



Maestría en Prevención y Control de Zoonosis

**Estudio de Seroprevalencia de Infección por
Brucella canis en Veterinarios del Partido de
La Plata**

Med. María Laura Yantorno

Directora de Tesis: Dra. Silvia E. González Ayala

Co Director de Tesis: Dr. Amadeo S. Esposto

Julio 2018

DEDICATORIA

A mi familia, en especial a Pablo, que sin su apoyo constante hubiera sido imposible realizar esta experiencia

A mis maestros quienes me enseñaron a tener una visión más amplia de las zoonosis y estimularon mi aprendizaje

En especial a la Dra. Delia Enría y al Dr. Alfredo Seijo, no sólo por los conocimientos transmitidos sino por la calidez humana con la que nos recibían en cada clase e hicieron que el esfuerzo de viajar tantos kilómetros valiera la pena

AGRADECIMIENTOS

A la UNNOBA, a los Directores de la Maestría y docentes, a Denise, y a mis compañeros, con quienes logramos formar un buen equipo de trabajo

Al Servicio de Infectología del Hospital San Martín, a mis jefes y a mis compañeros, especialmente a Yanina Nuccetelli, por colaborar y estimularme a seguir pese a las dificultades que encontraba en el camino

A Marcelo Ferraro, quien desde el primer día me brindó su apoyo y acompañó, incluso cuando no estaba obligado a hacerlo fuera de su horario o lugar de trabajo

Al personal del Servicio del Laboratorio Central del Hospital San Martín, a las bioquímicas Graciela Echeverry y Elizabeth Manciola, que me permitieron procesar las muestras en el hospital

A las médicas veterinarias Mabel Marcantoni, Jefa del Departamento Bioterio y Campo Experimental del Instituto Biológico Dr. Tomás Perón y a Yanina Corrada, Subdirectora del Hospital Escuela de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la UNLP quienes me abrieron las puertas para poder contactarme con los veterinarios que trabajaban en cada sección

A Marcos Beltrán, Sebastián Stella y Leonel Tosonoto, veterinarios independientes que colaboraron para contactar colegas de distintos lugares del partido de La Plata

A la familia Ferrer que me recibió en su casa y me hizo pasar una agradable estadía durante los años de cursada

A la Dra. Silvia González Ayala, y al Dr. Amadeo Esposto quienes aceptaron ser mis directores de Tesis y estuvieron presentes ante cada inquietud y dudas que me surgían frente a mi primera experiencia en Tesis

A Laura Riera, que con su calidad de persona, estuvo presente en el último tramo, y me estimuló para poder terminar el proyecto pese a los años transcurridos

ÍNDICE

| | |
|---|----|
| 1. RESUMEN..... | 1 |
| 2. ABSTRACT..... | 2 |
| 3. INTRODUCCIÓN..... | 3 |
| 4. JUSTIFICACIÓN..... | 5 |
| 5. OBJETIVOS..... | 6 |
| 5.1 Objetivo principal..... | 6 |
| 5.2 Objetivos secundarios..... | 6 |
| 6. METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN..... | 7 |
| 6.1 Diseño..... | 7 |
| 6.2 Población..... | 7 |
| 6.3 Procedimiento..... | 8 |
| 6.4 Recursos..... | 9 |
| 6.5 Plan de análisis y tamaño de la muestra..... | 9 |
| 7. ASPECTOS ÉTICOS..... | 10 |
| 8. MARCO TEÓRICO..... | 11 |
| 8.1 Introducción..... | 11 |
| 8.2 Epidemiología..... | 12 |
| 8.2.1 Formas de transmisión..... | 14 |
| 8.2.2 Factores de riesgo..... | 15 |
| 8.3 Etiología..... | 15 |
| 8.4 Patogenia..... | 17 |
| 8.5 Manifestaciones clínicas..... | 18 |
| 8.6 Diagnóstico..... | 20 |
| 8.6.1 Métodos directos..... | 21 |
| 8.6.2 Métodos indirectos..... | 23 |
| 8.6.2.1 Pruebas serológicas que detectan anticuerpos anti S-Brucella (<i>B. abortus</i> , <i>B. melitensis</i> , <i>B. suis</i>)..... | 23 |
| 8.6.2.2 Pruebas serológicas que detectan | |

| | |
|---|----|
| anticuerpos anti R- <i>Brucella</i> (<i>B. canis</i>)..... | 25 |
| 8.7 Tratamiento..... | 25 |
| 9. RESULTADOS..... | 28 |
| 9.1 Características epidemiológicas..... | 28 |
| 9.1.1 Características generales..... | 28 |
| 9.1.2 Lugar de trabajo..... | 29 |
| 9.1.3 Exposición de riesgo..... | 31 |
| 9.1.4 Otros datos epidemiológicos de importancia..... | 32 |
| 9.2 Características clínicas..... | 33 |
| 9.3 Características de laboratorio..... | 34 |
| 9.3.1 Pruebas diagnósticas para <i>B. canis</i> | 34 |
| 9.3.2 Pruebas diagnósticas para otras especies de <i>Brucella</i> spp..... | 34 |
| 9.4 Descripción del caso positivo..... | 34 |
| 9.5 Acciones derivadas..... | 35 |
| 10. DISCUSIÓN..... | 37 |
| 11. CONCLUSIONES..... | 41 |
| 12. BIBLIOGRAFÍA..... | 42 |
| ANEXOS..... | 49 |

ÍNDICE DE TABLAS

| | |
|--|----|
| Tabla 1: Supervivencia de <i>Brucella</i> spp en el medio ambiente..... | 14 |
| Tabla 2: Especies que integran el género <i>Brucella</i> , hospedadores conocidos y biovariedades..... | 16 |
| Tabla 3: Características y sensibilidad de los cultivos en muestras clínicas..... | 22 |
| Tabla 4: Razas de perros involucrados en la actividad/convivencia..... | 29 |
| Tabla 5: Características epidemiológicas..... | 32 |

ÍNDICE DE FIGURAS

| | |
|--|-----------|
| Figura 1: Georeferenciamiento de localidades del partido de La Plata | 28 |
| Figura 2:Georeferenciamiento de localización de veterinarios entrevistados..... | 31 |
| Figura 3:Características clínicas referidas por los encuestados..... | 33 |

1. RESUMEN

La brucelosis humana es una zoonosis endémica frecuente en el mundo causada por diferentes especies. *Brucella canis* (*B. canis*) afecta a los cánidos y la transmisión al hombre ocurre ocasionalmente por contacto con perros infectados o sus secreciones. Debido a sus manifestaciones clínicas inespecíficas y la ausencia de reacción cruzada con antígenos de otras especies de *Brucella* utilizadas en los métodos diagnósticos habituales podría estar subdiagnosticada.

Los veterinarios, así como personal de criaderos, convivientes con perros enfermos y personal de laboratorio podrían considerarse grupos de alto riesgo.

Debido a que hay comunicaciones de casos de infección humana cada vez más frecuentes se decidió realizar este estudio en un grupo considerado de riesgo.

En el presente trabajo se describe la seroprevalencia de anticuerpos anti *Brucella canis* y otras especies, en 60 veterinarios que trabajan con perros en el partido de La Plata, Argentina.

Como resultado se obtuvo que 1/60 veterinarios (1,6%) presentó pruebas serológicas positivas para *B. canis* mientras que ningún veterinario presentó pruebas serológicas positivas para otras especies de *Brucella* spp.. No se registraron casos de infección sintomática.

Debido al escaso desarrollo de investigaciones de estas características sería prematuro establecer una conclusión que permita determinar la verdadera incidencia de la enfermedad. Sin embargo, se debe mantener el alerta, obliga a pensar en la enfermedad y a trabajar en forma conjunta con veterinarios frente a esta zoonosis urbana emergente y escasamente conocida tanto en el ámbito médico como veterinario.

2. ABSTRACT

Human brucellosis remains the most common zoonotic disease worldwide and may be caused by different species. The transmission of *Brucella canis* (*B. canis*) to man commonly occurs through contact with infected dogs or their secretions. The disease is underdiagnosed due to a general lack of serological testing facilities and their variety of clinical presentations.

Veterinarians, breeding staff, live with dog infected and laboratory personnel are considered high risk groups.

Because there are reports of cases of human infection becoming more frequent, it was decided to carry out this study in a group considered at risk.

In the present work we describe the seroprevalence of antibodies against *Brucella canis* and other species in 60 veterinarians who work with dogs in the municipality of La Plata, Argentina.

As a result, it was found that 1/60 veterinarians (1,6%) presented positive serological tests for *B. canis* while no veterinarian presented positive serological tests for other species of *Brucella* spp. There were no cases of symptomatic infection.

Due to the lack of knowledge about this topic, it would be premature to establish a conclusion that would allow to determine the true incidence of this disease. However, it is important to keep alert, think about the disease and work together with veterinarians against this emerging urban zoonosis that is little known both in the medical and veterinary field.

3. INTRODUCCIÓN

La brucelosis humana es causada por bacterias del género *Brucella*. Se detectan más de 500.000 casos nuevos por año a nivel global. Se conoce también como fiebre ondulante, fiebre de Malta o fiebre del Mediterráneo¹⁻³. A pesar de ser endémica en numerosos países, continúa siendo un desafío diagnóstico debido a sus manifestaciones proteiformes por las que puede confundirse con otras enfermedades infecciosas y no infecciosas⁴⁻⁷. La brucelosis tiene una distribución cosmopolita. Algunos países del centro y del norte de Europa han logrado su eliminación; pero, permanece como un gran problema en las regiones del Mediterráneo, oeste de Asia, algunas zonas de África y Sudamérica⁸⁻⁹.

Una cepa de *Brucella melitensis* se aisló por primera vez en 1930 en la Argentina. Desde 1932 se incluyó entre las enfermedades profesionales¹⁰. A pesar de ser una enfermedad de notificación obligatoria, el subregistro sería importante. Aunque rara vez es fatal, genera discapacidad por su tendencia a la cronicidad y tiene un gran impacto en la Salud Pública humana y en la veterinaria. En la última década el interés por el microorganismo causal ha crecido debido a su inclusión entre los agentes del bioterrorismo¹¹⁻¹³.

Las especies de *Brucella* que frecuentemente se asocian a infección humana son *B. melitensis*, *B. suis*, *B. abortus* y *B. canis*¹⁴. El diagnóstico se basa en criterios epidemiológicos, clínicos y de laboratorio^{6, 9, 15, 16}. El tratamiento antimicrobiano es útil para acortar el curso de la enfermedad, disminuir la incidencia de complicaciones y prevenir la recaída^{17, 18}.

Brucella canis fue aislada por primera vez por Leland Carmichael en 1966 a partir de perros criados en residencias caninas, siendo éste su principal reservorio¹⁹. Es un cocobacilo gram negativo, aeróbico, intracelular, de lento crecimiento⁹. Afecta a todos los cánidos, y ocasionalmente al ser humano¹⁹. En los perros, la transmisión puede realizarse mediante el

contacto directo, por vía sexual, oral, nasal o conjuntival²⁰⁻²². La transmisión al hombre ocurre por contacto con perros infectados o sus secreciones y en personal de laboratorio. El riesgo de transmisión resulta elevado no sólo en el caso de los tenedores de perros, sino para el personal de criaderos así como para los veterinarios del área clínica y de los servicios de apoyo tales como ecografistas y laboratoristas^{1,22}.

Es una zoonosis urbana emergente. Aunque la infección humana es infrecuente, se han comunicado casos aislados o en grupos familiares²³⁻²⁸. La carga de esta enfermedad podría estar subestimada teniendo en cuenta que las manifestaciones clínicas son indistinguibles de las ocasionadas por otras especies de *Brucella* y que las técnicas empleadas de rutina para el diagnóstico detectan anticuerpos anti *Brucella* en fase lisa y *B. canis* tiene morfología rugosa²⁹.

En los pacientes que presentan síntomas compatibles con brucelosis y cuyos resultados serológicos para las especies de *Brucella* de morfología lisa son negativos, debieran realizarse estudios serológicos para *B. canis*, en especial si son grupos de alto riesgo, en los que la enfermedad podría estar subdiagnosticada y en consecuencia subnotificada³⁰.

4. JUSTIFICACION

La importancia de la presencia de perros callejeros o domiciliarios con brucelosis canina y sus implicancias en Salud Pública ha sido ampliamente reconocida. Numerosos trabajos demuestran tanto la presencia de anticuerpos anti *Brucella canis* como el aislamiento del microorganismo en perros procedentes de las provincias de Buenos Aires, Córdoba, San Juan, San Luis y Tierra del Fuego²⁹.

