



**IDENTIFICACIÓN DE *BRUCELLA SPP.* EN ESTUDIANTES DE MEDICINA
VETERINARIA DE LA UNIVERSIDAD DE CIENCIAS AMBIENTALES Y
APLICADAS (U.D.C.A)**

**UNIVERSIDAD COLEGIO MAYOR DE CUNDINAMARCA
FACULTAD CIENCIAS DE LA SALUD
PROGRAMA BACTERIOLOGÍA Y LABORATORIO CLÍNICO
TRABAJO DE GRADO
BOGOTÁ, COLOMBIA. MARZO 2018**



**IDENTIFICACIÓN DE *BRUCELLA SPP.* EN ESTUDIANTES DE MEDICINA
VETERINARIA DE LA UNIVERSIDAD DE CIENCIAS AMBIENTALES Y
APLICADAS (U.D.C.A)**

NATHALY RAMIREZ GALLEGO

**TRABAJO DE GRADO PARA OPTAR POR EL TÍTULO:
BACTERIÓLOGO Y LABORATORISTA CLÍNICO**

ASESOR:

JOHANNA MARCELA MOSCOSO GAMA
Bacterióloga y laboratorista clínico
Magister en Ciencias Biológicas.

**UNIVERSIDAD COLEGIO MAYOR DE CUNDINAMARCA
FACULTAD CIENCIAS DE LA SALUD
PROGRAMA BACTERIOLOGÍA Y LABORATORIO CLÍNICO
BOGOTÁ, COLOMBIA. MARZO 2018**

Dedicatoria

*A Dios porque todo es por él y para él,
A mi mamá por su esfuerzo, por darlo todo sin importar nada,
por ser mi fuerza y lo que siempre me motiva,
A mi papá por ser cabeza y fortaleza para mi vida,
A mis hermanos por la complicidad y el apoyo,
A mi familia por el infinito amor.*

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a Dios en primer lugar por la vida, por las oportunidades, porque cada camino lo hace perfecto, y porque es él quien guía mis pasos; gracias a mi familia, por el apoyo, el amor y la paciencia durante el proceso académico, por creer en mis capacidades e impulsarme a ser siempre mejor.

También agradezco a la Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca por abrir sus puertas al conocimiento, a la Facultad Ciencias de la Salud por el compromiso, y a cada docente que sembró en mí, pasión y amor por la bacteriología.

De manera muy especial expreso mi gratitud con el Grupo de investigación ECZA, Enfermedades Crónicas Zoonóticas y Adquiridas, por acogerme, guiar el proyecto y permitirme vivir experiencias únicas en el campo de la investigación. Así mismo, agradezco a mis mentores la Doctora Johanna Marcela Moscoso y el Doctor William Alberto Méndez por confiar en mis capacidades, alentarme a ir más allá, y guiar la construcción de este proyecto.

Agradecer a la Universidad de Ciencias Ambientales y Aplicadas (UDCA) y al *Laboratorio clínico veterinario Zoo&Lab* en la ciudad de Bogotá, por abrir sus puertas y permitir el desarrollo del proyecto de investigación.

TABLA DE CONTENIDO

RESUMEN	10
INTRODUCCION	11
OBJETIVOS	13
Objetivo General	13
Objetivos Específicos	13
1. ANTECEDENTES	14
2. MARCO REFERENCIAL	19
2.1 Zoonosis	19
2.2 Brucelosis	20
2.3 Agente Causal	21
2.3.1 Brucella Spp	21
2.3.2 Etiología	23
2.3.3 Brucella abortus	24
2.3.4 Brucella melitensis	26
2.3.5 Brucella suis	26
2.3.6 Brucella canis	27
2.3.7 Morfología y Estructura	29
2.4 Patogenia	33
2.5 Respuesta inmune	35
2.6 Transmisión de la Brucelosis	38
2.7 Brucelosis animal	40
2.8 Brucelosis Humana	41
2.9 Diagnóstico	43
2.9.1 Métodos Directos	44
2.9.2 Métodos indirectos	45
2.9.2.1 Prueba de Aglutinación Rosa de Bengala	46
2.9.2.2 Prueba de aglutinación estándar (SAT)	48
2.9.2.3 Prueba de Aglutinación con 2-mercaptoetanol (2-ME)	48
2.9.2.4 Prueba de Coombs indirecto	48

2.9.2.5 Prueba de inmunoensayo enzimático (ELISA)	49
2.10 Tratamiento	49
2.11 Epidemiología y salud pública	50
3. DISEÑO METODOLÓGICO	54
3.1 Tipo de estudio	54
3.2 Población	54
3.3 Muestra	54
3.4 Criterios de inclusión	54
3.5 Instrumentos	54
3.6 Variables	55
3.7 Técnicas y procedimientos	55
3.8 Identificación de <i>Brucella spp.</i> por técnicas convencionales	55
3.9 Análisis de Datos	56
4. RESULTADOS	57
4.1 ENCUESTAS	57
4.2 ESTUDIANTES QUE PARTICIPARON POR GÉNERO	58
4.3 CANTIDAD DE ESTUDIANTES POR EDADES	59
4.4 CONTACTO CON ANIMALES	60
4.5 CONSUMO DE AGUA	61
4.6 CONSUMO DE PRODUCTOS LÁCTEOS CRUDOS	62
4.7 USO DE BARRERAS DE PROTECCION	63
5. DISCUSION	65
6. CONCLUSIONES	72
7. RECOMENDACIONES	73
8. REFERENCIAS	74
9. ANEXOS	84

INDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1: Representación de Enfermedades Zoonóticas	19
Figura 2: <i>Brucella Spp.</i> Cocobacilos Gram negativos	21
Figura 3: Feto abortado por infección con <i>Brucella abortus</i>	25
Figura 4: Tinción de Gram realizada a un cultivo de <i>Brucella melitensis</i>	29
Figura 5: Detalle de las colonias de <i>Brucella spp.</i>	30
Figura 6: Esquema simplificado de la membrana externa de la pared celular de <i>Brucella spp.</i>	32
Figura 7: Representación de la fagocitosis de <i>Brucella abortus</i> por un polimorfonuclear.	34
Figura 8: Representación de la respuesta inmune frente a <i>Brucella spp.</i>	36
Figura 9: Ciclo de transmisión de <i>Brucella spp.</i>	38
Figura 10: Sintomatología frecuente en infecciones por <i>Brucella Spp.</i>	42
Figura 11: Reacción positiva y Reacción negativa de la Prueba Rosa de Bengala.	47
Figura 12: Distribución Mundial de <i>Brucella Spp.</i>	51
Figura 13: Estado de las Encuestas.	57
Figura 14: Porcentaje de participantes por género.	58
Figura 15: Cantidad de estudiantes participantes por edad.	59
Figura 16: Frecuencia de contacto con diferentes especies de animales.	60
Figura 17: Relación del consumo de agua.	61
Figura 18: Consumo de productos lácteos crudos.	62
Figura 19: Número estudiantes que utilizan barreras de protección.	63
Figura 20: Resultado del tamizaje por Rosa de bengala para <i>Brucella spp.</i>	64

INDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1: Supervivencia de <i>Brucella Spp.</i>	22
Tabla 2: Principales especies de <i>Brucella spp.</i>	24
Tabla 3: Principales especies del género <i>Brucella spp.</i> relacionando hospedador, biovariedades y características Bioquímicas.	28
Tabla 4: Mecanismos de transmisión de Brucelosis en el hombre.	39

Identificación de *Brucella spp.* en estudiantes de Medicina Veterinaria de la
Universidad de Ciencias Ambientales y Aplicadas (U.D.C.A)

RESUMEN

Las zoonosis son infecciones transmisibles entre los animales y el hombre, en la actualidad una de las más importantes es la Brucelosis, esta presenta una alta prevalencia a nivel mundial. En Colombia la información con que se cuenta es muy fraccionada, el desconocimiento de su clínica, patología y métodos de diagnóstico por personal de riesgo como lo son estudiantes de ciencias de la salud animal y demás personal vinculado al área de salud.

El objeto de este estudio es determinar la presencia de bacterias del género *Brucella spp.* en estudiantes de medicina veterinaria y establecer si existen o no factores de riesgo para el desarrollo de la patología. La muestra fue constituida por 158 estudiantes universitarios de Medicina Veterinaria de la Universidad de Ciencias Ambientales y Aplicadas (U.D.C.A), a quienes se aplicó una encuesta epidemiológica para determinar factores de riesgo para adquisición de esta enfermedad y se recolectó una muestra de sangre en la que se determinó la presencia del microorganismo *Brucella spp.* por medio de pruebas de tamizaje como Rosa de Bengala.

La Presencia de Anticuerpos contra *Brucella spp.* fue negativa en todos los casos, resultado importante frente al análisis epidemiológico y de salud pública del estudio en cuanto al análisis de la seronegatividad teniendo en cuenta variables como edad, genero, contacto con animales, consumo de alimentos y también se evidencia la efectividad de pruebas como Rosa de bengala para un tamizaje de poblaciones susceptibles al contacto con varios microorganismos y para el diagnóstico de la enfermedad.

Palabras claves: *Brucella Spp.*, Brucelosis, Prevalencia, Rosa de Bengala, Salud Pública, Zoonosis.

INTRODUCCION

Las enfermedades zoonóticas o infecciones transmisibles entre los animales y el hombre son consideradas en la actualidad como un problema de salud pública (1); Se estima que hay más de doscientas zoonosis que afectan al hombre, acarreando problemas graves de índole económico, sanitario y social (2). Estas enfermedades se pueden apreciar en diversos procesos encontrándose mayor incidencia en actividades relacionadas con la agricultura, la manufactura de productos animales, la silvicultura, la ganadería y la clínica veterinaria. Una de las enfermedades zoonóticas de mayor renombre es la Brucelosis por su alta prevalencia en países con clima tropical y subtropical (3).

La brucelosis actualmente es una patología de distribución mundial, en Colombia, es una enfermedad subdiagnosticada y no es una enfermedad de vigilancia y control en salud pública en humanos, aún no se ha logrado erradicar y la información con la que se cuenta es muy fraccionada, las estadísticas que se muestran son escasas y con baja validez, no se tienen datos sobre su prevalencia en estudiantes y profesionales de las ciencias de la salud animal, además existe un desconocimiento considerable de su clínica, patología y métodos de diagnóstico por parte de los médicos veterinarios y demás personal vinculado al área de la salud (4)(5).

Por todo lo anterior, se hace necesario realizar estudios que demuestren la prevalencia y los factores de riesgo asociados a esta enfermedad en poblaciones en riesgo como los estudiantes de medicina veterinaria, con el fin de implementar planes adecuados de prevención y control de las zoonosis.

El proyecto se enmarca como un estudio descriptivo de corte transversal y tiene como objetivo principal determinar la presencia de *Brucella spp* y factores de riesgo asociados, en estudiantes de Medicina Veterinaria de la Universidad de Ciencias Ambientales y Aplicadas U.D.C.A., este trabajo se desarrolló en 24 meses, de manera conjunta por los grupos de investigación "Enfermedades Crónicas,

Zoonóticas y Adquiridas (ECZA)” adscrito al Programa de Bacteriología y Laboratorio Clínico de la Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca y el grupo “Enfermedades Zoonóticas” de la Universidad de Ciencias Ambientales y Aplicadas (U.D.C.A).

La muestra fue constituida por 158 estudiantes universitarios matriculados en cualquier semestre de la carrera de Medicina Veterinaria de la Universidad de Ciencias Ambientales y Aplicadas (U.D.C.A); Se realizó el diligenciamiento del consentimiento informado y una encuesta epidemiológica; también se recolectó una muestra de sangre en la que se determinó la presencia de *Brucella spp*, por medio de Rosa de Bengala; La reacción de aglutinación fue negativa en todos los casos, resultado importante frente al análisis epidemiológico y de salud pública del estudio.

Es importante resaltar que la Medicina Veterinaria es una profesión asociada a riesgos para la salud, y aunque en Colombia se han realizado muchos estudios sobre el riesgo biológico de origen animal, el conocimiento frente al tema es escaso y existe una actitud pasiva por parte de los profesionales del sector respecto a dicha problemática (6).

OBJETIVOS

Objetivo General

Determinar la presencia de *Brucella spp.* en estudiantes de Medicina Veterinaria de la Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales U.D.C.A y la asociación de factores de riesgo para desarrollo de enfermedad zoonótica.

Objetivos Específicos

- ✓ Realizar la toma de muestra sanguínea a los estudiantes de medicina veterinaria.
- ✓ Realizar la prueba de tamizaje para la identificación de *Brucella spp.*
- ✓ Establecer factores de riesgo asociados a la presencia de *Brucella spp.* en estudiantes de medicina veterinaria.
- ✓ Analizar los resultados de la prueba de tamizaje de *Brucella spp.*

1. ANTECEDENTES

A lo largo de la historia del ser humano las zoonosis han tomado un valor importante dentro del desarrollo de la salud pública humana y veterinaria, entre este amplio grupo de patologías se destaca la brucelosis, una infección bacteriana de distribución mundial con predominio en climas cálidos y tropicales (7). En países en desarrollo es un riesgo para la industria ganadera debido a grandes pérdidas económicas además en los últimos años se ha evidenciado su relación en poblaciones que presentan deterioros en su organización social, política y económica (3).

La brucelosis o también conocida desde la antigüedad como la fiebre de Malta, fiebre del Mediterráneo, fiebre ondulante, o enfermedad de Bang (3), data de la antigua civilización griega. Hipócrates (450 a. de C.) menciona lesiones características de la enfermedad en tratados de hace 2000 años (8).

Pero los primeros hallazgos de los que se tienen evidencia provienen del Mediterráneo en la isla de Malta donde un médico cirujano llamado David Bruce cirujano del cuerpo médico de la Armada Real Británica durante la guerra de Crimea (1854-1856) realizó los primeros estudios de casos en pacientes en el hospital de Valeta que reportaban fiebres altas que alcanzaban los 41°C en las noches, con estados normales durante el día. Posteriormente logró identificar un microorganismo del bazo de un soldado británico que falleció a causa de la enfermedad y siguiendo los postulados de Robert Koch sobre el bacilo de la Tuberculosis, logró aislarlo y le asignó el nombre *micrococo*, reportando estos estudios en el año 1887, nombrando a la bacteria como *micrococcus melitensis* (3)(8).

En países como Portugal, España, Estados Unidos y México aparecieron casos de fiebre ondulante desde 1893, pero solo fue hasta 1905 que se logró confirmar la presencia de la enfermedad (8). Años después en 1896 Bang logró identificar al agente causal del aborto en bovinos y lo denominó *Bacillus abortus*, así mismo en 1914 Traum reporta hallazgos de una bacteria que causaba abortos en cerdos a la que denominó *Bacillus suis* (9).

Luego en 1918, Alice Evans, presidenta del Comité Interamericano de Brucelosis estudió las bacterias de la leche y relacionó al *bacilo de Bang* con el *Micrococcus melitensis* señalando que podría evitarse el contagio a humanos si se tenía un buen control con la leche de cabras infectadas. Feusier y Meyers para el año de 1920, nombraron estos microorganismos dentro del género *Brucella spp.* en honor a David Bruce, médico patólogo que hizo los primeros hallazgos de la bacteria (10)(11).

En animales principalmente en el ganado bovino la enfermedad se conoce desde el siglo XVIII, pero fue en 1896 donde el Profesor Benhard Bang, Patólogo Veterinario y Bacteriólogo Dinamarqués, descubrió un agente aislado de bovinos que fue llamado *Bacillus abortus*. Bang y Stribolt describieron cuadros de brucelosis en animales, estableciendo que era el aborto su principal signo (11).

A principios del siglo XX, la incidencia de brucelosis en los humanos aumentó en las zonas mediterráneas, y después la infección se difundió a los países europeos y sudafricanos. En 1956, Buddle aisló del carnero la especie *Brucella ovis* asociada con algunos abortos en las ovejas. Stoenner y Lackman, en 1957, hicieron lo mismo con *Brucella neotomae*, especie que aloja el ratón del desierto, y finalmente Carmichael, en 1967, aisló e identificó como *Brucella canis* al agente del aborto contagioso en los caninos (8) (10).

La brucelosis actualmente es una patología de distribución mundial, presenta amplia variabilidad, las zonas donde se reportan más casos de brucelosis tanto en animales

como en humanos siguen siendo en la región del Mediterráneo, Asia, partes de África, la mayoría de países de América Latina que se encuentran en desarrollo y actualmente al sur de Europa; en países más industrializados ya existen reportes de la erradicación total de *Brucella spp*, debido a el enfoque de estos países basado en la prevención humana con control de la enfermedad en los animales (3)(10).

En la Región del Mediterráneo Oriental, según la OMS (2015) se producen la mitad de los casos mundiales de brucelosis con más de 195.000 personas infectadas cada año que presentan fiebre, dolores musculares o artritis grave, fatiga crónica, síntomas neurológicos y depresión (12).

La OMS reporta cada año 500.000 nuevos casos de brucelosis humana que solo representan el 4% de los casos que realmente ocurren, esto a pesar de ser una patología de notificación obligatoria (1).

La incidencia de la enfermedad varía con valores inferiores a 0.01 por 100.000 habitantes en los países desarrollados hasta cifras superiores a 200 por 100.000 habitantes en los países menos desarrollados, con una distribución geográfica de brucelosis humana en estrecha relación a la distribución de brucelosis animal (12)(1).

En América latina los países que demuestran tener mayor incidencia de la enfermedad son Argentina, México y Perú, seguidos de Colombia, Chile y Ecuador, según la OMS (1).

En Colombia, los estudios realizados para brucelosis humana se han limitado a la determinación de prevalencias en personal de alto riesgo por ejemplo los trabajadores de mataderos. En el año 2003 se realizó un estudio en mataderos de municipios del departamento del Tolima utilizando una población de 187 trabajadores, con un resultado de 1.61% de prevalencia para el estudio (13).

Durante los meses de septiembre de 2004 a enero de 2005 se efectuó un estudio en la cuenca lechera del departamento del Cauca a 290 trabajadores, utilizando el método indirecto de técnica cualitativa de seroaglutinación Rosa de bengala, el estudio arrojó una cero negatividad en el 100% de las muestras analizadas (14).

En el periodo comprendido entre los años 1996 y 2004 el Laboratorio CEISA en la ciudad de Bogotá examinó 5.363 muestras de sangre humanas de las cuales 653 correspondientes al 12,18%, fueron positivas a *Brucella spp.* En el año 2008 se evaluaron 323 muestras con una positividad en 24 muestras correspondientes al 7,4%, para *Brucella abortus*, mediante las pruebas de Rosa de bengala, fijación de complemento y Elisa competitiva (1).

El Instituto Colombiano Agropecuario (ICA), actualmente es el organismo regulador de la prevención, la vigilancia y control de todo tipo de riesgo que afecte la salud animal y vegetal del país, entre 2000 y 2006 reportó prevalencia de brucelosis en Colombia alcanzando cifras hasta del 7%, en animales examinados y del 27%, en predios (15).

Durante el año 2008 el Laboratorio Nacional de Diagnóstico Veterinario analizó 1.206 sueros, el 65,9% pertenecieron al género masculino y el 34,1% al femenino; de los que se identificaron como reactores positivos 48, 60,4% en hombres y 39,6% en mujeres mediante las pruebas de Rosa de bengala, Elisa indirecta y Elisa competitiva (2).

En el año 2011 se analizaron 2.279 sueros, pertenecientes a 1.288 hombres y 991 mujeres. Según los resultados obtenidos se identificaron 110 equivalentes al 5% reactores positivos, que correspondieron a 59 hombres y 51 mujeres (16).

