

BRUCELOSIS HUMANA EN ESTUDIANTES DE LA ESCUELA DE BIOANÁLISIS, UNIVERSIDAD DE LOS ANDES-VENEZUELA

Angela A. Lugo, María R. Pérez, Yelitza C. Hernández, Datty V. Rosales Zambrano y Félix D. Andueza

Laboratorio de Zoonosis, Escuela de Bioanálisis, Facultad de Farmacia y Bioanálisis, Universidad de los Andes (Mérida, Venezuela)

E-mail: alugo@ula.ve



Introducción

La brucelosis, es una enfermedad que padecen tanto los animales como el hombre; los cuales son infectados por microorganismos que pertenecen al género *Brucella*. Incluyen diferentes formas clínicas de la infección humana y en el ganado, sobre todo abortos epizooticos (1,2).

La infección en el humano, es caracterizada por una fase febril aguda con pocos signos de localización o sin ellos, y por una fase crónica con episodios de fiebre, debilidad,

sudoración dolores vagos osteoarticular mucho más intensos que en la fase aguda, lo que puede extenderse durante muchos años afectando diferentes tejidos (3,4). En los animales principalmente en el ganado bovino se caracteriza por abortos en el último tercio de la gestación, infertilidad retención de la placenta. Mientras que los machos se presenta orquitis y esterilidad. Esta zoonosis es considerada como una de las más importantes, debido a las consecuencias negativas en la salud pública y por las cuantiosas pérdidas económicas que produce al productor como al país (5).

La transmisión se puede realizar por contacto con tejido, sangre, orina, secreciones vaginales, fetos abortados, en especial placenta, abrasiones en la piel e ingestión de leche cruda, productos lácteos no pasteurizados, que provienen de animales infectados; así mismo puede transmitirse por medio del aire en corrales, establos y también a las personas que trabajan en los laboratorios de diagnóstico, mataderos y en pequeños números de casos es consecuencia de auto inoculación accidental de vacuna de *Brucella sp* de la cepa 19. Debido a una manipulación de la vacuna Rev-1 (6,7,8)

Razones que permite tener un incremento en los últimos años de los casos de personas infectadas con *Brucella sp*; debido al descuido de programas de control en las vacunaciones de los animales y medidas preventivas a nivel sanitario. Que incluye la elaboración y comercialización de leches, quesos, productos lácteos sin pasteurización. Es por ello, la necesidad de retomar dichas campañas de control para ayudar de esta manera a disminuir y prevenir la enfermedad en las personas. En tal sentido se propuso realizar este trabajo de investigación seroepidemiológico de la brucelosis humana en los estudiantes de la Escuela de Bioanálisis de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes de Venezuela, ya que la gran mayoría de estos estudiantes provienen de zonas endémicas para la brucelosis.

www.medigraphic.org.mx

Materiales y Métodos

Población a estudiar: La población estudiada represento 204 estudiantes. Según datos aportados por la Oficina de Registro estudiantil de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes.

Encuesta de datos epidemiológicos: Se aplicó una encuesta a cada uno de los estudiantes lo que permitió conocer y determinar, según la procedencia si la zona es endémica o no. Así como la situación serepidemiológica de dicha población según datos aportados por el Laboratorio de Zoonosis de la Facultad y el Ministerio de Salud y Desarrollo Social de Venezuela.

Muestra: Se tomaron 6 ml de sangre por punción venosa en tubos de vidrios estériles sin anticoagulante a cada uno de los 204 estudiantes. Las cuales fueron transportadas al el Laboratorio de Zoonosis de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes. Y se centrífugadas a 3000 rpm durante 10 minutos, para obtener así el suero sanguíneo correspondiente. Dichos sueros fueron colocados en tubos Eppendorf debidamente rotulados, luego se almacenaron a – 20 grados centígrados hasta ser procesados.

Antígenos y reactivos: Los antígenos que se utilizaron para detectar y medir la presencia de anticuerpos contra *Brucella sp* se obtuvieron en el Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA) de Maracay, Estado de Aragua, Venezuela (9).

Diagnóstico serológico: Se realizaron determinaciones cuantitativas y cualitativas de los anticuerpos anti-*Brucella sp*, presentes en los sueros de los estudiantes. Se realizaron análisis para el diagnóstico de la brucelosis humana aplicando la prueba presuntiva de Rosa de Bengala y las pruebas confirmatorias de Microaglutinación en palca con fenol y 2-mecaptoetanol.

