

35
2eje.



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLAN



"INCIDENCIA DE BRUCELOSIS EN
DERECHOHABIENTES DE LA CLINICA HOSPITAL
ISSSTE GOMEZ PALACIO, DURANGO"

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
QUIMICA FARMACEUTICA BIOLOGA

P R E S E N T A :

AURORA MARTINEZ ROMERO

ASESORES: OFB RAMON CENDEJAS RAMIREZ
LOAC ROSANTINA TORRES VARGAS
MVZ JOSE LUIS ORTEGA SANCHEZ

CUAUTITLAN IZCALLI, EDO. DE MEX.

1994

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN
UNIDAD DE LA ADMINISTRACIÓN ESCOLAR
DIRECCIÓN DE LOS EXÁMENES PROFESIONALES

UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE MEXICO

U. N. A. M.
FACULTAD DE ESTUDIOS
SUPERIORES CUAUTITLÁN



Secretaría de
Educación Pública

DR. JAIME KELLER TORRES
DIRECTOR DE LA FES-CUAUTITLÁN
P R E S E N T E .

ATM: Ing. Rafael Rodríguez Ceballos
Jefe del Departamento de Exámenes
Profesionales de la F.E.S. - C.

Con base en el art. 23 del Reglamento General de Exámenes, nos permitimos comunicar a usted que revisamos la TESIS TITULADA:

"Incidencia de Brucelosis en Derechonabientes de
la Clínica Hospital ISSSTE Gómez Palacio, Durango".

que presenta la pasante: Aurora Martínez Romero
con número de cuenta: 7953240-6 para obtener el TITULO de:
Química Farmacéutica Bióloga

Considerando que dicha tesis reúne los requisitos necesarios para ser discutida en el EXÁMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATARIO.

A T E N T A M E N T E .
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"
Cuautitlán Izcalli, Edo. de Méx., a 08 de Julio de 199 4

PRESIDENTE	<u>Q.F.B. Ramón Condejas Ramírez</u>	
VOCAL	<u>M.V.Z. Gerardo Cruz Jiménez</u>	
SECRETARIO	<u>Q.F.B. Idalia Avila Miyazawa</u>	
PRIMER SUPLENTE	<u>M. en C. Victor Zendejas Buitrón</u>	
SEGUNDO SUPLENTE	<u>C.F.B. Patricia Campos Peón</u>	

AGRADECIMIENTOS

AL CARIÑO DE DOS PADRES MARAVILLOSOS: PACO Y LUPITA.

A TI MI QUERIDO ESPOSO JOSE LUIS, GRACIAS A TU AMOR, AYUDA Y APOYO FUE POSIBLE LLEGAR HASTA ESTE MOMENTO, ESTA ES SOLO UNA DE TODAS LAS ILUSIONES QUE HEMOS FORJADO JUNTOS.

A MIS HIJOS: ANDY, PAULITA Y JOSECITO, QUE SON LA RAZON DE MI VIDA Y LA LUZ DE MIS OJOS, QUE CON SU INOCENCIA Y GRAN AMOR SON LA BASE DE MI ESFUERZO.

ANDY, GRACIAS, MUCHAS GRACIAS PORQUE A LA FECHA, SIEMPRE ME HAS AYUDADO A CUIDAR A TUS HERMANITOS.

AL RECUERDO DE MIS ABUELITOS, DE MI SUEGRA Y DE MI HERMANO PAQUITO QUE SIEMPRE VIVIRAN CON NOSOTROS.

A MIS HERMANOS: YOLIS, MONTY, JORGITO Y KENNY.

AGRADEZCO A TODA MI FAMILIA: MI SUEGRO, TIOS, CUÑADOS, QUIENES SIEMPRE ME BRINDARON SU AYUDA INCONDICIONAL.

ESPECIAL AGRADECIMIENTO A LOS ASESORES DE ESTA TESIS QFB. RAMON CENDEJAS RAMIREZ, LQAC. ROSANTINA TORRES VARGAS, A MI AMADO ESPOSO MVZ. JOSE LUIS ORTEGA SANCHEZ, GRACIAS POR SU CONFIANZA, PACIENCIA, SU AMISTAD Y EL APOYO QUE SIEMPRE ME HAN BRINDADO, QUIENES HAN INTERVENIDO DIRECTAMENTE EN MI FORMACION PROFESIONAL.

A MIS MAESTROS: GRACIAS POR BRINDARME SUS CONOCIMIENTOS QUE SERAN LA BASE DE LA CARRERA QUE AHORA EMPRENDO.

A LETICIA ACEVEDO, LETICIA CHAVEZ, LAURA RUIZ, LUCIA ALVAREZ, ALEJANDRA GONZALEZ, A MI QUERIDA PROFESORA QFB. EVA MOLINA TRINIDAD, MIS AMIGAS DE SIEMPRE.

AL JURADO DEL PRESENTE TRABAJO, POR SU TIEMPO Y VALIOSAS OBSERVACIONES, MUCHAS GRACIAS.

AL PERSONAL DEL LABORATORIO DE LA CLINICA HOSPITAL ISSSTE DE GOMEZ PALACIO DURANGO.

CONTENIDO

		HOJA:
I.	RESUMEN	1
II.	INTRODUCCION	3
III.	ANTECEDENTES	
	3.1 ANTECEDENTES DE BRUCELOSIS	6
	3.2 ASPECTOS CLINICOS DE BRUCELOSIS	8
IV.	GENERALIDADES	
	4.1 DESCRIPCION DEL GENERO <i>Bruceella</i>	14
	4.2 GENERALIDADES SOBRE LA SEROAGLUTINACION.	16
	4.3 LAS MANIFESTACIONES CLINICAS DE BRUCELOSIS.	19
	4.4 TERAPEUTICA DE LA BRUCELOSIS	21
	4.5 ELABORACION DE ANTIGENOS	22
	4.6 CONSIDERACIONES SOBRE LA SEROLOGIA EN EL DIAGNOSTICO DE BRUCELOSIS.	24
V.	OBJETIVOS	26
VI.	MATERIALES Y METODOS	
	6.1 OBTENCION Y CONSERVACION DEL MATERIAL BIOLÓGICO.	27
	6.2 EQUIPO UTILIZADO EN LAS METODOLOGIAS.	29
	6.3 INTRODUCCION DE METODOLOGIA	31
	6.4 PRUEBA RAPIDA DE AGLUTINACION EN PLACA (REACCION DE HUDDLESON).	31
	6.5 LA PRUEBA DE ROSA DE BENGALA	36
	6.6 LA PRUEBA DE AGLUTINACION EN TURU (SAT)	41

6.7	PREPARACION DE LA SOLUCION SALINA FENOLADA.	43
6.8	LA PRUEBA DE AGLUTINACION CON 2-MERCAPTOETANOL.	46
6.9	PREPARACION DE LA SOLUCION SALINA MERCAPTOETANOL.	47
6.10	PRUEBA DE LA ANTIGLOBULINA DE COOMBS.	49
6.11	TITULACION DEL REACTIVO DE COOMBS.	52
VII.	RESULTADOS	57
VIII.	DISCUSION	82
IX.	CONCLUSTONES	90
X.	COMENTARIOS	91
XI.	BIBLIOGRAFIA	94

INDICE DE TABLAS, CUADROS Y GRAFICAS

	HOJA
TABLA No. 1: CASOS POSITIVOS DE BRUCELOSIS HUMANA POR ENTIDAD FEDERATIVA DURANTE EL PERIODO DE 1974 - 1979.	12
TABLA No. 2: JURISDICCION SANITARIA TORREON. OFICINA DE ATENCION PREVENTIVA. BRUCELOSIS 1981 - 1987	13
CUADRO No. I - GRAFICA No. 1: INDICE ENDEMICO MENSUAL DE BRUCELOSIS POR FECHA DE NOTIFICACION (1993).	58
CUADRO No. II - GRAFICA No. 2: DISTRIBUCION DE CASOS DE BRUCELOSIS SEGUN LUGAR DE RESIDENCIA (1993).	60
CUADRO No. III - GRAFICAS Nos. 3 Y 3.1: DISTRIBUCION DE CASOS DE BRUCELOSIS POR EDAD Y SEXO (1993).	63
CUADRO No. IV - GRAFICA No. 4: DISTRIBUCION DE CASOS DE BRUCELOSIS SEGUN OCUPACION (1993).	66
CUADRO No. V - GRAFICA No. 5: MANIFESTACIONES CLINICAS DE BRUCELOSIS EN 148 PACIENTES (1993).	68
CUADRO No. VI - GRAFICA No. 6: DISTRIBUCION DE CASOS DE BRUCELOSIS SEGUN FUENTE DE INFECCION (1993).	70
CUADRO No. VII - GRAFICA No. 7: RESULTADOS DE LAS PRUEBAS SEROLOGICAS EN 148 MUESTRAS (1993).	73
CUADRO No. VIII - GRAFICAS Nos. 8, 8.1, 8.2, 8.3 Y 8.4: TITULACION DE ANTICUERPOS EN 148 MUESTRAS EN RELACION A CADA UNA DE LAS PRUEBAS (1993).	76

I RESUMEN

Con el fin de evaluar la prevalencia de Brucelosis en derechohabientes de la Clínica Hospital ISSSTE de Gómez Palacio, Durango se practicó un estudio serológico en 148 pacientes con sintomatología propia de la enfermedad, durante todo el año de 1993.

Se realizaron estudios serológicos para detectar la presencia de inmunoglobulinas que se encuentran presentes en el suero de los individuos infectados, el diagnóstico de laboratorio se apoya principalmente en la demostración de anticuerpos específicos con el uso de diversos métodos serológicos, empleando como antígeno a la bacteria completa e inactivada, a fin de determinar la presencia de anticuerpos aglutinantes que son los primeros en aparecer como resultado de la infección por cualquiera de las especies de *Brucella*. Dicho proceso es inducido principalmente por el lipopolisacárido de la membrana externa del agente causal e involucra la formación de aglutininas de las clases IgM, IgG e IgA.

Las pruebas serológicas practicadas fueron: La prueba rápida de Huddleson, Rosa de Bengala, aglutinación en tubo con solución salina fenolada, aglutinación en tubo con 2-mercaptoetanol y la prueba de Coombs.

Como parte complementaria al estudio serológico se

analizaron algunas características de la población afectada y se esgrime que ciertos factores socioeconómicos repercuten en el desarrollo de la enfermedad.

Al determinar la fuente del agente causal y el modo de transmisión de esta zoonosis creemos que es debido principalmente a la gran población de ganado vacuno y caprino que existe en la comarca Lagunera y al mecanismo de transmisión indirecto por la ingestión de leche y lácteos contaminados, con período de exposición constante, que involucra tanto a la población urbana como a la rural.

De 1,549 sueros trabajados en un período que comprende de Enero a Diciembre de 1993 se obtuvieron 148 sueros positivos a la Brucelosis, esto nos indica que la seroprevalencia de los derechohabientes de la Clínica Hospital ISSSTE de Gómez Palacio, Durango es de 9.55% .

II INTRODUCCION

La brucelosis es una antroponosis que siempre tiene un origen animal. La enfermedad en el humano es la expresión accidental de la enfermedad en los animales que se encuentra mucho más diseminada. Esta enfermedad infecciosa es causada por especies de bacterias del género *Bruceila*. Tiene un origen rural y profesional, anatómicamente se presenta como una granulomatosis de tipo tuberculoide con formación de folículos epiteloideos con poca tendencia supurativa. Se identifica en el mundo con diferentes nombres: Fiebre de Malta ó Melitocócica, Fiebre Ondulante ó de Bang, del Mediterráneo, recurrente ó en nuestro país como enfermedad del Río Grande, dada su localización geográfica (66, 79, 104).

Los miembros del género *Bruceila* son bacterias intracelulares y con capacidad de invadir tejidos animales (80, 84).

Causan aborto epizootico en una variedad de animales y enfermedad febril septicémica ó infección localizada en huesos, tejidos u órganos sistémicos en el ser humano (77).

El mecanismo de transmisión es indirecto por la ingestión de leche y lacticios contaminados, contacto con mataderos y carnicerías, inoculación por abrasiones de la piel, la aspiración y la inoculación por conjuntiva ocular por polvos de majada y los accidentes.

de laboratorio (31, 47, 48, 113).

Se considera el aspecto económico como el más importante de la brucelosis en los animales domésticos ya que es la causa de grandes pérdidas en la industria pecuaria, por diversos motivos como: abortos, problemas reproductivos, reemplazos, disminución en la producción de leche, carne y muerte de animales jóvenes (32).

La SARH a través de la Campaña Nacional para el Control de la Brucelosis, en 1975 realizó un estudio respecto a las pérdidas económicas causadas por esta enfermedad en la Ganadería de la República Mexicana y se concluyó que durante ese año las pérdidas ascendieron a 315 millones de pesos. Sin embargo, el mayor impacto resulta de la enfermedad en el hombre por el alto costo del tratamiento, la pérdida de horas de trabajo, los costos de hospitalización, diagnóstico y las asignaciones de incapacidad que determina en los individuos afectados (31, 103, 122).

Las zonas áridas y semiáridas de la Comarca Lagunera han sido región endémica de Brucelosis y son de gran importancia para la explotación de la ganadería, favorecida ésta por las condiciones climatológicas, caracterizadas por altas temperaturas y baja humedad (31).

Un estudio realizado de casos positivos de brucelosis humana por entidad federativa durante el período 1974-1979 (Tabla No. 1) demuestra que la incidencia de brucelosis en el país es de 8.7% y un

3.4% en la región de la Comarca Lagunera (107); ante tal situación y debido a que no existe un trabajo similar para esta zona, se planteó la elaboración del presente trabajo cuyos objetivos son: conocer e interpretar las técnicas más usadas en el diagnóstico serológico, determinar el índice mensual, conocer la distribución de casos según lugar de residencia, edad, sexo, ocupación, las manifestaciones clínicas y la fuente de infección por brucelosis.

III ANTECEDENTES

3.1. ANTECEDENTES DE BRUCELOSIS.

La brucelosis es probablemente tan vieja como la producción animal. Su origen puede ser del medio oriente, desde que el hombre comenzó a domesticar las cabras debió haber traído la brucelosis. A lo largo del mediterráneo ya se conocía, desde los tiempos de Hipócrates, la existencia de una fiebre caracterizada por remisiones e intermitencias. Hay referencias en la Biblia de que el primer reporte veraz de brucelosis humana fué hecho por Hipócrates, 450 años A.C. (12).

En 1918 Alice Evans en los Estados Unidos observó la semejanza y casi identidad biológica del *Micrococcus melitensis* de la fiebre de Malta y *Bacillus abortus* del aborto bovino (17, 121).

La brucelosis es una enfermedad zoonótica, ya que cumple con los cinco principios específicos en que se fundamenta el significado del término zoonosis: sanitario, económico, social, epidemiológico y profiláctico (122).

Esta enfermedad fué descrita inicialmente por Burnet en 1814 y posteriormente por Marston en 1863. Las primeras noticias de brucelosis humana en América fueron los informes de Masser y Garler en 1898 y Craig en 1906 (53).

En 1863 Marston dió el nombre de fiebre de Malta,

a la enfermedad Mediterránea Intermittente, que logró distinguirla de la fiebre tifoidea (103).

Se le denomina brucelosis a un conjunto de enfermedades transferibles, producidas por bacterias del género *Brucella* que atacan al hombre y a los animales, iniciándose por un bacteremia y evolucionando en forma subaguda ó crónica, produciendo alteraciones orgánicas de características inflamatorio necrótico (107).

El reservorio para *Brucella melitensis* lo constituyen las cabras, *B. abortus* para bovinos, *B. suis* el cerdo, *B. ovis* las ovejas, *B. canis* el perro y *B. neotomae* se ha aislado del roedor *Neotoma lepida* (77, 97, 102).

David Bruce en 1887, investigando la enfermedad conocida como fiebre de Malta, descubrió pequeños organismos cocoides en casos fatales de la enfermedad, a los que llamó *Micrococcus melitensis* (53, 111). Zammit en 1907 determinó que las cabras eran la fuente de infección en la Isla de Malta porque se expendían y consumían sin pasteurizar ni hervir variados productos lácteos (53).

En 1896-1897 el doctor Bang de Dinamarca aisló una bacteria responsable de abortos vacunos contagiosos. Se cultivó por primera vez en Estados Unidos (Mc Neal y Kerr en 1910), pero solamente con los trabajos de Evans, publicados en 1918 se reveló que esta enfermedad de cabras y hombres era la misma por su estrecha

relación debida a las notables semejanzas morfológicas, culturales y serológicas (53, 121).

El hombre es susceptible a la infección por *B. melitensis*, *B. suis*, *B. abortus* y *B. canis*. No se han comprobado casos humanos por *B. ovis* ó *B. neotomae*. La especie más patógena e invasora para el hombre es *B. melitensis*, siguiéndole *B. suis* y *B. abortus* (1).

Se ha informado que existe mayor riesgo de adquirir una brucelosis cuando la leche está contaminada con *Brucella melitensis* y *B. suis* que con *B. abortus*. La *B. abortus* es destruida más rápidamente por el jugo gástrico, además de ser muy lábil al ácido láctico de la leche (79).

3.2. ASPECTOS CLINICOS DE BRUCELOSIS.

La enfermedad comienza con bacteremia, y se localiza posteriormente en los ganglios linfáticos, bazo, aparato genital, articulaciones, hígado, médula ósea, tejido mamario y otros órganos, donde persisten por largos periodos (68, 86).

Con lo que respecta a la patogenia las bacterias ingresan al intestino por vía digestiva, quedando retenidas en los ganglios linfáticos vecinos (retrofaringeos y mesentéricos) (31, 119).

Aunque pueden existir otras formas de transmisión importantes como: la vía conjuntival y nasal mediante aerosoles (64). En el caso de mujeres gestantes pueden transmitir la infección a sus hijos en útero (28).

El encontrar un título elevado de *Bruceella* generalmente da origen a un aborto (126).

