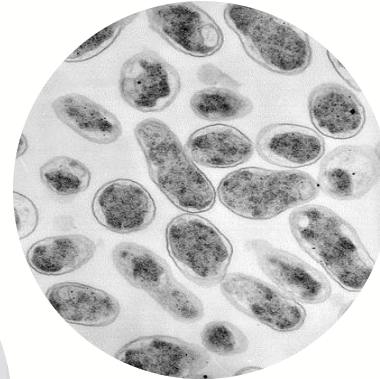
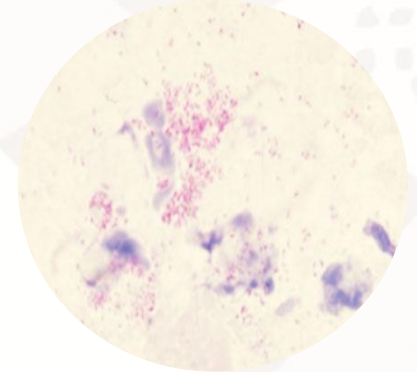
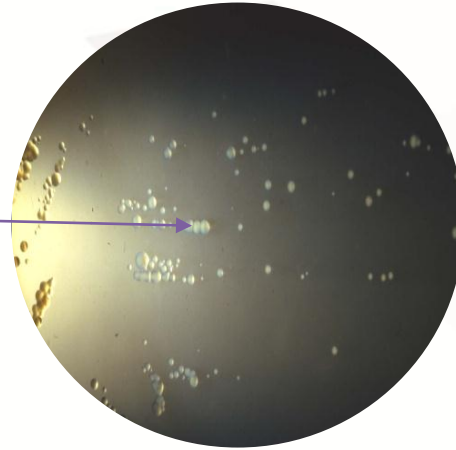


TAXONOMÍA	NOMBRE		
Género	Brucella		
Dominio	Bacteria		
Clase	Proteobacteria		
Subclase	Alphaproteobacteria		
Grupo	Rhizobiales		
Familia	Brucellae		
Especies lisas	abortus		
	mellitensis		
	suis		
	maris	neotomae	microti
Especies rugosas	canis		
	ovis		

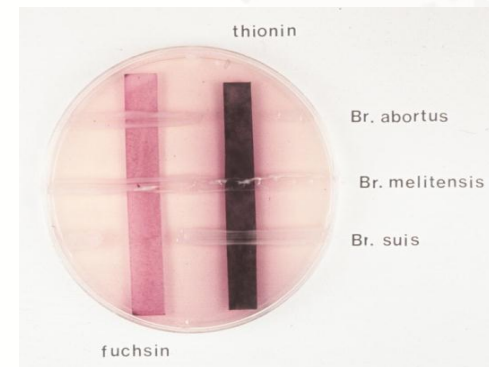
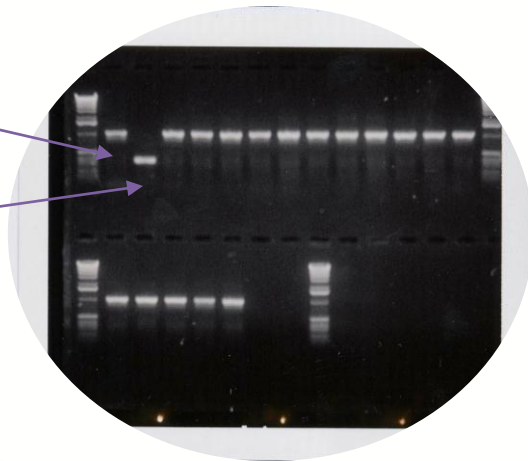
El Agente

- **Cocobacilo Gram negativo intracelular**
- **Oxidasa y Ureasa positivo**
- **No-móvil.**
- **Agar Trypticase-Soya**
- **MacConkey no crece**
- **Nivel de contención 3**
- **Susceptibilidad a fagos**



(eri / 1063 pb)
Tipo silvestre

C19 (361 pb)



Clasificación de los microorganismos según el riesgo para la salud de los humanos y los animales

Grupo

1

MO **sin o con** escaso riesgo individual, comunitario y para el MA, generalmente **no causan enfermedades** en humanos ni animales, **no están sujetas al control oficial.**

2

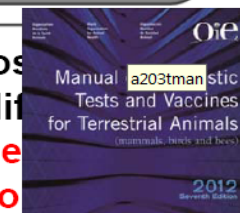
MO que pueden causar enfermedades en humanos o animales pero que son **incapaces de diseminarse** por la comunidad o por la población animal y frente a los cuales **se dispone de tratamientos eficaces y de profilaxis**

3

MO que **originan enfermedades graves en humanos o en animales** y que pueden extenderse por la comunidad y/o la población animal, pero frente a los cuales **existen tratamientos eficaces y profilaxis**

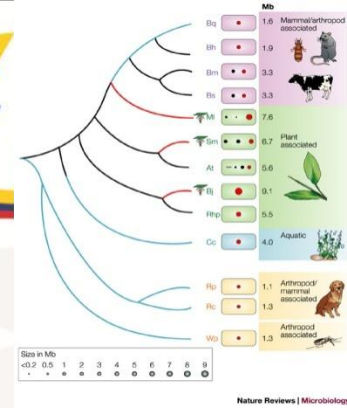
4

MO que causan enfermedades graves en humanos o animales, pueden representar un alto riesgo de difusión en la comunidad o en la población animal, **sin que general, exista ni profilaxis ni tratamiento efectivo**

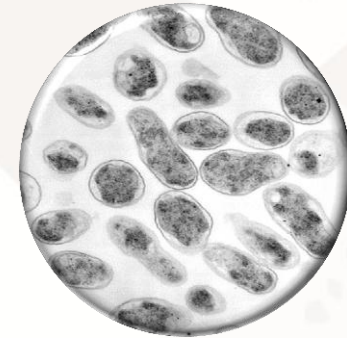


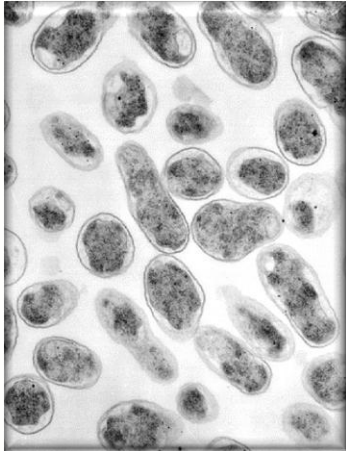


TURA



Especies	Serovar	Hospedador natural	Patogenicidad en humano
<i>B. abortus</i>	1- 9	<i>Bovino</i>	si
<i>B.melitensis</i>	1-3	<i>Caprino, ovino</i>	si
<i>B. suis</i>	1, 3	<i>Porcino</i>	si
	2	<i>Silvestre</i>	si
	4	<i>Cérvidos, caribú</i>	si
	5	<i>Roedores</i>	si
<i>B. canis</i>	no	<i>Caninos</i>	si
<i>B. ovis</i>	No	<i>Ovino</i>	no
<i>B. neotomae</i>	no	<i>Rata del desierto</i>	no
<i>B. maris</i>		<i>Mamíferos marinos</i>	si
<i>B. pinnipedialis</i>		<i>Pinnípedos marinos</i>	?
<i>B. ceti</i>		<i>Cetáceos</i>	si
<i>B. microti</i>		<i>Microtus arvalis (topillo , zorros, Europa central)</i>	?
<i>B. Inopinata</i>		<i>Humanos Australia (2010)</i>	si





