intracelulares facultativos, con capacidad de multiplicarse en el interior de monocitos y macrófagos desde donde pueden ser liberados en forma intermitente. Dicha facultad los protege de la acción lítica de anticuerpos y muchos antibióticos de nula actividad intracelular.

En el ser humano normal el suero puede ejercer actividad bactericida contra algunas de las especies de *Brucella* y consigue opsonizar microorganismos que luego son fagocitados por P.M.N. Las cepas de *B. melitensis* suelen resistir la bacteriolisis sérica.

Los mecanismos por los cuales las Brucellas evitan la destrucción intracelular en los P.M.N son poco conocidos, pero se piensa que algunas propiedades de la pared bacteriana podrían contribuir:

- 1) Producción de adenina y 5' guanosina monofosfato, sustancias que suprimen el sistema mieloperoxidasa de los neutrófilos.
- 2) Sustancias que inhiben la fusión entre los fagosomas y los lisosomas de los macrófagos.
- 3) Enzimas que protegen contra la destrucción oxidativa, como la superóxido dismutasa.(11).

B. abortus forma granulomas de células epiteliales que luego de aproximadamente 6 meses comienzan a resolverse hasta desaparecer. En el caso de *B. suis* se ha constatado la formación de abscesos, producto de la acumulación de neutrófilos y destrucción celular. *B. melitensis* produce mayor toxicidad sistémica pero menor formación de abscesos.

En la protección contra la reinfección por *Brucella* los anticuerpos humorales desempeñan un pobre papel y la fase bactericida coincide con la instalación de la inmunidad mediada por células. El control de la infección depende de linfocitos T específicos que excretan linfoquinas, las que a su vez activan los mecanismos bactericidas de los macrófagos.

En la infección reciente se produce inicialmente el aumento de inmunoglobulina M (IgM) seguido de la síntesis de inmunoglobulina G (IgG) luego de 7 a 14 días. Ambas inmunoglobulinas siguen en aumento, con predominio de IgG. Durante la recuperación de la enfermedad los títulos de IgG disminuyen en el curso de algunos

meses, mientras que bajos títulos de IgM pueden persistir varios meses después de la infección.

La continuidad de títulos altos de IgG, o una segunda elevación de los títulos de estos anticuerpos, puede indicar persistencia de la infección ó su recidiva.(12)

CLÍNICA

El período de incubación de la enfermedad varía entre 8 y 20 días, pudiendo ser mas prolongado, inclusive de varios meses.(2)

B.abortus es la especie que puede presentarse con períodos de incubación más prolongados.(19)

Las formas de presentación de la brucelosis como enfermedad son variadas y han sido clasificadas de forma distinta por diferentes autores. Así, por ejemplo el Dr. F. Ramaciotti distingue un estado de invasión que puede presentarse en forma aguda ó sub-aguda y posteriormente un período de estado.

Hay quienes consideran cinco formas de presentación posibles y se basan además en hallazgos directos e indirectos de la presencia del germen (25):

- 1) Enfermedad subclínica, con escasa sintomatología, cultivos negativos y serología positiva. La relación entre casos asintomáticos y sintomáticos podría variar entre 1:1 y 12:1 (15).
- 2) Forma bacteriémica en que la enfermedad cursa con sintomatología y signología sistémica y cultivos y serología positivos.
- 3) La forma serológica se refiere a aquella que se da en personas que están en contacto con animales o consumen productos derivados de los mismos sin pasteurizar, presentando manifestaciones sugestivas de enfermedad con cultivos negativos y serología positiva. Para su diagnóstico se consideran títulos de aglutininas plasmáticas superiores a 1:160 o ascenso de las concentraciones de anticuerpos específicos.
- 4) En la brucelosis localizada los signos y síntomas están relacionados con las estructuras afectadas, los cultivos de las mismas son positivos y la serología puede ser positiva o negativa.
- 5) Forma crónica : es la que plantea mayores dificultades diagnósticas y en la que se describen tres categorías:
 - a) pacientes con sintomatología clínica reiterada y pruebas sugestivas de actividad de la enfermedad.
 - b) Pacientes con sintomatología de enfermedad localizada de larga evolución.
 - c) Pacientes en los que no se verifica enfermedad a pesar de que persisten con malestar general.