En el último boletín de sanidad animal del Instituto Colombiano Agropecuario (ICA) correspondiente al año 2014 se relaciona el análisis de 1.109 sueros de seres humanos, 579 mujeres y 530 hombres. Según los resultados obtenidos, se identificaron 49 muestras positivas: 24 de hombres y 25 de mujeres en los departamentos de: Arauca, Atlántico, Bolívar, Casanare, Cesar, Córdoba, La Guajira, Magdalena, Meta, Nariño, Norte de Santander y Sucre (17).

Como actividad del Programa de Brucelosis bovina, la certificación de predios libres de Brucelosis en el país alcanzó un total de 18.966 a Diciembre de 2016 (4).

Así mismo la Asociación Colombiana de Ganaderos (FEDEGAN) estableció el programa de prevención, control y erradicación de la brucelosis bovina en Colombia que busca la erradicación de la brucelosis bovina de todos los predios ganaderos del país junto a programas de vacunación como medida preventiva, todo esto según la Resolución ICA 1332 de 2013, por medio de la cual *“se actualizan las medidas sanitarias para la prevención, control y erradicación de la brucelosis en bovinos”* y la Resolución ICA 1385 de marzo de 2013 *“por medio de la cual se establece el plazo para que los predios que proveen a comercializadores de leche cruda para consumo humano directo, se certifiquen como predios libres de brucelosis y tuberculosis bovina”*, todos estos esfuerzos con miras al control y erradicación de infecciones por brucelosis (18).

Colombia no reporta la presencia de *Brucella mellitensis* en los diferentes departamentos, siendo una razón por la cual el impacto en la especie humana es bajo en comparación a otros países latinoamericanos (19)(20).

La incidencia y prevalencia de *Brucella spp.* en el territorio nacional no está bien definida, la falta de control y vigilancia epidemiológica en salud pública no han permitido establecer cuál es la realidad de esta infección, por esta razón no se ha logrado establecer programas de prevención y erradicación eficientes (21).

2. MARCO REFERENCIAL

2.1 Zoonosis

Las enfermedades zoonóticas o zoonosis son un grupo de enfermedades infecciosas que se transmiten de forma natural entre los animales y el hombre, según la OMS. El contagio se puede establecer por contacto directo con el animal enfermo o por algunos intermediarios, también por contacto con fluidos de animal que estén contaminados un ejemplo de esto es la saliva o la sangre infectada, además puede existir contagio por alimentos de origen animal que no cuenten con condiciones de salubridad adecuadas, fallas en procesamiento y manipulación de estos (22).

Entre los agentes causales de las zoonosis podemos encontrar microorganismos como las bacterias, virus, hongos o parásitos. Más de 200 zoonosis han sido descritas y son conocidas desde siglos atrás, presentando una distribución mundial. Según el Ministerio de Salud y Protección Social las zoonosis más importantes en la actualidad a nivel mundial incluyen patologías como: Rabia, Brucelosis, Ántrax, Cisticercosis, Influenza aviar, Leishmaniasis, Rickettsiosis, Toxoplasmosis, Tuberculosis bovina, Leptospirosis, entre otras (22).

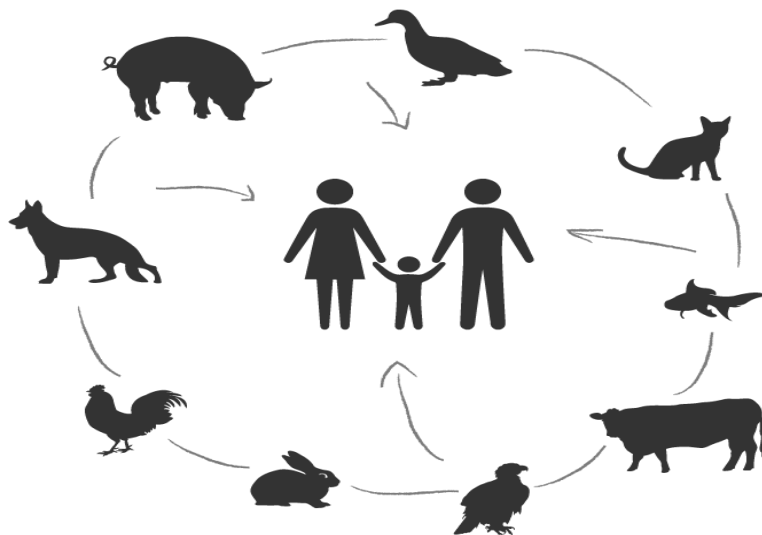


Figura 1: Representación de Enfermedades Zoonóticas (23).

Este grupo de patologías generan problemas graves de salud pública y altos costos para los diferentes sistemas de salud en los países donde su comportamiento es endémico (24).

Aunque se han logrado avances importantes en cuanto a control y erradicación de estas enfermedades mediante programas de vigilancia epidemiológica, no han sido suficientes debido a la reaparición y propagación de estas, igualmente a los múltiples factores como cambios sociales, políticos y económicos de la población humana (12) (25).

2.2 Brucelosis

La brucelosis, también conocida como fiebre de Malta, fiebre ondulante o fiebre del mediterráneo, es una enfermedad infecciosa de carácter zoonótico de distribución mundial, provocada por las bacterias del género *Brucella spp.* (20).

En la medicina Veterinaria se le han asignado nombres como aborto contagioso, aborto infeccioso, aborto epizoótico o enfermedad de Bang, afecta un gran número de mamíferos en todo el mundo, infectando especies de ganado bovino, equino, porcino, ovino y caprino, así mismo varias especies de vida silvestre que a su vez actúan como reservorios de la bacteria (3).

Es una enfermedad con alto impacto en la salud pública humana y animal, ha sido controlada en países desarrollados, pero sigue siendo un problema desde el punto de vista socioeconómico y/o sanitario en poblaciones menos favorecidas, por esta razón se encuentra ubicada en la lista B de la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE) (26), por sus repercusiones en el comercio internacional con animales y en la calidad de productos o subproductos de origen animal, representando un problema sanitario a nivel mundial (3)(10).

2.3 Agente Causal

2.3.1 *Brucella Spp.*

El agente causal de la brucelosis son las bacterias del género *Brucella spp.*, se pueden observar en la figura 2; son patógenos intracelulares facultativos capaces de infectar a una gran variedad de mamíferos, logran sobrevivir dentro de las células sean fagocíticas o no, allí pueden multiplicarse y permanecer por largos periodos de tiempo si no logran ser destruidas por los lisosomas o por la respuesta inmune del huésped (3).

Figura 2: *Brucella Spp.* Cocobacilos Gram negativos (27).



En la actualidad se conocen aproximadamente diez especies de *Brucella spp.*, se describen solo seis especies clásicas que se diferencian por sus capacidades antigénicas y su hospedador. Dado su potencial infectivo, algunas especies podrían ser utilizadas en un ataque bioterrorista, esto gracias a su capacidad de formar aerosoles fácilmente (28).

Este tipo de microorganismo puede sobrevivir durante más de dos meses en agua, dos meses en el suelo y pasto fresco en un ambiente húmedo, muchos meses en sustratos secos como por ejemplo heno, polvo, lana, equipos y útiles de trabajo (28).

La supervivencia es más prolongada cuando la temperatura es baja, principalmente cuando se encuentra por debajo del punto de congelación. También puede sobrevivir durante meses en órganos de animales o en sangre a 4°C, en la carne sobrevive durante periodos de tiempo muy cortos, salvo si está congelada, en cuyo caso puede sobrevivir durante años (29).

Tabla 1: Supervivencia de *Brucella Spp.* (30).

MATERIAL	TIEMPO DE SUPERVIVENCIA
Suelo y estiércol	80 días
Polvo	15 – 40 días
Leche o temperatura ambiente	2 – 4 días
Fluidos y secreciones en verano	10 – 30 minutos
Lanas o pelo almacenada	110 días
Agua a 37°C y pH 7.5	Menos de 24 horas
Agua a 8°C y pH 6.5	Más de 57 días
Fetos mantenidos a la sombra	6 – 8 meses
Descarga vaginal mantenida en el hielo	7 meses
Manteca a 8°C	1 – 2 meses
Cuero manchado con excremento de vaca	21 días
Paja	29 días
Grasa de ordeña	9 días
Heces bovinas naturales	1 – 100 días
Tierra húmeda a temperatura ambiente	66 días
Tierra desecada a temperatura ambiente	4 días
Material fecal húmeda y con frío	240 días
Helados	4 meses
Secreciones postparto de animales	1 – 2 meses

2.3.2 Etiología

Dentro del género *Brucella* encontramos diversas especies las cuales se han identificado y clasificado por su hospedador de preferencia.

Entre las más importantes que pueden infectar a humanos encontramos (31):

- ✓ *Brucella abortus* que afecta al ganado bovino y bubalino.
- ✓ *Brucella melitensis* patógeno del ganado caprino y ovino.
- ✓ *Brucella suis* que afecta porcinos.
- ✓ *Brucella canis* que afecta a la especie canina.

Estas son las especies clásicas y las más importantes, pero en la actualidad se conocen aproximadamente 10 especies de *Brucella spp.* cómo se puede observar en la Tabla 2; especies presentes en la naturaleza y que han sido descritas en las últimas décadas, por ejemplo, *Brucella ceti* y *Brucella pinnipedialis* aisladas de mamíferos marinos, y *Brucella inopinata* que fue aislada de una herida en un implante mamario (3).

Tabla 2: Principales especies de *Brucella spp.*

PRINCIPALES ESPECIES DE BRUCELLA	
Especie (s)	Hospedero (s)
<i>B. abortus</i>	Bovinos
<i>B. melitensis</i>	Caprinos, Bovinos, Porcinos
<i>B. suis</i>	Porcinos
<i>B. canis</i>	Caninos
<i>B. ovis</i>	Ovinos
<i>B. neotomae</i>	Roedores
<i>B. microti</i>	Roedores
<i>B. pinnipedialis</i>	Mamíferos marinos
<i>B. ceti</i>	Mamíferos marinos
<i>B. maris</i>	Mamíferos marinos

2.3.3 *Brucella abortus* es la especie de más renombre está asociada a la brucelosis en el ganado bovino, en la actualidad se conocen siete Biovariedades de las cuales las numero 1,2,3,4 y 9 son las de mayor reporte, siendo la numero 1 la más frecuente en América Latina (32).

Aunque su distribución es mundial países como Canadá, Japón, Australia y Nueva Zelanda se consideran libres de *Brucella abortus*, así como zonas del norte y del centro de Europa (32), sin embargo, en la región del Mediterráneo, África, América latina, norte América y partes de Asia Occidental, son endémicos para *Brucella abortus* y presentan tasa de incidencia altas (29).

Los rumiantes en general son susceptibles a la infección por *Brucella abortus*, se incluyen especies como búfalos, camélidos, cérvidos, capridos y óvidos. La entidad se manifiesta clínicamente por la presentación de abortos en donde se eliminan grandes cantidades de *Brucella abortus* en las secreciones uterinas y leche (32).

La infección por *Brucella abortus* afecta en su mayoría a las hembras, aunque es importante destacar que la infección en el ganado bovino depende de varios factores como la edad, estado reproductivo, estado inmunológico, vía de infección, y virulencia de la cepa infectante (15).

La transmisión de *Brucella abortus* está dada por contacto con tejidos animales como placenta y fetos además los líquidos fetales y las descargas vaginales también son fuente de contagio, se puede encontrar en orina, semen, leche, heces y líquido de higromas (33).

Figura 3: Feto abortado por infección con *Brucella abortus* (34).



Dentro de las manifestaciones clínicas producidas por *Brucella abortus* encontramos abortos como se puede observar en la figura 3, estos suelen ocurrir en la mitad de la gestación, además se puede presentar retención de placenta y metritis; puede que algunos terneros nazcan a término, pero serán crías débiles y pueden morir al poco tiempo de nacer (10). En machos se puede observar epididimitis, vesiculitis seminal abscesos testiculares u orquitis, los higromas o inflamaciones en cercanías a articulaciones también representan un signo característico, además se puede presentar infertilidad en ambos sexos (33).

2.3.4 *Brucella melitensis* es la especie más virulenta del género, presenta tres biovariedades, pero la 1 y la 3 son las aisladas con mayor frecuencia en pequeños rumiantes. Las cabras junto al ganado ovino son los hospederos naturales y de preferencia (32). En la brucelosis caprina u ovina, la sintomatología es similar a la causada por *Brucella abortus*, pero en esta infección el signo clínico principal es el aborto espontáneo, junto con artritis, las muertes fetales, el nacimiento de crías débiles, espondilitis y orquitis, además en las hembras la mastitis es común (35).

Es de resaltar que la *Brucella melitensis* es la especie de presentación más peligrosa en humanos con pronósticos más graves (9). La sintomatología en la mayoría de los casos es inespecífica, cursa con un cuadro febril agudo y dolor osteoarticular, al ser la especie más virulenta en la mayoría de los casos se generan complicaciones que pueden ser respiratorias, cutáneas, cardiovasculares o neurológicas (3) (36). El contacto con muestras y tejidos infectados es la principal fuente de transmisión de *Brucella Melitensis* a humanos, al manejar muestras de Placenta, fetos abortados, anexos fetales, líquido exudado vaginal de hembras infectadas se debe tener todas las precauciones y medidas de seguridad (35) (37).

Esta infección está relacionada con grandes pérdidas económicas debido a la disminución de la productividad y las limitaciones en el comercio de muchos países en desarrollo, además presenta distribución a nivel mundial y es una zoonosis de importancia para la veterinaria y para la salud pública (32) (37). Colombia es considerado un país libre de *Brucella melitensis*, el ICA no ha reportado la presencia de este agente en el territorio nacional, sin embargo, existe la enfermedad en caprinos por *Brucella abortus* (38).

2.3.5 *Brucella suis* afecta principalmente al ganado porcino, aunque en la actualidad también puede ser infectado por *Brucella abortus* y *Brucella melitensis*. Existen cinco biovariedades de *B. suis*, siendo 1, 2 y 3 son las responsables de la brucelosis porcina en todo el mundo (32) (39).

Se dice que la brucelosis porcina afecta a ambos sexos por igual y que la edad no es un factor que influya en la susceptibilidad, aunque esto último no está demostrado (32), Se manifiesta con pocos o moderados signos clínicos, causando infertilidad, abortos en cualquier estadio de gestación, nacimiento de crías débiles, orquitis, lesiones oseas, inflamación de las articulaciones y cojera. Además, puede llegar a infectar especies salvajes que pueden actuar como reservorio de la infección, debido a su prevalencia y distribución en países de América y Asia (32).

La importancia de esta enfermedad a nivel mundial se presenta en las numerosas pérdidas económicas generadas por fallas reproductivas en la producción de cerdos (40). Su prevalencia es en general baja, la situación epidemiológica de la brucelosis porcina varía en algunos países, unos están libres de la enfermedad, otros informan de brotes esporádicos y algunos reportan infecciones como un problema emergente (32) (41).

2.3.6 *Brucella canis* produce enfermedad en caninos, es variable dependiendo de la zona geográfica y la población, en las hembras se produce abortos y muertes en diferente estado de gestación, epididimitis e infertilidad en machos, además linfadenitis generalizada y uveítis (42).

En cuanto al humano, el contagio está dado por el contacto con secreciones de caninos infectados y por accidentes en el trabajo en laboratorio, la infección puede ser sintomática o asintomática, produce alteraciones degenerativas en el sistema osteomuscular causando dolores intensos y detrimento en los movimientos del individuo (43). Se conocen reportes desde 1948, cada vez con más casos de infección en humanos, de forma esporádica o brotes en países como Argentina y Estados Unidos, en Colombia ha sido aislada de personas en contacto con caninos de albergues, criaderos y mascotas (44).

Las especies de *Brucella spp.* se pueden diferenciar de acuerdo a sus propiedades para enfrentar la respuesta inmune del hospedador o del animal que actúa como reservorio (45), también por sus características bioquímicas que además permiten establecer las diferentes biovariedades que en la actualidad presentan algunas especies como se ejemplifica en la tabla 3.

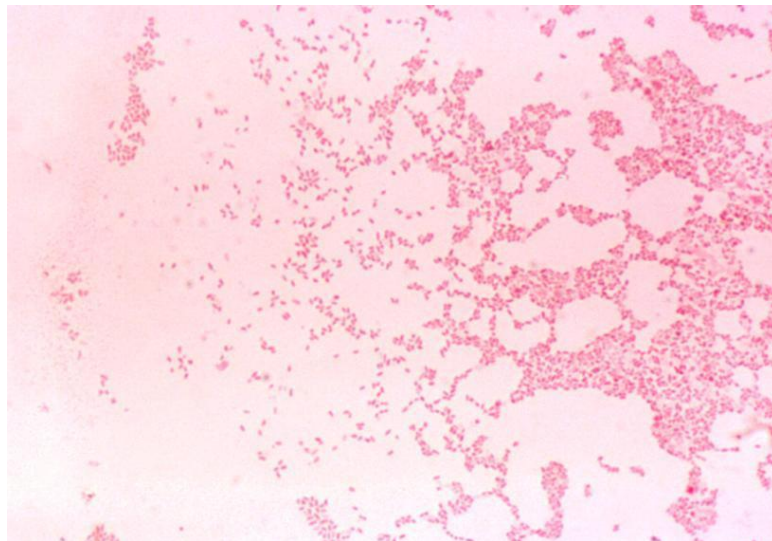
Tabla 3: Principales especies del género *Brucella spp.* relacionando hospedador, biovariedades y características Bioquímicas (45).

Especie	Hospedador	Biovariedad	Producción de H ₂ S	Necesidad de CO ₂	Sensibilidad a los colorantes		Aglutinación con sueros monoespecíficos			
					Tionina	Fucsina	A	M	R	
<i>B. melitensis</i>	Cabras, bovinos, ovino, cánidos, hombre	1	-	-	+	+	-	+	-	
		2	-	-	+	+	+	-	-	
		3	-	-	+	+	+	+	-	
<i>B. abortus</i>	Bovinos, cánidos, hombre	1	+	+	-	+	+	+	-	-
		2	+	+	-	-	+	-	-	
		3	+	+	+	+	+	+	-	-
		4	+	+	-	+	-	-	+	-
		5	-	-	+	+	-	+	-	-
		6	-	-	+	+	+	+	-	-
		7	+	-	+	+	+	+	+	-
		8	-	+	+	+	+	+	+	-
		9	+	+	+	+	-	+	-	-
<i>B. suis</i>	Cerdos, cánidos, hombre	1	-	-	+	-	+	-	-	
		2	-	-	+	-	+	-	-	
		3	-	-	+	+	+	-	-	
		4	-	-	+	-	+	+	-	
		5	-	-	+	-	-	+	-	
<i>B. canis</i>	Cánidos, hombre		-	-	+	-	-	-	+	
<i>B. neotomae</i>	Roedores		+	-	-	-	+	-	-	
<i>B. ovis</i>	Ovinos		-	+	+	-	-	-	+	
<i>B. maris</i>	Focas, leones marinos, delfines, ballenas.									

2.3.7 Morfología y Estructura

Las bacterias del género *Brucella spp.* pertenecen a la familia *Brucellaceae* son microorganismos que morfológicamente presentan una membrana celular doble y una delgada capa de peptidoglicano, se definen como Bacterias Gram negativas que se pueden observar como bacilos cortos o cocobacilos de tamaño pequeño, como se relaciona en la figura 4, sin capacidad de movilidad, no presentan ningún tipo de cápsula o envoltura, tampoco se ha evidenciado la formación de esporas; son catalogadas como aerobios estrictos puesto que requieren un ambiente con altas concentraciones de oxígeno para sobrevivir y desarrollarse (28).