Especies lisas

Brucella melitensis

Brucella suis

Brucella neotomae

Brucella ceti,
B. pinnipedialis

Brucella microti

Brucella inopinata

Brucella abortus

Vacuna
Brucella abortus
C19

Vacuna
Brucella abortus
RB51

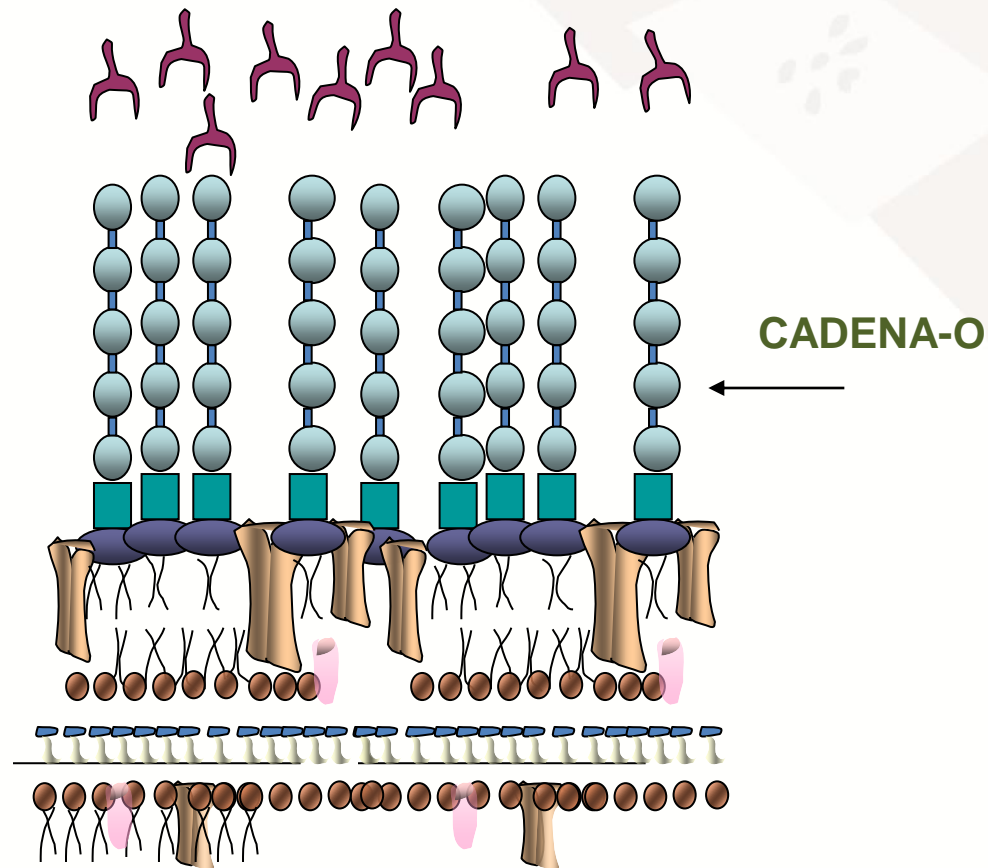
Especies rugosas

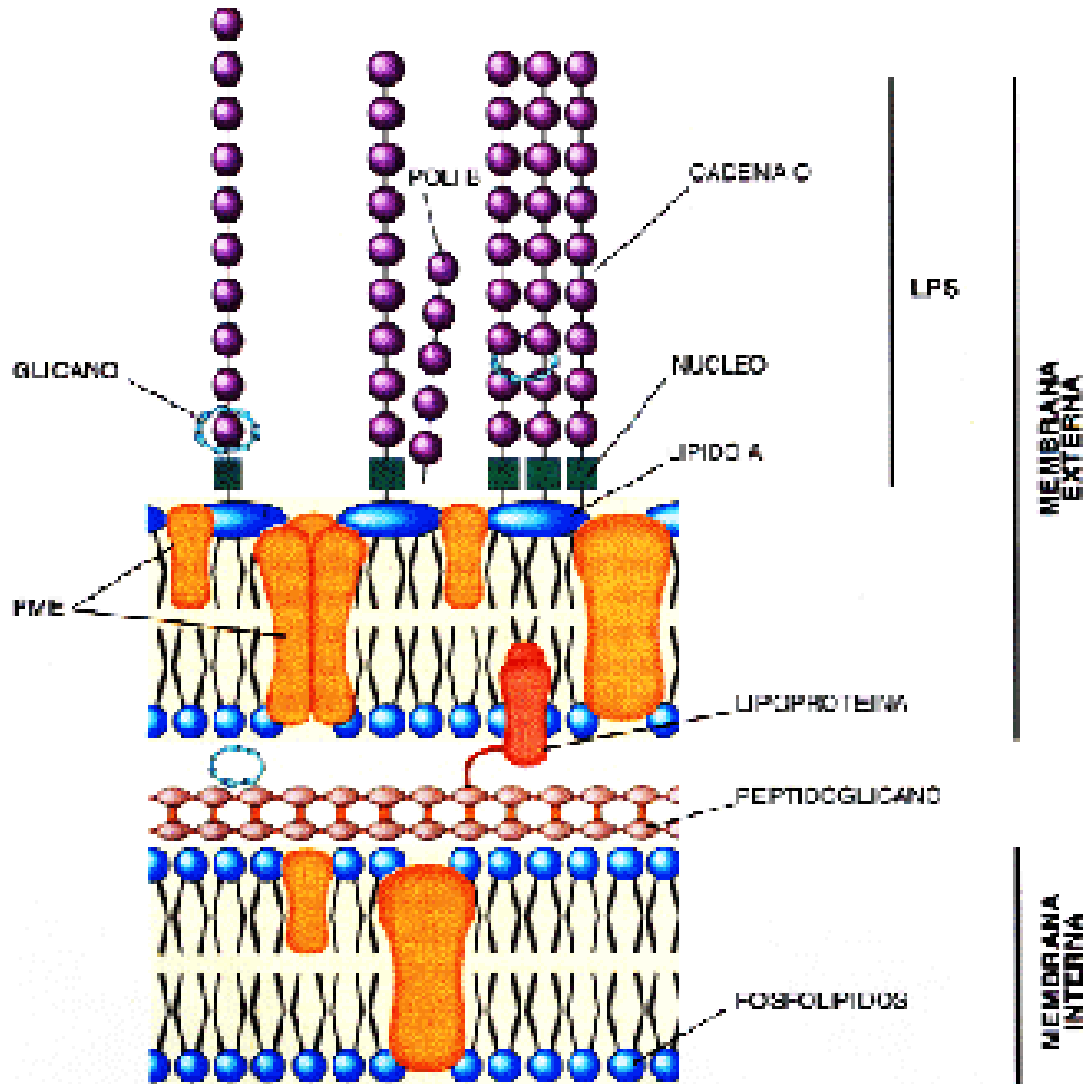
Brucella ovis

Brucella canis

International Committee on Systematics of Prokaryotes, Subcommittee on the Taxonomy of Brucella OIE MANUAL 2008

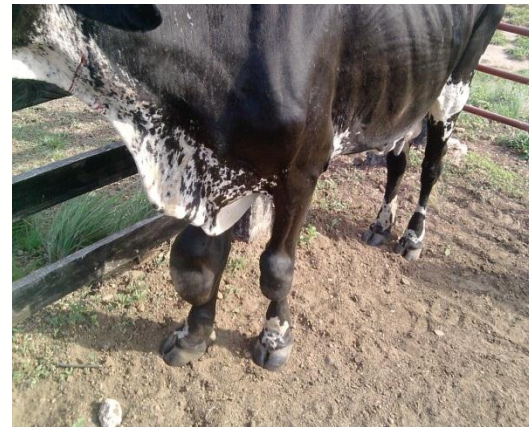
La cepa patógena y la cepa vacunal *Brucella abortus* C19, son lisas y tienen la misma constitución en la pared





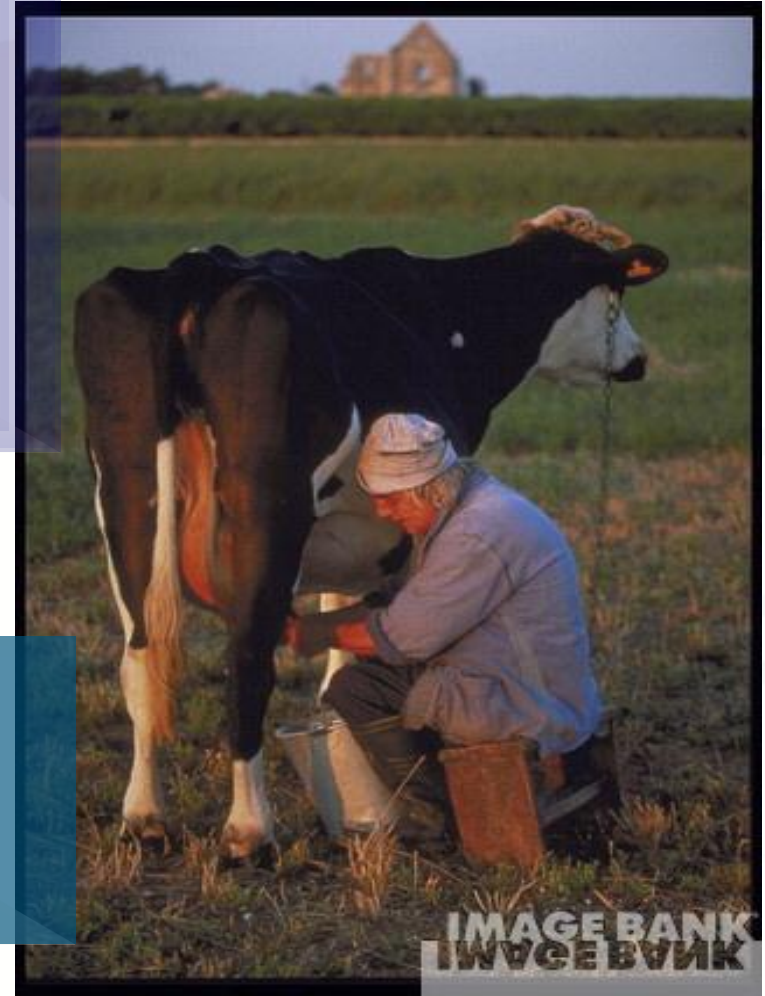
Se caracteriza clínicamente, por los siguientes síntomas:

- **Abortos.**
- **Retención de placenta,**
- **Aumento de períodos abiertos,**
- **Infertilidad,**
- **Nacimiento de terneros débiles,**
- **Disminución en la producción de leche,**
- **Orquitis, epididimitis y raramente artritis e higromas.**



La Brucelosis es una enfermedad zoonótica: afecta a varias especies de animales domésticos y silvestres y es transmitida al ser humano por contacto con secreciones infectadas producidas durante los abortos o por ingestión de productos lácteos o cárnicos contaminados

**Barreras en comercialización de los animales y sus productos.
Altera desarrollo socioeconómico del sector rural más vulnerable.**