Aunque la infección humana es infrecuente, en el Hospital San Martín de la ciudad de La Plata durante el período 2006-2012 se diagnosticaron 6 casos de infección humana por *B. canis* mediante técnicas serológicas³¹. De éstos, tres tenían contacto con perros (dos veterinarios), lo que permitiría inferir un riesgo aumentado en este grupo y en la región.

Debido a que la transmisión al hombre ocurre principalmente a través del contacto con secreciones de perros infectados, y que los veterinarios tanto de pequeños como de grandes animales son considerados grupos de riesgo (contacto estrecho con los animales, realización de partos, cesáreas, y manipulación de fluidos, a veces sin los elementos de protección adecuados), se decidió realizar este trabajo para conocer el impacto de la enfermedad en este grupo particular y en el partido de La Plata. Ello permitiría dar a conocer una enfermedad emergente principalmente en el ámbito médico, sospechar y diagnosticar, así como también realizar tareas de prevención conjuntas con distintas entidades públicas y privadas para limitar el posible impacto de la enfermedad en la comunidad.

5. OBJETIVOS

5.1 Objetivo principal

- Describir la seroprevalencia de anticuerpos anti *Brucella canis* en veterinarios que trabajan con perros en jurisdicción del Partido de La Plata.

5.2 Objetivos secundarios

- Describir las características epidemiológicas, formas clínicas y evolución de los casos detectados de enfermedad.
- Describir la seroprevalencia de anticuerpos anti *Brucella* spp de morfología en fase lisa.

6. METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

6.1 Diseño

Se recolectaron muestras de personas en forma prospectiva para determinar la seroprevalencia de anticuerpos anti *B. canis* y anti-*Brucella* spp de morfología lisa en veterinarios en jurisdicción del Partido de La Plata.

El estudio se realizó con veterinarios que trabajan con perros o con grandes animales pero tienen contacto estrecho con perros, conectados algunos de ellos a través de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de La Plata y otros de forma personalizada (ya sea de institutos oficiales o profesionales independientes). En un principio se había analizado como posibilidad utilizar el padrón del Colegio de Veterinarios Distrito II de la provincia de Buenos Aires con sede en La Plata, pero finalmente fue descartado por haberse obtenido las muestras de la forma antes mencionada.

6.2 Población

Criterios de inclusión

- 1- Veterinarios que trabajan con pequeños animales incluidos perros o con grandes animales pero que tengan contacto estrecho con perros y residan o trabajen en el Partido de La Plata.

Criterios de exclusión

- 1- Personas que no brinden el Consentimiento informado.
- 2- Huéspedes inmunocomprometidos (infección por el virus de la inmunodeficiencia humana/síndrome de inmunodeficiencia adquirida [VIH/SIDA], neoplasias activas, uso de corticoides en dosis ≥ 20 mg/día de prednisona o equivalente por más de 15 días, uso de anticuerpos monoclonales, trasplantados).

- 3- Veterinarios que no trabajen con perros.
- 4- Veterinarios que no residan o trabajen en el Partido de La Plata.

6.3 Procedimientos

Se realizó una entrevista personal con cada veterinario, en la que se le informó sobre el alcance del estudio y se realizó una encuesta recabando datos personales, laborales, antecedentes de: tenencia de perros, ocupación actual y pasada y síntomas compatibles con Brucelosis (Anexo 1). En esa oportunidad también se le solicitó el Consentimiento Informado (Anexo 2).

En la mayoría de los casos, la extracción de las muestras de sangre se realizó en el lugar de trabajo de cada participante, y en otros casos, en el Servicio de Infectología del Hospital Interzonal General de Agudos General San Martín de la ciudad de La Plata. En ambos lugares, se tuvieron en cuenta las normas de bioseguridad para el manejo de sangre y fluidos.

Se tomó una muestra de sangre de 5 mL por venopunción. El suero se obtuvo por centrifugación de la misma durante 10 minutos a 2.500 rpm, separado en vial estéril y conservado hasta 72 horas a 4°C.

La técnica utilizada para el tamizaje de anticuerpos anti *Brucella canis* fue la microaglutinación en placa (RSAT) con reactivo producido por el Departamento de Brucelosis del Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas Dr. Carlos G. Malbrán, Administración Nacional de Laboratorios e Institutos de Salud (ANLIS). En esta prueba el resultado obtenido fue cualitativo, positivo o negativo. Las muestras positivas fueron debidamente acondicionadas y derivadas al Centro Nacional de Referencia- ANLIS Carlos G. Malbrán- para su confirmación mediante técnica de enzimoimmunoensayo de inhibición (IELISA), considerándose reactivo con un porcentaje de inhibición superior a 27.

Para el estudio de las otras especies de *Brucella* se utilizaron como pruebas de tamizaje BPA (antígeno buferado en placa) y Rosa de Bengala, mientras que como pruebas confirmatorias, también acondicionadas y derivadas al Centro Nacional de Referencia- ANLIS Carlos G. Malbrán- se utilizaron Fijación de Complemento (FC) y ELISA de Competición (CELISA).

6.4 Recursos

Se utilizó la infraestructura del Servicio de Infectología y del Servicio de Laboratorio Central del Hospital San Martín de la ciudad de La Plata con la aprobación de los respectivos Jefes de Servicio y la Dirección del establecimiento.

6.5 Plan de análisis y tamaño de la muestra

Para una prevalencia esperada de 15% se calculó un tamaño de muestra de 60 encuestados. Se informó porcentaje de positivos con intervalo de confianza para el 95%.

Los datos fueron procesados en el programa spss.19.

7. ASPECTOS ÉTICOS

El Comité de Ética de la Investigación del Hospital Interzonal General de Agudos General San Martín (acreditación N° 010/2010, folio 47, Libro de Actas N° 1), donde se realizó el estudio, evaluó el Proyecto conforme a lo establecido en la ley 11.044 y el Decreto Reglamentario 3.385.

Los investigadores se comprometieron a respetar la Declaración de Helsinki 2013, las Guías Éticas Internacionales para la investigación Biomédica (CIOMS 2002) y las Buenas Prácticas Clínicas. Se solicitó el Consentimiento Informado a los participantes. Se aseguró la confidencialidad de los datos, según lo establecido en la Ley 25.326 de Protección de Datos Personales.

8. MARCO TEÓRICO

8.1 Introducción

La brucelosis es una enfermedad infectocontagiosa de curso crónico que afecta tanto al hombre como a los animales domésticos, la fauna silvestre y los mamíferos marinos. Esta enfermedad es de importancia para la Salud Pública debido a los costos generados por la discapacidad física que produce en el enfermo y a las pérdidas secundarias ocasionadas por la afectación del ganado. Es causada por microorganismos del género *Brucella* spp, de las que se reconocen diversas especies. El reservorio lo constituyen especies domésticas de ganado vacuno, porcino, caprino y ovino. También pueden afectar a bisontes, camélidos americanos, alces, algunas especies de ciervos y de animales silvestres (liebre, zorro, comadreja etc.)³².

La brucelosis humana es una zoonosis frecuente en el mundo. Es conocida también como fiebre ondulante, fiebre de Malta o fiebre del Mediterráneo¹⁻³. En animales se la puede identificar como aborto infeccioso, aborto contagioso, aborto epizootico y enfermedad de Bang en los bovinos⁸.

El cuadro clínico fue descrito por primera vez por Marston en 1859. En 1887 David Bruce aisla forma de micrococos en tejido esplénico de soldados muertos en la Isla de Malta, por una infección que se conocía como Enfermedad de Malta. En 1897, el veterinario Bernard Laurits Fredrik Bang (Dinamarca) identifica un bacilo intracelular que causa aborto en bovinos y que denominó *Bacillus abortus*; la infección fue llamada Enfermedad de Bang⁸.

En Argentina se aisló por primera vez en 1930 una cepa de *Brucella melitensis* y desde 1932 se incluyó entre las enfermedades profesionales. En 1994 la Dirección de Epidemiología del Ministerio de Salud registró 455 casos y en 1997 ascendieron a 687 casos marcando un punto de inflexión a partir del cual empiezan a descender hasta llegar a 300 casos notificados por año en todo el país⁸. Según datos del Boletín Integrado de Vigilancia del Ministerio de Salud de la Nación, los casos confirmados hasta la semana epidemiológica 52, fueron 149 acumulados en 2016 y 89 en 2017; en provincia de Buenos Aires 25 y 21 casos respectivamente³³. Se estima que el subregistro es importante debido a la falta de notificación de los diferentes efectores.

A pesar de ser endémica en numerosos países, continúa siendo un desafío diagnóstico debido a sus manifestaciones proteiformes por las que puede confundirse con otras enfermedades infecciosas y no infecciosas⁴⁻⁷.

El diagnóstico se basa en criterios epidemiológicos, clínicos y de laboratorio^{6, 9,15,16}. El tratamiento antimicrobiano es útil para acortar el curso de la enfermedad, disminuir la incidencia de complicaciones y prevenir la recaída^{17,18}.

A diferencia de lo que ocurre con otras especies de *Brucella*, *B. canis* fue reconocida más recientemente y aislada por primera vez por Leland Carmichael en 1966 a partir de perros criados en residencias caninas, siendo éste su principal reservorio. Afecta a todos los cánidos y ocasionalmente al ser humano¹⁹.

Tiene algunas características particulares que resultan en que la enfermedad en humanos sea subestimada, ya que las manifestaciones clínicas pueden ser similares a las ocasionadas por otras especies de *Brucella* (o incluso ser asintomática) y porque además requiere para el diagnóstico pruebas serológicas diferentes a las utilizadas para las otras especies de *Brucella* spp.²⁹.

Es una zoonosis urbana emergente. Aunque la infección humana es infrecuente se han comunicado casos aislados o en grupos familiares²³⁻²⁸.

El conocimiento de esta enfermedad tanto en el ámbito médico como veterinario y en la comunidad permiten el alerta, reconocer nuevos casos y tomar medidas preventivas principalmente para las personas con mayor riesgo de exposición ocupacional como los tenedores de perros, personal de criaderos, veterinarios y laboratoristas^{1, 22}.

8.2 Epidemiología

La brucelosis es una zoonosis de distribución mundial. Aunque la prevalencia mundial en el ser humano es desconocida fundamentalmente por el subdiagnóstico y la subnotificación, se estima que se detectan más de 500.000

casos nuevos por año a nivel global^{1, 32}. Algunos países del centro y del norte de Europa han logrado su eliminación; pero, permanece como un gran problema en las regiones del Mediterráneo, oeste de Asia y Sudamérica^{8, 9}. Argentina, México y Perú son los países con mayor prevalencia en América Latina³².

A pesar de esto y el alto impacto que genera en los países de bajos recursos, la enfermedad continúa con escasa consideración en los sistemas de Salud Pública, y tal es así que la Organización Mundial de la Salud (OMS) la ha clasificado como una de las diez enfermedades zoonóticas más olvidadas³⁴.

La infección en humanos está relacionada directamente con la enfermedad en animales domésticos. Es más frecuente en varones, entre los 30 y 40 años y en población rural, pero también afecta veterinarios, laboratoristas, trabajadores de frigoríficos y peones de campo³².