Figura 4: Tinción de Gram realizada a un cultivo de *Brucella melitensis* (46).



El tamaño va de 0,5 a 0,7 μm de diámetro y de 0,5 a 1,5 μm de largo. Presentan un metabolismo oxidativo, basado en la utilización de nitratos como aceptores de electrones, son catalasa y oxidasa positivos, no atacan la gelatina ni modifican la leche y en general no fermentan los azúcares. Su temperatura óptima de crecimiento es de 37 °C en un pH de 6,6 a 7,4. A diferencia de muchas otras bacterias, su genoma está constituido por dos cromosomas circulares y carece de plásmidos (45).

Estas bacterias no presentan factores de virulencia comunes de otros Gram negativos, posee múltiples elementos que le permiten sobrevivir y desarrollarse, pero en la actualidad no se conoce de un solo factor al que se pueda atribuir la patogenia del género *Brucella spp.*, no tiene cápsula que la proteja de la fagocitosis, no presenta variación antigénica y no se ha demostrado la presencia de flagelos, no produce exotoxinas y su lípido A es poco endotóxico (47).

Cuando se logra el aislamiento del microorganismo en medio sólido las diferentes especies de *Brucella spp.* se diferencian por el aspecto de las colonias, como se pueden detallar en la figura 5, estas colonias se pueden observar lisas (S) como es el caso de *Brucella abortus*, *Brucella melitensis*, *Brucella suis* y *Brucella neotomae* o rugosas (R) como *Brucella ovis* y *Brucella canis* (45).

Figura 5: Detalle de las colonias de *Brucella spp.* (46).



El aspecto que adquieren las colonias se debe a la expresión del lipopolisacárido (LPS) en la superficie de la bacteria, LPS-S en las lisas y LPS-R en las rugosas. Es importante resaltar que las cepas de *Brucella spp.* en fase lisa son las más virulentas

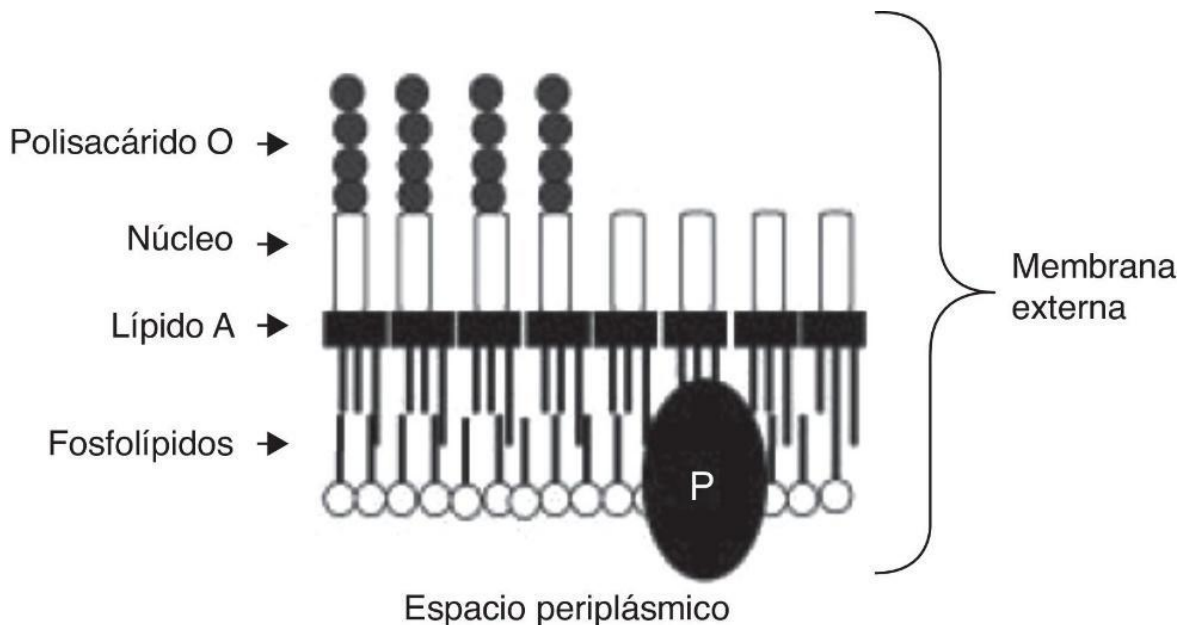
y su estructura presenta similitud a la de algunas enterobacterias como es el caso de *Pseudomonas maltophilia*, *Escherichia coli*, *Yersinia enterocolitica*, y *Salmonella landau*, aunque permanecen con ciertas diferencias en la estructura de su membrana (47).

En cuanto a su estructura la membrana externa, constituye la barrera física y funcional entre el interior de la célula bacteriana y el medio, ya que no se ha evidenciado presencia de envolturas o capsulas para *Brucella spp.* esta estructura es el primer contacto con las células del huésped (48).

Esta membrana está compuesta por una bicapa lipídica rica en fosfatidilcolina, aunque el componente que se presenta en mayor proporción es el lipopolisacárido (LPS), y que también se conoce como endotoxina (45). La endotoxina de *Brucella spp.* presenta baja actividad endotóxica, aunque conserva sus propiedades inmunogénicas (48).

Este lipopolisacárido está compuesto por tres regiones: el lípido A, un oligosacárido intermedio conocido como núcleo y el polisacárido O también llamado cadena O, estos elementos se sitúan en la membrana externa de las bacterias como se muestra en la figura 6.

Figura 6: Esquema simplificado de la membrana externa de la pared celular de *Brucella spp.* (45).



Empezando desde la parte más externa seguido de la bicapa de fosfolípidos encontramos el lípido A, este es un glicolípido compuesto por glucosamina y diaminoglucosa; seguido por el núcleo, un oligosacárido intermedio que contiene glucosa, manosa y ácido 3,deoxi-D-mano-2 octulosónico (KDO) y carece de fosfatos y heptosas (45).

En la parte más distal se localiza el PSO, este es un homopolímero lineal compuesto por n-residuos de N-formil perosamina (4,6 dideoxi-4-formamido- α -D-manopiranosilo) (45); la unión de estos residuos que puede ser de dos tipos cobra importancia en la diferenciación de dos configuraciones que son la A y la M, que a su vez ayudan a determinar las biovariedades de las diferentes especies de *Brucella spp.* cómo se mencionó anteriormente.

La estructura interna de las bacterias del género *Brucella spp.* presenta proteínas citoplasmáticas que son específicas, además están presentes en todas las especies; la mayoría son de interés diagnóstico y son empleadas en pruebas de laboratorio como ensayos por inmunoabsorción ligados a enzimas (ELISA), por ejemplo, la proteína periplásmica BP26, la glicoproteína A2, y una proteína de 17kDa que interviene en la síntesis de riboflavina, sustancia presente en la fase activa de la infección (45).

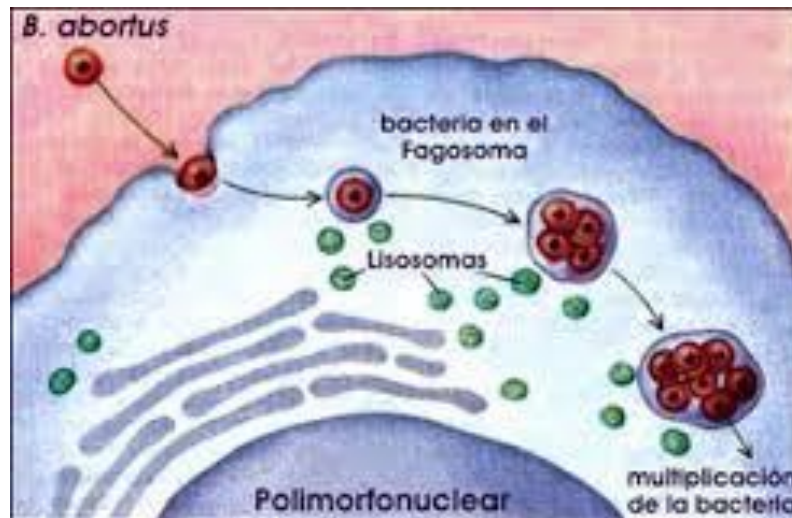
2.4 Patogenia

Como se mencionó anteriormente las especies del género *Brucella spp.* son patógenos intracelulares facultativos gracias a su capacidad de adherirse, penetrar, multiplicarse y residir en el espacio intracelular de las células fagocíticas y no fagocíticas, aunque también logran sobrevivir al exterior de las células (3) (49).

Esta propiedad les confiere protección frente la acción de diferentes antibióticos y de los mecanismos efectores dependientes de anticuerpos, lo que justifica el avance de la infección a la cronicidad de la enfermedad (45).

Al ingresar en el organismo estas bacterias invaden tejidos ricos en células reticuloendoteliales, pueden ser fagocitadas por los polimorfonucleares (PMN) y/o macrófagos (45). Los macrófagos internalizan la bacteria en su citoplasma y las rodean por el fagosoma, ahí se fusionan con los lisosomas quienes contienen enzimas hidrolíticas y proteolíticas encargadas de degradar el material intracelular con el fin de destruir las bacterias del género *Brucella spp.*, pero estas son capaces de evadir esta fusión fagosoma-lisosoma y soportar el pH ácido del medio secretando proteínas que les permiten evadir la acción antimicrobiana de los macrófagos (3), y de esta manera multiplicarse dentro de la célula fagocítica, como se muestra en la figura 7.

Figura 7: Representación de la fagocitosis de *Brucella abortus* por un polimorfonuclear (50).



Mecanismos como la síntesis de adenina, enzimas antioxidantes y la producción de GMP (guanosina 5' monofosfato) se asocian con procesos que bloquean la desgranulación, la activación del sistema mieloperoxidasa-haluro, además inhiben la fusión fagosoma-lisosoma, la producción del TNF- α y serían los responsables de la supervivencia de *Brucella spp.* al interior de las células (45).

Durante las primeras 48 horas de la infección un alto porcentaje de bacterias logran ser eliminadas del organismo, por otra parte, las bacterias que no son eliminadas llegan por vía linfática a los ganglios donde logran invadir torrente sanguíneo y ser transportadas por los macrófagos circulantes a diversos órganos donde pueden sobrevivir y multiplicarse, dentro de las vacuolas contenedoras de *Brucella* (BCV) por sus siglas en inglés (3).

El mecanismo de ingreso a las células aún no ha sido descrito, pero existe la teoría de que el lipopolisacárido junto con las proteínas de la membrana externa estarían involucrados en este proceso mediante la acción de receptores tipo manosa o integrinas (45).

Los tejidos placentarios animales son ricos en receptores de manosa y también presentan un factor de crecimiento conocido como eritritol, lo que podría explicar la afección de las bacterias del género *Brucella spp.* por estas células, provocando abortos (20) (45).

2.5 Respuesta inmune

Frente a una infección por bacterias del género *Brucella spp.* los primeros mecanismos de defensa que el organismo activa son los neutrófilos, los macrófagos y el complemento por la vía clásica o alterna (45).

En estadios tempranos de la infección, la respuesta innata se encargará de reducir el número de bacterias presentes, las células fagocíticas como los macrófagos y los neutrófilos, las células Natural Killer (NK) y el complemento ayudan en la fase inicial de la invasión del microorganismo (51), debido a que la opsonización por anticuerpos y complemento facilita los procesos de fagocitosis (45).(52)

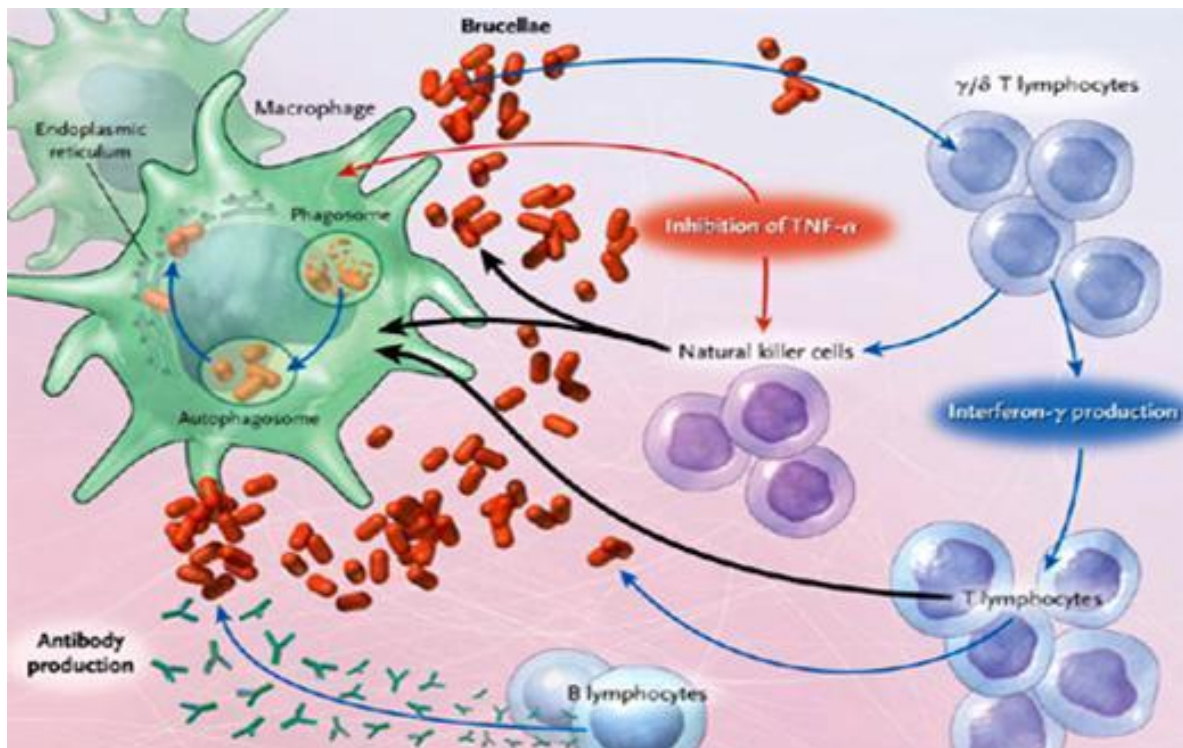
Los neutrófilos son atraídos por el microorganismo mediante estímulos químicos, una vez fagocita la bacteria empieza a desencadenar una serie de mecanismos con el fin de eliminar la bacteria, aquí el consumo de oxígeno aumenta y con esto aparecen el peróxido de hidrógeno, el radical superóxido y demás radicales derivados del metabolismo del oxígeno; estos polimorfonucleares neutrófilos (PMNs) utilizan sus gránulos en el proceso de destrucción de la bacteria fagocitada (53).

Los macrófagos mediante la producción de diferentes citoquinas modulan la respuesta innata, actúan como fagocitos y en los compartimientos intracelulares generan antígenos que presentan por la vía del complejo mayor de histocompatibilidad (MHC) a los linfocitos T y de esta manera se activa la respuesta inmune adaptativa (51). Los macrófagos son particularmente importantes para la supervivencia y propagación de *Brucella spp.* durante la infección (54).

Es importante mencionar que los receptores tipo Toll (TLRs) también juega un papel muy importante durante la respuesta innata, estos son capaces de reconocer productos y subproductos de las bacterias y de unirse a ellos, de esta manera enviar una serie de señales intracelulares que activaran factores de transcripción primarios de acción rápida como el NF- κ B (factor nuclear potenciador de las cadenas ligeras kappa de las células B activadas) quien participa en la producción de citoquinas(45)(51).

Los TLRs son activados por diversos productos y subproductos, se ha demostrado que el TLR4 es activado por el lipopolisacárido de las bacterias Gram negativas, el TLR5 por flagelina y el TLR9 por ADN bacteriano (51).

Figura 8: Representación de la respuesta inmune frente a *Brucella spp.* (50).



La respuesta adaptativa se puede resumir en tres momentos importantes (51):

1. Las células T CD4⁺ y CD8⁺ producen INF- γ quien activara la función bactericida de los macrófagos.
2. Las células T CD8⁺ por su efecto citotóxico eliminarán los macrófagos infectados.
3. Algunos isotipos de Anticuerpos como IgG_{2a}, que se producen por las células Th1 opsonizan al patógeno para facilitar procesos de fagocitosis.

Es ampliamente conocido que la respuesta mediada por células es el mecanismo de mayor importancia frente a una infección por bacterias intracelulares como *Brucella spp.*, pero después de la exposición al microorganismo cambia la inmunidad a una respuesta de tipo humoral caracterizada por la producción de anticuerpos o inmunoglobulinas de tipo IgM e IgG, que actuaran contra varios componentes de la bacteria (21) (51). Las inmunoglobulinas que primero se generan son de clase IgM, seguida de IgG e IgA dependiendo de la especie infectada; estas son capaces de ayudar en la lisis de *Brucella spp.* por medio de la vía clásica del complemento (45).

Otras moléculas de vital importancia dentro de la inmunidad y control de la infección son las citoquinas, el desempeño de estas citoquinas ha sido estudiado por inyección de citoquinas recombinantes y también por inhibición de su actividad por medio de anticuerpos monoclonales específicos (53). En estadios tempranos de la enfermedad participan la IL-12 y la IL-8, estas inducen la diferenciación de los linfocitos inmaduros en Th1 para la producción de INF- γ , la IL-1 y el factor de necrosis tumoral (TNF- α), una citoquina proinflamatoria ayudara en la resistencia frente a *Brucella spp.* y estaría involucrado en la formación de los granulomas en tejidos infectados (45). Por otra parte, la IL-10 que se produce por linfocitos CD4⁺ y Th2, participa en la regulación negativa de la respuesta inmune bloqueando la actividad de los Th1, y con esto se disminuye la secreción de INF- γ , y la activación de macrófagos (21) (51) (53).

2.6 Transmisión de la Brucelosis

Las posibles vías de transmisión son la digestiva, la cutánea, la respiratoria y la conjuntiva, estas bacterias se pueden transmitir de un animal a una persona sensible por contacto directo o ambientes contaminados por sangre, placentas o fluidos, fetos abortados, semen o secreciones uterinas, también por productos lácteos contaminados no pasteurizados (queso fresco y leche), siendo esta última mencionada, la primera causa de contaminación en humanos (7)(3).

La transmisión en general de *Brucella spp.* puede darse por diferentes vías, Las formas de contagio entre los animales ocurren cuando lamen fetos abortados o genitales de animales infectados, ingestión de alimentos y bebidas contaminadas con secreciones vaginales, exposición conjuntival, vía congénita, por vía respiratoria, la ingestión de pastos o aguas contaminadas por restos de placentas, tejidos infectados, líquidos u otras sustancias o secreciones de hembras infectadas, contacto directo de animales sanos con animales positivos por medio de heridas de piel o por mucosas, procesos de inseminación artificial con semen, fómites contaminados o algún animal infectado (6).

Figura 9: Ciclo de transmisión de *Brucella spp.* (55).



En humanos el contagio se establece por varias fuentes, siendo la principal la infección oral, bien sea por consumo de leche cruda sin pasteurizar, o derivados de productos lácteos procedentes de un animal infectado; La brucelosis también puede transmitirse a personas a través de heridas en la piel o de las mucosas (9) (29).

Tabla 4: Mecanismos de transmisión de Brucelosis en el hombre (45).