Se reporta la presencia de *Bruceella melitensis* en la madre y en el neonato diagnosticado mediante la prueba de aglutinación y hemocultivos (85, 124). O bien, puede darse el caso de llevarse a cabo la transmisión por la madre al infante a través de la leche durante la lactancia (3).

Se da también el caso de diagnosticar brucelosis escrotal, encontrada sonográficamente en testículos y epidídimo (105, 115).

La Brucelosis humana es una fiebre entérica en la que los síntomas sistémicos son generalmente más predominantes que las complicaciones gastrointestinales (108). Varios investigadores reportan que la *B. melitensis* es originada por ingerir leche y quesos sin pasteurizar (8, 55, 59, 91, 108, 135).

En 1915 Buck cultivó en Estados Unidos una cepa de *Bruceella abortus* poco virulenta llamada cepa Buck ó cepa 19, la cual a partir de 1930 fué aceptada como cepa vacunal, actualmente se utiliza para el control y erradicación de la brucelosis (112).

La brucelosis es la forma de infección más común de veterinarios, ordeñadores, caballerangos (1, 79, 114); de trabajadores de rastros, mataderos, carnicerías (11, 114); en personas que viven cerca de cabras infectadas y más aún si trabajan con ellas, al

tener contacto directo con tejidos y/o secreciones contaminadas de las cabras (109); en trabajadores de laboratorio (2, 47, 101, 114, 117, 131).

Se ha diagnosticado brucelosis en más de un integrante de la familia, cuando alguno sale infectado, es conveniente practicar el estudio a toda la familia, para evitar recidivas (10).

Se diagnosticó *Bruceia melitensis* transmitida por contacto sexual (120).

Wright y Semple en 1867 desarrollaron un método de diagnóstico basado en la propiedad aglutinante del suero sanguíneo de animales enfermos, sobre cultivos de *Micrococcus melitensis*. Huddleson en 1935 presenta en México un medio de cultivo para las bacterias de *Bruceia* y una prueba diagnóstica por absorción en papel (121).

El primer aislamiento del agente causal en México lo logró Pláceres en Puebla. Se llevaron a cabo en 1939 el Primer Congreso Nacional de Fiebre de Malta y en 1946 la Primera Reunión Interamericana de Brucelosis, promovidas principalmente por el notable investigador mexicano Maximiliano Ruiz Castañeda, estudioso que aportó elementos primordiales para el aislamiento, diagnóstico y tratamiento de la brucelosis humana, quien además fundó el primer laboratorio de estudio e investigación en este padecimiento, considerado por la Organización Mundial de la Salud, por muchos años como Laboratorio Regional de Referencia (79).

Desde el punto de vista de Salud Pública la brucelosis es importante, en virtud de que el microorganismo causal, puede producir fiebre ondulante en el hombre. La brucelosis en los humanos es adquirida por accidente y el individuo contagiado puede contagiar a otras personas. En cuanto a los daños a la salud, es necesario revisar los aspectos relacionados con la mortalidad y morbilidad de la brucelosis. La mortalidad a nivel nacional es poco frecuente debido en gran parte a las características y evolución de la enfermedad, ya que es sumamente difícil que el médico que certifica la defunción identifique a esta como una causa básica, sobreviniendo la muerte por los efectos colaterales y múltiples complicaciones (31).

La tasa de morbilidad, tiene una frecuencia promedio, en los seis años de estudio reportados por el Sector Salud, la morbilidad es de 6.1 por 100,000 habitantes (107).

Un estudio realizado sobre la incidencia de brucelosis demostró que la tasa de morbilidad es elevada (76).

Por otro lado la S.S.A. en los años de 1965 a 1975 reporta 9,863 casos de brucelosis en humanos, con un total de 599 defunciones, teniendo predominancia las lesiones de tipo cardiovascular y neurológico (99).

TABLA No. 1

CASOS POSITIVOS DE BRUCELOSIS HUMANA POR ENTIDAD
FEDERATIVA DURANTE EL PERIODO 1974-1979

ESTADO	1974	1975	1976	1977	1978	1979	TOTAL
Ags	3	1	2	35	5	3	49
B.C.N.	5	15	10	7	12	18	67
B.C.S.	1	4	2	8	7	4	26
Campeche	17	1	1	-	-	-	19
Coahuila	575	742	444	589	464	813	3,627
Colima	-	-	1	-	-	23	24
Chiapas	22	21	22	40	61	36	202
Chihuahua	233	638	305	395	276	214	2,061
Durango	160	131	106	68	38	84	587
Guanajuato	141	172	300	326	395	301	1,635
Guerrero	49	26	73	60	20	29	257
Hidalgo	15	8	2	17	2	13	57
Jalisco	152	123	167	179	221	278	1,120
México	20	12	47	35	13	26	153
Michoacán	170	209	131	244	128	160	1,042
Morelos	6	10	8	32	13	46	115
Nayarit	18	36	26	32	20	19	151
N. León	87	112	227	339	183	318	1,266
Oaxaca	13	3	36	11	8	9	80
Puebla	19	40	42	159	68	97	425
Querétaro	49	14	40	42	60	63	268
Q. Roo	7	1	6	4	6	2	26
S.L.P.	47	76	308	183	108	214	936
Sinaloa	68	237	168	266	257	240	1,236
Sonora	24	20	23	28	34	179	308
Tabasco	9	20	42	31	32	7	141
Tamaulipas	39	70	76	64	49	156	454
Tlaxcala	6	19	56	31	17	14	143
Veracruz	49	52	53	85	40	48	327
Yucatán	1	3	9	17	3	1	34
Zacatecas	22	103	49	71	82	126	453
A.M.D.F.	231	300	340	317	248	315	1,751
TOTAL	2,258	3,219	3,122	3,715	2,870	3,856	19,040

FUENTE: INFORMACION EPIDEMIOLOGICA DEL SECTOR SALUD (107).

TABLA No. 2

JURISDICCION SANITARIA TORREON
 OFICINA DE ATENCION PREVENTIVA
 BRUCELOSIS
 1981 - 1987

AÑO	CASOS	POBLACION	TASA POR 100,000 HAB.
1981	7	377,612	1.85
1982	9	390,985	2.30
1983	10	404,833	2.47
1984	19	419,170	4.06
1985	18	434,016	4.09
1986	7	439,387	1.59
1987	15	444,758	3.37

Fuente:

Oficina de estadística.
 Centro de Salud Urbano-
 Torreón, Coahuila (31).

IV GENERALIDADES

4.1. DESCRIPCION DEL GENERO BRUCELLA.

La *Brucella* pertenece a la siguiente clasificación taxonómica: Clase: Esquizomicetos; Orden: Eubacteriales; Suborden: Eubacteríneas; Familia: Parvobacteriaceae; Tribu: Bruceleas; Género: *Brucella*; Especie: *melitensis*, *abortus*, *suis*, *canis*, *ovis*, *neotomae* (107).

Se descubre al género *Brucella* como bacilos cortos ó cocoides de 0.5-0.7 micras por 0.6-1.55 micras, las cuales se disponen aisladamente y raras veces en cadenas cortas, no forman cápsulas ni esporas, son inmóviles, gram (-) y no presentan coloración bipolar, son gérmenes aerobios estrictos, producen poca ó ninguna fermentación de los azúcares (24, 86, 107).

Se desarrollan en un rango de temperatura de 20 a 40°C, siendo la temperatura óptima de 37°C, el pH óptimo varía entre 6.6 a 7.4; son bacterias intracelulares facultativas (49).

Se hace la diferenciación de las seis especies y sus biotipos que efectúa en base a la capacidad de producir H₂S, necesidades de CO₂, habilidades de crecer en medios que contengan concentraciones variables de fusina básica y tionina, y la aglutinación de sueros mono-específicos (50, 121).

El agente causal de *Brucella abortus* puede ser

aislado de la sangre del paciente sobre agar triptosa a 37°C (104).

El organismo tiene tres sistemas de defensa que actúan de manera coordinada para combatir una infección: los sistemas inespecíficos, la Inmunidad humoral y la Inmunidad celular. Los sistemas inespecíficos son las barreras Anatómo-fisiológicas, las brucelas ganan acceso principalmente por vía oral y heridas. Las barreras Bioquímicas, son las enzimas digestivas, las sales biliares y el HCl estomacal principalmente. Las barreras celulares, la barrera inespecífica más importante es la fagocitosis. La fagocitosis no inmune es mediada fundamentalmente por los polimorfonucleares, y en especial los neutrófilos. Los mononucleares también participan pero en menor grado (54, 71, 80, 110, 128).

La respuesta inmune involucra el efecto humoral y celular, las brucelas estimulan una poderosa reacción humoral, que se demuestra por los elevados títulos de anticuerpos que se producen, de la clase IgG e IgM. La habilidad que tienen las brucelas de penetrar a las células, especialmente los polimorfonucleares, las protege tanto de las sustancias bioquímicas inespecíficas como de los anticuerpos, la defensa de la inmunidad celular está centrada en la actividad de los linfocitos T y los macrófagos (47, 110, 125).

4.2. GENERALIDADES SOBRE LA SEROAGLUTINACION.

La primera reacción serológica descrita fué la aglutinación bacteriana; y consiste en que las bacterias forman cúmulos por acción de antisueros específicos, las pruebas serológicas destacan por su gran especificidad (23).

La aglutinación serológica se ha utilizado desde hace bastante tiempo en el diagnóstico de las enfermedades infecciosas, en la identificación de bacterias, proteínas y otras sustancias antigénicas, y en estudios de filogenia animal y vegetal (30, 70).

La seroaglutinación resulta positiva al cabo de una semana de adquirir la brucelosis y los títulos máximos se alcanzan rápidamente, con diferencias considerables de un enfermo a otro. En poblaciones endémicamente atacadas de melitococia habrá que exigir un título superior y creciente de aglutininas. Se admite que a partir de 1/160 la aglutinación positiva asegura el diagnóstico; los resultados serológicos deben valorarse críticamente junto con los hallazgos clínicos y los factores ocupacionales y epidemiológicos antes de hacer el diagnóstico (21, 72, 77, 131).

Los hemocultivos son más frecuentemente positivos en los casos agudos que en los crónicos (53). La eficacia del hemocultivo se reduce significativamente con las formas de infección crónica y subaguda (36,

116).

Se han llevado a cabo pruebas serológicas positivas para brucelosis verificadas posteriormente con hemocultivos (69, 127).

Histológicamente la brucelosis puede ser confundida con tuberculosis y en algunos casos pueden coexistir ambas enfermedades, por lo tanto son esenciales las pruebas serológicas (136). El cultivo de médula ósea es recomendado para pacientes con fiebre de origen desconocido, con serología negativa (56). Se ha hecho la estimación de la IgG e IgM en personas infectadas por medio de la técnica radioinmune (61).

En los procesos infecciosos bacterianos la concentración de proteína "C" reactiva se incrementa rápida y precozmente, se ha evaluado en suero en el diagnóstico de la brucelosis artrítica y no artrítica (6, 93, 132).

Dentro de las enfermedades infecciosas encontradas en la donación de sangre se encuentra la Brucelosis (44).

Las pruebas serológicas se llevan a cabo para determinar la presencia de anticuerpos específicos en el suero y para observar el incremento del título (hasta 4 diluciones) en la brucelosis aguda.

Se usan en general 4 pruebas para cubrir las posibilidades de una enfermedad aguda ó crónica. Estas pruebas son: aglutinación en placa con antígeno teñido con rosa de bengala, aglutinación en tubo con solución

salina fenolada, aglutinación en tubo con 2-mercapto-etanol (2-ME) y la prueba de antiglobulina de Coombs (39).

El comportamiento de las pruebas serológicas es diferente en los casos de brucelosis aguda y crónica (15).

En las etapas tempranas de la infección la aglutinación en tubo con solución salina fenolada es positiva mientras que la aglutinación en tubo con 2-ME permanece negativa. Con la evolución de la enfermedad, se observa aumento del título de la prueba de 2-ME, llegando a alcanzar títulos tan elevados como los de la prueba de aglutinación en tubo (79).

Un título de aglutinación de 1/40; 1/80 en la prueba de aglutinación en tubo con solución salina fenolada (SSF) por sí solo puede ser sospechoso, pero no es definitivo, mientras igual título en la prueba de 2-ME indica una infección activa, y requiere tratamiento; los resultados de la prueba de 2-ME orientan en forma útil en lo que se refiere a la respuesta del paciente al tratamiento. Los títulos obtenidos en las pruebas serológicas indican una determinada concentración de inmunoglobulinas específicas, principalmente de las clases Igm e IgG que son aglutinantes y están presentes en la fase aguda de la enfermedad. Conforme evoluciona ésta, aparecen otros tipos de inmunoglobulina, unas de la clase IgG y otras de la clase IgA, que tienen la característica de

no ser aglutinantes. Estos anticuerpos solo se ponen de manifiesto usando la prueba de la antiglobulina de Coombs, por ensayos inmunoenzimáticos o por inmunofluorescencia indirecta. El antígeno usado en las pruebas serológicas para detectar anticuerpos en contra de *B. melitensis*, *B. Abortus* y *B. suis* se prepara con suspensiones de cepas lisas de *B. abortus* cepa 998 (o *B. abortus* 1119-3) (79, 88)

4.3. LAS MANIFESTACIONES CLINICAS DE BRUCELOSIS.

Las manifestaciones clínicas de Brucelosis son muy variables tanto en la fase aguda como en la crónica. La infección puede darse repentinamente con fiebre, escalofríos, debilidad, cefalea, dolor de espalda, insomnio, artralgia, diaforesis, hepatomegalia, esplenomegalia, principalmente. La forma crónica no está totalmente definida. Las manifestaciones más comunes en brucelosis son: el síndrome febril, en la mayoría de los casos la fiebre es alta e intermitente hasta llegar a ser de poca intensidad (5, 47, 95, 137).

En las manifestaciones osteoarticulares se da principalmente la poli ó monoartritis, sacroilitis, granulomas óseos, abscesos (5, 8, 20, 35, 41, 57, 83, 93).

En las manifestaciones digestivas se da la hepatomagalia, esplenomegalia, hepatitis granulomatosa, obstrucción intestinal, cirrosis (41, 94).

En las manifestaciones neurológicas se reporta

meningobrucelosis, meningiomieloencefalitis, meningitis, encefalitis, síndrome caótico (7, 16, 26, 29, 41, 42, 73, 81, 123).

Las manifestaciones cardiovasculares que se dan en la brucelosis son: pericarditis aguda, endocarditis (43, 84, 117).

Dentro de las Genitourinarias se encuentra: orquiepididimitis, cistitis, amenorrea, disuria, hematuria, hidronefritis, caquexia, prostatitis con retención urinaria (65, 94).

En las hematológicas se conoce: leucopenia, neutropenia, linfopenia, anemia hemolítica, trombocitopenia (5, 36, 94).

En problemas glandulares se reporta tiroiditis (95). En hormonales se da una secreción inapropiada de la hormona antidiurética (20, 41).

En forma intermitente el paciente presenta cansancio crónico, con crisis de escalofríos, fiebre, sudoración, cefaleas, mialgias, predominando las artralgias (5, 8, 59, 83, 93).

También se reportan lesiones cutáneas en pacientes con brucelosis: eritematosis, erupción papulonodular y eritema nodoso, éstas aparecieron durante el periodo inicial de la enfermedad (19).

Se reporta una manifestación ocular ocasionada por *Brucella melitensis* diagnosticada como ataques recurrentes de uveítis (133).

4.4. TERAPEUTICA DE LA BRUCELOSIS.

Para el tratamiento de *Brucella melitensis* se probó la eficacia de la Ciprofloxacina (9); sin embargo también se ha visto que el uso prolongado de la Ciprofloxacina es ineficaz en comparación con un tratamiento combinado de Doxiciclina/Rifampicina, con el que los pacientes respondieron favorablemente (75).

Se administró Ceftriaxona a pacientes con brucelosis aguda, al ver que no respondieron inicialmente al tratamiento se reemplazó por la combinación Doxiciclina/Estreptomina, con la que los pacientes respondieron inmediatamente. por lo tanto la Ceftriaxona no debe ser considerada como terapia apropiada para la Brucelosis aguda (74).

Las tetraciclinas ó Doxiciclinas son los agentes terapéuticos más efectivos en el tratamiento de la brucelosis se recomiendan asociados con el aminoglucósido Estreptomina y/o con el antimicrobiano Rifampicina, observándose excelentes resultados, no se reportan recidivas ni tendencias a la cronicidad (4, 7, 29, 33, 34, 59, 81, 82, 84, 95, 111, 127).

El uso de sulfas combinadas Trimetoprim-Sulfametoxazol ha demostrado alta eficacia (55, 73, 93).

También ha dado buen resultado el uso de Estreptomina, Rifampicina y Co-trimoxazol ó

tetraciclina (2, 94).

Se ha practicado una moderna quimioterapia para el tratamiento de Brucelosis en humanos, aún en estudio, utilizando los antibióticos más activos contra la *Brucella* que incluyen tetraciclinas, aminoglucósidos, aminopenicilinas, algunas cefalosporinas, eritromicina, rifampicina y con menor efectividad, Trimetoprim-Sulfametoxazol (58).

Se ha probado la efectividad de Levamisol en tratamiento combinado en pacientes con una forma de brucelosis activa (96).

El extracto crudo de *Brucella melitensis* fué obtenido por sonicación, centrifugación y dialisis y fué analizado por inmunoelectroforesis cuantitativa. Los antígenos del extracto crudo interactuaron con la IgG de los pacientes afectados por brucelosis (52).

