

INTRODUCCIÓN

Se conoce con el término brucelosis al conjunto de enfermedades ocasionadas, tanto en el hombre como en los animales (zoonosis) por microorganismos del género *Brucella*. Incluye, por consiguiente, tanto las diferentes formas clínicas de la infección humana como los diversos cuadros que se presentan en el ganado, sobre todo en forma de abortos epizooticos. La expresión "brucelosis humana", es más correcta que las denominaciones "fiebre ondulante" o "fiebre de Malta", que hacen referencia a una de sus características clínicas o a una localización geográfica, respectivamente. Desde el punto de vista médico, sanitario y económico, la brucelosis representa un problema de primer orden, fundamentalmente en España, donde es todavía endémica, suponiendo costes económicos muy elevados.

ETIOLOGÍA

El género *Brucella* está formado por bacilos gramnegativos pequeños, inmóviles y aerobios, de crecimiento lento. Genéticamente, el género *Brucella* parece monoespecífico. Sin embargo, se reconocen tres especies clásicas responsables de la brucelosis humana, con especificidad de especie animal, distribución geográfica y peculiaridades patógenas. *Brucella melitensis* afecta fundamentalmente a cabras y ovejas, pero puede afectar a bóvidos y cerdos. Es la responsable de la gran mayoría de los casos en España, ocasionando además los de mayor gravedad. *Brucella abortus* es el microorganismo implicado con mayor frecuencia en la brucelosis bovina. En España es poco frecuente. *Brucella suis* afecta primariamente al ganado porcino y no se ha descrito ningún caso en nuestro país. Las tres especies menores (*Brucella neotomae*, *Brucella ovis* y *Brucella canis*), no revisten importancia en patología humana.

EPIDEMIOLOGÍA

La brucelosis humana es, junto con la tuberculosis y la meningitis meningocócica, la enfermedad bacteriana específica más frecuente en España. Se calcula que el número de casos contabilizados es de tres a cinco veces inferior a la incidencia real, debido en parte a la falta de declaración y a la existencia de infecciones asintomáticas. La evolución de la brucelosis humana en España presenta ondas plurianuales, con 2.842 casos (7,26 por 100.000 habitantes) en 1994. La distribución geográfica ha sido muy cambiante, con un incremento de casos en este momento a expensas de Castilla y Extremadura.

La enfermedad se transmite por dos mecanismos claramente definidos: por contagio directo, mediante contacto, inoculación o inhalación, o por vía indirecta, a través de la ingestión de productos lácteos contaminados. El contacto con materiales infectados (abortos, placentas, estiércol, etc.) es probablemente el mecanismo principal. La ingestión de leche o productos lácteos no pasteurizados de procedencia casera supone todavía un mecanismo importante de contagio en algunas zonas de nuestro país.

CUADROS CLÍNICOS

La brucelosis humana presenta manifestaciones clínicas muy polimorfas, siendo muchas de ellas asintomáticas. La brucelosis aguda típica se manifiesta como una enfermedad febril de inicio agudo, con sudoración profusa, desproporcionada a la fiebre existente y de predominio nocturno, con algias de localización articular (sin artritis), musculares o neurológicas.

La fiebre, sudoración y las algias constituyen la tríada clásica de la brucelosis aguda. En el curso de la evolución pueden presentarse síntomas focales (orquiepididimitis, sacroileítis y espondilitis, e incluso bursitis y tenosinovitis). Otras focalizaciones pueden ser la aparición de granulomatosis hepática y la neumopatía brucelar. La afectación del sistema nervioso central y la endocarditis son las complicaciones más graves de la enfermedad.

La brucelosis tiene una marcada tendencia a producir recidivas, más frecuentes durante los tres primeros meses y en los casos sin tratamiento, pero que pueden ocurrir también tras terapia adecuada. En algunos pacientes, las consecuencias de la enfermedad se prolongan durante años, dando lugar a la "brucelosis crónica", de difícil delimitación, con artralgias, impotencia funcional musculoesquelética, parestesias y alteraciones neurovegetativas. Así pues, la brucelosis es una enfermedad con una extraordinaria variedad de formas de presentación, pudiendo manifestarse como bacteriana asintomática, síndrome infeccioso inespecífico o bien cuadros focales con o sin síntomas sistémicos.

