



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS
DEPARTAMENTO DE BIOQUÍMICA-ALIMENTOS



TESIS PARA OBTENER EL GRADO DE LICENCIATURA
EN QUIMICO FARMACOBIOLOGO

“Seroepidemiología y factores de riesgo de la brucelosis humana en
Comunidades rurales y urbanas del estado de Puebla”

PRESENTA

p. QFB Jorge Castillo Sánchez

DIRECTOR DE TESIS

D.C. LAURA MORALES LARA

ASESOR DE TESIS

D.C. ELSA IRACENA CASTAÑEDA ROLDÁN

Puebla, Pue. Junio 2018

ÍNDICE

1.	RESUMEN.....	1
2.	INTRODUCCIÓN.....	2
3.	ANTECEDENTES	3
3.1	Brucelosis: Una Zoonosis y una Enfermedad transmitida por alimentos (ETA´s)	4
3.2	Brucelosis humana	5
3.3	Transmisión de la brucelosis	6
3.4	Factores de riesgo de infección	8
3.5	Diagnóstico de brucelosis	8
3.6	Epidemiología de brucelosis en México	10
3.7	Brucelosis en Puebla.....	13
4.	JUSTIFICACIÓN.....	15
5.	OBJETIVOS.....	16
5.1	Objetivo general	16
5.2	Objetivos particulares	16
6.	DIAGRAMA DE TRABAJO.....	17
7.	MATERIALES Y MÉTODOS.....	18
7.1	Material	18
7.2	Material biológico.....	18
7.3	Equipo	18
7.4	Métodos.....	18
7.5	METODOLOGÍA.....	19
7.5.1	Recepción de muestras del IMSS	19
7.5.2	Diagnóstico serológico de brucelosis	19
7.5.3	Aislamiento microbiológico.....	20
7.5.4	Georreferenciación	20
7.5.5	Factores de riesgo.....	21

7.5.6	Sintomatología.....	21
8.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	22
8.1	Análisis serológico realizado mediante las pruebas: Rosa de Bengala, SAT y 2-ME 22	
8.2	Hemocultivo.....	25
8.3	Georreferenciación.....	26
8.4	Factores de riesgo alimenticios y contacto con animales.....	30
8.5	Sintomatología.....	34
9.	CONCLUSIONES.....	36
10.	RECOMENDACIONES.....	37
11.	BIBLIOGRAFÍA.....	38

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Resultados e interpretación de las pruebas serológicas para el diagnóstico de brucelosis. Secretaría de Salud, 2015.....	10
Tabla 2. Porcentaje de notificación de la brucelosis por parte de instituciones oficiales de México durante el periodo 2000-2010. Secretaría de Salud, 2015.....	13
Tabla 3. Características de los equipos	18
Tabla 4. Referencia de los métodos	18
Tabla 5. Resultados obtenidos de las pruebas serológicas realizados a las muestras.....	23
Tabla 6. Resultados obtenidos en las pruebas bioquímicas de las bacterias aisladas que señalan su pertenencia al género <i>Brucella</i>	¡Error! Marcador no definido.
Tabla 7. Municipios de Puebla en donde se presentaron casos de brucelosis	27

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Especies identificadas en el género <i>Brucella</i> que afectan al humano. Figura de elaboración propia.....	5
Figura 2. Incidencia de casos de brucelosis Estados Unidos Mexicanos 1984-2015. Secretaría de Salud, 2012.....	11
Figura 3. Incidencia de brucelosis por entidad notificante 2012-2015. Secretaría de Salud, 2015	11
Figura 4. Número de casos de Brucelosis humana en el Estado de Puebla durante el periodo 2009-2016. Secretaría de Salud 2016a.....	14
Figura 5. Resultados de sueros de individuos con las pruebas de RB, SAT y 2-ME.	22
Figura 6. Casos reportados de brucelosis humana anualmente por parte del IMSS, en el estado de Puebla durante el periodo 2007-2016. Secretaría de Salud, 2016a	24
Figura 7. Casos confirmados de brucelosis humana durante el periodo de estudio 2015-2016 en el laboratorio de patogenicidad microbiana.....	25
Figura 8. Distribución de la brucelosis humana en el Estado de Puebla de las UMF del IMSS que usaron el servicio diagnóstico del laboratorio	28
Figura 9. Porcentaje e incidencia de brucelosis por género.	29
Figura 10. Intervalos de edad de los pacientes positivos a brucelosis.	30
Figura 11. Porcentajes de los alimentos consumidos por pacientes positivos a brucelosis	31
Figura 12. Porcentajes de los animales con los cuales los pacientes positivos brucelosis	32
Figura 13. Sintomatología de la brucelosis referida por los pacientes en sus historias clínicas.	35

1. RESUMEN

Durante un año se realizó la evaluación seroepidemiológica de brucelosis y factores de riesgo a pacientes de diversas unidades médicas familiares del seguro social (UMF-IMSS) del Estado de Puebla por medio de las pruebas serológicas de diagnóstico descritas en la NOM-022-SSA2-2012. Los resultados obtenidos confirmaron que la brucelosis en Puebla es una zoonosis desatendida ya que se encontró que el 44.28% de los sueros analizados tuvo un diagnóstico confirmatorio. La zona del Estado con mayor número de casos fue el municipio de Puebla, mostrando que en este municipio la población tiene un mayor riesgo de contraer brucelosis, también se presentaron en menor medida casos en los municipios de Amozoc de Mota, Izúcar de Matamoros, San Andrés Cholula, San Pedro Cholula, Teziutlán, Ciudad Serdán, Cuautlancingo, Ixcaquixtla, San Martín Texmelucan Santa Isabel, Tepeojuma, y Xiutetelco La mayoría de los casos se dieron en zonas urbanas, y se encontró que los alimentos fueron la principal fuente de transmisión de la infección y que el contacto con animales portadores juega un papel mínimo en la transmisión de la brucelosis. También se encontró que existe un mayor riesgo de contraer la enfermedad por parte del sexo femenino comparándolo con el sexo masculino y que la población más vulnerable son los adultos mayores, principalmente personas entre 50-59 años. En cuanto a la sintomatología esta fue variada con 27 síntomas reportados, aunque los que predominaron fueron cefalea, artralgias, mialgias, fiebre y náuseas. Es interesante señalar que los resultados registrados se obtuvieron de 17 de las 45 UMF-IMSS del Estado de Puebla es decir que solo participo el 35.7% de ellas lo que refleja el número de casos humanos de brucelosis puede ser mucho mayor.

2. INTRODUCCIÓN

La brucelosis permanece como una de las principales enfermedades zoonóticas a nivel mundial con más de 500 millones de casos reportados anualmente alrededor del mundo (von Bargaen *et al.*, 2012). La incidencia varía de un lugar a otro, sin embargo, se presenta con más frecuencia en países que no cuentan con estándares adecuados en las áreas de salud humana y salud animal, es decir en países pobres o en vías de desarrollo (Mohamed *et al.*, 2010).

La brucelosis es una enfermedad causada por bacterias del género *Brucella*, que son bacterias Gram negativas, se observan al microscopio como cocobacilos de 0,5 a 0,7 μm de ancho y de 0,5 a 1,5 μm de largo, es considerada un organismo fastidioso o exigente por sus requerimientos nutricionales en el cultivo (Percin, 2012) Esta infección es antigua y ha acompañado al hombre desde que este tuvo contacto con los animales, los síntomas de la brucelosis ya eran conocidos, pero no fue hasta 1887 que se aisló al agente causal (Moreno, 2014).

La brucelosis es raramente fatal y las muertes se deben principalmente a la endocarditis provocada por la bacteria (Corbel, 2006) aunque si es una enfermedad incapacitante y debilitante que merma la salud del paciente y requiere de tratamiento por largos periodos de tiempo (Sbriglio, 2001). Esta enfermedad presenta dos patrones epidemiológicos, el urbano-alimentario y el rural-ocupacional (Moral, 2013).

En México es una enfermedad que no ha podido ser erradicada y su prevalencia muestra variaciones en el transcurso de varios años (Secretaría de Salud, 2016b). En el Estado de Puebla se desconoce su incidencia en áreas rurales y urbanas y aunque datos de la SAGARPA marcan parte del estado de Puebla como zona en erradicación de brucelosis (prevalencia menor al 3%), la mayor parte del estado solo se considera como zona en control (prevalencia mayor a 3%) (Servicio Nacional de Sanidad, 2016), y esto incluye a las áreas donde ocurre la cría de ganado para leche y para consumo. Lo anterior es importante porque la experiencia de los países libres de brucelosis ha demostrado que, al desaparecer la enfermedad en animales, la infección en el ser humano también desaparece.

3. ANTECEDENTES

La brucelosis es una enfermedad muy antigua que puede ser rastreada desde los primeros contactos del hombre con los animales. Observaciones realizadas en un esqueleto humano (*Australopithecus africanus*) en Sudáfrica de una antigüedad entre 2.4 y 2.8 millones de años muestra lesiones líticas en vértebras lumbares con las lesiones causadas por *Brucella* spp. (Akpınar, 2016). Se han identificado referencias a la enfermedad desde la época de la quinta plaga en Egipto alrededor del 1600 a.C., según exámenes recientes de antiguos huesos egipcios en donde se ha reportado evidencia de sacroileítis y otras lesiones osteoarticulares comunes de la brucelosis (Seleem *et al.*, 2010).

En su publicación "Epidemias", Hipócrates describió un síndrome tipo brucelosis en humanos que vivían en el litoral del Mediterráneo (Figueiredo *et al.*, 2015) aunque el agente causal de la infección permaneció como desconocido hasta que el médico militar David Bruce aisló *Brucella melitensis* (*Micrococcus melitensis* en ese tiempo) en 1887 a partir del bazo de un soldado británico que murió de una enfermedad febril (fiebre de Malta) que se presentaba comúnmente entre militares que se encontraban en Malta y a partir de entonces se ha reportado a nivel mundial (Akpınar, 2016).

Hasta el día de hoy la brucelosis permanece presente y es uno de los problemas más importantes en salud pública en el mundo con más de 500,000 casos nuevos anualmente (Mohamed *et al.*, 2015), aunque se estima que es subestimada debido a casos no reportados o mal diagnosticados, por lo que la OMS la considera como una zoonosis desatendida, que afecta principalmente a la población de escasos recursos (Godfroid *et al.*, 2013). Su distribución es global, pero va cambiando constantemente, presentándose nuevos focos que emergen o vuelven a emerger en lugares donde no estaba o se había reducido (Mohamed *et al.*, 2010) y es más prevalente en países que no poseen adecuados estándares de calidad en las áreas de salud pública y salud animal, como países en vías de desarrollo (Galińska & Zagórski, 2013). Los lugares más afectados son la cuenca del Mediterráneo Oriental, Medio Oriente, la Península Arábiga, México, Centro y Sur de América, Asia Central y el subcontinente Indio (Araj, 2010).

3.1 Brucelosis: Una Zoonosis y una Enfermedad transmitida por alimentos (ETA's)

El concepto “zoonosis” es definido por la Organización Mundial de la Salud (OMS) en 1959 como las enfermedades que se transmiten entre los animales y el hombre. Las enfermedades zoonóticas representan un problema de salud pública debido a que afectan a una gran parte de la población tanto en zonas urbanas como rurales (Productora Nacional de Biológicos Veterinarios, 2016).

A pesar de que el gobierno mexicano implementó desde 1995, la campaña para el control y erradicación de la brucelosis en los animales aplicada en México, en el período de 2000 al 2011, se registró en todo el país un aumento en la incidencia de la brucelosis bovina pasando de 1 a 15%; y en la del ganado caprino el aumento fue de 2 a 7%. Méndez-Lozano reportó que, en este mismo período, el incremento de la brucelosis bovina se relacionaba con 15% de aumento en la incidencia de los nuevos casos de brucelosis humana. Y que, la brucelosis en caprinos, se relacionaba con 33% de aumento en los casos de humanos (Guzmán *et al.*, 2016). Las ETA's son una realidad lacerante en nuestro medio con inadmisibles pérdidas a la salud y la economía (Garza, 2010).

Un brote de ETA es definida como un incidente en el que dos o más personas presentan una enfermedad semejante después de la ingestión de un mismo alimento, y los análisis epidemiológicos apuntan al alimento como el origen de la enfermedad (Organización Panamericana de Salud, 2015). Los alimentos de mayor aporte nutricional son los de origen animal, entre los que se incluye la leche y derivados que son los alimentos de mayor riesgo potencial en la transmisión de la brucelosis (Corbel, 2006; Garza, 2010).