Presenta dos patrones epidemiológicos,

- patrón urbano- alimentario: por consumo de leche y productos no pasteurizados y por contacto con animales domésticos (perros)
- patrón rural-laboral: por exposición profesional al ganado infectado o sus productos

Brucella spp tiene afinidad por los tejidos de los órganos reproductivos; en consecuencia, los mamíferos sexualmente maduros o en estado de preñez son más susceptibles a la infección. Los animales infectados eliminan las bacterias después de un aborto o de un parto, pero también a través de la leche, secreciones vaginales, semen, sangre, orina y heces, contaminando pastos, agua y el medio ambiente. De esta forma, pueden sobrevivir y mantener la capacidad infectante durante períodos variables de acuerdo a las condiciones del medio asegurando la contaminación de otros animales y la persistencia del germen en la naturaleza³² (Tabla 1).

| MATERIAL | TIEMPO DE SUPERVIVENCIA |
|--|--------------------------------|
| Suelo y estiércol | 80 días |
| Polvo | 15-40 días |
| Leche a temperatura ambiente | 2-4 días |
| Fluidos y secreciones en verano | 10-30 minutos |
| Lanas de depósitos | 110 días |
| Agua a 37°C y pH 7,5 | Menos de 1 día |
| Agua a 8°C y pH 6,5 | Más de 57 días |
| Fetos mantenidos a la sombra | 6-8 meses |
| Descarga vaginal mantenida en el hielo | 7 meses |
| Manteca a 8° C | 1-2 meses |
| Cuero manchado con excremento de vaca | 21 días |
| Paja | 29 días |
| Grasa de ordeño | 9 días |
| Heces bovinas naturales | 1-100 días |
| Tierra húmeda a temperatura ambiente | 66 días |
| Tierra desecada a temperatura ambiente | 4 días |

Tabla 1: Supervivencia de *Brucella* spp en el medio ambiente⁹

8.2.1 Forma de transmisión

Se reconocen distintas formas de transmisión que pueden resumirse en³²:

- Contacto: de piel o mucosas con tejidos animales infectados o sus productos. Es el mecanismo más frecuente en el medio rural, por lo que afecta a trabajadores rurales, veterinarios, matarifes, ganaderos y trabajadores de laboratorio

- Ingestión: de alimentos no pasteurizados como leche y sus derivados (quesos, cremas, manteca, helados). Es menos frecuente por carne insuficientemente cocida ya que la carga bacteriana en el tejido muscular animal es baja
- Inhalación: de polvo en los lugares contaminados donde hay animales infectados, como establos, mataderos, salas de recepción de leche, camiones jaula para transporte de ganado
- Inoculación: de material infectado-contaminado por *Brucella* spp. Afecta a veterinarios, matarifes y personal de laboratorio. También puede ocurrir por la autoinoculación accidental de vacuna de *B. abortus* cepa 19 y *B. melitensis* Rev. 1, de uso en medicina veterinaria
- Perinatal: por vía trasplacentaria, por la ingestión de leche materna o la exposición a sangre, orina o heces de la madre infectada durante el parto
- Interhumana: es excepcional, pero se han informado posterior a transfusión de sangre y trasplante de medula ósea

8.2.2 Factores de riesgo

- Ocupacionales: veterinarios, granjeros, cuidadores de animales principalmente domésticos, personas que manipulan productos y subproductos animales (carniceros, ordeñadores), personal de laboratorio³²
- Alimentación: ingestión de leche no pasteurizada o derivados lácteos realizados de forma artesanal con leche no pasteurizada proveniente de animales infectados³²
- Convivencia con animales: contacto directo con productos de desecho, tejidos o excretas de animales enfermos o portadores asintomáticos o con animales de establo³²

8.3 Etiología

El género *Brucella* está constituido por bacilos gram negativos pequeños, inmóviles y aerobios estrictos de crecimiento lento que no poseen cápsula ni

forman esporas. A diferencia de otras bacterias, su genoma está conformado por dos cromosomas circulares y carece de plásmidos. Son oxidasa y catalasa positivos, no atacan la gelatina ni modifican la leche y en general no fermentan los azúcares⁹.

El género *Brucella* incluye diferentes especies: *B. melitensis*, *B. abortus*, *B. suis*, *B. canis*, *B. ovis*, *B. neotomae* y *B. maris*. De ellas, las cuatro primeras pueden infectar al hombre. En la Tabla 2 se encuentran detalladas las especies de *Brucella*, sus hospedadores conocidos, y sus biovariedades que dependen de características bioquímicas y antigénicas^{9,14}.

En base al aspecto de las colonias obtenidas en medio sólido, las diferentes especies de *Brucella* se clasifican habitualmente como lisas (S) o rugosas (R). Entre las primeras se encuentran *B. abortus*, *B. melitensis*, *B. suis* y *B. neotomae*, y entre las segundas *B. ovis* y *B. canis*⁹.

El aspecto que adquieren las colonias se debe a la expresión del lipopolisacárido (LPS) en la superficie bacteriana, LPS-S en las lisas y LPS-R en las rugosas, aunque durante su crecimiento en los medios de cultivo pueden experimentar mutaciones que afecten la expresión del LPS. Las cepas de *Brucella* en fase lisa son las más virulentas y su ultraestructura es semejante a algunas enterobacterias⁹. Esta distinción es importante para comprender la patogenia de la enfermedad y las posibles diferencias encontradas en *B. canis*.

| ESPECIE | HOSPEDADOR | BIOVARIEDAD |
|----------------------|--|-------------|
| <i>B. melitensis</i> | cabras, bovinos, ovino, cánidos, hombre | 1-3 |
| <i>B. abortus</i> | bovinos, cánidos, hombre | 1-6,9 |
| <i>B. suis</i> | cerdos, cánidos, hombre | 1-5 |
| <i>B. canis</i> | cánidos, hombre | - |
| <i>B. neotomae</i> | roedores | - |
| <i>B. ovis</i> | ovinos | - |
| <i>B. maris</i> | focas, leones marinos, delfines, ballenas | - |

Tabla 2: Especies que integran el género *Brucella*, hospedadores conocidos y biovariedades (adaptado de Castro H y col)⁹

8.4 Patogenia

Las especies de *Brucella* son patógenas intracelulares facultativas, por lo que se encuentran protegidas de la acción de los antibióticos y de los mecanismos efectores dependientes de anticuerpos. Esto justifica la naturaleza crónica de la infección, ya que se adhieren, penetran y multiplican en una gran variedad de células fagocíticas y no fagocíticas^{3, 9,14}.

Cuando estas bacterias ingresan al organismo pueden ser fagocitadas por los polimorfonucleares (PMN) y macrófagos como parte de la inmunidad innata. Si no son eliminadas llegan por vía linfática a los ganglios regionales y alcanzan al torrente sanguíneo, donde son fagocitadas por los PMN y macrófagos circulantes, y transportadas a los diversos órganos en los que pueden sobrevivir y multiplicarse dentro de las vacuolas de los fagocitos circulantes y tisulares^{3, 9,14}.

La membrana externa de *Brucella* es rica en fosfatidilcolina. Su componente más abundante es el LPS (o endotoxina) que contiene tres regiones: el lípido A, un oligosacárido intermedio llamado núcleo, y el polisacárido O (PSO) que se encuentra ausente o presente con escasos residuos en las cepas de *Brucella* rugosas (LPS-R). El PSO es importante no sólo para la diferenciación entre variantes lisas o rugosas, sino que es de interés en la determinación de biovariedades. Las proteínas de la membrana externa se asocian estrechamente con el LPS⁹.

El LPS tiene un rol importante al igual que las proteínas de la membrana externa para ingresar a las células, a través de receptores de manosa e integrinas. Las células de la placenta son ricas en receptores de manosa y en un factor de crecimiento conocido como eritriol presente en tejidos placentarios animales, lo que explica la avidez de *Brucella* spp. por los mismos⁹.

Brucella spp sobrevive dentro de las células por la síntesis de enzimas antioxidantes y la producción de GMP (guanosa 5' monofosfato) y adenina, lo que permite la inhibición de la fusión fago lisosoma, la degranulación, la

activación del sistema mieloperoxidasa y la producción de factor de necrosis tumoral (TNF) alfa⁹.

Una vez ingresada la brucella en el organismo, se activan los mecanismos de defensa que se inician con algunos componentes de la inmunidad innata como el complemento, los neutrófilos y los macrófagos. La inmunidad celular principalmente a través de los linfocitos T colaboradores o helper (LTH) y la secreción de diversas citoquinas tienen un rol primordial contra microorganismos intracelulares ya que su amplio patrón de citoquinas (interlequinas [IL] 2, 3, 6,12,TNF e interferón [IFN]) es esencial para la activación de macrófagos y la destrucción bacteriana^{9, 14}.

8.5 Manifestaciones clínicas

La brucelosis humana es tradicionalmente descrita como una enfermedad con manifestaciones proteiformes, puesto que puede afectar todos los parénquimas del organismo¹⁴. El período de incubación es variable y oscila entre 8 a 20 días³⁵. Existen varias formas de clasificarla, según:

- el tiempo de presentación clínica^{1, 36}: aguda (0-2 meses), subaguda (3-12 meses) y crónica (mayor a 12 meses)
- formas clínico evolutivas³⁵:
 - Brucelosis activa: septicémica (aguda) o focalizada (crónica) con localizaciones en los distintos parénquimas
 - Recaída
 - Curación o latencia secuelar: lesiones cicatrizales, alérgicas o funcionales

En la fase aguda el paciente presenta temperaturas que pueden llegar a superar los 40°C, con una curva de tipo continuo o intermitente (fiebre ondulante). Es una causa de fiebre de origen desconocido^{35, 37}.

Los pacientes se quejan de gran quebrantamiento general, con intensas cefaleas, náuseas, vómitos, epistaxis, sudores profundos de olor desagradable sui generis (paja mojada) y artromialgias generalizadas. En ocasiones puede cursar con hepatoesplenomegalia, inapetencia y adelgazamiento^{1, 35}.

El compromiso osteoarticular es la complicación más frecuente de la brucelosis^{14, 38, 39} y ha sido ampliamente estudiada en nuestro país³⁵. Existen tres formas de presentación: artritis periférica, sacroileítis y espondilitis.

La artritis periférica es la más común, no erosiva e involucra rodillas, caderas, codos y muñecas, generalmente durante la fase aguda. Se la ha descrito también como causa de artritis reactiva.

La sacroileítis es diagnosticada habitualmente también en la etapa aguda de la enfermedad.

La tercera forma de compromiso osteoarticular, la espondilitis, es la más difícil de tratar y resulta en daño residual¹⁴. Las lesiones del cuerpo vertebral son las más significativas, siendo patognomónica la lisis del ángulo anterosuperior: episitis brucelar o signo de Pedro Pons. También se produce aplastamiento del cuerpo vertebral, formación de puentes óseos y zonas de osteomielitis³⁵.

El sistema reproductivo es la segunda localización más común. En hombres se presenta como orquiepididimitis³⁷ (2-5%) y es difícil diferenciarla de otras etiologías, pero el riesgo de esterilidad resulta mínimo^{14, 35}. En los genitales femeninos y en la placenta de algunos mamíferos existe un carbohidrato, el eritriol que estimula el crecimiento de las brucellas. Este compuesto no existe en la placenta humana, motivo por el cual son excepcionales la placentitis y el aborto.

El hígado puede estar afectado y ocasionar una hepatitis durante la fase aguda, con discreto incremento de las transaminasas y fosfatasa alcalina sin aumento de bilirrubinemia. En la fase crónica pueden presentarse granulomas, hepatomegalia, fiebre y alteraciones enzimáticas, y el diagnóstico se realiza mediante biopsia. La ascitis puede ser temporaria o asociarse a enfermedades preexistentes^{14, 35}.

El compromiso del sistema nervioso central está presente en el 5 a 7 % de los casos. Puede manifestarse como meningitis, meningoencefalitis, absceso cerebral o enfermedades desmielinizantes¹⁴.

La endocarditis es la principal causa de mortalidad. La válvula aórtica es la que está involucrada con mayor frecuencia y es común que requiera tratamiento quirúrgico, además del tratamiento antimicrobiano¹⁴.

Las complicaciones respiratorias son raras. En individuos que trabajan en establos o chiqueros donde existe contaminación con secreciones o excreciones infectadas, el contagio por vía inhalatoria determina la presentación de las bronconeumopatías agudas brucelares. Los cuadros de neumonía intersticial y bronquitis pueden deberse a brucelosis aguda o crónica³⁵.

El compromiso hematológico se caracteriza por leucopenia leve, linfocitosis relativa, y en ocasiones anemia y trombocitopenia¹. La pancitopenia en brucelosis es multifactorial y se atribuye a hiperesplenismo y compromiso de la médula ósea. La leucocitosis es infrecuente (9%), pero debe hacer sospechar una complicación focal³.

La triple astenia (psíquica, física y sexual) impiden al paciente llevar un ritmo de vida normal (síndrome del vago). El cansancio, la pérdida de regularidad de los horarios, la lentitud, el aletargamiento y el insomnio alteran significativamente la actividad laboral, por lo que los pacientes pueden verse afectados por despidos laborales o conflictos familiares³⁵.

8.6 Diagnóstico

La dificultad en el diagnóstico de brucelosis humana se debe a diversos motivos tales como las manifestaciones clínicas proteiformes, la falta de sospecha clínica, el escaso rédito de los cultivos, la dificultad para interpretar la serología principalmente en áreas endémicas y el uso en algunos lugares de equipos de diagnóstico no estandarizados⁴⁰. Por lo tanto es un desafío médico, y requiere de la triada diagnóstica clínica, epidemiológica y de métodos complementarios de laboratorio.

Entre éstos últimos existen métodos directos (aislando el microorganismo a partir de cultivos de sangre, médula ósea u otros tejidos) o métodos indirectos o serológicos. Pese a que éstos son los más utilizados, un resultado serológico positivo debe interpretarse con precaución ya que puede indicar no sólo infección activa, sino contacto accidental con el germen, exposición a un microorganismo que presente reacción cruzada con *Brucella* spp, o

corresponder a anticuerpos que persisten después de la recuperación de la enfermedad³².

8.6.1 Métodos directos

Los métodos directos se basan en evidenciar la presencia de la bacteria o sus componentes en tejidos animales o humanos. El diagnóstico definitivo requiere el aislamiento del microorganismo frecuentemente a partir de hemocultivos¹⁴.