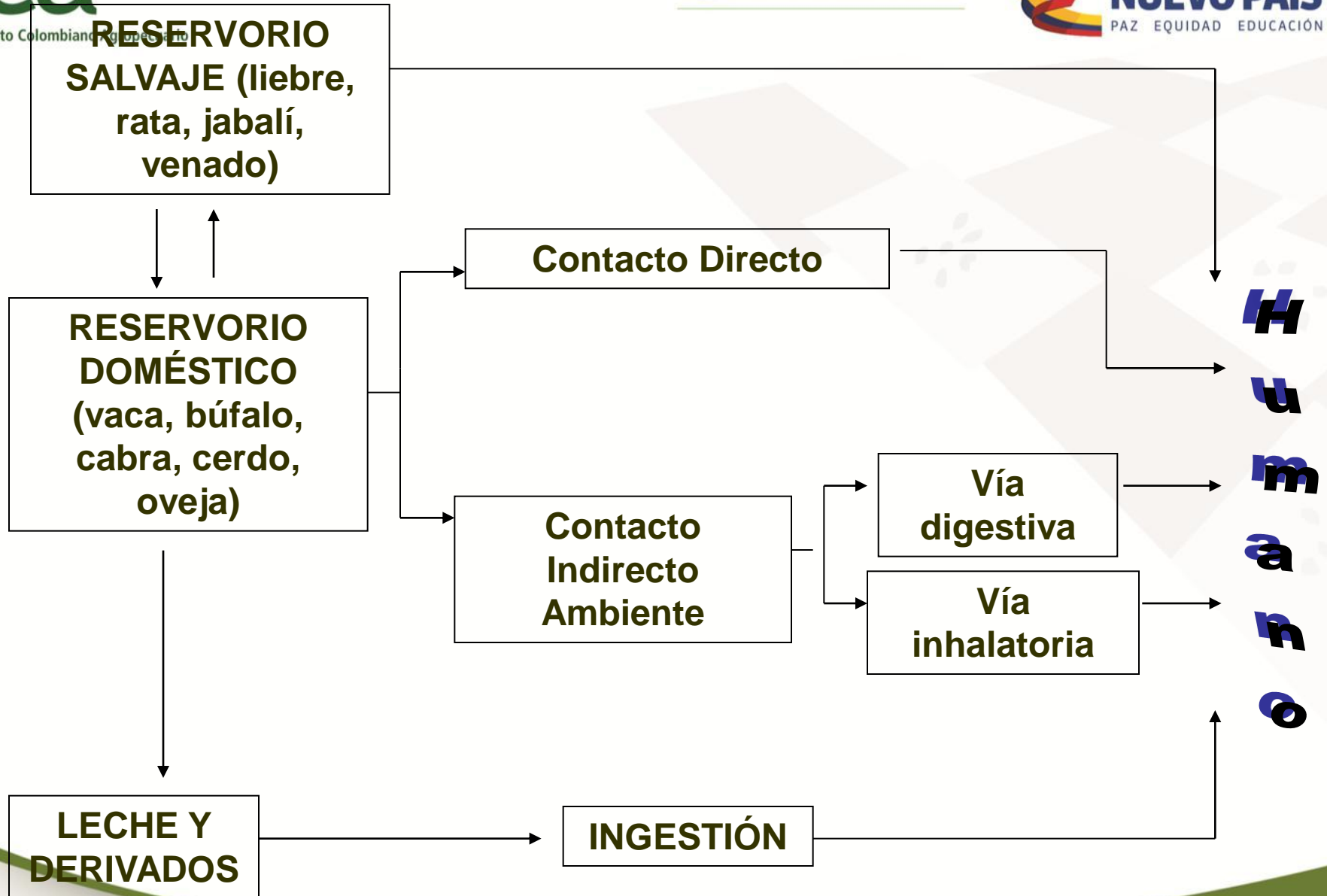


POBLACIÓN A RIESGO

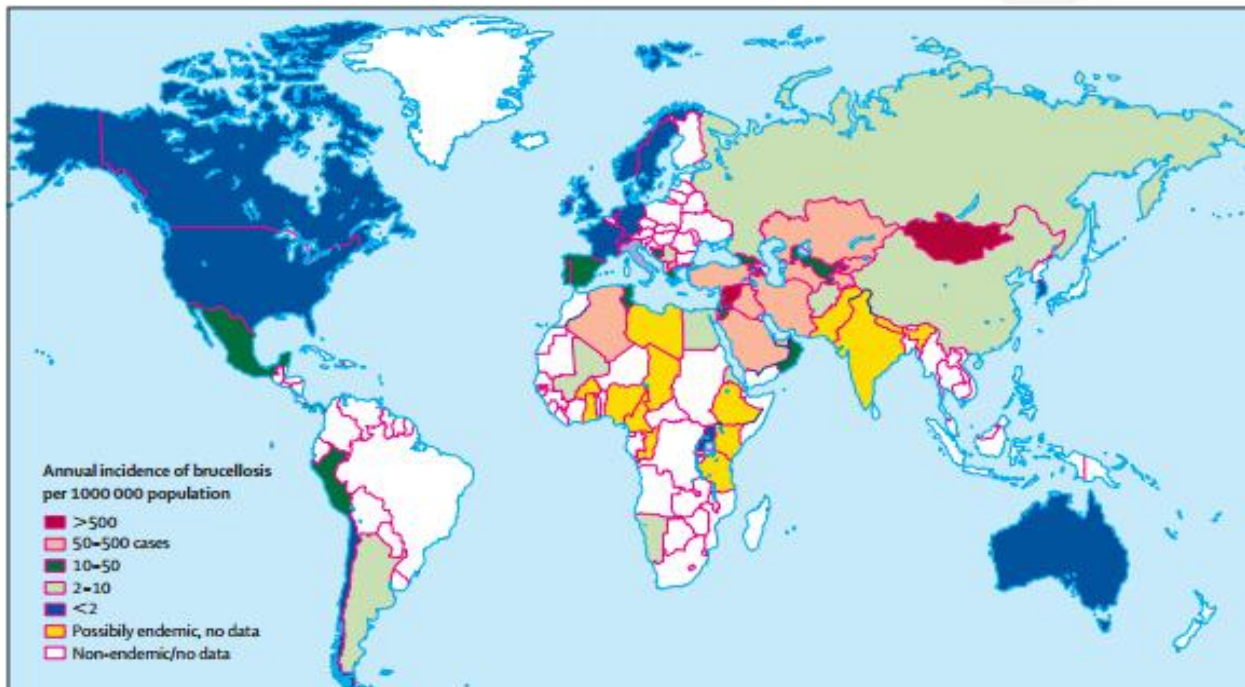
- **Consumidores de leche cruda o de subproductos lácteos o cárnicos contaminados con la *Brucella*.**
- **Población infantil rural y urbana marginal**
- **Veterinarios, manejadores de ganado, vacunadores, operarios en matadero.**
- **Microbiólogos, Bacteriólogos, Auxiliares de laboratorio**

Brucelosis en humanos. Transmisión

- **Inoculación por cortes o abrasiones de piel en contacto con placenta o secreciones vaginales contaminadas.**
- **Otras fuentes: manejo de fetos o membranas fetales durante el aborto y secreciones uterinas contaminados, carcasas.**
- **A través de conjuntivas.**
- **Inhalación de aerosoles.**
- **Consumo de leche cruda, derivados lácteos no pasteurizados, carne cruda.**
- **Inoculación accidental de la vacuna animal C19. Dosis infectiva 10 a 100 bacterias**
- **Ha sido sugerida la transmisión sexual .**



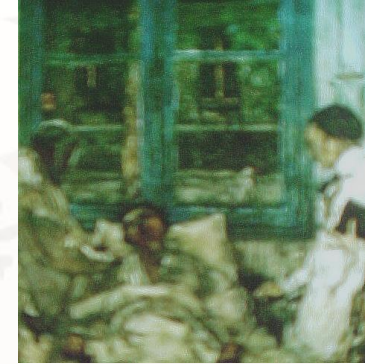
Incidencia de la brucelosis en el mundo



- Según la OMS 10-25 veces superior.