<i>Vía de infección</i>	<i>Puerta de entrada</i>	<i>Fuente de infección</i>	<i>Población de riesgo</i>
oral	mucosa digestiva	leche cruda, derivados lácteos	población en general
por contacto	piel erosionada, conjuntiva, mucosa nasal	productos animales contaminados: placenta, heces, secreciones vaginales	trabajadores en contacto con animales infectados o sus productos (veterinarios, matarifes, cuidadores), personal de laboratorio
respiratoria	mucosa nasal	aerosoles en laboratorios con muestras contaminadas, vacunas vivas, aerosoles en establos, lanas	personal de laboratorio, trabajadores de la lana, personal de limpieza de los establos.
parenteral	inoculación accidental, transfusiones	vacunas vivas, material biológico contaminado	personal de laboratorio, veterinarios, población en general.

En el personal que establece un contacto directo con animales o subproductos de animales como ganaderos y personal de frigoríficos, los riesgos de transmisión radican en la manipulación del animal y los desechos cuando se presentan abortos(13); por otra parte, los médicos veterinarios presentan un alto riesgo de contraer la infección por contacto con heridas o secreciones de los animales, por accidentes vacúnales con las cepas atenuadas de la bacteria, y por manipulación de fetos, placentas, líquidos placentarios en procesos de asistencia a estos animales (6).

2.7 Brucelosis animal

Brucella spp. es un microorganismo que puede afectar animales domésticos y animales silvestres, desde ganado bovino, caprino, ovino, porcino y equino; hasta especies de compañía como perros. Además, se establece como reservorio en varias especies de fauna salvaje y mamíferos marinos (29).

Los signos clínicos de la brucelosis en animales son muy generales en casi todas las especies, en las hembras ocasiona abortos espontáneos en el primer o tercer trimestre de gestación, esto varía dependiendo la especie de *Brucella spp.* presente y el tiempo en que se desencadena la acción patógena, esto ligado a la inmunidad del animal, cuando la bacteria se localiza en la placenta puede causar metritis teniendo como consecuencia el nacimiento de crías antes de tiempo, débiles y no viables (15) (56).

Es importante resaltar que es una enfermedad subdiagnosticada debido a que no presentan manifestaciones clínicas de alarma, hasta que la hembra aborta, lo que hace más complicado su diagnóstico; las hembras infectadas pueden seguir con su ciclo reproductivo, pero se convierten en diseminadoras silenciosas de la infección (33).

En machos los signos característicos van desde disminución de la libido, infertilidad, inflamación y atrofia del tejido testicular, y en ocasiones puede causar artritis dependiendo de la localización (9). En equinos hay una particularidad en cuanto a la manifestación de la enfermedad, son unas lesiones caracterizadas por inflamación y abscesos localizados a la altura de la nuca o de la cruz, conocidos como mal de la cruz, talpa o testera (57).

En cuanto a la producción animal la importancia de la brucelosis radica en su impacto en el rendimiento reproductivo esto a causa de los abortos, infertilidad y debilidad en las crías, todo esto evidenciado en pérdidas económicas para ganaderos y agricultores, esto porque cualquier animal diagnosticado con brucelosis debe ser sacrificado (3) (58).

2.8 Brucelosis Humana

La brucelosis se mantiene dentro del grupo de enfermedades zoonóticas emergentes (45). En los humanos la brucelosis se presenta con diversas manifestaciones clínicas, muchas veces inespecíficas, constituye una infección con tendencia a la cronicidad y al debilitamiento (59).

El periodo de incubación de la entidad es de aproximadamente de 5 a 15 días, pero muchas referencias anotan que puede durar hasta varios meses en presentar sintomatología clínica, es una enfermedad séptica que puede empezar por fiebres continuas, puede manifestar escalofríos sudores profusos, fatiga pronunciada, constipación, insomnio, impotencia sexual, anorexia, cefalea, artralgias, ganglios linfáticos periféricos aumentados de tamaño (6).

Entre la sintomatología más común encontramos: fiebre continua, intermitente o irregular de duración variable, que suele ser más elevada en horas de la tarde y la noche mialgias, artralgias, astenia, sudoración profusa, cefaleas, debilidad, escalofríos y pérdida de peso como síntomas generalizados, como se observa en la figura 10. A nivel sexual se presenta Inflamación de testículos, Impotencia sexual, Esterilidad y Abortos (60) (61).

Figura 10: Sintomatología frecuente en infecciones por *Brucella Spp.* (62).



Si no es detectada a tiempo la infección se producen un gran número de complicaciones en distintos órganos, cualquier órgano puede estar comprometido pero la brucelosis es una enfermedad de orden sistémico (6).

En el sistema nervioso es rara la afectación, pero cuando ocurre el cuadro clínico es muy grave, cursa con meningitis donde el infiltrado meníngeo es de orden linfocitario, con proteína elevada y glucosa disminuida, encefalitis y abscesos cerebrales, solo en 5% de los casos presentan este tipo de complicación (62).

Entre el 20 y el 60% de los casos desarrollan artritis séptica, espondilitis y osteomielitis, entre las zonas comprometidas encontramos rodillas, caderas y hombros. En el sistema cardiovascular la infección por *Brucella Spp.* puede causar pericarditis, abscesos del cayado aórtico y endocarditis en menos del 2% de los casos (6).

A nivel respiratorio se evidencia faringitis, amigdalitis y tos seca, pueden aparecer más complicaciones como neumonías y abscesos pulmonares. En complicaciones genitourinarias la orquitis será un signo característico con la afectación de glándulas seminales, además cistitis, infecciones, abscesos en trompas, en los ovarios y pielonefritis aguda (62) (63).

las afectaciones del sistema gastrointestinal pueden ser leves como diarrea, vómitos, náuseas, y dolor abdominal, cuando existe una complicación se presentan hepatoesplenomegalias e ictericia, el hígado puede revelar abscesos y granulomas con infiltrados de células mononucleares (3) (64).

2.9 Diagnóstico

El diagnóstico de brucelosis tanto en animales como en humanos debe tener fundamento en los antecedentes clínicos y epidemiológicos que permitan orientar al personal de salud con el fin de evitar subdiagnóstico y poder brindar una atención adecuada (48).

En el caso de la brucelosis el diagnóstico definitivo solo puede realizarse mediante el aislamiento de la bacteria en cultivos de sangre, medula ósea u otros tejidos, sin embargo, el más efectivo es el mielo cultivo. Aunque las bacterias del género *Brucella spp.* crecen en cualquier medio estándar, el problema es el tiempo que tardan en crecer las colonias que es en promedio 30 días (64).

Según el ICA los métodos de laboratorio autorizados para el diagnóstico de brucelosis en Colombia pueden ser directos o indirectos (1).

2.9.1 Métodos Directos

Los métodos directos se basan en evidenciar la presencia del microorganismo o componentes de este en tejidos bien sea de animales o del humano (45).

Entre las técnicas directas tenemos (48):

- ✓ Cultivo Microbiológico para obtener las colonias de *Brucella spp.*
- ✓ Técnicas de PCR para identificación y tipificación de la especie específica.

El diagnóstico directo permite identificar el microorganismo en estudio y evidenciar la presencia o ausencia de la infección. En animales se realiza a partir de muestras de líquido del estómago del feto abortado, placenta, pulmón, bazo, leche, sangre y otros líquidos, estas técnicas solo se pueden realizar en laboratorios autorizados, por el riesgo biológico que este patógeno representa (32) (48).

Lograr el aislamiento de *Brucella spp.* de los cultivos se convierte en la única evidencia contundente de la infección, para obtener un adecuado crecimiento es recomendable en primer lugar practicar la toma de la muestra durante la fase aguda de la enfermedad, además asegurar que no se esté administrando terapia antibiótica, y no en los picos febriles de la enfermedad (48).

Es importante resaltar que una vez se obtienen las colonias características de *Brucella spp.* es aconsejable realizar la identificación por métodos moleculares como la reacción en cadena de la polimerasa (41).

Los métodos directos presentan ventajas en cuanto a su sensibilidad y especificidad, sin embargo, su alto costo, su larga duración y su difícil implementación en poblaciones menos favorecidas, son las grandes desventajas de estas técnicas de diagnóstico para brucelosis (3).

2.9.2 Métodos indirectos

El diagnóstico indirecto permite identificar anticuerpos *anti-Brucella* en suero, la búsqueda de estos anticuerpos específicos se efectúa de forma rutinaria para el diagnóstico de brucelosis, convirtiéndose en la mejor alternativa debido a que los aislamientos y los cultivos de *Brucella spp.* son procedimientos de mayor costo y que emplean mayor tiempo (4).

Este tipo de pruebas deben ser realizadas en laboratorios oficiales, en Colombia, únicamente laboratorios que estén autorizados por el Instituto colombiano Agropecuario (ICA); estas técnicas deben presentar ciertas características para poder asegurar un correcto diagnóstico de la infección por *Brucella spp.* (4)(57).

Por ejemplo, una alta sensibilidad, es decir poder detectar la infección en cualquier momento aún en periodo de incubación, así de esta manera poder diagnosticar el estadio de la enfermedad y detectar estados crónicos de la infección, también, alta especificidad, es decir que no genere algún tipo de error con otro tipo de anticuerpos y logre diferenciar animales vacunados e infectados (4)(49).

Existen varias técnicas indirectas que utilizan como antígeno la bacteria inactivada para la producción y búsqueda de anticuerpos aglutinantes que son los primeros en aparecer después del contacto con el microorganismo, estos anticuerpos van dirigidos al lipopolisacárido (LPS) de la superficie bacteriana y pueden ser inmunoglobulinas de tipo IgM, IgG, o IgA (4).

Dentro de las técnicas indirectas encontramos (45):

- ✓ Prueba de Aglutinación Rosa de Bengala (RB).
- ✓ Prueba de Fijación del Complemento (FC).
- ✓ Prueba de aglutinación estándar (SAT).
- ✓ Prueba de aglutinación con 2-mercaptoetanol (2-ME).
- ✓ Prueba de Coombs indirecto.
- ✓ Técnica Inmunoenzimática Indirecta (ELISA-i) para la detección de anticuerpos contra *Brucella abortus* en suero sanguíneo de bovinos.
- ✓ Elisa Indirecta para la detección de anticuerpos Anti-*Brucella abortus* en leche bovina.
- ✓ Prueba de Elisa Competitiva Frente a s-LPS de *Brucella abortus*.
- ✓ Prueba de Fluorescencia Polarizada para la detección de anticuerpos contra *Brucella abortus* en suero de bovinos.

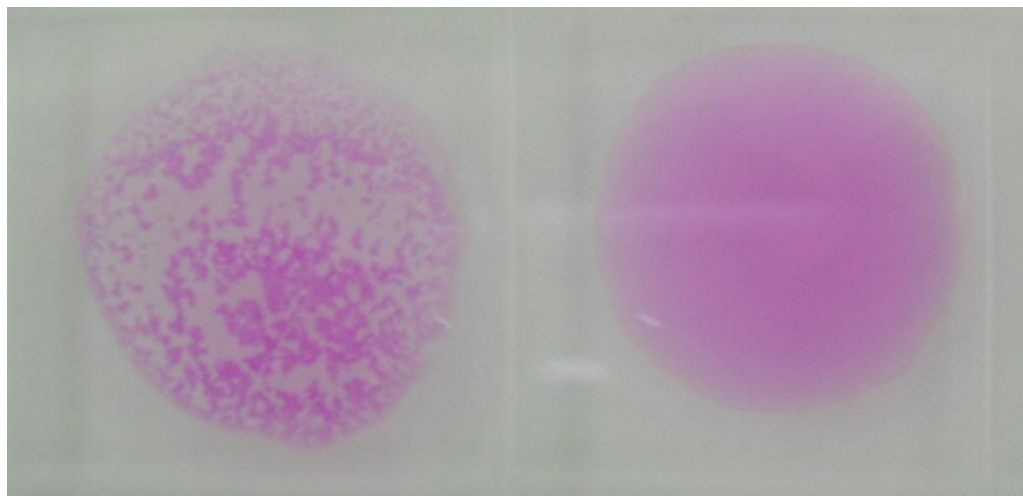
2.9.2.1 Prueba de Aglutinación Rosa de Bengala

Es una prueba de tamizaje para brucelosis, la suspensión celular se tiñe con el colorante Rosa de Bengala y se estandariza a una concentración celular del 9 -10% en el caso del diagnóstico en humanos (48).

La prueba de *Rosa de Bengala*, o también conocida como prueba de antígeno tamponado o bufferado, incluso llamado "Card Test" (65) es una prueba rápida cualitativa de tamizaje para brucelosis consiste en enfrentar suero animal o de humano con una solución bacteriana inactivada de *Brucella abortus*, con un pH ácido maso menos de 3,6, teñida con Rosa de Bengala y en algunos casos se adiciona fenol al 0,5% (66) (67). La suspensión celular se tiñe con el colorante Rosa de Bengala y se estandariza a una concentración celular del 9 -10% en el caso del diagnóstico en humanos (48).

Se caracteriza por ser rápida y sensible, cualquier resultado positivo deberá ser confirmado con pruebas específicas que determinen el tipo de anticuerpo presente, así como el título y de preferencia con el cultivo para el aislamiento de *Brucella spp.* (48), Su finalidad es poder observar la macro aglutinación en una sola dilución evidenciando principalmente anticuerpos de tipo IgG (65).

Figura 11: Reacción positiva y Reacción negativa de la Prueba Rosa de Bengala (65).



Permanece positiva, aún después del tratamiento y la recuperación del enfermo, en algunos casos hasta por años, por lo que, en forma aislada, no es de valor diagnóstico. Además, Pueden darse falsas negatividades en infecciones primarias tempranas y en etapas tardías de la enfermedad (48).

En el campo veterinario es frecuente su utilización como prueba diagnóstica en cabañas de vacuno y porcino en las que la incidencia de brucelosis es relativamente alta, aplicándose sólo como prueba de control rápido en áreas de baja incidencia (66).

La presencia o ausencia de aglutinación visible es indicativa de la presencia o ausencia de anticuerpos en las muestras ensayadas. En el diagnóstico clínico, los resultados de la determinación de los anticuerpos *Anti-Brucella* deben ser considerados siempre en relación a los hallazgos clínicos y otras pruebas de laboratorio (66).

2.9.2.2 Prueba de aglutinación estándar (SAT)

Es una de las técnicas más simples en el diagnóstico de *Brucella spp.* permite determinar la cantidad de aglutininas totales de tipo IgM, IgG e IgA anti-*Brucella* en suero, líquido cefalorraquídeo y otros fluidos. Presenta un alto grado de correlación con la prueba Rosa de Bengala y requiere pocas cantidades de muestra (48).

2.9.2.3 Prueba de Aglutinación con 2-mercaptoetanol (2-ME)

Esta técnica se conoce como una variante de la seroaglutinación, emplea solución salina al 0,85% con 0,1M de 2-mercaptoetanol, agente reductor para inactivar los anticuerpos IgM presentes en el suero y otros líquidos, sin interferir con las de IgG que son las que se cuantifican. Se conoce que un resultado positivo con títulos $>1/20$ se consideran indicativos de brucelosis. Es de importancia por la correlación con la evolución de la enfermedad pues se espera resultados negativos después de administrar la terapia antibiótica, pero en pacientes con recaídas o con la infección activa los títulos permanecerán iguales o podrían aumentar (48)(68).

2.9.2.4 Prueba de Coombs indirecto

El Coombs indirecto se utiliza para demostrar la presencia de anticuerpos aglutinantes y no aglutinantes principalmente de tipo IgG, es en su mayoría empleada en casos de brucelosis crónica. El suero de Coombs facilita la aglutinación de los anticuerpos no aglutinantes fijados en una suspensión de

Brucella abortus. En la actualidad no se emplea en la mayoría de los laboratorios, es de resaltar que presenta casos de falsos positivos por las reacciones cruzadas con bacterias como *Vibrio cholerae* y *Yersinia enterocolítica*; fue sustituida por las pruebas de ELISA que brindan mayores ventajas (48).

2.9.2.5 Prueba de inmunoensayo enzimático (ELISA)

Las pruebas Inmunoenzimática permiten la determinación de las inmunoglobulinas específicas frente al lipopolisacárido (LPS) de *Brucella spp.*, mostrando una extraordinaria sensibilidad y especificidad, se pueden detectar inmunoglobulinas de tipo IgG, IgM o IgA. Utiliza como antígeno en las placas de poliestireno el lipopolisacárido de *Brucella Spp.* en fase lisa. Esta técnica permite conocer con mayor certeza el comportamiento de los anticuerpos, pero no ofrece la posibilidad de establecer criterios clínicos en casos de curación o evolución de la enfermedad (68) (69).

La prueba más utilizada en la actualidad y considerada como el estándar para brucelosis es la prueba de Rosa de Bengala (RB), Sumada a esta, la prueba Inmunoenzimática Indirecta (ELISA-i) se utiliza como confirmación para la detección de anticuerpos contra *Brucella abortus* en leche y suero, son las únicas autorizadas por el ICA y que se pueden realizar en laboratorios oficiales del país (1).

Por otra parte, en casos de complicaciones existen otro tipo de exámenes médicos que apoyan al diagnóstico como lo son las radiografías de tórax para la neumonía, radiografías óseas, gammagrafías para la infección ósea, ecografías para las complicaciones abdominales y resonancias magnéticas (62).

2.10 Tratamiento

El tratamiento antibiótico frente a una infección de *Brucella Spp.*, dependerá de la edad y del estado clínico del paciente, en la actualidad las tetraciclinas son los antibióticos más efectivos y que deberían ser la base de cualquier tratamiento, se reconocen como los más utilizados en casos de brucelosis (3).

Para la brucelosis en embarazadas, se recomienda monoterapia con rifampicina durante aproximadamente 6 semanas, en niños mayores de 7 años debe manejarse como la brucelosis del adulto, pero en niños pequeños, se recomienda terapia de cotrimoxazol y/o rifampicina durante 4 semanas. En casos de accidentes de laboratorio como pinchazos no requieren la administración preventiva de antibióticos, sin embargo, si el accidente implica la vía conjuntival, se recomienda el uso de doxiciclina (45) (69).