Tradicionalmente se utilizaba el sistema bifásico de Ruiz Castañeda que consiste en la inoculación de sangre en frascos herméticamente cerrados que contienen, simultáneamente, un medio líquido (caldo triptosa) y un medio sólido (agar triptosa). Los cultivos deben mantenerse en incubación un tiempo no menor a 30 días debido a que el género *Brucella* es de crecimiento lento. En los últimos años se han desarrollado sistemas de hemocultivos automáticos o semiautomáticos entre los que se destaca el Bactec^{MR}, que no sólo reducen los tiempos de cultivo sino que además presentan mayor sensibilidad^{3,15}.

Los cultivos de médula ósea son considerados por algunos autores como el estándar de oro debido a la alta concentración de *Brucella* spp en el sistema reticuloendotelial, lo que facilita su detección. Incluso, la eliminación bacteriana de la médula ósea es equivalente a erradicación bacteriana. Sin embargo, al tratarse de un método invasivo y doloroso, no es utilizado en forma universal y podría reservarse para los casos en los que haya habido exposición previa a antibióticos¹⁴.

La sensibilidad depende de varios factores, entre ellos, la fase de la enfermedad y el uso previo de antibióticos. En los casos agudos la sensibilidad del sistema bifásico de Ruiz Castañeda y del método de lisis centrifugación alcanza el 80 % y 90% respectivamente, mientras que en los casos crónicos puede ser tan baja como 30 y 70% (Tabla 3)³.

| | TIEMPO DE INCUBACIÓN | SENSIBILIDAD |
|-----------------------------|----------------------|--|
| Ruiz – Castañeda | 7-21 días | 70-80% (fase aguda) < 50% (fase crónica) |
| Lisis centrifugación | 2-4 días | > 90% (fase aguda) 70% (fase crónica) |
| Medula ósea | 4-7 días | 97% (fase aguda) 90% (fase subaguda) 50% (fase crónica) |

Tabla 3: Características y sensibilidad de los cultivos en muestras clínicas (modificado de Franco M y col)

No se recomienda realizar pruebas de sensibilidad antibiótica para infecciones por *Brucella* spp ya que son sensibles a una amplia variedad de antimicrobianos in vitro pero sólo algunos probados in vivo. La mayoría de las recaídas no se debe a resistencia antimicrobiana¹⁵.

En determinadas situaciones se puede aislar *Brucella* spp de otras muestras como tejidos, líquido cefalorraquídeo (LCR), líquido pleural, articular o ascítico, pero su rédito es menor al 10%⁴⁰.

El desarrollo de técnicas moleculares tales como la utilización de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) en muestras de suero o tejidos han demostrado tener alta sensibilidad y especificidad tanto para el diagnóstico de brucelosis como para el control del tratamiento y las recaídas. La principal desventaja es su costo, y la dificultad en la técnica, principalmente en áreas de bajos recursos⁴⁰⁻⁴².

Purwar, S y colaboradores realizaron una revisión sobre 400 pacientes con fiebre de origen desconocido en un área endémica de brucelosis y hallaron una correlación adecuada entre las pruebas serológicas utilizadas (SAT) con títulos >1/80 y la PCR, proponiendo además que en áreas hiperendémicas se podrían utilizar valores de corte mayores (>1/160) y por tanto en áreas de bajos recursos los métodos serológicos aún seguirían siendo de utilidad⁴⁰.

Hay que tener en cuenta además, que la brucelosis es una de las causas más comunes de infecciones adquiridas en el laboratorio, por lo que se debe tener especial cuidado al manipular la muestra y avisar al personal de laboratorio ante la sospecha clínica^{3,43}. De acuerdo a los Centros para Control de Enfermedades (CDC) de los Estados Unidos, *Brucella* spp es considerada patógeno perteneciente al grupo 3 de riesgo y por lo tanto, la manipulación de cepas debe ser realizada en laboratorios de bioseguridad 3 (BSL 3)¹⁵.

En una revisión reciente de casos de brucelosis adquirida en el laboratorio desde 1982 a 2007 se identificaron 186 casos. La mayoría de ellos (88%) fue debido a aerosolización durante las prácticas habituales para la identificación de microorganismos, el 11% por accidentes de laboratorio y en el 1 % no se pudo identificar la causa. Pese a que los microbiólogos fueron las personas más expuestas, existen personas dentro del laboratorio, o que realizan otras actividades relacionadas con investigación, manipulación de vacunas, etc. que también conllevan riesgo. Si bien la mayoría de los casos se presentaron con síntomas inespecíficos de brucelosis aguda que evolucionaron en forma favorable al tratamiento antimicrobiano, seis de cuatro embarazadas con brucelosis adquirida en el laboratorio tuvieron abortos. Aunque no hay protocolos establecidos para el manejo de la profilaxis postexposición, su uso ha demostrado ser altamente efectivo⁴⁴.

8.6.2 Métodos indirectos

Las pruebas serológicas clásicas como Huddleson, Wright y Fijación de Complemento se siguen realizando en la actualidad, tienen la desventaja de no contar con un punto de corte consensuado. Existen técnicas más nuevas que son pruebas de tamizaje (BPA, RB y RSAT) que se definen como positivas o negativas y pruebas confirmatorias (cELISA, IELISA), que además de su alta sensibilidad y especificidad tienen puntos de corte establecidos. A continuación se detallan las pruebas utilizadas con mayor frecuencia en nuestro país³².

8.6.2.1 Pruebas serológicas que detectan anticuerpos anti S-*Brucella* (*B. abortus*, *B. melitensis*, *B. suis*)

- **Técnica de aglutinación en placa (Huddleson)**

Es una técnica sencilla que se emplea como prueba de tamizaje en algunos países de América Latina, aunque está en desuso fuera del continente. Está sujeta a errores operacionales y puede presentar un fenómeno de zona en las diluciones más bajas de sueros con títulos altos, en sueros contaminados o cuando se emplean antígenos no normatizados. Es de baja especificidad, su resultado es cuantitativo, pero el punto de corte no está consensuado.

- **Técnica de aglutinación con antígeno tamponado (BPA)**

Es una prueba de tamizaje, rápida, práctica, económica y muy sensible, recomendada para Bancos de Sangre. Debido a su bajo pH privilegia la aglutinación de anticuerpos del isotipo IgG lo que la hace más específica. Es cualitativa.

- **Técnica de aglutinación con Rosa de Bengala (RBT)**

Es una prueba de tamizaje, de gran difusión, rápida y económica. Es cualitativa y debido a su bajo pH privilegia la aglutinación de anticuerpos del isotipo IgG.

- **Técnica de aglutinación en tubo (Wright)**

Es la más antigua (1897) y la más utilizada para el diagnóstico de brucelosis humana y animal. Tiene la ventaja de detectar en el suero anticuerpos IgM, IgG e IgA pero es de baja especificidad y no es recomendable en casos crónicos. No existe consenso en cuanto al punto de corte.

- **Prueba de aglutinación 2- mercaptoetanol (2-ME)**

Se realiza conjuntamente con la prueba de Wright tratando previamente el suero con 2-ME como agente reductor que inactiva los anticuerpos del tipo IgM. Es de baja sensibilidad y no existe consenso en cuanto al punto de corte.

- **Técnica de fijación del complemento**

Es una prueba altamente sensible y específica y aceptada como confirmatoria. Detecta anticuerpos del isotipo IgG que predomina en casos crónicos pero

tiene la desventaja de ser muy laboriosa y de escasa utilidad para casos agudos. No existe consenso en cuanto al punto de corte.

- **ELISA de competición (CELISA)**

Es una prueba de unión primaria basada en el uso de un anticuerpo monoclonal (MAb) específico para una región determinada y repetida de un epítotope de la cadena "O" del S-LPS de *Brucella*. Presenta menos reacciones cruzadas que las clásicas pruebas de aglutinación (Huddleson y Wright) y sus resultados se correlacionan con el curso clínico de la enfermedad. Detecta casos agudos y crónicos, tiene una sensibilidad del 98,3% y una especificidad del 99,7%.

8.6.2.2 Pruebas serológicas que detectan anticuerpos anti R-*Brucella* (*B. canis*)^{32, 45}

- **Técnica de microaglutinación en portaobjeto (RSAT)**

Es una prueba de tamizaje, rápida, práctica y económica que fue descrita para el diagnóstico de brucelosis canina y es utilizada en el diagnóstico de brucelosis causada por *B. canis* en humanos. Es cualitativa y se interpreta como positiva o negativa.

- **ELISA indirecto (IELISA)**

Es una prueba muy sensible y específica utilizada como confirmatoria, para el diagnóstico de brucelosis humana, en casos de infección por *B. canis*. Tiene una sensibilidad y especificidad del 100%.

8.7 Tratamiento

El diagnóstico temprano y el tratamiento oportuno tienen como objetivo acortar el período sintomático, reducir las complicaciones y prevenir las recaídas³².

Los tratamientos utilizados en la actualidad continúan siguiendo los mismos principios usados medio siglo atrás, y son escasas las modificaciones realizadas pese a la emergencia de nuevas clases de antibióticos¹⁸.

Los regímenes recomendados por la OMS para el tratamiento de la brucelosis humana datan de 1986. Sugieren la utilización en adultos de doxiciclina 100 mg, dos veces por día por 6 semanas, combinados con rifampicina 600-900 mg por día por 6 semanas o combinados con estreptomicina 1 g por día por 2 a 3 semanas.

Numerosos estudios se han realizado posteriormente para evaluar tanto la eficacia de diferentes regímenes de tratamiento, como la utilización de monoterapia o terapia combinada, duración óptima, y tratamiento en brucelosis complicada^{18, 46}.

Además existen numerosos obstáculos para elegir el mejor tratamiento debido a la necesidad de administración parenteral (en el caso de la estreptomicina), el riesgo de emergencia de resistencia a rifampicina en países donde la tuberculosis es endémica, la dificultad en la adherencia a tratamientos prolongados, principalmente en áreas rurales y los costos en especial en países en desarrollo en los que la brucelosis es un problema importante⁴⁶.

En noviembre del año 2006 se realizó la Primera Reunión Internacional sobre el Tratamiento de Brucelosis humana en Ioannina, Grecia, y los expertos concluyeron que el tratamiento óptimo para brucelosis no complicada debería ser doxiciclina 6 semanas ya sea combinado con rifampicina 6 semanas o con estreptomicina 2-3 semanas, pudiendo utilizarse otro aminoglucósido, gentamicina como alternativa a la estreptomicina. También sugieren otros regímenes de segunda línea como los utilizados con quinolonas o sulfonamidas¹⁸. Hasanjani Roushan y colaboradores demostraron que la combinación de doxiciclina por 45 días con gentamicina 7 días es igual de efectiva que usando estreptomicina 14 días⁴⁷.

Skalsky y colaboradores en un metaanálisis que incluía 30 ensayos clínicos sobre diferentes opciones de tratamiento, concluyen que existen menores tasas de recaídas y fallas de tratamiento cuando se utilizan aminoglucósidos ya sea bajo la combinación de dos o tres antibióticos⁴⁸.

Solís García del Pozo y Solera, en un reciente metaanálisis de ensayos clínicos publicados desde 1985 a 2012 sobre distintos regímenes antimicrobianos

utilizados para brucelosis humana no complicada, concluyeron que la combinación de doxiciclina/estreptomicina es superior a doxiciclina/rifampicina con menores tasas de recaídas y fallas de tratamiento, siendo de similar eficacia la combinación doxiciclina/rifampicina con quinolonas/rifampicina. Hasta esa fecha había un sólo estudio que evaluaba triple terapia por lo que no pudieron sacar conclusiones sobre su beneficio. Y plantean como alternativa en países de bajos recursos y en casos excepcionales la utilización de doxiciclina/cotrimoxazol o doxiciclina como monoterapia⁴⁶.

Un estudio randomizado reciente que compara terapia dual (doxiciclina/rifampicina versus triple terapia (doxiciclina/rifampicina/levofloxacina) para el tratamiento de brucelosis aguda/subaguda demuestra mayores tasas de recaída en terapia dual que en triple terapia, pero con la limitación que las tasas de recaída en este estudio son mayores a las comunicadas en otros estudios y que en ninguna de las ramas se utilizó aminoglucósidos⁴⁹.

En las formas de presentación con osteomielitis, endocarditis o meningitis el tratamiento debe prolongarse 4 a 6 meses, y utilizarse tres o más drogas (doxiciclina más cotrimoxazol más rifampicina con o sin aminoglucósidos)³². En los casos de neurobrucelosis puede indicarse también la combinación de doxiciclina, rifampicina y cefalosporinas de tercera generación⁵⁰.

9. RESULTADOS

Sobre un total de 60 veterinarios que participaron del estudio, y firmaron el consentimiento informado se analizaron variables epidemiológicas, clínicas y de laboratorio y se determinó la seroprevalencia de anticuerpos anti *B. canis* y otras especies.