PRIMERAS FASES DE LA ENFERMEDAD

- **Incubación 1-3 semanas o meses.**
- **El proceso puede ser leve y autolimitado o severo.**
- **Dispepsia subaguda preliminar.**
- **Debilidad general, lasitud, capacidad muy reducida para esfuerzos físicos o mentales.**
- **Anorexia, náusea, cefalea escalofríos, mialgias, artralgia.**
- **Fiebre intermitente de curso prolongado, entre 3 y 10 semanas.**

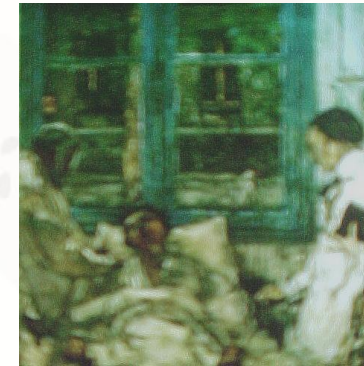


FASES POSTERIORES DE LA ENFERMEDAD

- **Marcado efecto en el sistema músculo-esquelético.**
- **Las complicaciones osteoarticulares se observan en 20-60% de los casos.**
- **Sacroileitis manifestación articular más común.**
- **Los síntomas urogenitales como orquitis, y epididimitis, dominan la presentación clínica en algunos pacientes**

Brucelosis en el Humano

- Exacerbaciones y remisiones irregulares.
- Hepatomegalia, esplenomegalia.
- Insomnio, impotencia sexual (orquitis), impacto en el sistema nervioso (irritabilidad, depresión)
- Complicaciones: meningoencefalitis, endocarditis, colecistitis



Brucelosis en el Humano

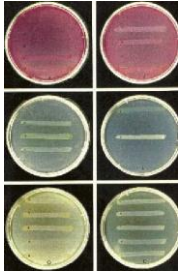
Sin tratamiento, la tasa de letalidad es menor al 2% y por lo común, sucede como consecuencia de la endocarditis.

Como la duración de la enfermedad varía desde unas pocas semanas a varios meses, se necesitan pruebas de laboratorio para confirmar el diagnóstico clínico.

DIAGNOSTICO DE BRUCELOSIS

Brucelosis en el Humano

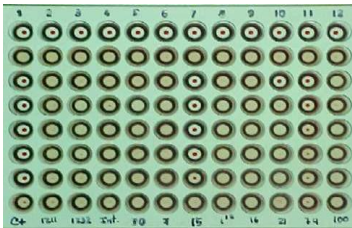
Diagnóstico



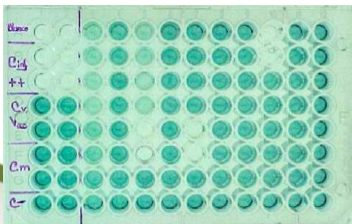
- Aislamiento a partir de sangre o de médula ósea



- Aglutinación Rosa de Bengala



- Fijación de Complemento

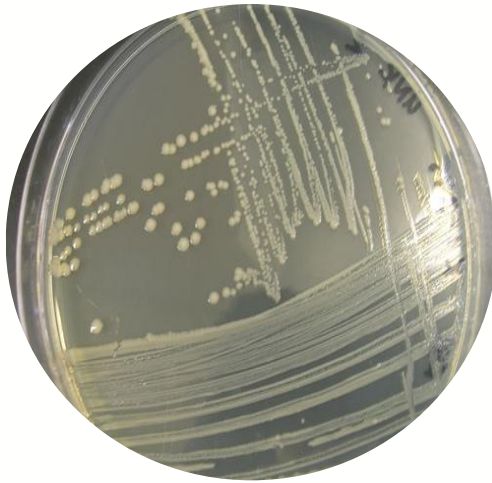


- ELISA Competitiva

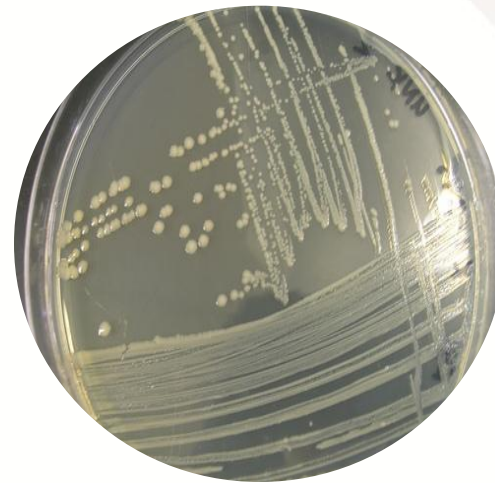
ANÁLISIS HUMANOS BRUCELOSIS 2014			
	POSITIVO	NEGATIVO	SUBTOTAL
Elisa competitiva	13	368	381
Rosa de Bengala	39	202	241
Fijación de Complemento	25	558	583
			1205