Es así que, casos esporádicos de la enfermedad, pueden ser difíciles de diagnosticar debido a la variabilidad del período de incubación y la sintomatología proteiforme con que suele presentarse.

La enfermedad puede presentarse de manera insidiosa en aproximadamente la mitad de los casos. Generalmente se caracteriza por sintomatología inespecífica y variada como fiebre, chuchos de frío, astenia, anorexia, adelgazamiento, sudores predominantemente nocturnos, con característico olor a paja

fermentada y del cual se ha aislado *Brucella* (19), depresión, dolores articulares y mialgias, que predominan en miembros inferiores, sobre todo en músculos flexores (28). Síntomas como epistaxis, vómitos y constipación pueden sumarse al cuadro clínico. En algunos casos puede presentarse con diarrea. Un tercio de los pacientes presentan tos seca o productiva. La fiebre suele ser de hasta 39°-40°, remitente, intermitente o continua y ocurre en todos los pacientes en algún momento de la enfermedad. Puede darse por un período de semanas o meses cuando no es tratada. Actualmente el patrón clásico de fiebre "ondulante" se ve con menor frecuencia, lo que probablemente se deba al uso temprano de antibióticos (2). Es raro que la enfermedad se presente como sepsis grave o coagulación intravascular diseminada.

En el examen físico en formas no localizadas puede hallarse hepatomegalia de tamaño variable hasta en el 50% de los casos, esplenomegalia en porcentaje similar y adenomegalias hasta en un 25%(2), principalmente axilares cervicales e inguinales, configurando un síndrome mononucleósido. Se han observado casos de adenitis supurada, lográndose aislar el germen a partir de estas lesiones.(19). Hasta el 5% de los pacientes pueden presentar lesiones cutáneas en forma de erupción papulonodular no pruriginosa, que en general se encuentra en tronco y extremidades, también puede presentarse un eritema nudoso.

En niños y adolescentes la enfermedad se manifiesta de modo similar a como lo hace en el adulto, pero es frecuente que predominen síntomas de la esfera digestiva (anorexia, vómitos, dolores tipo cólico).(7).

En la mujer embarazada es muy raro que esta infección sea causa de aborto, aún en la enfermedad no tratada. La ausencia de eritritol en la placenta humana, la actividad anti-*Brucella* del líquido amniótico humano y probablemente otros factores influyen para que ésta infección no afecte la gestación. En aquellos casos en que el aborto se produce el mismo parecería estar relacionado con la fiebre alta y la bacteriemia pero no con la infección misma. De todas maneras el tratamiento de la madre está indicado si se realiza el diagnóstico (18).

LOCALIZACIONES ESPECIFICAS

Localización osteoarticular.

Es muy frecuente que huesos y articulaciones estén involucrados en ésta infección, lo cual ocurre hasta en un 40 % de casos para algunos autores (23). Dentro de éstos la sacroileitis es la de mayor incidencia, y está relacionada en forma predominante con la infección causada por *B. melitensis*. También se observan casos de periartitis, espondilitis, osteomielitis y bursitis.

La periartitis afecta sobre todo grandes articulaciones como coxofemoral, rodilla, tobillos y más raramente hombro y articulación esternoclavicular. Puede observarse mono o poliartitis, presntándose, esta última en general en forma migratoria, similar a

la fiebre reumática(28). Se comprueba autentica artritis sólo en el 5 % de los pacientes que refieren artralgiás, los hallazgos radiológicos suelen ser nulos pero en líquido sinovial puede presentar celularidad aumentada a predominio linfocitario y el cultivo del mismo suele ser positivo casi en el 50 % de los casos.

