

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
ANTONIO NARRO**

UNIDAD LAGUNA

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL



**ASPECTOS CLÍNICOS DE SALUD PÚBLICA POR
BRUCELLA, MELITENSIS.**

POR

JULIO JAVIER LÓPEZ HERNÁNDEZ

MONOGRAFÍA

**PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER
EL TÍTULO DE:**

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

TORREÓN, COAHUILA

FEBRERO 2010

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
ANTONIO NARRO
UNIDAD LAGUNA**

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL



**ASPECTOS CLÍNICOS DE SALUD PÚBLICA POR
BRUCELLA, MELITENSIS.**

POR

JULIO JAVIER LÓPEZ HERNÁNDEZ

MONOGRAFÍA

**PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER
EL TÍTULO DE:**

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

ASESORES:

**MVZ. FRANCISCO J CARRILLO MORALES
MVZ RODRIGO ISIDRO SIMON ALONSO**

TORREÓN, COAHUILA.

FEBRERO 2010

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
ANTONIO NARRO**

UNIDAD LAGUNA

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL



**ASPECTOS CLÍNICOS DE SALUD PÚBLICA POR
BRUCELLA, MELITENSIS.**

POR

JULIO JAVIER LÓPEZ HERNÁNDEZ

MONOGRAFÍA

Aprobada por el

PRESIDENTE DEL JURADO

MVZ. FRANCISCO JAVIER CARRILLO MORALES

**COORDINADOR DE LA DIVISIÓN REGIONAL
DE CIENCIA ANIMAL**

MVZ. MC. José Luis Fco. Sandoval Elías

TORREÓN, COAHUILA

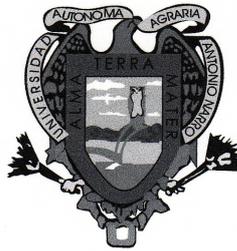
FEBRERO 2010



**COORDINACIÓN DE LA DIVISIÓN
REGIONAL
DE CIENCIA ANIMAL**

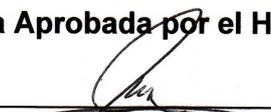
**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
ANTONIO NARRO
UNIDAD LAGUNA**

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL

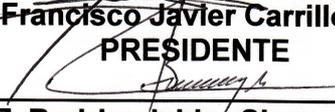


**ASPECTOS CLÍNICOS DE SALUD PÚBLICA POR
BRUCELLA, MELITENSIS.**

Monografía Aprobada por el H jurado examinador



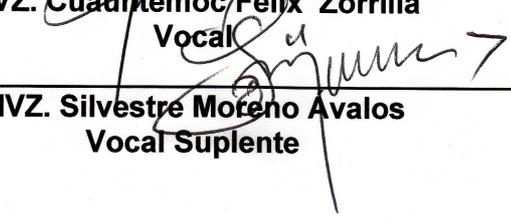
**MVZ. Francisco Javier Carrillo Morales
PRESIDENTE**



**MVZ. Rodrigo Isidro Simon Alonso
VOCAL**



**MVZ. Cuauhtémoc Félix Zorrilla
Vocal**



**MVZ. Silvestre Moreno Avalos
Vocal Suplente**

TORREÓN, COAHUILA

FEBRERO 2010

Índice

Agradecimiento.....	I
Dedicatorias.....	II
Resumen.....	1
Título: Aspectos clínicos de salud pública por Brucella melitensis.....	2
Introducción.....	2
Antecedentes.....	4
Etiología.....	5
Especie: Brucella melitensis biovariedades.....	8
Estructura y composición química.....	9
El espacio periplasmico.....	9
La membrana externa.....	9
Proteínas de membrana externa.....	13
Características genéticas.....	14
Características fisiológicas.....	15
Identificación.....	16
Morfología microscópica.....	16
Morfología colonial.....	16
Pruebas bioquímicas.....	17
Aglutinación con sueros monoespecificos.....	18
Epidemiología.....	18
Resistencia y supervivencia.....	21
Panorama mundial.....	23
Aspectos de la enfermedad.....	27
Complicaciones.....	28
Patogenia.....	29
Genética de brucella.....	31
Diagnostico de laboratorio.....	36
Conclusiones.....	39
Referencias.....	41

Índice de figuras

Figura: 1.....	11
Figura: 2.....	12

Índice de tablas

Tabla: 1.....	22
Tabla: 2.....	33
Tabla: 3.....	34

Índice de cuadro

Cuadro: 1.....	35
-----------------------	-----------

AGREDECIMIENTOS:

A MIS PADRES, A MI HERMANO, Y HERMANA. POR CREER Y CONFIAR SIEMPRE EN MI, APOYANDOME EN TODAS LAS DECISIONES QUE HE TOMADO EN LA VIDA

A MI ESPOSA DANA POR DARME SU AMOR Y SU APOYO, Y A MI HIJA EMILY POR SU COMPRENCION DURANTE ESTA ELABORACION QUE LE DEDIQUE A ESTE TRABAJO DE INVESTIGACION.

A MI ALMA TERRA MATER:
POR DARME LA OPORTUNIDAD DE APRENDER Y FORJARME COMO PROFECIONISTA. QUE GRACIAS A ELLA PUDE CULMINAR MIS ESTUDIOS.

A MIS ASESORES:
MVZ. FRANCISCO JAVIER CARRILLO MORALES. MVZ. RODRIGO ISIDRO SIMON ALONSO. MVZ. CUAUHEMOC FELIX ZORRILLA. MVZ. SILVESTRE MORENO AVALOS. POR A VERME BRINDADO UN POCO DE SU TIEMPO PARA LLEVAR A CABO ESTA MONOGRAFIA POR APOYARME Y SER MIS AMIGOS.

A MIS AMIGOS:
MANUEL TAMALATZI, MARCO ANTONIO, ALEJANDRO VALDEZ, JONATHAN ALI, ESTEBAN OVIEDO, PEDRO CORONA Y SERGIO. POR COMPARTIR CONMIGO DE ESTOS 5 AÑOS QUE TAN IMPORTANTES PARA MÍ FUERON.

TORREÓN, COAHUILA

FEBRERO 2010

DEDICATORIAS

A MIS PADRES:

JULIO GERARDO LOPEZ BARBOSA Y EMILIA HERNANDEZ DE LOPEZ, POR ENSEÑARME A LUCHAR HACIA DELANTE, POR SU GRAN CORAZON Y CAPACIDAD DE ENTREGA, POR SOBRE TODO POR ENSEÑARME A SER RESPONSABLE, GRACIAS A USTEDES HE LLEGADO A ESTA META.

A MIS HERMANOS:

POR ESTAR SIEMPRE A MI LADO Y SER MIS BRAZOS FUERTES EN TODAS CIRCUNSTANCIAS Y NUNCA DEJARME SOLO CUANDO MÁS LOS HE NECESITADO. GRACIAS HERMANOS.

A MIS SOBRINOS:

POR LLENARME DE FELICIDAD CON SU LLEGADA Y SER PARTE DE ESTA FAMILIA.

A DIOS:

POR HABERME DADO LA VIDA, Y POR HABERME BRINDADO TODAS ESTAS OPORTUNIDADES DE APRENDIZAJE. POR DARME UNA FAMILIA. Y POR TODO LO QUE TENGO.

A MIS AMIGOS:

POR DARME SIEMPRE SU APOYO Y CONFIANZA, Y POR AYUDARME A TOMAR DECISIONES MUY FUERTES EN MI VIDA.

A MI ESPOSA:

PARA MI MUJER DANA ESTHER, A ELLA ESPECIALMENTE LE DEDICO ESTE TRABAJO. POR SU PACIENCIA, POR SU COMPRESIÓN, POR SU EMPEÑO, POR SU FUERZA, POR SU AMOR, POR SER TAL Y COMO ES, PORQUE LA QUIERO. ES LA PERSONA QUE MÁS DIRECTAMENTE HA SUFRIDO LAS CONSECUENCIAS DEL TRABAJO REALIZADO. REALMENTE ELLA ME LLENA POR DENTRO PARA CONSEGUIR UN EQUILIBRIO QUE ME PERMITA DAR EL MÁXIMO DE MÍ. NUNCA LE PODRÉ ESTAR SUFICIENTEMENTE AGRADECIDO.

MVZ. JULIO JAVIER LOPEZ HERNANDEZ

TORREÓN, COAHUILA

FEBRERO 2010

Resumen.

Aspectos clínicos de salud pública por *Brucella*, melitensis.

La infección por *Brucella*, sigue constituyendo un riesgo para la salud humana a nivel mundial pese a los avances en la erradicación de la enfermedad de los animales domésticos. La brucelosis ha sido una enfermedad emergente desde el descubrimiento de la *Brucella melitensis* por Sir David Bruce en 1887. Aunque muchos países han erradicado la *B. abortus* en el ganado, en algunas zonas *B. melitensis* y *B. suis* han surgido como causas de esta infección en el ganado, dando lugar a infecciones humanas. *B. melitensis* en la actualidad sigue siendo la principal causa de brucelosis humana en todo el mundo.

En México la crianza caprina es considerada como una actividad ganadera sustentable teniendo una gran repercusión económica y social en la población rural que es sustentada por esta explotación y que se ha calculado en alrededor de más de 200,000 familias que de alguna forma explotan esta especie.

Si bien se cuenta con muchos métodos de diagnóstico y vacunas para la prevención y control, es el tipo de explotación y la diversidad de hospedadores lo que hace que sea una de las principales zoonosis, ya que como se sabe es la escasez de pastos lo que obliga a los ganaderos recurrir al pastoreo de campo, haciendo difícil el monitoreo y vigilancia de los caprinos a la vez que es una gran manera de difusión de la enfermedad.

La vigilancia serológica de rutina no se practica incluso en *Brucella* - los países endémicos y se sugiere que esto debería ser una parte de las pruebas de laboratorio junto con un alto índice de sospecha clínica para mejorar el nivel de detección de casos. El control de los miembros de la familia de los casos índice de brucelosis aguda en una zona endémica debe llevarse a cabo para recoger a otros casos no reconocidos. Rápida y fiable, sensible y específico, fácil de realizar y de los sistemas de detección automática de *Brucella* spp. Se necesitan con urgencia para permitir un diagnóstico precoz y un tratamiento antibiótico adecuado en el tiempo para disminuir la morbilidad y mortalidad.

Por otra parte, la brucelosis al no presentar un cuadro clínico característico que permita una detección precoz del infectado permite la infección se vuelva crónica, complicando las alternativas terapéuticas y la curación definitiva.

En el presente trabajo se da a conocer los principales aspectos de la infección con el género *Brucella*, específicamente la que tiene por hospedero al ganado caprino, así como las implicancias en la salud pública para nuestro mayor conocimiento Acha, P et al., 1986. Mantur B G and Amarnath S K 2008.

Keywords. *Brucella melitensis*, Epidemiología, Manifestaciones Clínicas, Salud pública,

Aspectos clínicos de salud pública por *Brucella, melitensis*.

Introducción.

La brucelosis es una enfermedad antroponóptica de distribución mundial, conocida desde hace muchos años, sin embargo, continúa siendo un problema sanitario y económico que no se ha podido erradicar.

La infección por *Brucella*, sigue constituyendo un riesgo para la salud humana a nivel mundial pese a los avances en la erradicación de la enfermedad de los animales domésticos. La brucelosis ha sido una enfermedad emergente desde el descubrimiento de la *Brucella melitensis* por Sir David Bruce en 1887. Aunque muchos países han erradicado la *B. abortus* en el ganado, en algunas zonas *B. melitensis* y *B. suis* han surgido como causas de esta infección en el ganado, dando lugar a infecciones humanas. *B. melitensis* en la actualidad sigue siendo la principal causa de brucelosis humana en todo el mundo. *Acha, P et al., 1986. Mantur B G and Amarnath S K 2008.*

En México la crianza caprina es considerada como una actividad ganadera sustentable teniendo una gran repercusión económica y social en la población rural que es sustentada por esta explotación y que se ha calculado en alrededor de mas de 200,000 familias que de alguna forma explotan esta especie.

Si bien se cuenta con muchos métodos de diagnóstico y vacunas para la prevención y control, es el tipo de explotación y la diversidad de hospedadores lo que hace que sea una de las principales zoonosis, ya que como se sabe es la escasez de pastos lo que obliga a los ganaderos recurrir al pastoreo de campo, haciendo difícil el monitoreo y vigilancia de los caprinos a la vez que es una gran manera de difusión de la enfermedad.

El aislamiento reciente de cepas distintas de *Brucella* de mamíferos marinos, así como los seres humanos es un indicador de una enfermedad zoonótica emergente. Brucelosis endémica y en las regiones no endémicas sigue siendo un rompecabezas de diagnóstico debido a que no engañosa sobre aspectos específicos y el aumento de las presentaciones inusuales. Menos del 10% de los casos humanos de la brucelosis puede ser clínicamente reconocido y tratado o comunicado. La vigilancia serológica de rutina no se practica incluso en *Brucella* - los países endémicos y se sugiere que esto debería ser una parte de las pruebas de laboratorio junto con un alto índice de sospecha clínica para mejorar el nivel de detección de casos. El control de los miembros de la familia de los casos índice de brucelosis aguda en una zona endémica debe llevarse a cabo para recoger a otros casos no reconocidos. Rápida y fiable, sensible y específico, fácil de realizar y de los sistemas de detección automática de *Brucella* spp. Se necesitan con urgencia para permitir un diagnóstico precoz y un tratamiento antibiótico adecuado en el tiempo para disminuir la morbilidad y mortalidad.

Si bien se cuenta con muchos métodos de diagnóstico y vacunas para la prevención y control es el tipo de explotación y la diversidad de hospedadores lo que hace que sea una de las principales zoonosis en el Perú ya que como se sabe es la escasez de pastos lo que obliga a los ganaderos recurrir en la trashumancia haciendo difícil el monitoreo y vigilancia de los caprinos a la vez que es una gran manera de difusión de la enfermedad.

Por otra parte, la brucelosis al no presentar un cuadro clínico característico que permita una detección precoz del infectado permite la infección se vuelva crónica, complicando las alternativas terapéuticas y la curación definitiva.

En el presente trabajo se da a conocer los principales aspectos de la infección con el género *Brucella*, específicamente la que tiene por hospedero al ganado caprino, así como las implicancias en la salud pública para nuestro mayor conocimiento.

Antecedentes

La Brucelosis es una zoonosis producida por una bacteria gram negativa, intracelular facultativa del género *Brucella melitensis*, que presenta una elevada tendencia a producir infecciones crónicas tanto en el hombre como en los animales. Actualmente, está considerada por la Organización Mundial de la Salud (OMS) como la principal zoonosis a nivel mundial presentando alrededor de medio millón de casos de brucelosis humana en el mundo siendo una de las primeras causas de enfermedad en el hombre y en los animales domésticos. (Mantur et al 1996; Tikare et al 2008).