Diagnóstico de brucelosis realizadas por LNDV-ICA 2014

Brucella diagnóstico directo

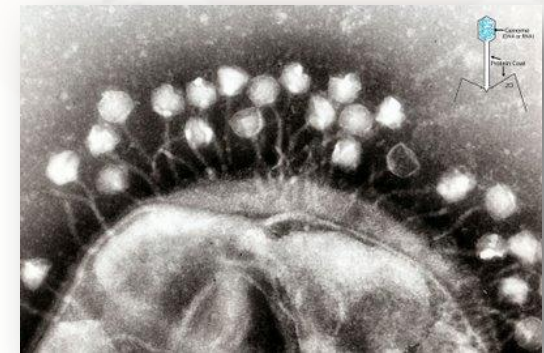


**Agar TSA +
suplemento
Brucella**



**Agar Brucella +
Suplemento
Brucella**

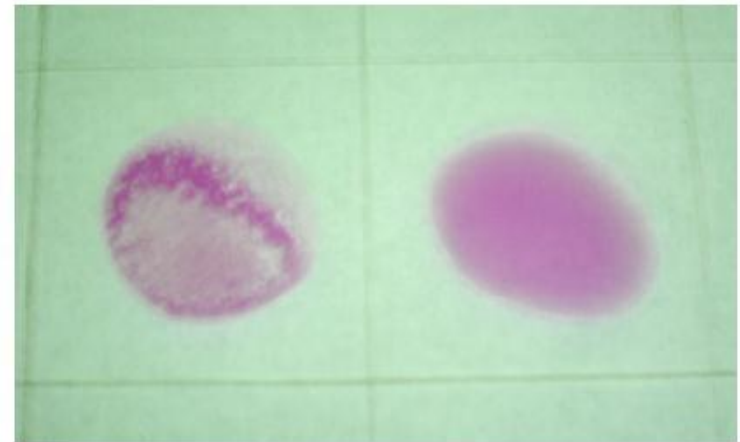
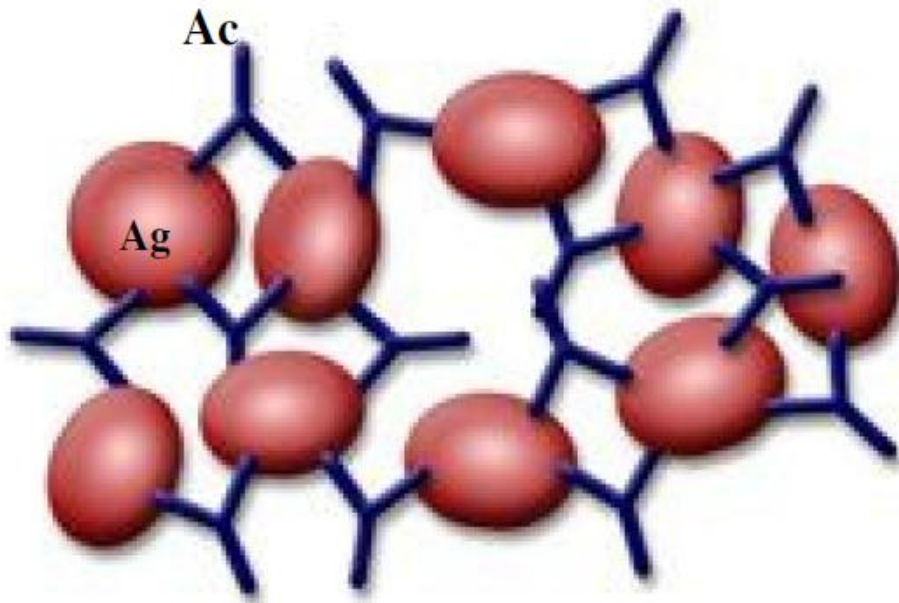
50%



Biotipificación por fagos y PCR

Catalasa, ureasa y oxidasa positivas

ROSA DE BENGALA



MÉTODOS INDIRECTOS AGLUTINACIÓN CON ANTÍGENO ROSA DE BENGALA

- Esta es una prueba sencilla de aglutinación puntual que utiliza antígeno coloreado con rosa de bengala y tamponado a pH bajo, normalmente 3,65.
- Reacciones positivas deben confirmarse con estrategias confirmativas y/o complementarias (que incluyan tanto la realización de otras pruebas como la investigación epidemiológica).

MÉTODOS INDIRECTOS

AGLUTINACIÓN CON ANTÍGENO ROSA DE BENGALA

- Bajo costo ~ Rápida.
- Prueba tamiz.
- Aplicable a todas las especies susceptibles.
- Detecta mejor la IgG₁
- Desventajas: Baja sensibilidad, detección de reacciones cruzadas (Antígenos febriles, Yersinia enterocolitica, E coli Khaufman, otras).



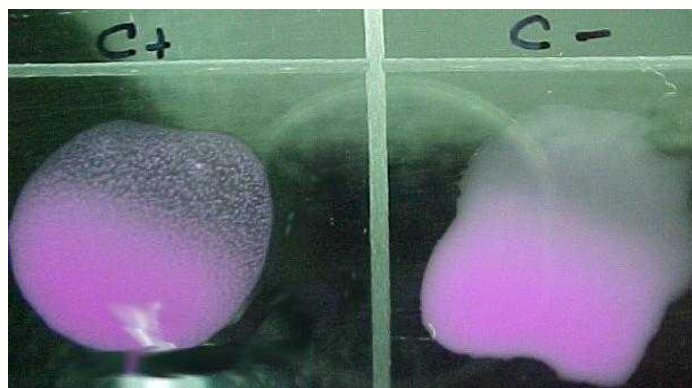
 **RED DE
AGLUTINACIÓN**





Resultados

Aglutinación de un suero con el antígeno de Rosa de Bengala.



Ausencia de aglutinación con el antígeno de Rosa de Bengala.