Las espondilitis se ven sobre todo en pacientes de edad avanzada, frecuentemente de sexo masculino y se presenta con intenso dolor localizado generalmente en zona lumbar, fiebre, síntomas generales y en ocasiones hemocultivos positivos.(2). Hasta un 20 % de éstos casos pueden asociarse con abscesos paravertebrales. En el estadio temprano de la infección las radiografías pueden ser normales siendo útiles para el diagnóstico la tomografía computarizada (sobre todo para diagnóstico de abscesos paravertebrales) o el centellograma óseo. En casos evolucionados las radiografía puede mostrar disminución del espacio discal o erosiones del cuerpo vertebral. En nuestro medio el Dr Pablo Purriel, en su extensa monografía sobre brucelosis(9) se interesa especialmente en la localización vertebral de la misma, aportando que un 62% de los pacientes por él estudiados , presentaron lesiones vertebrales. Destaca que la ausencia de supuración es característica, lo que probablemente se deba a que la mayoría de sus pacientes son infectados por B. Bovis.

Los casos en que se constata tenosinovitis y bursitis se presentan con inflamaciones de tejidos periarticulares erráticos.

Localización a nivel del sistema nervioso.

La afección del sistema nervioso es poco frecuente: menos del 2% de los casos (23) a 5% (2), y puede manifestarse de múltiples formas, aunque en los últimos años este polimorfismo clínico ha disminuido. Dentro de estas formas la meningitis aguda ó crónica continúa siendo la mas frecuente, cuya presentación es la habitual para este síndrome, debiendo tenerse en cuenta que más del 50% de los casos no presenta rigidez de nuca (2). El líquido céfalo raquídeo (L.C.R) es claro, con proteínas elevadas, disminución de la concentración de glucosa y celularidad aumentada a predominio linfocitario. Algunos autores manifiestan que las posibilidades de aislar el germen del L.C.R son escasas (23), pero otros sostienen que se le puede hallar hasta en la mitad de los casos(2). Los anticuerpos contra las distintas especies de Brucella sí pueden detectarse en el L.C.R.

Los síndromes radicales o meningopolirradicales no son frecuentes y se manifiestan como mono ó polirradiculitis, siendo el nervio ciático el más afectado.(19).

La afección medular en forma de mielitis aguda o subaguda es poco común.

Se han descrito accidentes vasculares transitorios causados por afectación vascular del S.N.

Menos frecuente aún es el hallazgo de abscesos cerebrales causados por Brucella, que pueden manifestarse por cefalea, déficit

neurológicos focales ó coma y cuyo diagnóstico se confirma por estudios imagenológicos (21).

Es frecuente que los pacientes con brucelosis presenten cuadros de depresión ó psicosis, que pueden verse desde el inicio de la enfermedad.

Localización en el aparato respiratorio.

La frecuencia con que se constatan síntomas del aparato respiratorio causada por *Brucella* varía, según distintos autores, entre 2% a 25%(2) (23) (11). Se manifiesta por tos y/o disnea y en contados casos se encuentran derrame pleural y empiema (23). Los estudios radiológicos pueden mostrar infiltrados pulmonares, adenopatías parahiliares, e imágenes nodulares únicas ó múltiples. Del estudio de la expectoración raramente se recuperan *Brucellas*, pero sí es posible hallarlas en el líquido pleural ó en muestras de biopsia pleural (23).

Localización genitourinaria.

En general la sintomatología de este aparato se presenta en asociación con elementos clínicos de infección sistémica. Los testículos son los órganos que con más frecuencia se encuentran afectados ya que el 5% de los hombres presentan una orquiepididimitis, que puede ser bilateral y la que no es habitual que cause esterilidad.

Es raro que el riñón se vea involucrado. Puede hallarse discreta alteración de la función renal y escasa alteración del sedimento urinario sin que presenten alguna patología definida en el parénquima renal. Entidades nosológicas como pielonefritis o glomerulonefritis son de infrecuente presentación.

La prostatitis es una rara manifestación de la enfermedad, hallándose en el 1% de los casos.

