



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA

FACULTAD DE MEDICINA

SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y ESTUDIOS DE POSGRADO

FACULTAD DE MEDICINA

**“CARACTERÍSTICAS EPIDEMIOLOGICAS Y
TRATAMIENTO DE LOS PACIENTES ATENDIDOS
EN EL HOSPITAL PARA EL NIÑO POBLANO, POR
DIAGNOSTICO DE BRUCELOSIS, DURANTE LOS
AÑOS 2000-2013”**

TESIS QUE PARA OBTENER EL
TITULO DE ESPECIALIDAD EN PEDIATRIA

PRESENTA:

Daena Judith Andrés Martínez

ASESORES EXPERTOS:

DRA. MA. LUCIA PEREZ RICARDEZ

ASESOR METODOLOGICO:

DR. FROYLAN EDUARDO HERNANDEZ-LARA GONZALEZ

Puebla, Pue, Febrero 2016

INDICE

	No. DE PAGINA
RESUMEN	2
INTRODUCCION	3
Antecedentes en México	4
Epidemiología	5
Etiología.	10
Definición y clasificación de Brucella	10
Estructura antigénica y factores de virulencia	11
Cuadro Clínico	13
Diagnóstico	15
Tratamiento	17
Evaluación del tratamiento	18
Factores de riesgo asociados a brucelosis	19
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	20
OBJETIVOS	21
Objetivo General	21
Objetivos específicos	21
HIPOTESIS	22
MATERIAL Y METODOS	22
Diseño del Estudio	22
CRITERIOS DE SELECCIÓN	22
Criterios de inclusión	22
Criterios de exclusión	22

Tamaño de la muestra	22
Variables e instrumentos de evaluación	23
PROCEDIMIENTO	24
ANALISIS ESTADISTICO	24
RESULTADOS	25
DISCUSION	29
CONCLUSIONES	32
REFERENCIAS	34
ANEXOS	
Anexo 1. Ficha de colección de datos	

AGRADECIMIENTOS

A mis padres:

Por el maravilloso hogar que me han dado, por la vida y la libertad para vivirla. Por enseñarme que el amor, el trabajo y el conocimiento deben ser parte de la existencia e importantes para la toma de decisiones. Gracias por ser un gran ejemplo; porque con hechos, con amor, comprensión y valores me han enseñado que a este mundo hemos venido a servir y dar lo mejor de nosotros. Gracias papá y mamá.

A mis abuelitas

Macedonia, Ernestina, Catarina y Oliva, por sus consejos, por sus cuidados, por el gran amor y la paciencia.

Yayo y Lisset:

Por demostrarme que no hay imposibles, por darme fuerzas y valor para vencer muchos obstáculos.



A todos los médicos

Quienes han estado presentes durante mi formación, quienes me han dejado algo de enseñanza y aprendizaje.

A mis compañeras y compañeros:

Por todos los momentos maravillosos y por las dificultades que vencimos juntos, gracias por ser una gran parte de mi vida. En especial a mi gran amigo Isaac Jimenez Cobarruvias y a mi gran amigo Lorenzo Pozos por sus consejos y por apoyarme.

RESUMEN

Introducción: La brucelosis es una patología infecciosa causada por bacterias del género *Brucella*; sujeta a vigilancia epidemiológica con manifestaciones clínicas inespecíficas: fiebre ondulante, linfadenopatía, hepatomegalia y enfermedad osteoarticular (artritis periférica y sacroilitis). El diagnóstico se basa en el aislamiento del microorganismo (hemocultivo y/o mielocultivo), por serología (prueba de Huddleson, Rosa de Bengala, aglutinación en tubo y 2-mercapto-etanol). El tratamiento recomendado en pediatría es Trimetoprim con sulfametoxazol y rifampicina.

Objetivo: Determinar el cuadro clínico, factores de riesgo, evolución y tratamiento de los pacientes pediátricos con diagnóstico de Brucelosis atendidos en el Hospital para el Niño Poblano (HNP) durante los años 2000 – 2013.

Métodos: Estudio observacional, correlacional, transversal, retrospectivo y descriptivo. Se revisaron los expedientes electrónicos de todos los pacientes con diagnóstico de Brucelosis del HNP durante los años 2000 – 2013. Incluyéndose a todos los pacientes con diagnóstico de Brucelosis.

Resultados: Se estudiaron 30 pacientes, 36.6% del sexo femenino y 63.3% del masculino con mayor prevalencia entre los 5 y 10 años de edad y edad media de presentación de 7.8 años. El síntoma más frecuente: dolor articular (36.6%) y el menos frecuente: adenomegalias (13.3%). El tratamiento administrado con mayor frecuencia fue trimetoprim-sulfametoxazol y rifampicina. Se dio de alta al 56.6% de los pacientes, 10% aún en vigilancia y 33.3% se desconoce su evolución.

Conclusiones: En el expediente clínico a pesar de ser una enfermedad endémica no se encontraron datos sobre los factores de riesgo (ingesta de lácteos y derivados). La prueba serológica confirmatoria se realizó en todos los casos pero el resultado del Laboratorio Estatal no figura en el expediente clínico ni en el de Epidemiología, se desconoce la causa. El tener presente este padecimiento nos permitirá realizar el diagnóstico oportuno y la aplicación adecuada de las medidas preventivas para este problema de salud pública.

Palabras clave: Brucelosis, pediatría, tratamiento, fiebre ondulante, enfermedad osteoarticular.

INTRODUCCIÓN

La brucelosis, también llamada Fiebre de Malta, Fiebre Mediterránea, Fiebre Ondulante o Enfermedad de Bang, es una enfermedad antroponóptica e infecciosa que fue descrita hace más de cien años.¹

De 1854 – 1856 fue llevada a cabo la llamada “Guerra de Crimea”, en la península de Ucrania, que hoy lleva su nombre, durante la cual se observaron numerosos casos de fiebre prolongada, que se extendió a los países del Mediterráneo, particularmente a la isla de Malta. Siendo en 1859, cuando Jeffery Allen Marston, médico cirujano del British Army Medical Department, al ser enviado a la Isla de Malta para realizar investigación clínica y autopsias, elabora la primera descripción clínica de la patología bajo la denominación de “Mediterranean gastric remittent fever”.¹

Años más tarde, el coronel David Bruce, médico de la Armada Británica, fue enviado a la Isla de Malta (en la llamada Mediterranean Fever Commission) para investigar la causa del padecimiento febril (que había producido la muerte de un número considerable de soldados); consiguiendo aislar la bacteria en el bazo de cuatro soldados fallecidos por la enfermedad y denominando al agente etiológico *Micrococcus melitensis*, posteriormente observó que las cabras eran el principal reservorio, así como la fuente de infección y aísla la bacteria de la sangre, orina y leche de los animales, ayudando este descubrimiento a explicar la epidemiología de la misma.

En 1896 Bang, veterinario danés, descubrió el agente causal del aborto bovino, al que posteriormente se denominó *B. abortus* y en 1905 Themistokles Zammit encontró reacciones positivas en casi la mitad de las cabras de Malta, descubriendo que un número importante de ellas secretaba los organismos infecciosos a través de la leche, documentando el papel de las cabras y el consumo de sus productos (leche cruda), como fuente de contagio para adquirir esta patología.¹

Traum, en 1914, aisló en los fetos abortados de cerdos al que denominó *B. suis*. Seis años más tarde, la bacterióloga norteamericana Alice Evans comprobó la semejanza de los microorganismos aislados por Bruce, Bang y Traum y sugirió designar el agente etiológico, *Brucella*, en honor a Sir David Bruce.

Posteriormente se siguieron descubriendo diferentes especies de *Brucella*; en 1956, Buddle y Boyce identifican *B. ovis* en carneros, en 1957 Stoenner y Lackman aíslan *B. neotomae* y en 1968 Carmicheal y Bruner descubren *B. canis* en perros. Recientemente se han descubierto dos nuevas especies de *Brucella* denominadas *B. pinnipediae* y *B. cetaceae* en ballenas.¹

- **ANTECEDENTES EN MÉXICO**

Muy probablemente la infección fue introducida a México con la conquista española; la primera descripción de la enfermedad fue realizada en 1905 y 1906 por los doctores Valenzuela y Carvajal.¹

Años más tarde, se describieron casos de brucelosis en la ciudad de Puebla, por el Dr. Manuel Vergara y en 1938 la infección alcanzó tal importancia que se organizó en el estado de Coahuila el Primer Congreso Nacional de la Brucelosis.