Lectura

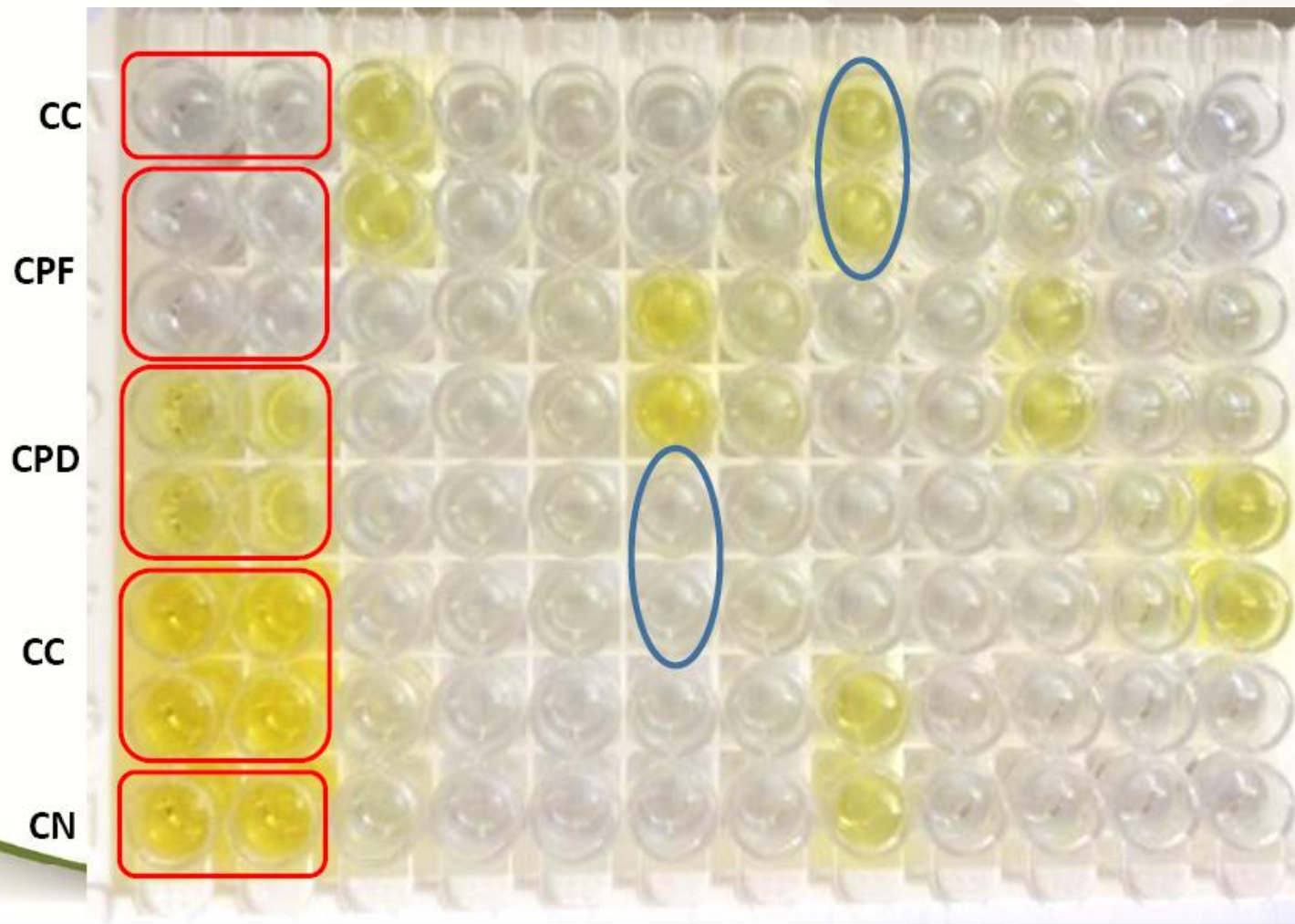
ELISA competitiva

- Alta sensibilidad analítica: 1ng/ml
- Mejor especificidad que sensibilidad
- Detecta todos los isotipos.
- Ha sido validada internacionalmente.



MARIÑO, O.C.; RUEDA, O.E.; ZUÑIGA, I; GALL, D.; NIELSEN, K. 1997. Comparative evaluation of competitive ELISA test in colombian cattle. IAEA Technical Document. International symposium on diagnosis and control of livestock diseases using nuclear an related techniques. "Toward Disease Control in 21th Century". IAEA-FAO. Technical Document 1055:131-140. Vienna, Austria.

SEDANO, L; RUEDA, O.E.; GALLEGU, I.; PEÑA, L.A.; MARIÑO, O.C. 1992. Evaluación comparativa de metodologías inmunoenzimáticas y convencionales en el diagnóstico serológico de la brucelosis bovina. Memorias Reunión Coordinadora IAEA. Rio de Janeiro.



PUNTO DE CORTE SUERO

PP \geq 45% = POSITIVO

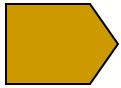
PP $<$ 45% = NEGATIVO

FIJACIÓN DE COMPLEMENTO

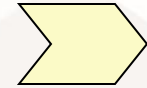
- Prueba de Referencia Internacional OIE.
- Detección y cuantificación de Ac.
- Compleja para su realización.
- Prueba Confirmatoria.
- Personal Entrenado.
- Detecta IgG1 y algunas IgM.



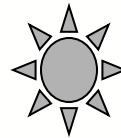
FIJACIÓN DE COMPLEMENTO



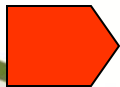
Antígeno *Brucella abortus* inactivada



Anticuerpos presentes en suero

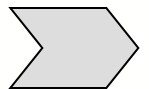


Complemento : factor sérico presente en el suero. Función: lisis del antígeno en complejo con anticuerpo. (Fuente: suero de cobayo)



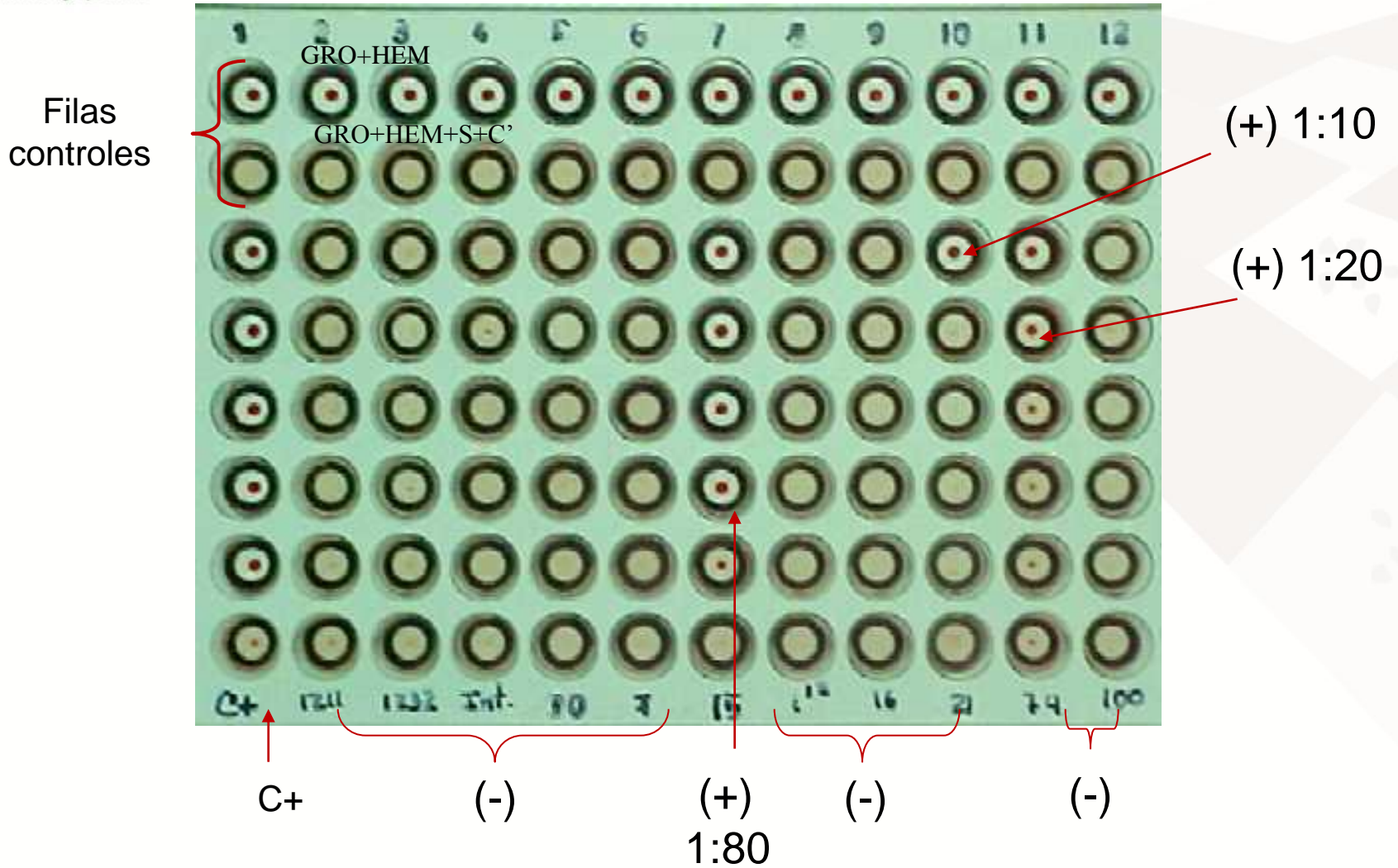
Glóbulos Rojos Ovinos (GRO)