Se ha aislado *Brucella* de orina sin que riñón ni vías urinarias se encuentren afectadas.

Localización cardiovascular.

Una de las más frecuentes causas de muerte por brucelosis es la endocarditis (22). Afortunadamente, la afección de las válvulas cardíacas se da en menos del 2% de los casos de brucelosis, siendo más frecuente que el proceso se de en la válvula aórtica y en segundo lugar la válvula mitral. Sigue generalmente un curso agudo, en el contexto clínico de la enfermedad sistémica, con inestabilidad hemodinámica y escasa respuesta al tratamiento antibiótico, por lo que suele requerirse tratamiento quirúrgico para reparación valvular. Para su diagnóstico precoz son fundamentales la utilización de métodos de detección rápida del germen y la ecocardiografía.

Son de rara presentación cuadros hematológicos graves como pancitopenia , hematofagocitosis, anemia hemolítica autoinmune y C.I.D. La pancitopenia moderada puede deberse a hiperesplenismo, mecanismo autoinmune o hipoplasia medular. Cuando es intensa debe descartarse la presencia conjunta de un síndrome hematofagocítico (S.H.R). La brucelosis causa hasta un 5.3% de los S.H.R diagnosticados (10), siendo considerados como tales aquellas citopenias que involucren como mínimo dos líneas celulares lo que no pueda ser explicado por otra causa, debiéndose encontrar además histiocitos hemofagocíticos que representen al menos el 2% de las células nucleadas de la médula ósea.

Localización ocular.

Esta localización es infrecuente y se expresa por alteraciones limitadas de la agudeza visual con exploración oftalmológica frecuentemente normal, aunque ocasionalmente pueden hallarse exudados al fondo de ojo.

Brucelosis crónica

Este término generalmente se utiliza para denominar casos que presentan más de seis meses de evolución luego de realizado el diagnóstico, pero su definición es imprecisa.

Spink (23) considera tres grupos:

- 1) Pacientes que presentan signos de infección en forma reiterada y en los que se comprueba actividad de la enfermedad, podría deberse a que no recibieron un tratamiento adecuado y debe considerarse la posibilidad de una recaída.
- 2) Pacientes con elementos de infección en los que se encuentran signos de localización de la misma.
- 3) Pacientes en los que no se encuentran elementos de infección pero refieren manifestaciones pérdida de memoria, indiferencia, irritabilidad, insomnio y en cuyo diagnóstico deben descartarse cuadros psiquiátricos o simulación.

Recaídas de la enfermedad.

Esta es una característica de la enfermedad a la que deberá prestarse debida atención, ya que es relativamente frecuente que suceda. Esto en parte podría explicarse por la capacidad del microorganismo de sobrevivir en el medio intracelular en los macrófagos, sobre todo si no ha mediado un tratamiento correcto en forma y tiempo.

En pacientes que luego de realizado el tratamiento se ven nuevamente expuestos al germen puede tratarse de una reinfección , no una recaída.

La mayoría de las recaídas ocurren dentro de los seis primeros meses de finalizada la terapia . El período medio de tiempo transcurrido entre la finalización de la terapia y la aparición de

recaída fue de 70 días según un estudio realizado por Javier Ariza y colaboradores (3).

Estos autores también hallaron que la mayoría de los episodios de recaída presentaron sintomatología aguda y florida, pero también hallaron casos de presentación insidiosa, que fueron comprobados por hemocultivos positivos. La presentación en forma insidiosa fue mas frecuente en la recaída que al inicio de la enfermedad.

También encontraron pacientes que desarrollaron formas localizadas de la enfermedad, durante la recaída, que no estaban presentes en el curso de la enfermedad inicial.