La brucelosis así denominada en honor de su descubridor **David Bruce**. Éste descubrió el origen bacteriano de la fiebre de Malta (posteriormente denominada fiebre Mediterránea o fiebre ondulante) en 1887 al estudiar el bazo de soldados británicos muertos como consecuencia de la enfermedad adquirida durante su estancia en la Isla de Malta. Los estudios microscópicos de los cortes de bazo de estos pacientes mostraron unas bacterias de pequeño tamaño que se teñían con azul de metileno y con el método de coloración de Gram aparecían como Gram-negativas. Además, consiguió su aislamiento después de inocular muestras de bazo procedente de estos pacientes en un agar enriquecido. Al cabo de 68 horas de incubación a 37° C aparecieron unas colonias pequeñas y redondeadas formadas por bacterias que morfológicas y tintorialmente eran idénticas a las observadas previamente en los cortes de bazo de los pacientes fallecidos por fiebre de Malta. La inoculación de las bacterias a un mono le produjo la muerte, aislándose la misma bacteria en el hígado y en el bazo del animal. Esta bacteria fue inicialmente denominada *Micrococcus melitensis*. (Naparstek et al, 1982; Lubani et al 1988; Mantur et al 1996; Tikare et al 2008).

Por otra parte, aunque el aborto epidémico del ganado vacuno era conocido con anterioridad en el estado de Louisiana en Estados Unidos, la bacteria causante, *Brucella abortus*, no fue aislada hasta 1895 cuando el

veterinario Bernhard Bang en Copenhague la obtuvo a partir de productos de abortos de ganado vacuno.

Fue Alice Evans en 1918 quien estableció la relación de *Brucella abortus* con *Brucella melitensis*, y en 1920 Karl F. Meyer sugirió incluir a estas bacterias dentro del nombre genérico de *Brucella*. Más confusa fue la identificación de *Brucella suis*, causante del aborto enzoótico en el ganado porcino, ya que inicialmente su descubridor Jacob Traum la identificó en 1914 como *Brucella abortus*.

El diagnóstico serológico de la brucelosis comenzó en 1897 cuando Almroth Wright y colaboradores describieron una técnica de seroaglutinación en tubos capilares útil para el diagnóstico. Esta técnica constituye el antecedente del método actual de seroaglutinación en tubo denominado seroaglutinación de Wright en honor de su descubridor. Se considera el ingreso de la enfermedad al país en los tiempos de la conquista, por animales provenientes de la Isla de Malta y España

Etiología.

Las Brucellas son parásitos intracelulares del hombre y los animales, poseen las siguientes características: morfología de cocos y bacilos cortos, de 0.5-0.7 micras por 0.6-1.5 micras, aislados o más raramente en cadenas cortas, carecen de cápsula, son inmóviles, no forman endosporas, son Gram negativas, no toman la coloración bipolar, presentan un contenido de guanina más citosina en el ADN de 56-58 moles %. Los miembros del grupo se parecen mucho en su comportamiento cultural, en agar forman colonias pequeñas y translúcidas con moderada turbidez, su crecimiento es lento y se estimula por la adición de proteína animal, especialmente extracto de hígado y la concentración de glucosa al 25% en el medio de cultivo favorece el crecimiento. (Wilson y Miles, 1975).

Las características bioquímicas más importantes son: catalasa positiva, oxidasa generalmente positiva, (excepto *Brucella neotomae* y *ovis* que son oxidasa negativa), hidrolizan la urea en grado variable, reducen los nitratos a nitritos (excepto *Brucella ovis*), no utilizan el citrato, no producen indol y son negativas a las pruebas del rojo de metilo y Vogues-Proskaur. Son gérmenes aeróbicos estrictos, la *Brucella abortus* necesita que se le añada de 5 a 10% de anhídrido carbónico, la temperatura óptima es de 37° C y su pH es de 6.7-7.4 (Boffil et al, 1989).

. Están clasificados en la subdivisión Procariote, no tienen cápsula y son inmóviles. Son aerobios estrictos, de crecimiento lento en medios de cultivos habituales y generalmente oxidasa (a excepción de *B. ovis*) y catalasa positivas. *Acha, P et al., 1986.*

Su clasificación según el análisis molecular de 16 S ribosomal, es el siguiente:

Dominio : Bacteria

Phylum : Proteobacteria

Clase : Alphaproteobacteria

Orden : Rhizobiales (Rhizobacteria)

Familia : Brucellaceae

Genero : *Brucilla*

En la Lista Aprobada de Nombres Bacterianos el género *Brucella* incluye seis especies:

El género comprende actualmente 6 especies;

Especies: *Brucella melitensis* (cabras)

Brucella abortus (vacunos)

Brucella suis (cerdos)

Brucella ovis (ovinos)

Brucella canis (caninos)

Brucella neotomae (roedores)

Brucella maris (animales marinos)

Las tres primeras especies denominadas como Brucellas clásicas, se han subdividido a la vez en biotipos que se distinguen por diferentes características bioquímicas y/o comportamiento frente a sueros monoespecíficos. A (*abortus*) y M (*melitensis*). De esta manera la *Brucella melitensis* se subdivide en tres biotipos (1-3), *Brucella abortus* en 8 (1-9) ya que se suprimió el biotipo (8) y *Brucella suis* en 4 (1-4). En esta última especie se ha propuesto un nuevo biotipo para cepas aisladas de roedores en la antigua URSS, con características que difieren de los cuatro biotipos mencionado

Hasta ahora en América Latina sólo se ha podido comprobar el biotipo 1 de *Brucella suis* que predomina en la mayor parte del mundo y en los E.U.A. el biotipo (1-3). El biotipo 2 está limitado a los cerdos y liebres de Europa Central y Occidental, mientras que el biotipo 3 se aísla en el Cinturón Maicero de los E.U.A y algunas áreas de Asia y África (Acha y Szyfres, 1986).

La identificación de los biotipos es importante pues su estudio permite determinar las fuentes de infección. (Crawford et al, 1979) indicaron la necesidad de clasificar los biotipos en los aislamientos múltiples antes de establecer definitivamente el biotipo de la cepa infectante.

En América se ha comprobado la infección de *Brucella abortus* solo por el biotipo 1 y en los Estados Unidos por los biotipos 1 y 3. El biotipo 2 desempeña un papel importante en Europa. En los países de América Latina la enfermedad adquiere una forma enzoótica y se considera la zona de más alta prevalencia en el mundo según, (Akakpo, 1991).

Das et al, (1990), reportan la circulación de la *Brucella abortus* biotipo 1 en la masa de búfalos de la India, por su parte (Srinivasan et al, 1992) plantean que en estudios realizados en ese país a perros se comprobó la presentación de *Brucella canis*, así como la *Brucella abortus*.

En análisis morfológicos, serológicos y en varios casos por pruebas bioquímicas adicionales se identificó la *Brucella suis* biotipo 1 en dicha especie. (Thanappa et al, 1992). No obstante la O.P.S., (1992) reportó la inclusión de un nuevo biotipo de *Brucella suis*, (5) y eliminó el biotipo 7 de la *Brucella abortus*

Se han realizado estudios de hibridación de ADN-ADN y de secuenciación de los genes 16S rRNA de *Brucella* y se ha tenido una homología superior al 95 % entre las diferentes especies. De acuerdo con la definición filogenética de especie se demostró claramente que todos estos microorganismos (un total de 51 cepas) constituyen una sola especie, *Brucella melitensis*, asignándose al resto de las "especies convencionales" la denominación de biovariedades, sobre criterios culturales y serológicos. La clasificación es la siguiente:

Especie: *Brucella melitensis* Biovariedades.

B. melitensis biovariedad melitensis (cabras)

B. melitensis biovariedad abortus (vacunos)

B. melitensis biovariedad suis (cerdos)

B. melitensis biovariedad ovis (ovinos)

B. melitensis biovariedad canis (caninos)

B. melitensis biovariedad neotomae (roedores)

B. melitensis biovariedad maris (mamíferos marinos)

La nomenclatura actual es la que sigue:

B. melitensis biovariedad melitensis 1, 2 y 3

B. melitensis biovariedad abortus 1, 2, 3, 4, 5, 6 y 9

B. melitensis biovariedad suis 1, 2, 3, 4 y 5

B. melitensis biovariedad ovis

B. melitensis biovariedad canis

B. melitensis biovariedad neotomae

B. melitensis biovariedad maris (*B. pinnipediae*, *B. cetaceae*)

Para evitar confusiones y teniendo en cuenta sus perfiles patogénicos y la afinidad con sus hospedadores específicos, el Subcomité de Taxonomía de *Brucella*, del Comité Internacional de Sistemática Bacteriana (ICSB) en 1986, establece que se mantenga la denominación de las seis especies y sus biovariedades con fines prácticos pero no taxonómicos. Akakpo, A. J., 1991."

Estructura y composición química

Las brucelas son pequeños bacilos o cocobacilos gramnegativos, no esporulados, carentes de una verdadera cápsula, de flagelos o pili. La estructura más característica de las bacterias gram-negativas es su envoltura celular, formada por una membrana citoplasmática, una membrana externa y un espacio periplásmico intermedio.

El espacio periplásmico contiene enzimas, entre ellos muchos que detoxifican agentes nocivos procedentes del medio, proteínas relacionadas con el transporte de nutrientes, varias de las enzimas sobre las que actúan los antibióticos β -lactámicos y, como componente estructuralmente más importante, un gel glucopeptídico (mureína o peptidoglicano) responsable de la forma e integridad osmótica de la bacteria. La membrana externa contiene, distribuidos asimétricamente, fosfolípidos, proteínas y un lipopolisacárido (LPS). La asimetría en la distribución del LPS, junto con sus propiedades y las de las proteínas que actúan como poros en la membrana externa (porinas), hace que ésta actúe como una barrera de permeabilidad frente a muchos solutos hidrofílicos e hidrofóbicos.

La membrana externa constituye la barrera física y funcional entre el interior de la célula bacteriana y su medio, además de ser, la primera estructura que entra en contacto con las células del sistema inmunológico del huésped, durante los estadios tempranos de la enfermedad, ya que no se han descrito componentes capsulares en *Brucella*. Por otro lado, la supervivencia de la

bacteria ya sea en el medio ambiente o en el huésped, depende de la integridad de su membrana externa ya que si ésta sufriera algún daño, la bacteria no sobreviviría por mucho tiempo.

La membrana externa de *Brucella* es rica en fosfatidilcolina a diferencia de la perteneciente a las enterobacterias relacionadas con ella, que es rica en fosfatidiletanolamina. Su componente más abundante y mejor estudiado es el LPS, que se conoce también con el nombre de endotoxina. En él se distinguen tres regiones: el lípido A, inserto en la hoja externa de la membrana, un oligosacárido intermedio, llamado núcleo, y el polisacárido O (PSO).

El lípido A de *Brucella* es químicamente diferente del de las gram-negativas clásicas y está formado por un disacárido de diaminoglucosa sustituido con betahidroxiácidos y otros ácidos grasos de cadena larga. A esta composición diferente se debe el que algunas de las actividades características de los LPS relacionadas con la endotoxicidad, como la pirogenicidad, sean diferentes en *Brucella*, lo que podría tener significación en la patogénesis. Como antígeno, el lípido A no parece tener relevancia diagnóstica.

Unida al lípido A se localiza la fracción polisacárida o antigénica, en la que se distingue una zona más interna o núcleo (glucosa, manosa y quinovosamina) y la cadena O dirigida hacia el exterior y representada por azúcares característicos (homopolímero de N-formil perosamina sin ramificaciones). Constituyen los epítomos o antígenos de superficie, responsables de las grandes respuestas humorales, de diferentes tipos, según el enlace de unión, y cuantitativamente más elevados, según las especies y biovariedades, siendo por tanto de ayuda en la identificación. En las especies *Brucella ovis* y *Brucella canis* contienen estos polisacáridos en la superficie externa de la bacteria cubriendo la mayor parte, por esto son llamadas cepas rugosas (LPS-R). *B. melitensis*, *B. abortus*, *B. suis* y *B. neotomae* son denominadas cepas lisas (LPS-S)

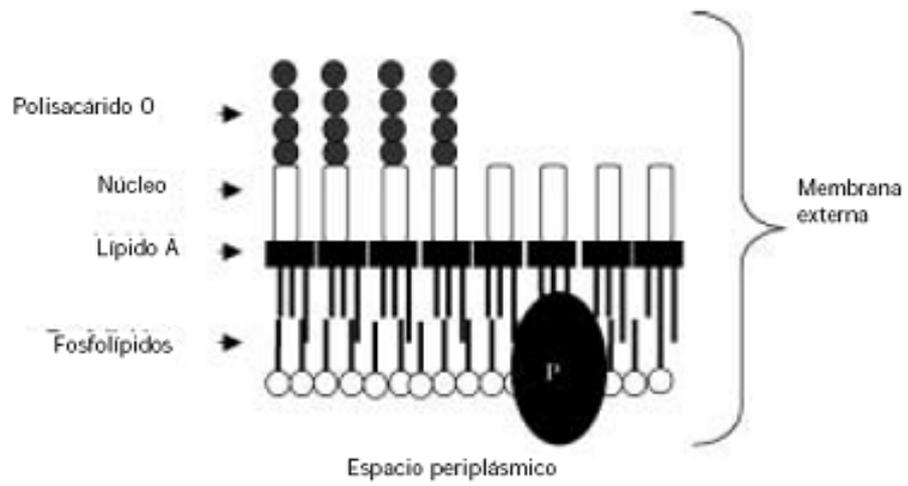


Figura: 1 simplificado de la membrana externa de la pared celular de Brucella.