4.5. ELABORACION DE ANTIGENOS.

La metodología de producción de los antígenos (cepa 1119-3) puede ser en medio de cultivo sólido (infusión de agar papa), ó en medio de cultivo líquido aerreado (Van Drimelen), el cual por su facilidad de manejo tiene menos riesgos de contaminación, no hay peligro de disociación y da una alta productividad; por estas razones se considera que es el método ideal para producción. Las semillas utilizadas en la producción del antígeno se reciben del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos de Ames, Iowa, en forma

liofilizada las cuales son reconstituidas asépticamente para la preparación de semilla maestra y semilla de trabajo; se debe comprobar que la semilla esté libre de contaminantes y no presente disociación. Para la producción masiva de células, es utilizado el método de cultivo líquido aereado, que proporciona al medio: OXIGENACION, AGITACION Y TEMPERATURA. El medio de cultivo Van Drimelen se esteriliza por filtración y se pasa por pruebas de esterilidad, se inocula con semilla de trabajo. El crecimiento masivo de células llega a su máximo entre las 48 y 72 horas de proceso, al cabo de las cuales es recolectado el líquido (cosecha), para la finalización del producto. La cosecha de *Bruceella abortus* cepa 1119-3, se centrifuga para separar las brucelas del líquido. De un cilindro estéril en donde quedan adheridas las células, estas son removidas con espátulas estériles y vaciadas a un frasco, en donde se le agrega solución salina fenolada, para luego inactivarlas en baño maría (95°C durante 60 minutos); al cabo del cual se normaliza y colorea con la concentración y colorante requerido, al final el antígeno se somete a las pruebas de esterilidad, concentración celular, pH y sensibilidad; una vez que pasa las pruebas de control de calidad es etiquetado y acondicionado (112).

En los laboratorios de referencia existen suspensiones antigénicas preparadas tanto con *B. abortus* como con *B. melitensis* debido a que se ha

encontrado una gran variedad de biovars, que presentan diferencias antigénicas (79).

Si se desea investigar anticuerpos contra *B. canis* se emplea un antígeno preparado con esta bacteria. Los antígenos se someten a procedimientos de control de calidad, se ajustan a lo establecido en los manuales de los centros internacionales de referencia para la brucelosis y se comparan con antígenos de referencia (79).

4.6. CONSIDERACIONES SOBRE LA SEROLOGIA EN EL DIAGNOSTICO DE BRUCELOSIS.

Para interpretar una reacción de aglutinación conviene tener presentes los siguientes datos: en la prueba por diluciones en tubo pueden presentarse fenómenos de PROZONA, que consisten en inhibiciones de la aglutinación en bajas diluciones del suero. El error que ésto puede ocasionar se subsana empleando series de 10 tubos donde queda sobrepasada la prozona. Otra causa de error en lo que respecta a falsas negativas es la presencia de anticuerpos incompletos que, a pesar de unirse al antígeno, carecen de actividad para aglutinarlo ó por acción de bloqueo, se unen al antígeno impidiendo la reacción con anticuerpos completos (13, 72, 130).

Por lo que se refiere a las pruebas positivas, se considera que la aglutinación solo tiene significación diagnóstica cuando el título es al menos 1:160; a

títulos inferiores sólo tiene valor cuando va confirmada por cultivo positivo simultáneo o reciente, o cuando el paciente manifiesta sensibilidad cutánea a la inyección de antígenos brucelares (121).

El suero de personas normales es siempre negativo, tanto en pruebas rápidas como en la aglutinación en tubo; pero en algunos padecimientos agudos y crónicos suele observarse reacción cruzada, cuyos títulos pueden sobrepasar 1:100 (121, 140).

Todas las cepas lisas de *Brucella* muestran una gran reactividad cruzada que se pone de manifiesto cuando se realizan pruebas de aglutinación. La razón de este comportamiento se debe al lipopolisacárido (LPS) que es el principal antígeno de superficie. La presencia de una o varias moléculas de perosamina en el LPS de cepas lisas de bacterias como: *E. coli*, *Salmonella*, *Pseudomonas maltophilia*, *Vibrio cholerae* y *Yersinia enterocolitica*; es la razón por la que se presentan reacciones cruzadas con *Brucella* (43, 54, 72, 77, 78, 80).

Una aglutinación positiva puede ser falsa en las circunstancias siguientes: empleo de técnica inadecuada, empleo de antígenos incorrectamente preparados e interpretación incorrecta de los resultados. Se considera como más apropiado para la investigación de aglutininas el método lento de aglutinación en tubo, en el que se hacen actuar diluciones crecientes de suero sobre el antígeno (121).

V. OBJETIVOS

1. Conocer e interpretar las técnicas más usadas en el Diagnóstico Serológico de la Brucelosis.
2. Determinar el índice mensual por Brucelosis, durante el año de 1993.
3. Conocer la distribución de casos de Brucelosis según lugar de residencia, edad, sexo y ocupación.
4. Conocer las manifestaciones clínicas y la fuente de infección por Brucelosis.

VI. MATERIALES Y METODOS.

6.1. OBTENCION Y CONSERVACION DEL MATERIAL BIOLÓGICO.

SUERO, este suero se obtiene a partir de una muestra de sangre total (7 ml de sangre por punción venosa), en tubo de tipo Vacutainer o con jeringa y después pasar la muestra a un tubo de ensayo estéril sin anticoagulante, con el objeto de detectar anticuerpos contra *Bruceella*.

Conservar a 37°C por 2 horas, para favorecer la retracción del coágulo; ya separado el suero y envasado en tubo de ensayo con tapón estéril, se procede inmediatamente a procesar las reacciones febriles, tomando como referencia la positividad (títulos mayores o iguales a 1:20) a la prueba de Huddleson y así continuar con la batería de pruebas serológicas específicas para *Bruceella*.

Conservando el suero a 2-4°C hasta por 2 semanas, si la determinación no se va a llevar a cabo durante este lapso de tiempo, el suero debe guardarse en congelación a -20°C durante 3 meses.

Al momento de su utilización se descongela a 37°C por 20 minutos.

Las reacciones febriles se llevaron a cabo a 1,549 sueros, de los cuales 148 pacientes (103 sexo femenino y 45 sexo masculino) resultaron positivas a la prueba de Huddleson, a los cuales se les hizo un seguimiento empleando métodos serológicos, durante el año de 1993.

Antígeno de *Brucella abortus* cepa 1119-3 al 11% de células y pH 6.4-7.0; debe conservarse en refrigeración (4-6°C), pero no debe congerlarse.

Hecho en México por Bigaux Diagnóstica, S.A.

Antígeno de *Brucella abortus* 99 S en una concentración celular al 8%, suspendido en un regulador a pH 3.6 - 3.65 teñidas con colorante Rosa de Bengala.

Hecho en México por Gerencia General de Biológicos y reactivos. Secretaría de Salud.

Antígeno de *Brucella abortus* Cepa 1119-3 para la prueba de aglutinación en tubo, sin teñir y a una concentración de 4.5 % .

Hecho en México por Instituto Nacional de Diagnóstico y Referencia Epidemiológicos (INDRE). Secretaría de Salud. Subsecretaría de Coordinación y Desarrollo.

Suero de Coombs.

Organon Teknika Corporation. Durham.

Cloruro de Sodio (NaCl)

Fenol (Acido Fénico)

2-Mercaptoetanol (2-ME)

Agua destilada

6.2. EQUIPO UTILIZADO EN LAS METODOLOGIAS.

Placas de vidrio de buena calidad, cuadrículada.

Jeringas de 10 ml.

Tubos Vacutainer

Ligadura

Gradillas

Tubos de ensaye

Cinta adhesiva

Torundas con alcohol

Fuente luminosa

Pipetas serológicas de Rang, graduadas en 0.08, 0.04, 0.02, 0.01 y 0.005 ml.

Aplicadores de madera

Removedor ó agitador múltiple

Gotero para el antígeno, estandarizado para depositar 0.03 ml.

Reloj marcador que marque intervalos en minutos

Tubos de vidrio Pyrex 13 x 100 mm.

Gradillas para tubos de 13 x 100 mm.

Pipetas serológicas de 1.0 y 2.0 ml graduadas en centésimas

Pipetas serológicas de 5.0 y 10.0 ml graduadas en décimas

Estufa bacteriológica graduda a una temperatura de 37.5°C.

Balanza granataria

Espátula

Cubrelocas

Guantes

Matraz aforado de 100 ml.

Centrífuga

Refrigerador

Marcador de cera

Libro para registro

6.3. INTRODUCCION DE METODOLOGIA.

Las pruebas de aglutinación son comúnmente empleadas en muchos laboratorios de inmunología para el diagnóstico de diversas enfermedades. Mientras que las pruebas de precipitación son reacciones que se pueden medir en cantidad y fáciles de llevar a cabo, las pruebas de aglutinación son solo semicuantitativas y algo más laboriosas; sin embargo son pruebas con un alto grado de sensibilidad (22).

Las reacciones de aglutinación pueden clasificarse en directas e indirectas (pasivas). En la aglutinación directa un antígeno celular (*Brucella*) ó de partículas insolubles es aglutinado directamente por el anticuerpo (en este caso la IgM es 750 veces más eficiente que la IgG). La aglutinación directa es relativamente independiente de la temperatura, excepto para los anticuerpos que reaccionan en frío, como las crioaglutininas.

6.4. PRUEBA RAPIDA DE AGLUTINACION EN PLACA (REACCION DE HUDDLESON).

FUNDAMENTO.

Esta prueba se basa en la búsqueda de anticuerpos que se ponen de manifiesto al hacerse reaccionar con los antígenos complementarios que existen en la superficie bacteriana.

La prueba rápida de aglutinación en placa se emplea en nuestro medio para el diagnóstico de brucelosis (31, 113).

La prueba rápida de aglutinación en placa se usa en gran escala, como método de rutina en toda América, se aplica sola o en conjunto con la prueba de tubo; los sueros sospechosos y positivos con la prueba de placa, se someten a la prueba lenta en tubo y a otras pruebas complementarias (87).

La prueba de Huddleson ha sido muy popular, pero según observaciones de la Universidad de Minnesota, este método debe usarse únicamente como prueba de selección porque se han encontrado a menudo reacciones falsamente positivas (130). A varios casos de Brucelosis se les llevó a cabo la reacción de Huddleson, la mayoría dieron aglutinación positiva, pero hubo casos en donde la aglutinación fué negativa, se les procesó el cultivo de los bacilos de Bang dando positivo para todos los casos (136).

PROCEDIMIENTO

- * Centrifugar la sangre para separar el suero del paquete celular (1500 r.p.m.).
- * Antes de iniciar la prueba se retira el suero y el antígeno del refrigerador y se exponen a temperatura ambiente durante 30 a 60 minutos.
- * Con la pipeta de Bang se extrae el suero, problema del tubo, de manera que el suero rebase la marca superior de 0.08 ml. Inmediatamente después igualar la cantidad de suero a la marca superior de 0.08 ml de modo que la punta de la pipeta toque la pared superior del tubo original del suero. Para efectuar esta operación la pipeta deberá tener una inclinación de 45°.
- * Manteniendo la pipeta en el ángulo de 45° y la punta de la misma tocando la placa de aglutinación, se deposita en el primer cuadro de la placa la cantidad de 0.08 ml.
- * Con el mismo método se depositan en el centro de los cuadros siguientes las cantidades de 0.04, 0.02, 0.01 y 0.005 ml.
- * Posteriormente el frasco que contiene el antígeno de placa se homogeneiza por agitación manual durante un minuto y se deposita una gota de 0.03 ml del antígeno sobre cada una de las cantidades de suero.
- * Con el removedor ó aplicador de madera se agitan las mezclas de antígeno y suero (de la dilución

más alta a la más baja) en forma rotatoria, extendiéndose cada una de las mezclas en círculos.

- * Agitar la placa manualmente ó por rotación mecánica, durante 4 minutos.
- * Observar la placa sobre un fondo bien iluminado.
- * anotar y registrar el grado de aglutinación ocurrida en cada alícuota en los primeros 4 minutos.
- * Anotar el título del suero como recíproco de la última dilución en que observe aglutinación.

LECTURA DE LA REACCION

1. Reacción completa (positiva): es aquella en la cual la mayor parte de las células en la mezcla del suero-antígeno han sido aglutinadas. El tamaño de los grumos varía desde los extremadamente finos hasta los gruesos.
2. Reacción intermedia ó incompleta (Positiva): es aquella que incluye todos los grados intermedios de reacción de aglutinación.
3. Reacción negativa: es una mezcla homogénea de suero-antígeno sin ninguna evidencia de aglutinación (87, 113).

PRECAUCIONES DE LA PRUEBA

- A. Al efectuarse la distribución del suero en sus diferentes diluciones, deberá manejarse la pipeta

sosteniéndola en ángulo de 45°.

- B. No deberán utilizarse pipetas rotas.
- C. Los goteros deberán manejarse en posición vertical con el objeto de facilitar la salida de la gota en su volumen exacto.
- D. La mezcla del suero-antígeno en la placa deberá ser de forma circular, completa y homogénea para evitar aglutinaciones parciales.
- E. Sueros hemolizados: la hemoglobina libre con el fenol forma precipitados que se hacen aparentes con la prueba de aglutinación en tubo, en donde aparece una coloración café turbia que enmascara la reacción de aglutinación difícil de distinguir. Con la prueba de aglutinación en placa, esto se reduce debido a que la concentración de preservativos (fenol) es menor y el período de incubación es corto; sin embargo, es mejor evitar la utilización de sueros hemolizados para las pruebas de aglutinación.

La técnica ofrece la ventaja de ser rápida y sencilla, lo que permite aplicarla en escala masiva en las campañas de control y erradicación, así como en los muestreos para establecer la prevalencia de la enfermedad. Pero también tiene el inconveniente de que las aglutinaciones inespecíficas se presentan con frecuencia (99, 140).

6.5. LA PRUEBA DE ROSA DE BENGALA

Es un método de aglutinación rápida en placa, cualitativo, que ha reemplazado ventajosamente a la prueba de Huddleson en el conjunto de las llamadas pruebas febriles. La prueba Rosa de Bengala ha sido adoptada por muchos laboratorios debido a la baja proporción de resultados falsos negativos obtenidos, ya que es positiva cuando hay anticuerpos específicos de cualquiera de las clases IgM, IgG e IgA, por lo que es positiva desde casi el inicio de la sintomatología. Además tiene una buena correlación al compararla con la aglutinación en tubo y se ha empleado con éxito en estudios epidemiológicos. En el caso de resultar positiva se sugiere emplear pruebas cuantitativas complementarias, ya que por si sola no distingue una infección pasada de una activa en curso (79).

Este método de aglutinación se ha empleado para detección de anticuerpos de *Brucella* (63, 118, 123).

Este método se ha empleado también para evaluar la brucelosis en fase aguda y crónica con resultados muy satisfactorios, comparándolos con otras técnicas como ELISA, aglutinación en tubo, microaglutinación y prueba de Coombs (14, 15, 38, 42, 134).

El antígeno está constituido por células de *E. abortus* 99S (Concentración celular al 8 %), teñidas con colorante Rosa de Bengala, suspendidas en un regulador a pH 3.65 ± 0.05 .

Este debe mantenerse a 4°C cuando no este en uso.

Tanto los sueros como el antígeno deben alcanzar la temperatura del laboratorio antes de comenzar la prueba.

La prueba tiene por objeto apoyar el diagnóstico realizado a un enfermo con probable Brucelosis.

Ninguno de los reactivos que se emplean presentan riesgos para la salud. El antígeno se encuentra inactivado con germicidas y calor para evitar riesgos de contaminación.

FUNDAMENTO

Esta prueba se basa en la búsqueda de anticuerpos que se ponen de manifiesto al hacerse reaccionar con los antígenos complementarios que existen en la superficie bacteriana.

DESCRIPCION DE LA PRUEBA

* Sacar el reactivo, los sueros control positivo, negativo y problema del refrigerador y usarlos hasta que alcancen la temperatura ambiente (volver a refrigerar una vez que se han terminado de emplear).

- * El antígeno se probará previamente con suero control positivo y negativo (una gota del suero y una gota del antígeno).
- * Usando una pipeta de 0.2 ml graduada en centésimas, depositar 0.08, 0.04, 0.02, 0.01 y 0.005 ml del suero problema dentro de los círculos de una placa de vidrio.
- * Agregar una gota del antígeno para cada volumen del suero. La mezcla antígeno-suero, se aproximará a los valores finales de suero de 1:20, 1:40, 1:80, 1:160 y 1:320 respectivamente.
- * Mezclar con aplicador y extender lo más que permita el círculo (un solo aplicador puede ser usado para una serie de diluciones del mismo antígeno, si la mezcla empieza con la mínima dilución).
- * Agitar la placa manualmente o por rotación mecánica, a 80 rpm durante 2 a 4 minutos.
- * Observar la placa sobre un fondo bien iluminado. Se debe usar el gotero calibrador para medir la muestra de antígeno.
- * Anotar y registrar el grado de aglutinación ocurrida en cada alicuota en los primeros 4 minutos. Descartar cualquier reacción que empiece a aparecer después de este periodo.
- * Anotar el título del suero como recíproco de la última dilución en que observe aglutinación.

INTERPRETACION DE RESULTADOS

La presencia de niveles bajos de anticuerpos puede ser debido a inmunizaciones previas ó infecciones pasadas, clínicas ó subclínicas.

Sueros con títulos de 1:160 ó más, deben ser considerados como señal de una infección. Se sugiere confirmar el título empleando pruebas cuantitativas (Titulación en tubo).

Durante el curso de una enfermedad los títulos de los anticuerpos progresan elevándose desde el inicio de la infección perdurando en niveles importantes durante el estado de convalecencia. En casos negativos y cuando se sospeche de infección, ó bien si los sueros presentan títulos menores de 1:160, se recomienda titular nuevamente de 10 a 15 días después.

No obstante la ayuda prestada por este método serológico en la demostración de anticuerpos, las reacciones de aglutinación no sustituyen el aislamiento microbiológico y la identificación del agente etiológico.

Los sueros que resulten negativos a esta prueba se guardan durante un mes, por si se tiene que repetir la prueba en caso de duda.

A todos los sueros que resulten positivos se les efectúan las siguientes pruebas:

Aglutinación estándar en tubo con solución salada fenolada, aglutinación en tubo en presencia de 2-

Mercapto-etanol y en caso necesario la prueba de la antiglobulina de Coombs (79).

Se ha diagnosticado la brucelosis humana con aglutinación en placa con la técnica del antígeno acidificado, complementándola con la aglutinación en tubo (25).