Prueba de Rosa de Bengala: Con esta prueba se determino la presencia de anticuerpos específicos contra *Brucella sp*, en suero humano. Esta técnicas emplea un antígeno brucelar amortiguado, preparado con células de cepas 99s de *B. abortus* teñidas con solución Rosa de Bnegala en solución amortiguadora a pH 3.65. Cualquier tipo de aglutinación se considero como positiva y su ausencia total de aglutinación se considero como negativa. Después de cuatro minutos de la unión de los reactivos y el suero, se observo la lámina para determinar si hubo aglutinación (10).

Prueba de Microaglutinación en Placa con Fenol: Mediante esta prueba se detectaron inmunoglobulinas séricas específicas del tipo IgM o IgG. Se utilizó un antígeno blanco de Bang y solución salina fenolada al 0.1%. Esta técnica es una variante de la aglutinación lenta en tubo, que permite el ahorro de reactivos y tiene resultados comparables a la técnica clásica (11). Se tomó como punto de corte en humanos igual o mayor que 1/40.

Prueba de Aglutinación con 2-mecaptoetanol: Cosnsite en determinar anticuerpos aglutinantes de la clase IgG. Es una técnica muy similar a la anterior en la cual se realiza un tratamiento de la muestra con 2-ME, a fin de inactivar las IgM. La detercción de anticuerpos por esta técnica permite determinar infección activa en humanos y es muy útil para seguir el control de pacientes en tratamiento. La lectura es igual a la MAP con fenol, pero se considera que un titulo igual o mayor que a 1/20 es positivo.

Controles: Todas estas técnicas fueron evaluadas con utilización de sueros positivos y negativos previamente comprobados en los laboratorios.

Resultados y Discusión

La Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes, se encuentra ubicada el noroeste del Estado de Mérida y albergan estudiantes procedentes de todas las regiones del país, pero especialmente aquellos provenientes de zonas endémicas como El Vigía y Santa Bárbara del Zulia. Su ubicación, le confiere el lugar de encuentro entre la cordillera andina con el resto de la geografía nacional. Además de tener un potencial económico y social para el desarrollo de nuevas iniciativas en el progreso integral, dando así un mayor aporte a la ciudad en general y al estado. Se observa en ella, una visión de progreso y futuro. El Vigía y Santa Bárbara del Zulia son consideradas las zonas más productivas en la crianza de ganado de Venezuela. Además se caracteriza por presentar un alto porcentaje de importación de animales que no tienen ningún tipo de control sanitario. Aunado a la falta de control o fallas de programas sanitarios preventivos. Por esta razón se considera área endémica y principal causa de la enfermedad. Lo que permite mantener la *Brucella* viable circundando en el área (12,13).

Un total de 204 estudiantes fueron sometidos a un encuesta epidemiológica, cuyas variables a estudiar fueron: su procedencia, aquí se aprecia que la población es muy diversificada geográficamente. Las zonas de mayor afluencia fue el estado de Mérida con un total de 100 (49.01%) estudiantes, seguido del Táchira 25 (12.25%), Barinas 16 (7.84%), Trujillo 12 (5.88%), Zulia 9 (4.41%) y finalmente el estado de Apure con 8 (3.92%) estudiantes. La minoría 34 (16.69%) correspondió a otras zonas del país (ver Tabla 1). Lo que nos permite afirmar que la gran mayoría de la población estudiantil proviene de zonas endémicas para la brucelosis.

Tabla 1. Zonas de mayor afluencia estudiantil de la Escuela de Bioanálisis de ULA, Mérida Venezuela.

Ciudades	Número de Individuos	%
Mérida	100	49.01
Táchira	25	12.25
Barinas	16	7.84
Trujillo	12	5.88
Zulia	9	4.41
Apure	8	3.92
Otras	34	16.69
Total	204	100

Fuente: Encuesta de trabajo

Así mismo se pudo observar que el género femenino predominó con un 78.92% y 28.08% el masculino. Lo que demuestra que existe un alto índice de mujeres estudiando en la escuela. Esto es razonable, debido a las características en sí de la carrera. Sin embargo se puede afirmar que el género que tiene mayor posibilidad de contraer la enfermedad es el masculino (14). Aunque otro estudio (15) relacionado con brucelosis encontraron que el género femenino presentó mayor positividad (16). Sin embargo se considera en general que este factor no depende del sexo sino de la actividad que realiza el individuo (17).