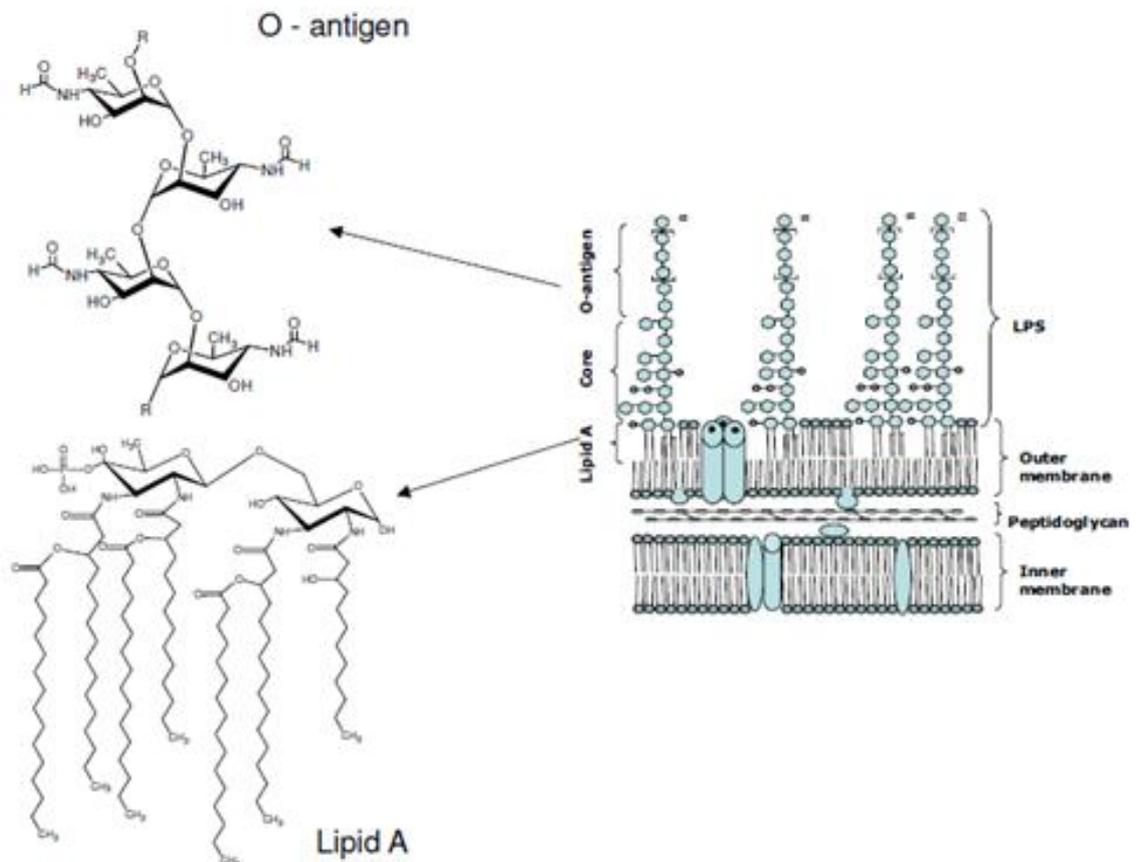


Figure 1
Schematic structure of lipopolysaccharide (LPS) from *Brucella* spp.

Figura: 2

Los tres tipos básicos de epítomos, antígenos inmunodominantes de superficie, localizados en la cadena O del LPS son: A o *abortus*, M o *melitensis* y C o común. Aunque estos datos son útiles para entender el serotipado de las brucelas S, la generalidad de los anticuerpos producidos en la infección reconocen el epítomo C. Por esto, en el diagnóstico serológico, es irrelevante el origen (*abortus* o *melitensis*) del antígeno (suspensión celular o LPS-S) y no es posible distinguir el serotipo infectante.

En las cepas rugosas la cadena O está ausente o reducida, por lo que la especificidad frente a LPS-R viene determinada por polisacáridos centrales (Ag R) que aglutinan en pruebas de identificación frente a sueros monoespecíficos anti-R

Proteínas de membrana externa

Las proteínas de membrana externa (PME u OMPs) se asocian estrechamente con los LPS, se las ha asociado con la protección. Dentro de éstas se encuentran las denominadas proteínas mayores, que se clasifican en tres grupos de acuerdo a sus pesos moleculares: grupo 1 (89-94 kDa), grupo 2 (36-38 kDa) y grupo 3 (25-27 y 31-34 kDa)

En la actualidad, como resultado de la clonación y secuenciación de los genes que codifican para estas OMPs, se les ha ido asignando otra nomenclatura: OMP25, OMP31 y OMP2b. Otras OMPs han sido, posteriormente identificadas por medio de anticuerpos monoclonales, por ser menos abundantes, se denominan proteínas menores y presentan masas moleculares de 10,16.5, 19 y 89 kDa. Con base en estudios genéticos y de su secuencia de aminoácidos, las de 10, 16.5 y 19 kDa, se han identificado como lipoproteínas de membrana externa, denominándolas: OMP10, OMP16 y OMP19, respectivamente. La OMP 16, pertenece a la familia de lipoproteínas asociadas a la peptidoglicana presentes en bacterias Gram negativas.

La OMP1 de 89 kDa se encuentra expuesta en la superficie de la célula. Finalmente, se ha puesto de manifiesto la existencia de acuaporinas en la ME, que son proteínas transmembranales con canales para agua y que pertenecen a la familia de las proteínas intrínsecas mayores.

Las OMP mayores o principales se encuentran expuestas en la superficie de la membrana externa, sin embargo, estarían menos accesibles en las cepas lisas que en las rugosas, debido al impedimento estérico que causan las largas y abundantes cadenas O del LPS en las cepas lisas.

Otras proteínas han sido descritas: la periplásmica BP26; de entre las internas se tiene: el componente A2, que es una glicoproteína resistente al calor, empleada en el diagnóstico de bovinos; las de 16 a 18 kDa usadas como antígenos en reacciones intradérmicas; la proteína citoplásmica de 18 kDa, con secuencia descrita.

Numerosas proteínas de membrana externa, interna, periplásmicas y citoplásmicas han sido caracterizadas. Algunas son reconocidas por el sistema inmune, durante la infección y solo se han reportado en *Brucella*, por lo que serían de gran utilidad en futuras pruebas diagnósticas o para ser consideradas en las nuevas vacunas.

Características genéticas

El DNA de *Brucella* contiene un 58-59% de G + C y el tamaño total del genoma se ha estimado en aproximadamente $3,2 \times 10^6$ pares de bases. Ese tamaño es menor que el de *E. coli* ($4,7 \times 10^6$ pares de bases).

Poseen dos cromosomas circulares en la mayoría de las especies y biotipos (con un tamaño, en *B. melitensis*, de 2.100 kpb y 1.150 kpb). No poseen plásmidos, esto puede reflejar la adaptación a un nicho ecológico (el ambiente intracelular) estable y sin competencia microbiana, en el que no es necesaria la plasticidad genética que se deriva de los plásmidos y que es propia de ambientes (intestino, tierra, etc.) con gran cantidad de microbios. Esta ausencia de plásmidos hace que la adquisición y transmisión de resistencias frente a los antibióticos sea difícil, por eso se explica la ausencia de cepas resistentes frente aquéllos que habitualmente se emplean en el tratamiento.

Las distintas especies del género *Brucella* muestran más de 95% de homología en el DNA. Este es el dato sobre el que, como ya se ha mencionado, se ha sugerido que el género *Brucella* contiene una única especie. Sin embargo, se ha encontrado polimorfismo en determinadas secuencias del DNA que coinciden con las especies clásicas e incluso con los biovariedades, lo que se ha empleado para desarrollar pruebas para la rápida identificación de las mismas.

Se ha demostrado que la expresión genética de *Brucella* varía según ciertas condiciones que se piensa representan el ambiente hostil de los fagocitos y, también, que es diferente en los medios de cultivo normales y en los macrófagos. Esto supone la existencia de sistemas de sensores-reguladores y en *Brucella*, se han descrito al menos dos sistemas de regulación genética que dependen de estímulos ambientales. Uno de ellos regula genes esenciales para la virulencia, modula las propiedades de la membrana externa y se relaciona con la habilidad de penetrar en células fagocíticas.

Características fisiológicas

La membrana externa de *Brucella* no protege a la bacteria frente a agentes hidrófobos como sales biliares, detergentes o ciertos colorantes. Se han descrito parcialmente varios sistemas de transporte de substratos en *Brucella* (azúcares y hierro), que necesariamente han de tener algún componente en la membrana citoplasmática, pero el conocimiento de esta faceta de su biología es muy imperfecto.

Todas las especies de *Brucella* son aerobias que respiran O₂, si bien hay diferencias en los requerimientos de CO₂ según especies y biotipos y también en las cadenas respiratorias que se revelan en la prueba de la citocromo C oxidasa y la capacidad de reducir nitratos. El metabolismo es oxidativo y no fermentador, y al menos *B. abortus* y *B. melitensis* no llevan a

cabo una glicólisis clásica, oxidando los azúcares parcialmente por una vía afín a la de las pentosas, sin embargo, hay diferencias en los perfiles oxidativos de varios pentosas según las especies y biotipos. También es sabido que el eritritol estimula el crecimiento de las brucelas S y para su transporte y metabolismo existen proteínas específicas cuyos genes se han caracterizado. Los substratos que se incorporan directamente al ciclo de Krebs (como el lactato o el glutamato) parecen ser oxidados más rápidamente y de forma general.

Todas las especies de *Brucella* tienen una capacidad biosintética reducida, aunque este carácter es menos marcado en *B. suis*. Por esta razón, las brucelas son nutricionalmente exigentes y, si bien es posible formular medios definidos (al menos para las especies lisas), crecen más rápido en medios complejos que contengan aminoácidos, bases y vitaminas y otros factores de crecimiento.

Identificación

Morfología microscópica; Bacilos cortos pequeños Gram negativos de 0.5 X 0.5 hasta 1.5 mm de longitud. Al emplear la tinción de Zielh-Neelsen modificada (stamp), las brucelas se tiñen de color rojo y se observa la misma morfología. Otras bacterias se verán verdes.

Morfología colonial; En medio TSA, las cepas lisas (S) (*B. melitensis*) producen colonias circulares, convexas con bordes regulares, translúcidas y coloración ámbar. A la luz reflejada son brillantes, ligeramente opalescentes y de color gris azulado. Las cepas rugosas (R), en TSA, producen colonias semejantes en la forma pero varían considerablemente en tamaño, color, consistencia y textura.

Pruebas bioquímicas; Para identificar la especie y el biovar se procede a efectuar las siguientes pruebas bioquímicas especiales:

Requerimientos de CO₂. Inmediatamente después del primer aislamiento, la cepa en estudio se siembra por triplicado en tubos con agar soya tripticasa y extracto de levaduras inclinados. Se incuban dos tubos en atmósfera de CO₂ y el otro en atmósfera normal, a 36° C por 48 h. antes de que se desarrollen mutantes independientes de CO₂. Con el crecimiento de uno de los tubos, se prepara una suspensión de bacterias para inocular el resto de medios de cultivo:

Pruebas de catalasa y oxidasa: positivas.

Medio de TSI- ausencia de ácido y gas.

Citrato de Simmons.- No emplea este substrato como fuente de carbono, por lo que no se modifica el color verde.

Medio de SIM.- Observar la inmovilidad de las brucelas y la ausencia de indol y H₂S en este medio.

Medio de urea.- Medir el tiempo en que vira el medio a rojo, debido a la producción de ureasa. *Brucella suis* produce la mayor cantidad de ureasa y un tiempo muy corto comparada con las demás especies que producen menor cantidad.

Tubo inclinado con agar soya tripticasa, con una tira de papel filtro impregnado con acetato de plomo sujetado por la contratapa o el tapón de algodón para observar la aparición de H₂S por el ennegrecimiento de la tira de papel filtro.

Susceptibilidad a bacteriófagos.- Sobre una capa de *Brucella* sembrada en forma masiva, se coloca una gota pequeña de cada uno de los bacteriófagos siguientes: Tbilisi (Tb), Weybridge (Wy) y Berkeley (Bk), se observa la existencia de lisis en los sitios en donde se colocaron las gotas.

Aglutinación con sueros monoespecíficos.

Se emplean el suero monovalente A y en monovalente M. El R se utiliza solo cuando se sospecha de *B. canis* o de otra especie rugosa natural. Al realizar esta prueba es muy importante tomar en consideración lo siguiente:

B. abortus puede contener antígeno A (biovar 1,2,3 y 6) o antígeno M (biovares 4,5 y 9) en forma de antígenos dominantes o ambos antígenos A y M (biotipo 7) en forma igualmente dominante.

B. suis puede tener antígeno A (biotipos 1,2 y 3) como antígeno dominante o ambos A y M (biotipo 4).

B. melitensis puede tener antígeno M (biotipo 1) o antígeno A (biotipo 2) como antígenos dominantes o ambos A y M (biotipo 3). Por consiguiente, cualquier cepa que aglutine con suero mono específico M, NO es necesariamente *B. melitensis*; éste es un error que frecuentemente se comete, por desconocer la composición antigénica de los diferentes biovares de *Brucella*.

Epidemiología.

La brucelosis es la zoonosis más frecuente en el mundo, lo que representa la ocurrencia anual de más de 500.000 casos (Pappas et al 2006). A pesar de la brucelosis y sus medios de transmisión se descubrieron más de 100 años, la enfermedad sigue siendo un problema en todo el mundo, sobre todo para los países en desarrollo. Desde el descubrimiento de *B. mellitensis* por Bruce, la brucelosis ha sido una enfermedad emergente.

La transmisión de la infección por *Brucella* y su prevalencia en una región depende de varios factores, como hábitos alimenticios, los métodos de transformación de leche y productos lácteos, las costumbres sociales, las prácticas pecuarias, las condiciones climáticas, socioeconómicas estado y la higiene medio ambiente. El saneamiento ambiental es especialmente importante en el contexto de la transmisión de aire.

La brucelosis es casi siempre se transmite al hombre por animales domésticos infectados. Sin embargo, se ha documentado fuera de toda duda, la posibilidad de transmisión de humano a humano de la infección por *Brucella* (Naparstek et al, 1982; Lubani et al 1988; Mantur et al 1996; Tikare et al 2008). Brucelosis humana alguna vez se pensó que se transmite predominantemente por contacto con animales. Sin embargo, ahora se dio cuenta de que cada vez más productos de origen animal como la leche y los productos cárnicos también desempeñan un papel importante en la transmisión de la enfermedad. Leche y productos lácteos elaborados con leche cruda como los quesos blandos, yogures, helados y pueden contener altas concentraciones de las bacterias y el consumo de estos es una causa importante de la brucelosis.

Es la forma más común de transmisión en caso de *B.melitensis* *B.abortus* y las infecciones en la población general. La leche de camella es también considerada como la importante fuente de la infección en los países del Medio Oriente y Mongolia. Carga bacteriana en los animales los tejidos musculares es baja, pero el consumo de platos cocidos tradicionales, como el hígado se ha implicado en la infección humana. Algunos hábitos de comida en particular, tales como comer feto abortado visto en Ecuador, pueden estar implicados en la causa de la brucelosis humana. Aplastamiento del cordón umbilical de los corderos recién nacidos y los niños con los dientes es otro hábito de riesgo.