6.6. LA PRUEBA DE AGLUTINACION EN TUBO (SAT)

La prueba de aglutinación en tubo (SAT) fué introducida por Wright y Smith en 1897. En México fué usada por primera vez por Ocaranza y Varela en 1924. Dada su simplicidad es la más usada y determina anticuerpos aglutinantes de las clases IgM, IgG e IgA. Algunos autores atribuyen los resultados negativos al fenómeno de prozona, que en realidad se presenta en un porcentaje muy bajo de sueros y en diluciones no mayores de 1/20 por lo que no se considera como causa importante de resultados falsos negativos.

Ha existido mucha controversia en cuanto a la definición del título que debe considerarse como de valor diagnóstico. Nuestra opinión al respecto coincide con la de otros autores, en que no es posible seleccionar un solo título que indique un proceso activo, sobre todo en zonas endémicas en donde la población general presenta niveles de anticuerpos elevados (mayor a 1/160) que bien podían ser considerados como indicativos de enfermedad. Además de que también hay casos en los que los títulos de anticuerpos no son aparentemente significativos (menor a 1/80) a pesar de haberse aislado *Bruceella*. Por esto, la opinión general indica que en ausencia de una segunda muestra que indique un incremento en el nivel de anticuerpos, se aconseja tomar muy en cuenta los aspectos epidemiológicos y clínicos para orientar el

diagnóstico definitivo (19).

Esta prueba se ha procesado junto con otras técnicas complementarias dando como resultado los mismos ó títulos similares para detectar anticuerpos específicos de *Bruceella*, se ha llevado a cabo con ELISA, Coombs y aglutinación de ditiotreitól (18, 60, 67, 106). También se ha complementado con Fijación de Complemento, radioinmunoensayo, inmunofluorescencia, inmunodifusión y varias pruebas de hemaglutinación (62, 89, 134).

6.7. PREPARACION DE LA SOLUCION SALINA FENOLADA

El antígeno normalizado deberá diluirse con una solución salina con 0.5 % de fenol, la cual se preparará de la siguiente manera:

1. Cloruro de Sodio (NaCl) 25.5 g
2. Agua destilada 3000 ml

Esta solución salina ya preparada queda a una concentración del 0.85 %, la cual deberá esterilizarse en autoclave a 121°C durante 10 minutos (de preferencia preparar volúmenes adecuados para almacenarlos).

3. Fenol 15 g

De esta manera queda lista la solución salina fenolada que se empleará para diluir tanto el antígeno como el suero (92).

PROCEDIMIENTO PARA LA DILUCION DEL ANTIGENO

Antígeno diluido 1:10 para emplearse en los métodos de dilución decimal y múltiple.

- | | |
|---|----------|
| Antígeno normalizado al 4,5 % | 3.0 ml |
| Solución Salina Fenolada | 297.0 ml |
| Concentración final | 0.045 % |

METODO DE DILUCION MULTIPLE

La prueba de aglutinación estándar en tubo (Método europeo) detecta las inmunoglobulinas específicas totales (IgM e IgG) del suero.

Se efectúa haciendo primero una dilución 1:10 del suero problema y a partir de esta, diluciones seriadas con factor de dilución 1/2 en solución salina fenolada. Se añade después un volumen igual del antígeno.

PROCEDIMIENTO

- * Etiquetar una serie de 10 tubos limpios (13 x 100 mm)
- * Colocar 0.9 ml de solución salina fenolada al 0.5 % en el primer tubo.
- * Añadir 0.1 ml de suero para obtener un volumen de 1 ml.
- * En el resto de los tubos colocar 0.5 ml de solución salina fenolada.
- * Tomar 0.5 ml del primer tubo y pasar al segundo.
- * Mezclar bien y pasar 0.5 ml al tercero, y así sucesivamente hasta el último.
- * Desechar los 0.5 ml del último tubo.
- * Agregar a todos los tubos 0.5 ml de antígeno diluido con solución salina fenolada.
- * Las diluciones finales son 1/20, 1/40, 1/80, 1/160, 1/320, etc.

- x Incubar a 37°C durante 48 horas.
- * Examinar sin agitar los tubos, emplear una fuente luminosa colocada detrás de ellos. Medir el grado de aglutinación por la mayor ó menor clarificación que se haya producido en los tubos en comparación con un testigo (92, 130).

INTERPRETACION DE RESULTADOS

- +++ Aglutinación - sedimentación completas con clarificación total del liquido sobrenadante.
- +++ Aglutinación casi completa, clarificación del 75% .
- ++ aglutinación pronunciada y transparencia del 50% .
- + Sedimentación parcial y clarificación del 25% .
- Clarificación nula.

El título corresponde al último tubo donde hubo clarificación del 75 al 100 % . Importante: cuando hay exceso de anticuerpos se presenta el fenómeno de prozona, por lo que se recomienda emplear siempre una serie de, cuando menos 8 tubos (92).

6.8. LA PRUEBA DE AGLUTINACION CON 2 MERCAPTOETANOL

FUNDAMENTO.

La prueba de aglutinación con 2-mercaptoetanol (ME) es una variante de la prueba de aglutinación en tubo que emplea un agente reductor para disociar la macroglobulina IgM, que es un pentámero, con lo que se inactiva su actividad de anticuerpo y si se observa que después de utilizarlo aún persiste el fenómeno, éste se debe a la presencia de anticuerpos aglutinantes IgG e IgA. Se ha señalado que la positividad a esta prueba se relaciona con actividad clínica. Se considera de utilidad para evaluar pacientes con brucelosis crónica y para controlar la eficiencia de la quimioterapia, ya que en forma paralela a la mejora clínica se deben alcanzar valores negativos de IgG para considerar que el tratamiento fué el adecuado (79).

En infecciones crónicas, los niveles de IgG son mucho más altos que los IgM ó bien pueden estar sólo las IgG. La IgM (pentámero) se pueden romper cuando se reducen los puentes de disulfuro con mercaptoetanol (Anderson y colaboradores, 1964), y por lo tanto, la molécula pierde su actividad de anticuerpo. La IgG es resistente a este tratamiento cuando se usan las diluciones correctas del reductor.

Esta prueba funciona como evidencia presuntiva en cuanto a la presencia de IgG, comparando los títulos

del mismo suero antes y después del tratamiento con el reductor de las uniones de disulfuro: Mercaptoetanol (92).

La prueba de 2-mercaptoetanol para inmunoglobulina G es útil para evaluar la respuesta a la terapia con antimicrobianos y para diagnosticar brucelosis crónica (77, 139). Este método se ha complementado con otras técnicas serológicas y se ha encontrado que ELISA es más sensible que la aglutinación con 2-mercaptoetanol (16, 26, 51, 64, 129).

6.9. PREPARACION DE LA SOLUCION SALINA-MERCAPTOETANOL

1. Pesar 0.85 g de NaCl y disolver en 100 ml de agua destilada.
2. Añadir 0.71 ml de 2-Mercaptoetanol. Agitar y colocar en un recipiente limpio (79).

La aglutinación en tubo en presencia de 2-mercaptoetanol, se emplea para revelar anticuerpos de la clase IgG, ya que los de la IgM se inactivan por el tratamiento con 2 M.E. La prueba se realiza haciendo diluciones del suero problema en solución salina con mercapto-etanol, añadiendo después un volumen igual de antígeno diluido con solución salina (no usar fenol).

PROCEDIMIENTO

- * Etiquetar una serie de 8-10 tubos de ensayo (de 13 x 100 mm) limpios, en el primer tubo colocar 0.9 ml de solución salina mercapto-etanol.
- * Añadir 0.1 ml de suero, agitar.
- * Colocar 0.5 ml de solución salina mercapto-etanol al resto de los tubos.
- * Tomar 0.5 ml del primer tubo y pasarlos al segundo, mezclar bien, pasar 0.5 ml del segundo al tercero, etc.
- * Añadir 0.5 ml del antígeno diluido, según indica el frasco a cada tubo.
- * Las diluciones finales son: 1/20, 1/40, 1/80, etc.
- * Incubar los tubos, a 37°C durante 48 horas.
- * Observar el grado de clarificación y determinar el título.

Este corresponde a la concentración de anticuerpos aglutinantes de la clase IgG (79).

6.10. PRUEBA DE LA ANTIGLOBULINA DE COOMBS

FUNDAMENTO.

Ha sido recomendada para poner de manifiesto anticuerpos no aglutinantes, que en general pertenecen a las clases IgG e IgA. Cuando este método se compara con la prueba de aglutinación en tubo los títulos obtenidos por Coombs son superiores sobre todo en pacientes con brucelosis crónica, en donde puede llegar a ser doscientas veces mayor el título. La limitante que tiene el método es el tiempo, ya que como mínimo se requieren 48 horas para obtener resultados. Por otro lado, algunos investigadores lo han sustituido por el método de inmunofluorescencia indirecta que determina este tipo de anticuerpos (79).

KERR y col. (1966) Insisten en el gran valor diagnóstico de la prueba de Coombs y de la fijación de complemento en la brucelosis crónica. Títulos nunca inferiores a 1:80 y a menudo superiores a 1:1000 en la prueba de Coombs, y títulos menores, pero nunca por debajo de 1:16 en la fijación del complemento, permiten detectar las microglobulinas específicas, responsables de la actividad del proceso (IgG) (21, 53).

La prueba de antiglobulina de Coombs determina anticuerpos específicos que se han unido al antígeno pero que son incapaces de aglutinar.

La prueba de Coombs emplea una anti gamma globulina humana que se une a los anticuerpos, que

previamente se unieron a las células de *Brucella*, lo que da por resultado una aglutinación visible (79).

La prueba de globulina antihumana de Coombs para anticuerpos de *Brucella*; es recomendada por varios investigadores la prueba indirecta de Coombs, especialmente en brucelosis crónica cuando la prueba de aglutinación puede ser negativa (62, 63, 89, 102, 123).

Ciertos sueros contienen anticuerpos específicos que se combinan con el antígeno pero que son incapaces de provocar aglutinación; algunos de estos anticuerpos, tal vez por ocupar los puntos de combinación en el antígeno, impiden que las aglutininas provoquen la aglutinación. en la prueba de Coombs se utiliza el reactivo de Coombs para producir la aglutinación en presencia de los anticuerpos llamados incompletos. El reactivo de Coombs es un anticuerpo específico contra la globulina ó el suero completo de las especies animales cuyo suero se analiza. La prueba de Coombs se denomina también prueba de la antiglobulina humana cuando se aplica a sueros humanos y prueba de antiglobulina bovina cuando se aplica a sueros bovinos (13, 138).

En la prueba de Coombs se toma como punto de partida cualquier técnica ordinaria de aglutinación en tubo; en los tubos que no presentan aglutinación se repite la prueba en presencia del reactivo de Coombs después de lavar el antígeno con anticuerpo adherente, si lo hay, mediante repetidas operaciones de

centrifugación y suspensión (13).

Se ha elaborado un método de microtitulación que facilita la prueba de Coombs para Brucelosis (102). Así como también una técnica de microaglutinación para determinar anticuerpos de *Brucella abortus* (27).

6.11. TITULACION DEL REACTIVO DE COOMBS

Para titular el reactivo de Coombs, se necesita un suero de la especie animal en cuestión que haya dado resultado positivo en la prueba de Coombs; es decir, un suero cuyo título en esa prueba sea por lo menos 4 veces superior al obtenido en la prueba ordinaria de aglutinación; lo mejor sería utilizar un suero negativo a esta última prueba y altamente positivo a la de Coombs (13, 37).

1. Practicar una prueba ordinaria de aglutinación en tubo con suero positivo a la prueba de Coombs. Esto se realiza en cinco hileras como mínimo de diluciones de razón dos, idénticas, con tubos suficientes en cada hilera para que las diluciones sobrepasen el título del suero obtenido en la prueba de Coombs.
2. Después de un período adecuado de incubación, eliminar los tubos en los que se observe aglutinación completa y utilizar los restantes para una titulación en bloque del reactivo de Coombs, como se indica en el siguiente cuadro:

TITULACION DEL REACTIVO DE COOMBS

Reactivo	Diluciones del suero								
	de Coombs	1:10	1:20	1:40	1:80	1:160	1:320	1:640	1:1280
1:50	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	-
1:100	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	-
1:200	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	-
1:400	++++	++++	++++	++++	++++	++++	-	-	-
1:800	++++	++++	++++	++++	-	-	-	-	-

3. Antes de agregar el reactivo de Coombs, centrifugar los tubos, eliminar los líquidos sobrenadantes, y volver a suspender el depósito hasta un volumen inicial como en la prueba propiamente dicha; esta operación se repite 3 veces, pero después del tercer centrifugado se suspende nuevamente el depósito en el reactivo de Coombs diluido con solución salina normal, empleando una dilución distinta para cada hilera horizontal de tubos, como se indicó en el cuadro anterior.

4. Después de conservar la dilución unas 24 horas en la estufa a 37°C se lee el resultado y se registra exactamente del mismo modo que en la prueba ordinaria de aglutinación.

La dilución del reactivo de Coombs que se ha de emplear en la prueba de diagnóstico es la solución

más diluida que muestre una sensibilidad máxima en la titulación. En la práctica, puede ser preferible utilizar una suspensión algo menos diluida que la antes indicada; por ejemplo, para la prueba de diagnóstico con el reactivo de Coombs, cuya titulación apareció en el cuadro anterior, sería adecuada una dilución de 1:100 (13).

PROCEDIMIENTO

- * Realizar una prueba de aglutinación en tubo ordinaria, con la salvedad de que la suspensión del antígeno es preferible la solución normal a la solución salina fenolada.
- * El concentrado del antígeno aglutinante se centrifuga dos veces a 2 500 rpm durante 20 minutos y se suspende cada vez en solución salina normal, la segunda de ellas duplicando el volumen inicial del concentrado. Así se obtiene un antígeno de la turbiedad adecuada.
- * Leer los resultados de la prueba de aglutinación e identificar los tubos negativos y centrifugarlos a 2 500 rpm durante 20 minutos y se desecha el sobrenadante, todo el proceso se efectúa en frío para evitar que se disocie el anticuerpo del antígeno.

- * Se vuelve a suspender el depósito en solución salina normal hasta alcanzar el volumen inicial, comenzando por el tubo que tenga la dilución más alta del suero y terminando por el que tenga la menor, agitando los tubos en una agitación lateral durante 10 minutos.
- * El lavado se repite 3 veces; después de centrifugar por tercera vez, el depósito final se suspende en suero de Coombs diluido en solución salina, después de titularlo.
- * Incubar todos los tubos a 37°C durante 24 horas.
- * Leer la clarificación, el título corresponde al último tubo donde hubo clarificación (13, 53, 130).

INTERPRETACION DE LOS RESULTADOS

Un título de 1:40 significa que el paciente ha padecido un estímulo específico por *Bruceila*. Esta prueba tiene aplicación práctica en la medicina humana, especialmente para el diagnóstico de la brucelosis crónica, en la que la prueba de Coombs puede dar resultados positivos aún cuando el título de la prueba ordinaria de aglutinación sea bajo e incluso nulo. No obstante, la prueba de Coombs es sumamente sensible y los individuos expuestos a infección por brucelas, como los veterinarios y los técnicos de laboratorio, suelen presentar títulos elevados en la prueba de Coombs sin síntoma alguno de enfermedad. Por otra parte, una reacción constantemente negativa a la prueba de Coombs en una persona enferma es una prueba indudable de que la brucelosis no es la causa de la enfermedad (13).

VII. RESULTADOS

Actualmente el hospital cuenta con una adscripción de 65,000 derechohabientes, de los cuales 11,036 pacientes acudieron a laboratorio durante el año de 1993 y solamente 1,549 solicitaron la prueba de reacciones febriles.

De 1,549 sueros trabajados en el periodo comprendido de Enero a Diciembre de 1993 se obtuvieron 148 sueros positivos a la Brucelosis, esto nos indica que entre los pacientes de la Clínica Hospital ISSSTE de Gómez Palacio, Durango hay un 9.55 % de seroprevalencia.

El comportamiento de la Brucelosis humana durante el periodo de estudio presenta una distribución mensual en la que se observa que la infección prevalece durante los meses de Mayo, Junio y Julio (CUADRO I y GRAFICA 1).

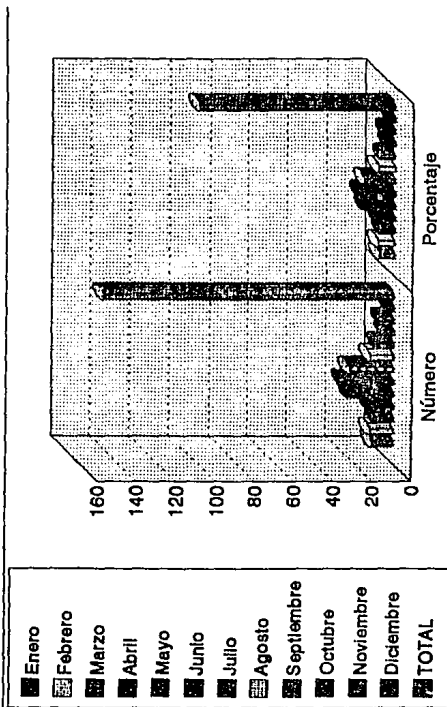
La distribución de los casos según el lugar de Residencia predomina, en términos porcentuales, en el medio urbano con un 76.35 % y en el medio rural con un 23.65 % (CUADRO II y GRAFICA 2).

La distribución por edad y sexo de los casos registrados predomina básicamente en el grupo de 30-34 años con un 22.97 %, siguiéndole en frecuencia los grupos de 35-39 y 25-29 años, edad económicamente activa, con un 22.28 % y 12.15 % respectivamente. En relación al sexo, el 69.60 % corresponde al femenino y

CUADRO I. INDICE ENDEMIKO MENSUAL DE BRUCELOSIS
POR FECHA DE NOTIFICACION. (1993).