El consumo de queso fresco o leche cruda es una práctica común en varias regiones de México, por lo que la Secretaría de Salud estableció, a través de programas nacionales, la implementación de acciones de control sanitario y prevención de la ingesta de derivados lácteos sin pasteurizar, no obstante, continúan reportándose anualmente en promedio 2.200 nuevos casos de brucelosis en humanos, en diferentes regiones del país. De los pocos estudios sobre casos de brucelosis en México se reportó que el consumo de quesos frescos de origen

caprino contaminados con *B. melitensis* fue el vehículo que ocasionó un brote de brucelosis en humanos en una de las comunidades rurales en la provincia de Guanajuato. Por otra parte, en el año 2014 se reportó que en las zonas rurales se presentaron condiciones de alto riesgo en la propagación de la enfermedad en humanos, debido a que los pequeños productores de quesos frescos no tenían recursos económicos para vacunar a sus animales o para hervir la leche con la que elaboran los quesos frescos (Guzmán *et al.*, 2016).

3.2 Brucelosis humana

Una de las mejores descripciones de la brucelosis humana antes del descubrimiento de los antibióticos ha sido: “la enfermedad que rara vez mata a alguien, pero de vez en cuando hace al paciente desear estar muerto” (Mohamed *et al.*, 2010). Existen 12 especies identificadas en el género *Brucella*, 6 de ellas son patógenas para el hombre como se aprecia en la Figura 1, siendo los agentes más frecuentes *B. melitensis*, *B. abortus*, *B. suis* y *B. canis* y más recientemente *B. ceti*. La enfermedad en humanos es causada principalmente por *B. melitensis* seguida por *B. suis* y *B. abortus* (Galińska & Zagórski, 2013) y tiene una dosis infecciosa baja que va de 10 a 100 bacterias (Al Dahouk *et al.*, 2003).

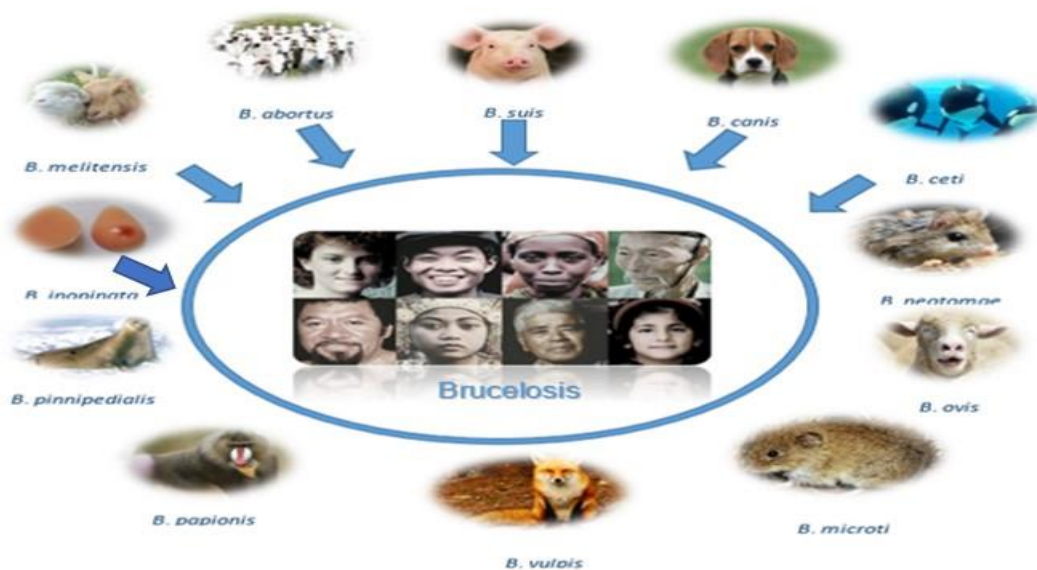


Figura 1. Especies identificadas en el género *Brucella* que afectan al humano. *B. melitensis*, *B. abortus*, *B. suis*, *B. canis*, *B. inopinata* y *B. ceti* son agentes causales de la brucelosis humana. Se han descrito otras 6 especies hasta la fecha. Figura de elaboración propia

La brucelosis es una de las más grandes imitadoras en el mundo de las enfermedades infecciosas, puede imitar varias enfermedades multisistémicas, mostrando una gran variedad de síntomas, lo que con frecuencia ocasiona diagnósticos erróneos y retrasos en el tratamiento (Buzgan *et al.*, 2010).

La enfermedad en humanos puede presentarse inicialmente como una enfermedad febril aguda que persiste y evoluciona a una entidad crónica con complicaciones severas (Corbel, 2006). A pesar de lo ya dicho, la brucelosis humana es raramente fatal, pero es debilitante e incapacitante (Franco *et al.*, 2007).

El periodo de incubación puede ser de una a seis semanas (Rubach *et al.*, 2013). En la brucelosis aguda se pueden presentar debilidad, fiebre ondulante, dolor de cabeza, mialgias y artralgias (en 60% de los casos aparece dolor en la región lumbar), erupción cutánea (5% de los casos), hepato y esplenomegalia (50-60% de los casos), diarrea, náusea, vómito, constipación y falta de apetito (Galińska & Zagórski, 2013). La fase aguda de la enfermedad puede evolucionar a una forma crónica si no se recibe tratamiento o este se abandona antes de la recuperación por lo que las recaídas pueden ser comunes (Buzgan *et al.*, 2010) mientras que el término “brucelosis crónica” no tiene una aceptación universal pero muchas autoridades en brucelosis reservan este término para los pacientes que llevan 12 meses o más con los síntomas y se caracteriza por períodos alternativos de remisiones y agravaciones que no pueden preverse ni con respecto al momento de su ocurrencia ni al tipo de manifestación clínica en órganos y sistemas (Corbel, 2006).

3.3 Transmisión de la brucelosis

Bajo condiciones naturales *Brucella* se transmite horizontalmente (contagio a partir de personas u objetos del entorno) y verticalmente (contagio mediante la lactancia de la madre al hijo) (Celli, 2015). Los hospederos animales son la principal fuente de infección, excretan gran cantidad de bacterias junto con los tejidos y productos del aborto; por excreciones genitales que contaminan los sitios donde se encuentran

como el suelo de los corrales, la paja de las camas, el agua de arroyos, canales y pozos. *Brucella* es excretada en la leche, por lo que el humano puede adquirir la enfermedad a través de productos lácteos no pasteurizados, principalmente leche y queso fresco, también se adquiere la infección al inhalar polvo o pelo contaminado, a través de abrasiones o cortaduras en la piel, por salpicaduras en la conjuntiva, por aerosoles formados en algún proceso, a través de una transfusión de sangre o de un trasplante de tejido, por auto inoculación accidental de sangre del animal infectado o de vacunas (Suárez *et al.*, 2009).

Otras formas de transmisión menos comunes son las siguientes:

a) Transmisión persona-persona: Este tipo de transmisión es un evento extremadamente raro, en algunos casos se ha reportado el tener un contacto cercano con otras personas o encuentros sexuales como la vía de transmisión.

De más importancia potencial es la transmisión a través de donaciones sanguíneas o trasplantes de tejidos contaminados con la bacteria, la médula ósea en particular acarrea un gran riesgo (Corbel, 2006).

b) Transmisión por estar en un ambiente contaminado: La transmisión por estar en un ambiente contaminado es un fenómeno muy raro de reportar, pero probablemente ocurre más frecuentemente de lo que es reconocida, esto ocurre cuando animales infectados pasan a través de áreas habitadas o cerca de estas, pudiendo contaminar las calles, jardines y zonas de mercados, especialmente si ocurren abortos. La inhalación de *Brucella* spp. puede ocurrir por la exposición al polvo contaminado, bioaerosoles de orina, heces secas, etc. La transmisión se puede dar por el contacto de la piel o la conjuntiva con superficies sólidas. Las fuentes de agua también pueden contaminarse con restos de animales abortados. Los miembros del género *Brucella* pueden sobrevivir 6 días en orina, 10 semanas en agua o suelo, 75 días en productos abortados, sin embargo, es necesario remarcar que la supervivencia del microorganismo está en función de varios factores como: temperatura, exposición al sol, pH, etc., (Corbel, 2006).

c) Exposición perinatal: Por vía transplacentaria, por la ingestión de leche materna o por la exposición a sangre, orina o las heces de la madre infecta al producto durante el parto (Corbel, 2006).

3.4 Factores de riesgo de infección

Se han descrito diversos factores de riesgo para la brucelosis, sin embargo, su prevalencia en diferentes lugares alrededor del mundo varía, y es importante identificarlos en las localidades en donde la enfermedad se presenta, ya sea de forma emergente o re-emergente, porque esto puede contribuir de manera importante a establecer estrategias específicas en los programas de control y prevención de esta enfermedad.

Entre los factores de riesgo más destacados están:

a) Exposición ocupacional: veterinarios, granjeros, personas que manipulan productos y subproductos animales como carniceros, ordeñadores y personal de laboratorio en contacto con muestras clínicas.

b) Exposición alimentaria: ingestión de leche no pasteurizada o derivados lácteos realizados de forma “artesanal” con leche no pasteurizada proveniente de animales infectados.

c) Convivencia con animales: contacto directo con productos de desecho, tejidos o excretas de animales enfermos o portadores asintomáticos o con animales de establo (Mohamed, 2010; Galińska & Zagórski, 2013).

3.5 Diagnóstico de brucelosis

En el país hay un programa activo para detectar la brucelosis en hospitales, clínicas y bancos de sangre, sin embargo se estima que el número real de casos reportados es del 30% lo que quiere decir que existe una gran cantidad de casos no reportados (Luna & Mejía, 2002), las cifras de la incidencia de brucelosis humana de la Secretaría de Salud son imprecisas, no sólo por la exclusión de casos erróneamente diagnosticados, que en la mayoría de las veces no se comprueban con las pruebas serológicas de laboratorio o con el aislamiento de la bacteria para validar el diagnóstico clínico, sino también por aquellos casos bien diagnosticados pero que no tienen seguimiento serológico y un tratamiento adecuado que garantice la eliminación de este microorganismo intracelular de los pacientes (Guzmán *et al.*, 2016).

El diagnóstico de un paciente con posible brucelosis requiere la combinación de varios enfoques, incluyendo la historia clínica, el examen clínico y pruebas de laboratorio (Ulu *et al.*, 2013).

Los métodos de diagnóstico clásico en laboratorio han sido conocidos desde finales del siglo XIX, aglutinación y fijación del complemento y aún son usados rutinariamente, mejorados y suplementados con nuevas pruebas. También es posible realizar el aislamiento apropiado del agente infeccioso a partir de la sangre, la médula ósea u otros tejidos, o de secreciones; aunque no siempre se lleva a cabo con éxito debido a las exigencias nutricionales que tiene el género *Brucella* y a su tendencia a ocupar el nicho intracelular (Galińska & Zagórski, 2013).

Las pruebas serológicas permiten un diagnóstico preciso en más del 95% de los casos y son las siguientes:

a) Rosa de Bengala: Es una prueba de escrutinio (Ulu *et al.*, 2013). Esta prueba se fundamenta en la actividad de los anticuerpos presentes en el suero en contra de las bacterias contenidas en la solución tamponada y teñida de *B. abortus* (Corbel, 2006).

Cuando la prueba de Rosa de Bengala resulta positiva se realizan las pruebas confirmatorias.

b) Aglutinación Estándar (SAT): Consiste en la demostración de anticuerpos anti-*Brucella* por aglutinación, utilizando bacterias inactivadas que permiten identificar inmunoglobulinas específicas de las clases IgM (demuestra infección en etapa inicial), IgG (demuestra infección en etapa crónica) e IgA (demuestra infección previa) (Corbel, 2006).

c) Aglutinación en presencia de 2-Mercaptoetanol (2-ME): Consiste en la demostración de anticuerpos anti-*Brucella* por aglutinación en presencia de este reactivo, es similar a la prueba de SAT, pero al agregarse el 2-mercaptoetanol éste inactiva la IgM, por lo que de presentarse la aglutinación éstas serán de IgG, indicado una infección en fase crónica (Ulu, Metan, & Alp, 2013).

En México, la interpretación de los resultados debe considerar los lineamientos establecidos en la NOM-022-SSA2-2012 para la prevención y control de la

brucelosis en el ser humano, en donde se señala la interpretación de las pruebas serológicas como se muestra en la Tabla 1.