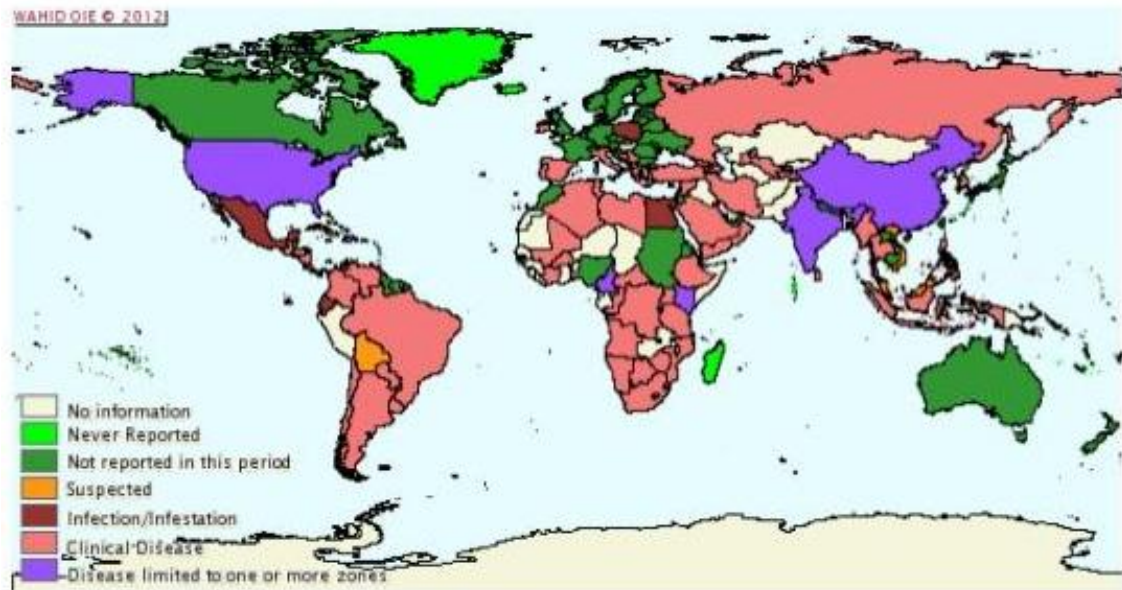
Los aminoglucósidos muestran un efecto sinérgico con las tetraciclinas, a pesar de su escasa penetración intracelular, combinaciones de doxiciclina, en dosis de 100-200mg/12h durante 6 semanas junto a un aminoglucósido durante 2 semanas, representa el tratamiento clásico y de elección en casos de brucelosis con una tasa de recaídas de alrededor del 5% (69). La estreptomina ha sido el aminoglucósido clásicamente utilizado, pero hoy en día se recomienda el uso de la gentamicina gracias a su menor toxicidad, y mayor actividad in vitro (3) (69).

2.11 Epidemiología y salud pública

La distribución de la brucelosis en la actualidad es mundial tanto en especies como en biotipos, cada año se producen en el mundo 500.000 nuevos casos de brucelosis humana que solo representan el 4% de los casos que realmente ocurren, esto a pesar de ser una patología de notificación obligatoria, según la OMS (1).

Como se observa en la figura 12, países como Austria, Australia, Canadá, Alemania, Japón, Nueva Zelanda; Suecia y Polonia no presentan reportes de *Brucella Spp.* y entre las regiones de mayor incidencia encontramos la zona del mediterráneo, Asia y América Latina (26) (29).

Figura 12: Distribución Mundial de *Brucella Spp.* OIE,2012 (26).



La prevalencia de la infección está dada por la presencia en los reservorios animales, es importante resaltar que si se implementan medidas de eliminación en animales esto tendrá repercusiones directamente en los niveles de incidencia en población humana (3) (47).

La brucelosis sigue siendo un problema de salud pública mundial, es una enfermedad zoonótica catalogada como reemergente, en algunos países industrializados se ha logrado su control y erradicación, sin embargo, muchos, si no la mayoría de los países en vía de desarrollo presentan altos casos de brucelosis, con grandes repercusiones en diversos ámbitos, como la salud la cultura y la economía (1)(3).

Es de destacar el gran impacto de la brucelosis animal tiene en la industria pecuaria ganadera a nivel mundial, razón por la cual la organización mundial de epizootias (OIE) la considera una de las enfermedades transmisibles de mayor importancia socioeconómica y sanitaria (38).

En la mayoría de los países esta enfermedad es de reporte obligatorio, siendo muy importante los programas de erradicación en los que se optimice los métodos diagnósticos la vigilancia epidemiológica y las medidas de control (61).

Presenta alta morbilidad tanto en la fase aguda como crónica de la enfermedad, resaltando su impacto en la salud pública, la población rural tiende a ser más susceptible por el mayor contacto con especies animales y consumo de productos de origen animal por esta razón se convierten en un punto clave en la implementación de la vigilancia epidemiológica (10). La brucelosis es una enfermedad de gran importancia zoonótica en la actualidad con gran impacto en la salud pública por su presentación tanto en ambientes rurales como urbanos, según la OIE (2014) en América latina es una enfermedad endémica (26) (30).

En Colombia, es una patología presente en animales, pero no se ha logrado reconocer el carácter zoonótico de esta enfermedad, no se encuentra dentro de las patologías de reporte obligatorio, y no es una enfermedad de vigilancia y control en salud pública en humanos. La incidencia y prevalencia de *Brucella spp.* no está bien definida, la falta de control y vigilancia no han permitido establecer cuál es la realidad de esta infección, y por esta misma razón no ha sido posible establecer programas de prevención y erradicación eficientes (61).

La forma inespecífica con que cursa la enfermedad y su sintomatología dificultan que se logre identificar los verdaderos casos de infección y se tienda al subdiagnóstico de la enfermedad. De igual forma los problemas en la captación a nivel local, el difícil acceso a los sistemas de salud en el país, el bajo porcentaje de

enfermos que acuden a los centros de salud o clínicas, dificultan en gran manera llevar un control de casos de brucelosis (9).

Todo esto sumado a las dificultades del diagnóstico de la enfermedad y a que los estudios existentes sobre *Brucella spp.* son esporádicos con llevan a una subnotificación y subregistro de los casos que realmente ocurren en el país (2).

Gracias a su curso crónico, su condición incapacitante y el tratamiento prolongado, en personal de riesgo causando pérdidas económicas fuertes en la sociedad, aunque se ha estimado la magnitud de este tipo de eventos, no existe una política respecto a las zoonosis en salud ocupacional (2)(6).

Debido a la importancia clínica y económica de la brucelosis por las consecuencias que esta lleva a la población, y a la baja importancia que se le da a su detección y diagnóstico, la literatura resalta la necesidad de realizar investigaciones de alta calidad para asegurar el control de la enfermedad especialmente en zonas como Europa, Asia en el pacífico central, África y Suramérica donde los datos sobre aspectos epidemiológicos y estadísticos de la enfermedad se pierden debido a la falta de reporte en parte por la falta de inversión en investigación o desconocimiento sobre el mismo y su realización (3)(70).

Debe realizarse entonces una aproximación integral a la vigilancia de la entidad que envuelva tanto salud humana como servicios veterinarios, que permitan entender mejor la dinámica de la enfermedad tanto en el humano como en el animal, lo cual con llevaría a lograr a futuro una mejor utilización de los recursos diagnóstico y de tratamiento, haciendo que esto sea más costo-efectivo (71).

El instituto colombiano Agropecuario ICA, emite los boletines sanitarios semanales donde se presenta el reporte de la presentación de las enfermedades de notificación obligatoria, según listado de la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE), y de otras patologías inusuales, y declara las alertas sanitarias en caso necesario. Esta información veraz y oportuna brinda credibilidad al sistema sanitario del país y facilita el mercado externo a los productos y subproductos de origen animal. Se evidencian los datos preliminares del año 2017 en cuanto a los predios reportados por el ICA, comparados con el año 2016, en el que se refleja un aumento del doble de reportes.



**DICIEMBRE
2017**
(Datos Preliminares)

CUADRO REPRODUCTIVO

DEPARTAMENTO	PREDIOS REPORTADOS	BRUCELOSIS	NEGATIVO BRUCELOSIS	EN PROCESO
-	0	0	0	0
TOTAL DICIEMBRE 2017	0	0	0	0
TOTAL ACUMULADO DICIEMBRE 2017	50	18	28	4

COMPARATIVO AÑO 2016

DEPARTAMENTO	PREDIOS REPORTADOS	BRUCELOSIS	NEGATIVO BRUCELOSIS
TOTAL DICIEMBRE 2016	0	0	0
TOTAL ACUMULADO DICIEMBRE 2016	25	15	10



BOLETIN EPIDEMIOLOGICO SEMANAL DE ALERTAS PARA ACCION INMEDIATA

CASOS DE BRUCELOSIS SEGÚN REPORTES SEMANALES DE ICA						
2018	NOTIFICADOS		POSITIVOS		NEGATIVOS	
	2018	2017	2018	2017	2018	2017
Semana 1	0	11	0	6	0	5
Semana 2	0	14	0	7	0	7
Semana 3	0	15	0	7	0	8
Semana 4	1	15	0	7	1	8
Semana 5	1	17	0	8	1	9
Semana 6	1	17	0	8	1	9
Semana 7	4	19	0	8	1	11
Semana 8	4	21	0	9	3	12
Semana 9	4	23	0	9	3	14
Semana 10	5	23	0	9	4	14
Semana 11	6	26	0	10	4	16
Semana 12	8	27	0	11	4	16
Semana 13	8	29	0	13	4	26
Semana 14	10	31	3	14	4	17
Semana 15	12	31	3	14	4	17
Semana 16	12	32	4	14	4	18
Semana 17	13	35	5	15	4	20
Semana 18	14	35	6	15	5	20
AL 5 DE MAYO	103	421	21	184	47	247

2018



TOTAL	
2017	2018
431	68

PENDIENTES	2017	2018
	10	35

20.39%	POSITIVOS 2018
43.71%	POSITIVOS 2017

Comparando las cifras de las primeras semanas del año 2017 con lo que va del año 2018 se evidencia una gran disminución de casos notificados, con un numero de positividad que presenta una gran diferencia entre los dos periodos comparados, con una positividad del 20 % para el año 2018 frente a un 43 % del año 2017; teniendo en cuenta que son datos preliminares y que aún existen reportes pendientes de evaluar.

3. DISEÑO METODOLÓGICO

3.1 Tipo de estudio

La investigación aquí presentada corresponde a un estudio descriptivo Retrospectivo de corte transversal.

3.2 Población

Estudiantes universitarios vinculados a la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad de Ciencias Ambientales y Aplicadas (U.D.C.A)

3.3 Muestra

El tamaño de la muestra se obtuvo utilizando el programa “tamaño de muestra” EPIDATA. Considerando que la prevalencia estimada es de 50%, con un intervalo de confianza del 95%, un error relativo del 5%, un nivel de significancia del 5% y un error tipo II del 20%, la muestra es de 158 estudiantes.

3.4 Criterios de inclusión

Se incluyeron estudiantes vinculados al programa de Medicina Veterinaria, con edades comprendidas entre los 16 y los 29 años.

3.5 Instrumentos

Como ayuda para el buen desarrollo de este trabajo se tuvo en cuenta las encuestas basadas en formularios validados y ajustada a las necesidades de la presente investigación.

3.6 Variables

Se tomaron en cuenta las siguientes variables: edad, género , estrato socioeconómico, convivencia con mascotas, contacto con otros animales, trabajos previos con animales de producción, trabajos en laboratorios de diagnóstico veterinario, consumo de productos derivados de animales y el uso de barreras de protección.

3.7 Técnicas y procedimientos

Como paso previo a la selección de la muestra se realizó una convocatoria invitando a los estudiantes de cada uno de los semestres de la Facultad de Medicina Veterinaria de la U.D.C.A a participar en el estudio.

Las personas seleccionadas expresaron su consentimiento para participar en el estudio mediante la lectura y firma del formato “consentimiento informado”. (ver Anexos)

Posteriormente, a los participantes se les aplicó una encuesta epidemiológica para determinar factores de riesgo para la adquisición de esta enfermedad. (ver Anexos)

Se recolectó una muestra de sangre en ayunas para la realización de las pruebas serológicas.

3.8 Identificación de *Brucella spp.* por técnicas convencionales

La presencia de respuesta frente a *Brucella spp.* fue evaluada a través de la aplicación de una prueba específica y de tamiz llamada Rosa de Bengala, en el laboratorio de ZOO & LAB Colombia en la ciudad de Bogotá.

3.9 Análisis de Datos

Los datos se ingresaron en el software Microsoft Excel 97 para Windows, y para su procesamiento y análisis se utilizó el paquete estadístico SPSS 9.0 para Windows. Para describir las características de los grupos de estudiantes se calcularon las medias y las desviaciones estándar (DS), así como los percentiles por edad y sexo.

De acuerdo a los datos suministrados en la base de datos del grupo de investigación ECZA, se establece un análisis de frecuencias, sustentado en la revisión literaria sobre *Brucella Spp.* y sus principales características, como también en los reportes preliminares del ICA en los últimos dos años, evidenciando parte de la realidad de esta zoonosis en el país.

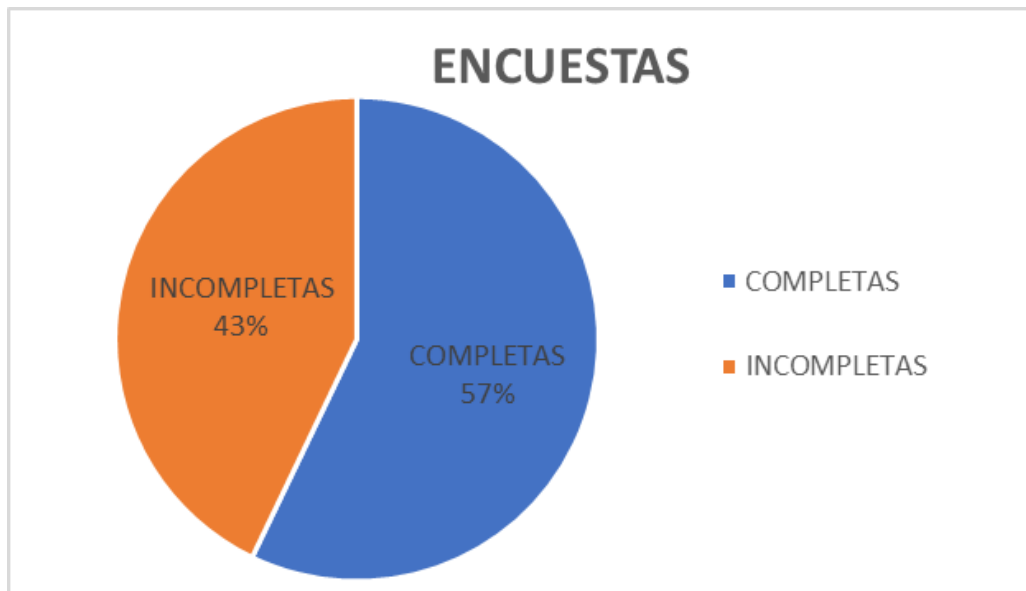
4. RESULTADOS

4.1 ENCUESTAS

Se analizaron 140 muestras, por consiguiente, dentro del análisis se tuvo en cuenta las 140 encuestas correspondientes a cada estudiante que participó del proyecto.

Se tiene un porcentaje de 57% para encuestas totalmente completas y bien diligenciadas, frente a un 43% que presentaba algún tipo de error en uno o dos puntos.

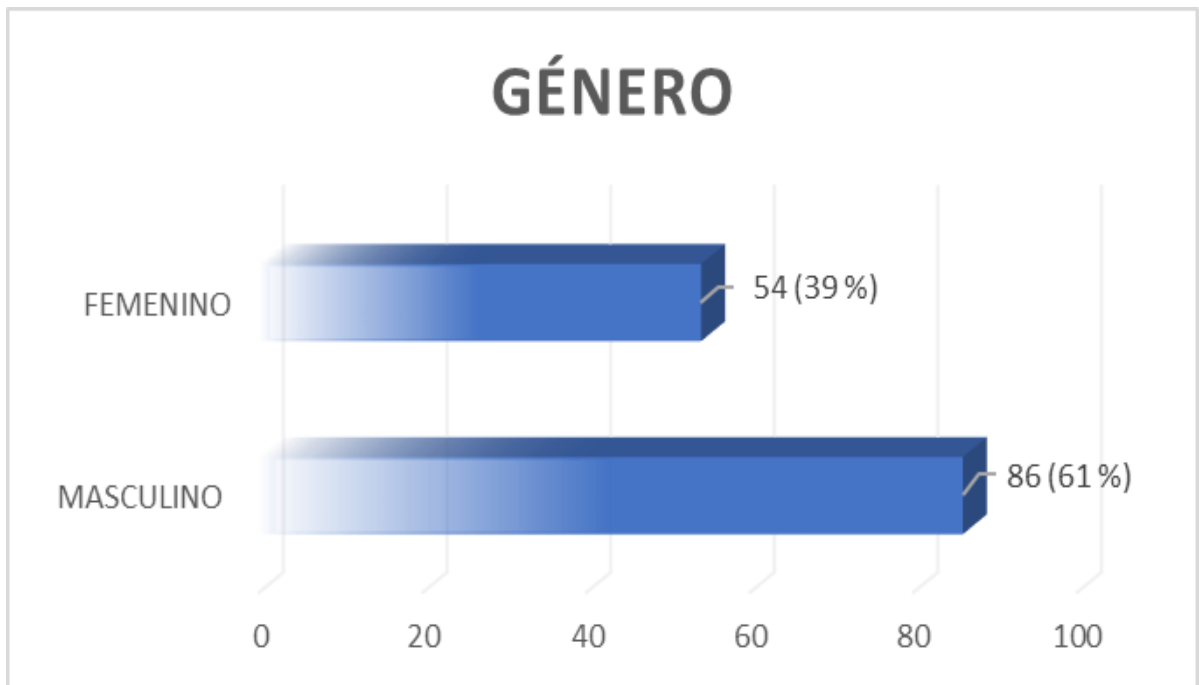
Figura 13: Estado de las Encuestas.



4.2 ESTUDIANTES QUE PARTICIPARON POR GÉNERO

Del total de participantes en el estudio un 61% corresponde al género masculino y el 39% al género femenino.

Figura 14: Porcentaje de participantes por género.

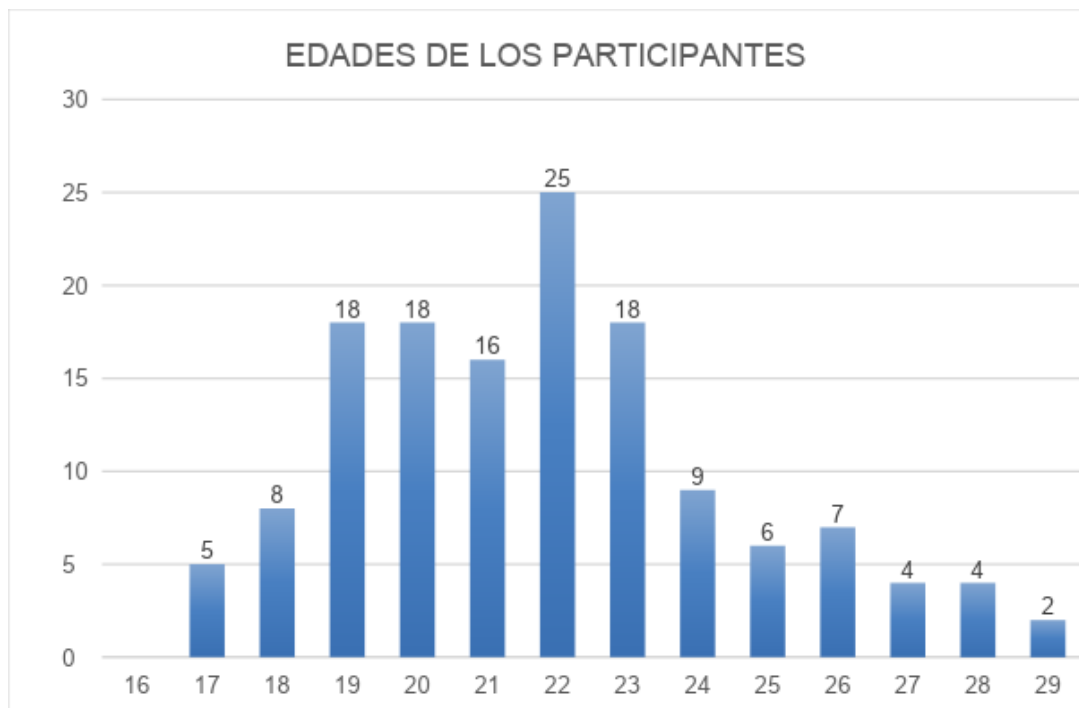


4.3 CANTIDAD DE ESTUDIANTES POR EDADES

Dentro de los criterios de exclusión se incluyó la edad de los estudiantes en un rango de 16 a 29 años.