Dentro de las importantes aportaciones al diagnóstico se encuentra la del doctor Maximiliano Ruiz Castañeda quien generó uno de los medios de cultivo que por muchos años fue el mejor método para identificar a la bacteria.^{1,2}

En 1921, el doctor Manuel Vergara planteó la existencia de la patología en el estado de Puebla, sin embargo, fue Pláceres, quien aportó las pruebas serológicas y bacteriológicas necesarias para su confirmación.

El primer caso de brucelosis descrito en el Distrito Federal fue en 1924 y en 1935 en el estado de Jalisco.^{1,2}

El doctor López Portillo recopiló información de todos los estados de la República, siendo los más afectados: Coahuila, (diez muertes por cada 100 mil habitantes),

Durango, Chihuahua, Querétaro, Guanajuato, Tamaulipas, Nuevo León y el Distrito Federal; habiendo menos de tres muertes en el resto de las entidades.

Sin embargo, los casos se fueron incrementando, lo que motiva al Doctor Castañeda fundar en 1937, el primer laboratorio especializado en brucelosis.¹

En 1939, se realizó un estudio en el que a partir del suero sanguíneo de 68 empleados del rastro de la Ciudad de México, se obtuvieron 21 resultaron positivos. Borbolla Mora encontró una incidencia de 31% en las personas que manejaban el ganado vacuno.¹

En 1941, Torres estudió a 360 trabajadores del mismo rastro y a 3,100 personas con condiciones laborales y edades diferentes; 114 personas fueron consideradas como positivas: al presentar una reacción de intradermorreacción positiva, procedimiento mediante el cual se conoce la respuesta del sistema de defensa del organismo ante estructuras propias de la bacteria; esta prueba también fue utilizada en otras regiones (como en Morelia) detectándose que había más personas infectadas de lo que se tenía registrado.

- **EPIDEMIOLOGIA**

La brucelosis es una de las zoonosis de mayor frecuencia a nivel mundial, con más de medio millón de nuevos casos estimados cada año.

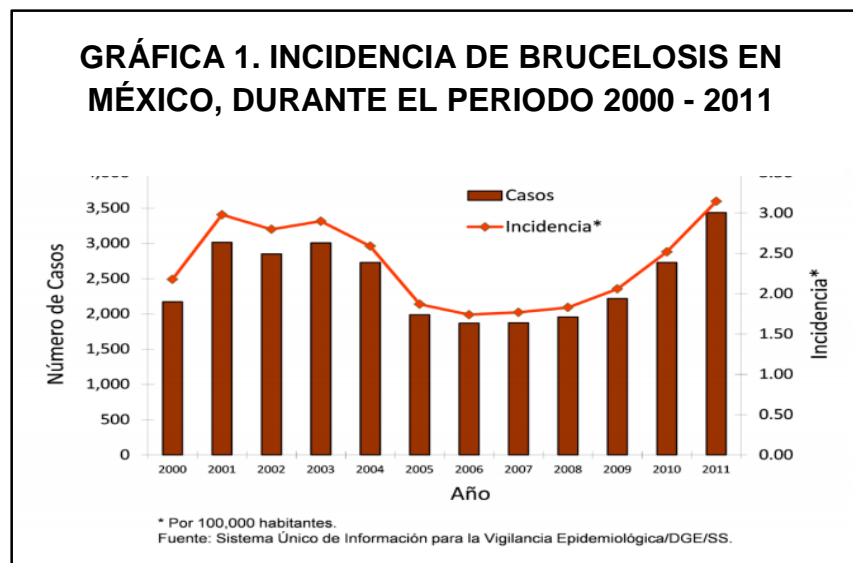
Afecta a personas de todas las edades y de ambos sexos; aún con el progreso en el control de la enfermedad en muchos países, hay regiones donde la infección persiste en los animales domésticos y consecuentemente es frecuente que la transmisión a la población humana ocurra.²

Es una enfermedad importante en muchas partes del mundo especialmente en países mediterráneos de Europa, en el norte y este de África, en Asia central, sur y medio este, así como en el centro y sur América, siendo a menudo no reconocida y frecuentemente sub-reportada. Hay pocos países del mundo que son libres de la

enfermedad aunque algunos casos ocurren en personas que regresan de países endémicos.³

La epidemiología tradicional de la enfermedad ha cambiado drásticamente en las últimas dos décadas, en relación con los principales acontecimientos políticos y socio-económicos; reduciéndose en gran medida en América Latina (excepto México y parte de Perú), continuando elevada en los países del norte de África, en el Cercano y Medio Oriente y surgiendo nuevos focos en las antiguas repúblicas soviéticas de Asia y los Balcanes (con la incidencia de la enfermedad aumentando dramáticamente en Bosnia-Herzegovina y siendo cada vez más reconocido en Albania). A nivel mundial se calcula una incidencia en zonas endémicas que llega hasta más de 200 casos por cada 100,000 habitantes ^{2,3}

En México, la Brucelosis, es un padecimiento sujeto a vigilancia epidemiológica y de periodicidad de notificación semanal. En el año 2007 se registraron 1,874 casos (el 90% de los casos fue producido por *B. melitensis*), con una incidencia anual de 1.7 por 100 000 habitantes y en el año 2011 se registraron casos, con una incidencia de 3.1, representando un incremento en la incidencia del 77% para el 2011 con respecto al 2007 (Gráfica 1).⁴



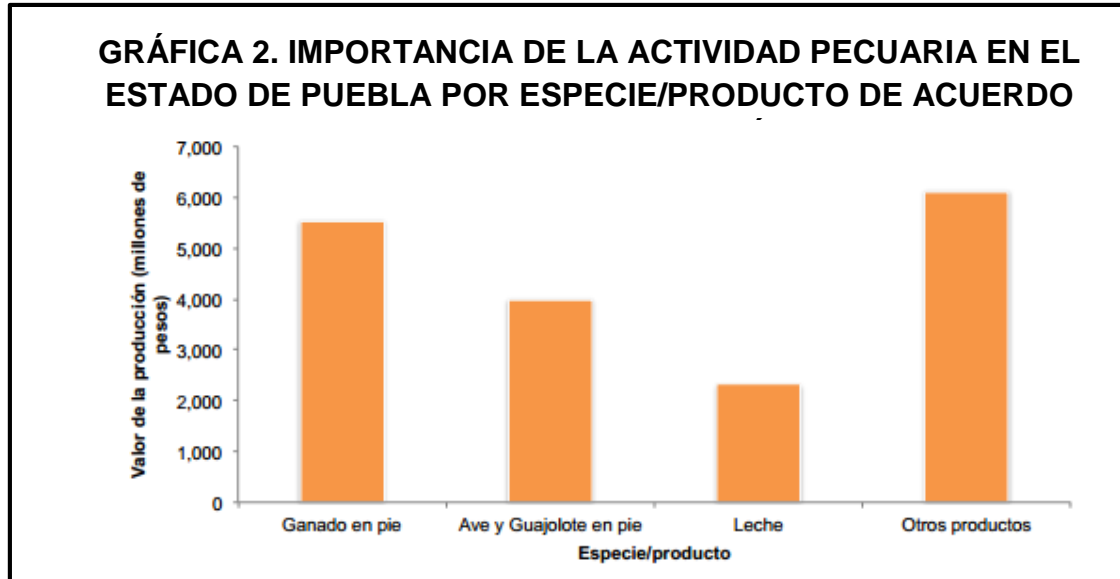
Fuente: Sistema Único de Información para la vigilancia

CUADRO 1. ESTADOS CON MAYOR INCIDENCIA DE CASOS EN EL 2011.	
Estado	Casos por 100 000 habitantes
Sinaloa	21
Tlaxcala	14.3
San Luis Potosí	12.6
Guanajuato	8.2
Zacatecas	7.0
Nuevo León	5.5
Michoacán	5.1
Puebla	4.6
Chihuahua	4.5
Coahuila	4.4
Fuente: Manual de Procedimientos Estandarizados para la Vigilancia Epidemiológica. ⁴	

De acuerdo al Sistema Único Automatizado de Vigilancia Epidemiológica (SUAVE) en el periodo 1990-2000 se registraron en México 37,807 casos de brucelosis humana con un promedio anual de 3,437 casos. Sin embargo, sólo se pudieron determinar en 5,468 casos el origen de la infección y que en el 80% fue el consumo de quesos y leche «bronca».⁴