Tabla 1. Resultados e interpretación de las pruebas serológicas para el diagnóstico de brucelosis. Secretaría de Salud, 2015.

Prueba				
Rosa de Bengala	SAT	2-ME	Resultado	Interpretación
Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
Positivo	Negativo	Negativo	Indeterminado	Memoria inmunológica
Positivo	Menor 1:80	Negativo	Indeterminado	Paciente saliendo de la infección. Infección en curso
Positivo	Igual o mayor que 1:80	Negativo	Positivo	Positivo
Positivo	Igual o mayor que 1:80	1:20 o mayor	Positivo	Positivo
Positivo	1:20 o mayor	1:20	Positivo	Positivo

3.6 Epidemiología de brucelosis en México

Los principales objetivos de la investigación epidemiológica son, por un lado, describir la distribución de las enfermedades y eventos de salud en poblaciones humanas y, por otro, contribuir al descubrimiento y caracterización de las leyes que gobiernan o influyen en estas condiciones (Hernández *et al.*, 2000).

Utilizando como bases de datos los Anuarios de la Morbilidad de la Dirección General Adjunta de Epidemiología se elaboró la situación epidemiológica de la brucelosis, misma que se muestra en la Figura 2, donde se observa el comportamiento del período comprendido del año 1984 al 2015, mostrando que la tasa más alta ocurrió en el año de 1995 con una incidencia de 6.12 por 100,000 habitantes, en 2006 fue la más baja con 1.74, el último reporte corresponde al 2015 con una tasa de 2.43 por 100,000 habitantes (Secretaría de Salud, 2015).

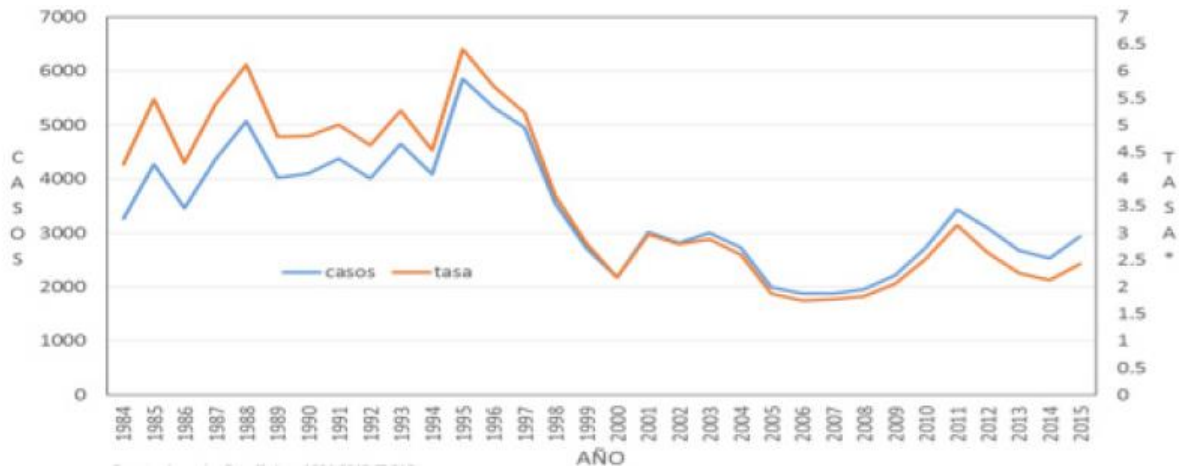


Figura 2. Incidencia de casos de brucelosis Estados Unidos Mexicanos 1984-2015.

Al georreferenciar la incidencia por Entidad Federativa durante el periodo 2012 a 2015 se observa que no es posible definir una regionalización de daños a la salud por brucelosis ya que se presenta un comportamiento itinerante en la mayoría de las entidades a excepción de Zacatecas, Michoacán y Sinaloa. Esto se muestra en la Figura 3.

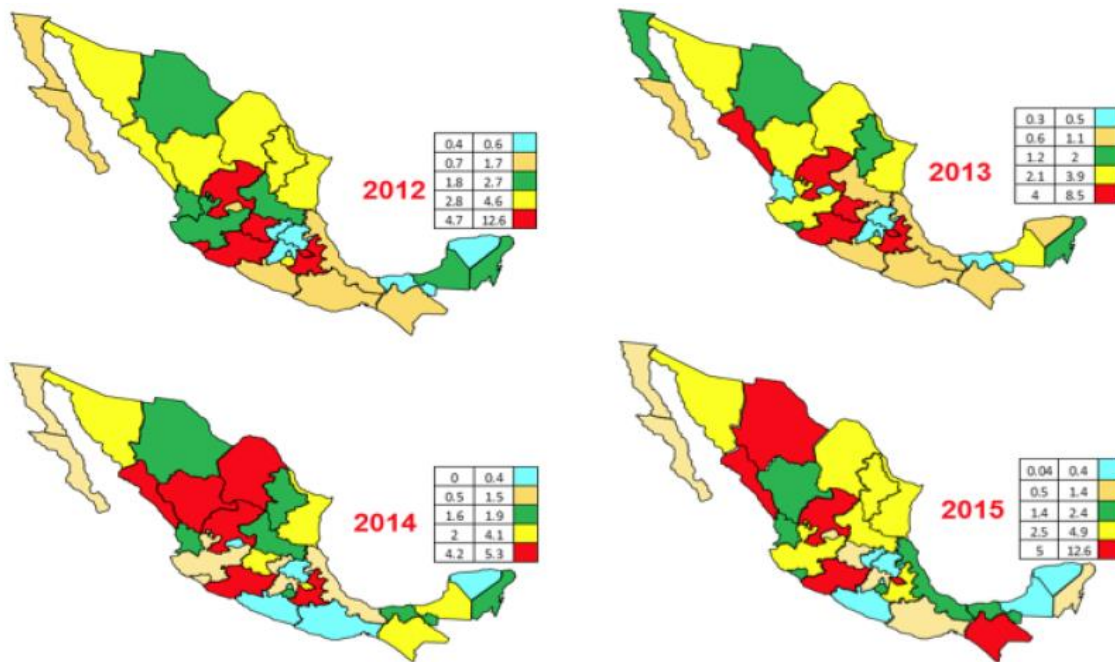


Figura 3. Incidencia de brucelosis por entidad notificante 2012-2015

Diferentes publicaciones mencionan por género al hombre como el más afectado clasificándola como una enfermedad ocupacional (granjeros, veterinarios, trabajadores de mataderos, carniceros entre otros) sin embargo en el análisis

realizado de 2009 a 2015 las mayores tasas de incidencia se observaron en las mujeres seguramente es porque éstas se involucran más con la producción de los derivados lácteos de la leche contaminada, como el queso y la crema; el grupo más afectado en el caso de las mujeres fue el de 45 a 49 años de edad mientras que en hombres el grupo más afectado fue el de un rango de edad de 50-59 años (Secretaría de Salud, 2015).

En el ámbito de las enfermedades infecciosas la seroepidemiología se puede definir como el estudio de la epidemiología (frecuencia y distribución) de las infecciones mediante el uso de pruebas serológicas para detectar infección. Los estudios seroepidemiológicos permiten estudiar la distribución de las enfermedades de manera indirecta, mediante la detección sérica de marcadores de infección y de inmunidad (Cardeñosa, 2009)

En 1988 un estudio seroepidemiológico a nivel nacional fue realizado en la población general, este demostró que no había diferencias estadísticas para los niveles de anticuerpos en personas de áreas rurales o urbanas y también que adultos entre 20 y 39 años poseían altos títulos de anticuerpos (Merino *et al.*, 1992).

En México, la brucelosis es un padecimiento sujeto a vigilancia epidemiológica que debe notificarse semanalmente. En el Sistema Único de Información para la Vigilancia Epidemiológica (SUIVE) se establece que la mayoría de los casos los notificó la Secretaría de Salud (SS), seguido del Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS), después el Instituto de Seguridad y Servicios Sociales de los Trabajadores del Estado (ISSSTE) y, finalmente a otras instituciones oficiales (Secretaría de Salud, 2015), los porcentajes de notificaciones aportados por cada Instituto se muestran en la Tabla 2.

Tabla 2. Porcentaje de notificación de la brucelosis por parte de instituciones oficiales de México durante el periodo 2000-2010. Secretaría de Salud, 2015.

Institución	% de notificaciones
Secretaría de Salud (SS)	46.7
Instituto Mexicano del Seguro Social	41.9
Instituto de Seguridad y Servicios Sociales de los Trabajadores del Estado (ISSSTE)	6.1
Otras	5.3

Con respecto a la fuente de infección, en el 2015 se observó que de los 7,573 casos de brucelosis registrados en el Sistema de Información en Salud (SIS) un 58.4% de los enfermos tuvo como fuente de infección el consumo de lácteos artesanales y un 31.0% se infectó por el consumo de leche bronca, esto de acuerdo con el registro de la Secretaría de Salud, 2015.

3.7 Brucelosis en Puebla

Aunque en México se sospechaba de la existencia de la brucelosis desde 1905, no fue sino hasta 1923 cuando Pláceres en Puebla, logra por primera vez en todo el país, la identificación de *Micrococcus melitensis*, aislada originalmente en dos de los cinco casos clínicos descritos previamente por Vergara (Silva, 1948). En adelante se establecieron lineamientos para el diagnóstico de esta enfermedad, y se han realizado importantes esfuerzos para su identificación, control y prevención. La Secretaría de Salud ha registrado que, en Puebla, durante el periodo 2009-2016 hubo un aumento en el número de casos de esta enfermedad, es posible que las aplicaciones de lineamientos más estrictos para su reporte influyan en este incremento. En 2015, se registró disminución, sin embargo, nuevamente en 2016, hubo una elevación en el número de casos, en este año se registró el valor más alto de los del periodo 2009-2016 como se observa en la Figura 4 (Secretaría de Salud, 2016a).

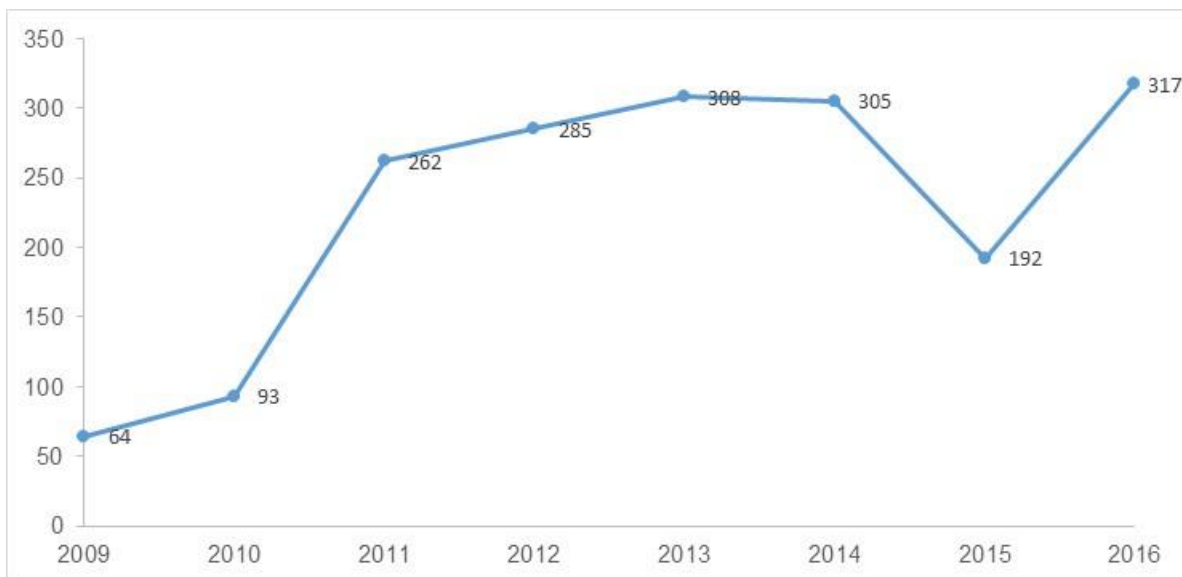


Figura 4. Número de casos de Brucelosis humana en el Estado de Puebla durante el periodo 2009-2016. Secretaría de Salud 2016a.