Se encontró mayor número de participantes entre los 20 y los 23 años; se puede decir que por lo general esta es la edad media para un programa de educación superior.

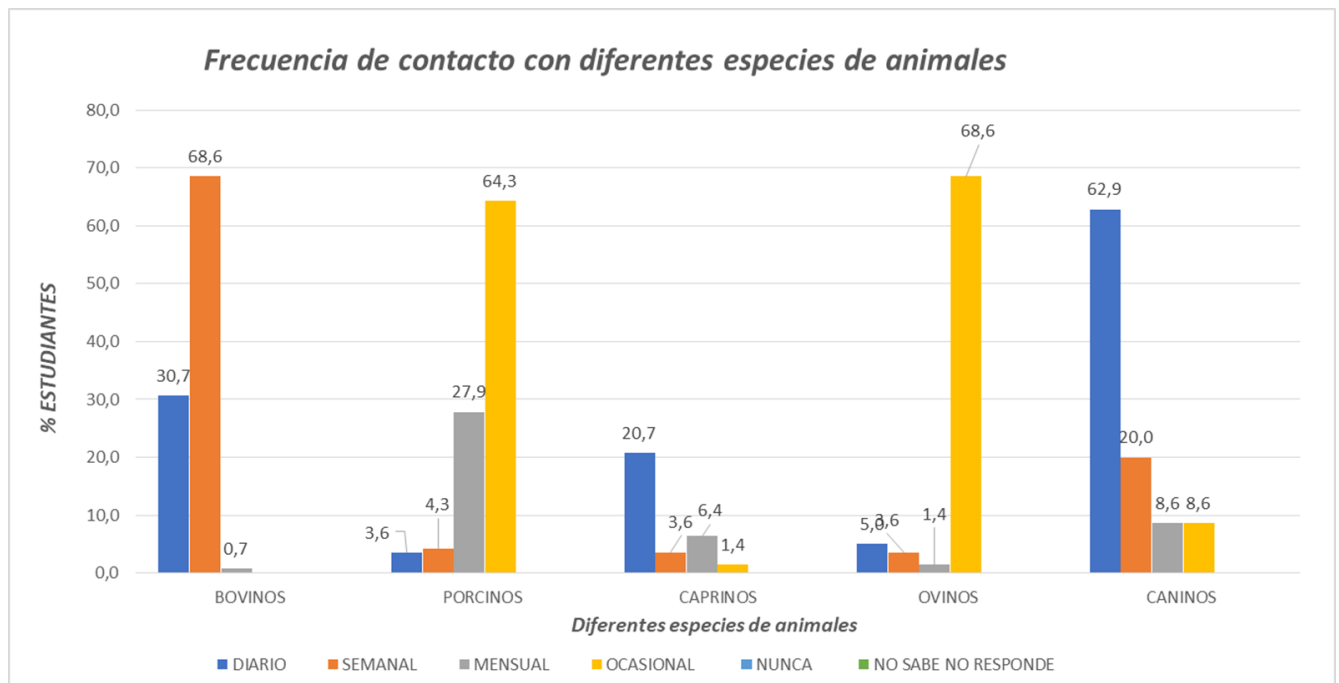
Figura 15: Cantidad de estudiantes participantes por edad.



4.4 CONTACTO CON ANIMALES

Uno de los factores más relevantes es el contacto directo que se tenga con las diferentes especies animales se encontró que:

Figura 16: Frecuencia de contacto con diferentes especies de animales

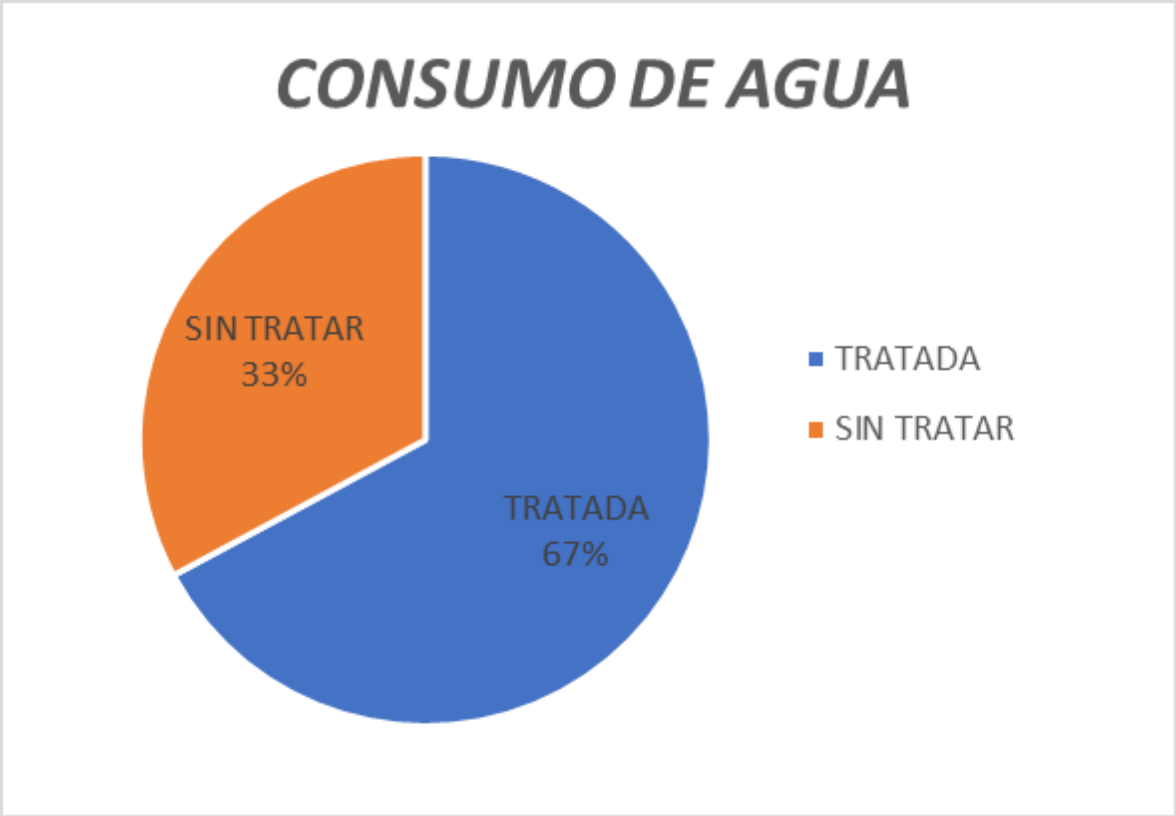


- ✓ A diario se presenta más contacto con Caninos 63%, Bovinos 30% y Semanal el mayor contacto es con la especie Bovina en un 68% de los participantes.
- ✓ El contacto con la especie Porcina se da en mayor proporción mensual con un 28%.
- ✓ De manera ocasional hay exposición a especies como la Equina 69%, Ovina 69% y Porcina 64%.

4.5 CONSUMO DE AGUA

Otra variable importante dentro del estudio fue el consumo de agua, tenemos que un porcentaje del 33% correspondiente a 46 estudiantes indicaron haber consumido agua cruda y sin tratamiento y un 67% correspondiente a 94 estudiantes que prefieren el agua hervida, filtrada u ozonizada.

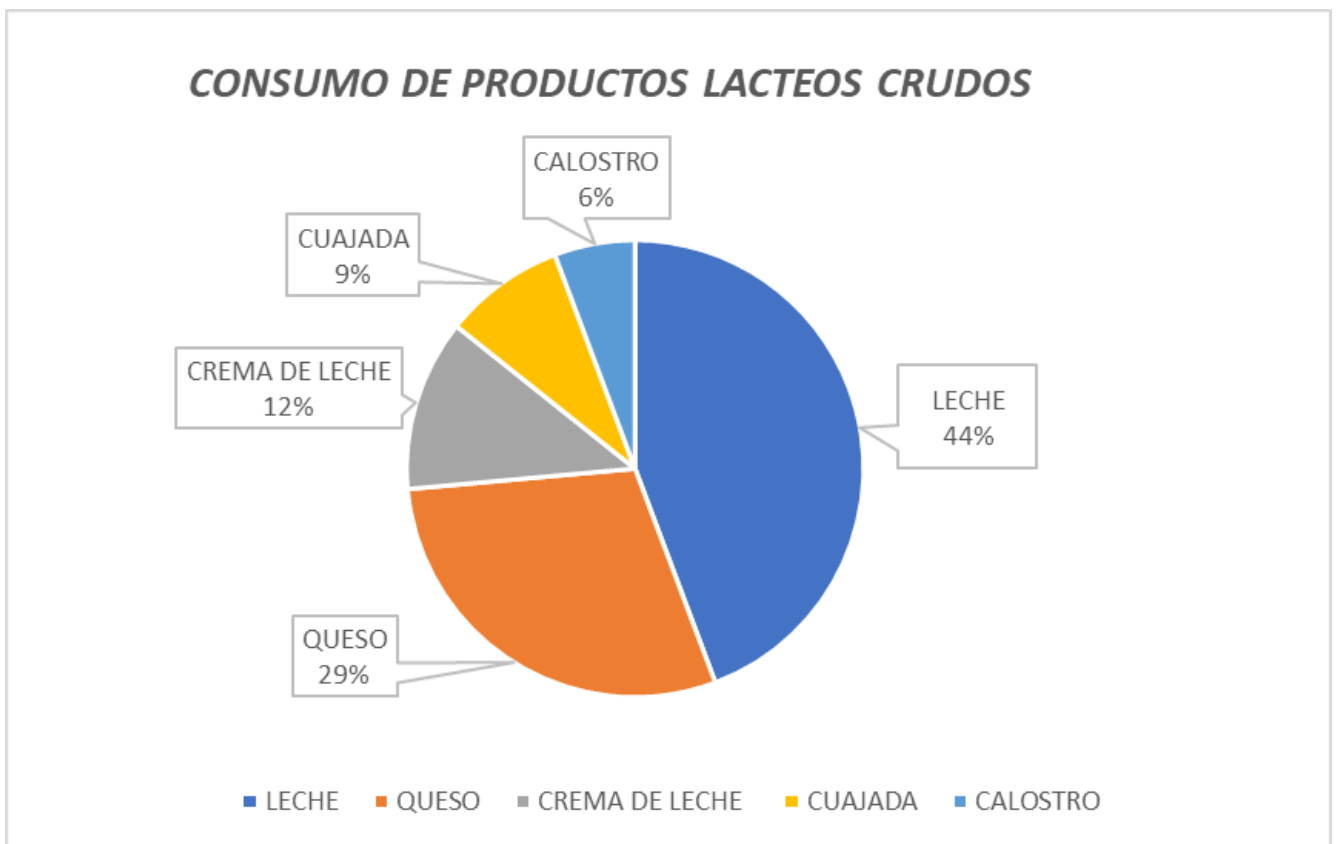
Figura 17: Relación del consumo de agua.



4.6 CONSUMO DE PRODUCTOS LÁCTEOS CRUDOS

Teniendo en cuenta la ingesta de productos lácteos crudos o sin tratar, se encontró que un 44% de la población consume leche cruda de especies como bovinos y caprinos, 29% indico consumo de queso, 12% crema de leche, 9% cuajada y un 6% de los estudiantes han consumido calostro.

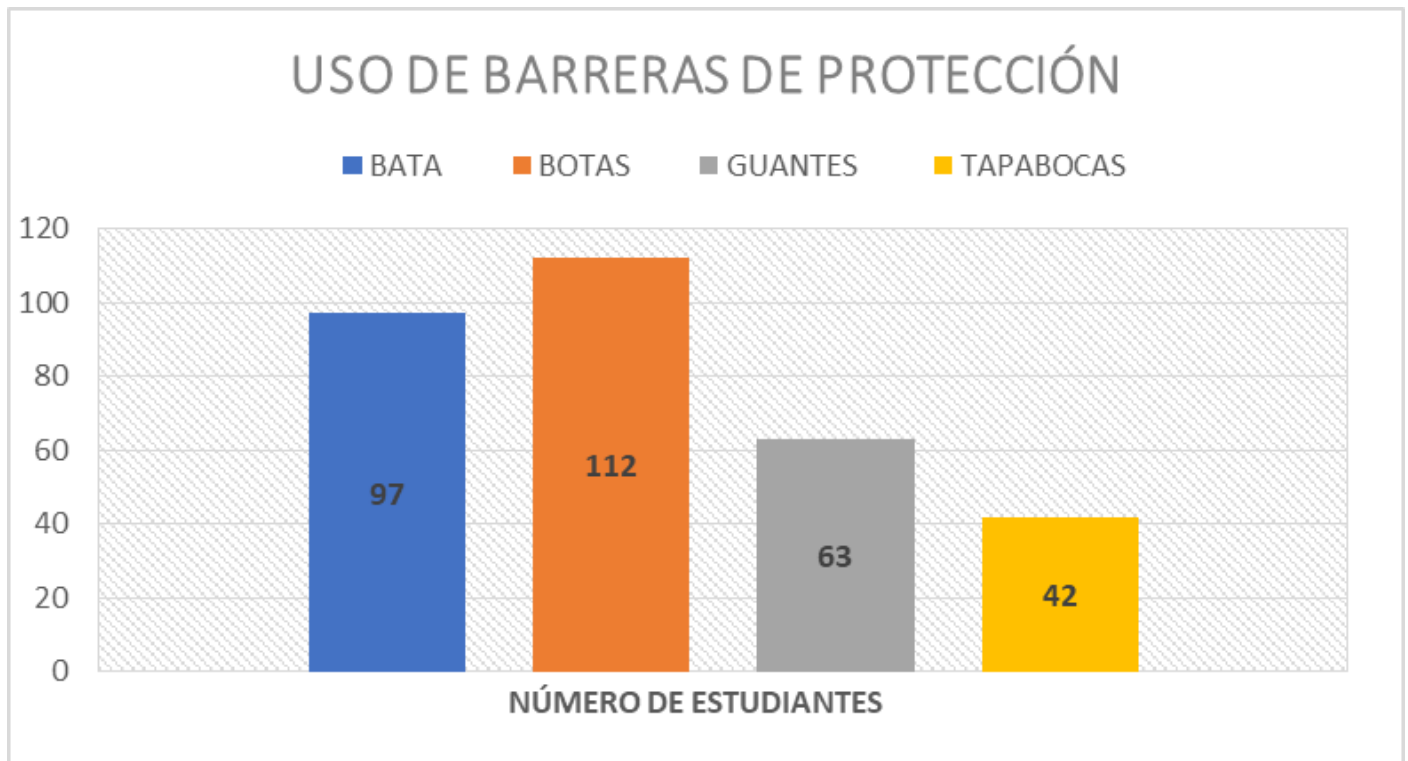
Figura 18: Consumo de productos lácteos crudos



4.7 USO DE BARRERAS DE PROTECCIÓN

En cuanto al uso de barreras de protección en el trabajo de campo se encontró que del total de la población (140), un 62% (97) utilizan bata, 80% (112) refieren el uso de botas, 45% (63) utilizan guantes, 30% (42) refieren el uso de tapabocas.

Figura 19: Número estudiantes que utilizan barreras de protección.



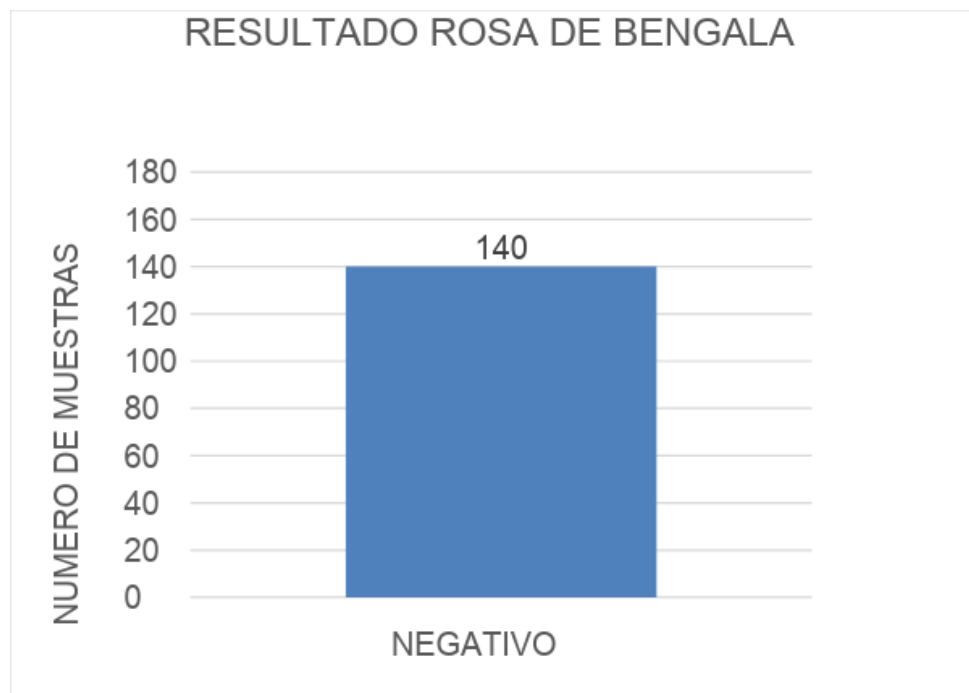
4.8 RESULTADO ROSA DE BENGALA

De las 158 muestras de sangre tomadas para la identificación de *Brucella spp.* solo un total de 140 resultaron óptimas para la realización de la prueba tamizaje Rosa de Bengala, en cuanto a cantidad de la muestra, calidad de los sueros e identificación correcta de los tubos; estas muestras fueron remitidas al Laboratorio Clínico Veterinario Zoolab (Zoo&Lab©) en la ciudad de Bogotá D.C.

Dentro de los resultados obtenidos se puede observar:

Se estableció que de las 140 muestras procesadas en el laboratorio Zoolab, el 100% resultó negativo para el tamizaje por Rosa de bengala para *Brucella spp.* (ver Anexos).

Figura 20: Resultado del tamizaje por Rosa de bengala para *Brucella spp.*



DISCUSIÓN

Gracias a la información suministrada por el Grupo de Investigación ECZA, enfermedades Crónicas zoonóticas y adquiridas, de encuestas epidemiológicas y resultado del tamizaje para *Brucella spp.*, se logró realizar un análisis sencillo de algunos factores que involucran a los estudiantes de medicina veterinaria como población de riesgo frente a infecciones de carácter zoonótico.

En proyectos de investigación como el aquí presentado, en donde se busca establecer la frecuencia de un evento en determinada población y la asociación de factores de riesgo, la precisión de los datos es importante al momento de validar los datos que tienen un enfoque epidemiológico, como lo mencionan Hernández y Garrido en una actualización sobre validez de investigaciones epidemiológicas (72), quienes además aseguran que el conocimiento generado depende de la ausencia de error y de la capacidad de estimar o predecir el parámetro verdadero en la población, en este caso al presentarse un 43% de encuestas incompletas, se dice que no cumplen 100% y que no están completas por falta de respuesta en uno o más interrogantes, además de encuestas mal diligenciadas, esto genera un sesgo de información en algunas de las variables del estudio; pero no se excluyen totalmente, y las muestras correspondientes a estos participantes se procesaron, pues como sugiere Morales en un estudio sobre el efecto de la no respuesta en análisis de datos (73), no se debe excluir totalmente estas encuestas del análisis pues aumentaría el sesgo y se perdería mucha información importante.