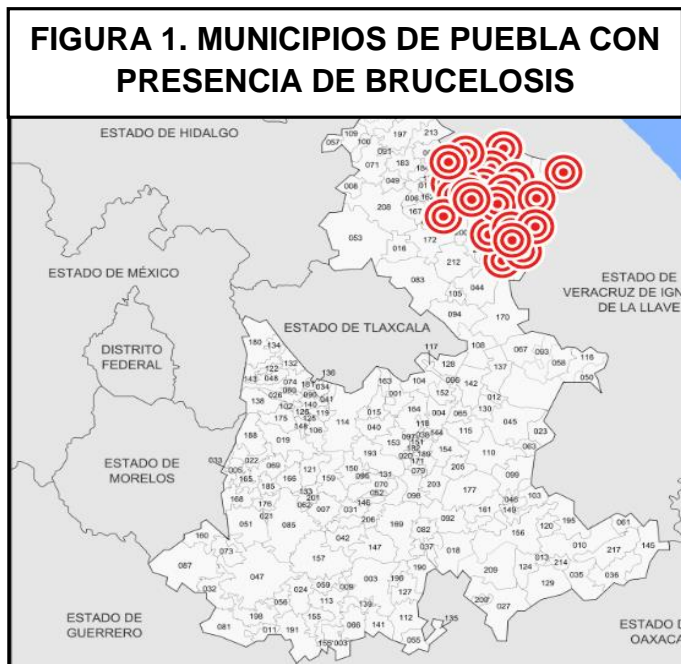
El estado de Puebla está conformado por siete regiones, tres de ellas predominantemente rurales (Sierra Norte, Sierra Nororiental y la Mixteca), mismas que conforman el 26% de la población del estado con 1.49 millones de habitantes en 108 municipios. Sin embargo, en todas las regiones la problemática común se relaciona con la falta de agua, la pulverización de la tierra, la baja productividad e ineficiencia de las actividades agrícolas, pecuarias y acuícolas.

Así, la actividad pecuaria como una de las actividades más importantes en el estado, por arriba de la agricultura distribuidos entre las especies producto ganado en pie, ave y guajolote en pie, leche y otros productos (Gráfica 2).



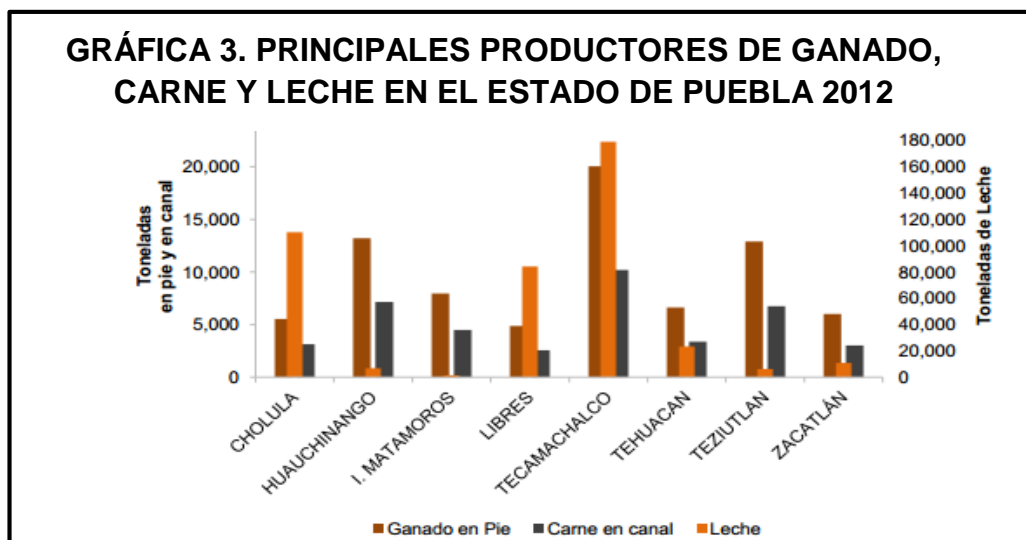
Los Distritos de Desarrollo Rural (DDR) que registran la mayor producción de ganado en pie y carne en canal se encuentran ubicados en los distritos de Caxhuacán, Tenampulco, Ixtepec, Chignautla, Tuzamapán de Galeana, Acateno, Hueyapan, Jonotla, Tlatlauquitepec, Ayotoxco, Xiutetelco, Zapotitlán de Méndez, Cuetzalan, Huehuetla, Yaonáhua, Teteles de Ávila Castillo, Hueytamalco, Teziutlán, Atempán,

Fuente: SIAP 2014



Fuente: www.unionpuebla.com.mx

Hueytlalpan, Huitzilan, Ignacio Allende Nauzontla, Olintla, Xochitlán, Zongozotla, Zoquiapan, Chinconcuautla, Francisco Z. Mena, Hermenegildo Galeana, Honey, Huauchinango, Jalpan, Jopala, Juan Galindo, Naupan, Pantepec, Pahuatlán, Tepatlán, Tlaola, Tlapacoya, Tlaxco, Tlacuilotepec, Venustiano Carranza, Xicotepec y Zihuateutla (Figura 1 y Gráfica 3).



Fuente: SIAP 2014

En el año 2011, con respecto al género, el 64.5% de los casos se registraron en mujeres y 35.5% en hombres. El grupo de edad más afectado fue de 45-49 años con una tasa de incidencia de 4.7 por 100 000 habitantes del grupo de edad, seguido por el de 50-59 años con una incidencia de 4.23 ⁴

La Norma Oficial Mexicana para la vigilancia Epidemiológica, establece que la notificación de los casos de Brucelosis, es obligatoria, con periodicidad semanal, la ocurrencia de brotes es de notificación inmediata.⁵

Caso sospechoso: A toda persona que presente fiebre y dos o más de los siguientes signos y síntomas: cefalea, diaforesis, dolor abdominal, anorexia, mialgias, astenia, artralgias, adinamia, hiporexia, náuseas, vómito o escalofríos y con factores de riesgo para padecer Brucelosis.

Caso probable de brucelosis: Todo caso que tenga resultado de laboratorio positivo a la aglutinación con antígeno Rosa de Bengala.⁵

Caso confirmado: Todo caso probable que tenga resultados positivos a pruebas confirmatorias de laboratorio: aglutinación estándar y aglutinación en presencia de 2-mercaptoetanol y que sean o no positivos a hemocultivo.

- **ETIOLOGIA**

DEFINICIÓN Y CLASIFICACIÓN DE BRUCELLA.

La Brucella taxonómicamente es situada en la subdivisión alfa-2 de la clase Proteobacteria. Existen 10 especies de Brucella cuya clasificación se basa en la preferencia específica por el hospedero: *B. melitensis* (cabras), *B. abortus* (vacas), *B. suis* (cerdos), *B. canis* (perros), *B. ovis* (ovejas), *B. neotomae* (ratones), *B. cetacea* (cetacean), *B. pinnipedia* (seal), *B. microti* (voles) y *B. inopinata* (desconocida).^{3,5,6}

De diez especies reconocidas de Brucella, las que afectan a los humanos son: *B. abortus*, *B. melitensis*, *B. suis* y *B. canis*; siendo raras las infecciones por *B. canis*.

Son cocobacilos gramnegativos, inmóviles, intracelulares, no esporulados, dispuestos en pares o cadenas cortas que crecen lentamente. La morfología difiere entre las especies donde *B. melitensis* se presenta mayormente en forma de coco, *B. abortus* y *B. suis* aparecen en forma de bacilos.⁶

Aunque son aerobios, algunas colonias requieren dióxido de carbono suplementario. Las colonias de Brucella sin catalasa y superóxido dismutasa positivo, la mayoría de ellas son oxidasa positiva.⁶

La mayoría de las colonias, incluyendo especialmente la *B. suis* la *B. ovis* pueden reducir nitrato a nitrito a través de la enzima nitrato reductasa. Aunque ellos tienen actividad de ureasa, esta difiere entre las especies y biovariedades. Donde *B. ovis*

es productor en una semana, *B. suis* y *B. canis* pueden dar una fuerte reacción en pocos minutos.⁶

La clasificación del género se basa en las diferentes actividades metabólicas de los biotipos, en la sensibilidad de colorantes, y la aglutinación en sueros mono-específicos.

La actividad oxidativa de las cepas de *Brucella* con los diferentes hidratos de carbono y aminoácidos son muy importantes para su identificación.

HABITAT

Se ha comentado previamente que cada especie de *Brucella* tiene diferente hospedero natural. Todos los miembros del género tienden a ubicarse en el sistema retículo-endotelial y tracto genital. Ellas pueden sobrevivir por 6 días en orina, 10 semanas en agua o en el suelo y 75 días en fetos abortados.

Falensky *et al.* han informado que en condiciones normales de almacenamiento la *Brucella* puede sobrevivir en la leche upeisada (U.H.T milk) por 87 días, durante 60 días en agua y menos de una semana en el yogurt.^{3,6}

- **ESTRUCTURA ANTIGENICA Y FACTORES DE VIRULENCIA**

Estructuralmente la *Brucella* se compone de la superficie, estructura intracelular y antígenos *in vivo*, variando la estructura con la fase de la colonia del organismo, carece de factores de virulencia bacterianos como: citolisinas, cápsulas, exotoxinas, proteasas secretadas, fimbrias o plásmidos de virulencia.