9.1 Características epidemiológicas

9.1.1 Características generales

De los 60 veterinarios, el 67% fueron mujeres (40/60), con una edad promedio de 39 años (24-69 años). Todos trabajaban con perros y residían y/o trabajaban en jurisdicción del partido de La Plata (Abasto, Altos de San Lorenzo, Arana, Arturo Seguí, City Bell, El Peligro, Gorina, Hernández, Olmos, Los Hornos, Los Porteños, Gonnet, Melchor Romero, Ringuélet, San Carlos, Savoia, Tolosa, Villa Castells, Villa Elisa, Villa Elvira, Etcheverry), Figura 1. El 80% convivía con perros en su domicilio y el 98% refería haber tenido perros durante toda su vida.

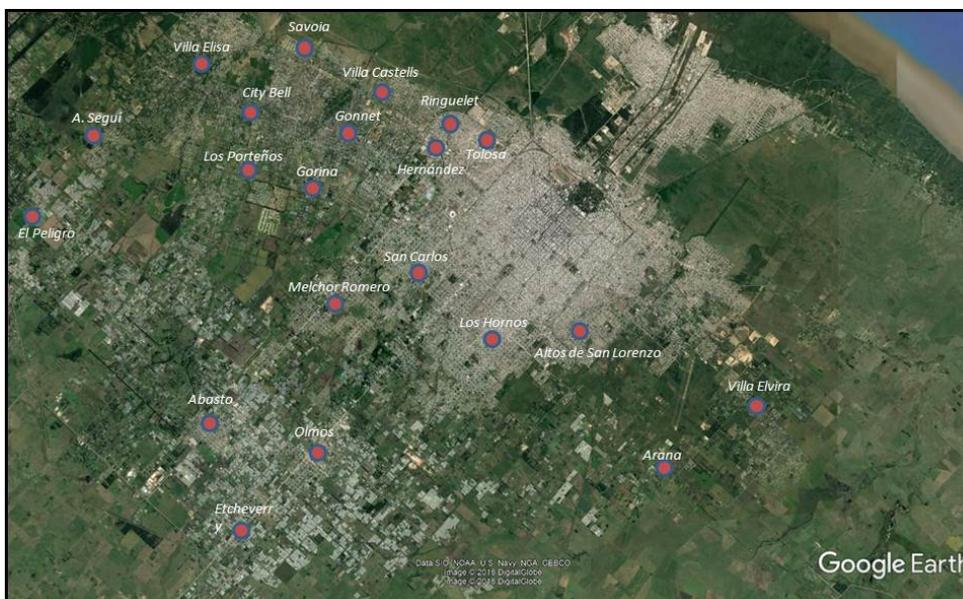


Figura 1. Georeferenciamiento de localidades del partido de La Plata

Fuente: Elaboración propia sobre imagen satelital Google Earth

Las razas de perros involucrados en su actividad y/o convivencia fueron variables, siendo los mestizos los más frecuentes 58% (35/60) y en el 78% hembras (47/60).

En la Tabla 4 se mencionan las razas de perros involucradas en la actividad.

| RAZA | NÚMERO |
|-----------------------------|----------------|
| PORCENTAJE (%) | |
| Mestizos | 35 (58) |
| Varias razas | 13 (22) |
| Ovejero | 2 (3) |
| Spaniel Breton | 1 (1,7) |
| Schnauzer | 1 (1,7) |
| Jack Russell terrier | 1 (1,7) |
| Pastor belga | 1 (1,7) |
| Bordercollie | 1 (1,7) |
| Box Terrier | 1 (1,7) |
| Golden Retriever | 1 (1,7) |
| Caniche | 1 (1,7) |
| Cané Corso | 1 (1,7) |
| Bóxer | 1 (1,7) |

Tabla 4: Razas de perros involucradas en la actividad/convivencia

9.1.2 Lugar de trabajo

El 48% (29/60) de las muestras se obtuvieron de veterinarios que trabajaban en el Hospital Escuela (HE) perteneciente a la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de La Plata (UNLP), ubicado en la Diagonal 113 y 62. El HE constituye una herramienta educativa para toda la Facultad y promueve la formación de alumnos de grado y posgrado en cuestiones que involucren la salud y el bienestar animal. Está integrado por servicios/laboratorios para la atención clínica y quirúrgica, internación,

diagnóstico y tratamiento de las diferentes especies animales. Cuenta con una amplia variedad de servicios, tales como: Servicio Central de Cirugía, Servicio Central de Laboratorio, Laboratorios de Radiología, Ultrasonografía, Endoscopía, Cardiología, Clínica y Especialidades de caninos y felinos domésticos, Servicio de Cirugía y Medicina de grandes animales y Laboratorio de Fisiología y Fisiopatología del equino de Deporte. Además, provee servicios de consultas para veterinarios de la práctica privada, criadores y productores. Trabajan aproximadamente 100 veterinarios entre los distintos servicios con un promedio de 285 consultas por mes.

El 25% (15/60) de los veterinarios trabajaban en forma exclusiva en veterinarias privadas de la ciudad, siendo su contacto principal con animales domésticos (perros y gatos). Las veterinarias que participaron del estudio fueron: Veterinaria El Fauro (calle 27 esquina 56), Veterinaria Trudys (Camino Centenario esquina 489), Veterinaria El Parque (Parque San Martín y 51), Nutrivet (Diagonal 73 y 5), Centro Veterinario de Diagnóstico por Imágenes (calle 55 entre 21 y 22), Clínica Veterinaria del Sol (calle 24 entre 67 y 68) y Veterinaria Malta (Plaza Brandsen, 25 y 60).

El 22 % (13/60) de las muestras se obtuvieron de veterinarios que trabajan en el Instituto Biológico "Dr. Tomás Perón", organismo dependiente de la Subsecretaría de Gestión y Contralor del Conocimiento, Redes y Tecnologías Sanitarias del Ministerio de Salud de la provincia de Buenos Aires ubicado en Avenida Antártida Argentina y 10, Tolosa. El Instituto Biológico está conformado por cuatro unidades: Dirección de Producción, Oficina de Alimentos, Dirección de Laboratorio y Control y Dirección de Coordinación Administrativa. Entre sus funciones se encuentran las de desarrollar acciones de control de calidad de medicamentos, alimentos y otros productos de consumo relacionados con la salud humana, facilitar acciones de medicina preventiva y realizar diagnóstico de enfermedades infecciosas. Los veterinarios pertenecían a los Departamentos de Bromatología, Antirrábico, Departamento de Sueros y Vacunas, Departamento de Control de Calidad y al Bioterio, y todos ellos además, trabajaban en veterinarias privadas de la ciudad y alrededores.

El 5% (3/60) de los veterinarios trabajaban en otros lugares (campos, docencia, hipódromo).

En la Figura 2 se detallan los lugares de trabajo de los profesionales entrevistados

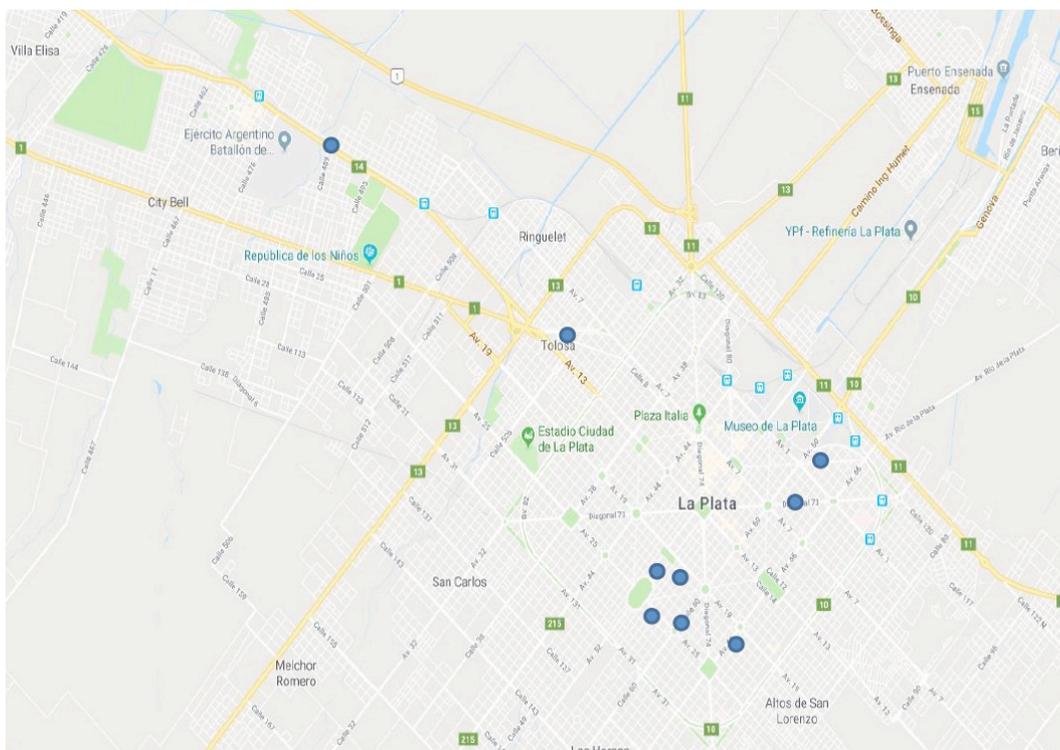


Figura 2: Georeferenciación de localización de veterinarios entrevistados
Fuente: Elaboración propia sobre imagen Google Maps

9.1.3 Exposición de riesgo

Todos los veterinarios trabajaban y tenían contactos con perros de distintas razas y ambos sexos.

El 53% (32/60) tenían contacto con perros y gatos, mientras que el 47% (28/60) tenían además del contacto con perros, contacto con otros animales (grandes animales, animales exóticos, roedores).

El 92% (55/60) refirió tener contacto con secreciones y derivados de animales: sangre 87% (52/60), materia fecal 82% (49/60), orina 78% (47/60), otros (leche, tejidos) 23% (14/60).

El 87% (52/60), refirió haber realizado o participado en partos en el trabajo actual o en trabajos anteriores.

Si bien no se precisó el porcentaje, la mayoría de los participantes acuerdan en no utilizar medidas de protección personal frente al contacto de los animales, sobretodo en situaciones de urgencia o emergencia.

9.1.4 Otros datos epidemiológicos de importancia

El 65% (39/60) de los veterinarios refiere haber trabajado en veterinarias privadas en los últimos dos años. El 50% realizó un viaje fuera del partido de La Plata en los últimos seis meses, y sólo el 30% (18/60) consumió productos no pasteurizados.

Ninguno recibió transfusiones.

En la Tabla 5 se describen las principales características epidemiológicas de interés

| CARACTERÍSTICAS EPIDEMIOLÓGICAS (n:60) | FRECUENCIA Y PORCENTUAL (n) |
|---|------------------------------------|
| Sexo femenino | 67 (40) |
| Edad | 39 años (24-69) |
| Residen y/o trabajan en el partido de La Plata | 100 (60) |
| Trabaja con perros y gatos | 53 (32) |
| Trabaja con perros y otros animales | 47 (28) |
| Perros involucrados en la actividad: mestizos | 58 (35) |
| Hembras | 78 (47) |
| Participación en partos | 87 (52) |
| Consumo de productos no pasteurizados | 30 (18) |
| Contacto directo con derivado de animales | 92 (55) |
| • Sangre | 87 (52) |
| • Materia fecal | 82 (49) |
| • Orina | 78 (47) |
| • Otros materiales | 23 (14) |
| Viajes fuera de la ciudad | 50 (30) |
| Transfusiones | 0 |

Tabla 5: Características epidemiológicas de los participantes

9.2 Características clínicas

El 80% de los participantes no presentó síntomas durante los 30 días previos a la toma de muestra (Figura 3).

De los que presentaron síntomas, 13% (8/60) refirieron cefalea, 12% (7/60) fiebre, 12% (7/60) mioartralgias y 7% (4/60) sudoración profusa.

Ninguno presentó síntomas o signos de espondilodiscitis, sacroileitis ni visceromegalia.

El 3% (2/60) refirió tener síntomas inespecíficos en la entrevista.

Debido a que la mayoría de los veterinarios conocen los síntomas habituales de la brucelosis, se les preguntó específicamente si los habían padecido y tres de ellos (5%) refirieron haber padecido síntomas compatibles en los últimos 30 días (fiebre, cefalea, sudoración, repercusión del estado general, astenia), pero ninguno de ellos realizó consulta y fue asumido como cuadro gripal.

Dos veterinarios refirieron haber padecido brucelosis, pero no pudieron especificar año, ni especie de brucella implicada.