Javier Ariza y colaboradores analizaron cinco factores de riesgo de recaída de la enfermedad en el grupo de pacientes que estudiaron:

- 1) Pacientes que fueron tratados con planes de antibioticoterapia de segunda elección. Esto se relacionaría con la farmacocinética y concentración intracelular alcanzada por el antibiótico empleado.
- 2) Pacientes con cultivos de sangre positivos
- 3) Enfermedad de menos de 10 días de duración al iniciarse el tratamiento. Aunque parezca contradictorio, esta situación también fue comprobada en estudios realizados por Spink. Estaría relacionada con una disminución del estímulo antigénico debido al inicio precoz del tratamiento, lo que alteraría la respuesta inmunológica.
- 4) Los casos de recaída predominan en pacientes de sexo masculino. Podría estar relacionado con el hecho de que el hierro aumenta la virulencia de las Brucelas y a que en la mujer es mas frecuente la anemia ferropénica.
- 5) Casos que cursan con plaquetopenia (< 150 por $10^3/\text{mm}^3$)

PARACLÍNICA.

EL diagnóstico de la enfermedad es clínico-epidemiológico y se confirma por estudios bacteriológicos y/o serológicos.

Los estudios de rutina empleados en el laboratorio son poco orientadores en los casos de brucelosis. El hemograma suele mostrar leucocitosis normal, pudiendo encontrarse plaquetopenia y, algo mas frecuentemente, anemia. La velocidad de eritrosedimentación puede encontrarse dentro de valores normales o algo elevada, pero no es específica. Suele aumentar su valor cuando aparecen complicaciones articulares.

Los antecedentes epidemiológicos deben interrogarse cuidadosamente ya que suelen ser orientadores.

Por lo antedicho es de fundamental importancia confirmar de modo directo o indirecto la presencia del germen en el organismo, para arribar así al diagnóstico de la enfermedad.

Siempre que se envíen al laboratorio muestras orgánicas de pacientes con sospecha clínica de brucelosis, deberá adjuntarse esta información para que se tomen las debidas precauciones en su manejo, evitando así la formación de aerosoles, que es el modo

por el cual con mas frecuencia se trasmite la infección dentro del laboratorio alcanzando un porcentaje del 80% (13).

El trabajo de cultivo debe realizarse en una cabina de seguridad biológica y quienes manipulan las muestras deben utilizar ropas protectoras.(9).

Los métodos directos logran el aislamiento del germen por el cultivo de sangre y médula ósea, con los cuales se obtiene el mayor rendimiento, pero también puede realizarse a partir de líquido pleural, L.C.R, orina, líquido articular y otros productos biológicos. El cultivo de muestras de médula ósea debe reservarse para casos de difícil diagnóstico y para aquellos casos en que el paciente ha sido tratado con antibióticos

Deben obtenerse hemocultivos múltiples. Para los mismos es habitual que se emplee el medio bifásico de Castañeda, que contiene medio de cultivo con digerido de soja-caseína dado que se le considera eficaz y seguro para el personal de laboratorio y que no es necesario realizar subcultivos (8).El material debe ser incubado en atmósfera que contenga 5-10 % de CO₂ como mínimo durante 21 días, dado que los gérmenes del género *Brucella* crecen lentamente. Se obtienen colonias no hemolíticas y con la técnica de Gram se observan cocobacilos gramnegativos , aerobios estrictos, que no fermentan lactosa ni glucosa, oxidasa positivos. La identificación definitiva y biotipificación se realiza en laboratorios especializados. La misma se basa en: 1) producción de H₂S. 2) Requerimiento de CO₂ para el crecimiento.

3)Aglutinación en sueros monoespecificos. 4)Producción de ureasa
5) Capacidad de crecer en medios con fucsina básica y tionina. 6) Tipificación por fagos: Se utiliza para diferenciar los biotipos 3 a 9 de *B.abortus* de *B.melitensis*. (9).

Debido a la demora establecida con la técnica comentada, se han buscado otros métodos de diagnóstico directo, como hemocultivos por métodos de detección automática (Bactec), por método radiométrico o no radiométrico, con el cual en aproximadamente 10 días se llega al diagnóstico, o el sistema de lisis-centrifugación, con un promedio de detección de 3.1 días (14).