La virulencia de las cepas de *Brucella* no median directamente las manifestaciones clínicas de la brucelosis, pero son importantes para su capacidad de sobrevivir y replicación, presentando factores que actúan como reguladores metabólicos y que le permiten protegerse del sistema inmunológico del hospedero adaptándose fácilmente a las diferentes condiciones ambientales. Muchos factores, como el lipopolisacárido, el sistema de secreción tipo IV y los dos componentes del sistema

BvrR / BvrS han sido identificados en el proceso intracelular (dentro de los macrófagos) de la Brucella. ^{3,7}

Mientras que la persistencia prolongada de la Brucella en los macrófagos lleva a la infección crónica, la extensa replicación de las bacterias en el trofoblasto placentario resulta en una patología aguda del tracto reproductivo que conlleva al aborto en los hospederos.

El ciclo de vida de la Brucella contiene dos fases: (fase I) infección crónica de macrófagos que conduce a la supervivencia y replicación de la Brucella (fase II) la infección aguda de las células epiteliales no fagocíticas dando lugar a la patología del tracto reproductivo y llevando al aborto.

El bazo y el hígado son los órganos que posterior a la invasión celular contienen gran cantidad de células bacterianas, donde gran parte de ellas permanecerán vivas por un largo periodo de tiempo.

Aunque los anticuerpos específicos para el antígeno O- (polisacárido O, también llamado cadena lateral O) del lipopolisacárido pueden conferir protección parcial en algunas especies; la inmunidad mediada por las células juega un papel crítico en la protección contra la infección por Brucella.

La maduración y proinflamación por la producción de citocinas de las células dendríticas es crítico para controlar las infecciones por Brucella. Algunos ensayos con ratones sugieren que las células tanto CD4 + y T CD8 + son importantes en la inmunidad protectora contra la brucelosis para conferir protección contra *B. abortus*, ya que las células inmunes T CD4 + de la infección segregan muchas citocinas, incluyendo interferón gamma (IFN- γ) que estimula la actividad antimicrobiana de los macrófagos.⁷

Rajashekara *et al.* reportan que ciertas cepas atenuadas mutadas de Brucella, especialmente *B. mellitensis*, *B. abortus*, *B. suis* y *B. ovis*, cuando son administradas a los humanos o animales desencadenan una respuesta inmune

protectora, de tal manera que la estimulación subsecuente con la *Brucella* de la misma especie no resulta en enfermedad o los síntomas son menos severos.

La vacunación con células vivas de cepas mutantes atenuadas resulta en un respuesta T-célula con protección humana o animal en contra de la *B. melitensis*.

- **CUADRO CLINICO**

En la brucelosis humana, la fiebre es invariable generalmente es ondulante y se acompaña de calofríos, si la bacteriemia está presente, puede ser leve, prolongada y recurrente; es casi patognomónica la transpiración maloliente; los síntomas constitucionales generalmente están presentes (calofríos, sudoración, cefalea, astenia, adinamia, hiporexia, náusea, pérdida de peso). La exploración física es en general inespecífica, aunque la linfadenopatía, hepatomegalia, esplenomegalia están a menudo presentes, así como el dolor abdominal.

En ocasiones, pueden presentarse complicaciones como: artritis, meningitis, encefalitis, orquiepididimitis, uretritis, conjuntivitis, uveítis, hepatitis y esplenomegalia.^{3,7,8}

La enfermedad osteoarticular es la complicación más común y, existen tres formas distintas: la artritis periférica, sacroilitis y la espondilitis. La artritis periférica es la más común y es no erosiva, ya que por lo general en la infección aguda afecta las rodillas, las caderas, los tobillos y las muñecas; puede afectar las articulaciones protésicas. La segunda forma, caracterizada por sacroilitis, también puede ser fácilmente diagnosticada en la brucelosis aguda; mientras que la tercera forma, la espondilitis, sigue siendo difícil de tratar y a menudo da lugar a daño residual, afectando habitualmente a la columna lumbar.

La espondilitis puede observarse fácilmente en la radiografía simple, con la señal característica de Pons (erosión escalonada del margen anterosuperior vertebral); con gammagrafía o resonancia magnética.^{3,7,8}

El segundo sistema más afectado es el reproductivo, la brucelosis se puede presentar como epidídimo-orquitis en los hombres y es a menudo difícil de diferenciar de otras enfermedades locales, mientras que en las mujeres durante el embarazo produce un riesgo importante de aborto espontáneo.

La hepatitis es común y por lo general se manifiesta como transaminasemia leve, generalmente es causa de granulomas en la biopsia de hígado cuando están involucradas *B. melitensis* y *B. abortus*.

La ascitis se encuentra a menudo presente, ya sea como una exacerbación de la enfermedad hepática preexistente o como una franca peritonitis.^{3,7,8}

El sistema nervioso central (déficit motor, déficit en nervios craneales, ciática, confusión y/o disturbio psicológico y meningitis) está implicado en el 5 a 7 por ciento de los casos y este tipo de complicación a menudo tiene un pronóstico ominoso.

La endocarditis sigue siendo la principal causa de mortalidad en el curso de la brucelosis, por lo general la válvula aórtica es la más frecuentemente afectada y requiere de cirugía inmediata para reemplazo valvular.⁸

Las complicaciones respiratorias de la brucelosis son consideradas raras.

La brucelosis puede afectar prácticamente a todos los órganos, un hecho de gran relevancia para incluir a la brucelosis en el diagnóstico diferencial en las zonas endémicas de la enfermedad, aun cuando las características clínicas no sean completamente compatibles.^{3,8}

- **DIAGNOSTICO**

Con el diagnóstico temprano y el tratamiento oportuno se busca: a) Acortar el periodo sintomático, b) Reducir las complicaciones y c) Prevenir las recidivas. El diagnóstico de brucelosis se sospecha en pacientes con fiebre de origen desconocido y que cuenten con factores de riesgo para adquirir la infección.

La historia clínica es importante para orientar el diagnóstico, así como la exploración física.⁹

Con lo que respecta a los estudios laboratorio y gabinete no se observan datos específicos; habitualmente el conteo leucocitario es normal aunque puede estar disminuido y en ocasiones se encuentra ligera transaminasemia; mientras que los estudios de imagen demuestran anomalías sólo en las formas localizadas de brucelosis.

Desde el punto de vista serológico existen diversos métodos de detección, el más utilizado es la aglutinación en placa, la cual se realiza de manera conjunta con la prueba de Widal y con una reacción cruzada con proteos OX-19, estas pruebas se han conocido como «reacciones febriles» (prueba de Widal-Huddleson); sin embargo, actualmente no se recomienda su uso, por la baja especificidad de la prueba.⁹

Es importante mencionar que los métodos serológicos sólo aportan un diagnóstico presuntivo e incluyen: fijación del complemento, Coombs anti-brucella, ELISA, la aglutinación con Rosa de Bengala, aglutinación en tubo (SAT) y, son las dos últimas las más utilizadas.

La aglutinación con Rosa de Bengala demuestra anticuerpos específicos, debe realizarse del suero del paciente y nunca del plasma, como lo indica el Manual de Procedimientos de Laboratorio INDRE/SAGAR. Es una prueba con una sensibilidad muy alta del 99%, pero con el inconveniente de una especificidad del 40%; motivo por el cual es necesario realizar una prueba confirmatoria.⁹

La prueba de aglutinación en tubo (SAT) detecta anticuerpos contra la bacteria tanto de tipo IgM como de IgG. Un título $>1:160$ se considera positivo; sin embargo en áreas endémicas, se sugieren títulos $> 1:320$; es importante destacar que la prueba puede permanecer positiva por tiempo prolongado. En la infección aguda aparecen rápidamente anticuerpos IgM que son seguidos por anticuerpos IgG e IgA, que pueden ser detectados por aglutinación en tubo, en placa o por microaglutinación.

Los anticuerpos detectados por método de aglutinación son anticuerpos divalentes que en casos de infección crónica suelen ser muy bajos, en estos casos se recomienda realizar la prueba de Coombs, la cual detecta anticuerpos IgG incompletos o también llamados univalentes.⁹

La prueba de inmunoabsorción indirecta ligada a enzimas (ELISA) también permite detectar y cuantificar los anticuerpos IgG, IgM e IgA contra el lipopolisacárido de la bacteria, es relevante que es más sensible y específico que el SAT y es recomendado en áreas endémicas y en individuos con recidivas de la enfermedad.