M E S	No.	%
ENERO	11	7.43
FEBRERO	12	8.11
MARZO	9	6.08
ABRIL	12	8.11
MAYO	23	15.54
JUNIO	26	17.57
JULIO	23	15.54
AGOSTO	12	8.11
SEPTIEMBRE	8	5.4
OCTUBRE	4	2.7
NOVIEMBRE	6	4.05
DICIEMBRE	2	1.35
T O T A L	148	100.00

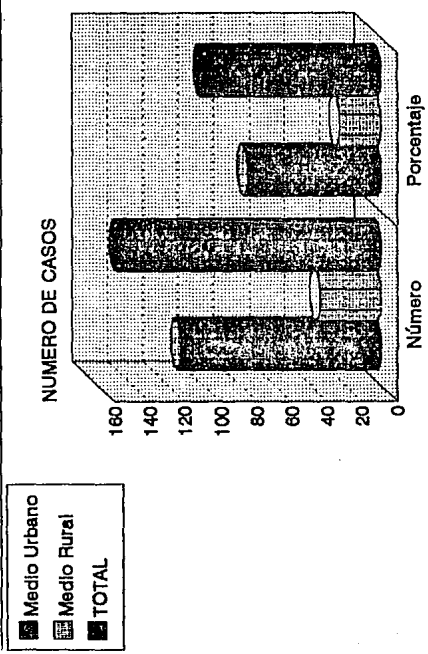
GRAFICA 1. Índice endémico mensual de brucelosis por fecha de notificación



CUADRO II. DISTRIBUCION DE CASOS DE BRUCELOSIS
SEGUN LUGAR DE RESIDENCIA. (1973).

LUGAR DE RESIDENCIA	No.	%
MEDIO URBANO	113	76.35
MEDIO RURAL	35	23.65
T O T A L	148	100.00

GRAFICA 2. Distribución de casos de brucelosis según lugar de residencia (1993)



el 30.40 % al masculino, debido quizá al factor ocupacional, como veremos más adelante (CUADRO III y GRAFICAS 3 y 3.1).

Al estudiar el factor ocupacional, podemos observar que el 38.51 % corresponde a las amas de casa, el 18.92 % a los profesores, el 16.90 % a los empleados y el 7.43 % a estudiantes. Las labores que implican el contacto con pacientes y muestras de laboratorio toma importancia en los casos estudiados, encontrando 3.38 % en enfermeras, 2.70 % en laboratoristas y un 0.67 % correspondiente a un médico (CUADRO IV y GRAFICA 4).

Las manifestaciones clínicas referidas, fundamentalmente, corresponden al síndrome febril, predominando las Artralgias y la Hipertermia (CUADRO V y GRAFICA 5).

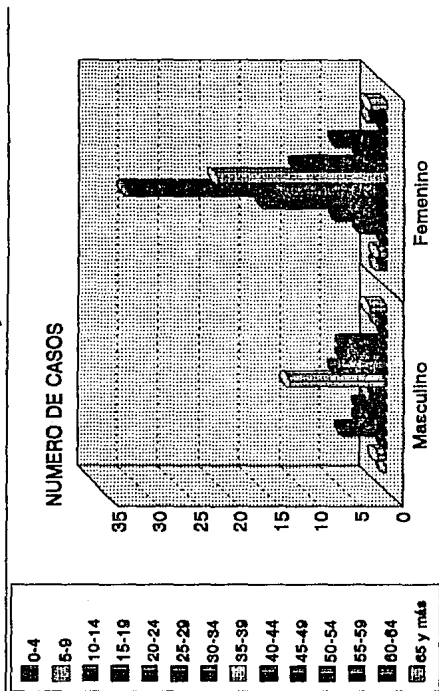
Respecto a la fuente de infección, en todos los casos existe el antecedente de consumo habitual u ocasional de leches y/o sus derivados sin pasteurizar, dato confiable al ser asociado a la edad de presentación y ocupación de los casos estudiados, sin poder descartar el mecanismo directo por otras vías o puertas de entrada, específicamente en los individuos que realizan actividades del campo y personal multidisciplinario que labora en el sector salud (CUADRO VI y GRAFICA 6).

En lo que respecta a las técnicas empleadas en el diagnóstico serológico de la Brucelosis, se llevaron a cabo las siguientes pruebas:

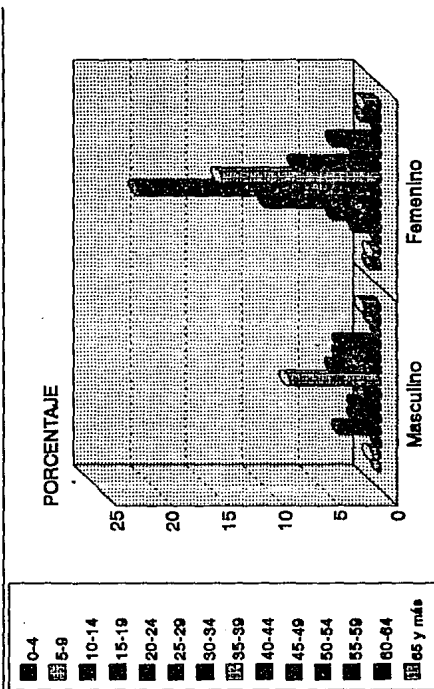
CUADRO III. DISTRIBUCION DE CASOS DE BRUCELOSIS
POR EDAD Y SEXO. (1993)

E D A D (AÑOS)	MASCULINO		FEMENINO		T O T A L	
	No.	%	No.	%	No.	%
0-4	-	-	1	0.67	1	0.67
5-9	1	0.67	1	0.67	2	1.34
10-14	-	-	-	-	-	-
15-19	5	3.37	3	2.02	8	5.39
20-24	3	2.02	6	4.05	9	6.07
25-29	3	2.02	15	10.13	18	12.15
30-34	2	1.35	32	21.62	34	22.97
35-39	12	8.10	21	14.18	33	22.28
40-44	6	4.05	11	7.43	17	11.48
45-49	5	3.37	3	2.02	8	5.39
50-54	5	3.37	6	4.05	11	7.42
55-59	-	-	-	-	-	-
60-64	1	0.67	2	1.35	3	2.02
65 y más	2	1.35	2	1.35	4	2.7
T O T A L	45	30.40	103	69.60	148	100.00

GRAFICA 3. Distribución de casos de brucelosis por edad y sexo



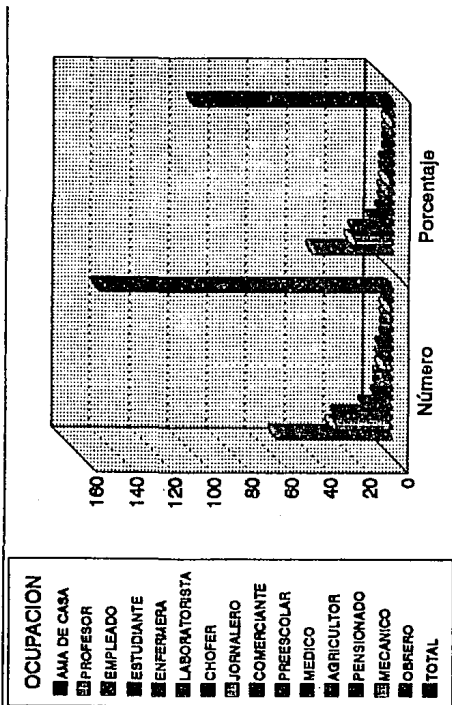
GRAFICA 3.1 Distribución de casos de brucelosis por edad y sexo



CUADRO IV. DISTRIBUCION DE CASOS DE
BRUCELOSIS SEGUN OCUPACION.
(1993).

OCUPACION	No.	%
AMA DE CASA	57	38.51
PROFESOR	28	18.92
EMPLEADO	25	16.90
ESTUDIANTE	11	7.43
ENFERMERA	5	3.38
LABORATORISTA	4	2.70
CHOFER	4	2.70
JORNALERO	3	2.03
COMERCIANTE	3	2.03
PREESCOLAR	3	2.03
MEDICO	1	0.67
AGRICULTOR	1	0.67
PENSIONADO	1	0.67
MECANICO	1	0.67
OBRERO	1	0.67
T O T A L	148	100.00

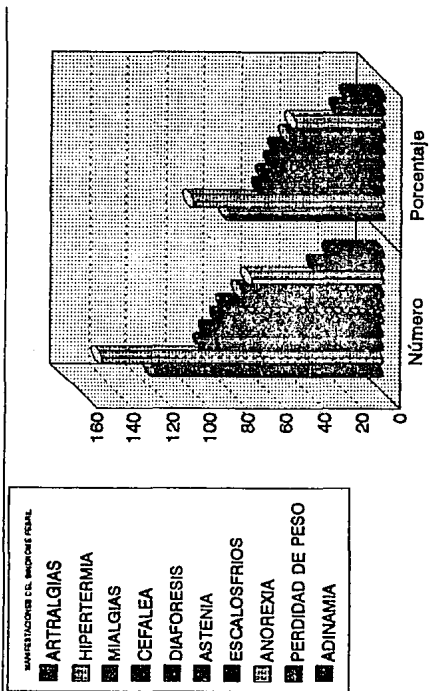
GRAFICA 4. Distribución de casos de brucelosis según ocupación (1993)



**CUADRO V. MANIFESTACIONES CLINICAS DE BRUCELOSIS
EN 148 PACIENTES. (1993).**

MANIFESTACIONES DEL SINDROME FEBRIL.	No.	%
ARTRALGIAS	120	81.08
HIPERTERMIA	148	100.00
MIALGIAS	94	63.51
CEFALEA	91	61.49
DIAFORESIS	85	57.43
ASTENIA	82	55.40
ESCALOSFRIOS	74	50.00
ANOREXIA	69	46.62
PERDIDA DE PESO	35	23.65
ADINAMIA	27	18.24

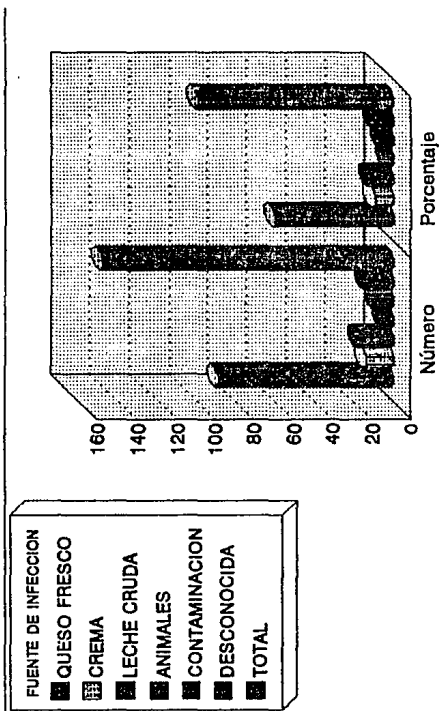
GRAFICA 5. Manifestaciones clínicas de brucelosis en 148 pacientes (1993)



**CUADRO VI. DISTRIBUCION DE CASOS DE BRUCELOSIS
SEGUN FUENTE DE INFECCION. (1993).**

FUENTE DE INFECCION	No.	%
QUESO FRESCO	89	60.13
CREMA	14	9.46
LECHE CRUDA	17	11.49
ANIMALES	5	3.38
CONTAMINACION	9	6.08
DESCONOCIDA	14	9.46
T O T A L	148	100.00

GRAFICA 6. Distribución de casos de brucelosis según fuente de infección (1993)



- 1).- PRUEBA RAPIDA DE HUDDLESON.
- 2).- PRUEBA ROSA DE BENGALA.
- 3).- PRUEBA DE AGLUTINACION EN TUBO CON SOLUCION SALINA FENOLADA.
- 4).- PRUEBA DE AGLUTINACION EN TUBO CON 2-MERCAPTOETANOL.
- 5).- PRUEBA DE COOMBS.

Los resultados de estas cuatro pruebas realizadas en los 148 pacientes resultaron para la prueba de Huddleson, en términos porcentuales, positiva para el 100.00 % de los casos.

La prueba Rosa de Bengala fue positiva en un 79.73 % de los pacientes.

La prueba de aglutinación en tubo con solución salina fenolada, fue positiva en un 48.6 % de las muestras.

La prueba de aglutinación en tubo con 2-mercaptoetanol, resultó positiva para el 29.73 % de los pacientes.

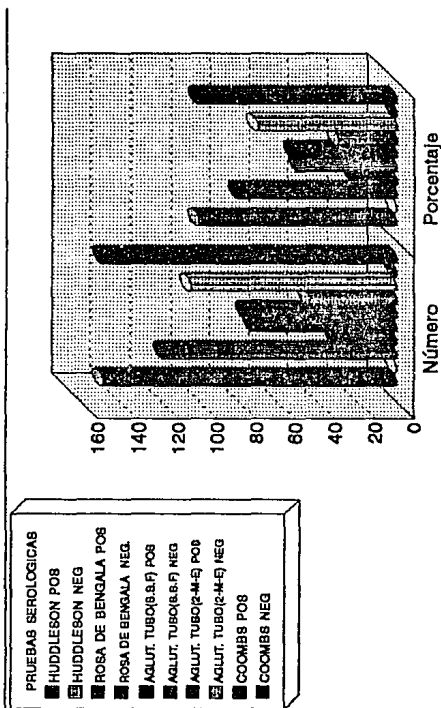
En cuanto a la prueba de Coombs el resultado en el 100.00 % de las muestras fue falso negativo (CUADRO VII y GRAFICA 7).

En relación al título de anticuerpos obtenido en las 148 muestras se observó un comportamiento piramidal inverso, en donde la relación de una prueba a otra en el suero de un mismo paciente tendrá la proporción

**CUADRO VII. RESULTADOS DE LAS PRUEBAS SEROLOGICAS
EN 148 MUESTRAS. (1993).**

PRUEBAS SEROLOGICAS	POSITIVAS		NEGATIVAS	
	No. POS./No. MUESTRAS.	%	No. NEG./No. MUESTRAS.	%
PRUEBA DE HUDDLESON	148/148	100.00	0/148	0.0
3ROSA DE BENGALA	118/148	79.73	30/148	20.27
AGLUTINACION EN TUBO CON SOLUCION SA- LINA FENOLA- DA.	72/148	48.65	76/148	51.35
AGLUTINACION EN TUBO CON 2-MERCAPTO- ETANOL.	44/148	29.73	104/148	70.27
PRUEBA DE COOMBS.	0/148	0.0	148/148	100.00

GRAFICA 7. Resultados de las pruebas serológicas en 148 muestras (1993)

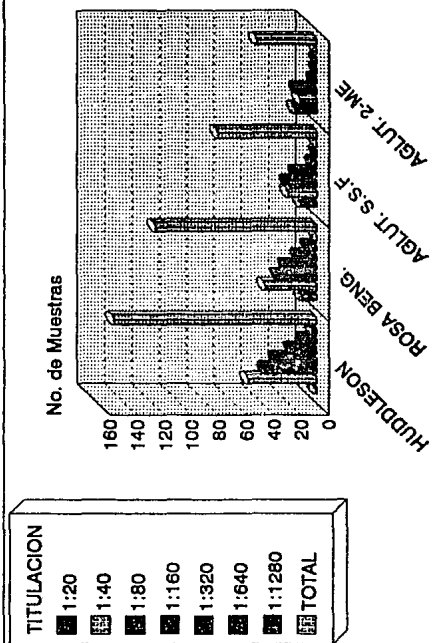


aproximada de una dilución menos en positividad en un orden decreciente de la Prueba de Huddleson hacia la prueba de Coombs (CUADRO VIII y GRAFICAS 8, 8.1, 8.2, 8.3 y 8.4).

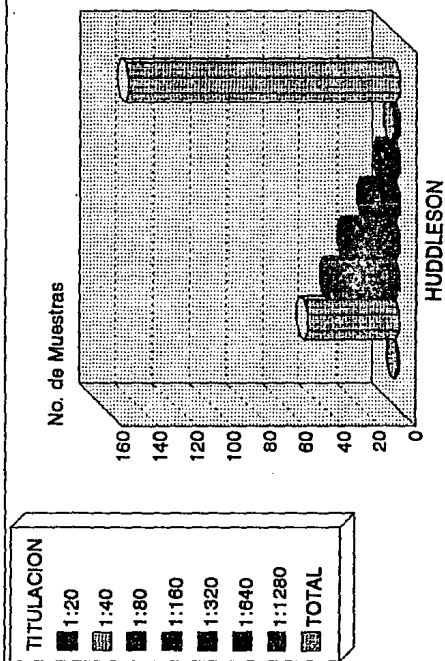
CUADRO VIII. TITULACION DE ANTICUERPOS EN 148 MUESTRAS EN RELACION A CADA UNA DE LAS PRUEBAS. (1993).