Si bien, es de gran importancia contar con estos registros oficiales, reportes internacionales señalan que la incidencia de la brucelosis puede ser 10 veces mayor que lo que indica los registros (Aller, 1975; Godfroid et al, 2013). Por lo que es necesario, contar con una mejor evaluación de la incidencia de esta enfermedad, lo cual implica la participación y coordinación no sólo de las organizaciones de salud pública estatales y nacionales, sino también de factores económico-políticos, sociales, culturales e incluyendo el apoyo de la comunidad universitaria, cuyos recursos humanos y financieros pueden contribuir en el monitoreo, control y prevención de la enfermedad (Garza, 2010; Guzmán *et al*, 2016).

Así, como parte de estos esfuerzos, y debido a que la presencia de esta enfermedad representa un problema de salud pública severo, es importante dar seguimiento a su incidencia con el objetivo de identificar un panorama más real de su distribución y los factores de riesgo para la población, para enfocar mayor atención en su control y prevención.

4. JUSTIFICACIÓN

Puebla sigue siendo un área endémica de brucelosis debido a los cientos de casos anuales que se reportan en el Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica (SINAVE), sin embargo, instancias internacionales como la Organización Mundial de la Salud reconocen que los reportes son subestimados y que la enfermedad afecta principalmente a la población de escasos recursos, lo que señala que esta enfermedad sigue siendo una zoonosis desatendida. Por lo que surge la necesidad de estudiar y actualizar la información epidemiológica relacionada con la exposición a factores de riesgo como el consumo de alimentos, convivencia con animales y la actividad ocupacional, los cuales pueden influir en la transmisión de la infección en individuos que viven en áreas rurales y urbanas. Con este fin, será de gran importancia identificar la Seroepidemiología de la enfermedad y los factores de riesgo con los cuales pudiera estar relacionada, en pacientes que acuden a consulta a clínicas pertenecientes al IMSS en Puebla, de este modo, la información obtenida de las muestras y encuestas epidemiológicas permitirá tener una mejor evaluación de la presencia de esta zoonosis en esta región.

5. OBJETIVOS

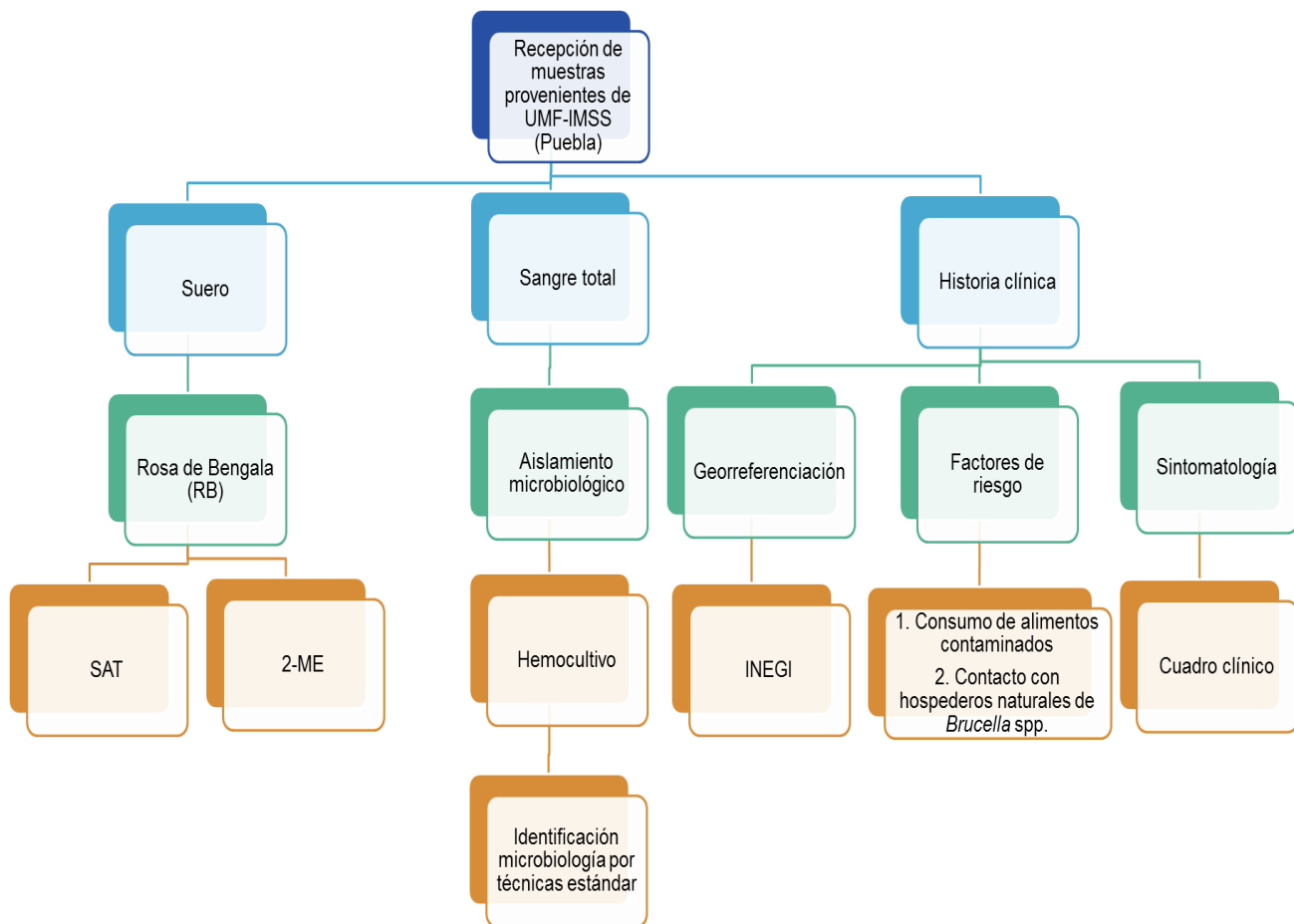
5.1 Objetivo general

Evaluar la seroepidemiología de la brucelosis humana por el título de anticuerpos y los factores de riesgo ocupacional, alimenticio y contacto con animales, mediante el análisis de las encuestas realizadas a pacientes de comunidades rurales y urbanas que acuden a clínicas del IMSS en Puebla.

5.2 Objetivos particulares

- Realizar análisis clínico mediante las pruebas serológicas Rosa de Bengala, SAT y 2-ME de acuerdo a la norma NOM-022-SSA2-2012.
- Realizar el aislamiento microbiológico de *Brucella* spp.
- Georreferenciar la distribución de los pacientes con brucelosis confirmada que llegaron a las UMF del IMSS, para identificar su susceptibilidad en relación a su comunidad rural o urbana.
- Identificar los principales factores de riesgo asociados a la brucelosis humana en los pacientes de comunidades rurales y urbanas, de acuerdo con la información recolectada en sus UMF-IMSS respectivas.

6. Diagrama de trabajo



7. MATERIALES Y MÉTODOS

7.1 Material

El material utilizado en este proyecto incluye, microplacas con fondo en u de 96 pocillos, agitadores de madera, micropipetas, y reactivos de grado analítico para cada determinación.

7.2 Material biológico

El material biológico utilizado fueron 164 muestras de suero y 41 muestras de sangre total.

7.3 Equipo

En la Tabla 3 se incluye el equipo utilizado para la evaluación de la seroepidemiología de la brucelosis.

Tabla 3. Características de los equipos

EQUIPO	MARCA	MODELO
INCUBADORA	BOEKEL SIENTIFIC	DRY BATCH INCUBATOR. BOEKEL.
CAMPANA DE BIOSEGURIDAD NIVEL II	NUAIRE. BIOLOGICAL SAFETY CAMBINETS	CLASS II TYPE A/B

7.4 Métodos

En la Tabla 4 se hace muestran las determinaciones realizadas, el método por el que se realizaron y la referencia del método usado.

Tabla 4. Referencia de los métodos

DETERMINACIÓN	MÉTODO	REFERENCIA
Rosa de Bengala	Aglutinación en placa	NOM-022-SSA2-2012
Aglutinación estándar (SAT)	Aglutinación en microplaca	NOM-022-SSA2-2012
2-mercapto etanol (2-ME)	Aglutinación en microplaca	NOM-022-SSA2-2012
Aislamiento microbiológico	Hemocultivo y pruebas bioquímicas	Alton, 1988

7.5 METODOLOGÍA

7.5.1 Recepción de muestras del IMSS

La recepción de muestras de las UMF-IMSS que participaron en este estudio, se llevó a cabo en el Laboratorio de Patogenicidad Microbiana del Centro de Investigaciones en Ciencias Microbiológicas (CICM). Al momento de su recepción se corroboró que cada muestra se encontrara en condiciones adecuadas de traslado y que estuviera correctamente identificada. La información correspondiente a la historia clínica de cada paciente, como signos y síntomas, así como factores de riesgo alimentario, ocupacional, contacto con animales, incluidas con cada muestra recibida, se documentó en la base de datos del laboratorio. Las muestras clínicas fueron inmediatamente procesadas y posteriormente almacenadas.

7.5.2 Diagnóstico serológico de brucelosis

El suero se analizó mediante pruebas serológicas (Rosa de Bengala, SAT y 2-ME) como se describe a continuación:

Rosa de Bengala. Para realizar la prueba se depositaron 40 μ L de suero problema en la placa para aglutinación, al mismo tiempo se procesaron los controles, negativo y positivo adicionando 40 μ L de cada uno en la placa, posteriormente se agregó a cada muestra problema y a cada control 1 gota de reactivo Rosa Bengala, se homogenizó durante 4 minutos con ayuda de un palillo desechable, y finalmente se evaluó la presencia de aglutinación.

La interpretación del resultado es cualitativa, y se considera positiva en presencia de aglutinación, y negativa en ausencia de esta. Si el resultado era positivo mediante esta prueba presuntiva, se procedía a su confirmación mediante las pruebas de SAT y 2-ME (Secretaría de Salud, 2012).

Prueba Confirmatoria de Aglutinación Estándar (SAT). Para esta prueba se usó una placa de 96 pozos de fondo en "U", que se dividió en dos de manera que para cada una de las pruebas existan filas de 6 pozos, la primera mitad se utilizó para la

prueba de SAT y la otra mitad será para la prueba de 2-mercaptoetanol. En el primer pozo se depositaron 180 μ L de Solución Salina Fenolada (SSF) al 0.5% y del pozo 2 al 6 se depositaron 100 μ L. Posteriormente se añadieron 20 μ L del suero problema en el primer pozo, se homogenizó y se transfirieron 100 μ L al pozo número 2, esta operación se hizo de manera sucesiva hasta llegar al último pozo del cual se desecharon 100 μ L. Posteriormente se adicionaron 100 μ L del antígeno de *Brucella abortus* previamente diluido 1:10 y se incubaron a 37 °C/24 horas para finalmente evaluar la presencia de aglutinación.

Prueba Confirmatoria de Aglutinación en Presencia de 2-Mercaptoetanol (2-ME). Se colocaron 180 μ L de solución de 2-mercaptoetanol al 0.85% en el primer pozo y 100 μ L en el los pozos del 2 al 6. Posteriormente se agregó en el primer pozo 20 μ L del suero problema, se mezcló y se transfirieron 100 μ L de éste pozo al pozo número 2, esta operación se realizó sucesivamente hasta llegar al último pozo. El paso siguiente consistió en adicionar a todos los pozos 100 μ L de antígeno blanco de *Brucella abortus* previamente diluido 1:10. y se incubaron a 37 °C/24 horas para finalmente evaluar la presencia de aglutinación.

7.5.3 Aislamiento microbiológico

Para este análisis se incubó sangre total en caldo *Brucella*-BUAP/3 días, en agitación constante a 250 r.p.m/37°C. Posteriormente se sembró por estría cruzada en placas con agar *Brucella*-BUAP y fueron incubadas a 37°C/CO₂ al 5%, durante un periodo de una semana. Una vez que ocurrió el crecimiento se procedió a realizar la identificación por pruebas bioquímicas (Alton, Jones, & Pietz, 1976).

7.5.4 Georreferenciación

Usando la información geográfica disponible en la página oficial del INEGI, en conjunto con la dirección de los pacientes incluida en la información recibida de cada paciente, se evaluó la distribución en el estado de los pacientes con brucelosis

confirmada, esto sirvió para conocer la distribución de la enfermedad y para identificar que comunidades rurales o urbanas fueron las afectadas.

7.5.5 Factores de riesgo

Utilizando la información recolectada en las encuestas epidemiológicas realizadas por personal de las UMF del IMSS fue posible conocer con cuales factores de riesgo estuvieron en contacto los pacientes con brucelosis, esto permitió identificar a aquellos que predominan en la transmisión de la enfermedad.