La sospecha clínica y el diagnóstico de brucelosis, habituales y fáciles en zonas endémicas, son infrecuentes y, por tanto, raramente incluidos entre los diagnósticos diferenciales en aquellas zonas con tasas de morbilidad muy bajas, donde a veces se llega al diagnóstico cuando el proceso está muy evolucionado.

DIAGNÓSTICO

DIAGNÓSTICO DIRECTO

Cultivo

El aislamiento de *Brucella* spp. constituye el método diagnóstico definitivo. Suele obtenerse por hemocultivo o cultivo de médula ósea y, más raramente, por cultivo de líquido cefalorraquídeo, líquido articular, exudado purulento, etc. El medio clásico de Ruiz Castañeda, que utiliza una fase sólida y otra líquida, es el más apropiado para el diagnóstico. En la mayoría de los procesos agudos, tras incubación el medio 2-4 días, es posible observar en la fase sólida pequeñas colonias que se deslizan por el agar en forma que recuerdan las lágrimas de cera resbalando por la vela. Una pequeña proporción de casos presenta el crecimiento entre los 5-15 días, y sólo de forma excepcional, éste se retrasa hasta pasados 30-45 días.

En los procesos agudos, incluso cuando la extracción de los hemocultivos se practica en fase afebril, el porcentaje de aislamiento oscila entre el 90-95% de los casos. En casos de fracaso terapéutico o reinfección este porcentaje no suele superar el 60%.

En los últimos años, debido a la importante sobrecarga de trabajo, los sistemas manuales de hemocultivo han ido sustituyéndose por aparatos de lectura automática. El género *Brucella*, debido a su escasa producción de CO₂, lento crecimiento y baja actividad metabólica, se ha convertido en paradigma para la evaluación de la sensibilidad de estos nuevos sistemas. De ellos se han evaluado de forma conjunta tres: VITAL (bioMérieux), BACTEC (Becton-Dickinson) y BACT/ALERT (Organon Teknika), resultando ser el sistema BACTEC el más eficaz, capaz de detectar la presencia del microorganismo tras 3 a 5 días de incubación. Cabe destacar que todos los aparatos estudiados presentan falsos negativos, circunstancia que obliga, en aquellas áreas donde la enfermedad es endémica, a hacer subcultivos a todos los hemocultivos con sospecha de brucelosis. El aislamiento de *Brucella* spp. a partir de hemocultivo suele ser la primera fuente diagnóstica de la enfermedad en áreas geográficas con muy baja incidencia. En casos de muestras contaminadas (abscesos, restos placentarios, etc.) deben utilizarse medios selectivos de los que, si bien hay varios descritos, probablemente el más accesible y práctico para la mayoría de los laboratorios es el medio modificado de Thayer-Martin.

Examen microscópico.

Una vez observado el crecimiento en el medio difásico o cuando el aparato automático de hemocultivo detecta un posible crecimiento, la simple tinción de Gram permite hacer el diagnóstico presuntivo de la enfermedad. *Brucella* spp presenta unas características tintoriales especiales: aunque no es una bacteria ácido-alcohol resistente, no sufre decoloración con ácidos débiles. Así mismo, también la tinción de Gram es peculiar: si el tiempo de exposición al alcohol-acetona es muy breve (simple arrastre por el porta del decolorante, en vez de tiempos de decoloración más prolongados), presenta una decoloración irregular, pudiendo observarse en la misma muestra la coexistencia de pequeños cocobacilos gramnegativos y grampositivos. No es extraño, en contra de lo que se cree, tener un diagnóstico presuntivo de brucelosis por hemocultivo en dos o tres días.

Subcultivo y aspecto colonial

El subcultivo del medio difásico o del frasco procedente del aparato automático, en medio con agar-sangre o agar-chocolate, muestra el crecimiento, al cabo de 48 horas, de pequeñas colonias brillantes, de diferente tamaño y de color miel claro. Si no se observan cuidadosamente las placas, en casos con crecimiento de escaso número de colonias, se puede falsear erróneamente algún diagnóstico. Tras la tinción de Gram de estas colonias para observar su aspecto característico, se realizará la reacción de la oxidasa (positiva) y aglutinación con suero específico frente a *Brucella*, suficiente para identificar el aislamiento.

Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)

Dada la extrema sensibilidad que muestra la detección de DNA bacteriano mediante PCR en las distintas muestras estudiadas, es muy probable que en los próximos años se aplique la PCR a muestras de enfermos con sospecha de brucelosis, permitiendo el diagnóstico de la enfermedad con criterios de certeza en aquellos casos en los que hoy no podemos dar una respuesta precisa.

DIAGNOSTICO INDIRECTO

Las pruebas serológicas indican las titulaciones de anticuerpos específicos presentes en cada paciente. Las más utilizadas se comentan a continuación.

Aglutinación.

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

- **Rosa de Bengala:** utiliza como antígeno en una suspensión bacteriana a la que se ha añadido el colorante rosa de bengala, enfrentándola al suero sin diluir del enfermo. Proporciona una aproximación diagnóstica en pocos minutos con una sensibilidad y especificidad muy altas. Presenta elevado grado de correlación con la seroaglutinación y, por su simplicidad, es muy útil como prueba de despistaje inicial o screening. Sus falsos negativos se limitan a enfermos con procesos de pocos días de evolución y a algunos casos de enfermedad de curso muy prolongado.
- **Seroaglutinación en tubo o placa con pocillos:** enfrenta diluciones crecientes del suero problema a una cantidad constante de *B. abortus*. Este antígeno reacciona tanto con anticuerpos de esa especie como frente a los de *B. melitensis* y *B. suis*, que son las tres especies responsables en la práctica de la totalidad de enfermos con brucelosis. El título positivo de 1/160 se considera, en un país endémico como España, el punto de corte en el diagnóstico de la enfermedad, no siendo raros los títulos de 1/640 o superiores en las fases iniciales de la enfermedad. Su interpretación requiere conocer los antecedentes del enfermo y valorar las características clínicas presentes puesto que, al inicio de la enfermedad o en casos muy avanzados de la misma, la prueba puede ser, como el Rosa de Bengala, negativa. Debido a que los anticuerpos responsables de la seroaglutinación son fundamentalmente de la clase IgM, lo habitual es que vayan descendiendo en el transcurso de 3-6 meses, con o sin curación de la enfermedad.
- **Prueba de Coombs:** es de gran interés para el diagnóstico de la brucelosis crónica. Se utiliza para demostrar la presencia de anticuerpos aglutinantes y no aglutinantes, fundamentalmente IgG. El suero de Coombs (inmunoglobulina

humana) se encargaría de facilitar la aglutinación de los anticuerpos no aglutinantes del suero problema, fijados a la suspensión antigénica de *B. abortus*. El título obtenido es, por ello, como mínimo el de la aglutinación y generalmente es mucho más elevado, tanto más cuanto mayor es el tiempo de evolución de la enfermedad. Pueden persistir en ocasiones de forma prolongada y con titulación elevada, incluso en pacientes con tratamiento adecuado y buena evolución clínica. Hay que citar como posibles falsos positivos las reacciones cruzadas con *Vibrio cholerae*, *Francisella tularensis* y *Yersinia enterocolitica* 09, patógenos raros en nuestro país.

- **Seroaglutinación tras tratamiento del suero con 2-mercaptoetanol:** es una modificación de la seroaglutinación en la que se usa solución salina al 0,85% con 0,1M de 2-mercaptoetanol. Este compuesto es capaz de destruir las moléculas de IgM, perdiendo éstas su capacidad aglutinante, sin interferir con las de IgG que son las que se cuantifican. Aunque se consideraba la persistencia de anticuerpos resistentes al tratamiento con 2-mercaptoetanol como indicativa de actividad de la enfermedad, esta afirmación clásica es hoy muy cuestionable y en la actualidad prácticamente no se utiliza. En general, la práctica de la seroaglutinación y la prueba de Coombs conjuntamente, permiten el diagnóstico de la mayoría de los casos. La negatividad de ambas pruebas, salvo en los primeros días de la enfermedad excluye la brucelosis. La limitación más importante de las pruebas de aglutinación es que no permiten conocer el estado de actividad de la brucelosis.
- **Enzimoimmunoanálisis**
Con estas técnicas podemos detectar la presencia de los anticuerpos específicos que seleccionemos (IgG, IgM o IgA), con unos valores excelentes de sensibilidad y especificidad. El antígeno absorbido sobre placas de poliestireno es, fundamentalmente, el lipopolisacárido de brucelas en fase lisa. Los anticuerpos IgM, por su rápida desaparición son valorables, pero no puede olvidarse que los anticuerpos IgG pueden persistir en sujetos curados. Aunque permiten conocer con una mayor precisión el perfil de las inmunoglobulinas en el curso de la enfermedad, tampoco ofrecen la posibilidad de establecer un criterio para discernir entre curación y evolución a cronicidad.
- **Inmunofluorescencia indirecta y fijación de complemento**
Presentan una mayor complejidad técnica sin aportar nada a los métodos anteriormente descritos, por lo que no suelen utilizarse.