Como se mencionó previamente, el diagnóstico definitivo se basa en el aislamiento de la Brucella en cultivos de sangre, médula ósea, hígado y otros tejidos. La sensibilidad de los hemocultivos para la brucelosis aguda es de 80% y de mielocultivo de 90%. Uno de los métodos más utilizados es el desarrollo del microorganismo en el medio doble de Ruiz Castañeda, siendo una desventaja que la bacteria crezca lentamente en este medio (habitualmente entre siete y veintiún días, pero puede requerir hasta treinta y cinco días).⁹

Un método de diagnóstico rápido para detectar a la Brucella en muestras de sangre es la prueba de reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Otra ventaja de la PCR es que permite diferenciar las diferentes especies de Brucella; (puede alcanzar hasta una sensibilidad del 94.9% y una especificidad del 96.5%) por lo que se ha recomendado como el método diagnóstico de elección.

Se ha demostrado que la utilidad del PCR no sólo se limita al diagnóstico, sino que también en el pronóstico, ya que puede ser utilizada como evaluación de la respuesta terapéutica.⁹

Recientemente Vrioni y colaboradores lograron demostrar por medio de PCR en tiempo real que el DNA de *B. melitensis* persiste a pesar de existir curación clínica, lo anterior, podría explicar la razón de las recidivas de la enfermedad y plantearía la posibilidad de que la brucelosis una vez adquirida, permanece como una infección latente.

TRATAMIENTO

Se inicia posterior a la toma de muestras para el diagnóstico confirmatorio y se basa en el uso de antimicrobianos con la administración simultánea de sintomáticos.

ESQUEMA A: De primera elección en adultos con función renal normal, Mujeres no embarazadas, ni en lactancia) Tetraciclina tabletas o comprimidos 500 mg cada 6 horas por 21 días + Estreptomina solución inyectable de 1 g cada 24 horas por 21 días.⁹

ESQUEMA B: Indicado en niños menores de 8 años, mujeres embarazadas (después del primer trimestre), y ancianos. Adultos: Rifampicina 300 mg cada 8 horas + Trimetoprim con Sulfametoxazol 160/800 mg cada 12 horas por 21 días. Niños: Rifampicina 20 mg/kg/día dividido en tres dosis + Trimetoprim con Sulfametoxazol 8/40 mg/kg/día dividido en dos dosis, por 21 días.⁹

ESQUEMA C: En los casos en los que exista fracaso con la ministración de los esquemas A y B, o en los que la enfermedad presenta curso prolongado. Adultos: Doxiciclina 200 mg, cada 24 horas por seis semanas + Rifampicina 600-900 mg, cada 24 horas por seis semanas. Niños: Doxiciclina 4-5 mg/kg/día, por seis

semanas dividido en tres dosis + Rifampicina 20 mg/kg/día, dividido en tres dosis por seis semanas.

EVALUACION DEL TRATAMIENTO

Tiene como objetivo valorar la efectividad de los medicamentos ministrados al paciente durante la enfermedad.

Los estudios serológicos para determinar si se han reducido las titulaciones de anticuerpos antibrucela; lo anterior se lleva a cabo en tres etapas como sigue:

Etapa 1: Se realiza 30 días después de que se ha terminado el esquema de tratamiento indicado (contar los días a partir de la última toma o aplicación del esquema).^{9,10,11}

Etapa 2: Se lleva a cabo a los 90 días después de que se ha terminado el esquema de tratamiento (60 días posteriores de la primera evaluación realizada).

Etapa 3: Se efectúa a los 180 días después de haber reportado el término del esquema de tratamiento (corresponde a 90 días posteriores a la segunda evaluación realizada).^{9,10,11}

La interpretación se hará con los resultados reportados en estas tres evaluaciones lo que permite establecer la conducta a seguir con el paciente que consideran las siguientes opciones:

a) No se ha curado, persisten los signos y síntomas o se reportan recaídas, además de que los títulos de las pruebas serológicas aumentan, por lo que el médico debe indicarse un nuevo esquema de tratamiento.

b) El paciente se encuentra asintomático pero los títulos de anticuerpos se mantienen igual o por arriba en la prueba SAT a 1:80 y la 2-ME a 1:20 por lo que debe indicarse un nuevo tratamiento. ^{9,10,11}

c) El paciente está curado, se encuentra asintomático y los anticuerpos en SAT y 2-ME son negativos ya que se observó una disminución paulatina de estos en las tres evaluaciones en especial en la tercera en la que la prueba de 2-ME fue negativa por lo que debe realizarse el alta sanitaria.

- ANTECEDENTES ESPECIFICOS

FACTORES DE RIESGO ASOCIADOS A BRUCELOSIS

Dentro de los factores que predisponen a adquirir la Brucelosis se encuentran:

- Consumo de leche no tratada o productos lácteos elaborados con leche no pasteurizada o no sometida a otro tratamiento. ^{3,13,14}
- Manipulación de carnes en canal o productos de animales potencialmente infectados por granjeros y trabajadores de mataderos, empacadoras y carnicerías.
- Tener contacto directo con animales infectados o sus desechos.
- Falta de inmunización de cabras y ovejas con B. melitensis.
- Antecedente de residencia en áreas endémicas de Brucelosis. ^{3,13,15}

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La Brucelosis es una patología frecuente que causa un gran impacto en la morbimortalidad de la población pediátrica. Existen factores de riesgo a los que el Pediatra en muchas ocasiones no les presta la suficiente atención para poder incidir y establecer medidas de prevención. El tratamiento médico no siempre es accesible para la población en general lo que puede influir en la evolución de los pacientes. Puebla es considerado zona endémica de Brucelosis, sin embargo, no hay estudios suficientes que nos sirvan para tomar decisiones diagnósticas oportunas, médicas curativas y/o preventivas, por lo que surge la siguiente:

PREGUNTA DE INVESTIGACION

¿Cuáles son el cuadro clínico, factores de riesgo, evolución y tratamiento de los pacientes pediátricos tratados médicamente en el Hospital para el niño Poblano durante los años 2000 - 2013?

OBJETIVO GENERAL

Determinar el cuadro clínico, factores de riesgo, evolución y tratamiento de los pacientes pediátricos con diagnóstico de Brucelosis atendidos en el Hospital para el niño Poblano durante los años 2000 – 2013.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar los signos y síntomas con mayor frecuencia.
- Determinar el género con mayor prevalencia de Brucelosis.
- Determinar el grupo etario con mayor prevalencia de Brucelosis.
- Determinar el tratamiento antibiótico administrado con mayor frecuencia.
- Describir la evolución de los pacientes diagnosticados con Brucelosis.
- Describir la mortalidad de los pacientes diagnosticados con Brucelosis y las causas de la misma.

HIPÓTESIS

Al ser un estudio exploratorio, descriptivo, no es necesario emitir una hipótesis.

MATERIAL Y METODOS

DISEÑO DEL ESTUDIO

TIPO: Estudio observacional, correlacional, transversal, retrospectivo, descriptivo.

GRUPO DE ESTUDIO:

Se revisarán los expedientes electrónicos de todos los pacientes con diagnóstico de Brucelosis tratados médicamente en el Hospital para el niño Poblano durante los años 2000 – 2013.

TAMAÑO DE LA MUESTRA:

Por el diseño del estudio, la muestra es conveniente, determinística.

CRITERIOS DE INCLUSION:

Expedientes electrónicos de pacientes con diagnóstico de Brucelosis tratados médicamente en el Hospital para el niño Poblano durante los años 2000 – 2013.

CRITERIOS DE EXCLUSION:

No hay criterios de exclusión.

CRITERIOS DE ELIMINACION:

Expedientes de pacientes con diagnóstico de Brucelosis que no se encuentren en el sistema electrónico.

VARIABLES E INSTRUMENTOS DE EVALUACIÓN

CUADRO 2. VARIABLES E INSTRUMENTOS DE EVALUACIÓN			
<u>VARIABLE</u>	<u>TIPO</u>	<u>INSTRUMENTO</u>	<u>VALOR</u>
Edad	Cualitativa nominal	Expediente clínico	Numérico
Género	Cualitativa nominal	Expediente clínico	Femenino/ Masculino
Fiebre	Cualitativa Nominal	Expediente Clínico	Si/No
Hepatomegalia	Cualitativa nominal	Expediente clínico	Si/No
Esplenomegalia	Cualitativa nominal	Expediente clínico	Si/No
Adenomegalia	Cualitativa nominal	Expediente clínico	Si/No
Diarrea	Cualitativa nominal	Expediente clínico	Si/No
Dolor articular	Cualitativa nominal	Expediente clínico	Si/No
Tratamiento	Cualitativa nominal	Expediente clínico	Trimetoprim- Sulfametoxazol/ Rifampicina/Gentamicina/ Doxicilina/ Aminoglucosido/ Estreptomina/ Cefalosporinas
Evolución	Cualitativa nominal	Expediente clínico	Alta/Vigilancia/ Se desconoce/ Muerte

PROCEDIMIENTO

Se someterá el protocolo al Comité de Investigación y al Comité de Ética de Investigación del Hospital para el Niño Poblano. Una vez aprobado, se iniciará el proceso de colección de datos para su posterior análisis e interpretación.