PRUEBAS SEROLOGICAS	TITULOS DE ANTICUERPOS							TOTAL
	1:20	1:40	1:80	1:160	1:320	1:640	1:1280	
PRUEBA DE HUDDLESON	1	50	38	29	18	9	3	148
ROSA DE BENGALA	11	38	28	22	13	6	-	118
AGLUTINACION EN TUBO CON SSF.	12	21	21	15	3	-	-	72
AGLUTINACION EN TUBO CON 2-ME	16	12	14	2	-	-	-	44

GRAFICA 8. Titulación de anticuerpos en 148 muestras en relación a cada una de las pruebas (1993)

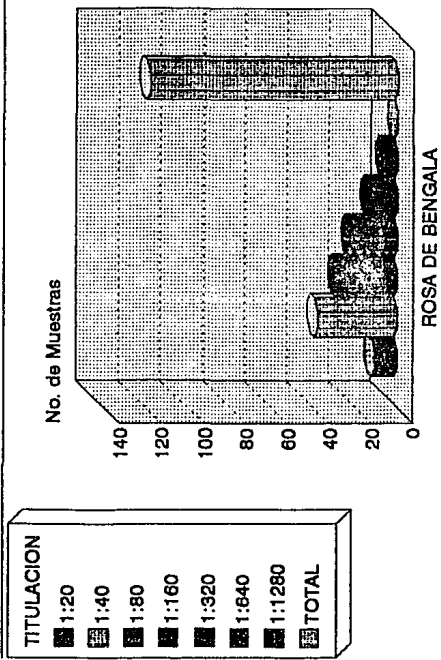


GRAFICA 8.1 Titulación de anticuerpos en 148 muestras en relación a la prueba de Huddleson (1993)

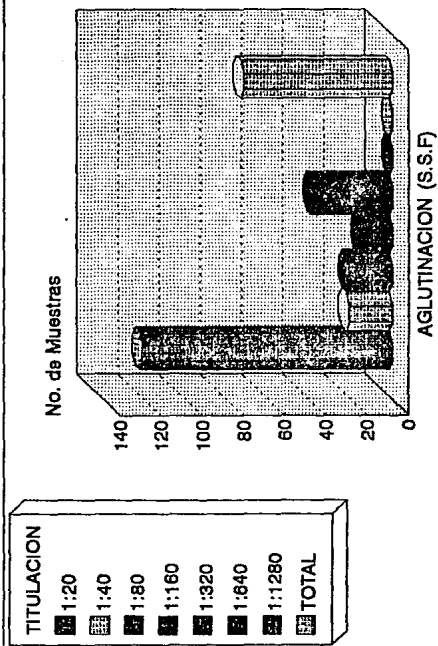


ESTA TESIS NO DEBE SALIR DE LA BIBLIOTECA

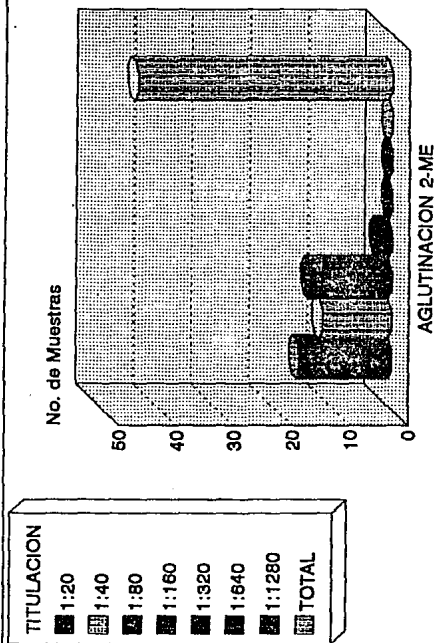
GRAFICA 8.2 Titulación de anticuerpos en 148 muestras en relación a la pruebas de Rosa de Bengala(1993)



GRAFICA 8.3 Titulación de anticuerpos en 148 muestras en relación a la prueba de Aglutinación (S.S.F) (1993)



GRAFICA 8.4 Titulación de anticuerpos en 148 muestras en relación a la prueba de Aglutinación 2-ME (1993)



VIII. DISCUSION

En base a los resultados obtenidos se vió que prevalece la infección en mayor proporción durante los meses de Mayo, Junio y Julio porque es la época del año en que cambian las condiciones climatológicas.

Este ha sido estudiado y se ha relacionado a que durante los meses de Mayo a Octubre aumenta la producción de leche y derivados, así como a un cambio en las condiciones ambientales que favorecen la sobrevivencia y diseminación del agente causal (79).

También encontramos cierta prevalencia de la infección durante el resto del año, esto se debe a que en zonas áridas y semiáridas, en condiciones apropiadas las brucelas sobreviven en el medio ambiente durante periodos que pueden ser prolongados. (3.1).

Respecto a la edad destacan con mayor frecuencia los individuos de 25 a 39 años, observando con esto que la edad laboral es la más afectada.

Se ha observado que la infección da como resultado incapacidad del paciente originando gran impacto en la economía familiar, ya que afecta primordialmente a la población económicamente activa (32).

En cuanto a la distribución por sexo, se ve afectada con el factor ocupacional, ésto es porque la mujer, en general amas de casa, acude más a consulta que el hombre, el elevado porcentaje observado en el sexo femenino, no es indicativo de que haya más

prevalencia en mujeres que en hombres.

Se ha señalado que el mayor porcentaje es en el sexo masculino y que son los más afectados por estar relacionados con los animales, como pastores, campesinos, carniceros, veterinarios, que en algunas provincias sobrepasan el 25% de la población (122).

Con respecto a la distribución según el lugar de residencia, el medio urbano resultó con mayor incidencia que el medio rural. a diferencia de lo que se reporta comúnmente en estudios realizados en donde se dice hay mayor incidencia en el medio rural que en el urbano (114). Se debe aclarar que el presente trabajo se llevó a cabo en la ciudad de Gómez Palacio que es zona urbana.

Las manifestaciones clínicas, correspondieron en su mayoría a un síndrome febril severo en el que predominó principalmente la hipertermia, causa principal por la que se acude al médico; en algunos casos al llevar a cabo las reacciones febriles y realizando las pruebas serológicas específicas para brucelosis observamos que la brucelosis se encontraba asociada con tifoidea. La brucela puede o no ser agente causal de alguna enfermedad, puede suceder que el diagnóstico por ejemplo, de una pancreatitis aguda o algún otro padecimiento ya existente, origine que una infección brucelar sea más severa, encontrándose frecuentemente asociada con otras enfermedades.

La literatura reporta que las manifestaciones

cerebrales y de hígado desorientarían por completo el diagnóstico de brucelosis, este padecimiento carece de síntomas o signos patognomónicos y se le puede confundir con muchos padecimientos febriles, en nuestro medio debe diferenciarse principalmente de fiebre tifoidea y tuberculosis (47, 97).

En lo que respecta a la fuente de infección está dada principalmente por ingerir leche y/o sus derivados sin pasteurizar; es necesario un proyecto de campaña sanitaria contra la brucelosis, dando educación general al público, y se consiguiera evitar el consumo de lacticinios crudos, con lo que se lograría una reducción importante de los casos de infección humana.

Para lograr esta reducción se reporta que se debe llevar a cabo un verdadero control sanitario de los alimentos, limitándola sólo profesionales o personal que maneje animales, procurando la vacunación que es el mejor procedimiento profiláctico, de esta manera se lograría incrementar la producción, la comercialización de los productos lácteos y sobre todo de preservar la salud humana (22, 47, 97, 112, 121).

La inmunización profiláctica debe ser obligatoria en los animales por ser la brucelosis una infección zoonótica (25, 46, 90).

Se pudo observar que no sólo la leche y sus derivados son únicos transmisores de la enfermedad, hubo reportes de personas que desconocen la fuente de infección, esto es porque hay otras vías de entrada,

como la nasal, conjuntival, contactar con animales.

Existe poca información respecto al hecho de que las brucelas pueden ser transmitidas de una mujer embarazada a su producto a través de la placenta, es necesario que en las zonas endémicas del país se investiguen las causas cuando se origine un aborto (28, 85, 124, 126).

En cuanto a las pruebas serológicas específicas para diagnosticar brucelosis logramos demostrar la presencia de anticuerpos específicos, la prueba de Huddleson, la Rosa de Bengala y la aglutinación en tubo con solución salina fenolada son positivas cuando hay anticuerpos específicos de las clases IgM, IgG e IgA, confirmando más aún nuestro diagnóstico al llevar a cabo la prueba de aglutinación con 2 mercaptoetanol que emplea un agente reductor para disociar la macroglobulina IgM, por lo que sólo se detecta la presencia de anticuerpos aglutinantes IgG e IgA, al igual que la Prueba de Coombs que pone de manifiesto estos dos anticuerpos. La prueba de aglutinación en tubo con 2 mercaptoetanol se relaciona con la historia clínica, nos dió la evaluación de pacientes con brucelosis crónica y así ayudar a controlar el tratamiento.

En lo que respecta a la prueba de Coombs consideramos nuestros resultados como falsos negativos, puesto que las inmunoglobulinas que esta técnica nos detecta las observamos también en la prueba de

aglutinación en tubo con 2-mercaptoetanol, al desarrollar la prueba de Coombs nos enfrentamos con la dificultad de adaptar la técnica al equipo con el que contamos en nuestro laboratorio, tratamos de proporcionar las condiciones más apropiadas para su desarrollo; ya que requiere de temperaturas muy bajas para su proceso y así evitar la disociación del complejo Ag-Ac, ya que de otra manera la gammaglobulina no logra formar el complejo. Y es por lo que sospechamos que nuestros resultados son falsos negativos; sin embargo, podemos expresar que se requiere de condiciones muy precisas de temperatura para desarrollar con éxito esta técnica.

Fude comprobar que en la mayoría de los grandes centros hospitalarios el diagnóstico de la brucelosis se limita solamente a trabajar la prueba rápida de Huddleson, por ser considerado un procedimiento sencillo, barato y casi siempre concluyente, esto es debido a que no se ha comprendido la importancia de evitar las reacciones cruzadas de la prueba de Huddleson con otros microorganismos dando erróneamente un diagnóstico falso positivo, por lo tanto se deben de llevar a cabo las pruebas específicas para brucelosis y de esta manera orientar al médico a dar un diagnóstico certero y así evitar recidivas y convertir a la brucelosis en una cronicidad de años, o de por vida; además al revisar cada uno de los expedientes de los pacientes que refieren brucelosis, observamos que el

médico tiene carencia de conocimientos en lo que respecta al esquema terapéutico específico para brucelosis, y esto trae como consecuencia que la brucelosis que refiere el paciente se convierta en crónica.

Se reporta que todas las cepas lisas de *Bruceila* muestran una gran reactividad cruzada con otros microorganismos lo cual se pone de manifiesto cuando se realizan pruebas de aglutinación (45, 72, 79, 88).

Dentro de los casos presentados en el presente trabajo nos encontramos ante brucelosis agudas y brucelosis crónicas, con reciente aparición de la infección, así como casos con más de un año de evolución, no descartamos recidivas, en la mayoría de los casos se estudió en repetidas ocasiones el suero del mismo paciente, logrando así seguir el curso de la infección.

Ejemplo:

SEXO: Femenino

EDAD: 38 años

OCUPACION: empleada

FUENTE DE CONTAMINACION: Queso fresco

LUGAR DE RESIDENCIA: Medio urbano

DIAGNOSTICO: Brucelosis crónica con más de un año de evolución.

SINTOMATOLOGIA: Hipertermia, cefalea nocturna, lumbalgia, dolores musculares, escalofríos, dolor de espalda, pérdida de peso.

TITULOS OBTENIDOS EN PRUEBAS SEROLOGICAS

FECHA	HUDD.	ROSA DE BENGALA	AGLUT. C/SSF	AGLUT. PRUEBA DE C/2-ME	COOMBS
12/03/93	1:320	1:160	1:80	1:20	Neg
17/05/93	1:160	1:80	1:40	Neg	
29/06/93	1:40	1:20	Neg		
8/10/93	Neg	Neg			

TRATAMIENTO: Estreptomina, Tetraciclina, Rifampicina,
Trimetoprima/Sulfametoxazol.

Como se observa en este ejemplo representativo, informamos al médico solicitante los resultados de estas pruebas específicas para brucelosis, logrando de esta manera el diagnóstico integral y el seguimiento terapéutico de los pacientes.

Se reporta que deben valorarse los resultados serológicos junto con los hallazgos clínicos y epidemiológicos antes de hacer un diagnóstico definitivo. La mejor terapéutica es aquella que logra la remisión rápida de las manifestaciones clínicas con el mínimo de recaídas, lo anterior se ha conseguido con combinación de antimicrobianos con capacidad de penetración en la células infectadas (47, 77).

Al llevar a cabo nuestro estudio no eliminamos títulos de anticuerpos menores de 1:160 por encontrarnos en una zona endémica y posiblemente nos estemos enfrentando a una brucelosis crónica.

IX. CONCLUSIONES.

1. Se evaluaron las técnicas más usadas en el diagnóstico serológico de la Brucelosis, éstas son la Prueba rápida de Huddleson, Rosa de Bengala, Aglutinación en tubo con solución salina fenolada, Aglutinación en tubo con 2-mercaptoetanol y la Prueba de Coombs.
2. Se determinó el índice mensual de Brucelosis de 148 pacientes con sintomatología propia de la enfermedad, concluyendo que la infección prevalece durante los meses de Mayo, Junio y Julio.
3. Se obtuvo la distribución de casos de Brucelosis según lugar de residencia, edad, sexo y ocupación, predominando ésta en el medio urbano, a la edad de 30 a 34 años, en el sexo femenino y en las amas de casa.
4. Se observó que las principales manifestaciones clínicas en pacientes con Brucelosis fueron artralgias, hipertermia y mialgias; así mismo se determinó que la principal fuente de contagio fue la leche y productos lácteos sin pasteurizar.

X. COMENTARIOS

1. La brucelosis es un serio problema en cuanto a la economía familiar para personas que viven del producto de sus animales, como: quesos, crema, etc., con leche contaminada y elaborados en pésimas condiciones sanitarias, que infectan a un número considerable de individuos.
2. Para evitar el contagio para el personal de laboratorio se requiere de personal calificado, bien entrenado y que tome medidas de alta seguridad para desarrollar las actividades en forma adecuada.
3. En cuanto al control del padecimiento son contadas las zonas donde se ha logrado algún avance tendiente a la erradicación de la enfermedad en los animales, por lo tanto el problema humano seguirá existiendo, se hace notar un estancamiento en cuanto a su control, se desconoce o no se practica el diagnóstico serológico diferencial específico para Brucella, sólo lo conocen los investigadores del INDRE (INSTITUTO NACIONAL DE DIAGNOSTICO Y REFERENCIA EPIDEMIOLOGICOS) de la Secretaría de Salud, en la ciudad de México, que mediante publicaciones anuales difunden las técnicas de laboratorio que permiten tener actualizado el diagnóstico epidemiológico del

país, pero muy pocas o ninguna institución las pone en práctica. Por lo que han surgido nuevas áreas endémicas o zonas que se han mantenido con la infección latente, se necesita hacer un gran esfuerzo por parte de las instituciones involucradas en el sector salud para prestar mayor atención a este padecimiento que está causando pérdidas cuantiosas a la economía pecuaria y a la salud pública nacional.

4. Se desconoce en la actualidad la magnitud real de la morbi-mortalidad ocasionada por brucelosis. En todas las instituciones se ofrece el procedimiento de diagnóstico utilizando sólo la prueba de Huddleson para detección de Brucelosis, esta prueba sólo se debe utilizar como prueba de detección en gran escala, sometiendo a ensayos de verificación los sueros con resultado positivo utilizando los métodos complementarios, útiles por su gran sensibilidad para diferenciar la brucelosis de otras enfermedades infecciosas, y así descartar alguna reacción cruzada, evitando falsas positivas.
5. La Comarca Lagunera es una zona endémica de Brucelosis, por lo que consideramos importante que se establezca un programa de detección de esta zoonosis en esta región e introducir en el cuadro básico de exámenes de los laboratorios clínicos todas las pruebas serológicas empleadas para el

diagnóstico de brucelosis.

6. Con el presente trabajo se realizaron exámenes exactos y oportunos que llevaron a la precisión del diagnóstico integral sobre brucelosis originando el seguimiento terapéutico de los pacientes, logrando de esta manera los objetivos planteados.
7. El avance en el control de esta zoonosis requiere de una participación coordinada y constante del área correspondiente a SALUD PÚBLICA y seguir vinculando los planes y programas de investigación con las necesidades sociales que reclama la población mexicana.

BIBLIOGRAFIA

- 1.- ACHA, Pedro N.; Szyfres, Boris. "ZOOONOSIS Y ENFERMEDADES TRANSMISIBLES COMUNES AL HOMBRE Y A LOS ANIMALES". Organización Panamericana de la Salud. Washington, EUA 1977.
- 2.- AL- ASKA AK; Chaglia AH. "LABORATORY-ACQUIRED BRUCELOSIS". J. HOSP. INFECT.; vol. 14, no. 1, pp. 69-71; 1989.
- 3.- AL Eissa YA. "PROBABLE PREAST-MILK BORNIE BRUCELOSIS IN A YOUNG INFANT". ANN. TROP. PAEDIATR.; vol. 10, no. 3, pp. 305-307; 1990.
- 4.- AL-Eissa YA; Kambal AM; Al Nasser MN; Al-Habib SA; Alfawaz IM; Al-Zamil FA. "CHILDHOOD BRUCELOSIS: A STUDY OF 102 CASES". PEDIATR. INFECT. DLS. J.; vol. 9, no. 2, pp. 74-79; 1990.
- 5.- AL-Eissa YA; Kambal AM; Alrabeeah AA; Abdullah AMA; Al Jurayyan NA; Al-Jishi MM. "OSTEOARTICULAR BRUCELOSIS IN CHILDREN". ANN. RHEUM. DIS.; vol. 49, no. 11, pp. 896-900; 1990.
- 6.- AL-Kassab AS; Nur MA; Malik JM. "EVALUATION OF SERUM C-REACTIVE PROTEIN IN THE DIAGNOSIS OF ARTHRITIC AND NON ARTHRITIC BRUCELOSIS". J. TROP. MED. HYG.; vol. 94, no. 2, pp. 92-96; 1991.
- 7.- AL-Orainey IO; Laajam MA; Al-Aska AK; Rajapakse CN. "BRUCELLA MENINGITIS". J. INFECT.; vol. 14, no. 2, pp. 141-145; 1987.
- 8.- AL-Rawi TI; Thewaini AJ; Shawket AR; Ahmed GM. "SKELETAL BRUCELOSIS IN IRAQI PATIENTS". ANN. RHEUM. DIS.; vol. 48, no. 1, pp. 77-79; 1989.
- 9.- AL-Sibai MB; Halim MA; El-Shaker MM; Khan BA; Qadri SMH. EFFICACY OF CIPROFLOXACIN FOR TREATMENT OF BRUCELLA MELITENSIS INFECTIONS". ANTIMICROB. AGENTS CHEMOTHER.; vol. 36, no. 1, pp. 150-152; 1992.
- 10.- ALARCON GS; Gotuzzo E; Bocanegra TS; Castañeda O; Calvo A; Carrillo C; Go RCP; Acton RT; Barger BO. "FAMILIAL STUDIES IN HUMAN BRUCELOSIS". TISSUE ANTIGENS.; vol. 26 no. 1, pp. 77-79; 1985.
- 11.- ALLEYNE BC; Orford RR; Lacey BA; White FMH. "RATE OF SLAUGHTER MAY INCREASE RISK OF HUMAN BRUCELOSIS IN A MEAT-PACKING". J. OCCUP. MED.; vol. 28, no. 6, pp. 445-450; 1986.