En relación a la edad un 97.04% (n 198) correspondió a un rango de 16 a 29 años de edad y de 30 a 48 años el 2.96% (n 6). Lo que demuestra que la población se encuentra en etapa juvenil. Sin embargo, esta etapa es considerada la productiva laboral para el individuo, ya que muchos de ellos pueden tener otro tipo de actividad en su ámbito familiar, y esto se demuestra en las encuestas de trabajo realizadas, donde manifestaron que algunos familiares son propietarios de finca, permitiendo demostrar un vínculo de contaminación directa (18).

Cuando se estudio el factor del consumo de carnes encontramos el 94.61% (n 193) manifestaron ser consumidores y el resto no ser consumidores de carne. Es bien conocido que el consumo de carne con un grado de cocción bajo es un factor directo para contraer la enfermedad (19,20).

Mientras los que dijeron haber consumido productos lácteos sin pasteurizar correspondió a 101 individuos (49.51%) y 103 (40.49%) que consumen productos lácteos pasteurizados. Es de destacar que los productos lácteos sin pasteurizar también es un factor importante para adquirir la infección. Se afirma, que una de las principales causas por las cuales se adquiere la *Brucella* es por el consumo de leche cruda y sus derivados que no han sido sometidos a ningún tipo de pasteurización (21). También se encontró que el 36.27% de individuos manifestaron haber tenido algún tipo de contacto directo con animales. Aspecto bien conocido en la transmisión de la enfermedad al estar en contacto con el producto y sus derivados de estos animales y sus fluidos (22).

Por otra parte, la clínica que presentaron los alumnos fueron: 125 (61.27%) tiene o padecieron de patologías y 79 (38.73%) no presentaron sintomatología alguna. De los cuales 97 (47.5%) padecieron dolores de cabeza, 20.1% dolores articulares, 3.2% fiebre, 5.4% sudores nocturnos, 23.5% debilidad. Recordemos, que la brucelosis puede ser

confundida con otras patologías por la diversidad de su sintomatología. Tanto es así, que muchas veces el médico lo confunde con una artritis reumatoide, ya que esta al igual que en la brucelosis hay inflamación de las articulaciones (23,24).

Se pudo observar que 3 (1.47%) individuos resultaron positivos a la prueba de Rosa de bengala y las cuantitativas arrojaron títulos de 1/20, 1/40 y 1/40 (microaglutinación en placa con fenol). Es de observar que el ensayo de 2-mercaptoetanol solo presentó títulos de 1/40 (ver Tabla 2). Esto significa positividad para la prueba (0.49%), mientras que los otros casos son considerados negativos o sospechosos.

Tabla 2. Resultados de las pruebas serológicas aplicadas a la población estudiantil de la Escuela de Bioanálisis de ULA, Mérida Venezuela.

No. de Individuos	R.B.	%	Títulos de aglutinación			
			MAP	%	2ME	%
3	+	1.47%	1/20	0.49	-	
	+		1/40	0.49	1/40	0.49
	+		1/40	0.49	-	
201	-	98.5%	-	-	-	
1.47						

Fuente: Encuesta de trabajo; RB: rosa de bengala; MAP: microaglutinación en placa de fenol; 2-ME: 2-mercaptoetanol.

No obstante, el paciente positivo según la encuesta realizada se observó que fue asintomático y procedía de una zona endémica para la brucelosis, con hábitos de consumir productos lácteos sin pasteurizar en contacto directo de animales. Los sospechosos se les sugirieron repetir los análisis. Era de esperar debido que todos los factores de riesgos considerados en la encuesta fueron aceptados por los alumnos. Es importante mencionar que la ciudad de Mérida es frontera de esta zona y gran parte de sus productos llegan al mercado principal, por lo que las personas que la habitan no escapan de los riesgos de contraer la enfermedad (26).