Hemolisina : anticuerpos



anti- GRO

PRUEBA DE FIJACIÓN DEL COMPLEMENTO



Cantidad mínima de anticuerpos detectados: 200 ng/ml

PUNTO DE CORTE SUERO

TITULOS EN 1:10 O
MAYORES **POSITIVOS**

Fluorescencia Polarizada FPA

Detecta los isotipos IgG1 e IgM. Todas las especies



NUEVA PRUEBA DE FLUORESCENCIA POLARIZADA, FPA (FLUORESCENCE POLARISATION ASSAY) PARA EL DIAGNÓSTICO DE BRUCELOSIS

Evite abrir las puertas de su finca a la brucelosis bovina

Es una enfermedad que ataca a muchas especies de mamíferos dentro de los cuales se encuentran algunos con alta relevancia económica como su ganado bovino y bubalino y especies equinas, porcinas, ovinas y caprinas.

¿Por qué prevenir, combatir y erradicar la brucelosis?

- Pone en riesgo la sanidad pública y pecuaria nacional,
- Afecta su salud, la de su familia, la de los operarios o trabajadores de su finca, plantas de beneficio y consumidores,
- Reduce el número de terneros por año,
- Genera abortos o nacimientos de terneros débiles o muertos,
- Es una enfermedad crónica de fácil propagación,
- Disminuye notablemente la producción de leche de su finca,
- Ocasiona pérdidas económicas por descarte o eliminación de vacas y novillas infectadas,
- Genera infertilidad en su ganado.



FPA

Ventajas: Sensibilidad analítica 0,3 a 0,5ng/ml.

- Simple realización.
- Reactivos estables.
- Resultados rápidos.
- Todos los pasos proceden en solución, sin pasos intermedios de precipitación o lavados, incrementa precisión
- Reduce error humano asociado a lecturas subjetivas
- La prueba esta basada para medir la rotación de las moléculas de la unión Ag-Ac
- El tamaño molecular es el factor que más influye en la velocidad de rotación.
- Los Fluoropolarímetros requieren poca estandarización.
- Prueba tamiz o confirmatoria dependiendo del contexto epidemiológico.



Resumen

PRUEBAS /REQUISITOS	Rosa de Bengala	FPA	ELISA competitiva	Fijación de Complemento
Método estándar o normalizado	SI	SI	SI	SI
Sensibilidad analítica	1500 ng/ml	0,5 - 1,0 ng/ml	1,0 ng/ml	200ng/ml
Sensibilidad diagnóstica	83-87%	> 99%	98-99%	90%
Especificidad diagnóstica	98%	APROX 95%	99,70%	APROX 95%
Isotipos que detecta	IgG1	IgM, IgG1	Todos IgA, IgM, IgG1 e IgG2	IgG1
Punto de corte	Presencia de aglutinación en 4 minutos	Por definir	% de inhibición \geq 45 positivo para todas las especies	Títulos en 1:10 o mayores son considerados positivos

Algunas consideraciones para la interpretación diagnóstica

- Conocimiento de la cinética de producción de anticuerpos en infección y en vacunación con C19.
- Conocimiento de los antígenos de la *Brucellas* lisas.
 - Fundamento de las pruebas.
 - Aseguramiento de la calidad
- Correlación entre la interpretación de los resultados del laboratorio y la situación de campo en condiciones reales



ASEGURAMIENTO DE LA CALIDAD

- Pruebas acreditadas ante la ONAC bajo la norma ISO 17025.
- Pruebas de Proeficiencia Internacional con el Laboratorio de Referencia de SENASA-Argentina.
- Rondas Interlaboratorios con la Unidad de Referencia del LNDV.

Brucelosis en el Humano

TRATAMIENTO

La terapia antibiótica óptima está aún en discusión.

Debido a la localización intracelular de la *Brucella*, se requiere la asociación de varios antimicrobianos durante varias semanas.

TRATAMIENTO

La OMS recomienda:

Casos agudos en adultos, Rifampicina 600 a 900 mg y Doxiciclina 200 mg/mínimo 6 semanas.

El tratamiento con estreptomycin-tetraciclina puede complicarse con la reacción de Jarisch-Herxheimer

Las complicaciones (meningoencefalitis o endocarditis) terapia combinada: rifampicina, tetraciclina y un aminoglicósido.

La rifampicina tratamiento de elección para infección sin complicación en los niños. Alternativa cotrimoxazol, aunque el uso combinado ofrece mejores resultados

INTERDEPENDENCIA BRUCELOSIS HUMANA Y BOVINA.

Los programas de control y erradicación de la Brucelosis bovina tienen efecto directo en la incidencia de la infección humana.

Dinamarca: (1931 y 1939). +/- 500 casos/año. La erradicación en animales, condujo a la erradicación de la enfermedad en humanos en 1962.

México: seroprevalencia del 0.24% al 13.5% (Encuesta Nacional +/- 70.000 muestras)

EL CONTROL Y LA ERRADICACIÓN DE LA BRUCELOSIS ESTÁN EN LAS MANOS DE TODOS

GRACIAS

uriel.sierra@ica.gov.co
diana.walteros@ica.gov.co
zonia.sabogal@ica.gov.co