Aunque en nuestro medio su uso aún está poco difundido, la amplificación de ácido desoxirribonucleico (ADN) por la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR), ha demostrado alta sensibilidad y especificidad para el diagnóstico de *Brucella*.

Mediante su uso es posible la obtención rápida de resultados. Se realiza utilizando la secuencia 16S rRNA de *B.abortus*.(20).

Serología.

Casi todas las pruebas serológicas que se utilizan para el diagnóstico de brucelosis detectan la existencia de anticuerpos contra el LPS de la membrana externa, ya sea empleando células enteras o LPS de *B.abortus*.

Cuando se utiliza el antígeno de *B.abortus* debe tenerse en cuenta que no es útil para el diagnóstico de *B.canis*, la cual sólo tiene fase rugosa porque no posee el polisacárido "o" liso.

Para el diagnóstico de *B. canis* deben utilizarse antígenos extraídos de *B. canis* o *B. ovis*.

La seroaglutinación en tubo y la prueba de Rosa de Bengala detectan la fracción aglutinante de los anticuerpos que se encuentran en el suero. Para la seroaglutinación una cifra de 100 u/ml o mayor, y cifras en aumento en muestras subsiguientes, son altamente sugestivas de infección activa.

Las pruebas anteriormente mencionadas, no diferencian entre IgG e IgM. Si el suero es tratado con 2-mercapto etanol esta sustancia disuelve las uniones disulfúricas, impidiendo la aglutinación de las IgM, pero no de las IgG. Para la prueba de 2-mercaptoetanol en la infección activa se encuentran títulos superiores a 1/160 y también tiene valor diagnóstico la cuádruplicación de los títulos en el transcurso de dos semanas. También se puede realizar el seguimiento de la enfermedad por los valores de títulos de IgG, ya que su disminución se relaciona con una buena respuesta de la enfermedad al tratamiento, mientras que una elevación puede indicar recaída.

La prueba de Coomb y la de fijación del complemento detectan anticuerpos no aglutinantes, estos son anticuerpos incompletos y se encuentran en mayor cantidad que los aglutinantes. Son pruebas sensibles pero requieren altas diluciones para que sean diagnósticas. Estas técnicas están indicadas fundamentalmente cuando existe una fuerte sospecha clínica pero los resultados obtenidos por las pruebas anteriores son negativos o no definitivos.

La técnica de ELISA ha demostrado ser sensible y específica. Este método permite detectar anticuerpos de tipo IgM, IgG, e IgA. IgM es la primera en descender en la evolución, aún cuando el paciente no haya recibido tratamiento. Los títulos de IgG pueden detectarse durante 2-3 años. En casos de recaída, IgG e IgA aumentan.

TRATAMIENTO.

Se ha demostrado in vitro que múltiples antibióticos son activos contra *Brucella*, pero esta actividad no siempre es efectiva in vivo. Es necesario tener en cuenta que este germen es intracelular facultativo y se ha comprobado que para obtener buenos resultados se necesita que el tratamiento sea suficientemente prolongado y que se empleen dos drogas en forma simultánea; de esta forma se ha reducido el porcentaje de recaídas. (6).

Evaluando los resultados del uso de distintas combinaciones de drogas, dosis y duración del tratamiento, se han elaborado planes terapéuticos cuya recomendación ha variado en el tiempo.

En 1970 se preconizó el uso de tetraciclina más estreptomina. Actualmente, y desde 1986 se recomienda, por parte del Comité de Expertos en Brucelosis de la OMS/FAO, tratar la enfermedad aguda en el adulto con doxiciclina 200 mg/día y rifampicina 600-900 mg/día durante seis semanas.

La doxiciclina tiene vida media mas prolongada que la tetraciclina, lo que permite mantener niveles terapéuticos con menos tomas diarias, y se prefiere la rifampicina a la estreptomocina debido a que esta última debe administrarse en forma parenteral por su mala absorción digestiva y a que es potencialmente neurotóxica (23). La misma dificultad en la administración presenta la gentamicina aunque es muy efectiva, siempre que se le emplee en combinación con otra droga.