7.5.6 Sintomatología

Haciendo uso de la información contenida en el apartado de «sintomatología» de las encuestas epidemiológicas fue posible identificar a los síntomas que se presentaron con mayor frecuencia en el transcurso de la enfermedad.

8. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

8.1 Análisis serológico realizado mediante las pruebas: Rosa de Bengala, SAT y 2-ME

Los sueros de pacientes se analizaron por las pruebas establecidas en la NOM-022-SSA2-2012, fueron recibidos en el Laboratorio de Patogenicidad Microbiana del CICM-ICUAP durante 1 año, en el cual se recolectaron un total de 164 sueros sospechosos a brucelosis de acuerdo a los datos registrados por los médicos de las unidades médico familiares (UMF-IMSS) respectivas, como fueron su sintomatología, localidad, hábitos alimenticios y ocupación.

El análisis serológico presuntivo realizado mediante Rosa de Bengala demostró que 14.63% fueron sueros negativos y 85.36% fueron sueros positivos a la prueba de Rosa de Bengala, posteriormente, los 140 sueros positivos a Rosa de Bengala fueron sometidos a las pruebas confirmatorias SAT y 2-ME, confirmando que el 51.21% (84) fueron positivos a brucelosis humana, pero se encontró que las muestras de 13 pacientes eran de seguimiento a pacientes ya diagnosticados por lo que se excluyeron de los casos nuevos positivos a brucelosis por lo que el porcentaje real de nuevos casos confirmados de brucelosis es de 44.28% (62) como se observa en la Figura 5.

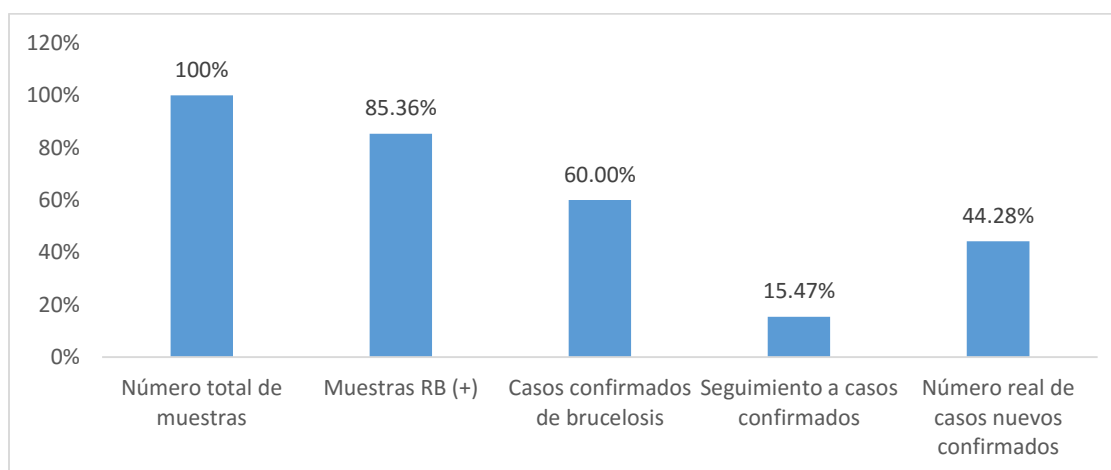


Figura 5. Resultados de sueros de individuos con las pruebas de RB, SAT y 2-ME. El total de sueros analizados de las Unidades Médicas Familiares (UMF) del IMSS fueron 164. El 85.36% (140) de los sueros fueron positivos a la prueba de Rosa de Bengala. Las pruebas confirmatorias SAT y 2-ME confirmaron el diagnóstico de brucelosis en el 60% (84) de las muestras. Posteriormente se separaron los casos de seguimiento (15.47%) de los nuevos casos (44.28%).

Es importante señalar, que, de acuerdo a los títulos de anticuerpos, los sueros de los pacientes positivos a brucelosis humana se clasifican en tres grupos (Secretaría de Salud, 2015), de los resultados obtenidos se presentan los siguientes datos:

Grupo 1: Lo integran 2 sueros (3.22%) con títulos de 1:80 para la prueba de SAT y negativos para la prueba de 2-ME.

Grupo 2: Conformado por 11 sueros (17.74%), con títulos de SAT $\geq 1:20$ y 2-ME $= 1:20$.

Grupo 3: Está constituido por 49 sueros (79.03%), con títulos SAT $\geq 1:80$ y títulos de 2-ME $\geq 1:20$

Los resultados del análisis serológico de todos los pacientes se muestran en la Tabla 5.

Tabla 5. Resultados obtenidos de las pruebas serológicas realizados a las muestras

Pruebas						
Número de muestras	%del No. de pacientes	RB	SAT	2ME	Resultado	Interpretación
24	14.63%	(-)	(-)	(-)	Negativo	Negativo
10	6.09%	(+)	(-)	(-)	Indeterminado	Memoria Inmunológica
46	28.04	(+)	<1:80	(-)	Indeterminado	Paciente saliendo de la infección en curso
2	3.22%	(+) Grupo1	$\geq 1:80$	(-)	Positivo	Positivo
11	17.74%	(+) Grupo2	$\geq 1:20$	1:20	Positivo	Positivo
49	79.03%	(+) Grupo3	$\geq 1:80$	$\geq 1:20$	Positivo	Positivo

El análisis de los sueros mediante las pruebas de diagnóstico incluidas en la NOM-022-SSA2-2012 corroboró que más de la mitad de los casos sospechosos de brucelosis fueron positivos.

A pesar de que algunas zonas de Puebla han sido declaradas zonas de erradicación, los resultados obtenidos demuestran que la incidencia de esta enfermedad continúa elevándose, ya que, en comparación con años anteriores, los reportes de casos de brucelosis por parte del IMSS en Puebla han aumentado, desde 2007 a 2014 se ve como el número de casos reportados por el IMSS

aumenta cada año, en 2015 el número de estos se redujo el número, y para el 2016 se incrementó nuevamente (Figura 6) (Secretaría de Salud, 2016a).

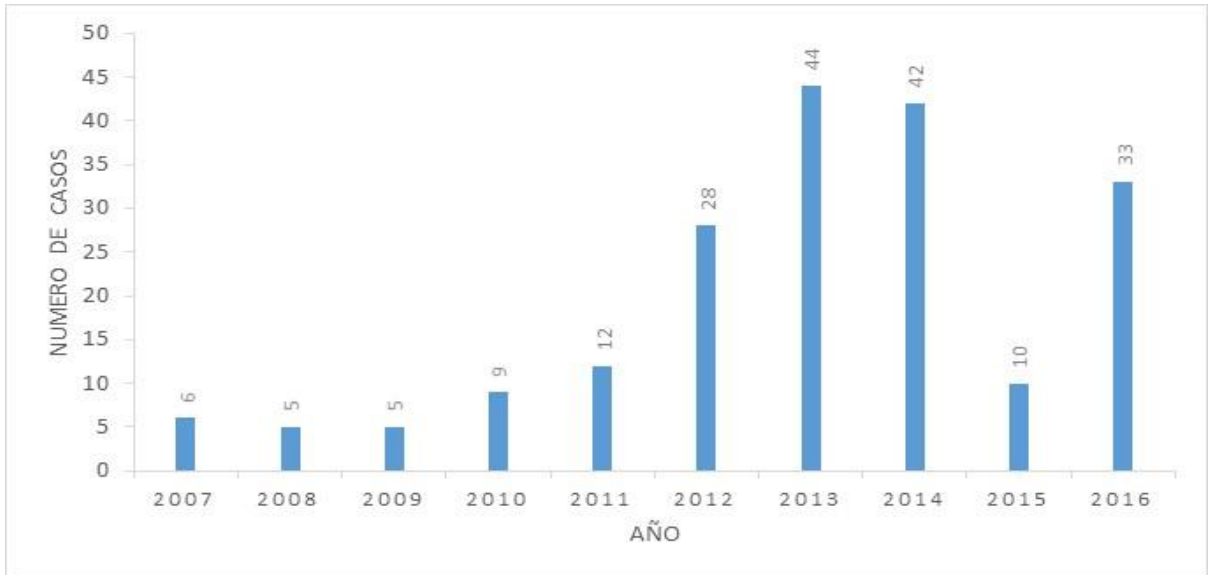


Figura 6. Casos reportados de brucelosis humana anualmente por parte del IMSS, en el estado de Puebla durante el periodo 2007-2016. Se observa la tendencia de la brucelosis del año 2007 al 2016, periodo en el que la tendencia era al alza con excepción del año 2015. Secretaría de Salud, 2016a

Es importante recalcar que las muestras para diagnóstico de brucelosis humana no nos llegaron de todas las UMF-IMSS del Estado sino solo de las que hicieron uso del servicio ofertado por el laboratorio y durante el periodo de estudio (2015-2016) se encontraron un total 62 pacientes cuyos resultados a las pruebas serológicas fueron positivos para nuevos casos de brucelosis (Figura 7), mientras que el IMSS durante el mismo periodo solo reportó un total de 43 casos en todas las UMF-IMSS del Estado, esto confirma lo dicho por publicaciones internacionales como la de Abdinasir *et al*, 2016, donde se menciona que la brucelosis es subestimada en países en vías de desarrollo, lo cual podría atribuirse en parte a la falta de recursos destinados a la atención de zoonosis consideradas como desatendidas.

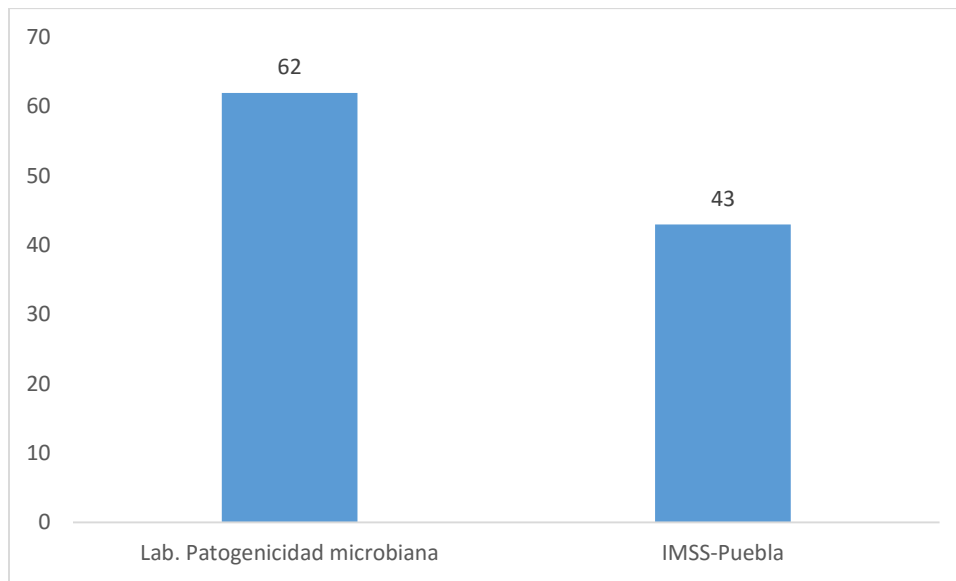


Figura 7. Nuevos casos confirmados de brucelosis humana en el laboratorio de patogenicidad microbiana vs casos reportados por el IMSS-Puebla durante el periodo 2015-2016

Por lo anterior se deduce que la brucelosis es efectivamente una zoonosis desatendida y las medidas de control para esta enfermedad han sido insuficientes, lo que pone en peligro a poblaciones tanto rurales como urbanas de padecer esta enfermedad.

8.2 Hemocultivo

En el diagnóstico de la brucelosis, el aislamiento de la bacteria es considerado la prueba de oro y para realizar este aislamiento la muestra más comúnmente usada es la sangre. Aunque el hemocultivo es considerado la mejor prueba de la infección por *Brucella* lo cierto es que el aislamiento es muy difícil ya que es una bacteria intracelular de crecimiento exigente, requiere tiempos prolongados de incubación, además de que se manipulación implica un riesgo de infección para el analista.

De las 41 muestras de sangre total solo se logró identificar que en 4 aislamientos había el género *Brucella*, corroborado mediante:

- 1) Tinción Gram y observación microscópica, donde se observaron cocobacilos cortos Gram negativos.

2) Batería de pruebas bioquímicas que incluyeron los medios LIA, TSI, Citrato de Simmons, MIO y Urea. Los resultados se muestran en la Tabla 6.