- 12.- ALMARAZ, G.J. "INCIDENCIA DE BRUCELOSIS CAPRINA Y SU POSIBLE REPERCUSION EN LA SALUD HUMANA". Tesis-UANL, Nuevo León, 1983.
- 13.- ALTON, G.G.; Jones, Lois M.; Pietz, D.E. "LAS TECNICAS DE LABORATORIOS EN LA BRUCELOSIS". OMS. Segunda Edición. Ginebra, 1976.
- 14.- ARAJ GF; Brown GM; Haj MM; Madhvan NV. "ASSESSMENT OF BRUCELOSIS CARD TEST IN SCREENING PATIENTS FOR BRUCELOSIS". EPIDEMIOL. INFECT.; vol. 100, no. 3, pp. 389-398; 1988.
- 15.- ARAJ GF; Lulu AR; Mustafa MY; Khateeb MI. "EVALUATION OF ELISA IN THE DIAGNOSIS OF ACUTE AND CHRONIC BRUCELOSIS IN HUMAN BEINGS". J. HYG.; vol. 97, no. 3, pp. 457-469; 1986.
- 16.- ARAJ GR; Lulu AR; Saadah MA; Mousa AM; Strannegard I-L; Shakir RA. "RAPID DIAGNOSIS OF CENTRAL NERVOUS SYSTEM BRUCELOSIS BY ELISA". J. NEUROIMMUNOL.; vol. 12, no. 3, pp. 173-182; 1986.
- 17.- ARANDA, M.A. "CONTRIBUCION AL ESTUDIO DE LA INCIDENCIA DE BRUCELOSIS EN LA COMARCA LAGUNERA"; Tesis UNAM-FMVZ México D.F. 1950.
- 18.- ARIZA J.; Pellicer T.; Pallares R.; Foz A.; Gudiol F. "SPECIFIC ANTIBODY PROFILE IN HUMAN BRUCELOSIS". CLIN INFECT. DIS.; vol. 14, no. 1, pp. 131-140; 1992.
- 19.- ARIZA J.; Servitje O.; Pallares R.; Viladrich PF; Rufi G.; Peyri J.; Gudiol F. "CHARACTERISTIC CUTANEOUS LESIONS IN PATIENTS WITH BRUCELOSIS". ARCH. DERMATOL.; vol. 125, no. 3, pp. 380-383; 1989.
- 20.- AYSHA MH; Shayib MA. "SYNDROME OF INAPPROPRIATE SECRETION OF ANTIDIURETIC HORMONE IN BRUCELOSIS". J. INFECT.; vol. 17, no. 1, pp. 29-33; 1988.
- 21.- BALCELLS, Gorina Alfonso. "LA CLINICA Y EL LABORATORIO". Editorial Marín, S.A. 11a. Edición. Barcelona, 1978.
- 22.- BARUELOS, Sánchez Guillermina. "INCIDENCIA DE BRUCELOSIS CAPRINA EN LA ZONA DE HUAMANTLA, TLAXCALA". III Reunión Nacional Sobre Caprinocultura. . S.A.R.H. Octubre 1987.

- 23.- BARRET J.T. "INMUNOLOGIA. INMUNOQUIMICA E INMUNOBIOLOGIA". Nueva Editorial Interamericana S.A. DE C.V. México, D.F. 1985.
- 24.- BEER, J. "ENFERMEDADES INFECCIOSAS DE LOS ANIMALES DOMESTICOS". TOMO II Enfermedades producidas por bacterias, hongos e intoxicaciones. Ed. Acribia España, 1981.
- 25.- BELOZEROV YeS; Rementsova MM; Kasatkina IL; Sayduldin TS; Kurmanova KB; Mukovozova LA; Zhanuzakov NZh; Teplyakova LM. "THE PROBLEM OF THE DAY-BRUCellosIS". ZDRAVOOKHR. KAZ.; no. 3, pp. 12-16; 1989.
- 26.- BERCIANO J.; Pascual J.; Combarros O.; Polo JM. "LOCALIZED CNS BRUCellosIS: REPORT OF 7 CASES". ACTA NEUROL. SCAND.; vol. 78, no. 4, pp. 282-289; 1988.
- 27.- BETTELHEIM KA; Maskill WJ. Metcalfe RV; Pearce JL. "THE USE OF THE MICROAGGLUTINATION TECHNIQUE TO DETERMINE THE ANTIBODY STATUS OF HEALTHY NEW ZEALANDERS TO BRUCELLA ABORTUS". J. HYG.; vol. 92, no. 3, pp. 401-410; 1984.
- 28.- BOSSERAY N. "BRUCELLA INFECTION AND IMMUNITY IN PLACENTA". ANN. INST. PASTEUR MICROBIOL.; vol. 138, no. 1, pp. 110-113; 1987.
- 29.- BOUZA E.; García de la Torre M.; Parras F.; Guerrero A.; Rodríguez-Creixems M.; Gobernado J. "BRUCellar MENINGITIS". REV. INFECT. DIS.; vol. 9, no. 4, pp. 810-812; 1987.
- 30.- CARPENTER L. Philip. "INMUNOLOGIA Y SEROLOGIA". Ediciones Científicas. La Prensa Médica Mexicana, S.A. 2a. Edición. México, D.F. 1982.
- 31.- CASILLAS, F.M.A. "IMPACTO DE BRUCellosIS EN LA SALUD PUBLICA". Memorias II Foro Nacional sobre Brucellosis. XV Aniversario del Centro Nacional de Salud Animal (TECAMAC). UNAM. CANIFARMA. SARH. México, D.F. 1988.
- 32.- CIPRIAN, S.A. "REPERCUSION ECONOMICA DE LA BRUCellosIS EN MEXICO". Memorias del Foro Nacional sobre Brucellosis. ENEP, Cuautitlán. UNAM. México, D.F. 1978

- 33.- CISNEROS JM; VICIANA P.; Colmenero J.; Pachon J.; Martinez C.; Alarcon A. "MULTICENTER PROSPECTIVE STUDY OF BRUCELLA MELITENSIS BRUCELLOSIS WITH DOXYCYCLINE FOR 6 WEEKS PLUS STREPTOMYCIN FOR 2 WEEKS". ANTIMICROB. AGENTS CHEMOTHER.; vol. 34, no. 5, pp. 881-883; 1990.
- 34.- COLMENERO Castillo JD; Hernández Márquez S.; Reguera Iglesias JM; Cabrera Franquelo F.; Rius Díaz F.; Alonso A. "COMPARATIVE TRIAL DOXYCYCLINE PLUS STREPTOMYCIN VERSUS DOXYCYCLINE PLUS RIFAMPIN FOR THE THERAPY OF HUMAN BRUCELLOSIS". CHEMOTHERAPY (BASEL); vol. 35, no. 2, pp. 146-152; 1989.
- 35.- COLMENERO TD.; Fernández-Nebro A.; Reguera TM; Villanueva F.; "PSOAS ABSCESS SECONDARY TO BRUCELLOSIS". J. INFECT.; vol. 22, no. 1, pp. 107-108; 1991.
- 36.- CROSBY E.; Llosa L.; Miro Guezada M.; Carrillo P. C.; Gotuzzo E. "HEMATOLOGIC CHANGES IN BRUCELLOSIS". J. INFECT. DIS.; vol. 150, no. 3, pp. 419-424; 1984.
- 37.- CURTIS A. Williams; Merrill W. Chase. "METHODS IN IMMUNOLOGY AND IMMUNOCHEMISTRY". Volume IV Academic Press. New York; 1977.
- 38.- DE KLERK E.; Anderson R. "COMPARATIVE EVALUATION OF THE ENZYME-LINKED IMMUNOSORBENT ASSAY IN THE LABORATORY DIAGNOSIS OF BRUCELLOSIS". J. CLIN. MICROBIOL.; vol. 21, no. 3, pp. 381-386; 1985.
- 39.- DE LA BARRA V.; Tamayo R.; Riefrio P.; Shoebitz R. "FIVE SEROLOGICAL TESTS IN THE DIAGNOSIS OF HUMAN BRUCELLOSIS". REV. MED. CHILE.; vol. 113, no. 6, pp. 513-520; 1985.
- 40.- DE LA CRUZ González, Rubén.; Calderón Jaimes, Ernesto. "PARED CELULAR DE LAS BACTERIAS GRAMNEGATIVAS". INFECTOLOGIA. ORGANO DE LA ASOC. MEX. DE INFECTOLOGIA, A.C. vol. II, no. 11 y 12 nov.-dic. 1982.
- 41.- DIAB SM.; Araj GF; Al-Asfour AJ; Al-YUSUF AR. "BRUCELLOSIS: ATYPICAL PRESENTATION WITH PERITONITIS AND MENINGITIS". TROP. GEOGR. MED.; vol. 41, no. 2, pp. 160-163; 1989.
- 42.- DIAZ R.; Naravi-Poma E.; Fernández JL; Garcia-Merllo S.; Rivero-Puente A. "BRUCELLOSIS: ESTUDIO DE 222 CASOS. PARTE IV: DIAGNOSTICO DE LA BRUCELLOSIS". REV. CLIN. ESP.; vol. 166, no. 3-4, pp. 107-110; 1982.

- 43.- DRANCOURT M.; Brouqui P.; Chiche G.; Rault D. "ACUTE PERICARDITIS IN MEDITERRANEAN SPOTTED FEVER". TRANS. R. SOC. TROP. MED. HYG.; vol. 85, no. 6, p. 797; 1971.
- 44.- DUNLOP JM. "INFECTIOUS DISEASES AND BLOOD DONATION". PUBLIC HEALTH (LONDON); vol. 96, no. 3, pp. 176-177; 1982.
- 45.- DZHASYBAEVA TS; SUKHODOEVA GS; Verzhilova PA; Dranovskaya EA; Kasymova KhA. "USE OF PROTEIN-POLYSACCHARIDE ANTIGEN FOR THE ALLERGO DIAGNOSIS OF BRUCELOSIS". ZH. MIKROBIOL. EPIDEMIOI. IMMUNOBIOI.; no. 5, pp. 83-86; 1985.
- 46.- ESCANDE A.; Serre A. "IgE ANTI-BRUCELLA ANTIBODIES IN THE COURSE OF HUMAN BRUCELOSIS AND AFTER SPECIFIC VACCINATION". INT. ARCH. ALLERGY APPL. IMMUNOL.; vol. 68, no. 2, pp. 172-173; 1982.
- 47.- ESCARZAGA, E. "BRUCELOSIS: ALGUNOS ASPECTOS DE LA INFECCION EN HUMANOS". Hospital General, SSA México, D.F. 1980.
- 48.- ESCARZAGA, E. "BRUCELOSIS: ALGUNOS ASPECTOS DE LA INFECCION EN HUMANOS". MEMORIAS DEL FORO NACIONAL DE BRUCELOSIS. INIP SARH; ENEP/Cuautitlán, UNAM; México, D.F. pp. 47-59 1978.
- 49.- FAO/OMS Comité mixto de expertos en Brucelosis; Quinto informe OMS: serie de informes técnicos No. 464 Ginebra 1970.
- 50.- FLORES, C.R. "CARACTERISTICAS DE LAS BRUCELAS EN MEMORIAS DEL FORO NACIONAL DE BRUCELOSIS". Coordinado por INIP (SARH) y la ENEP Cuautitlán-UNAM; México, D.F. 1978.
- 51.- FOZ A.; Pellicer T.; Comerma J.; Ariza J. "SPECIFICITY OF ELISA ANTI-IMMUNOGLOBULIN G CONJUGATE IN THE DIAGNOSIS OF HUMAN BRUCELOSIS". EUR. J. CLIN. MICROBIOL.; vol. 4, no. 2, pp. 138-139; 1985.
- 52.- GERACI D.; Locorotondo G.; Parlato A.; Cocchiara R.; Caracappa S.; Aiello F.; Guercio V.; Scarlata F.; Cascio G. "IMMUNOCHEMICAL IDENTIFICATION OF ANTIGENS OF BRUCELLA MELITENSIS BY MEANS OF CRIE". MICROBIOLOGICA.; vol. 10, no. 2, pp. 161-169; 1987.

- 53.- GILBERTO, Angel M. "INTERPRETACION CLINICA DEL LABORATORIO". Editorial Médica Panamericana. 3a. Ed. Buenos Aires, 1988.
- 54.- GOLDBAUM FA; Rubbi CP; Wallach JC; Miguel SE; Baldi PC; Fossati CA. "DIFFERENTIATION BETWEEN ACTIVE AND INACTIVE HUMAN BRUCELLOSIS BY MEASURING INTIPKITEIN HUMORAL IMMUNE RESPONSES". J. CLIN. MICROBIOL.; vol. 45, no. 3, pp. 604-607; 1972.
- 55.- GOMEZ-REINO FJ; Mateo I; Fuentes A; Gomez-Reino JJ. "BRUCELLAR ARTHRITIS IN CHILDREN AND ITS SUCCESSFUL TREATMENT WITH TRIMETHOPRIM-SULPHAMETHOXAZOLE (cotrimoxazole). ANN RHEUM. DIS.; vol. 45, no. 3, pp. 256-258; 1986.
- 56.- GOTUZZO, Eduardo; Carrillo Carlos; Guerra, Jorge; Llosa Lucia. "AN EVALUATION OF DIAGNOSTIC METHODS FOR BRUCELLOSIS THE VALUE OF BONE MARROW CULTURE". THE J. OF INFECTIOUS DISEASES.; vol. 153, no. 1, January 1986.
- 57.- GUVENC H.; Kocabay K.; Okten A.; Bektas S. "BRUCELLOSIS IN A CHILD COMPLICATED WITH MULTIPLE BRAIN ABSCESSSES". SCAND. J. INFECT. DIS.; vol. 21, no. 3, pp. 333-336; 1989.
- 58.- HALL WH. "MODERN CHEMOTHERAPY FOR BRUCELLOSIS IN HUMANS". REV. INFECT. DIS.; vol. 12, no. 6, pp. 1060-1099; 1990.
- 59.- HAVALDAR PV; Vijay Kumar SY. "BRUCELLOSIS IN CHILDREN". INDIAN PEDIATR.; vol. 24, no. 11, pp. 995-1006; 1987.
- 60.- HEIZMANN W.; Botzenhart K.; Doeller G.; Schanz D.; Hermann G.; Fleischmann K. "BRUCELLOSIS; SEROLOGICAL METHODS COMPARED". J. HYG.; vol. 95, no. 3, pp. 639-653; 1985.
- 61.- HEWITT WG.; Payne DJH. "ESTIMATION OF IgG AND IgM BRUCELLA ANTIBODIES IN INFECTED AND NON-INFECTED PERSONS BY A RADIOIMMUNE TECHNIQUE". J. CLIN. PATHOL.; no. 37, pp. 692-696; 1984.
- 62.- HINCHLIFFE P. "BRUCELLOSIS". ELISA IN THE CLINICAL MICROBIOLOGY LABORATORY.; pp. 154-163; 1990.
- 63.- HOSSAIN A.; Bakir TF; Chowdhury MMH; Kurstake E. "SEROEPIDEMIOLOGY OF ENTERIC FEVER AND BRUCELLOSIS IN A DEVELOPING COUNTRY". J. HYG., EPIDEMIOL., MICROBIOL. IMMUNOL.; vol. 35, pp. 325-336; 1991.

- 64.- HUNTER SB; Bibb WF; Shih CN; Kaufman AF; Mitchell JR; Mc Kinney RN. "ENZIME-LINKED IMMUNOSORBENT ASSAY WITH MAJOR OUTER MEMBRANE PROTEINS OF BRUCELLA MALINTENSIS TO MEASURE IMMUNE RESPONSE TO BRUCELLA SPECIES". J. CLIN. MICROBIOL.; vol. 24, no. 4, pp. 566-572; 1986.
- 65.- IBRAHIM AIO; Awad R.; Shetty SD; Saad M.; Bilal HE. "GENITO-URINARY COMPLICATIONS OF BRUCELLOSIS". BR. J. UROL.; vol. 61, no. 4, pp. 294-298; 1988.
- 66.- IOVINE Enrique; Atilio Selva, Alejandro; Iovine Julio. "EL LABORATORIO EN EL DIAGNOSTICO DE LA ENFERMEDAD". Editorial Médica Panamericana, S.A. Buenos Aires; 1985.
- 67.- JAMIESON J.; Rich GE; Kyrkou MR; Cargill CF; Davos DE "OUTBREAK OF BRUCELLOSIS AT A SOUTH-AUSTRALIAN ABATTOIR. 1. CLINICAL AND SEROLOGICAL FINDINGS". MED. J. AUST.; vol. 2, no. 11, pp. 593-596; 1981.
- 68.- JENSEN, R. y Brinton, L.S. "DISEASES OF SHEEP". 2a. Edición. Ed. Lea & Febiger Philadelphia, USA. 1982.
- 69.- KIEL FW; Khan MY. "ANALYSIS OF 506 CONSECUTIVE POSITIVE SEROLOGIC TESTS FOR BRUCELLOSIS IN SAUDI ARABIA". J. CLIN. MICROBIOL.; vol. 25, no. 8, pp. 1384-1387; 1987.
- 70.- KLEIN, Jan. "IMMUNOLOGY. THE SCIENCE OF SELF-NONSELF DISCRIMINATION". John Wiley & Sons. New York; 1982.
- 71.- KOKKINI G.; Giotaki HG; Moutsopoulos HM. "TRANSIENT HEMOPHAGOCYTOSIS IN BRUCELLA MELITENSIS INFECTION". ARCH PATHOL. LAB. MED.; vol. 108, no. 3, pp. 213-216; 1984.
- 72.- KOLMER, John A. "DIAGNOSTICO CLINICO POR LOS ANALISIS DE LABORATORIO". Editorial Interamericana. 3a. Edición México, D.F. 1963.
- 73.- KORMAN S.; Sruog I.; Tal. Y.; Jaffe M.; Cahane Z.; Wellish G. "SUBACUTE MENINGITIS CAUSED BY BRUCELLA: A DIAGNOSTIC CHALLENGE". EUR. J. PEDIATR.; vol. 148, no. 2, pp. 120-121; 1988.
- 74.- LANG R.; Dagan R.; Potasman I.; Einhorn M.; Raz R. "FAILURE OF CEFTRIAXONE IN THE TREATMENT OF ACUTE BRUCELLOSIS". CLIN. INFECT. DIS.; vol. 14, no. 2, pp. 506-509; 1992.