El uso de rifampicina y trimetoprin-sulfametoxazol,(TMP-SMZ) también sería una opción válida, aunque se ha presentado mayor porcentaje de recaídas que con los planes anteriores.(25). Algunos autores recomiendan el uso de TMP-SMZ en monoterapia en niños menores de 6 años en quienes está contraindicado el uso de tetraciclinas y, para disminuir el número de recaídas sugieren el empleo concomitante de gentamicina durante los cinco primeros días de iniciado el tratamiento.

La rifampicina es bactericida, difunde a través de lípidos y obtiene una buena distribución en el organismo, incluso SNC. No destruye bacterias que se encuentran en medio intracelular(12).

Su efecto sumado al de la ceftriaxona se emplea para el tratamiento de la brucelosis en las pacientes gestantes.(6). Las cefalosporinas de tercera generación alcanzan niveles adecuados en le LCR y en los fagocitos y estarían especialmente indicadas en casos de meningitis causados por *Brucella*, siempre en combinación con rifampicina (9).

PREVENCIÓN

La medida que se ha demostrado mayor eficacia para el control y prevención de la enfermedad en humanos ha sido la eliminación de la infección en animales domésticos. Esta eliminación se consigue de diferente manera según las especies.

Para bovinos, ovinos y caprinos se cuenta con vacunas, cuyo uso ha mostrado buenos resultados en países donde se la ha administrado de manera adecuada durante el tiempo indicado.

En la elaboración de la vacuna para bovinos se utiliza la cepa 19 de *B.abortus*. Dicha vacuna se administra a terneras de 3 a 6 meses de edad, brinda protección durante toda la vida del animal y protege aproximadamente al 65-80% de los animales vacunados (16).

En nuestro país esta vacuna se usó a partir de 1964, hasta hace tres años, en que se abandonó su uso por encontrarse actualmente la brucelosis bovina en etapa de erradicación.

Para la vacunación de cabras y ovejas se usa la cepa Rev-I de *B.melitensis* viva y atenuada (17). En zonas de baja prevalencia puede ser de utilidad el sacrificio de los animales reactivos.

No se cuenta con vacunas para cerdos, por lo cual deben sacrificarse los animales infectados y los que se encuentran en contacto con estos, para conseguir la eliminación del foco.

Los perros infectados deben eliminarse ya que tampoco hay vacunas contra *B.canis*.

No se ha aprobado aún el uso de vacunas en humanos (22). Trabajadores de mataderos o frigoríficos, trabajadores rurales y veterinarios, quienes por su profesión están particularmente expuestos a esta enfermedad, deben contar adecuada información y protección.

En frigoríficos y mataderos el lugar destinado a la matanza debe estar separado del resto de la planta y contar con buena circulación de aire. Es también importante el uso de ropa protectora y la adecuada desinfección del lugar al finalizar las tareas.

Cuando se sacrifican animales con serología positiva la faena debe hacerse al final del día extremando precauciones y protección de los trabajadores.

La leche de cabra y oveja y los productos elaborados con ésta, deberán ser pasteurizados para su consumo. En su defecto la leche debe hervirse (17).

Es una enfermedad de notificación obligatoria y como enfermedad laboral, la asistencia del paciente está cubierta por el Banco de Seguros. Conocido un caso debe descubrirse la fuente y estudiarse aquellas personas vinculadas a la misma y también los animales sospechosos, eliminando a los que son reactivos.