Se obtendrá del sistema electrónico del hospital la relación de los expedientes de pacientes con diagnóstico de Brucelosis tratados médicamente en el Hospital para el niño Poblano durante los años 2000 – 2013.

Posteriormente serán consultados cada expediente, se identificarán y se obtendrán los datos de interés para nuestra investigación.

Los datos obtenidos se irán registrando en un formato que permitirá crear posteriormente una base datos donde serán ordenados y clasificados y se registrará la información en el programa Microsoft Office Excel, una base de datos y se realizarán gráficas con los datos obtenidos.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

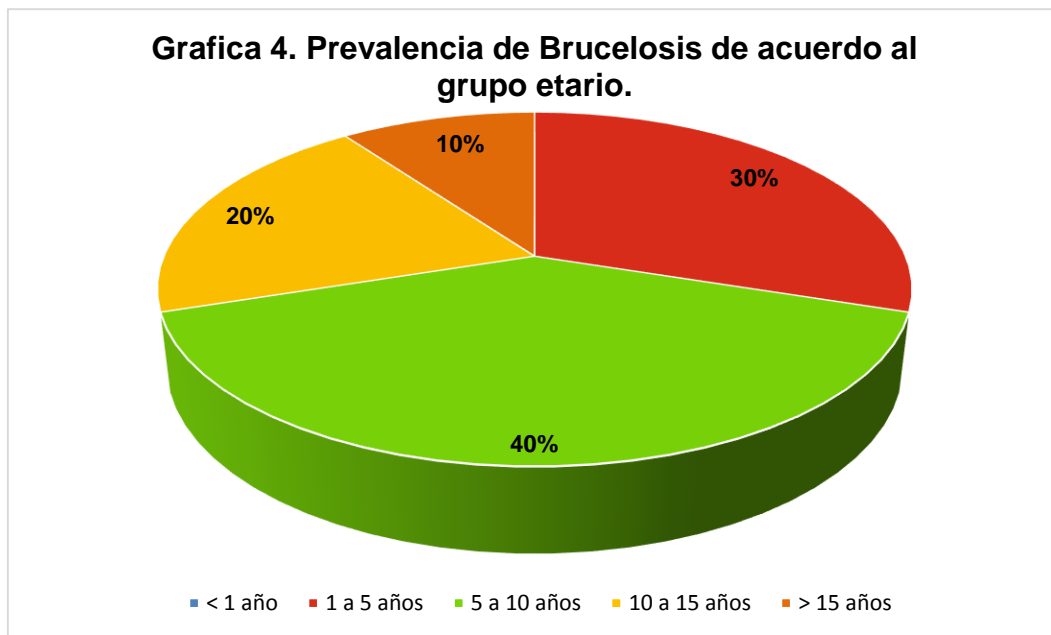
Se utilizaron elementos de estadística descriptiva, como promedios, proporciones y/o porcentajes.

RESULTADOS

Se incluyeron a 30 pacientes (Cuadro 3):

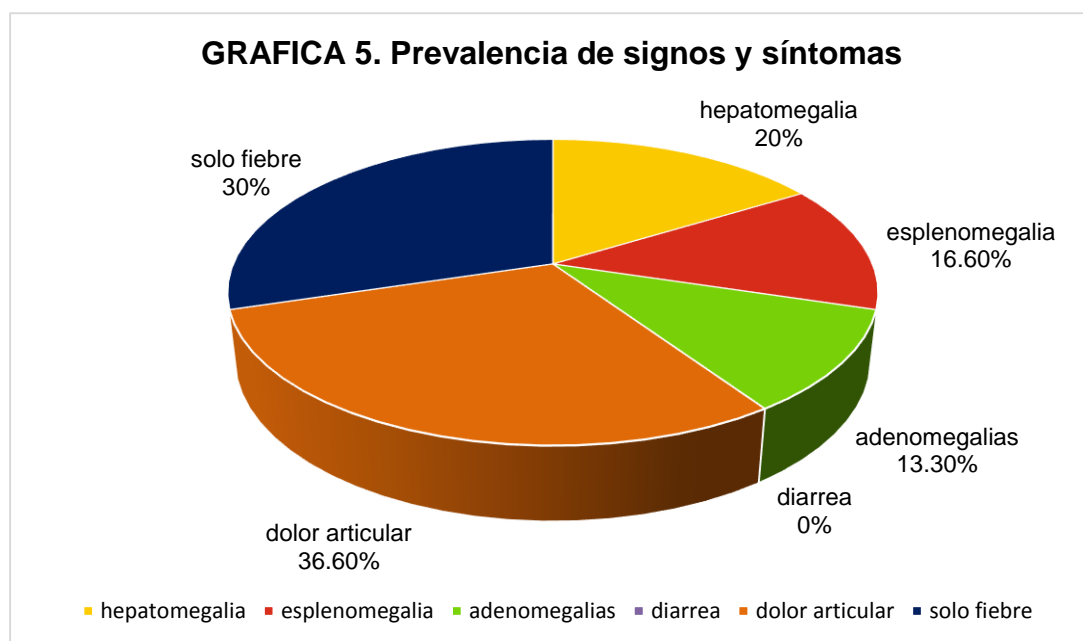
CUADRO 3. PACIENTES INCLUIDOS EN EL ESTUDIO	
	(n=30)
	N (%)
SEXO	
Femenino	11 (36.6 %)
Masculino	19 (63.3 %)
EDAD	
< 1 AÑO	0 (0)
1-5 ANOS	9 (30 %)
5-10 AÑOS	12 (40 %)
10-15 AÑOS	6 (20 %)
> 15 AÑOS	3 (10 %)
EDAD	
Media	7.8
Desviación Estándar	4.38
Mediana	7
Moda	7

Se observó un predominio de sexo masculino y el grupo etario con mayor prevalencia de Brucelosis se presentó entre 5 y 10 años de edad (Grafica 4).



Fuente: Base de datos

Todos los pacientes presentaron fiebre y el síntoma acompañante con mayor frecuencia fue el dolor articular en el 36.6% de los pacientes y el de menor frecuencia la presencia de adenomegalias en el 13.3% (Gráfica 5).



Fuente: Base de datos

El tratamiento administrado con mayor frecuencia fue el trimetoprim con sulfametoxazol y la rifampicina (Cuadro 4).

CUADRO 4. TRATAMIENTOS UTILIZADOS EN EL HOSPITAL PARA EL NIÑO POBLANO	
Trimetoprim con sulfametoxazol (TMP/SMX)	26 (86.6%)
Rifampicina	23 (76.6 %)
Gentamicina	2 (6.6 %)
Doxiciclina	2 (6.6%)
Aminoglucósidos	1 (3.3%)
Estreptomina	1 (3.3%)
Cefalosporinas	1 (3.3%)

Fuente: Base de datos

La evolución de los pacientes diagnosticados con Brucelosis se encuentra de la siguiente manera (Cuadro 5):

CUADRO 5. EVOLUCIÓN DE LOS PACIENTES DIAGNOSTICADOS CON BRUCELOSIS	
Alta	17 (56.6%)
Vigilancia	3 (10%)
Se desconoce	10 (33.3%)
Muerte	0

Fuente: Base de datos

Observamos que el 20% de los pacientes fue referido a la consulta externa de primera vez del servicio de reumatología y el 3.3% al servicio de infectología, mientras que el resto de los pacientes (76.6%) fue ingresado al servicio de urgencias donde fueron valorados por el servicio de infectología.

La incidencia de Brucelosis durante el periodo 2000 al 2013 fue de 29.6 por cada 10 000 consultas, siendo el año 2012 el de mayor incidencia de esta patología con un total de 106 por cada 10 000 consultas (Cuadro 6).