El consumo de leche de cabra fresco, combinado con extractos de hierbas para obtener alivio de enfermedades crónicas se informa, es un hábito más de riesgo. Skinning corderos nacidos muertos y los niños y abortado los fetos, que pueden estar altamente contaminadas con *Brucella* spp., también presenta un alto riesgo de brucelosis (Awad 1998).

Otros medios de infección incluyen abrasiones de la piel o la inhalación de partículas en el aire de estiércol de los animales. La contaminación de las heridas de la piel puede ser un problema para las personas que trabajan en los mataderos o plantas empacadoras de carne o de los veterinarios.

Los cazadores pueden ser infectados a través de heridas en la piel o por ingerir accidentalmente las bacterias después de venado, alce, reno, o los cerdos salvajes que han asesinado. La inhalación es a menudo responsable de un porcentaje significativo de casos en los empleados de matadero (Reyes et al 1993). Además, el laboratorio adquirió la infección por *Brucella*, debido a la ingestión accidental, inhalación y contacto con las mucosas o la piel es un peligro para la salud de la de los trabajadores de laboratorio que las culturas de las cepas virulentas o atenuadas. La enfermedad ha sido reconocida como uno de los laboratorios comunes de las infecciones de transmisión y se ha informado de que se produzca en clínicas, de investigación y laboratorios de producción (Bouza et al 2005, el Centro para el Control y la Prevención de [CDC] 2008).

El aumento de negocios y de ocio viajes a países endémicos han dado lugar a dificultades diagnósticas en las zonas donde la brucelosis es poco común. Aunque las cuentas de *B. melitensis* en la mayoría de los casos registrados, de *B. abortus* y la *B. suis* causa de morbilidad en los países en los que. Persisten en los animales domésticos, especialmente en Asia y América Latina.

B. canis rara vez causa enfermedad en el hombre. Y *B. neotomae* y *B. ovis* no han sido identificado como causan la infección en seres humanos. La presencia de la brucelosis en los animales salvajes, con un potencial para la transferencia continua a los animales domésticos y de ellos a los seres humanos es otra epidemiológica (cuestión Cutler et al 2005). Aquellos con un riesgo profesional de adquirir la infección son los productores de ganado, trabajadores de mataderos, pastores, agricultores, veterinarios y personal de laboratorio.

La brucelosis es común en las zonas rurales, porque los agricultores viven en estrecho contacto con sus animales y con frecuencia consumen frescos productos lácteos no pasteurizados. Sin embargo, la venta de los productos lácteos también puede traer la enfermedad a zonas urbanas.

La brucelosis tiene una distribución en todo el mundo, pero hoy en día la enfermedad es rara en los Estados Unidos de América y en muchas otras naciones industrializadas debido a la detección de rutina de los animales domésticos y a los programas de vacunación en los animales.

Resistencia y supervivencia

La Brucella a diferencia de otras bacterias patógenas posee una gran capacidad para sobrevivir y persistir en el ambiente bajo condiciones apropiadas, comparable a la resistencia de bacterias esporuladas. Bajo condiciones de baja temperatura, humedad moderada, pH cercano a la neutralidad y protección contra el sol, las brucelas pueden sobrevivir por largos períodos aunque no existe evidencia de que los organismos se repliquen significativamente bajo estas condiciones en el suelo, agua o estiércol. En los restos de animales congelados, las bacterias sobreviven por muchos años. En materiales desecados que contengan materia orgánica, y protegidos de la luz solar, pueden retener su infectividad por muchos años. En contraste, son bastante sensibles al calor, así una suspensión diluida de brucelas, se destruye

rápida mente al ser sometida a la pasteurización o al exponerla a temperaturas de 60°C por 30 minutos. Sin embargo, una suspensión densa es más difícil de inactivar y se debe de prolongar el tiempo de exposición al calor o someterla a temperaturas mas elevadas.

Tabla: 1

Tabla II. *Supervivencia de Brucella en el medio ambiente.*

<i>Material</i>	<i>Tiempo de supervivencia</i>
Suelo y estiércol	80 días
Polvo	15-40 días
Leche a temperatura ambiente	2-4 días
Fluidos y secreciones en verano	10-30 minutos
Lanas de depósitos	110 días
Agua a 37 °C y pH 7,5	menos de 1 día
Agua a 8 °C y pH 6,5	más de 57 días
Fetos mantenidos a la sombra	6-8 meses
Descarga vaginal mantenida en hielo	7 meses
Manteca a 8 °C	1-2 meses
Cuero manchado con excremento de vaca	21 días
Paja	29 días
Grasa de ordeño	9 días
Heces bovinas naturales	1-100 días
Tierra húmeda a temperatura ambiente	66 días
Tierra desecada a temperatura ambiente	4 días.

La Brucella es muy sensible a la radiación ionizante y se muere con rapidez al exponerla a la luz ultravioleta (5 minutos). También son sensibles, a la mayoría de los desinfectantes de uso común, a las concentraciones recomendadas con excepción de las sales cuaternarias de amonio. Como sucede en otras bacterias, la susceptibilidad se reduce en presencia de materia orgánica o a bajas temperaturas. El etanol, isopropanol, iodóforos, hipoclorito diluido y el fenol al 1% son eficaces para desinfectar la piel expuesta a *Brucella*.

En general, *Brucella* es susceptible a la mayoría de los antibióticos. Las sulfonamidas, los aminoglucósidos como la estreptomina, gentamicina, kanamicina, amikacina, tobramicina; las tetraciclinas, cloranfenicol, eritromicina, novobiocina, rifampicina y quinolonas como norfloxacin, ciprofloxacina,

esparfloxacina y moxifloxacina, todos ellos son activos contra *Brucella in vitro* a concentraciones mínimas inhibitorias bajas. Los antibióticos beta lactámicos son los menos efectivos. Las cepas muestran alguna variación en la susceptibilidad a los antibióticos en función de su origen geográfico.

Panorama mundial. La brucelosis sigue siendo una enfermedad debilitante importante. Es más prevalente en las partes occidentales de Asia, India, Oriente Medio, sur de Europa, y los países de América Latina. La brucelosis en humanos se encontró con presencia mas significativa en las zonas rurales, las comunidades nómadas donde las personas viven en estrecha asociación con los animales. EN todo el mundo se informa de la incidencia de humanos.

La brucelosis en áreas endémicas de la enfermedad varía ampliamente, desde <0,01 y> 200 por 100.000 habitantes. Por ejemplo, Egipto, la República Islámica del Irán, Jordania, Omán, Arabia Saudita, y República Árabe, Siria informó de un combinado anual de total de más de 90.000 casos de brucelosis humana en 1990 (Awad 1998).

La brucelosis tiene una distribución geográfica limitada, siendo un problema importante en el Mediterráneo, el oeste de Asia y algunas zonas de África y Latinoamérica, especialmente en países con bajos recursos económicos (Corbel 1997, Moreno y Moriyón 2002).

En el centro y norte de Europa y en Australia la infección por *B. abortus* ha sido prácticamente erradicada. En Norteamérica, la brucelosis es especialmente prevalente en las zonas agrícolas del norte y centro de México (Gándara y col 2001), mientras que en Canadá y Estados Unidos ha disminuido considerablemente en los últimos años. *B. abortus* está presente en todos los países de América Central, siendo la prevalencia de un 4 a un 8% (Moreno 2002).

En Sudamérica se encuentra en varios países, donde en muchos casos es endémica y un problema sanitario importante (Corbel 1997, Lucero y col 1999, Rodríguez y col 2001). En Chile, la Décima Región de Los Lagos es la que comprende la mayor área productora de leche y, además, tiene la mayor concentración de ganado infectado (Ramírez y Sigal 2002, Rivera y col 2002).

La baja incidencia reportada conocida, de la brucelosis en zonas endémicas puede reflejar la ausencia o la baja en los niveles de vigilancia y presentación de informes (McDermott y Arimi 2002). La verdadera incidencia de brucelosis humana sin embargo, es desconocida para la mayoría de países, entre ellos México. La brucelosis en Humanos no se considera una enfermedad altamente contagiosa. Por lo tanto, la agrupación podría resultar de los brotes de origen común o en el tiempo-espacio de la agrupación de los factores que aumentan el riesgo de infección (Chomel et al, 1994; Fosgate et al 2002). Las especies que pueden infectar al hombre son *B. melitensis*, *B. suis*, *B. abortus*, y *B. canis*. *B. melitensis* coloniza ovino y caprinos y es la causa frecuente de la brucelosis, a nivel mundial en los seres humanos. Reciente reaparición en Malta y Omán indica la dificultad de la erradicación de esta infección (Amato-Gauci, 1995).

Los Ovinos y caprinos y sus productos son las principales fuentes de la infección por *B. melitensis* en humanos, pero la infección por *B. melitensis* en el ganado se está convirtiendo en un problema potencial en algunos países del sur de Europa, Israel, Kuwait, y Arabia Saudita. La infección por *B. melitensis* es particularmente problemática de *B. abortus*, porque las vacunas no protegen eficazmente contra la infección por *B. melitensis*,

La vacuna Rev 1 no ha sido plenamente evaluado para su uso en el ganado. En algunos países de Sudamérica, especialmente Brasil y de Colombia *B. suis* biovar 1 se ha establecido en el ganado bovino dando lugar a infecciones humanas. La importancia de la detección de los miembros de la familia de los casos de brucelosis aguda en áreas endémicas recientemente ha puesto de relieve (Almuneef et al 2004; Mantur et al 2006).

Esto es un importante paso epidemiológico. Y debe ser tenido en cuenta por la familia y los médicos, de modo que el diagnóstico oportuno y el suministro de la terapia den, resultandos en una menor morbilidad. El aislamiento de los últimos cepas distintivas de los mamíferos marinos y los seres humanos ha amplió la gama ecológica del género y, potencialmente su ámbito de aplicación como una zoonosis. Ya que las cepas que pueden surgir nuevas y los tipos existentes adaptarse a los cambios sociales y a las prácticas agrícolas, el panorama sigue siendo incompleto. Los varones se ven afectados con más frecuencia que las mujeres que puede ser debido al riesgo de exposición ocupacional. Aunque afecta a la brucelosis humana todos los grupos de edad, se dice que es poco frecuente en la infancia. Sin embargo, en las zonas, donde *B. melitensis* es endémica, los casos pediátricos son visto (Caksen et al 2002; Mantur et al 2004a). La brucelosis es un significativo problema de salud pública en la India, con un incremento de veterinarios. En la India el 80% de la población vive en aldeas y aproximadamente 575.000 miles de pequeñas ciudades; tienen contacto cercano con animales silvestres, debido a su ocupación. Por lo tanto, la población humana tiene un mayor riesgo de adquirir las enfermedades zoonóticas como la brucelosis. La enfermedad tiene una mayor importancia en países como la India, donde las condiciones son propicias para la extendida infección humana por causa de condiciones de insalubridad y la pobreza. Especies de preocupación en la India son *B. melitensis* y *B. abortus*. *B. melitensis* es la cepa más virulenta y común para el hombre y causa graves problemas clínicos y una prolongada enfermedad con un riesgo de discapacidad. *B. abortus* es la especie dominante en el ganado.

La brucelosis bovina está muy extendida en la India y parece estar en aumento en los últimos tiempos, quizás debido al aumento del comercio y el movimiento rápido de los animales (Renukaradhya et al 2002). La preponderancia de los servicios de toro natural en la India rural, especialmente en Búfalo, es quizás otro factor importante en el mantenimiento y la propagación de la infección. El pastoreo libre y el movimiento con frecuencia, de animales, la mezcla de ovejas y cabras en el pastoreo, también contribuyen

a la amplia distribución de la brucelosis en los animales. Chahota et al (2003) han informado de un brote severo de la brucelosis en una granja lechera organizada con abortos, retención de placenta y aún con nacimiento de crías muertas en las vacas.

El diagnóstico fue confirmado mediante serología empleando rosa de Bengala prueba de aglutinación en placa (RBPT) y el test de aglutinación estándar de tubo (SAT) y confirmada por el aislamiento de *B. abortus* biotype 1. La presencia de la brucelosis en la India fue establecida a principios del siglo pasado y desde entonces ha sido reportada en casi todos los estados. (Sehgal y Bhatia 1990; Renukaradhya et al 2002), pero la situación de la brucelosis varía ampliamente entre los Estados. Varios de los informes publicados, incluyendo los más recientes indican que en los humanos la brucelosis es una tranquila enfermedad muy común en la India. Mathur (1964) informó 8,5% sero-prevalencia de la brucelosis entre los productos lácteos y el personal en contacto con animales infectados. En otro estudio realizado por Mathur (1968) en Haryana, concluyó que las cabras y las ovejas son la fuentes de infección humana por el aislamiento de *B. melitensis* como una cepa predominante de humano en sangre, así como muestras de leche de cabras y ovejas.

El estudio realizado por Thakur y Thapliyal (2002), reveló una tasa de prevalencia de 4,97% en muestras obtenidas de las personas expuestas a los animales. La tasa de seroprevalencia más alto también se ha observado en los grupos específicos de riesgo tales como de trabajadores de los mataderos (Barbuddhe et al 2000; Chadda et al 2004). Estas observaciones confirman los factores de riesgo ocupacional. Algunos trabajadores han presentado fiebre de origen desconocido (PUO) del inglés casos para evidencia brucelosis. Handa et al (1998), identificaron 4 (3,3%) casos de brucelosis aguda en un grupo de 121 pacientes con PUO. Sen et al (2002), identificaron 28 (6,8%) casos seropositivos en un grupo de 414 pacientes con PUO y Kadri et al (2000), identificaron 28 (0,8%) casos seropositivos en un grupo de 3.532 pacientes con PUO. del Inglés (pyrexia of unknown origin).

Una prevalencia del 3% se observó en los pacientes asistidos en Karnataka Medical College, Hubli (Mantur 1988). Un estudio realizado por Mantur et al (2004a) informó de 93 niños con la brucelosis en Bijapur, con una prevalencia del 1,6% por el SAT ($\geq 1:160$). Una publicación de Mantur et al (2006) informó de 495 pacientes adultos en Bijapur con la prevalencia del 1,8%. La continuación del estudio afecta en Bijapur, 111 casos fueron adicionales fueron reportados (Mantur et al, 2007a, 2008a, b; Tikare et al 2008). En un estudio separado de Mantur y sus colegas identificaron 63 casos en el Instituto de Belgaum Ciencias Médicas, Belgaum, India., (Mantur BG y sus colegas, datos proporcionados por el Instituto.