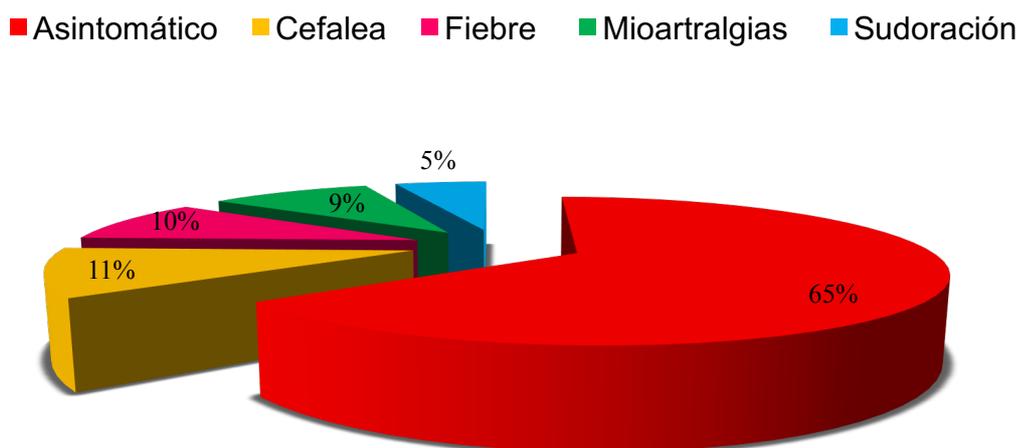


Figura 3 . Características clínicas referidas por los encuestados

9.3 Características de laboratorio

9.3.1 Pruebas diagnósticas para *B. canis*

Un veterinario presentó pruebas de tamizaje (R SAT) y confirmatorias (IELISA) reactivas para *B. canis*, lo que determinó una seroprevalencia de 1,6%.

9.3.2 Pruebas diagnósticas para otras especies de *Brucella* spp.

Ningún veterinario presentó serología positiva en las pruebas de tamizaje para otras especies de *Brucella* spp..

9.4 Descripción del caso positivo

La seroprevalencia en este estudio fue del 1,6%, es decir, una sola veterinaria presentó pruebas positivas tanto de tamizaje como confirmatorias para *B. canis*.

Después de haber obtenido estos resultados, se realizó una segunda entrevista con la profesional, en la que se pudieron recabar y analizar otros datos no obtenidos en la entrevista inicial.

Es una médica veterinaria, de 30 años, nacida en la provincia de Salta, en la que realizó sus estudios universitarios completos en la Universidad Católica de Salta, graduada en el año 2013. Vive en la ciudad de La Plata desde ese año, donde vino a realizar su Residencia de Posgrado en una Clínica Veterinaria de la ciudad.

No refiere enfermedades previas ni embarazos. No presenta antecedentes familiares de importancia. Convive con un perro mestizo hembra, castrada. Refiere consumo de productos no pasteurizados principalmente queso de cabra. No presentaba síntomas cuando se realizó la entrevista ni en los 30 días previos.

Realizó algunas prácticas como estudiante, pero en forma ocasional.

Su primer y único trabajo fue en la Clínica del Sol ubicada en la calle 24 entre 67 y 68 de la ciudad de La Plata, donde trabajan aproximadamente 10

veterinarios, y 15 auxiliares; atienden las 24 horas, y brindan servicios de guardia e internación.

Refiere trabajar con pequeños animales principalmente perros. Tiene contacto con todo tipo de secreciones: sangre, orina, saliva, materia fecal. Refiere que utiliza guantes sólo al realizar sondeo vesical en perros, o cesáreas. Para el resto de prácticas no los utiliza habitualmente. Refiere además haber atendido un perro macho, con brucelosis cuyo motivo de consulta en esa oportunidad fue torsión de estómago y tomó las medidas de protección habituales.

Pese a que en esa Clínica se obtuvieron muestras de sangre de otros veterinarios, y todos trabajan de forma similar, éste fue el único caso positivo.

9.5 Acciones derivadas

A partir de la realización de este proyecto, y al estar en contacto con veterinarios de diferentes lugares de trabajo y distintas instituciones, se fue expandiendo el conocimiento de la existencia de infección humana por *B. canis*, desconocida tanto para médicos generalistas, como para los infectólogos y médicos veterinarios. Esto, sumado a que en la Facultad de Ciencias Veterinarias de la UNLP, existe un área dedicada al estudio de brucelosis se estableció un contacto cercano, de manera tal, que ante casos positivos de *Brucella* en perros estudiados en la Facultad o diagnosticados en algún otro sitio, se pudo estudiar a los convivientes de esos perros.

Fue así que durante el período de estudio se recibieron 10 consultas de grupos familiares y hubo dos pacientes con serologías positivas (RSAT /IELISA): uno derivado del Banco de Sangre y el otro sin datos. Además hubo un paciente internado en Sala de Clínica Médica durante el año 2014, por síndrome febril prolongado, realizándose diagnóstico probable de Endocarditis infecciosa de válvula nativa, con hemocultivo negativo, y cuyo único resultado serológico positivo fue para *B. canis*. Siendo trabajador rural y al no encontrarse otra etiología se interpretó el cuadro como de probable etiología brucelar y recibió tratamiento para ello (datos no publicados).

10. DISCUSIÓN

Desde que Leland Carmichael aisló por primera vez *Brucella canis* en 1966, la brucelosis canina ha sido reconocida como causa de grandes pérdidas económicas en los criaderos y aún hoy es difícil establecer el diagnóstico y convencer a los criadores que la actividad reproductiva de ese animal ha terminado²⁰.

Es común en el sur de los Estados Unidos, América Central y del Sur (México, Brasil, Argentina y Chile), algunos países de Europa (España, Italia, Francia), Asia (India, China, Corea, Filipinas) y África (Nigeria)²⁰.

La transmisión de la enfermedad en el perro se realiza mediante el contacto directo, por vía sexual, oral, nasal o conjuntival, ya que la bacteria se encuentra tanto en el semen y las secreciones vaginales, como en la orina, leche y fetos abortados de los animales enfermos. La transmisión social ocasional es otra forma de contagio frecuente, que debe considerarse al estudiar un caso ya que el olfateo y lamido de los genitales representan una forma de comunicación canina²².

El contagio ocurre principalmente a través del contacto con secreciones vaginales de perras infectadas (celo, parto, posparto, aborto). La transmisión venérea es una de las formas de contagio entre perros sexualmente maduros de distinto sexo, mientras que en los animales prepúberes la transmisión extrauterina se realiza fundamentalmente por vía oronasal mediante contacto directo o indirecto con orina, semen, material abortado, secreciones vaginales y leche²². Se estima que la carga bacteriana en secreciones vaginales puede alcanzar concentraciones mayores de 10^{10} /mL, y en orina 10^3 - 10^6 /mL, mayor en orina de machos²⁰ y que pueden persistir en el ambiente por meses. Si se tiene en cuenta que la dosis infectiva vía oral es de 10^6 bacterias y de 10^3 bacterias, vía mucosa nasal o conjuntival, el riesgo de transmisión al hombre resulta elevado, no sólo en el caso de tenedores de perros, sino para el personal de criaderos (principalmente aquéllos sin medidas sanitarias adecuadas)⁵¹, y para veterinarios del área clínica y de los servicios de apoyo tales como ecografistas y laboratoristas²².

La importancia de la presencia de perros callejeros o domiciliarios con brucelosis canina y sus implicancias en Salud Pública ha sido ampliamente reconocida.

Existen escasos estudios de seropositividad a *B. canis* en criaderos caninos en el mundo⁵¹, además todos fueron comunicados después de un brote⁵² o un caso clínico, por lo tanto representan muestras pequeñas y alta la prevalencia: 23% en Hungría⁵³ y 60% en Canadá⁵⁴. En Nigeria se halló una seroprevalencia de 10,96% de perros atendidos en hospitales y clínicas veterinarias del sur del país⁵⁵.

A nivel latinoamericano se han llevado a cabo estudios de seroprevalencia en poblaciones de perros callejeros y domésticos, procedentes de ambientes urbanos⁵⁶: en Perú, los datos oscilan entre 3,3 al 28%⁵⁷ y en México del 11 al 28%⁵⁸; Ecuador registra la presencia de enfermedad en caninos pero sin datos cuantitativos⁵⁹.

En Colombia, son algunas las comunicaciones que evidencian la presencia de brucelosis canina en perros procedentes de ambientes urbanos. En su mayoría corresponden a encuestas serológicas llevadas a cabo en caninos de alto riesgo de infección (criaderos comerciales), siendo de 20,3% en Bogotá y 20% en Medellín^{60, 61}.

Agudelo- Flórez y colaboradores, realizaron un estudio de seroprevalencia en perros domésticos de 11 comunas de la ciudad de Medellín y encontraron 2,76% de seropositividad, pero variable por comunas siendo mayor para las comunas Buenos Aires (6,9%) y Villa Hermosa (5,7%). Es interesante además que conjuntamente realizaron una encuesta de factores de riesgo a los propietarios y hallaron que la seroprevalencia era mayor en machos, caninos criollos, menores de un año, caninos de viviendas con fuentes de agua cercanas, y en los que han permanecido con el dueño por más de 5 meses y cuando la vivienda era compartida con otros animales domésticos⁵⁶.

En Argentina, en 1980, Myers y Varela Díaz informaron que el 30,5% de los sueros de 131 perros vagabundos capturados en Moreno, provincia de Buenos Aires, presentaron anticuerpos anti *B. canis* y del 6,2% se aisló la cepa⁶².

En el mismo año, Ramacciotti comunicó la infección demostrada por el aislamiento de *B. canis* de un médico veterinario en la provincia de Córdoba que había efectuado un tacto uterino a una perra, de la cual también fue aislado el germen⁶³.

Un trabajo de Baruta y col, realizado en una población de 1.100 perros en General Pico, La Pampa, encontró 58 animales positivos por serología, y en 16 (27,6%) de ellos aislaron *B. canis*⁶⁴.

Boeri y colaboradores en un estudio sobre 219 perros de la Ciudad Autónoma de Buenos Aires, seleccionados de barrios y asentamientos con bajas condiciones de higiene, encontraron que el 7,3% tenía anticuerpos anti *B. canis* y en 3 se aisló la cepa de hemocultivos. El mayor porcentaje de animales positivos fue en las zonas de Retiro, Parque Avellaneda, Boca-Barracas y San Telmo⁶⁵. Lucero y colaboradores, en una investigación similar, que incluyó 224 animales procedentes de 13 barrios del partido de Lomas de Zamora, provincia de Buenos Aires, detectaron 10,7% de perros serológicamente positivos y hubo dos aislamientos de *B. canis*⁶⁶.

En el Servicio de Brucelosis del Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas Dr. Carlos G. Malbrán (ANLIS-Carlos G. Malbrán), durante el período 1996-2011, se han identificado y tipificado 309 cepas de *B. canis*, aisladas de perros de ambos sexos y diferentes razas, procedentes de Buenos Aires, Córdoba, San Juan, San Luis y Tierra del Fuego; algunos con hábitos domiciliarios pero la mayoría peri-domiciliarios o vagabundos²⁹.

Existe un reducido número de casos de infección humana comunicados en la literatura mundial desde su primer aislamiento en 1966 y en la mayoría de los casos no es sospechado en el cuadro clínico inicial⁶⁷. Sin embargo, en los últimos años, se han descrito brotes de infección humana por *Brucella canis* en convivientes con perros infectados⁶⁸. También se han descrito casos en pacientes con Enfermedad de Gaucher y Síndrome de Guillain Barré²⁵. Manías

y col han comunicado el primer caso de endocarditis por *B. canis* en Argentina en un paciente adulto con aislamiento bacteriano en hemocultivos²⁸. Los huéspedes inmunocomprometidos en contacto estrecho con perros podrían considerarse con mayor riesgo de infección. Se han comunicado casos aislados de infección por *B. canis* en pacientes infectados con el VIH^{68, 69}.

Si bien en el partido de La Plata no se conocen datos de la prevalencia de brucelosis canina en animales ni en humanos, el Laboratorio de Inmunología de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la UNLP desarrolla desde hace años tareas de investigación y diagnóstico de *Brucella canis* y ha presentado recientemente la casuística de brucelosis canina obtenida en el laboratorio en el período comprendido entre octubre 2013-octubre 2015. De 181 muestras ingresadas provenientes de pacientes de médicos veterinarios dedicados a la actividad privada y de criaderos comerciales, 31 animales resultaron positivos por serología (17%) y en 4 se pudo confirmar la cepa en hemocultivos⁷⁰.