CUADRO 6. INCIDENCIA DE BRUCELOSIS EN LA CONSULTA EXTERNA DE INFECTOLOGIA Y REUMATOLOGIA							
AÑO	CONSULTAS DE 1ERA VEZ DE INFECTOLOGIA	CONSULTAS DE 1ERA VEZ DE REUMATOLOGIA	TOTAL DE CONSULTAS 1ERA VEZ	CASOS DE INFECTOLOGIA	CASOS DE REUMATOLOGIA	TOTAL DE CASOS	INCIDENCIA POR CADA 10,000 CONSULTAS
2000	103	52	155	0	0	0	0
2001	100	67	167	0	0	0	0
2002	111	90	201	0	1	1	49.7
2003	85	61	146	0	1	1	68.4
2004	42	67	109	0	0	0	0
2005	69	82	151	0	0	0	0
2006	70	87	157	0	1	1	63.6
2007	55	72	127	0	0	0	0
2008	56	69	125	0	0	0	0
2009	44	81	125	0	0	0	0
2010	87	57	144	0	0	0	0
2011	121	126	247	1	0	1	40.4
2012	167	116	283	1	2	3	106
2013	116	111	227	0	1	1	44
TOTAL	1226	1138	2364	1	6	7	29.6

DISCUSION

La brucelosis es una enfermedad sistémica que suele aparentar muchas enfermedades, llevando a diagnósticos erróneos y a un incremento en la morbilidad.

En países desarrollados donde la brucelosis es una enfermedad ocupacional, es inusual encontrar brucelosis en niños. No existen estudios recientes en población pediátrica que nos permitan observar el comportamiento actual de esta patología de importancia epidemiológica.

Como en toda enfermedad sistémica, los pacientes de nuestro estudio mostraron diversos cuadros clínicos con diagnósticos previos que variaron desde fiebre de origen desconocido hasta anemia aplásica y artritis reumatoide juvenil; nuestros resultados coincidieron con la clínica reportada en el estudio de Ayala-Gaytán y colaboradores, en donde mostraron una gran gama de manifestaciones clínicas.

Desde el punto de vista serológico, en el 83.3% se realizaron «reacciones febriles» (prueba de Widal-Huddleson), siendo positiva en el 100% de ellas, sin embargo, actualmente de acuerdo a la literatura no se recomienda su uso, debido a su baja especificidad. Llama la atención que siendo una zona endémica, así como una patología de importancia epidemiológica se continúe realizando esta prueba sin realizar estudios complementarios de mayor sensibilidad como el hemocultivo, ya que la prueba de Huddleson es una prueba de diagnóstico presuntivo.

La aglutinación con Rosa de Bengala se reportó sólo en el 23.3% de los expedientes electrónicos, se desconoce si fue realizada en todos los casos situación lamentable ya que es de mayor utilidad con respecto a la prueba de Huddleson, por tener una sensibilidad del 99%, sin olvidar que tiene el inconveniente de tener una especificidad del 40%; motivo por el cual la literatura indica que es necesario realizar una prueba confirmatoria.

En el 50% de los pacientes estudiados se recuperó *Brucella* spp. en hemocultivo y en el 3.3% en mielocultivo, y concordo con la literatura en que el aislamiento de la *Brucella* spp. en cultivos de sangre (hemocultivos) y de médula ósea (mielocultivos)

es la prueba de infección activa, con una sensibilidad del 80% y 90% respectivamente. Sin embargo, es importante no olvidar que a medida que avanza la enfermedad pierde sensibilidad, ya sea por interferencia de los mecanismos naturales de defensa o por factores terapéuticos que reducen el contenido de bacterias en la sangre.

En nuestra revisión encontramos que se realizó la prueba de Huddleson al 83.3% de los pacientes, de los cuales se reportó positiva en el 92% de los casos y negativa en el 0.5%; la positividad de esta prueba concordó con cultivo positivo en el 42% de los casos. En el 8% de los pacientes que se reportó negativa la prueba se aisló *Brucella* spp. en hemocultivo. Es importante mencionar que en el 48% de las pruebas de Huddleson positivas a esos pacientes no se realizaron hemocultivos.

La prueba de Rosa de Bengala se realizó en el 30% del total de los pacientes estudiados reportándose como positiva. En este caso la prueba concordó en el 55% de los pacientes con aislamiento de la bacteria en el hemocultivo, no se realizó hemocultivo al resto de los pacientes con la prueba de rosa de bengala positiva. El expediente no menciona la causa de omitir la toma de hemocultivo y consideramos que no se sospechó brucelosis como causa de los síntomas.

Es importante mencionar que para el diagnóstico de brucelosis en los pacientes se realizaron pruebas de detección de anticuerpos por 2 mercapto-etanol, considerada como la prueba confirmatoria en la Secretaría de Salud Federal, sin embargo los reportes no se encontraron incluidos en los expedientes médicos del HNP, e igualmente, se ignora si se llevó a cabo alguna acción de vigilancia o control por ser una enfermedad de importancia epidemiológica.

Por ser una población pediátrica, en nuestro estudio se utilizó de primera instancia el esquema B de la Norma Oficial Mexicana, situación que coincide con el estudio realizado por Evangelina Briones-Lara y cols. obteniendo, en ambas revisiones, adecuada respuesta al tratamiento durante los seis meses de seguimiento,

Respecto a la evolución de los pacientes en nuestro estudio, el 73.3 % tuvo tratamiento antimicrobiano definido en la NOM por 6 semanas.

Del total de los pacientes, el 56.6% de los que acudieron a las citas de seguimiento, durante un periodo aproximado de seis meses de vigilancia, fueron dados de alta del servicio de infectología por lo que nuestros resultados sugieren que el tratamiento de seis semanas puede ser suficiente para la eliminación de Brucella en niños. Sin embargo, se requiere estudios prospectivos, sobre todo ensayos clínicos controlados, que permitan evaluar el tiempo necesario de tratamiento para evitar recaídas.

CONCLUSIONES

1. Determinamos en nuestro estudio que el género con mayor prevalencia de brucelosis fue el masculino con 63.3%.
2. El grupo etario más afectado fue el de 5 a 10 años (40%), seguido del grupo de edad de 1 a 5 años (30 %) el menos afectado fueron los mayores de 15 años y no se registró ningún paciente menor de 1 año.
3. Respecto al tratamiento antibiótico administrado, por ser una población pediátrica de primera instancia se utilizó el esquema B (trimetoprim con sulfametoxazol y rifampicina) de acuerdo a la Norma Oficial Mexicana, obteniéndose adecuada respuesta al tratamiento en seis meses (periodo de seguimiento).
4. Durante los 6 meses de seguimiento los pacientes el 17% se dieron de alta del servicio de infectología, por lo que concluimos que 6 semanas de tratamiento fueron suficientes para la eliminación de la bacteria, sin embargo, se requieren estudios prospectivos para sustentar nuestros resultados.
5. Durante el periodo de tiempo estudiado, no se reportó ningún caso de mortalidad secundario a la infección causada por *Brucella* sp.
6. Es importante mencionar que el 76.6% de los pacientes acudió al servicio de urgencias del HNP para su valoración, el servicio de Infectología valoró por primera vez al paciente en este Servicio, mientras que sólo el 23.3% fueron valorados por primera vez en la consulta externa Infectología (3.3%) y Reumatología (20%).
7. A pesar de ser una enfermedad endémica en la región el médico de primer contacto de la comunidad y del HNP no sospecha de esta enfermedad cuando hay dolor articular, esplenomegalia o hepatomegalia o, en su defecto, no lo asienta en el expediente clínico.

8. Aun cuando se trata de una patología de importancia epidemiológica no se realiza el reporte completo de las pruebas de laboratorio. Es importante mencionar que la prueba serológica confirmatoria se realizó en todos los casos pero el resultado del Laboratorio Estatal no figura en el expediente clínico ni en el de Epidemiología, se desconoce la causa, aunque se mencionó que dicho autoridad no hace entrega regular de los resultados de los estudios realizados.

REFERENCIAS

1. Vega López César Augusto, Ariza Andraca Raúl, Rodríguez Weber Federico Leopoldo. Brucelosis. Una infección vigente. Acta médica grupo Angeles. 2008; Vol 6, No.
2. Georgios Pappas, Institute of Continuing Medical Education of Ioannina, Head, Zoonoses Working Group, International Society of Chemotherapy, Editor, Clinical Microbiology and Infection. 2012. Vol 14.
3. MJ Corbel, Division of Bacteriology, National Institute for Biological Standards and Control, Potters Bar, Hertfordshire, EN6 3QG, England. Brucellosis in humans and animals. World Health Organization 2006
4. Secretaria de Salud. Manual de procedimientos estandarizados para la vigilancia epidemiológica de la Brucelosis. 2012
5. Secretaría de Salud. Norma Oficial Mexicana NOM-022-SSA2-1994, para la Prevención y Control de la Brucelosis en el Hombre.
6. The New England Journal of Medicin. September 8, 2005. 353;10
7. Castro Hugo Abel, González Sofía Raquel, Prat María Inés. Brucelosis una revisión práctica. Acta Bioquím Clín Latinoam 2005; 39, 2: 203-16
8. Dean Anna S., Crump Lisa, Greter Helena, Hattendorf Jan, Schelling Esther, Zinsstag Jakob. Clinical manifestations of human brucellosis: a systematic review and meta-analysis.
9. Briones-Lara, Gerardo Evangelina, Palacios-Saucedo Gerardo, Martínez-Vázquez Irma Olivia, Morales-Loredo Alberto, Bilbao-Chávez Leticia del Pilar.