Kochar et al (2007) informó de 175 casos de brucelosis en Bikaner. Sin embargo, los datos epidemiológicos sobre esta enfermedad son a menudo incompletos. Esto en parte explica que es por la falta de instalaciones de un laboratorio adecuado, la falta de conciencia de endemidad, en virtud de la presentación de informes, así como la escasa cooperación y el intercambio de información entre los servicios veterinarios y de salud.

Aspectos de la enfermedad

La brucelosis humana es conocida por presentar diversas manifestaciones (Mantur et al 2004a, 2006) (tabla1). Sin embargo, la mayoría de los síntomas comunes es la fiebre. Los síntomas y los signos más comunes son fiebre, fatiga, malestar, escalofríos, sudoración, cefalea, mialgia, artralgia, y el peso pérdida (Kochar et al 2007; Mantur et al 2007b). Brucelosis es invariablemente mal diagnosticada, probablemente a causa de la publicidad engañosa cuadro clínico (Corbel,1997). Estos pacientes febriles pueden ser o se refieren a que los pacientes con PUO o los síntomas y los signos se confunden con los de otras enfermedades. Así, para un médico que desconoce el diagnóstico clínico se convierte en un problema desafiante.

Complicaciones

Las complicaciones pueden ser muy diversas, dependiendo del lugar específico de la infección. La infección ósea y la de las articulaciones es la complicación más frecuente de la brucelosis (Mousa et al 1987), y la epididimoorquitis es la complicación más frecuente en forma genitourinaria en los hombres. La brucelosis durante el embarazo supone un riesgo importante de aborto espontáneo o la transmisión intrauterina de la infección al bebé. Se reportan tres casos que sufren de brucelosis durante el embarazo y están bajo tratamiento. La invasión del sistema nervioso central se produce en aproximadamente el 5-7% de los casos de infección por *B. melitensis*. Endocarditis por *Brucella* ocurre en menos del 2% de los casos, pero *representa la mayoría de las muertes*. Basappa G Mantur y Satish K Amarnath *J. Biosci. 33 (4), noviembre de 2008*

Por otra parte, la brucelosis al no presentar un cuadro clínico característico que permita una detección precoz del infectado permite la infección se vuelva crónica, complicando las alternativas terapéuticas y la curación definitiva.

Las complicaciones en la piel, aunque raras, son reportadas. Complicaciones del tracto respiratorio puede verse en los trabajadores de mataderos. Los informes recientes (Pappas et al 2003; Mantur et al 2006) indican que la afectación pulmonar no es una rareza. Los informes de manifestaciones inusuales, con lesiones atípicas están en alza. Tsolia et al (2002) han observado complicaciones inusuales en dos niños. En nuestra serie, nos informó de complicaciones (artritis no incluidos) en el 9,4% (tabla 2) de los pacientes con manifestaciones inusuales, como la corea, hidrocele, síndrome de Stevens-Johnson, infección del tracto urinario (Mantur et al 2004a, 2006). Recientemente, paniculitis aguda como inusual la presentación de la brucelosis, (La paniculitis es una enfermedad inflamatoria de la piel que se caracteriza por la formación de nódulos dolorosos en la grasa del tejido subcutáneo.

La paniculitis mesentérica, también denominada retráctil, lipogranuloma del mesenterio, lipodistrofia aislada o mesenteritis xantogranulomatosa), se ha informado (Tanyel et al 2008). Hemos identificados en Belgaum, lesiones atípicas como hemorrágica epidídimo-orquitis, celulitis, anemia severa, la parálisis facial con hemiplejía y la infertilidad (cuadro 2)

En sayos rápidos más recientes, para *Brucella* IgM e IgG (Smits et al 2003) y de aglutinación en látex (Abdoel Smits y 2007) estos ensayos se han encontrado por ser rápidos y simples, junto con una alta sensibilidad y especificidad en el cultivo para confirman casos. Estas pruebas son ideales para su uso como pruebas de campo en las zonas remotas y como punta de pruebas en la atención de los hospitales y los centros de atención a la salud. La brucelosis es muy a menudo mal diagnosticada como se muestra en los datos presentados en el cuadro 3, en 672 (84,8%), estos casos se hubieran perdido si la vigilancia serológica de rutina no se hubiera hecho. Un buen estado de alerta deben tener los médicos y una estrecha colaboración con el microbiólogo son esenciales, incluso en las zonas endémicas para diagnosticar y tratar correctamente la brucelosis en los humanos (Mantur et al 2004a, 2006, 2007b). El intercambio de datos desde un punto de vista entre los profesionales médicos y veterinarios es esencial para el diagnóstico y la erradicación de esta infección de la salud pública.

Patogenia.

La mayoría de los animales se infectan directamente a través de la mucosa oro nasal, por ingestión de alimentos contaminados o por inhalación de polvo de los establos con microorganismos que los animales han secretado con la leche o los exudados vaginales después del aborto (Rodríguez et al., 2001). *B. abortus*, además de infectar al ganado bovino, puede infectar a otras especies como búfalos, bisontes, alces, jabalíes, zorros, renos, camellos y animales marinos (Mandell 1995, Cloeckert et al., 2000). Inmediatamente después de la penetración e independientemente de la vía de entrada, las bacterias son

transportadas, libres o en el interior de células fagocíticas, hasta los ganglios linfáticos más próximos al lugar de entrada. Si las bacterias no son destruidas, pueden sobrevivir largos períodos de tiempo en el interior de las células fagocíticas (Illum et al., 1988). Los ganglios linfáticos responden a la agresión por medio de una hiperplasia reticuloendotelial y linfática, que puede tardar varias semanas en producirse y persistir durante meses (Rodríguez et al., 2001).

En los fagosomas de los macrófagos, *Brucella* sobrevive y se multiplica, inhibiendo la fusión del fagosoma que contiene la bacteria y el lisosoma, mediante la acidificación rápida del medio (Pizarro-Cerda et al., 1998, Celli et al., 2003, Ko y Splitter 2003). En células fagocíticas no profesionales, la internalización de *B. abortus* se asocia al dominio extracelular de la proteína tirosina quinasa y la activación de una serie de pequeñas GTPasas (Guzmán-Berri et al., 2001), tendiendo a localizarse dentro del retículo endoplásmico rugoso (Corbel 1997). En infecciones experimentales, en ratones, se ha observado que la infección tiene dos fases: durante las primeras dos semanas la bacteria se multiplica rápidamente; en la segunda fase, el número de bacterias se estabiliza hacia la quinta o sexta semana y luego decrece lentamente hasta desaparecer (Hong y col 2000).

La especial afinidad que estas bacterias tienen por el endometrio grávido y por la placenta fetal de bovinos hace que estas bacterias también proliferen extensamente en trofoblastos de la placenta que rodean al feto (Meador y Deyoe 1989), lo que condiciona que la principal manifestación clínica de la infección aguda en los animales sea el aborto durante el último tercio de la gestación, o el nacimiento de animales prematuros poco viables (Ficht 2003). En bovinos machos provoca alteraciones testiculares y una disminución de la fertilidad, acompañadas algunas veces por abscesos en testículos y epidídimo (Hausler y Koontz 1974).

En humanos la infección se produce a través del contacto con secreciones de animales infectados o consumo de leche cruda o queso contaminado. El consumo de carne no es una fuente de contaminación (Mandell 1995). *Brucella* puede ingresar al organismo a través de lesiones de la piel, mientras se manipulan animales infectados o sus desechos (Mandell 1995, Sauret y Vilissova 2002). En países en que la infección por *Brucella* es endémica en la población animal, la infección por *Brucella* en humanos es frecuente (Roop II et al., 1994, Yagupsky 1999), sin embargo, la transmisión persona a persona es extremadamente inusual (Fiori et al., 2000). La enfermedad puede ser adquirida por exposición ocupacional de los trabajadores de mataderos, carniceros y veterinarios, al inhalar aerosoles contaminados o en viajes a lugares donde la infección es endémica (Yagupsky 1999). Las infecciones asociadas al trabajo de laboratorio representan el 2% de los casos y se ha informado que el período de incubación de la brucelosis adquirida por accidente en el laboratorio puede variar entre seis semanas a cinco meses (Fiori et al., 2000).

Genética de *brucella*.

El ADN de *Brucella* contiene un 58-59% de G + C (guanina y citosina) y el tamaño total del genoma se ha estimado en aproximadamente $2,5 \times 10^6$ pares de bases (Allardent-Servent y col 1988); este tamaño es menor al de *Escherichia coli* ($4,7 \times 10^6$ pares de bases). Dos características genéticas de *Brucella* llaman especialmente la atención, en primer lugar, la existencia de dos cromosomas circulares en la mayoría de las especies y biotipos, y en segundo lugar, la ausencia de plásmidos.

Esta última característica refleja probablemente la adaptación a un nicho ecológico (el ambiente intracelular) estable y sin competencia microbiana, en el que no es necesaria la plasticidad genética que se deriva de los plásmidos y que es propia de ambientes con gran cantidad de microbios (intestino, tierra, etc.). El género *Brucella* tiene seis especies reconocidas, las que exhiben

distintas preferencias por su huésped (Mayer 1964) y muestran más de 94% de homología en su genoma (Halling y col 2005), lo que apoya la proposición de que las especies clásicas de *Brucella* son cepas de *Brucella melitensis* (Verger y col 1995). Sin embargo, se ha encontrado polimorfismo en determinadas secuencias genómicas que coinciden con las especies clásicas e incluso con las biovariedades.

Se estima, además, que el 8% del genoma de *Brucella* se destina a funciones necesarias para la sobrevivencia y la virulencia, en comparación al estimado para *Salmonella* que es sólo el 3-4% (Hong y col 2000).

Table2. Hallazgos clínicos en 792* pacientes infectados con *B. melitensis*
Síntomas / Signos No. De pacientes (%)

Dolor en las articulaciones	183 (23.1)
Dolor de espalda bajo	118 (14.8)
Sudores nocturnos	31 (3.9)
Tos, disnea, hemoptisis	28 (3.5)
	20 (2.5)
Dolor testicular, escrotal hinchazón, ardor miccional	16 (2)
Dolor en el abdomen, náuseas,	26 (3.2)
Fiebre (> 37.5oC)	625. (78.9) %
vómitos, anorexia, ictericia,	2 (0.25)
Dolor de cabeza	20(2.5)
Fatiga	14(1.7)
** Pápulas, úlceras en la boca	11 (1.38)
Convulsiones	2(0.25)
Esplenomegalia	147 (18.5)
Hepatomegalia	90 (11.3)
Hepatoesplenomegalia	121 (15.2)
Linfadenopatía	23 (2.9)
Los movimientos bruscos de las extremidades	1 (0.1)
Grabación de los pies	1(0.1)
Inflamación de la mano	2(0.25)
Debilidad	1 (0.1)
La pérdida de peso	8(1.0)

Datos de Instituciones donde los casos fueron identificados

**asociado con nódulos Subcutáneos

Tabla 3.

Complicaciones de Brucelosis	Complicaciones No.de Casos
Genitourinario (17)	
Orquiepididimitis *	12
Hidrocele.....	02
Infección del tracto urinario01
Pionefrosis.....	01
Infertilidad.....	01
Neurobrucelosis(16)	
Meningitis08
Meningoencefalitis05
Neuritis periférica.....	01
Parálisis facial con hemiplejía01
Endocarditis.....	11
Cutáneas / mucosas	
lesiones de las membranas **	11
El tracto gastrointestinal(10)	
La enfermedad hepática crónica.....	.08
Absceso esplénico.....	.01
Ac. Colecistitis.....	.01
Sistema respiratorio(09)	
Neumonía.....	04
Bronquitis05
Complicaciones hematológicas(01)	
La anemia severa.....	.01
Total de casos.....	

cuadro 1. Diagnóstico clínico de 792* casos al examen inicial
Principal / Diagnóstico **N ° de casos (%)**
Diferencial

La fiebre entérica	258 (32,5)
Malaria	122 (15,4)
Artritis	89 (11,2)
Brucelosis	120 (15,1)
Fiebre de origen desconocido	65 (8,2)
Orquiepididimitis, ** bilaterales hidrocele, el tracto urinario infección, pionefrosis, infertilidad	17 (2.1)
Tuberculosis	8 (1.01)
Enfermedad crónica del hígado, bazo abscesos, colecistitis aguda	11 (1,3)
Endocarditis	11 (1,3)
Bronquitis, neumonía	9 (1.1)
Erupciones cutáneas, Stevens-Johnson síndrome, la celulitis	11 (1,3)
Meningitis	8 (1,01)
inmunodeficiencia humana infección por el virus	5 (0,6)
Encefalitis	5 (0,6)
El paludismo, la fiebre tifoidea,	
brucelosis ***	3 (0,3)
La fiebre entérica, la brucelosis ***	44 (5.5)
La tuberculosis pulmonar, brucelosis ***	1 (0,12)
Artritis reumática,brucelosis *	1 (0,12)
Neuritis periférica	1 (0,12)

Parálisis facial con hemiplejía	1	(0,12)
La anemia severa		

* Incluye

(i) 30 casos de KMC Hubli (Mantur 1988).

(ii) 699 casos de Bijapur (Mantur et al 2004a, 2006, 2007a, 2008a, b; Tikare et al 2008).

(ii) 63 casos de Belgaum (India) Instituto de Ciencias Médicas, Belgaum (Mantur B, G y sus colegas, no publicado).

** Un caso fue hemorrágico, uno de los casos también se asoció con celulitis.

*** *El diagnóstico diferencial. Mantur B G and Amarnath S K 2008 Brucellosis in India – a review; J. Biosci. 33 539–547]*

Diagnóstico de Laboratorio

Las Herramientas de diagnóstico son el aislamiento y la identificación de Brucelas de muestras clínicas, la detección de antígeno, genoma, y los anticuerpos.

Cultivo: Cultivo aporta la prueba de sangre definitiva de la brucelosis, pero no puede proporcionar un resultado positivo para todos los pacientes. Debido algunas veces por lisis en la centrifugación y coágulo en el cultivo de sangre sin embargo estas técnicas han producido resultados alentadores en los últimos informes (Mantur y Mangalgi 2004b; Mantur et al 2007a). En términos de sensibilidad y rapidez la automatizado moderna en sistemas de cultivo de sangre han mejorado algo la velocidad de la detección. Aunque los cultivos de médula ósea son considerados los estándar de oro en algunos estudios (Gotuzzo et al 1986; Mantur et al 2008a). Los resultados no han sido universalmente reproducibles (Shehabi et al 1990). En tales casos, la bacteriemia podría también mantenimiento de otras fuentes del sistema retículo endotelial (de Mantur et al 2008a, b). Tal vez, esto podría ser el razón de la discrepancia en los resultados de sangre y los huesos los cultivos de médula en la literatura. (Al Shamahy y Wright, 1998) sugieren la detección del antígeno por enzimoimmunoensayo (ELISA) como un aceptable para la cultura alternativa en la sangre. El método de detección es útil no han sido validado.