Es bien conocido a lo largo de la historia que dentro del campo de las ciencias agropecuarias la mayor población es de género masculino, en este proyecto tenemos un 61% de hombres que concuerda con este hecho; Trujillo Mascia, en el año 2010 presenta un estudio sobre el rol de la mujer dentro del campo de la medicina veterinaria y resalta que tanto en el ámbito académico como el de la

investigación la participación femenina tiene un crecimiento sostenido cualitativo y cuantitativo evidenciado en los últimos años (74).

Se encontró mayor número de participantes entre los 20 y los 23 años; se puede decir que por lo general esta es la edad media para un programa de educación superior y es la población más dinámica en cuanto a la participación de proyectos o eventos.

Un factor importante es el contacto directo con los animales, como estudiantes de Medicina Veterinaria es lógico que exista contacto con diferentes especies durante trabajo de campo y prácticas de laboratorio en mayor frecuencia y porcentaje se encontró contacto con la especie Bovina, seguida de la canina bien sea de forma diaria o semanal; Álvarez y Godoy (75) en un estudio sobre la incidencia, la etiología y el perfil epidemiológico de la brucelosis humana en 55 pacientes diagnosticados de brucelosis, reportan que El 71% de los pacientes desarrollan una actividad profesional de riesgo y evidenciando claro predominio del mecanismo de contagio directo con especie Bovina.

Como es de esperarse en un país como Colombia, donde la ganadería se convierte en una actividad económica principal; sumado a esto los brotes de enfermedades infecciosas en bovinos en los últimos años como Brucelosis, salmonelosis y fiebre Aftosa, que aunque se han implementado programas de vacunación como estrategia de prevención, y se presentan datos de reporte preliminares, aún no se conoce la realidad de estas patologías incluida brucelosis en bovinos lo que permite afirmar que son especies en riesgo de contraer la infección y por lo tanto son el foco de contaminación más importante para el hombre.

En el estudio realizado por Méndez y colaboradores (76) las encuestas también arrojaron mayor contacto con especie canina, esto por ser la especie más común como animal de compañía en la actualidad, se dice que más del 80% de los

participantes refirieron contacto con perros, pero si bien es cierto que la prueba Rosa de Bengala es menos específica para la identificación de anticuerpos contra *Brucella canis* por lo que es indispensable emplear métodos directos que ayuden a confirmar, Méndez y colaboradores aseguran que esto puede indicar que la seroprevalencia reportada podría ser diferente, si se tiene en cuenta que la técnica de tamizaje tiene mejor especificidad para *Brucella abortus*, aspecto a tener en cuenta frente al resultado de Rosa de Bengala en este estudio.

La frecuencia de contacto con las diferentes especies de animales se tuvo en cuenta como factor de riesgo, por la exposición de la población bien sea diario, semanal, mensual u ocasional, se logró evidenciar como se dijo anteriormente la mayor exposición frente a especies Bovina, Canina, y Felina, probablemente por su condición de animales domésticos y de compañía, sumado a esto los participantes del estudio residentes en su mayoría de la ciudad de Bogotá y sus alrededores, región donde probablemente las especies que más predominan son estas. Por otra parte, un aspecto proporcional, mientras mayor sea la exposición (diaria o semanal) o contacto con el animal o con productos y subproductos de este, mayor será el riesgo a presentar accidentes biológicos, contraer infecciones y desarrollar enfermedades de tipo zoonótico.

En cuanto al uso de barreras de protección para la bioseguridad la mayoría reportó el uso de botas y bata, en menor proporción guantes y tapaboca elementos que brindan protección a piel y mucosas, Morales y Combariza (13), 2012, muestra en un estudio de prevalencia del 3,76% para *Brucella spp.* con trabajadores de frigoríficos y veterinarios donde revelan que tan sólo el 34,4% de la población en estudio utiliza medidas de protección personal y manifiesta conocer el riesgo biológico como factor de riesgo ocupacional, cifra importante frente a este valor de seropositividad.

De ahí la importancia de la implementación de las normas de bioseguridad en el trabajo tanto en los laboratorios como en el campo en contacto directo con los animales, como el uso de ropa y zapatos adecuados junto a barreras de protección personal como gafas, guantes y tapabocas, de esta manera se garantizan las buenas prácticas y se mantiene la seguridad del personal.

Además, es importante establecer un esquema completo de vacunación frente a las enfermedades zoonóticas e infecciosas vacunables como tétano, rabia, fiebre amarilla, tuberculosis, hepatitis B, influenza, entre otras. Sin embargo, la realidad es diferente el implementar conciencia sobre el cuidado y la bioseguridad es difícil ya que hay una frágil cultura entre este grupo de los profesionales sobre la promoción de la salud en el trabajo (77).

Cabe aclarar que no es un común denominador, pero el gran porcentaje de los médicos veterinarios sólo utilizan bata, esporádicamente hacen uso de barreras de protección cuando se presenta un animal sin signos de enfermedad, sin tener en cuenta que en algunos casos hay pacientes infecciosos asintomáticos y que deberían utilizar guantes, ropa de protección y tapabocas, para prevenir un probable contagio (77).

De acuerdo al consumo de agua es importante aclarar que *Brucella spp.* puede sobrevivir en agua a temperaturas bajas durante varios días (2), razón por la que el consumo de agua sin tratar sería un factor de riesgo frente al contacto con el microorganismo, además de contribuir a la proliferación de más enfermedades de importancia sanitaria.

Se tuvo en cuenta el consumo de productos de origen animal porque la literatura refleja que en los países endémicos el suele referirse principalmente al consumo de leche (76) o sus derivados como quesos, cuajadas y crema de leche, como en el estudio que se presentan porcentajes de consumo de estos subproductos de las

especies bovina y caprina, además un 6% refirió el consumo de calostro, a pesar de ser un líquido rico en proteínas y sales minerales, puede ser un foco de infección si no se tiene un buen control animal.

La descripción de frecuencias de algunos factores que están asociados con el riesgo de contraer una infección por distintas especies de *Brucella spp.* fue en otras palabras sencilla, se tuvo en cuenta sólo 6 variables que, frente a una negatividad total, se consideraron puntos claves que brindaron información que con el fin de relacionarla con la actualización de literatura y con estudios previos similares.

El Instituto Colombiano Agropecuario (ICA) reporta en sus boletines anuales de sanidad animal el estado de las diferentes zoonosis presentes en el país, el más reciente del año 2014, mismo año en que se realizó el muestreo del presente estudio arroja datos del análisis de 1109 sueros, 579 mujeres y 530 hombres y según los resultados obtenidos, se identificaron 49 muestras positivas 24 hombres y 25 mujeres en los departamentos de: Arauca, Atlántico, Bolívar, Casanare, Cesar, Córdoba, La Guajira, Magdalena, Meta, Nariño, Norte de Santander y Sucre (17). cabe resaltar que el estudio se realizó en pacientes remitidos por los servicios de salud con sintomatología compatible con brucelosis y profesionales vinculados a programas de control de la enfermedad en el país.

Así mismo Quintero y colaboradores en el año 2014 en la ciudad de Montería departamento de Córdoba, realizaron un estudio para determinar prevalencia de *Brucella abortus* en 162 personas donde incluían trabajadores de frigoríficos, trabajadores de fincas ganaderas de bovinos de doble propósito y trabajadores de expendios de carne, reportando solo una persona positiva para *Brucella Abortus* por técnica de Rosa de Bengala, confirmando con técnica de ELISA (60).

Por otra parte, Trabattoni y colaboradores realizaron un estudio sobre prevalencia de brucelosis en docentes y alumnos de ciencias veterinarias, en Argentina,

reportando un resultado de prevalencia del 1,6% de brucelosis en una población de 346 alumnos (78), resultado que se relaciona a los estudios realizados en este país y contrasta con estudios realizados en Colombia.

En contraste, de acuerdo a los datos del ICA en los años 2017 y 2018, se evidencia una disminución en las primeras 18 semanas de año en curso donde el número de casos reportados está por debajo de la mitad de los reportados en el año anterior, aunque son datos preliminares y aún quedan resultados por confirmar, estas cifras llaman la atención por la disminución tan notoria de casos notificados, quizás las medidas de prevención han sido eficaces o probablemente no se tenga el reporte de todos los predios y municipios del país. Esto sugiere que a pesar de estos reportes preliminares en Colombia la información sobre *Brucella spp.* es muy fraccionada, aunque se reportan estudios en diferentes poblaciones catalogadas de riesgo no existe un reporte oficial actualizado que reúna esta información, López Guarnizo en el año 2012 (61) presenta un estudio descriptivo de la presentación de la patología durante el periodo desde 2000 hasta 2012 y afirma que no se encontraron reportes de prevalencia de brucelosis humana global para Colombia es muy poca la información con que se cuenta sobre prevalencia, seropositividad y presentación de la enfermedad en humanos, esto puede explicarse por el subdiagnóstico y la falta de información sobre este tipo de enfermedades zoonóticas.

Por otra parte, Méndez y Rodríguez (2015) reflejan que la incidencia de brucelosis (número de casos nuevos) hasta el año 2003 presentó una disminución y que hasta el año 2008 el reporte de casos se mantuvo estable, pero existe la probabilidad de presentar una tendencia al aumento (9), esto evidenciado con las cifras preliminares del ICA en el año 2017, lo que sugiere que es una patología reemergente que tiene que llamar la atención de autoridades de salud para lograr un control efectivo.

La negatividad para la prueba de Rosa de Bengala en el total de las muestras de estudiantes de medicina veterinaria del presente estudio es comparable con otros estudios realizados con misma población, Méndez y colaboradores (76) en el año 2013 reportaron que en 272 estudiantes de I a X semestre de medicina veterinaria en la ciudad de Bogotá, Colombia, utilizando la prueba de Rosa de bengala se encontró una seropositividad del 18.4 % correspondiente a 50 muestras, 28 hombres (56%) y 22 mujeres (44%), sin embargo al realizar la confirmación por la técnica de ELISA-IgM se encontró positividad del 0,73 % equivalente a sólo dos muestras, resultado que respalda la seronegatividad del 100% en pruebas de tamiz y afirma la idea de que se deben emplear pruebas confirmatorias más específicas como ELISA de competencia, por tal motivo no se puede afirmar que la población estudiada sea del todo sana o libre de *Brucella spp.*, no se debe descartar la idea de que puede existir infección en latencia, periodo de incubación o sencillamente pacientes asintomáticos portadores de la bacteria, debido a que es una población expuesta por su condición profesional, hay que enfocar esfuerzos en prevención e información sobre la problemática.

Así como los estudiantes de medicina veterinaria, en el país encontramos más población en riesgo de contraer esta infección; Morales y Combariza en el año 2014(13) realizaron un estudio sobre prevalencia de brucelosis en trabajadores de mataderos en el departamento del Tolima, se evaluaron 186 muestras con un resultado del 3,76% de prevalencia de *Brucella spp.*, dentro de esta población se encontraba un porcentaje de veterinarios del 3% frente a un 77% de trabajadores y 20% de carniceros (13), aunque se incluye personal de salud este porcentaje no es relevante para dicha población pero refleja una problemática que puede llegar a ser mayor si no se establecen programas enfocados a la prevención y al control de esta patología.

La técnica de Rosa de Bengala es conocida como prueba de tamizaje y presenta una sensibilidad del 98,3 % en casos agudos y 91,6 % en casos crónicos, según lo

indica López Guarnizo, 2012 (61) sin embargo cualquier resultado requiere confirmación mediante otras técnicas, debido a que es una prueba de tamizaje y no diagnóstica, esto con el fin de que los datos puedan tener aplicación en diagnósticos y en estudios epidemiológicos.

En cuanto al diagnóstico en humanos, López también asegura que existen factores que pueden llegar a dificultar como la incubación de la enfermedad, la ruta y la concentración del inóculo accidental con la bacteria (61), esto se relaciona con lo expuesto por Morera y Acosta, 2004 quienes aseguran que se pueden presentar falsos negativos por la técnica Rosa de Bengala en pacientes con infecciones de pocos días de evolución y en casos de brucelosis con un curso prolongado (65) argumentos que explican y respaldan una negatividad en 140 personas pertenecientes a una población catalogada de riesgo para la infección.

Una investigación realizada a esta misma población dentro del mismo grupo de investigación, evaluó la respuesta frente a *Leptospira*, agente de la leptospirosis otra zoonosis de importancia, mediante la técnica de aglutinación MAT, encontrando positividad en 48 sueros correspondiente al 34% de la población, este resultado evidencia que existen factores que exponen un riesgo de contacto no solo con una patología sino a varias, en población vulnerable como en este caso los estudiantes de carreras de la salud animal, como bien lo explica Méndez y colaboradores (76) quienes afirman que La detección de anticuerpos para otros agentes de origen zoonótico como la *Leptospira* es indicativo del riesgo de coinfección al que pueden enfrentarse estos individuos debido a su actividad de entrenamiento o de trabajo como Médicos Veterinarios con la posibilidad de desarrollar sintomatología inespecífica de una o las dos infecciones concurrentes.

Teniendo en cuenta que las pruebas de tamizaje o de screening para brucelosis hoy en día son ampliamente utilizadas han demostrado ser una herramienta útil, sin embargo, su especificidad y sensibilidad se ponen en duda porque no siempre se

logran hacer una detección en el tiempo adecuado, es decir en el período en que la infección está activa, algo que puede pasar desapercibido; es por eso que en este punto estas pruebas entran en discusión sobre su eficacia, por factores como tiempo en el oficio y la cronicidad de los síntomas, es difícil conocer cuándo y en qué condiciones se presentó el contagio de la infección, esto frente a un resultado negativo en pruebas de screening para brucelosis indicaría que no se ha tenido contacto o bien puede ser que el proceso de infección se encuentra en etapas que no es detectable la bacteria en sangre.

5. CONCLUSIONES

Los estudiantes de medicina veterinaria son catalogados como personal de alto riesgo frente a diversas zoonosis, pero un resultado 100% negativo en un estudio a esta población es llamativo frente a estas afirmaciones, incluyendo además varios factores como la educación en salud, la Bioseguridad, las buenas prácticas en trabajo de campo, etc.; Sin embargo, por su exposición y condición profesional siempre estarán como personal de riesgo en salud animal, además no se puede afirmar que la población en estudio está libre de *Brucella spp.* porque no se realizó la confirmación con otro tipo de pruebas.

Se puede concluir que el hecho de no encontrar prevalencia de brucelosis humana en este proyecto es un hallazgo positivo, existen varios puntos de acción como se mencionó anteriormente para lograr la actualización sobre la infección porque la brucelosis sigue siendo una patología de importancia clínica en varias poblaciones, sin embargo es necesario implementar las pruebas confirmatorias a todo tipo de paciente, y a todo tamizaje, estas pruebas al ser más específicas, más sensibles ayudarán a identificar con mayor exactitud los casos de brucelosis apoyando así mismo el control de la infección.

Otro punto clave son las pruebas de tamizaje o de screening para brucelosis que hoy en día son ampliamente utilizadas como base para llegar a un correcto diagnóstico, han demostrado ser una herramienta útil, sin embargo su especificidad y sensibilidad se ponen en duda, no siempre se logran hacer en el tiempo indicado es decir en el período apropiado para detectar la bacteria en sangre; además, siempre deben ser confirmadas por técnicas más específicas como inmunoensayos o técnicas de biología molecular; por esto desarrollar estudios que ayuden a determinar la seroprevalencia en población de riesgo con cierta regularidad, puede ayudar al control epidemiológico, al establecimiento de planes de mejora, promoción y prevención de la enfermedad.

6. RECOMENDACIONES

En estudios epidemiológicos la información es válida junto con la proyección a nuevas investigaciones relacionadas con prevalencia de enfermedades infecciosas en estudiantes, así mismo con su consideración como personal catalogado de alto riesgo en la salud animal como profesionales, auxiliares de laboratorio, personal de fincas, agricultores, ganaderos, porcicultores, y personal de mataderos y frigoríficos.

Contando con que en el país existan más de 10 universidades en todo el país con más de 25 programas académicos que incluyen medicina veterinaria y zootecnia, en áreas rurales y urbanas de diferentes sectores del país, es importante ampliar la línea de investigación en esta población con una mayor cobertura implementando estudios periódicos, descriptivos e informativos que permita generar un impacto y ayudar al control.

Es importante ampliar la investigación en cuanto a la confirmación de los resultados del tamizaje, proponer proyectos en donde se implementen técnicas inmunológicas más específicas como ELISA y moleculares como la Reacción en cadena de la polimerasa, además del seguimiento a la población con el fin de obtener datos suficientes para establecer un programa de vigilancia y control epidemiológico.

Las encuestas epidemiológicas son una herramienta útil en el campo de la investigación, sin embargo, se recomienda tener claro que puntos se pretenden indagar y cómo abordarlos, con el fin de que sea un instrumento que aporte en la recopilación, interpretación, y análisis de resultados de manera sencilla y efectiva.