COMENTARIOS AL CASO CLÍNICO

Tras el diagnóstico y el cumplimiento del tratamiento antibiótico, los pacientes puede referir molestias inespecíficas durante varios meses (astenia, artralgias, mialgias, etc.), no existiendo criterios clínicos ni serológicos fiables de curación de enfermedad. Considerar la clínica propia de la convalecencia, el posible fracaso y la reinfección (no olvidemos que el paciente sigue viviendo en el mismo lugar y condiciones donde adquirió la enfermedad), obliga al médico a replantearse la posible actividad de la enfermedad y la prescripción de un nuevo tratamiento en no pocas ocasiones.

Por tanto, la falta de un criterio de curación en pacientes que refieren síntomas inespecíficos, requiere datos microbiológicos objetivos en los que basar un actitud terapéutica correcta. Para ello, el seguimiento del enfermo tratado y asintomático, así como el de aquéllos enfermos convalecientes con síntomas clínicos inespecíficos, los fracasos terapéuticos y las reinfecciones requieren la realización de hemocultivos seriados (el diagnóstico por seroconversión puede no ser viable en presencia de anticuerpos elevados, que, en ocasiones, pueden mantenerse hasta dos años sin variaciones significativas). El hemocultivo cuya sensibilidad es menor que en los procesos agudos (6-70%) pasa, en estos casos, a tener un mayor peso diagnóstico.

Estaría justificado repetir el tratamiento en los casos con crecimiento de *Brucella spp.* en los hemocultivos. También lo estaría cuando, aún siendo los hemocultivos negativos, se observase fiebre persistente o hubiese un foco inflamatorio activo (orquitis, artritis, vértebras con actividad osteolítica focal, etc).

El conocimiento por el enfermo de las posibles molestias de la convalecencia y su desaparición paulatina a lo largo de algunos meses, ayudan a sobrellevar dichos síntomas y a que, en la mayoría de las ocasiones, no sea necesario tratamiento analgésico.

BIBLIOGRAFÍA

ARIZA J, PELLICER T, PALLARÉS R, FOZ A, GUDIOL F. Specific antibody profile in human brucellosis. Clin Infect Dis 1992; 14: 131-140.

MARTÍN MORENO S, GUINEA ESQUERDO L, CARRERO GONZÁLEZ P, VISEDOR ORDEN R, GARCÍA CARBAJOSA S, CALVO DEL OLMO T, REVERTE TEJUDO D. La brucelosis después del tratamiento: diagnóstico de las recidivas. Med Clin 1992; 99: 13 - 16.

MONTES I, HERNÁNDEZ P. RODRÍGUEZ-MAYO M, MUÑOZ JR. AGULLA A. Evaluation of three commercially available blood culture systems for cultivation and detection of *Brucella melitensis*. 37th ICAAC. Toronto, Canada. September 28- October 1, 1997.

PEÑA GARCÍA P, GUTIÉRREZ ALTÉS A. Brucelosis. Enfer Infec Microbiol Clin 1993; 11:403-409. RODRIGUEZ-TORRES A, BRATOS MA, EIROS JM. Infecciones sistémicas: brucelosis y fiebre tifoidea. En: Microbiología médica. 2. Microbiología Clínica. Mosby, Barcelona 1996. pp 153-159.

ROMERO C, GAMAZO C, PARDO M, LÓPEZ-GOÑI I. Specific detection of *Brucella* DNA by PCR. J Clin Microbiol 1995; 33: 615-617.