La detección del genoma, por reacción en cadena de la polimerasa (PCR) ha sido explorada para la detección rápida y la confirmación de Brucella.

La caracterización molecular por técnicas descritas en la literatura son herramientas muy útiles para la diferenciación fenotípica de Brucella.

La detección de anticuerpos, las limitaciones de la mencionada herramientas hacen pruebas serológicas de detección de anticuerpos dirigidos contra la herramienta más útil. Los anticuerpos por lo general comienzan a aparecer en la sangre al final de la primera semana de la enfermedad, las IgM aparecen primero seguidas de IgG.

Las pruebas de aglutinación, son de valor como una prueba de alto riesgo sobre todo en las zonas rurales donde no es posible llevar a cabo SAT. Siempre que sea posible, un suero que le da un resultado positivo debe ser confirmado por una prueba más específica. También juega un gran papel en la confirmación rápida de neurobrucellosis, artritis, epididimoorquitis, e hidrocele. Debido a la Brucella si la ordenada es positiva en el líquido cefalorraquídeo, el líquido sinovial, líquido testicular / semen y fluido hidrocele respectivamente. SAT sigue siendo la herramienta de diagnóstico más popular y utilizado todavía en todo el mundo SAT mide la cantidad total de la anticuerpos aglutinantes (IgM e IgG), y la cantidad específica de IgG por 2-mercaptoetanol (2ME). El tipo de anticuerpo es importante, como.

Los anticuerpos IgG se considera un mejor indicador de activos de infección y la rápida caída en el nivel de anticuerpos IgG, esto pone de relieve el diagnóstico en un área donde la malaria la tuberculosis y la artritis reumatoide clínicamente imitan a la brucelosis humana, exponiendo así a negar a los pacientes acceso a la terapia específica. La prueba de Coombs que detecta los anticuerpos incompletos así como la prueba de inmunocaptura de aglutinación han mostrado similares actuaciones con mayor sensibilidad.

ELISA: Una comparación con el SAT, ELISA tiene mayor sensibilidad y especificidad (Gad El-Rab y kambal 1998). La prueba ELISA es también la prueba más sensible para el diagnóstico de neurobrucellosis (Araj 1997).

Ensayos rápidos más reciente: Brucella IgM e IgG con flujo lateral (Smits et al 2003) y aglutinación en látex (Abdoel Smits y 2007) los ensayos se han encontrado para ser rápido y simple, junto con una alta sensibilidad y el cultivo para confirmar casos. Estas pruebas son ideales para su uso como pruebas de campo en las zonas remotas y como punto de pruebas de la atención en los hospitales y los centros de atención a la salud.

La brucelosis es muy a menudo mal diagnosticada como se muestra en los datos presentados en el cuadro 3, en 672 (84,8%) estos casos se hubieran perdido si la vigilancia serológica de rutina no se hubiera hecho. El estado de alerta de los médicos y la colaboración cerca con el microbiólogo son esenciales, incluso en las zonas endémicas para diagnosticar y tratar correctamente la brucelosis en humanos (Mantur et al., 2004a, 2006, 2007b). El intercambio de datos entre los profesionales médicos y veterinarios es esencial para el diagnóstico y la erradicación de esta infección de la salud pública *Mantur B G, et al., 2008.*

Desde hace algunas décadas los procesos tecnológicos para la producción animal de alta calidad llevan una elevada concentración de las poblaciones animales y un mejoramiento genético cada vez más especializado, así como profundos cambios en los sistemas de alimentación, manejo y otros que influyen de manera directa en el logro de los objetivos al cual van encaminado a producir productos de origen animal que satisfagan las necesidades más primordiales de una población humana en constante crecimiento. *Mantur B G, et al., 2008.*

La brucelosis por su carácter zoonótico y endémico para algunas regiones en nuestro país constituye un Desastre Biológico, ya que es una situación de emergencia sanitaria dada la amenaza que representa para la población animal de importancia y los humanos e incluso para regiones y países vecinos. **En estos casos se presentan cambios bruscos significativos en la situación del país afectado, con seria repercusión sanitaria, productiva, económica, social y política. (Astudillo et al, 1990; Suárez, 1994 y Percedo et al, 1995).**

Conclusión

La presentación de enfermedades graves en la población animal y humana en el caso de las zoonosis pueden ser: De origen natural, por perturbaciones severas del medio ambiente. De origen humano, debido a las relaciones políticas, económicas, sociales y culturales entre los países establecidas por el propio hombre incluso el sabotaje entre otras.

El ritmo creciente del turismo y el tráfico internacional de pasajeros ocasiona riesgos de introducción de agentes exóticos, vinculados sobre todo con los alimentos crudos de origen animal destinados al consumo de los viajeros, con los desperdicios de estos productos en puertos, aeropuertos y su uso directo en la alimentación animal. (Mantovani et al, 1990)

El transporte de animales y de productos de origen animal es de importancia capital en la propagación de enfermedades exóticas si se tiene en cuenta que, tanto el volumen del comercio, como la velocidad del transporte, han aumentado notoriamente en los últimos años a consecuencia de lo cual la distancia ya no es una barrera importante para la propagación de una enfermedad.

Al margen de los factores de riesgo biológico que se producen durante las guerras a consecuencia del armamento convencional, el empleo del arma biológica sí va directamente dirigido al desencadenamiento de procesos morbosos masivos, tanto en la población humana como animal. Con iguales intenciones pueden realizarse sabotajes que atenten contra la economía de los países, a través de la introducción intencional de agentes patógenos exóticos o no, pero de alta patogenicidad a territorios indemnes. Realmente el Impacto Socioeconómico de los Desastres Biológicos en los territorios afectados conlleva a consecuencias en muchas ocasiones insospechadas y que influyen no sólo en el campo de la primo-producción animal, sino que la envergadura de las mismas sobrepasa los niveles predecibles sobre todo en los casos de desastres biológicos producidos por enfermedades exóticas.

Las consecuencias de los desastres biológicos y la aplicación en muchos casos de programas drásticos en la recuperación de los territorios afectados implican en ocasiones pérdidas que van más allá del costo de los animales sacrificados y aquellos derivados del programa de lucha, además de que ocasionan pérdidas de producción a mediano y largo plazo.

Entre los factores que determinan el tiempo necesario para la repoblación están: edad de madurez reproductiva, tiempo de gestación, número de crías por parto y otros que condicionan dicha recuperación productiva de los rebaños.

Entre las consecuencias negativas a largo plazo están las derivadas de la pérdida de credibilidad de los países afectados en relación a su situación zoonosanitaria real, y la consiguiente demora en el restablecimiento de relaciones comerciales libres de restricciones por parte de los países indemnes, aún de declarar erradicada una enfermedad. *Mantur B G and Amarnath S K 2008.*

Referencias.

Abdoel T H and Smits H L 2007 Rapid latex agglutination test for the serodiagnosis of human brucellosis; *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* **57** 123–128

Al Dahouk S, Tomaso H, Nockler K, Neubauer H, Frangoulidis D. Laboratory based diagnosis of brucellosis: A review of the literature. Part I: Techniques for direct detection and identification of *Brucella* spp. *Clin Lab* 2003;49:487-505.

Allardet-Servent A, Bourg G, Ramuz M, Pages M, Bellis M, Roizes G. DNA polymorphism in strains of the genus *Brucella*. *J Bacteriol* 1988;170:4603-7.

Al-Mofada SM, Al-Eissa YA, Saeed ES, Kambal AM. Isolation of *Brucella melitensis* from human milk. *J Infect* 1993;26:346-8.

Almuneef M A, Memish Z A, Balkhy H H, Alotaibi B, Algoda S, Abbas M and Alsubaie S 2004 Importance of screening household members of acute brucellosis cases in endemic areas; *Epidemiol. Infect.* **132** 533–540

Almuneef M, Memish ZA. Persistence of *Brucella* antibodies after successful treatment of acute brucellosis in an area of endemicity. *J Clin Microbiol* 2002; 40 :2313.

Almuneef M, Memish ZA. Prevalence of *Brucella* antibodies after acute brucellosis. *J Chemother* 2003; 15 :148-51.

Almuneef MA, Memish ZA, Balkhy HH, Alotaibi B, Algoda S, Abbas M, et al. Importance of screening household members of acute brucellosis cases in endemic areas. *Epidemiol Infect* 2004; 132 :533-40.

Al-Shamahy H A and Wright S G 1998 Enzyme-linked immunosorbent assay for *Brucella* antigen detection in human sera; *J. Med. Microbiol.* **47** 169–172

Amato Gauci AJ. The return of brucellosis. *Maltese Med J* 1995;7:7-8.

Araj G F 1997 Enzyme-linked immunosorbent assay, not agglutination, is the test of choice for the diagnosis of neurobrucellosis; *Clin. Infect. Dis.* **25** 942

Andres Morist A, Burzako Sanchez A, Montero Gato V, Franco Vicario R. *Brucella* endocarditis: Two cases with medical treatment and successful outcome. *Med Clin (Barc)* 2003; 120 :477.

Araj GF. Enzyme-linked immunosorbent assay, not agglutination, is the test of choice for the diagnosis of neurobrucellosis. *Clin Infect Dis* 1997; 25 :942.

Ariza J, Gudiol F, Pallares R, Rufi G and Fernandez-Viladrich P 1985 Comparative trial of rifampin-doxycycline versus tetracycline-streptomycin in the therapy of human brucellosis; *Antimicrob. Agents. Chemother.* **28** 548–551

Arlett PR. A case of laboratory acquired brucellosis. *BMJ* 1996;313:1130-2. [Erratum in: *BMJ* 1997;314:134].

Arroyo Carrera I, Lopez Rodriguez MJ, Sapina AM, Lopez Lafuente A, Sacristan AR. Probable transmission of brucellosis by breast milk. *J Trop Pediatr* 2006;52:380-1.

Awad R 1998 Human brucellosis in the Gaza Strip, Palestine; *East. Mediterr. Health J.* **4** 225–233

Bachrach G, Banai M, Bardenstein S, Hoida G, Genizi A, Bercovier H. Brucella ribosomal protein L7/L12 is a major component in the antigenicity of brucellin INRA for delayed -type hypersensitivity in Brucella -sensitized guineapigs. *Infect Immun* 1994;62:5361-6.

Baily GG, Krahn JB, Drasar BS, Stoker NG. Detection of *Brucella melitensis* and *Brucella abortus* by DNA amplification. *J Trop Med Hyg* 1992; 95 :271-5.

Bannatyne RM, Jackson MC, Memish Z. Rapid diagnosis of *Brucella* bacteremia by using the BACTEC 9240 system. *J Clin Microbiol* 1997; 35 :2673-4.

Barbuddhe S B, Kumar P, Malika S V, Singh D K and Gupta L K 2000 Seropositivity for intracellular bacterial infections among abattoir associated personnels; *J. Commun. Dis.* **32** 295–299

Barroso Garcia P, Rodriguez-Contreras Pelayo R, Gil Extremera B, Maldonado Martin A, Guijarro Huertas G, Martin Salguero A, et al. Study of 1,595 brucellosis cases in the Almeria province (1972-1998) based on epidemiological data from disease reporting. *Rev Clin Esp* 2002; 202 :577-82

Bingol A, Togay-Isikay C. Neurobrucellosis as an exceptional cause of transient ischemic attacks. *Eur J Neurol* 2006; 13 :544–8.

Bodur H, Balaban N, Aksaray S, Yetener V, Akinci E, Colpan A, et al. Biotypes and antimicrobial susceptibilities of *Brucella* isolates. *Scand J Infect Dis* 2003; 35:337-8.

Boschioli ML, Foulongne V, O'Callaghan D. Brucellosis: A worldwide zoonosis. *Curr Opin Microbiol* 2001; 4 :58-64.

Bosilkovski M, Krteva L, Caparoska S, Dimzova M. Hip arthritis in brucellosis: A study of 33 cases in the Republic of Macedonia (FYROM). *Int J Clin Pract* 2004; 58 :1023-7.

Bouza E, Sanchez-Carrillo C, Hernangomez S and Gonzalez M J 2005 Laboratory- acquired brucellosis: a Spanish national survey; *J. Hosp. Infect.* **61** 80–83

Brew SD, Perrett LL, Stack JA, MacMillan AP, Staunton NJ. Human exposure to *Brucella* recovered from a sea mammal. *Vet Rec* 1999;144:483.

Bruce D. Note on the discovery of a microorganism in Malta fever. *Practitioner* 1887;39:161-70.

Buchanan TM, Faber LC, Feldman RA. Brucellosis in the United States, 1960-1972. An abattoir-associated disease. Part I. Clinical features and therapy. *Medicine (Baltimore)* 1974; 53 :403-13.

Buchanan TM, Faber LC. 2-mercaptoethanol *Brucella* agglutination test: Usefulness for predicting recovery from brucellosis. *J Clin Microbiol* 1980; 11 :691-3.

Busch L, Parker RL. Brucellosis in the United States. *J Infect Dis* 1972;125 :289-94.

Caksen H, Arslan S, Oner A F, Cesur Y, Ceylan A, Atas B and Abuhandan M 2002 Childhood brucellosis is still a severe problem in the eastern region of Turkey; *Trop. Doct.* **32** 91–92

Canning PC, Roth JA, Deyoe BL. Release of 5'-guanosine monophosphate and adenine by *Brucella abortus* and their role in the intracellular survival of the bacteria. *J Infect Dis* 1986;154:464-70.

Caron E, Peyrard T, Kohler S, Cabane S, Liautard JP, Dornand J. Live *Brucella* spp. fail to induce tumor necrosis factor alpha excretion upon infection of U937-derived phagocytes . *Infect Immun* 1994;62:5267-74.

Casao MA, Smits HL, Navarro E, Solera J. Clinical utility of a dipstick assay in patients with brucellosis: Correlation with the period of evolution of the disease. *Clin Microbiol Infect* 2003; 9 :301-5.

Cellier MF, Teyssier J, Nicolas M, Liautard JP, Marti J, Sri Widada J. Cloning and characterization of the *Brucella ovis* heat shock protein DnaK functionally expressed in *Escherichia coli*. *J Bacteriol* 1992;174:8036-42.