También es vital hacer un llamado en materia de bioseguridad, a las correctas prácticas y el uso de barreras de protección personal cuando se trabaje en contacto con riesgo biológico, con el fin de disminuir el riesgo y prevenir la diseminación de infecciones como la causada por *Brucella spp.*

7. REFERENCIAS

1. Paredes A. Informe Final Brucelosis Humana Datos Retrospectivos En Colombia 2009. Inst Nac Salud Colomb. 2009;1–19.
2. Epidemiol V. Sistema de Información y Vigilancia SANIDAD ANIMAL 2008. 2009;
3. Guzmán-Hernández RL, Contreras-Rodríguez A, Ávila-Calderón ED, Morales-García MR. Brucelosis: zoonosis de importancia en México. Rev Chil infectología [Internet]. 2016;33(6):656–62. Available from: http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0716-10182016000600007&lng=en&nrm=iso&tlng=en
4. (ICA) ICA. Avance en la Erradicación de la Brucelosis en Colombia [Internet]. 2016. Available from: <https://www.ica.gov.co/Areas/Pecuaria/Servicios/Enfermedades-Animales/Brucelosis-Bovina-1/Avance-Erradicacion-de-Brucelosis.aspx>
5. Guzmán AR, Pachón RP, León R V. Estudio epidemiológico retrospectivo de enfermedades zoonóticas de 1997 a 2003 en Colombia (parte I).
6. García Vásquez ZJ. Factores de riesgo para brucelosis como enfermedad ocupacional "Revisión documental" 2008;107. Available from: <http://www.javeriana.edu.co/biblos/tesis/enfermeria/tesis42.pdf>
7. Yumuk Z, O'Callaghan D. Brucellosis in Turkey - an overview. Int J Infect Dis [Internet]. 2012;16(4):e228–35. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijid.2011.12.011>
8. Olivia Padrón Tello DIMH, Cardeña ÁP, Buen y LL de. Historia de la brucelosis. Rev Divulg CIENTÍFICA Y TECNOLÓGICA LA Univ VERACRUZANA [Internet]. 2011;XXIV(2). Available from:

<https://www.uv.mx/cienciahombre/revistae/vol24num2/articulos/brucelosis/>

9. Méndez-Lozano M, Rodríguez-Reyes EJ, Sánchez-Zamorano LM. Brucelosis, una zoonosis presente en la población: Estudio de series de tiempo en México. *Salud Publica Mex.* 2015;57(6):519–27.
10. Rodríguez Y, Ramírez W, Antúnez G, Pérez F, Ramírez Y, Igarza A. Brucelosis bovina, aspectos históricos y epidemiológicos. *Rev Electronica Vet.* 2005;6(9):1–9.
11. AGRICULTURA MD LA, VETERINARIA IDM. BRUCELOSIS ASUNTO DE INTERÉS [Internet]. 2007. p. Ciudad de La Habana, 5 de Marzo del 2007 "Año 49 d. Available from: http://www.sld.cu/galerias/pdf/sitios/med-veterinaria/brucelosis_-_historia.pdf
12. Comunicado de prensa. Informe de la OMS señala que los niños menores de 5 años representan casi un tercio de las muertes por enfermedades de transmisión alimentaria [Internet]. 3 DE DICIEMBRE DEL 2015. 2015. Available from: <http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2015/foodborne-disease-estimates/es/>
13. Fernando D, Ortegón M, Andrés D, Bayona C. Seroprevalencia de brucelosis en trabajadores de mataderos de municipios del Tolima (Colombia). 2004;2(1):15–23.
14. En M, Departamento EL, V AFO, S LFC, A DA, T ZSC, et al. PREVALENCIA DE BRUCELOSIS HUMANA EN TRABAJADORES DE MATADEROS EN EL DEPARTAMENTO DEL CAUCA-COLOMBIA Andres Felipe Osejo V., * Luis Fernando Chilangua S., ** Doralys Astudillo A., *** Zully Stella Canaval T., **** Mario Francisco Delgado N. *****. (52).
15. Tique V, González M, Mattar S. Seroprevalencia de *Brucella abortus* en en

- bovinos del departamento de Córdoba. Rev UDCA Div Cient. 2009;12(2):51–9.
16. Chequeo LDE, Productores DEP, Con DEB, AI D, Humano PC. Subgerencia de protección animal. 2014;2–3.
 17. Nacional G. SANIDAD ANIMAL 2014. 2014;
 18. (FEDEGAN) FC de G. Programa de Prevención, Control y Erradicación de la Brucelosis Bovina [Internet]. 2016. Available from: <http://www.fedegan.org.co/programas/programa-de-prevencion-control-y-erradicacion-de-la-brucelosis-bovina>
 19. Vrioni G, Pappas G, Priavali E, Gartzonika C, Levidiotou S. An Eternal Microbe: Brucella DNA Load Persists for Years after Clinical Cure. ClinInfectDis [Internet]. 2008;46(12):e131-6. Available from: <papers3://publication/uuid/C3AA8980-A44F-4C27-860C-6E2F69E3A06C>
 20. Infect IJ. brucellosis : an overview. 2003;(1).
 21. Torioni de Echaide S. Respuesta Inmune de Organismo Intracelulares. 2006;(1):2–5. Available from: <http://www.fcv.unl.edu.ar/archivos/grado/catedras/inmunologia/material/anexos/pdf/respuestainmune.pdf>
 22. Social M de S y P. Zoonosis [Internet]. 2018. Available from: [https://www.minsalud.gov.co/salud/Paginas/Zoonosis y cuidado de mascotas.aspx](https://www.minsalud.gov.co/salud/Paginas/Zoonosis%20y%20cuidado%20de%20mascotas.aspx)
 23. RK T. Enfermedades Zoonóticas [Internet]. Blog, Rabito te Pone al día. 2017. Available from: <https://rabitokontento.org/enfermedades-zoonoticas/>
 24. B.L. Cherkasskiy, A. Fabiyi, S. Faine AEI. Zoonosis Bacterianas y Viricas [Internet]. 1982. p. 165. Available from: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/38671/1/WHO_TRS_682_spa.pdf

25. MINSALUD. Abecé de zoonosis. 2015;7. Available from:
<https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/RIDE/VS/PP/SA/abc-zoonosis.pdf%5Cnhttp://www.oie.int/es/>

26. (OIE) ORGANIZACION MUNDIAL DE SANIDAD ANIMAL. Antigua clasificación de enfermedades de declaración obligatoria a la OIE Lista B [Internet]. Available from: <http://www.oie.int/es/sanidad-animal-en-el-mundo/el-sistema-mundial-de-informacion-sanitaria/antigua-clasificacion-de-enfermedades-de-declaracion-obligatoria-a-la-oie-lista-b/>

27. Brucella spp [Internet]. Enfermedad transmitida por los alimentos. 2016. Available from: <http://foodborne-disease.blogspot.com.co/2016/10/brucella-spp.html>

28. Public CDC, Image H. Brucella spp. 2013;13–6.

29. OIE. Brucelosis. 2010;1–6. Available from:
<http://www.oie.int/doc/ged/D13939.PDF>

30. Epidemiol V. Manual para la Vigilancia Epidemiológica de la brucelosis. DR © Secr SALUD Subsecr PREVENCIÓN Y PROMOCIÓN LA SALUD, Dir Gen Epidemiol. 2015;México, Di.

31. Motta Giraldo JL, Clavijo Hoyos JA, Waltero García I, Abeledo MA. Prevalencia de anticuerpos a Brucella abortus, Leptospira sp. y Neospora caninum en hatos bovinos y bubalinos en el Departamento de Caquetá, Colombia. (Spanish). Seroprevalence Brucella Abort Leptospira sp Neospora caninum cattle, buffaloes Mix farms, Dep Caqueta, Colomb [Internet]. 2014;36(2):80–9. Available from:
<http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&AuthType=ip,url,uid,cookie&db=zbh&AN=115853368&site=ehost-live>

32. Díaz Aparicio E. Epidemiología de la brucelosis causada por Brucella

- melitensis, *Brucella suis* y *Brucella abortus* en animales domésticos. *Rev sci tech Off int Epiz* [Internet]. 2013;32(1):43–51. Available from: <https://pdfs.semanticscholar.org/7912/0de6d16d5ff33ed19b6051f3204ea6373d9d.pdf>
33. Institute for International Cooperation in Animal biologics. *Brucellosis bovina: Brucella abortus*. *Cent Food Secur Public Heal*. 12009;1–6.
 34. University of Pretoria. An aborted foetus of a bovine as a result of *Brucella abortus bovis* [Internet]. 2013. Available from: <http://hdl.handle.net/2263/32716>
 35. MINISTERIO DE AGRICULTURA. *BRUCELOSIS CAPRINA Y OVINA*. 2013.
 36. Gul HC, Erdem H, Bek S. Overview of neurobrucellosis: a pooled analysis of 187 cases. *Int J Infect Dis*. 2009;13(6).
 37. Russo AM, Mancebo OA, Monzón CM, Gait JJ, Casco RD, Torioni De Echaide SM. Epidemiología de la brucelosis caprina y ovina en la Provincia de Formosa, Argentina. *Rev Argent Microbiol* [Internet]. 2016;48(2):147–53. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ram.2015.10.005>
 38. Dario Q, Mariantonieta O. Presencia de *Brucella abortus* en ovinos del municipio de Arauca (Presence of *Brucella abortus* in sheep of the municipality of Arauca). 2017;
 39. Pisani DA, Vacarezza M, Tomasina F. Estudio de 14 casos de brucelosis en trabajadores de un frigorífico como enfermedad. 2017;33(3):168–73.
 40. MINISTERIO DE AGRICULTURA. *BRUCELOSIS PORCINA (Brucella suis)*. 2013;
 41. Corbel MJ. Brucellosis: An Overview. *Emerg Infect Dis*. 1997;3(2):213–21.
 42. Ballut JC, Calderón A, Rodríguez V. *Brucellosis En Hembras Caninas En*

- Montería (Colombia): Un Problema Para La Salud Pública. *Rev Med Vet Cordová*. 2013;12(2):66–74.
43. Cárdenas G, Obando B, Moreno C, Angie L, Ortiz G. Seroprevalencia de *Brucella canis* en la población canina del centro de zoonosis de la ciudad de Villavicencio - Seroprevalence of *Brucella canis* in the canine population of the zoonosis center in the city of Villavicencio. 2017;1–11.
 44. Sánchez-Jiménez MM, Giraldo-Echeverri CA, Olivera-Angel M. Infección por *Brucella canis* en humanos: propuesta de un modelo teórico de infección a través de la ruta oral. *Infectio* [Internet]. 2013;17(4):193–200. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0123939213707318>
 45. Castro HA, González SR, Prat MI. Inmunología Actualización Brucelosis: una revisión práctica*. *Acta Bioquím Clín Latinoam*. 2005;39(2):203–16.
 46. Fundación io. *Brucella* [Internet]. 2010. Available from: <http://fundacionio.org/img/bacteriology/cont/brucella.html>
 47. Enrique Freer RC-A. *Brucella*: una bacteria virulenta carente de los factores de virulencia clásicos. *Rev Costarric Cienc Med* [Internet]. 2001;22. Available from: http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0253-29482001000100008#.WmgKCWvyO18.gmail
 48. Merino AL. *Brucella* [Internet]. Romero DEMR y JCM, editor. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Instituto Politécnico Nacional; Available from: <http://www.biblioweb.tic.unam.mx/libros/microbios/Cap7/>
 49. Colombia A. Información Brucelosis [Internet]. 2017. p. 1. Available from: <http://www.asocebu.com/index.php/informacion-brucelosis>
 50. Arvizu Z. BRUCELLA [Internet]. *Health & Medicine*. 2017. Available from: <https://www.slideshare.net/zaramewblood/brucella-71738636>
 51. Rivers R, Andrews E, Gonzalez-Smith A, Donoso G, Onate A. *Brucella*

abortus: immunity, vaccines and prevention strategies based on nucleic acids. Arch Med Vet [Internet]. 2006;38:7–18. Available from: <http://www.scielo.cl/pdf/amv/v38n1/Art02.pdf>

52. Grüntzig K, Graf R, Hässig M, Welle M, Meier D, Lott G, et al. The Swiss canine cancer registry: A retrospective study on the occurrence of tumours in dogs in Switzerland from 1955 to 2008. J Comp Pathol. 2015;
53. Saldarriaga OA, Ossa JE, Rugeles MT. Respuesta inmune y estrategias de evasión durante la infección con Brucella spp . Rev Colomb Ciências Pecuárias [Internet]. 2002;15(38):180–7. Available from: <http://rccp.udea.edu.co/index.php/ojs/article/viewFile/85/84>
54. Arenas GN, Staskevich AS, Mayorga LS, Staskevich a N a S, Aballay A. Intracellular Trafficking of Brucella abortus in J774 Macrophages Intracellular Trafficking of Brucella abortus in J774 Macrophages. 2000;68(7):4255–63.
55. Programas de Salud publica. ¿QUÉ DEBE SABER SOBRE LA BRUCELOSIS? [Internet]. 2018. Available from: http://tematico8.asturias.es/seguridadAlimentaria/seguridad-alimentaria-imagenes/html_brucelosis/brucelosis.htm
56. Román-Ramírez DL, Martínez-Herrera DI, Villagómez-Cortés JA, Peniche-Cardena ÁE de J, Morales-Álvarez JF, Flores-Castro R. Epidemiología de la brucelosis caprina en la Zona Centro del Estado de Veracruz (Epidemiology of goat brucellosis in central zone of the state of Veracruz, Mexico). Gac Med Mex. 2017;153(1):26–30.
57. Redalyc.Seroprevalencia de Brucella sp. en équidos de Córdoba, Colombia. 2016;
58. Arenas N, Moreno V. Estudio económico de la infección por Brucella abortus en ganado bovino en la región del Sumapaz, Cundinamarca. Rev la Fac

- Med Vet y Zootec [Internet]. 2016;63(3):218–28. Available from: <http://www.revistas.unal.edu.co/index.php/remvez/article/view/62751>
59. Ortega M, Valdezate S, Sáez-Nieto J. Diversidad Genética de Brucella en España. *Semaforo*. 2013;55:38–44.
 60. Quintero G, Calderón A, Rodríguez V, Barrios C, Yasnot MF, Villadiego M. DETERMINACIÓN DE LA SEROPREVALENCIA DE ANTICUERPOS PARA Brucella abortus EN TRABAJADORES DE UN FRIGORÍFICO Y ORDEÑADORES EN MONTERÍA , CÓRDOBA (COLOMBIA) DETERMINATION OF ANTIBODIES SEROPREVALENCE TO Brucella abortus IN SLAUGHTERHOUSE WORKERS AND MILKER. *Rev UDCA Actual Divulg Científica*. 2014;17(2):333–40.
 61. López Guarnizo P. Estudio descriptivo de la presentación de brucelosis humana en Colombia desde 2000 hasta 2012. *Rev Med Vet*. 2012;28:67–79.
 62. esalud. Brucelosis [Internet]. eSalud.com - Blog de salud y bienestar. 2018. Available from: <https://www.esalud.com/brucelosis/>
 63. Akinci E, Bodur H, Çevik MA, Erbay A, Eren SS, Ziraman I, et al. A complication of brucellosis: Epididymoorchitis. *Int J Infect Dis*. 2006;10(2):171–7.
 64. Rodríguez Y, Torres SN, Mora JFJ, Charry JCV. Brucelosis recurrente. *Pediatría (Santiago)* [Internet]. 2014;47(1–2):32–5. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0120491215301294>
 65. Morera Ortiz M, Andrade Acosta M. Prueba de Rosa de Bengala en el Diagnóstico de Brucelosis Bovina. *Senasa-Perú* [Internet]. 2004;2–6. Available from: <https://www.senasa.gob.pe/senasa/wp-content/uploads/2014/12/Prueba-de-Rosa-de-Bengala.pdf>
 66. Linear Chemicals. Rosa Bengala. *Cromatest* [Internet]. 2000;2. Available

from: http://www.linear.es/ficheros/archivos/322_2210005cas.pdf

67. SPINREACT SA /S. A. Rosa de bengala. 2013;34(977):93–4.
68. Montes I. Diagnóstico de la Brucelosis. Servicio de Microbiología. Hospital Virgen del Puerto. Plasencia (Cáceres). Serv Microbiol Hosp Virgen del Puerto Plasencia Introd [Internet]. 2000;3. Available from: <https://www.seimc.org/contenidos/ccs/revisionestematicas/serologia/diagbruce.pdf>
69. Cardenal JA, Infecciosas SE, Bellvitge CSU De. Brucelosis. Aspectos actuales de principal interés.pdf. 2000;1–7.
70. Agudelo-Suárez AN. Aproximación a la complejidad de las zoonosis en Colombia. Rev Salud Pública [Internet]. 2012;14(2):325–39. Available from: <http://www.scielo.org.co/pdf/rsap/v14n2/v14n2a13%5Cnhttp://www.revistas.unal.edu.co/index.php/revsaludpublica/article/view/35833/37846>
71. Ricardo VC, Darras C, Denisse G, Rober- VG. Review. 2016;19(1):45–51.
72. Hernández-Ávila M, Francisco Garrigo MC, Salazar-Martínez E. Sesgos en estudios epidemiológicos. Rev Cubana Hig Epidemiol. 2008;46(1):438–46.
73. Díez de Ulzurrun LM. El efecto de la no respuesta parcial. Metodol Encuestas. 2000;Vol 2, Núm:217–38.
74. Mascia NT. EL ROL DE LA MUJER EN LA MEDICINA VETERINARIA: EL CASO DCV-UCLA. 2010;6(1):125–40.
75. España Serra Alvarez , Jordi ; Godoy García P. Sistema de INCIDENCIA , ETIOLOGÍA Y EPIDEMIOLOGÍA DE LA BRUCELOSIS EN Brucellosis - Incidence , Etiology and Epidemiology in a Rural Area of the Protince of Lleida , Catalonia distr. Rev Esp Salud Publica. 2000;
76. Méndez I, Trujillo D, Duque C, Acero E, Cabrera Á, Pachón D.

Seroprevalencia de *Brucella* spp en estudiantes de Medicina Veterinaria, Bogotá, Colombia. *Rev la Univ Ind Santander*. 2013;45(2):39–48.

77. Vallejo Timarán DA, Benavides Melo CJ, Astaiza Martínez JM, Higidio Miranda PS, Benavides Zambrano MA. Determinación De Las Medidas De Bioseguridad En Clínicas Y Consultorios De Pequeños Animales En La Ciudad De Pasto, Nariño. *Biosalud* [Internet]. 2016;15(2):55–65. Available from: [http://200.21.104.25/biosalud/downloads/Biosalud15\(2\)_6.pdf](http://200.21.104.25/biosalud/downloads/Biosalud15(2)_6.pdf)
78. Rabattoni T, Avaroni L, Era V. Prevalencia De Brucelosis En Alumnos Y Docentes De Ciencias Veterinarias De Esperanza En El Año 2002. 2004;3(3080):420639.

8. ANEXOS

CONSENTIMIENTO INFORMADO

IDENTIFICACIÓN DE BRÚCELA SPP, Y LEPTOSPIRA SPP COMO CAUSANTES DE ENFERMEDAD ZONOTICA EN ESTUDIANTES DE MEDICINA VETERINARIA DE LA UNIVERSIDAD DE CIENCIAS AMBIENTALES Y APLICADAS U.D.C.A.

CONSENTIMIENTO Y AUTORIZACIÓN

Fecha: _____

Nombres y apellidos: _____

Estimado paciente:

Estamos realizando un estudio sobre la prevalencia de enfermedades zoonóticas o marcadores de las mismas en personal considerado de alto riesgo para estas entidades y su participación es de vital importancia para llevar a cabo nuestros propósitos, su aporte sería de gran ayuda para futuros pacientes ya que con base en estos datos se podría determinar la prevalencia de patógenos zoonóticas y un posible perfil epidemiológicos de las entidades y microorganismos causales. Dicha participación consiste en:

1. Su aprobación para la toma de una muestra de sangre en los días y horas en que el profesional o investigador lo cite. Él tomara todas las normas de bioseguridad de tal forma que usted no corra ningún riesgo.
2. Su aceptación para que a dicha muestra de sangre se le realicen las determinaciones de lípidos, glicemia, insulina, homocisteína y otras pruebas posteriores derivadas del estudio.
3. El consentimiento para realizarle una historia clínica y una encuesta anónima

4. En caso de que acepte, la información que se nos proporcione se utilizará de forma confidencial y para propósitos exclusivos de la investigación científica.

5. Por su seguridad, las muestras serán codificadas de tal forma que nadie podrá saber a quién le pertenecen, únicamente los investigadores tendrán acceso a dicha información

6. Su participación es voluntaria y el tratamiento o atención que usted recibe en esta institución no se verá afectado si usted decide no participar en este estudio.

7. Además, está en libertad de retirarse cuando: lo considere conveniente, si no está de acuerdo con el estudio o si tiene algún impedimento social, cultural o religioso

8. La investigación tendrá una duración total de 24 meses, pero su tiempo de participación será únicamente de 1 o 2 días máximo. Tiempo en el cual se le tomará una muestra de sangre y se le citará para realizarle inmediatamente la historia clínica y posteriormente la encuesta.

9. El entrar Ud. a participar en esta investigación no le genera un beneficio económico.

10. Los resultados del estudio se darán a conocer una vez finalizado el proceso de la investigación, mediante exposición oral del trabajo a la población estudiada.

11. Puede solicitar el acceso a sus datos, así no sean de utilidad para su condición, excepto si el comité acepta explícitamente mantenerlos en secreto.

12. Puede realizar las preguntas que considere pertinentes en cualquier momento del estudio.

Este consentimiento informado ha pasado por revisión y aprobación del comité de bioética de la UCMC.

Habiendo sido enterado (a) del contenido de la presente y resueltas todas mis inquietudes acerca de la investigación, yo _____

Acepto participar voluntariamente en este estudio

Firma: _____

C.C. _____