Tabla 6. Resultados obtenidos en las pruebas bioquímicas de las bacterias aisladas que señalan su pertenencia al género *Brucella*

Medio	Resultado	Causas
LIA	(-)	<i>Brucella</i> spp. no cuenta con la maquinaria enzimática para descarboxilar o desminar la lisina y posee un metabolismo oxidativo
TSI	(-)	El metabolismo de <i>Brucella</i> spp. Es oxidativo no fermentativo
Citrato de Simmons	(-)	<i>Brucella</i> spp. no es capaz de utilizar el citrato como fuente de carbono
MIO	(-)	Movilidad: <i>Brucella</i> spp. no presenta movilidad, aunque se ha demostrado que tiene los genes necesarios para tal función. Ornitina: la bacteria no tiene la enzima para descarboxilar la ornitina y por lo tanto no se produce un cambio en el pH del medio. Indol: la bacteria no tiene la enzima para utilizar el indol por lo tanto no hay cambio en el pH del medio para que se produzca el vire
Urea	(+)	La bacteria tiene la enzima ureasa por lo que es capaz de romper la molécula de urea produciendo compuestos (liberando amoníaco y dióxido de carbono) que alcalinizan el medio y hacen que este vire hacia el color rojo

En la literatura frecuentemente se reporta que el aislamiento microbiológico de *Brucella* resulta negativo en la mayoría de las veces, en nuestro caso, a pesar de que contar con muestras sanguíneas de pacientes con títulos altos en las pruebas SAT y 2-ME indicativas de la infección, no se logró obtener el aislamiento a pesar de que se llevaron a cabo los cuidados para el crecimiento y el tiempo de incubación del cultivo (Rubach *et al*, 2013).

8.3 Georreferenciación

Gracias a la información contenida en el acuse adjunto a cada muestra recibida de suero, se obtuvo la información necesaria para realizar una georreferenciación por municipio de los pacientes con títulos positivos a brucelosis.

Los resultados muestran al municipio de Puebla como el lugar principal donde se presenta la enfermedad ya que de aquí se confirmaron 25 casos en segundo lugar se encuentran los municipios de Amozoc de Mota, Izúcar de Matamoros, San

Andrés Cholula, San Pedro Cholula y Teziutlán con dos casos en cada municipio, en tercer lugar están los municipios de Ciudad Serdán, Cuautlancingo, Ixcaquixtla, San Martín Texmelucan Santa Isabel, y Tepeojuma, y Xiutetelco con un caso cada uno, cabe señalar que en los acusos recibidos hubo ocasiones donde la información correspondiente al domicilio no se encontraba, por lo que en algunos casos es imposible saber a qué municipio pertenecían las muestras de estos como se muestra en la Tabla 7.

Tabla 7. Municipios de Puebla en donde se presentaron casos de brucelosis

Municipio	Número de casos
Amozoc de mota	2
Ciudad Serdán	1
Cuautlancingo	1
Ixcaquixtla	1
Izúcar de Matamoros	2
No especifico	20
Puebla	25
San Andrés Cholula	2
San Martin Texmelucan	1
San Pedro Cholula	2
Santa Isabel	1
Tepeojuma	1
Teziutlán	2
Xiutetelco	1

De acuerdo al tipo de comunidad se encontró que la mayoría de casos ocurrieron en comunidades urbanas con un 54.83% (34), y después a las rurales con un 12.90% (8), sin embargo, en 20 de las muestras recibidas no fue posible determinar a qué tipo de comunidad pertenecían los pacientes debido a la ausencia de información relacionada con este aspecto en las encuestas recibidas. Con los resultados obtenidos en este estudio se puede afirmar tentativamente que en el municipio de Puebla existe una mayor susceptibilidad a padecer la enfermedad en comunidades urbanas y que en el resto de los municipios es difícil conocer que tipo de población es la más susceptible debido a los pocos casos que se presentaron,

cabe resaltar que existe un problema en cuanto a la capacidad de generar encuestas homogéneas, esto por la gran cantidad de casos (20/62) en los que no se incluyó información que pudiera ayudar a determinar a qué tipo de comunidad pertenecían los pacientes, estos resultados se presentan en la Figura 8.

Es posible que los resultados obtenidos señalen al municipio de Puebla como la zona de mayor infección debido a que la mayoría de las muestras fueron recibidas de UMF de este municipio y no necesariamente a que sea realmente la zona más afectada. Para corroborar esto sería necesario un estudio a mayor escala y que incluya a todas las fuentes de notificaciones de casos.

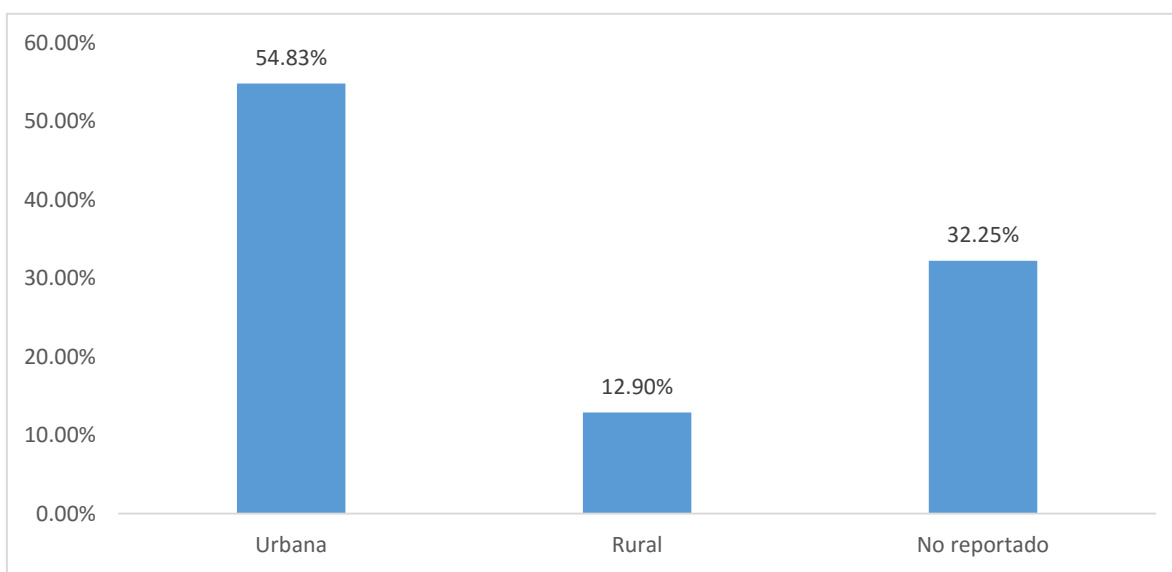


Figura 8. Prevalencia de la enfermedad en el Estado en relación al tipo de comunidad, rural o urbana

Respecto al género de los pacientes con brucelosis analizados, la población femenina fue la más susceptible a la brucelosis que la masculina, esto debido a que el 65.07% de los casos fueron mujeres, mientras que el 31.74% de los casos fueron hombres (Figura 9).

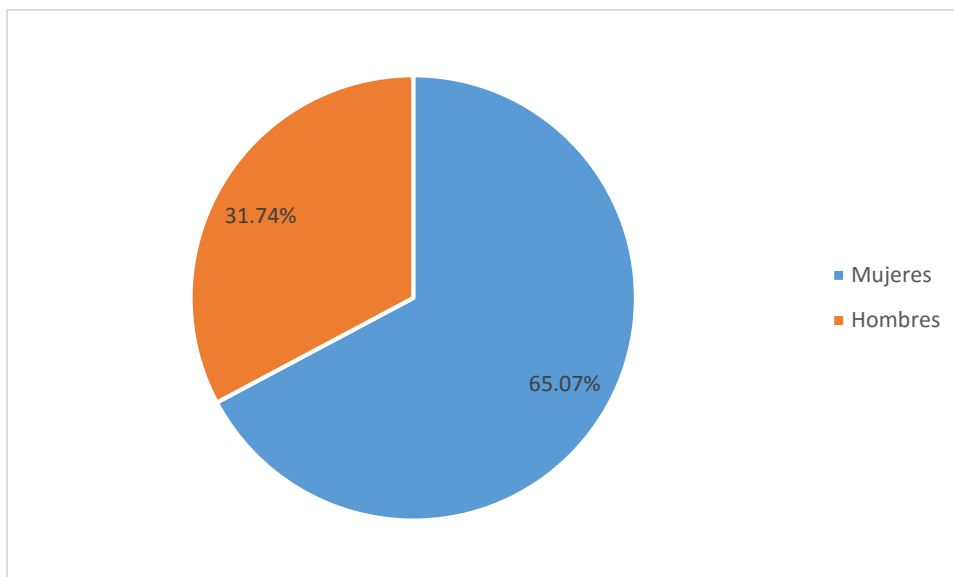


Figura 9. Porcentaje e incidencia de brucelosis por género. De los 62 pacientes positivos a brucelosis se observó que la mayor parte de los afectados pertenecen al sexo femenino con un 65.07% mientras que los pacientes de sexo masculino representan solo el 31.74%.

De acuerdo a Corbel, 2006, la brucelosis es más prevalente en hombres que en mujeres sin embargo datos de la Secretaría de Salud, 2012 en México muestran que esta enfermedad es más común en mujeres que en hombres en nuestro país, esto puede ser a que son las mujeres quienes se involucran más en la fabricación de los alimentos derivados de lácteos artesanales.

El rango de edad en que se presenta la enfermedad es muy variable, tanto en hombres como en mujeres la brucelosis puede adquirirse durante cualquier etapa de la vida, en diferentes partes del mundo la enfermedad no afecta a una edad específica sino que se relaciona con la exposición a factores de riesgo lo cual depende de factores tanto culturales como socioeconómicos, de las mujeres que son las más susceptibles a padecer la enfermedad se encontró una mayor susceptibilidad a contraer la enfermedad en mujeres en un rango de edad de 50-

59 mientras que en la población masculina se halló una mayor susceptibilidad para contraer la enfermedad en un rango de edad entre 25-44 años.

El intervalo de edad en los que se presentó la infección se muestra en la Figura 10

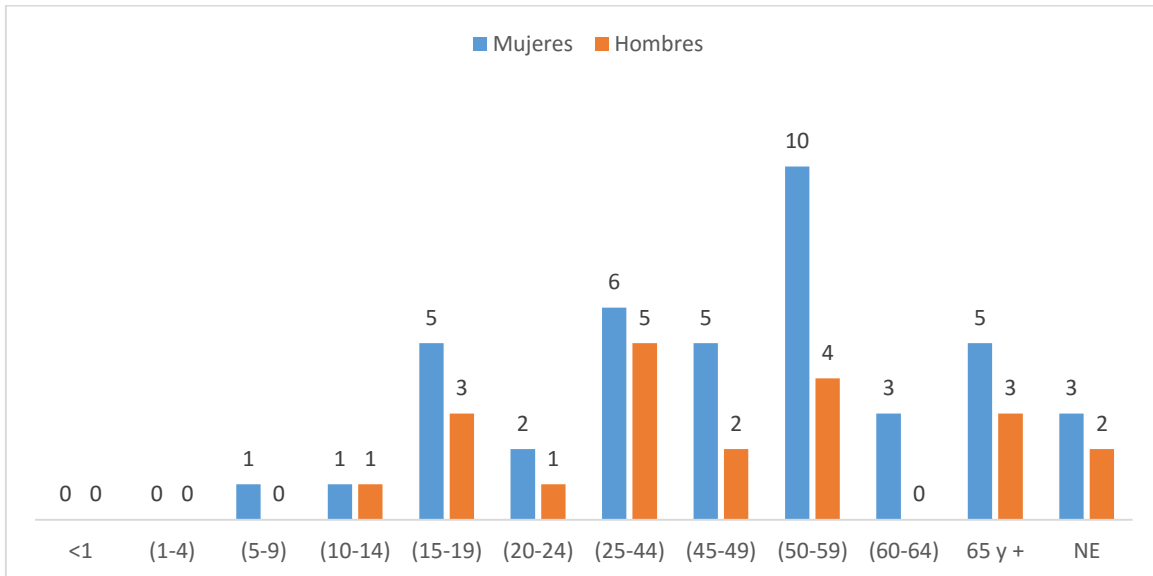


Figura 10. Intervalos de edad de los pacientes positivos a brucelosis.