Centers for Disease Control and Prevention (CDC) 2008 Laboratory – acquired brucellosis—Indiana and Minnesota, 2006; *MMWR Morb. Mortal. Wkly. Rep.* **57** 39–42

Chadda V S, Soni P K, Gupta A, Gupta B K, Chadda S and Nayak K C 2004 Incidence of brucellosis in arthritis and chronic low back pain in high risk group; *J. Assoc. Physicians India* **52** 338

Chahota R, Sharma M, Katoch R C, Verma S, Singh M M, Kapoor V and Asrani R K 2003 Brucellosis outbreak in an organized dairy farm involving cows and in contact human beings, in Himachal Pradesh, India; *Vet. Arh.* **73** 95–102

Chauhan RS. Brucellosis in India and its impact on export of buffalo meat. *Indian J Ani Prod* 1999; 31 :316-7.

Chomel B B, DeBess E E, Mangiamele D M, Reilly K F, Farver T B, Sun R K and Barrett L R 1994 Changing trends in the epidemiology of human brucellosis in California from 1973 to 1992: a shift toward foodborne transmission; *J. Infect. Dis.* **170** 1216–1223

Ciftci E, Ince E, Dogru U. Pyrexia of unknown origin in children: A review of 102 patients from Turkey. *Ann Trop Paediatr* 2003; 23 :259-63.

Cisneros JM, Pachon J, Cuello JA, Martinez A. Brucella endocarditis cured by medical treatment. *J Infect Dis* 1989; 160 :907.

CloECKAERT A, Verger JM, Grayon M, Grepinet O. Restriction site polymorphism of the genes encoding the major 25 kDa and 36 kDa outer membrane proteins of Brucella. *Microbiology* 1995;141:2111-21.

CloECKAERT A, Vizcaino N, Paquet JY, Bowden RA, Elzer PH. Major outer membrane proteins of Brucella spp.: Past, present and future. *Vet Microbiol* 2002; 90 :229-47.

Colmenero JD, Reguera JM, Martos F, Sanchez-De-Mora D, Delgado M, Causse M, et al. Complications associated with Brucella melitensis infection: A study of 530 cases. *Medicine (Baltimore)* 1996;75:195-211. [Erratum, in: *Medicine (Baltimore)* 1997;76:139.].

Corbel M J 1997 Brucellosis: an overview; *Emerg. Infect. Dis.* **3** 213–221

Corbel MJ. The immunogenic activity of ribosomal fractions derived from Brucella abortus. *J Hyg (Lond)* 1976;76:65-74.

Cutler S J, Whatmore A M and Commander N J 2005 Brucellosis – new aspects of an old disease; *J. Appl. Microbiol.* **98** 1270–1281

Dames S, Tonnerre C, Saint S, Jones SR. Clinical problem solving. Don't know much about history. *N Engl J Med* 2005; 352 :2338-42.

De Ley J, Mannheim W, Segers P, Lievens A. Ribosomal ribonucleic acid cistron similarities and taxonomic neighborhood of Brucella and CDC Group Vd. *Int J Syst Bacteriol* 1987;37:35-42

DelVecchio VG, Kapatral V, Redkar RJ, Patra G, Mujer C, Los T, et al. The genome sequence of the facultative intracellular pathogen Brucella melitensis. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002;99:443-8.

Dharwad Mantur B G, Mangalgi S S and Mulimani M 1996 *Brucella melitensis*-- a sexually transmissible agent?; *Lancet.* **347** 1763 [Erratum in: *Lancet* 1996; **348** 970]

Dokuzoguz B, Ergonul O, Baykam N, Esener H, Kilic S, Celikbas A, et al. Characteristics of *B. melitensis* versus *B. abortus* bacteraemias. *J Infect* 2005;50:41,5.

Eckman MR. Brucellosis linked to Mexican cheese. *JAMA* 1975;232:636-7.

Ewalt DR, Payeur JB, Martin BM, Cummins DR, Miller WG. Characteristics of a *Brucella* species from a bottlenose dolphin (*Tursiops truncatus*). *J Vet Diagn Invest* 1994;6:448-52.

FAO/WHO 1986 Report, Joint FAO/WHO Expert Committee on Brucellosis; *Technical Report Series No. 740* (Geneva: World Health Organization)

Ficht TA, Bearden SW, Sowa BA, Adams LG. DNA sequence and expression of the 36-kilodalton outer membrane protein gene of *Brucella abortus*. *Infect Immun* 1989;57:3281-91.

Ficht TA, Hussein HS, Derr J, Bearden SW. Species-specific sequences at the *omp2* locus of *Brucella* type strains. *Int J Syst Bacteriol* 1996;46:329-31.

Fosgate G T, Carpenter T E, Chomel B B, Case J T, DeBess E E and Reilly K F 2002 Time-space clustering of human brucellosis, California, 1973–1992; *Emerg. Infect. Dis.* **8** 672–678

Gad El-Rab M O and Kambal A M 1998 Evaluation of a *Brucella* enzyme immunoassay test (ELISA) in comparison with bacteriological culture and agglutination; *J. Infect.* **36** 197–201

Gazapo E, Gonzalez Lahoz J, Subiza JL, Baquero M, Gil J, de la Concha EG. Changes in IgM and IgG antibody concentrations in brucellosis over time: Importance for diagnosis and follow-up. *J Infect Dis* 1989; 159 :219-25.

Gee JE, De BK, Levett PN, Whitney AM, Novak RT, Popovic T. Use of 16S rRNA gene sequencing for rapid confirmatory identification of *Brucella* isolates. *J Clin Microbiol* 2004; 42 :3649-54.

Georghiou PR, Young EJ. Prolonged incubation in brucellosis. *Lancet* 1991; 337 :1543.

Giannacopoulos I, Eliopoulou MI, Ziambaras T, Papanastasiou DA. Transplacentally transmitted congenital brucellosis due to *Brucella abortus*. *J Infect* 2002; 45 209,10.

Glass WI. Brucellosis as an occupational disease in New Zealand. *N Z Med J* 1964;63:301-8.

Goldbaum FA, Leoni J, Wallach JC, Fossati CA. Characterization of an 18-kilodalton *Brucella* cytoplasmic protein which appears to be a serological

marker of active infection of both human and bovine brucellosis. *J Clin Microbiol* 1993;31:2141-5.

Gotuzzo E, Carrillo C, Guerra J and Llosa L 1986 An evaluation of diagnostic methods for brucellosis -- the value of bone marrow culture; *J. Infect. Dis.* **153** 122–125

Grammont-Cupillard M, Berthet-Badetti L, Dellamonica P. Brucellosis from sniffing bacteriological cultures. *Lancet* 1996;348:1733-4.

Hall WH. Modern chemotherapy for brucellosis in humans. *Rev Infect Dis* 1990; 12 :1060-99.

Handa R, Singh S, Singh N and Wali J P 1998 Brucellosis in north India: results of a prospective study; *J. Commun. Dis.* **30** 85–87

Hasanjani Roushan MR, Mohrez M, Smailnejad Gangi SM, Soleimani Amiri MJ, Hajiahmadi M. Epidemiological features and clinical manifestatations in 469 adult patients with brucellosis in Babol, Northern Iran. *Epidemiol Infect*2004,132:110914.

Hemashettar BM, Patil CS. Brucellosis among practicing veterinarians. *Indian J Med Microbiol* 1991; 9 :45-7.

Hughes ML. Mediterranean, Malta or undulant fever. Macmillan: London; 1887.

Iseri S, Bulut C, Yetkin MA, Kinikli S, Demiroz AP, Tulek N. Comparison of the diagnostic value of blood and bone marrow cultures in brucellosis. *Mikrobiyol Bul* 2006; 40 :201-6

Joint FAO/WHO Expert Committee on Brucellosis. Sixth Report. World Health Organ Tech Rep Ser No. 740. World Health Organization: Geneva; 1986.

Jubier-Maurin V, Boigegrain RA, Cloeckert A, Gross A, Alvarez-Martinez MT, Terraza A, et al. Major outer membrane protein Omp25 of *Brucella suis* is involved in inhibition of tumor necrosis factor alpha production during infection of human macrophages. *Infect Immun* 2001;69:4823-30.

Jumas-Bilak E, Maugard C, Michaux-Charachon S, Allardet-Servent A, Perrin A, O'Callaghan D, et al. Study of the organization of the genomes of *Escherichia coli*, *Brucella melitensis* and *Agrobacterium tumefaciens* by insertion of a unique restriction site. *Microbiology* 1995;141:2425-32.

Kadri S M, Rukhsana A, Laharwal M A and Tanvir M 2000 Seroprevalence of brucellosis in Kashmir(India) among patients with pyrexia of unknown origin; *J. Indian Med. Assoc.* **98**170–171

Karabay O, Sencan I, Kayas D and Sahin I 2004 Ofloxacin plus rifampicin versus doxycycline plus rifampicin in the treatment of brucellosis: a randomized clinical trial [ISRCTN11871179]; *BMC. Infect. Dis.* **4** 18

Karimi A, Alborzi A, Rasooli M, Kadivar MR, Nateghian AR. Prevalence of antibody to Brucella species in butchers, slaughterers and others. *East Mediterr Health J* 2003; 9 :178-84.

Khan MY, Mah MW, Memish ZA. Brucellosis in pregnant women. *Clin Infect Dis* 2001; 32 :1172-7.

Kiel FW, Khan MY. Analysis of 506 consecutive positive serologic tests for brucellosis in Saudi Arabia. *J Clin Microbiol* 1987; 25 :1384-7.

Kocak I, Dundar M, Culhaci N, Unsal A. Relapse of brucellosis simulating testis tumor. *Int J Urol* 2004; 11 :683-5.

Kochar D K, Gupta B K, Gupta A, Kalla A, Nayak K C and Purohit S K 2007 Hospital-based case series of 175 cases of serologically confirmed brucellosis in Bikaner; *J. Assoc. Physicians India* **55** 271-275

Koshi G, Eapen M and Singh G 1971 Brucellosis- an oft forgotten clinical entity; *Indian J. Med. Sci.* **25** 324-328

Lopez Merino A. Brucellosis in Latin America. Young EJ, Corbel MJ, editors. *Brucellosis: Clinical and laboratory aspects*. CRC Press Inc: Boca Raton; 1989. p. 151-61.

Lubani M M, Dudin K I, Sharda D C, AbuSinna N M, Al-Shab T, Al-Refeai A A, Labani S M and Nasrallah A 1988 Neonatal brucellosis; *Eur. J. Pediatr.* **147** 520-522

Lucero NE, Escobar GI, Ayala SM, Jacob N. Diagnosis of human brucellosis caused by *Brucella canis*. *J Med Microbiol* 2005;54:457-61.

Lucero NE, Escobar GI, Ayala SM, Silva Paulo P, Nielsen K. Fluorescence polarization assay for diagnosis of human brucellosis. *J Med Microbiol* 2003; 52 :883-7.

Lulu AR, Araj GF, Khateeb MI, Mustafa MY, Yusuf AR, Fenech FF. Human brucellosis in Kuwait: A prospective study of 400 cases. *Q J Med* 1988; 66 :39-54.

Madkour MM. Epidemiologic aspects. In: Madkour MM, editor. *Madkour's brucellosis*. Springer: New York; 2001. p. 21-32.

Magill GB, Killough JH, Said SI. Cortisone and combined antibiotic therapy of acute brucellosis melitensis. *Am J Med* 1954; 16 :810-7.

Malik GM. A clinical study of brucellosis in adults in the Asir region of southern Saudi Arabia. *Am J Trop Med Hyg* 1997;56:375-7.

Mantur B G 1988 *Prevalence of brucellosis in north Karnataka – a serological and cultural study*, MD Thesis, Karnataka university,

Mantur B G and Mangalgi S S 2004b Evaluation of conventional Castaneda and lysis centrifugation blood culture techniques for diagnosis of human brucellosis; *J. Clin. Microbiol.* **42** 4327–4328

Mantur B G, Akki A S, Mangalgi S S, Patil S V, Gobbur R H and Peerapur B V 2004a Childhood brucellosis a microbiological, epidemiological and clinical study; *J. Trop. Pediatr.* **50** 153–157

Mantur B G, Amarnath S K and Shinde R S 2007b Review of clinical and laboratory features of human brucellosis; *Indian J. Med. Microbiol.* **25** 188–202.

Mantur B G, Bidari L H, Akki A S, Mulimani M S and Tikare N V 2007a Diagnostic yield of blood clot culture in the accurate diagnosis of enteric fever and human brucellosis; *Clin. Lab.* **53** 57–61

Mantur B G, Biradar M S, Bidri R C, Mulimani M S, Veerappa, Kariholu P, Patil S B and Mangalgi S S 2006 Protean clinical manifestations and diagnostic challenges of human brucellosis in adults: 16 years' experience in an endemic area; *J. Med. Microbiol.* **55** 897–903

Mantur B G and Amarnath S K 2008. *Brucellosis in India a review*; *J. Biosci.* **33** 539–547

Mantur B G, Mulimani M S, Bidari L H, Akki A S and Tikare N V 2008a Bacteremia is as unpredictable as clinical manifestations in human brucellosis; *Int. J. Infect. Dis.* **12** 303–307

Mantur B G, Mulimani M S, Bidari L H, Akki A S and Tikare N V 2008b Splenic puncture: diagnostic accuracy and safety in infectious diseases; *Int. J. Infect. Dis.* **12** 446–447

Mantur BG, Akki AS, Mangalgi SS, Patil SV, Gobbur RH, Peerapur BV. Childhood brucellosis - a microbiological, epidemiological and clinical study. *J Trop Pediatr* 2004; 50 :153–7.

Mantur BG, Biradar MS, Bidri RC, Mulimani MS, Veerappa, Kariholu P, et al. Protean clinical manifestations and diagnostic challenges of human brucellosis in adults: 16 years' experience in an endemic area. *J Med Microbiol* 2006; 55 :897-903.

Mantur BG, Mangalgi SS, Mulimani M. *Brucella melitensis*: A sexually transmissible agent? *Lancet* 1996;347:1763.

Mantur BG, Mangalgi SS. Evaluation of conventional Castaneda and lysis centrifugation blood culture techniques for diagnosis of human brucellosis. *J Clin Microbiol* 2004; 42 :4327-8.

Mantur BG, Mulimani MS, Mangalgi SS, Patil AV. Brucellar epididymo-orchitis-report of five cases. *Indian J Med Microbiol* 2001; 19 :208-11.

Mantur BG. Prevalence of brucellosis in north Karnataka: A serological and cultural study. MD. Thesis submitted to Karnataka University, Dharwad; 1988.
Marston JA. Report on fever (Malta). Great Britain Army Med Dept Rep 1861;3:486.