- 75.- LANG R.; Raz R.; Sacks T.; Shapiro M. "FAILURE OF PROLONGED TREATMENT WITH CIPROFLOXACIN IN ACUTE INFECTIONS DUE TO BRUCELLA MELITENSIS". J. ANTIMICROB. CHEMOTHER.; vol. 26, no. 6, pp. 841-846; 1990.
- 76.- LAZAREV VM; Ionidi YA; Giniyatulina IK; Orekhov VF; Zheludkov YA. "BRUCELLOSIS MORBIDITY IN VOLGOGRAD OBLAST". ZDRAVOCOKHR. TURKM.; no. 9, pp. 26-27; 1989.
- 77.- LENNETTE, Edwin H.; Balows, Albert; Hausler William J.; Shadomy, Jean H. "MANUAL DE MICROBIOLOGIA CLINICA". Editorial Médica Panamericana. 4a. Edición, Buenos Aires 1987.
- 78.- LIMET J.; Plommet A-M; Dubray G.; Flommet M. "IMMUNITY CONFERRED UPON MICE. ANTI-LPS MONOCLONAL ANTIBODIES IN MURINE BRUCELLOSIS". ANN. INST. PASTEUR IMMUNOL.; vol. 138, no. 3, pp. 417-424; 1987.
- 79.- LOPEZ Merino, Abide. "BRUCELOSIS. AVANCES Y PERSPECTIVAS". Secretaría de Salud. Instituto Nacional de Diagnóstico y Referencia Epidemiológicos. México, D.F. 1991.
- 80.- LOPEZ Santiago, Rubén; Lara Sánchez Jaqueline. "ASPECTOS DE LA RELACION HUESPED-PARASITO EN BRUCELOSIS". INFECTOLOGIA. no. 6, Num. 11, pp. 499-507; Noviembre, 1986.
- 81.- LUBANI MM; Dudin KI; Araj GF; Manandhar DS; Rashid FY. "NEUROBRUCELLOSIS IN CHILDREN". PEDIATR. INFECT. DIS. J.; vol. 8, no. 2, pp. 79-82; 1989.
- 82.- LUBANI MM; Dudin KI; Sharda DC; Ndhar DSM; Araj GF; Hafez HA; Al-Saleh QA; Helin I.; Salhi MM. "MULTICENTER THERAPEUTIC STUDY OF 1100 CHILDREN WITH BRUCELLOSIS". PEDIATR. INFECT. DIS. J.; vol. 8, no. 2, pp. 75-78; 1989.
- 83.- LUBANI M.; Sharda D.; Helin I. "BRUCELLA ARTHRITIS IN CHILDREN". INFECTION.; vol. 14, no. 5, pp. 233-236; 1986.
- 84.- LUBANI M.; Sharda D.; Helin I. "CARDIAC MANIFESTATIONS IN BRUCELLOSIS". ARCH. DIS. CHILD.; vol. 61, no. 6, pp. 569-572; 1986.

- 85.- LUBANI M.; Sharda D.; Helin I. "PROBABLE TRANSMISSION OF BRUCELLOSIS FROM BREAST MILK TO A NEWBORN". TROP. GEOR. MED.; vol. 40, no. 2, pp. 151-152; 1988.
- 86.- LYNCH MJ; Raphael 'ss; Mellor LD; Spare FD; Inwood MJH. "METODOS DE LABORATORIO". Nueva Editorial Interamericana, S.A. de C.V. 2a. Edición; México, D.F. 1977.
- 87.- MANCERA, M.A. et. al. "MANUAL DE LABORATORIO. CURSO DE ACTUALIZACION DE INMUNOLOGIA VETERINARIA". INIP-SARH, México, D.F. 1979.
- 88.- "MANUAL DE PROCEDIMIENTOS DE LABORATORIO PARA BRUCELLOSIS". Secretaría de Salud. Dirección General de Epidemiología.
- 89.- MARAVI-POMA E.; Murie M.; Diaz R.; Rivero-Fuente A. "BRUCELLOSIS: A STUDY OF 222 CASES. PART. 3: CHRONIC BRUCELLOSIS. PROSPECTIVE CLINICAL STUDY OF 36 CASES". REV. CLIN. ESP.; vol. 166, no. 3-4, pp. 101-105; 1982.
- 90.- MAYR A. "PROPHYLACTIC VACCINATION OF ANIMALS AND HUMAN HEALTH". ZENTRALBL. BAKTERIOL. MIKROBIOL. HYG., ABT. B.; vol. 180, no. 2-3, pp. 175-189; 1985.
- 91.- MOHD MG. "BRUCELLOSIS IN THE GEZIRA AREA, CENTRAL SUDAN" J. TROP. MED. HYG.; vol. 92, no. 2, pp. 86-88; 1989.
- 92.- MORILLA, Antonio. "MANUAL DE INMUNOLOGIA". Editorial Diana.
- 93.- MOUSA ARM; Muhtaseb SA; Almudallal DS; Khodeir SM; Marafie AA OSTEOARTICULAR COMPLICATIONS OF BRUCELLOSIS: A STUDY OF 169 CASES". REV. INFECT. DIS.; vol. 9, no. 3, pp. 531-543; 1987.
- 94.- MOUSA AM; Muhtaseb SA; Al-Mudallal DS; Marafie AA; Habib FM. "BRUCELLAR STERNOCLAVICULAR ARTHRITIS, THE FORGOTTEN COMPLICATION". ANN. TROP. MED. PARASITOL.; vol. 82, no. 3, pp. 275-281; 1988.
- 95.- MOUSA ARM; Al-Mudallal DS; Marafie AA. "BRUCELLA THYROIDITIS" J. INFECT.; vol. 19, no. 3, pp. 287-297; 1989.
- 96.- MUKOVOZOVA LA. "EFFECTIVENESS OF LEVAMISOLE IN COMBINED TREATMENT OF PATIENTS WITH ACTIVE FORM OF BRUCELLOSIS". KLIN. MED.; vol. 64, no. 3, pp. 47-50; 1986.

- 97.- MURDOZ, Onofre. "MANUAL DE INFECTOLOGIA. BRUCELOSIS".
- 98.- NASSAL VJ; Rembalski C. "HYGIENIC REQUIREMENTS FOR THE PRODUCTION OF MARE'S MILK AND KOUMISS". ARCH LEBENSMITTEL HYG.; vol. 31, no. 6, pp. 209-212; 1980.
- 99.- NATALIO, R. de B.J. et. al. "PRUEBAS DE DIAGNOSTICO PARA BRUCELOSIS". S.A.R.H. Torreón, Coahuila, México.
- 100.- NAVARRO JM; Mendoza J.; Leiva J.; Rodriguez Contreras R.; De la Rosa M. "INFECTOLOGIA". Año. 11 No. 5, pp. 231-233; Mayo, 1991.
- 101.- OLLE-GOIG JE; Canela-Soler J. AN OUTBREAK OF BRUCELLA MELITENSIS INFECTION BY AIRBORNE TRANSMISSION AMONG LABORATORY WORKERS". AM. J. PUBLIC HEALTH.; vol. 77, no. 3, pp. 335-338; 1987.
- 102.- OTERO JR; Fuertes A; Palenque E; Noriega AR. "MICROTITER-ADAPTED METHOD THAT FACILITATES THE COOMBS TEST FOR BRUCELOSIS". J. CLIN. MICROBIOL.; vol. 16, no. 4, pp. 737-738; 1982.
- 103.- PADILLA, N.J. "ENCUESTAS SEROLOGICAS PARA DETERMINAR LA INCIDENCIA DE BRUCELOSIS EN EL GANADO BOVINO Y CAPRINO EN LA REGION DE IRAFUATO GUANAJUATO". Tesis UNAM México D.F. 1966.
- 104.- PAL M.; JAIN HS. "ANTHROPOZOONOTIC ROLE OF BRUCELLA ABORTUS". INT. J. ZOONOSES.; vol. 13, no. 4, pp. 246-248; 1986.
- 105.- PATEL PJ; Kolawole TM; Sharma N; Al-Faqih S. "SONOGRAPHIC FINDINGS IN SCROTAL BRUCELOSIS". J. CLIN. ULTRASOUND.; vol. 16, no. 7, pp. 483-486; 1988.
- 106.- PELLICER T.; Ariza J.; Foz A.; Pallares R.; Gudiol F. "SPECIFIC ANTIBODIES DETECTED DURING RELAPSE OF HUMAN BRUCELOSIS". J. INFECT. DIS.; vol. 157, no. 5, pp. 918-924; 1988.
- 107.- PEREZ, N.M.E. "ESTUDIO COMPARATIVO DE LA BRUCELOSIS CAPRINA Y BRUCELOSIS HUMANA EN SU FRECUENCIA Y DISTRIBUCION EN LA REPUBLICA MEXICANA 1974-1979" TESIS UNAM. México, D.F. 1983.

- 108.- PETRELLA R.; Young EJ. "ACUTE BRUCELLA ILEITIS". AM. J. GASTROENTEROL.; vol. 83, no. 1, pp. 80-82; 1988.
- 109.- PIFFARETTI JC; Staedler F; Beretta-Piccoli CF. "RISK OF INFECTION BY BRUCELLA MELITENSIS FOR PEOPLE LIVING NEAR INFECTED GOATS". J. INFECT. DIS.; vol. 15, no. 2, pp. 177-181; 1987.
- 110.- PIJUAN C.; Montaraz, Juan Antonio. "INMUNIDAD CONTRA BRUCELLA" ENEP Cuautitlán, UNAM. México, D.F. 1980.
- 111.- PLOMMET M. "BRUCELLA AND BRUCELLOSIS: AN UPDATE". ANN INST. PASTEUR MICROBIOL.; vol. 138, no. 1, pp. 69-144; 1987.
- 112.- PONCE Linares, Julio A.; Batalla Campero, Diodoro. "ELABORACION DE PRODUCTOS BIOLOGICOS EMPLEADOS EN EL DIAGNOSTICO Y PREVENCION DE LA BRUCELOSIS".
- 113.- PROGRAMA DE ACREDITACION DE MEDICOS VETERINARIOS ZOOTECNISTAS. MATERIAL PARA ACTUALIZACION TECNICA EN BRUCELOSIS Y TUBERCULOSIS BOVINA. CNMVZM. SARH. México, D.F. 1990.
- 114.- RANA UVS; Sehgal S; Bhardwaj M. "A SERO-EPIDEMIOLOGICAL STUDY OF BRUCELLOSIS AMONG WORKERS OF VETERINARY HOSPITALS AND SLAUGHTER HOUSE OF UNION TERRITORY OF DELHI". INT. J. ZOOSES.; vol. 12, no. 1, pp. 74-79; 1985.
- 115.- REISMAN EM; Colquitt LA IV; Childers J. Preminger GM. "BRUCELLA ORCHITIS: A RARE CAUSE OF TESTICULAR ENLARGEMENT". J. UROL.; vol. 143, no. 4, pp. 821-822; 1990.
- 116.- REMENTSOVA MM; Shlekanova RZ; Kurmanova KB; Sakhisheva SSH; Varlamov NN. "DIAGNOSIS OF BRUCELLOSIS AND EVALUATION OF LABORATORY DATA". ZDRAVDOKHR. KAZ.; no. 11 pp. 35-38; 1983.
- 117.- RIVERA JM; Garcia-Bragado F; Gomez FA; Grilo A; Lozano Gutierrez F. "BRUCELLAR PERICARDITIS". INFECTION.; vol. 16, no. 4, p. 254; 1988.
- 118.- RODRIGUEZ AN; Pachon Diaz J; Santiago RT; Contreras JAC; "INDIRECT IMMUNOFLUORESCENCE AND ROSE BENGAL TEST FOR THE DIAGNOSIS OF BRUCELLOSIS". REV. CLIN. ESP.; vol. 173, no. 1, pp. 27-32; 1984.

- 119.- RODRIGUEZ, H.G.A. "EPIZOOTIOLOGIA DE LA BRUCELOSIS". Foro Nacional Sobre Brucelosis". INIP-ENEP Cuautitlán UNAM México 1978.
- 120.- RUBEN B; Pand JD; Wong F; Colville J. "PERSON-TO-PERSON TRANSMISSION OF BRUCELLA MELITENSIS". LANCET.; vol. 337, no. 8732, pp. 14-15; 1991.
- 121.- RUIZ Castañeda M. BRUCELOSIS. UN PROBLEMA UNIVERSAL. La Prensa Médica Mexicana, S.A. 3a. Edición. México, D.F. 1986.
- 122.- SAIZ, M.L. "LAS ZONOSIS" Ed. Aedos. Barcelona España 1976.
- 123.- SANCHEZ-SOUSA A; Torres C; Campello MG; Garcia C; Parras F; Cercenado E; Baquero F. "SEROLOGICAL DIAGNOSIS OF NEUROBRUCELOSIS". J. CLIN. PATHOL.; vol. 43, no. 1, pp. 79-81; 1990.
- 124.- SEOUH M; Saade G; Awar B; Uwaydah M. "BRUCELOSIS IN PREGNANCY". J. REPROD. MED.; vol. 36, no. 6, pp. 441-445; 1991.
- 125.- SERRE A; Bascoul S; Vendrell JP; Cannal A. "HUMAN IMMUNE RESPONSE TO BRUCELLA INFECTION". ANN. INST. PASTEUR MICROBIOL.; vol. 138, no. 1, pp. 113-117; 1987.
- 126.- SHARIF A; Reyes Z; Thomassen F. "SCREENING FOR BRUCELOSIS IN PREGNANT WOMEN". J. TROP. MED. HYG.; vol. 93, no. 1, pp. 42-43; 1990.
- 127.- SHEHABI A; Shakir K; El-Khateeb M; Qubain H; Farajeh N; Shamit ORA. "DIAGNOSIS AND TREATMENT OF 106 CASES OF HUMAN BRUCELOSIS". J. INFECT.; vol. 20, no. 1, pp. 5-10; 1990.
- 128.- SHIN NG; Rementsova MM; Studentsova VK; Tsirelson LE; Tsai VP; Shuratov IKh. "IMMUNOLOGICAL CHARACTERISTICS OF BRUCELLA CELL COMPONENTS". Zh. MIKROBIOL. EPIDEMIOL. IMMUNOL.; no. 10, pp. 92-96; 1984.
- 129.- SIFFEL JE; El-Masry NA; Farid Z. "DIAGNOSIS OF HUMAN BRUCELOSIS WITH ELISA". LANCET.; vol. 2, no. 8288, pp. 19-24; 1982.
- 130.- SÖNNENWIRTH, Alex C.; Leonard Jarrett. "METODOS Y DIAGNOSTICOS DEL LABORATORIO CLINICO". Gradwohl. Volumen 1 y 2 Editorial Médica Panamericana, 8a. Edición. Buenos Aires, 1983.

- 131.- STASZKIEWICZ J; Lewis CH; Colville J; Zervos H; Rand J. "OUTBREAK OF BRUCELLA MELITENSIS AMONG MICROBIOLOGY LABORATORY WORKERS IN A COMMUNITY HOSPITAL". J. CLIN. MICROBIOL.; vol. 29, no. 2, pp. 287-290; 1991.
- 132.- STAVE Serrano, Hector.; Mejia, Francisco. "PROTEINA C REACTIVA Y LAS ENFERMEDADES INFECCIOSAS". INFECTOLOGIA. no. 4, pp. 177-183; 1983.
- 133.- TABBARA KF; Al-Kassimi H. "OCULAR BRUCELLOSIS". BR. J. OPHTHALMOL.; vol. 74, no. 4, pp. 249-250; 1990.
- 134.- TASEI J-P; Ranque P; Balique H; Traore AN; Guilici H. "HUMAN BRUCELLOSIS IN THE REPUBLIC OF MALI. RESULTS OF SEROEPIDEMIOLOGICAL STUDIES". ACTA TROP.; vol. 39, no. 3, pp. 253-264; 1982.
- 135.- TAYLOR JF; Perdue JN. "THE CHANGING EPIDEMIOLOGY OF HUMAN BRUCELLOSIS IN TEXAS, 1977-1986". AM. J. EPIDEMIOL.; vol. 130, no. 1, pp. 160-165; 1989.
- 136.- VON Gerzanits P. "HUMAN BRUCELLOSIS IN THE REGION OF MAGALLANES (CHILE)". REV. MED. CHILE.; vol. 114, no. 1, pp. 23-28; 1986.
- 137.- WRIGHT PW. "BRUCELLOSIS". AM. FAM. PHYSICIAN.; vol. 35, no. 5, pp. 155-160; 1987.
- 138.- YOUNG Edward J.; Michael J. Corbel. "BRUCELLOSIS". CLINICAL AND LABORATORY ASPECTS. CRC Press, Inc. Boca Raton, Florida; 1989.
- 139.- YOUNG EJ. "SEROLOGIC DIAGNOSIS OF HUMAN BRUCELLOSIS: ANALYSIS OF 214 CASES BY AGGLUTINATION TESTS AND REVIEW OF THE LITERATURE". REV. INFECT. DIS.; vol. 13, no. 3, pp. 359-372; 1991.
- 140.- ZHELUDKOV MM. "IMPORTANCE OF CROSS REACTIONS FOR THE EVALUATION OF SEROLOGICAL DIAGNOSIS OF BRUCELLOSIS IN HUMANS. COMMUNICATION II. EXAMINATION OF BRUCELLOSIS PATIENTS BY MEANS OF THE PASSIVE HEMAGGLUTINATION TEST WITH THE USE OF HOMOLOGOUS AND HETEROLOGOUS ERYTHROCYTE DIAGNOSTIC REAGENTS". ZH. MIKROBIOL. EPIDEMIOL. IMMUNOBIOLOG.; no. 7, pp. 57-61; 1982.