Según datos de la OMS,2006 la brucelosis es conocida por atacar más en un intervalo de edad de entre 20-45 años, que comúnmente se considera como el periodo laboral más activo, que la enfermedad se muestre en una población de mayor edad podría estar relacionado con diversos factores culturales y económicos por ejemplo, el consumo de alimentos no pasteurizados puede ser preferible por situaciones económicas, no obstante, en una zona endémica de brucelosis, el riesgo de adquirir la enfermedad es elevado, por otro lado también es posible que los periodos laborales se prolonguen, por tanto individuos siguen trabajando a edades más avanzadas lo que puede exponerlos aún más al consumo de alimentos elaborados en condiciones no sanitarias.

8.4 Factores de riesgo alimenticios y contacto con animales

Los alimentos son una fuente de infección muy común para adquirir la enfermedad esto según los datos de la Secretaría de Salud 2015, principalmente si los alimentos no son pasteurizados.

México produce entre 9,000 y 10,000 millones de litros de leche de vaca por año, de este volumen el 35% es consumido como quesos sin pasteurizar y leche bronca.

De los 120 millones de litros de leche de cabra producidos en el país, al menos 85% es consumida como quesos sin pasteurizar, elaborados sin una vigilancia sanitaria. Debido a esto el riesgo alimentario para la trasmisión de enfermedades incluida la brucelosis es alto. Las cifras de brucelosis humana están directamente relacionadas con el consumo de leche bronca y sus derivados (Luna & Mejía, 2002)

En este estudio se observó que el llamado queso fresco que comúnmente se elabora de manera artesanal, sin pasteurizar, es el principal factor de riesgo alimenticio consumido por el 35% de los pacientes estudiados. En segundo lugar, se encuentra la leche de bovino con un 20%. En tercer lugar, mantequilla con un 4%. Finalmente, el queso maduro y la leche de origen caprino son los alimentos menos referidos por los pacientes diagnosticados con brucelosis con solo 3%. Del 35% de pacientes restantes no se refirió el consumo de alimentos en su historia clínica. Esta información se representa en la Figura 11.

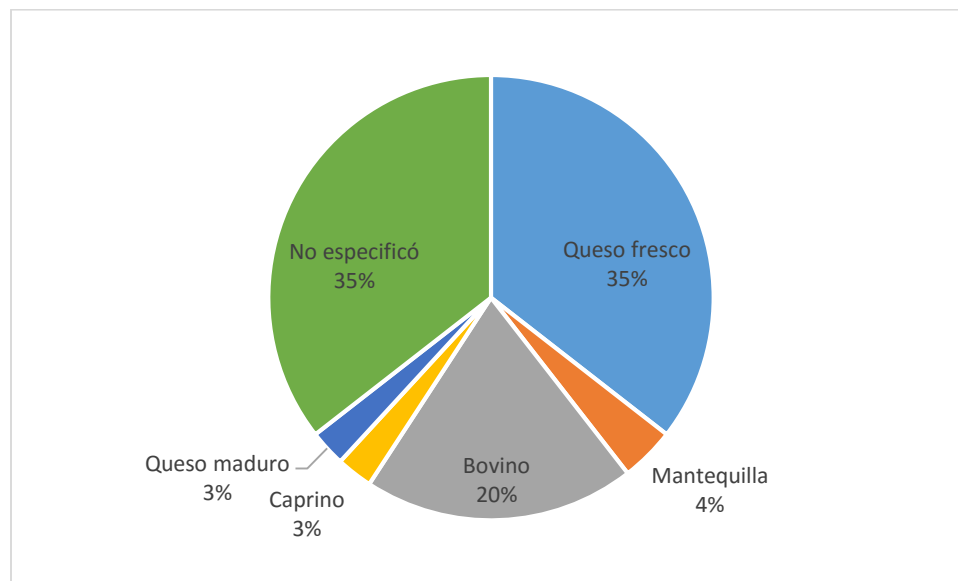


Figura 11. Porcentajes de los alimentos consumidos por pacientes positivos a brucelosis

Con respecto al contacto con animales, destaca que el 10% tuvieron contacto principalmente con los bovinos, seguido de los caninos con un 7%, en tercer sitio se encuentra el contacto con los caprinos con un 5%, para el cuarto sitio se encuentra al contacto con los porcinos con un 4%, después tenemos el contacto con gatos con un 3% (figura 12).

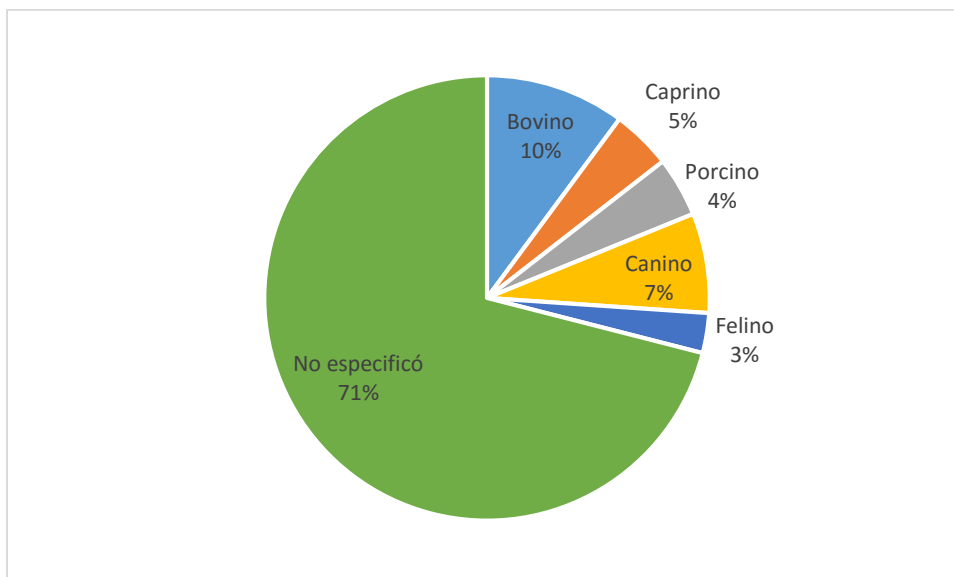


Figura 12. Porcentajes de los animales con los cuales los pacientes positivos a brucelosis

En el presente estudio se encontró que el principal factor de riesgo más reportado es el consumo de alimentos ya que el 65% de los pacientes refirió el consumo de algún derivado lácteo, entre los cuales destacan los quesos frescos (35%) (Figura 11).

Esto se debe a que la producción de leche bovina en Puebla que se concentra en los municipios de Tecamachalco, Cholula y Libres, y que aportan el 88% de los 439,055 miles de litros usados en el Estado, es destinada principalmente a la elaboración de quesos por transformadores que colectan la leche a pie y la producción se destina a nivel local, regional y estatal, atendiendo la demanda de las grandes ciudades del estado y también, de otros estados aledaños (SAGARPA, 2014).

La explotación de la cabra con fines lecheros se realiza principalmente en el Distrito de Libres, que aporta el 56% de los 1,889 miles de litros producidos a nivel estatal. La leche se destina básicamente a la elaboración de quesos artesanales, ya sean elaborados en la unidad de producción de los caprino cultores o por transformadores y el queso se destina básicamente al mercado local y regional (SAGARPA, 2014)

Por otro lado, el papel de la convivencia con animales (29%) en la transmisión de la zoonosis es menor en comparación con el consumo de alimentos (65%), y aunque pocas personas refirieron la convivencia con animales parece ser que el principal

animal transmisor de la brucelosis al hombre son los bovinos ya que el 10% de los pacientes refirió tener contacto con este tipo de animales, esto debido a que el contacto con este tipo de animales es muy común en ciertas zonas del Estado donde una de las principales fuentes de ingresos es la crianza de estos animales para diversos fines comerciales. Lo mismo aplica para los caprinos ya que un 5% de los pacientes refieren el contacto con estos animales. El 7% de los pacientes refirió tener contacto con caninos, lo que es importante ya que ellos son hospederos de *B. canis* que es patógena para el hombre aunque la virulencia de este microorganismo para los humanos puede resultar baja y la enfermedad provocada es de menor intensidad en comparación con la producida por otras especies de *Brucella* (Flores & Carmichel, 1981).

Las tasas de seroprevalencia informadas en humanos incluyen 13.3% de un grupo de 203 de pacientes de hospitales en México (Flores & Carmichel, 1981). Sin embargo es importante señalar que México es un país que cuenta con una gran cantidad de perros callejeros y domésticos los cuales mantienen un estrecho contacto entre ellos y con humanos lo cual es un factor determinante en la transmisión de enfermedades infecciosas (Flores & Segura, 1975). Además, las infecciones por *B. canis* puede ser difíciles de diagnosticar y es posible que los casos no sean declarados en su totalidad (Iowa state university, 2009a).

El 4% de los pacientes refirió tener contacto con porcinos que son hospederos de *B. suis*, bacteria que también es capaz de generar la enfermedad en el hombre lo que los convierte en un riesgo potencial.

La mayoría de las especies de *Brucella* se asocian principalmente con un huésped determinado; no obstante, las infecciones también pueden ocurrir en otras especies, especialmente cuando se las mantiene en contacto estrecho. Ocasionalmente, se han informado casos de *B. suis* en el ganado bovino, los pequeños rumiantes, los caballos, los perros y otros hospedadores incidentales (Iowa state university, 2009b).

En este trabajo el 3% de los pacientes refirió el contacto con felinos (Figura 12). Si bien hay trabajos que notifican la presencia de anticuerpos anti-*Brucella* en felinos domésticos (Larsson, 1984), y casos de brucelosis transmitida a humanos por felinos

(Repina *et al.*, 1993) debería estudiarse más en profundidad para evaluar al felino como posible transmisor y portador de la enfermedad.

8.5 Sintomatología

La brucelosis presenta una amplia sintomatología, en este estudio los síntomas más comunes fueron, cefalea, artralgias, mialgias, fiebre y náuseas. De los pacientes positivos a brucelosis, 29 de ellos (46.77%) presentaron cefalea, 26 de ellos (41.93%) presentaron artralgias, 25 (40.32%) presentaron fiebre y/o mialgias y 17 (27.41%) presentaron náuseas. La sintomatología reportada coincide con la que se presenta de manera más generalizada en cuadros de brucelosis, tal como lo describe Moreno en 2014. Sin embargo, es importante recordar que la brucelosis es una entidad clínica que no tiene una sintomatología propia y que sus síntomas aparecen en otras enfermedades infecciosas (Buzgan *et al.*, 2010).

Además durante el diagnóstico la prueba de escrutinio Rosa de Bengala puede dar positiva en el transcurso de otras enfermedades como la tularemia y la tuberculosis así también pueden presentarse reacciones cruzadas con otras bacterias como *Yersinia enterocolitica* (Galińska & Zagórski, 2013), por lo que la brucelosis en muchas ocasiones puede ser confundida y mal diagnosticada, lo que ocasiona que los tratamientos provistos no sean los correctos, esto favorece que la enfermedad evolucione de una infección aguda a una crónica lo que a su vez hace aún más complicado la identificación del agente etiológico (Buzgan *et al.*, 2010).

Se presentaron otros síntomas que aparecen con menos frecuencia (Figura 13).

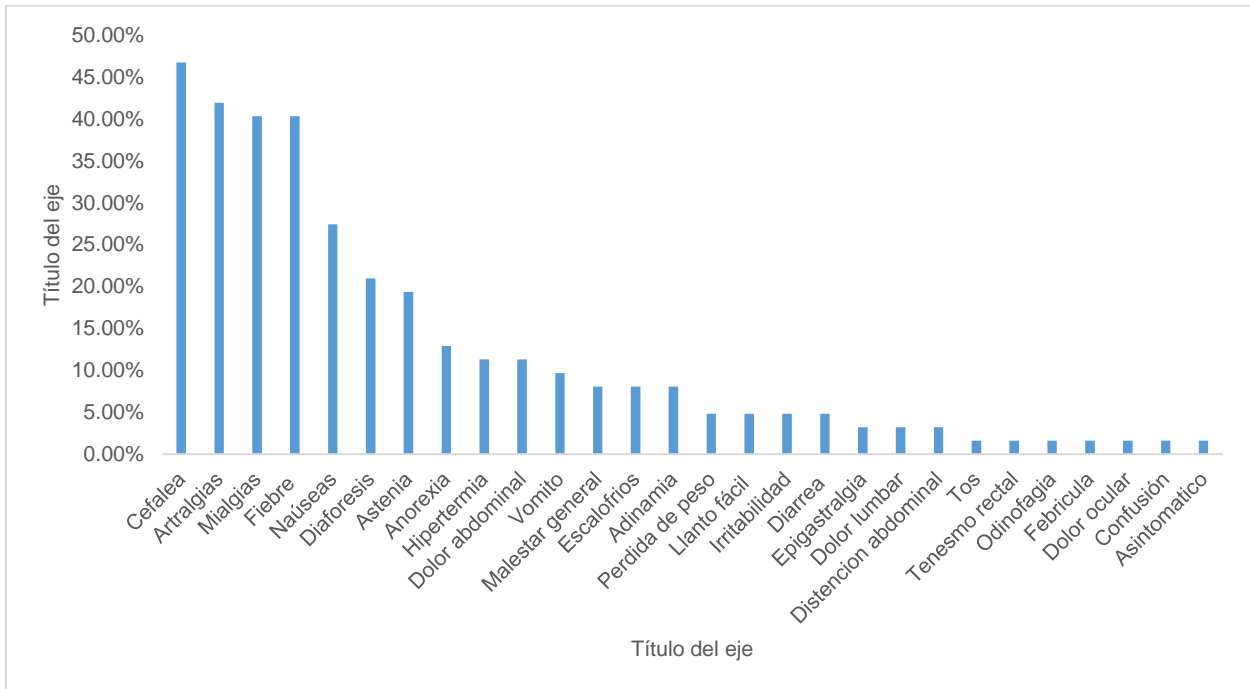


Figura 13. Sintomatología de la brucelosis referida por los pacientes en sus historias clínicas.