Así mismo se afirma que una de las principales causas por las cuales se adquiere la *Brucella* es por el consumo de leche cruda y sus derivados que no han sido sometidos a ningún tipo de pasteurización (27,28). Se comenta que los casos positivos fueron evaluados por segunda vez, resultando los mismos títulos y sometidos a su seguimiento para su tratamiento, y los otros casos fueron considerados como negativos. Lo que nos permite decir que en la población estudiantil existe la enfermedad. Se comenta que los casos positivos fueron evaluados por segunda vez, resultando los mismos títulos y sometidos a su seguimiento para su tratamiento, y los otros casos fueron considerados como negativos.

Conclusiones

Se afirma que una de las principales causas por las cuales se adquiere la *Brucella sp* es por el consumo de leche cruda y sus derivados que no han sido sometidos a ningún tipo de pasteurización. La población estudiantil de la Escuela de Bioanálisis de la Universidad de los Andes evidencia la enfermedad. Se demostró que en la población estudiantil de la Escuela Bioanálisis, hay una incidencia de brucelosis humana de 1.47% (tres estudiantes) ya que en ellos fueron detectados anticuerpos anti-*Brucella sp*. Se afirma que la procedencia de zonas endémicas, el consumo de lácteos crudos y el contacto con animales son factores epidemiológicamente importantes en esta zoonosis.

Resumen

La brucelosis genera grandes pérdidas económicas tanto al productor como al país; produciendo graves problemas de salud pública ocasionados por el descuido en el control de la vacunación animal y medidas preventivas al hombre.

En la Escuela de Bioanálisis de la Universidad de los Andes la gran mayoría de sus estudiantes provienen de zonas endémicas para la brucelosis como lo son: Santa Bárbara del Zulia y El Vigía. Razón que nos motivó a realizar el presente estudio de investigación. Un total de 204 (29.9%) de los estudiantes se les aplicó una encuesta epidemiológica. Luego se les tomó 6 ml de sangre venosa para obtener el suero sanguíneo y ser analizados mediante las técnicas de Rosa de Bengala, la Microaglutinación en placa con fenol con 2-Mercaptoetanol. De esta manera conocer el porcentaje de seropositividad de dicha población estudiantil. Los resultados arrojados indicaron que 3 (1.47%) de los estudiantes fueron seropositivos y 203 (98.5%) seronegativos a los antígenos anti-*Brucella sp.* Lo que demuestra que en la Escuela de Bioanálisis existe la enfermedad.

Palabras claves: Brucella, zoonosis, humanos, epidemiología, diagnóstico serológico.

Abstract

Brucellosis causes economic losses both to the producer and the country, producing serious public health problems due to the lack of control on animal vaccination and preventive measures to individuals. At the School of Bionalysis at the University of Los Andes, most of the students come from endemic regions to Brucellosis, such as: Santa Bárbara del Zulia and El Vigía. This situation encouraged us to perform this research. 204 (29.9%) of the students were given a serological survey. Then, 6 ml of blood were drawn to obtain the blood serum and to be analyzed by the Rose Bengal technique, the Microagglutination on the a plate with phenol and 2-mercapethanol. At his way could know the seropositive percentage of such student group. The results showed that 3 (1.47%) of the students were seropositive and 203 (98.5%) were seronegative to antigens like anti-*Brucella sp.* This proves that the disease exists at the School of Bionalysis.

Key words: Brucella, zoonosis, human, epidemiology, serological diagnosis.

Agradecimientos

Los autores desean expresar su agradecimiento al CDCHT-ULA por el apoyo financiero recibido para la realización de esta investigación a través del proyecto bajo el código FA 350 05 07 F Venezuela.

Referencias

1. López, J, A Best and C Morales 1998. Diagnosis of bovine brucellosis in milk by the ring test and ELISA in dairies in the province of Nuble, Chile. Arch Med Vet 30(1): 133-138
2. López, A. 2004. Brucellosis ([http:// biblioweb.dgsca.unam.mx/libros/microbios/cap7/capitulo.htm](http://biblioweb.dgsca.unam.mx/libros/microbios/cap7/capitulo.htm))
3. Vargas, F, 2003. Situación epidemiológica de la brucelosis en Venezuela. Area de medicina de grandes animales. Departamento de Medicina y cirugía. Decanato de Ciencias Veterinarias. Universidad Centro Occidental Lisandro Alvarado (UCLA). Barquisimeto.
4. Orduña, L, R. Urrutia y A. Torres 2002. Patogenia de la Brucelosis humana. Universidad de Valladolid. España.
5. Oficina Internacional de Epizootias 2006. Brucelosis Bovina. En Manual de Normas para Pruebas de Diagnóstico y Vacunas. Enfermedades de la lista B. OIE, Paris, Francia.
6. Chin, J. 2001. El control de las enfermedades transmisibles. 17 Edición. Publicaciones Científicas y técnicas No. 581: 34-36.
7. FAO/OMS 1986. Comité de expertos en Brucelosis. 6to Informe Publicaciones no. 740, Ginebra.
8. Rosales, D. y A. Lugo. 2005. Evaluación de los antígenos utilizados para el diagnóstico de Brucelosis bovina en fincas lecheras del Municipio Alberto Adriani del Estado de Mérida. Tesis de Master. FCV.UCV.IRAIA. Maracay. Venezuela.