Lo que motivo la realización de esta tesis, fue un trabajo realizado en forma retrospectiva de los casos de brucelosis humana atendidos en el Servicio de Infectología del Hospital San Martín de La Plata durante el período 2006-2012³¹. De 27 casos diagnosticados de brucelosis, 6 (22%) se debieron a infección por *B. canis* y de éstos, tres tenían contacto con perros, siendo dos de ellos veterinarios (33%). Uno de ellos presentaba síntomas en la consulta y el otro fue un hallazgo por control de rutina al realizar trabajos de riesgo. Un paciente fue derivado del Banco de Sangre por serología positiva, y al realizarse las determinaciones en el hospital se diagnosticó infección por *B. canis*. Todos los casos fueron diagnosticados por pruebas serológicas RSAT y confirmados por IELISA. Salvo en un caso, las pruebas serológicas para otras especies de *Brucella* también fueron positivas, lo que reflejaría las múltiples fuentes de riesgo a los que están expuestos quienes padecen Brucelosis (veterinarios, trabajadores rurales, personas que consumen productos no pasteurizados, tamberos)³¹.

Aunque existen datos de seroprevalencia de infección humana por *B. canis* en distintos lugares del mundo^{30, 51, 71,72}, este es el primer trabajo que analiza la seroprevalencia de brucelosis canina en un grupo considerado de alto riesgo

como son los veterinarios que trabajan y tienen contacto estrecho con los perros y sus secreciones en el partido de La Plata.

Se estudiaron 60 veterinarios de distintas zonas del partido de La Plata que trabajaban y tenían contacto estrecho con perros. La mayoría de ellos expuestos a actividades de riesgo como haber realizado y/o participado en partos y tener contacto directo con derivados de animales principalmente sangre, materia fecal y orina. Pese a que las condiciones de trabajo fueron similares en todos los veterinarios, la seroprevalencia en este estudio resultó de 1,6%, siendo el caso índice una médica veterinaria joven, asintomática, cuyo único trabajo fue en la ciudad de La Plata, y que recuerda haber atendido un perro con brucelosis. Es importante señalar además que las pruebas serológicas para otras especies de *Brucella* resultaron negativas en todos los veterinarios, lo que estaría relacionado con que la mayoría de ellos trabajan con animales pequeños y domésticos en ambientes urbanos.

11. CONCLUSIONES

Aunque los datos de este trabajo no pueden ser comparados con los de la literatura, se destaca la importancia de mantener el alerta frente a una enfermedad escasamente conocida en humanos, en quienes la mayoría de las infecciones son asintomáticas.

Es de interés realizar nuevos y más amplios estudios sobre la seroprevalencia en canes y humanos expuestos a riesgo.

Si se tiene en cuenta la presencia de perros positivos en la región, y que no solo los veterinarios pueden estar expuestos a riesgo, sino también aquéllos que trabajan en criaderos y las personas que conviven con perros, se deben realizar tareas conjuntas de educación para la salud con organizaciones de la sociedad civil e instituciones médicas y veterinarias para limitar el posible impacto de esta zoonosis urbana emergente en nuestra región y considerarlo un problema de Salud Pública tanto en el ámbito médico como veterinario.

12. BIBLIOGRAFÍA

- 1- Buzgan T, KasimKarahocagil M, Irmak H, Irfan Baran A, Karsen H, Evirgen O, Akdeniz H. Clinical manifestations and complications in 1028 cases of brucellosis: a retrospective evaluation and review of the literature. *Int J Infect Dis* 2010; 14: 469-478.
- 2- Aleixo M, Ferreira M, Antunes F. Brucelose. *Acta Médica Portuguesa* 1999; 12:323-330.
- 3- Franco M, Mulder M, Gilman R, Smits H. Human brucellosis. *Lancet Infect Dis* 2007; 7: 775-786.
- 4- Lucero N, Ayala S, Escobar G, Jacob R. Brucella isolated in humans and animals in Latin America from 1968 to 2006. *Epidemiol Infect* 2008; 136:496-503.
- 5- Dasari S, Naha K, Prabhu M. Brucellosis and tuberculosis: clinical overlap and pitfalls. *Asian Pac J Trop Med* 2013;6(10):823-5.
- 6- Martínez P. Brucelosis humana: situación epidemiológica en Chile, 2001-2010. *Rev Chil Infectol* 2013; 30 (6):653-659.
- 7- Mantur B, Biradar M, Bidri R, Mulimani M, Veerappa K, Kariholu P, Patil S, Mangalgi S. Protean clinical manifestations and diagnostic challenges of human brucellosis in adults: 16 years experience in an endemic area. *J Med Microbol* 2006; 55: 897–903.
- 8- Sin autor. Brucelosis. *Bol Epidemiol Periódico* N° 33, edición especial, Ministerio de Salud de la Nación. Disponible en: http://www.msal.gov.ar/saladesituacion/boletines_epidemiologia/pdfs/boletin_Brucelosis.pdf
- 9- Castro H, González S, Prat M. Brucelosis: una revisión práctica. *Acta Bioquim Clin Latinoam* 2005; 39 (2):203-216.
- 10- Samartino L. Brucellosis in Argentina. *Vet Microbiol* 2002; 90:71-80.
- 11- Dean A, Crump L, Greter H, Schelling E, Zinsstag J. Global burden of human brucellosis: a systematic review of disease frequency. *PLoS Negl Trop Dis* 2012; 6 (10): e 1865.
- 12- Eiros Bouza J, Bachiller Luque M, Ortiz de Lejarazu R. Bases para el manejo médico de enfermedades bacterianas potencialmente implicadas en bioterrorismo: ántrax, peste, tularemia y brucelosis. *An Med Interna* 2003; 20 (10): 540-547.
- 13- Seleem M, Boyle S, Sriranganathan N. Brucellosis: are-emerging zoonosis. *Vet Microbiol* 2010;140(3-4):392-8.

- 14- Pappas G, Akritidis N, Bosilkovski M, Tsianos E. Brucellosis. N Engl J Med 2005; 352:2325-36.
- 15- Al Dahouk S, Tomaso H, Nöckler K, Neubauer H, Frangoulidis D. Laboratory-based diagnosis of brucellosis--a review of the literature. Part I: Techniques for direct detection and identification of *Brucella* spp. Clin Lab. 2003; 49(9-10):487-505.
- 16- Al Dahouk S, Tomaso H, Nöckler K, Neubauer H, Frangoulidis D. Laboratory-based diagnosis of brucellosis--a review of the literature. Part II: serological tests for brucellosis. Clin Lab. 2003; 49(11-12):577-589.
- 17- Solera J. Update on brucellosis: therapeutic challenges. Int J Antimicrob Agents 2010; 36 (1): 18-20
- 18- Ariza J, Bosilkovski M, Cascio A, Colmenero J, Corbel M, Falagas M, Memish Z, Hasanjani Roushan M, Rubinstein E, Sipsas N, Solera J, Young E, Pappas G. Perspectives for the treatment of Brucellosis in the 21st Century: The Ioannina Recommendations. PLoS Med 2007; 4(12): e 317.
- 19- Krueger W, Lucero N, Brower A, Heil G, Gray G. Evidence for unapparent *Brucella canis* infections among adults with occupational exposure to dogs. Zoonoses Public Health 2014; 61:509-518.
- 20- Wanke M. Canine brucellosis. Anim Reprod Sci 2004;82–83: 195–207.
- 21- Reynes E, Lopez G, Ayala M, Hunter G, Lucero N. Monitoring infected dogs after a canine brucellosis outbreak. Comp Immunol Microbiol Infect Dis 2012;35(6):533-7.
- 22- Di Lorenzo C. Vías de transmisión de la Brucelosis canina en infecciones naturales. Responsabilidad profesional del Veterinario para su control y erradicación. Asociación Argentina de Veterinarios de Laboratorio de Diagnóstico. XIX Reunión Científico Técnica- Buenos Aires, Diciembre 2012. Disponible en: http://www.vetcomunicaciones.com.ar/uploadsarchivos/brucelosis_caninaaavld_07_12_2012.pdf
- 23- Lucero N, Jacob N, Ayala S, Escobar G, Tuccillo P, Jacques I. Unusual clinical presentation of brucellosis caused by *Brucella canis*. J Med Microbiol 2005;54(5):505-8.
- 24- Nomura A, Imaoka K, Imanishi H, Shimizu H, Nagura F, Maeda K, Tomino T, Fujita Y, Kimura M, Stein G. Human *Brucella canis* infections diagnosed by blood cultura. Emerg Infect Dis 2010; 16(7):1183-1184.

- 25- Marzetti S, Carranza C, Roncallo M, Escobar G, Lucero N. Recent trends in human *Brucella canis* infection. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis* 2013;36(1):55-61.
- 26- Lucero N, Corazza R, Almuzara M, Escobar G, Boeri E, Ayala S. Human *Brucella canis* outbreak linked to infection in dogs. *Epidemiol Infect.* 2010;138(2):280-5.
- 27- Olivera M, Di Lorenzo C. Aislamiento de *Brucella canis* en un humano conviviente con caninos infectados. Informe de un caso. *Colomb Med* 2009; 40 (2):218-220.
- 28- Manias V, Nagel A, Mollerach A, Mendosa M, Freyre H, Gómez A, Ferrara E, Vay C, Méndez E. Endocarditis por *Brucella canis*: primer caso documentado en un paciente adulto en Argentina. *Rev Arg Microbiol* 2013; 45:50-53.
- 29- Lucero N. Brucelosis Canina: una zoonosis urbana emergente. Asociación Argentina de Veterinarios de Laboratorio de Diagnóstico. XIX Reunión Científico Técnica- Buenos Aires, Diciembre 2012. Disponible en: http://www.vetcomunicaciones.com.ar/uploadsarchivos/brucelosis_canina_a_avld_07_12_2012.pdf
- 30- Sayan M, Erdenlig S, Stack J, Selçuk K, Guäduäcuäog H, Aksoy J, Baklan A, Etiler N. A. Serological diagnostic survey for *Brucella canis* infection in turkish patients with Brucellosis-Like symptoms. *Jpn J Infect Dis* 2011; 64:516-519.
- 31- Nuccetelli Y, Esposto A, de la Parra G, Lares M, Aguilera K, Yantorno ML, Rocchia Rossi I, Ferrer F, Angeletti V, Pfoh C, Alvarado M, Garbarino M, Manciola E. Evaluación de los casos de Brucelosis Humana atendidos en un Hospital General. XIII Congreso Argentino de la Sociedad Argentina de Infectología, SADI 2013. Mar del Plata, del 9 al 11 de Junio 2013. Disponible en: Libro de resúmenes XIII Congreso Argentino de la Sociedad Argentina de Infectología - SADI 2013
- 32- Sin autor. Enfermedades infecciosas. Brucelosis. Guía para el equipo de salud 2013. Ministerio de Salud de la Nación. Disponible en <http://www.msal.gob.ar/images/stories/bes/graficos/0000000304cnt-guia-medica-brucelosis.pdf>
- 33- Sin autor. Boletín Integrado de Vigilancia N° 398– SE 06 2018. Ministerio de Salud de la Nación. Disponible en <http://www.msal.gob.ar/index.php/home/boletin-integrado-de-vigilancia>
- 34- World Health Organization. The control of neglected zoonotic diseases: A route to poverty alleviation. In Report of a joint WHO/DFIDAHP meeting, 20 and 21 September 2005, WHO Headquarters, Geneva, with the participation

of FAO and OIE. Disponible en:
http://www.who.int/zoonoses/Report_Sept06.pdf

- 35- Morales JR. Brucellosis Humana. En: Cecchini E, González Ayala S, editores. Infectología y enfermedades infecciosas. 1º Edición. Buenos Aires: Ediciones Journal; 2008. p. 661-666
- 36- Hasanjan iRoushan M, Ebrahimpour S, Moulana Z. Different Clinical Presentations of Brucellosis. Jundishapur J Microbiol 2016; 9(4): 33765.
- 37- Jia B, Zhang F, Lu Y, Zhang W, Li J, Zhang X, Ding J. The clinical features of 590 patients with brucellosis in Xinjiang, China with the emphasis on the treatment of complications. PLoS Negl Trop Dis 2017;11(5): e0005577.
- 38- Kursun E, Turunc T, Demiroglu Y, Arslan H. Evaluation of Four Hundred and Forty-Seven Brucellosis Cases. Intern Med 2013;52: 745-750
- 39- Ebrahimpour S, Bayani M, Moulana Z, Hasanjani Roushan M. Skeletal complications of brucellosis: A study of 464 cases in Babol, Iran. Caspian J Intern Med 2017; 8(1):44-48.
- 40- Purwar S, Metgud S, Mutnal M, Nagamoti M, Patil C. Utility of Serological Tests in the Era of Molecular Testing for Diagnosis of Human Brucellosis in Endemic Area with Limited Resources. J Clin Diag Res 2016;10(2): 26-29.
- 41- Sohrabi M, Mohabati Mobarez A, Khoramabadi N, Hosseini Doust R, Behmanesh M. Efficient Diagnosis and Treatment Follow-Up of Human Brucellosis by a Novel Quantitative TaqMan Real-Time PCR Assay: a Human Clinical Survey. J Clin Microbiol 2014;52 (10): 4239–4243.
- 42- Hasanjani Roushan M, Moulana Z, Marashi S. Polymerase Chain Reaction–Based Assays for the Diagnosis of Active and Relapsed Cases of Human Brucellosis. Am J Trop Med Hyg 2016;95(6):1272-1276.
- 43- Wallach J, Gianbartolomei G, Baldi P, Fossati C. Human Infection with M-Strain of *Brucella canis*. Emerg Infect Dis 2004; 10(1): 146-148
- 44- Traxler R, Lehman M, Bosserman E, Guerra M, Smith T. A Literature Review of Laboratory-Acquired Brucellosis. J Clin Microbiol 2013; 51 (9): 3055–3062.
- 45- Lucero N, Escobar G, Ayala S, Jacob N. Diagnosis of human brucellosis caused by *Brucella canis*. J Med Microbiol 2005; 54: 457-461
- 46- Solis Garcia del Pozo, Solera J. Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Clinical Trials in the Treatment of Human Brucellosis. PLoS One 2012; 7 (2): e32090.
- 47- Hasanjani Roushan M, Mohraz M, Hajjahmadi M, Ramzani A, Valayati A. Efficacy of Gentamicin plus Doxycycline versus Streptomycin plus Doxycycline in the Treatment of Brucellosis in Humans. Clin Infect Di