La sintomatología de la brucelosis varía en cada individuo por lo que puede aparecer de manera asintomática, con uno, o con varios síntomas. Lo que dependerá del estado inmune de la persona infectada, el órgano o sistema afectado y la etapa de la infección (crónico o agudo).

9. Conclusiones

- La evaluación de la seroepidemiología por título de anticuerpos confirmó que la enfermedad es subestimada en el Estado esto debido a los reportes donde el IMSS teniendo 363 clínicas en el Estado y de estas 45 corresponden a UMF reporta menos casos (43 casos) entre el 2015-2016 que los hallados en el laboratorio (62 casos) que solo recibió muestras de 17 UMF que hicieron uso del servicio de diagnóstico.
- El análisis a las encuestas epidemiológicas evidencio que los factores de riesgo es orden de importancia son, el consumo de alimentos y el contacto con animales mientras que de la exposición ocupacional no se tiene información.
- El aislamiento de *Brucella* spp es difícil, debido a las complejas necesidades nutricionales de la bacteria, a su tendencia a habitar un nicho intracelular y a que en sangre la bacteria se encuentra en un número escaso y lo hace de manera intermitente.
- Por la falta de información en las encuestas epidemiológicas resulta difícil conocer que comunidad (rural/urbana) es la más afectada a nivel Estado, sin embargo, se sabe que en el municipio de Puebla las comunidades urbanas son las más vulnerables.
- Las mujeres son más susceptibles a contraer la enfermedad que los hombres y en ellas la enfermedad predomina en un rango de edad de entre 50-59 años mientras que en hombres lo hace de 20-24 años.
- El consumo de quesos frescos contaminados destaca como principal factor de riesgo para la transmisión de la enfermedad.

10. Recomendaciones

- Para conocer la verdadera situación epidemiológica de la brucelosis sería de gran utilidad un estudio que abarque a todas las UMF del IMSS en el estado.
- Mayor atención a programas de vigilancia, control y prevención de la brucelosis.
- Realizar estudios en las principales zonas lecheras tanto de animales bovinos como caprinos y controlar la enfermedad en ellos ya la experiencia de los países donde la enfermedad ha sido erradica señala que, al disminuir la brucelosis animal, lo hace también la humana.
- Dar a conocer la información a productores de leche sobre la importancia de la pasteurización para evitar la propagación de la enfermedad.
- Realizar el análisis con técnicas más sensibles y específicas como ELISA, ya que en los casos de brucelosis crónica el resultado puede dar negativo con las técnicas convencionales, pero aparecer positivo al usar técnicas más modernas.

11. Bibliografía

Abdinasir, O., Faez, J., Arifah, K., & Abdul, S. (2016). The Epidemiology and Immunopathophysiology of Brucellosis in Small Ruminant. *Pertanika Journal of Scholarly Research Reviews* , 11-21.

Akpinar, O. (2016). Historical perspective of brucellosis: a microbiological and epidemiological overview. *Le Infezioni in Medicina* , 77-86.

Al Dahouk, S., Tomaso, H., Nöckler, K., Neubauer, H., & D, F. (2003). Laboratory-based of Brucellosis – A review of the literature. Part I: Techniques for direct detection and identification of *Brucella* spp. *Clinical Laboratory* , 487-505.

Aller, B. (1975). Brucellosis in Spain. *Int J Zoonoses* , 10-15.

Alton, G., Jones, L., & Pietz, D. (1976). *Las técnicas de laboratorio en la brucelosis*. Ginebra: Organización Mundial de la Salud.

Araj, G. (2010). Update on laboratory diagnosis of human brucellosis. *International Journal of Antimicrobial Agents* , 12-17.

Brucellosis: a re-emerging zoonosis 2010 *Veterinary Microbiology* 392-398

Buzgan, T., Karahocagil, K., Irmak, H., Baran, A., Karsen, H., Evirgen, O., y otros. (2010). Clinical manifestations and complications in 1028 cases of brucellosis: a retrospective evaluation and review of the literature. *International Journal of Infectious Diseases* , 469–478.

Cardeñosa, N. (2009). Estudios Seroepidemiológicos. *Revista Española de Salud Pública* , 607-610.

Celli, J. (2015). The changing nature of the *Brucella*-containing vacuole. *Cellular Microbiology* , 951-958.

Corbel, J. (2006). *Brucellosis en humans and animals*. Suiza: World Health Organization.

Figueiredo, P., Ficht, T., Rice, A., Rossetti, C., & Adams, L. (2015). Pathogenesis and Immunobiology of Brucellosis. *The American Journal of Pathology* , 1505-1517.

Flores, R., & Carmichel, L. (1981). Brucellosis causada por *Brucella canis*. *Clinica veterinaria* , 178-193.

Flores, R., & Segura, R. (1975). Estudio sobre *Brucella canis* en México. *Técnica pecuaria* , 54-58.

- Franco, P., Mulder, M., Gilman, H., & Smits, L. (2007). Human brucellosis. *Lancet Infectious Diseases* , 775-786.
- Galińska, E., & Zagórski, J. (2013). Brucellosis in humans – etiology, diagnostics, clinical forms. *The Annals of Agricultural and Environmental Medicine* , 233–238.
- Garza, J. (2010). La situación actual de las zoonosis más frecuentes en México. *Gaceta Médica de México* , 430-436.
- Godfroid, J., Al Dahouk, S., Pappas, G., Rothf, F., Matopeg, G., Mumah, J., y otros. (2013). A “One Health” surveillance and control of brucellosis in developing countries: Moving away from improvisation. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases* , 241-248.
- Guzmán, R., Contreras, A., Ávila, E., & Morales, M. (2016). Brucelosis: zoonosis de importancia en México. *Rev Chilena Infectología* , 656-662.
- Hernández, M., Garrido, F., & López, S. (2000). Diseño de estudios epidemiológicos. *Salud Pública de México* , 144-154.
- Iowa state university. (2009)b. *Brucelosis porcina y rangiferina. B. suis*. Obtenido de http://www.cfsph.iastate.edu/Factsheets/es/brucella_suis-es.pdf.
- Iowa state university. (2009)a. *Brucelosis canina: Brucella canis*. Obtenido de http://www.cfsph.iastate.edu/Factsheets/es/brucella_canis-es.pdf.
- Kuri, P., Guzmán, E., De La Paz, E., & Salas, A. (2015). Enfermedades emergentes y reemergentes. *Gaceta Médica México* , 674-680.
- Larsson, M., Larsson, C., Fernández, W., Costa, E., & Hagiwara, M. (1984). *Brucella canis*. Serological and bacteriological in a feline population. *Rev. Saude Publica* , 47-50.
- Luna, J., & Mejía, C. (2002). Brucellosis in Mexico: current status and trends. *Veterinary Microbiology* , 19-30.
- Merino, A., Migrañas, O., Pérez, A., Magos, C., & et al. (1992). Seroepidemiología de la brucelosis en México. *Salud Pública México* , 230-240.
- Mohamed, E., Alwaleed, A., & Abdullah, A. (2015). Host response to *Brucella* infection: review and future perspective. *The journal of infection in developing countries* , 697-701.

Moral, M. (2013). Enfermedades infecciosas brucelosis Diagnostico de brucelosis. *Guia para el equipo de salud* , 1-56.

Moreno, E. (2014). Retrospective and prospective perspectives on zoonotic brucellosis. *Frontiers in Microbiology* , 5, 1-18.

Organización Mundial de la Salud (OMS). (2015). *Epidemiología*. Obtenido de <http://www.who.int/topics/epidemiology/es/>.

Organizacion Panamericana de Salud. (2015). *Enfermedades transmitidas por alimentos (ETA)*. Obtenido de http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_content&view=article&id=10836%3A2015-enfermedades-transmitidas-por-alimentos-eta&catid=7678%3Ahaccp&Itemid=41432&lang=pt.

Percin, D. (2012). Microbiology of Brucella. *Recent Patents on Anti-Infective Drug Discovery* , 13-17.

Productora Nacional de Biológicos Veterinarios. (2016). *Las enfermedades zoonóticas en México*. Obtenido de <https://www.gob.mx/pronabive/articulos/las-enfermedades-zoonoticas-en-mexico?idiom=es>.

Repina, L., Nikulina, A., & Kosilov, I. (1993). A case of human wiyh brucellosis from a cat. *Zh Mikrobiol Epidemiol Immunobiol.* , 66-68.

Rubach, M., Halliday, J., Cleaveland, S., & Crump, J. (2013). Brucellosis in low-income and middle-income countries. 404-412.

SAGARPA. (2014). *Estudio estrategico. Evaluación de Alternativas y Potencial de Comercialización para los Productos y Especies de Unidades Productivas con Escala Mínima Rentable del Estado de Puebla*.

Sbriglio, J. S. (2001). Brucelosis: una patología generalmente subdiagnosticada en Humanos y que impacta negativamente en la producción pecuaria y desarrollo de nuestros países. *Bioanalisis* , 19-22.

Secretaría de Salud. (2015). *Manual para la vigilancia epidemiologica de la brucelosis*. Obtenido de <https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/36343/GuiaBrucelosis.pdf>.

Secretaría de Salud. (2016)a. Obtenido de <http://www.epidemiologia.salud.gob.mx/anuario/html/anuarios.html>

Secretaría de Salud. (2016)b. *Boletín epidemiológico*. Obtenido de <https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/129562/sem33.pdf>.

Secretaría de Salud. (2012). *Manual de procedimientos estandarizados para la vigilancia epidemiologica de la brucelosis*. Mexico: IEPSA.

Secretaría de Salud. (2012). *Norma Oficial Mexicana NOM-022-SSA2-2012, Para la prevención y control de la brucelosis en el ser humano*. Obtenido de http://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5258723&fecha=11/07/2012.

Seleem, N., Boyle, M., & Sriranganathan, N. (2010). Brucellosis: a re-emerging zoonosis. *Veterinary Microbiology* , 140 (3-4), 392-398.

Servicio Nacional de Sanidad, I. y. (2016). *Situación actual del control de la brucelosis en México*. Obtenido de <https://www.gob.mx/senasica/documentos/situacion-actual-del-control-de-la-brucelosis-en-mexico>: <https://www.gob.mx/senasica/documentos/situacion-actual-del-control-de-la-brucelosis-en-mexico>

Silva, R. (1948). *Contribución al estudio de la bibliografía mexicana sobre la brucelosis. Primera Reunión Interamericana de la Brucelosis*. México.

Suárez, E., Arellano, F., & Díaz., E. (2009). *Brucelosis: Importancia en la salud pública y el ámbito pecuario, su control y diagnóstico*. Recuperado el 17 de Junio de 2017, de <http://www.zoonosis.unam.mx/contenido/publicacion/archivos/libres/Brucelosis>.

Ulu, A., Metan, G., & Alp, E. (2013). Clinical Presentations and Diagnosis of Brucellosis. *recent patents on anti-infective drug discover* , 34-41.

Vega, C., Ariza, R., & Rodríguez, F. (2008). Brucellosis. Una infección vigente. *Acta médica grupo angeles* , 158-165.

von Bargen, K., Gorvel, J., & Salcedo, S. (2012). Internal affairs: investigating the Brucella intracellular lifestyle. *Federation of European Microbiological Societies* , 533–562.