BIBLIOGRAFÍA

- 1) ANGEL G., ANGEL M. Brucelosis. Interpretación clínica del laboratorio. Quinta edición. Pag. 118-119.
- 2) ARIZA J. Brucelosis. Ferreras-Rozman Séptima edición. Pag 2312- 2317.
- 3) ARIZA J. y colaboradores. Characteristics of and risk factors for relapse of Brucelosis in humans. Clin Infectious Diseases 1995; 20:1241-9.
- 4) BOURANTAS K.L y col. A 54 year-old stockbreeder with ascitis. Lancet 1997; 349:994.
- 5) BRASELLI A. MEROVICH E. Antibióticos. Uso racional en la clínica médica. Cap 4. Pag. 54-60.
- 6) BRASELLI A. PURTSCHER H. SAVIO E. Brucelosis. Enfermedades infecciosas. Tomo 2. Pag. 229-235.
- 7) CHOMEL B. Changing trends in the epidemiology of human brucellosis in California 1973 to 1992: a shift toward food borne transmission. The Journal of Infectious diseases 1994; 170:1216-23.
- 8) DE TODD-SANFORD-DAVIDSON. Diagnóstico y tratamiento en el laboratorio clínico. Tomo 2. Pag. 1603-1617.
- 9) LENNETE. Microbiología clínica. Cuarta edición. Capítulo 32. Pag. 482-486.
- 10) LOPEZ-GOMEZ. Síndrome hematofagocítico reactivo con coagulación intravascular diseminada secundario a brucelosis aguda. Enfermedades infecciosas Microbiología clínica. Volumen 12 n° 10 diciembre 1994.
- 11) MANDEL, DOUGLAS Y BENNETT. Enfermedades infecciosas 4ª edición. Tomo 2. Capítulo 205.
- 12) MANDEL, DOUGLAS Y BENNETT. Enfermedades infecciosas. 4ª edición. Tomo 1. Capítulos 21 y 22.
- 13) MARTIN-MAZUELOS E. Outbreak of Brucella melitensis among microbiology laboratory workers. Journal of clinical microbiology. Aug. 1994. Vol. 32 n°8 :2035-2036.
- 14) NAVAS E. Detección de Brucella en hemocultivos. Enfermedades infecciosas Microbiología clínica 1994. Vol. 12 n°5: 272-273.
- 15) MORBIDITY AND MORTALITY WEEKLY REPORT. Brucellosis outbreak at a pork processing plant. February 25 1994. Vol. 43. N°7. Pag. 113-116.
- 16) ORGANIZACIÓN PANAMERICANA DE LA SALUD. Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. 2ª edición 1986. Pag. 14-35.
- 17) ORGANIZACIÓN PANAMERICANA DE LA SALUD. El control de las enfermedades transmisibles en el hombre. 15ª edición 1992. Pag. 30-33.
- 18) OSCHERWITZ STEVEN L. Brucellar bacteremia in pregnancy. Clinical infectious disease. 1995; 21: 714-5.

- 19) RAMACCIOTTI F. Brucellosis. 3º edición.
- 20) ROMERO C. GAMAZO G. PARDO M. Specific detección of Brucella DNA by PCR. Journal of clinical microbiology. Mar. 1995. Pag. 615-617.
- 21) SANTINI C. BAIOCCHI P. A case of brain abscess due to Brucella melitensis. Clinical infectious diseases 1994; 19: 977-8.
- 22) SUNGUR CEM. Fatal Brucella melitensis endocarditis in a hemodialysis patient. Nephron 1994; 67: 234-235.
- 23) YOUNG E. An overview of human Brucellosis. Clinical infectious disease . 1995; 21: 283-90.
- 24) WYATT H. V. Brucella melitensis can be transmitted sexually. The lancet. Vol. 348 aug. 31, 1996 : 615.
- 25) ZABALA TRUJILLO I. Brucellosis. Clinicas de infectología de norteamerica 1995. Vol.8: 241-257.
- 26) ZINSSER. Microbiología 20º edición . Capitulo 41: 827-833 .
- 27) CORBEL.M.J. Brucellosis: an overview. Emerging infectious diseases. 1997 april-june. Vol.3. Number 2. <http://www.cdc.gov/ncidod/vol3no2/corbel.htm>
- 28) PURRIEL P. Brucelosis. Estudio de esta enfermedad en el Uruguay. 1ª edición 1994.
- 29) NISKI R. XXVII Congreso Nacional de Medicina Interna 1999 Pag 58-64.