Respuesta al tratamiento de brucelosis en niños. Evaluación con reacción de Huddleson y PCR. Rev Med Inst Mex Seguro Soc 2007; 45 (6): 615-622

10. Ficht Thomas A. Analysis of Brucella pathogenesis, host immunity and vaccine targets using systems biology and bioinformatics. *Frontiers in cellular and infection microbiology*. February 2012, 2:2
11. Department of Microbiology Turke. Microbiology of Brucella. *Recent Patents on Anti-Infective Drug Discovery*, 2013, 8, 13-17
12. Enrique Laval R. Contribución al estudio histórico de la brucelosis en Chile. *Rev Chil Infect* 2006; 23 (4): 362-366
13. Garner G, Saville P, Fediaevsky A. Manual for the recognition of exotic diseases of livestock: A reference guide for animal health staff [online]. Food and Agriculture Organization of the United Nations; 2003.
14. Pappas Georgios, Akritidis Nikolaos, Bosilkovski Mile, Tsianos Epameinondas. Brucellosis. *N Engl J Med* 2005;352:2325-36
15. D. Barroso Espadero, I. Arroyo Carrera, M^aJ. López Rodríguez, J.A. Lozano Rodríguez, A. López Lafuente. Transmisión de brucelosis por lactancia materna. Presentación de dos casos. *An Esp Pediatr* 1998;48:60-62
16. Ayala-Gaytán JJ, Molina-Gamboa JD. Características clínicas de la brucelosis en un hospital de tercer nivel. *Rev Med IMSS* 1992;30(5/6): 355-357
17. Evangelina Briones-Lara, Gerardo del C. Palacios-Saucedo, Irma Olivia Martínez-Vázquez, Alberto Morales-Loredo, Leticia del Pilar Bilbao-Chávez Respuesta al tratamiento de brucelosis en niños. Evaluación con reacción de Huddleson y PCR. *Rev Med Inst Mex Seguro Soc* 2007; 45 (6): 615-622

ANEXOS

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75	76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90	91	92	93	94	95	96	97	98	99	100	101	102	103	104	105	106	107	108	109	110	111	112	113	114	115	116	117	118	119	120	121	122	123	124	125	126	127	128	129	130	131	132	133	134	135	136	137	138	139	140	141	142	143	144	145	146	147	148	149	150	151	152	153	154	155	156	157	158	159	160	161	162	163	164	165	166	167	168	169	170	171	172	173	174	175	176	177	178	179	180	181	182	183	184	185	186	187	188	189	190	191	192	193	194	195	196	197	198	199	200	201	202	203	204	205	206	207	208	209	210	211	212	213	214	215	216	217	218	219	220	221	222	223	224	225	226	227	228	229	230	231	232	233	234	235	236	237	238	239	240	241	242	243	244	245	246	247	248	249	250	251	252	253	254	255	256	257	258	259	260	261	262	263	264	265	266	267	268	269	270	271	272	273	274	275	276	277	278	279	280	281	282	283	284	285	286	287	288	289	290	291	292	293	294	295	296	297	298	299	300	301	302	303	304	305	306	307	308	309	310	311	312	313	314	315	316	317	318	319	320	321	322	323	324	325	326	327	328	329	330	331	332	333	334	335	336	337	338	339	340	341	342	343	344	345	346	347	348	349	350	351	352	353	354	355	356	357	358	359	360	361	362	363	364	365	366	367	368	369	370	371	372	373	374	375	376	377	378	379	380	381	382	383	384	385	386	387	388	389	390	391	392	393	394	395	396	397	398	399	400	401	402	403	404	405	406	407	408	409	410	411	412	413	414	415	416	417	418	419	420	421	422	423	424	425	426	427	428	429	430	431	432	433	434	435	436	437	438	439	440	441	442	443	444	445	446	447	448	449	450	451	452	453	454	455	456	457	458	459	460	461	462	463	464	465	466	467	468	469	470	471	472	473	474	475	476	477	478	479	480	481	482	483	484	485	486	487	488	489	490	491	492	493	494	495	496	497	498	499	500	501	502	503	504	505	506	507	508	509	510	511	512	513	514	515	516	517	518	519	520	521	522	523	524	525	526	527	528	529	530	531	532	533	534	535	536	537	538	539	540	541	542	543	544	545	546	547	548	549	550	551	552	553	554	555	556	557	558	559	560	561	562	563	564	565	566	567	568	569	570	571	572	573	574	575	576	577	578	579	580	581	582	583	584	585	586	587	588	589	590	591	592	593	594	595	596	597	598	599	600	601	602	603	604	605	606	607	608	609	610	611	612	613	614	615	616	617	618	619	620	621	622	623	624	625	626	627	628	629	630	631	632	633	634	635	636	637	638	639	640	641	642	643	644	645	646	647	648	649	650	651	652	653	654	655	656	657	658	659	660	661	662	663	664	665	666	667	668	669	670	671	672	673	674	675	676	677	678	679	680	681	682	683	684	685	686	687	688	689	690	691	692	693	694	695	696	697	698	699	700	701	702	703	704	705	706	707	708	709	710	711	712	713	714	715	716	717	718	719	720	721	722	723	724	725	726	727	728	729	730	731	732	733	734	735	736	737	738	739	740	741	742	743	744	745	746	747	748	749	750	751	752	753	754	755	756	757	758	759	760	761	762	763	764	765	766	767	768	769	770	771	772	773	774	775	776	777	778	779	780	781	782	783	784	785	786	787	788	789	790	791	792	793	794	795	796	797	798	799	800	801	802	803	804	805	806	807	808	809	810	811	812	813	814	815	816	817	818	819	820	821	822	823	824	825	826	827	828	829	830	831	832	833	834	835	836	837	838	839	840	841	842	843	844	845	846	847	848	849	850	851	852	853	854	855	856	857	858	859	860	861	862	863	864	865	866	867	868	869	870	871	872	873	874	875	876	877	878	879	880	881	882	883	884	885	886	887	888	889	890	891	892	893	894	895	896	897	898	899	900	901	902	903	904	905	906	907	908	909	910	911	912	913	914	915	916	917	918	919	920	921	922	923	924	925	926	927	928	929	930	931	932	933	934	935	936	937	938	939	940	941	942	943	944	945	946	947	948	949	950	951	952	953	954	955	956	957	958	959	960	961	962	963	964	965	966	967	968	969	970	971	972	973	974	975	976	977	978	979	980	981	982	983	984	985	986	987	988	989	990	991	992	993	994	995	996	997	998	999	1000
REPEDIENT	ZEBO	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	Q	R	S	T	U	V	W	X	Y	Z	AA	AB	AC	AD	AE	AF	AG	AH	AI	AJ	AK	AL	AM	AN	AO	AP	AQ	AR	AS	AT	AU	AV	AW	AX	AY	AZ	BA	BB	BC	BD	BE	BF	BG																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																													
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75	76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90	91	92	93	94	95	96	97	98	99	100	101	102	103	104	105	106	107	108	109	110	111	112	113	114	115	116	117	118	119	120	121	122	123	124	125	126	127	128	129	130	131	132	133	134	135	136	137	138	139	140	141	142	143	144	145	146	147	148	149	150	151	152	153	154	155	156	157	158	159	160	161	162	163	164	165	166	167	168	169	170	171	172	173	174	175	176	177	178	179	180	181	182	183	184	185	186	187	188	189	190	191	192	193	194	195	196	197	198	199	200	201	202	203	204	205	206	207	208	209	210	211	212	213	214	215	216	217	218	219	220	221	222	223	224	225	226	227	228	229	230	231	232	233	234	235	236	237	238	239	240	241	242	243	244	245	246	247	248	249	250	251	252	253	254	255	256	257	258	259	260	261	262	263	264	265	266	267	268	269	270	271	272	273	274	275	276	277	278	279	280	281	282	283	284	285	286	287	288	289	290	291	292	293	294	295	296	297	298	299	300	301	302	303	304	305	306	307	308	309	310	311	312	313	314	315	316	317	318	319	320	321	322	323	324	325	326	327	328	329	330	331	332	333	334	335	336	337	338	339	340	341	342	343	344	345	346	347	348	349	350</																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																										