- s2006;42:1075–80.
- 48- Skalsky K, Yahav D, Bishara J, Pitlik S, Leibovici L, Paul M. Treatment of human brucellosis: systematic review and meta-analysis of randomised controlled trials. *BMJ* 2008;336(7646):701-704.
 - 49- Hasanain A, Mahdy R, Mohamed A, Ali M. A randomized, comparative study of dual therapy (doxycycline–rifampin) versus triple therapy (doxycycline–rifampin–levofloxacin) for treating acute/subacute brucellosis. *Braz J infect Dis* 2016;20(3):250–254.
 - 50- Zhao S, Cheng Y, Liao Y, Zhang Z, Yin X, Shi S. Treatment Efficacy and Risk Factors of Neurobrucellosis. *Med Sci Monit* 2016; 22: 1005-1012.
 - 51- Castrillón Salazar L, Giraldo Echeverri C, Sanchez Jimenez M, Olivera Angel M. Factores asociados con la seropositividad a *Brucella canis* en criaderos caninos de dos regiones de Antioquía, Colombia. *Cad. Saude Pública, Rio de Janeiro* 2013; 29 (10): 1975-1987.
 - 52- Brower A, Okwumabua O, Massengill C, Muenks Q, Vanderloo P, Duster M, Homb K, Kurth K. Investigation of the spread of *Brucella canis* via the U.S interstate dog trade. *Int J Infect Dis* 2007; 11: 454-458
 - 53- Gyuranecz M, Szeredi L, Ronai Z, Denes B, Dencso L, Dan A. Detection of *Brucella canis*-induced reproductive diseases in a kennel. *J Vet Diagn Invest* 2011;23:143-147.
 - 54- Brennan SJ, Ngeleka HM, Philibert H, Forbes LB, Allen AL. Canine brucellosis in a Saskatchewan kennel. *Can Vet J* 2008; 48: 703-708.
 - 55- Ayoola M, Ogugua A, OluwatoyinAkinseye V, Olu Joshua T, Folusho Banuso M, Adedoyin F, et al. Sero-epidemiological survey and risk factors associated with brucellosis in dogs in south-western Nigeria. *Pan African American J* 2016;23:29.
 - 56- Agudelo Florez P, Castro B, Rojo Ospina R, Henao Villegas S. Seroprevalencia y factores de riesgo para brucellosis canina en perros domésticos de once comunas de la ciudad de Medellín, Colombia. *Rev. Salud Pública* 2012; 14 (4): 644-656.
 - 57- Ramirez H, Calle S, Echeverría L, Morales S. Prevalencia de brucellosis canina en dos distritos de la Provincia Constitucional del Callao. *Rev Investig Vet Perú* 2006;17:39-43.
 - 58- Charmichael L, Shin S. Brucellosis canina causada por *Brucella canis*. *Am J Vet Res* 1999;37:220-223.
 - 59- Román Cárdenas, F, Luna Herrera, JK. Revisión actualizada de la epidemiología de Brucellosis (*Brucella abortus*, *Brucella mellitensis*, *Brucella*

- suis*, *Brucella canis*) en el Ecuador y el mundo. Centro de Biotecnología [Internet]. 2017 [consultado el 10 de mayo de 2018]; 6(1):82-93. Disponible en: revistas.unl.edu.ec/index.php/biotecnologia/article/view/342
- 60- Castillo V, Cetrino V, Moreno C. Encuesta serológica sobre *Brucella canis* en pacientes atendidos en la clínica de pequeños animales de la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia de la Universidad Nacional de Colombia (Sede Bogotá). Arch Med Vet 2002;13:22-25.
- 61- Pardo AD, Perez C, Gongora A, Gomez L, Moreno A. Encuesta exploratoria de infección por *Brucella canis* en perros de Villavicencio-Colombia. Rev Mvz Cordoba 2009;14:1690-1696.
- 62- Myers D, Varela Diaz V. Serological and bacteriological detection of *Brucella canis* infection of stray dogs in Moreno, Argentina. Cornell Vet 1980; 70:258-265.
- 63- Ramaciotti F. Primer aislamiento de *B. canis* en humano por hemocultivo efectuado en la República Argentina. Rev Med Vet 1980; 61:49-54.
- 64- Baruta D, Ardoino S, Brandan J. Estudio seroepidemiológico de brucelosis canina en General Pico, provincia de La Pampa, Argentina. Veterinaria 2003; 5:11-16
- 65- Boeri E, Escobar G, Ayala S, Sosa Estani S, Lucero N. Brucelosis canina en perros de la ciudad de Buenos Aires. Medicina (Buenos Aires) 2008; 68:291-297
- 66- Lopez G, Ayala SM, Efron A, Gomez C, Lucero N. A serological and bacteriological survey of dogs to detect *Brucella* infection in Lomas de Zamora, Buenos Aires province. Rev Argent Microbiol 2009; 41:97-101
- 67- Soloaga R, Salinas A, Poterallo M, Margari A, Suar B, Lucero N, Turco M, Procopio A, Almuzara M. Bacteriemia por *Brucella canis*. Aislamiento con el Sistema Bact-Alert. Rev Argent Microbiol 2004; 36(2):81-84
- 68- Lucero NE, Maldonado PI, Kaufman S, Escobar GI, Boeri E, Jacob NR. *Brucella canis* causing infection in an HIV-infected patient. Vector Borne Zoonotic Dis. 2010; 10(5):527-9.
- 69- Lawaczek E, Toporek J, Cwikla J, Mathison BA. *Brucella canis* in a HIV-infected patient. Zoonoses Public Health. 2011; 58(2):150-2.
- 70- Miceli A, Di Lorenzo C, Scuffi A, Cabral M. Brucelosis canina: casuística del Laboratorio de Inmunología de la Facultad de Ciencias Veterinarias UNLP, período 2013-2015. Disponible en:

[http://www.jornadascuyanas.com/archivos/posters/2015/trabajo%20casuistica%20cuyo%20\(1\).pdf](http://www.jornadascuyanas.com/archivos/posters/2015/trabajo%20casuistica%20cuyo%20(1).pdf)

- 71- Mangalgi S, Sajjan A, Mohite S, Gajul S. Brucellosis in occupationally exposed groups. J Clin Diag Res 2016;10(4):24-27.
- 72- Olivera Angel M, Ristow P, Ko A, Di Lorenzo C. Serological trail of *Brucella* infection in an urban slum population in Brazil. J Infect Dev Ctries 2012;6 (9):675-679.

ANEXO I

Formulario de registro clínico

FORMULARIO DE REGISTRO CLÍNICO

Sujeto N° _____
~~Seroprevalencia de Infección por *Brucella canis* en Veterinarios del Partido de~~

La Plata

CRITERIOS DE INCLUSIÓN

Veterinarios

Si No

Trabaja con perros

Si No

Tiene perros

Si (Especificar raza/sexo)..... No

Tuvo perros

Si (Especificar período de tiempo)..... No

Residente en la ciudad de La Plata y sus alrededores

Si (Especificar ciudad.....)

No

Formulario de consentimiento informado firmado

Si No

DATOS PERSONALES

Fecha ____ / ____ / ____

Nombre Completo _____

Fecha de Nacimiento ____ // ____ ____

Edad: _____ años

Domicilio _____

Teléfono _____

DATOS LABORALES

Año de graduación _____

Lugar de trabajo _____

Antigüedad en el trabajo _____ años

Tipo de animales involucrados en la actividad _____

Contacto con derivados de animales

Si No

Especificar qué tipo de derivados _____

Realización y/o participación de partos

Si No

Lugar de trabajo en los últimos 2 años _____

Consumo de productos no pasteurizados

Si No

Transfusiones

Si No

Viajes en los últimos 6 meses

Si No

Lugar _____

DATOS CLÍNICOS

¿Tuvo alguno de estos síntomas en los últimos 30 días?

Fiebre mayor 38°

Si No

Sudoración profusa

Si No

Cefalea

Si No

Mialgias/artralgias

Si No

¿Presentó síntomas compatibles con Brucelosis en los últimos 30 días?

Si No

¿Alguna vez tuvo Brucelosis? Especifique año

Si No

¿En el último mes le han constatado alguno de los siguientes signos?

Hepatomegalia

Si No

Esplenomegalia

Si No

Espondilitis

Si No

Sacroileítis

Si No

¿Hoy presenta algún síntoma?

Si No

¿Cuál?

DATOS DE LABORATORIO (*B. canis*)

RSAT

Positiva Negativa

IELISA

Positiva Negativa

DATOS DE LABORATORIO (*Brucella spp*)

Pruebas de Tamizaje

Positiva Negativa

Pruebas Confirmatorias

Positiva

Negativa

ANEXO II
Formulario de consentimiento informado

Estudio de Seroprevalencia de Infección por *Brucella canis* en Veterinarios del Partido de La Plata

FORMULARIO DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

(ANEXO II)

En el día de hoy se lo está invitando a participar de este estudio que tiene como objetivo conocer la prevalencia de la infección por *Brucella canis* en personas adultas en contacto estrecho con perros en la ciudad de La Plata y sus alrededores. Esto se debe a que se ha registrado un incremento en la prevalencia de esta bacteria en perros estudiados en distintos partidos de la provincia de Buenos Aires y a que la infección humana es cada vez más frecuente. Se incluirán 60 veterinarios.

El trabajo requiere de la toma de una muestra de sangre de una vena de la zona del pliegue del codo. Esta muestra de sangre será obtenida en el Servicio de Infectología del Hospital San Martín de La Plata o en su lugar de trabajo. Las muestras extraídas serán analizadas en el Laboratorio Central del Hospital San Martín y las que resulten positivas para *Brucella canis* serán enviadas al Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas Dr. Carlos G. Malbrán para su confirmación, siguiendo el protocolo de estudio habitual de las muestras analizadas para Brucelosis y que resulten positivas. Conjuntamente con este procedimiento se procederá a realizar el estudio de otras especies de *Brucella* que podrían resultar de interés en su profesión (*B melitensis*, *B suis*, *B abortus*). La muestra de sangre extraída será utilizada sólo para estas determinaciones. Las pruebas serológicas de tamizaje utilizadas serán: reacción de Huddleson, prueba de Rosa de Bengala (RBT), antígeno tamponado en placa (BPA) y pruebas de seroaglutinación (SAT).

En general, para los médicos es importante determinar cuál es el comportamiento de esta infección y poder realizar las acciones de prevención en la población general.

Este estudio no implica ningún tipo de intervención terapéutica y por lo tanto es un estudio sin riesgos para el participante.

Los resultados de este estudio no tendrán ningún beneficio directo. Sin embargo, Ud. Podría beneficiarse si se llega a detectar una serología positiva durante el estudio. Los riesgos por participar se limitan a las escasas complicaciones que podrían surgir de la extracción de sangre (dolor, hematoma).

Sus datos serán guardados confidencialmente y no serán revelados por ningún motivo. Su identidad será preservada y su nombre no figurará en los informes del estudio.

Sujeto N° []

Una copia de este formulario le será entregada una vez que sea firmado. Mediante la firma del mismo Usted acepta que lo ha leído, comprendido, que se han respondido sus preguntas, y que lo firma libre y voluntariamente.