9. FONAIAP 1988. Técnicas serológicas aplicadas en el diagnostico de la Brucelosis. Boletín Técnico No. 6 Maracay (Venezuela)
10. López, A, R. López, D. Ocampo, Y. Morroy y F. Dominguez 1991. Brucelosis: avances y perspectivas. Instituto Nacional de Diagnostico y Referencias Epidemiológicas Dr. Manuel Martínez Báez. México.
11. López, A, 1989. Manual de técnicas y procedimientos para el estudio de la Brucelosis. Instituto Nacional de Diagnostico y Referencias Epidemiológicas Dr. Manuel Martínez Báez. México.
12. López, A, 1999. Diagnostico de la brucelosis humana. Simposio Internacional de Brucelosis. Maracay-Venezuela.
13. Anduenza, F y A Lugo. 2001. Seroepidemiología de la Brucelosis en fincas productoras de leche del Municipio Alberto Adriani del Estado de Mérida, Venezuela
14. Capitano L, E. Peña y C. Pérez 1995. Brucelosis Humana. Estudio Epidemiológico. Distrito Sanitario Tovar. Estado de Mérida. Tesis de Grado. ULA.
15. Avendaño, C y Y Dorante 2002. Niveles de anticuerpos contra *Brucella* sp en pacientes de la Unidad de Reumatología de IAHULA. Universidad de los Andes, Mérida-Venezuela.
16. Capitano, L, *et al. Op. cit.*
17. Lugo, A y F. Andueza 2001. Seroepidemiología de la Brucelosis en fincas productoras de leche del Municipio Alberto Adriani del Estado de Mérida, Venezuela. Tesis de Posgrado. Facultad de Farmacia. Universidad de los Andes. Venezuela
18. Nielsen, K and J Duncan 1990. Animal brucellosis. CRC Press, USA. 423 pp
19. Jozic, B y O Mosquera 2004. Prevalencia de Brucelosis Humana en el personal de riesgo y Brucelosis Bovina en la sala de matanza Ticoporo del Municipio Antonio de José de Sucre, Barinas, Venezuela. Universidad Centro Occidental Lisandro Alvarado, Barquisimeto.
20. Rujano, N 2007. Determinación de *Brucella* sp en el personal de la sala de matanza y carnicerías del Municipio de Antonio de José de Sucre, Barinas, Venezuela. Universidad Centro Occidental Lisandro Alvarado, Barinas Venezuela. Tesis de grado. Facultad de Ciencias, ULA.
21. Novoa, D. 1976. Estudio preliminar de la brucelosis humana en el Distrito Colón. Estado de Zulia-Mérida-Venezuela.
22. SASA Servicio de Sanidad Animal 2007. Resultados del Programa de Control de brucelosis bovina 2006. Caracas, Venezuela.
23. Capitano, L, *et al. Op. cit.*
24. Castro, H, S Gonzalez y M. Prat 2005. Brucelosis. Una revisión práctica . Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana. 39 (2) 203-216
25. Alton, L y J. Verges 1989. Thecnique for the Brucelosis Laboratory INRA, París.
26. Oficina Internacional de Epizootias 2004. Brucelosis Bovina. En Manual de Normas para Pruebas de Diagnóstico y Vacunas. Enfermedades de la lista B. OIE, Paris, Francia.
27. Ariza, J. 2002. Brucelosis en el siglo XXI Medicina clínica 119 (9): 339-344.
28. Candelo, N. 2004. Todo lo que se debe saber sobre brucelosis en bovinos. CENIAP Hoy No. 4, Aragua, Venezuela.