Mathur T N 1964 *Brucella* strains isolated from cows, buffaloes, goats, sheep and human beings at Karnal: Their significance with regard to the epidemiology of brucellosis; *Indian J. Med.Res.* **52** 1231–1240

Mathur T N 1968 The epidemiology of human brucellosis in Haryana with regard to 215 strains of brucella isolated from man and animals; *Indian J. Pathol. Bacteriol.* **11** 244–249

McDermott J J and Arimi S M 2002 Brucellosis in sub-Saharan Africa: epidemiology, control and impact; *Vet. Microbiol.* **90** 111–134

McDonald W L, Jamaludin R, Mackereth G, Hansen M, Humphrey S, Short P, Taylor T, Swingle J *et al* 2006 Characterization of a *Brucella* sp. strain as a marine-mammal type despite isolation from a patient with spinal osteomyelitis in New Zealand; *J. Clin. Microbiol.* **44** 4363–4370

McLean D R, Russell N and Khan M Y 1992 Neurobrucellosis: clinical and therapeutic features; *Clin. Infect. Dis.* **15** 582–590

Meyer KF, Shaw EB. Comparison of morphologic, cultural and biochemical characteristics of *Brucella abortus* and *Brucella melitensis*. Studies on genus *Brucella* Nov. Gen. 1. *J Infect Dis* 1920;27:173-84.

Michaux S, Paillisson J, Carles-Nurit MJ, Bourg G, Allardet-Servent A, Ramuz M. Presence of two independent chromosomes in the *Brucella melitensis* 16M genome. *J Bacteriol* 1993;175:701-5.

Moreno E, Stackebrandt E, Dorsch M, Wolters J, Busch M, Mayer H. *Brucella abortus* 16S rRNA and lipid A reveal a phylogenetic relationship with members of the alpha-2 subdivision of the class Proteobacteria. *J Bacteriol* 1990;172:3569-76.

Moreno S, Arija J, Espinosa FJ, Podzaczek D, Miro JM, Rivero A, *et al*. Brucellosis in patients infected with the human immunodeficiency virus. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1998; 17 :319-26.

Mousa A R, Muhtaseb S A, Almudallal D S, Khodeir S M and Marafi e A A 1987 Osteoarticular complications of brucellosis: a study of 169 cases; *Rev. Infect. Dis.* **9** 531–543

Naparstek E, Block C S and Slavin S 1982 Transmission of brucellosis by bone marrow transplantation; *Lancet.* **1** 574–575

Navarro E, Casao MA, Solera J. Diagnosis of human brucellosis using PCR. *Expert Rev Mol Diagn* 2004; 4 :115-23.

Navarro E, Escribano J, Fernandez J, Solera J. Comparison of three different PCR methods for detection of *Brucella* spp in human blood samples. *FEMS Immunol Med Microbiol* 2002; 34 :147-51.

Navarro-Martinez A, Solera J, Corredoira J, Beato JL, Martinez-Alfaro E, Atienzar M, et al. Epididymoorchitis due to *Brucella melitensis*: A retrospective study of 59 patients. *Clin Infect Dis* 2001; 33 :2017-22.

Nicoletti P 2001 Control, eradication and prevention; in *Madkour's brucellosis* (ed.) M M Madkour (New York: Springer) pp 280–285

Noviello S, Gallo R, Kelly M, Limberger RJ, De Angelis K, Cain L, et al. Laboratory-acquired brucellosis. *Emerg Infect Dis* 2004;10:1848-50.

Oliveira S, Splitter GA. Immunization of mice with recombinant L7/L12 ribosomal protein confers protection against *Brucella abortus* infection. *Vaccine* 1996;14:959-62.

Orduna A, Almaraz A, Prado A, Gutierrez MP, Garcia-Pascual A, Duenas A, et al. Evaluation of an immunocapture-agglutination test (Brucellacapt) for serodiagnosis of human brucellosis. *J Clin Microbiol* 2000; 38 :4000-5.

Ozbay K, Inanmis RA. Successful treatment of brucellosis in a twin pregnancy. *Clin Exp Obstet Gynecol* 2006; 33 :61-2.

Ozkurt Z, Erol S, Tasyaran MA, Kaya A. Detection of *Brucella melitensis* by the BacT/Alert automated system and *Brucella* broth culture. *Clin Microbiol Infect* 2002; 8 :749-52.

Palanduz A, Palanduz S, Guler K, Guler N. Brucellosis in a mother and her young infant: Probable transmission by breast milk. *Int J Infect Dis* 2000;4:55-6.

Panjarathinam R and Jhala C I 1986 Brucellosis in Gujarat state; *Indian J. Pathol. Microbiol.* **29** 53–60

Pappas G, Akritidis N, Bosilkovski M, Tsianos E. Brucellosis. *N Engl J Med* 2005; 352 :2325-36.

Pappas G, Bosilkovski M, Akritidis N, Mastora M, Krteva L and Tsianos E 2003 Brucellosis and the respiratory system; *Clin. Infect. Dis.* **37** e95–e99

Randhawa A S, Kalra D S and Kapur M P 1974 Some seroepidemiologic observations on brucellosis in humans and animals; *Indian J. Med. Sci.* **28** 133–138

Pappas G, Bosilkovski M, Akritidis N, Mastora M, Krteva L, Tsianos E. Brucellosis and the respiratory system. *Clin Infect Dis* 2003; 37 :e95-9.

Pappas G, Christou L, Akritidis N, Tsianos EV. Quinolones for brucellosis: Treating old diseases with new drugs. *Clin Microbiol Infect* 2006; 12 :823-5.

Pappas G, Papadimitriou P, akritidis N, Christou L and Tsianos E V 2006The new global map of human brucellosis; *Lancet. Infect. Dis.* 6, 91–99

Paton NI, Teu NW, Vu CF, Teo TP. Brucellosis due to blood transfusion. *Clin Infect Dis* 2001;32:1248.

Paul J, Gilks C, Batchelor B, Ojoo J, Amir M, Selkon JB. Serological responses to brucellosis in HIV- seropositive patients. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1995; 89 :228-30.

Paulsen IT, Seshadri R, Nelson KE, Eisen JA, Heidelberg JF, Read TD, et al. The *Brucella suis* genome reveals fundamental similarities between animal and plant pathogens and symbionts. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002;99:13148-53.

Pedro-Botet J, Coll J, Auguet T, Rubies-Prat J. Brucellosis and HIV infection: A casual association? *AIDS* 1992; 6:1039-40.

Perry MB, Bundle DR. Lipopolysaccharide antigens and carbohydrates of *Brucella*. In: Adams LG, editor. *Advances in brucellosis research*. Austin, Texas A and M University; 1990. p. 76-88.

Pizarro-Cerda J, Moreno E, Sanguedolce V, Mege JL, Gorvel JP. Virulent *Brucella abortus* prevents lysosome fusion and is distributed within autophagosome-like compartments. *Infect Immun* 1998; 66 :2387-92.

Probert WS, Schrader KN, Khuong NY, Bystrom SL, Graves MH. Real-time multiplex PCR assay for detection of *Brucella* spp, *B. abortus* and *B.melitensis*. *J Clin Microbiol* 2004; 42 :1290-3.

Queipo-Ortuno MI, Colmenero JD, Munoz N, Baeza G, Clavijo E, Morata P. Rapid diagnosis of *Brucella* epididymo-orchitis by real time polymerase chain reaction assay in urine samples. *J Urol* 2006; 176 :2290-3.

Radolf JD. Southwestern Internal Medicine Conference: Brucellosis: Don't let it get your goat!. *Am J Med Sci* 1994; 307 :64-75.

Randhawa AS, Kalra DS, Kapur MP. Some sero-epidemiologic observations on brucellosis in humans and animals. *Indian J Med Sci* 1974; 28 :133-8.

Redkar R, Rose S, Bricker B, DeVecchio V. Real-time detection of *Brucella abortus*, *Brucella melitensis* and *Brucella suis*. *Mol Cell Probes* 2001; 15 :43-52.

Reguera JM, Alarcon A, Miralles F, Pachon J, Juarez C, Colmenero JD. *Brucella* endocarditis: Clinical, diagnostic and therapeutic approach. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2003; 22 :647-50.

Renukaradhya G J, Isloor S and Rajasekhar M 2002 Epidemiology, zoonotic aspects, vaccination and control/eradication of brucellosis in India; *Vet. Microbiol.* **90** 183–195

Rigby CE, Fraser AD. Plasmid transfer and plasmid-mediated genetic exchange in *Brucella abortus*. *Can J Vet Res* 1989;53:326-30.

Rijpens NP, Jannes G, Van Asbroeck M, Rossau R, Herman LM. Direct detection of *Brucella* spp. in raw milk by PCR and reverse hybridization with 16S-23S rRNA spacer probes. *Appl Environ Microbiol* 1996; 62 :1683-8.

Robson J M, Harrison M W, Wood R N, Tilse M H, McKay A B and Brodribb T R 1993 Brucellosis: re-emergence and changing epidemiology in Queensland; *Med. J. Aust.* **159** 153–158 Sehgal S and Bhatia R 1990 Zoonoses in India; *J. Commun. Dis.*

Romero C, Gamazo C, Pardo M, Lopez-Goni I. Specific detection of *Brucella* DNA by PCR. *J Clin Microbiol* 1995; 33 :615-7.

Ross HM, Jahans KL, MacMillan AP, Reid RJ, Thompson PM, Foster G. *Brucella* species infection in North Sea seal and cetacean populations. *Vet Rec* 1996;138:647-8.

Ruiz-Mesa JD, Sanchez-Gonzalez J, Reguera JM, Martin L, Lopez-Palmero S, Colmenero JD. Rose Bengal test: Diagnostic yield and use for the rapid diagnosis of human brucellosis in emergency departments in endemic areas. *Clin Microbiol Infect* 2005; 11 :221-5.

Sanchez DO, Zandomeni RO, Cravero S, Verdun RE, Pierrou E, Faccio P, et al. Gene discovery through genomic sequencing of *Brucella abortus*. *Infect Immun* 2001;69:865-8.

Sangari FJ, Garcia-Lobo JM, Aguero J. The *Brucella abortus* vaccine strain B19 carries a deletion in the erythritol catabolic genes. *FEMS Microbiol Lett* 1994;121:337-42.

Sangari FJ, Seoane A, Rodriguez MC, Aguero J, Garcia Lobo JM. Characterization of the urease operon of *Brucella abortus* and assessment of its role in virulence of the bacterium. *Infect Immun* 2007; 75 :774-80.

Sehgal S, Bhatia R. Zoonoses in India. *J Commun Dis* 1990; 22 :227-35.

Sen MR, Shukla BN, Goyal RK. Seroprevalence of brucellosis in and around Varanasi. *J Commun Dis* 2002; 34 :226-7.

Shakir RA, Al-Din AS, Araj GF, Lulu AR, Mousa AR, Saadah MA. Clinical categories of neurobrucellosis: A report on 19 cases. *Brain* 1987; 110 :213-23.

Shehabi A, Shakir K, el-Khateeb M, Qubain H, Fararjeh N and Shamat A R 1990 Diagnosis and treatment of 106 cases of human brucellosis; *J. Infect.* **20** 5–10

Smits H L, Abdoel T H, Solera J, Clavijo E and Diaz R 2003 Immunochromatographic *Brucella*-specific immunoglobulin M and G lateral flow assays for rapid serodiagnosis of human brucellosis; *Clin. Diagn. Lab. Immunol.* **10** 1141–1146

Shehabi A, Shakir K, el-Khateeb M, Qubain H, Fararjeh N, Shamat AR. Diagnosis and treatment of 106 cases of human brucellosis. *J Infect* 1990; 20 :5-10.

Smits HL, Abdoel TH, Solera J, Clavijo E, Diaz R. Immunochromatographic *Brucella*-specific immunoglobulin M and G lateral flow assays for rapid serodiagnosis of human brucellosis. *Clin Diagn Lab Immunol* 2003; 10 :1141-6.

Smits HL, Kadri SM. Brucellosis in India: A deceptive infectious disease. *Indian J Med Res* 2005; 122 :375-84.

Sohn A H, Probert W S, Glaser C A, Gupta N, Bollen A W, Wong J D, Grace E M and McDonald W C 2003 Human Neurobrucellosis with intracerebral granuloma caused by a marine mammal *Brucella* spp.; *Emerg. Infect. Dis.* **9** 485–488

Solera J, Martinez-Alfaro E, Espinosa A, Castillejos ML, Geijo P, Rodriguez-Zapata M. Multivariate model for predicting relapse in human brucellosis. *J Infect* 1998; 36 :85-92.

Solera J, Martinez-Alfaro E, Espinosa A. Recognition and optimum treatment of brucellosis. *Drugs* 1997; 53 :245-56.

Tanyel E, Fisgin N T, Yildiz L, Leblebicioglu H, Doganci L and Tulek N 2008 Panniculitis as the initial manifestation of brucellosis: a case report; *Am. J. Dermatopathol.* **30** 169–171

Thakur S D and Thapliyal D C 2002 Seroprevalence of brucellosis in man; *J. Commun. Dis.* **34** 106–109

Tikare N V, Mantur B G and Bidari L H 2008 Brucellar meningitis in an infant – evidence for human breast milk transmission; *J. Trop. Pediatr.* **54** 272–274

Tsolia M, Drakonaki S, Messaritaki A, Farmakakis T, Kostaki M, Tsapra H and Karpathios T 2002 Clinical features, complications and treatment outcome of childhood brucellosis in central Greece; *J. Infect.* **44** 257–262

Vergier JM, Grimont F, Grimont PA, Grayon M. *Brucella*, a monospecific genus as shown by deoxyribonucleic acid hybridization. *Int J Syst Bacteriol* 1985;35 :292-5.

WHO. The development of new improved brucellosis vaccine. Joint FAO/WHO expert committee. 1997;WHO/EMC/ ZD1/98.14.

Williams E. Brucellosis and the British public. *Lancet* 1970; 1:1220-2.

Wise RI. Brucellosis in the United States. Past, present and future. *JAMA* 1980; 244 :2318-22.

Wright AE, Smith F. On the application of the serum test to the differential diagnosis of typhoid fever and Malta fever. *Lancet* 1897;1:656-9.

Yagupsky P, Baron EJ. Laboratory exposures to Brucellae and implications for bioterrorism. *Emerg Infect Dis* 2005;11:1180-5.

Young E J 1995 An overview of human brucellosis; *Clin. Infect. Dis.* **21** 283–290

Young EJ. Brucellosis: Clinical and laboratory aspects. In: Corbel MJ, editor. CRC Press Inc: Florida, USA; 1989.

Young EJ. Human brucellosis. *Rev Infect Dis* 1983; 5:821-42.

Young EJ. Serologic diagnosis of human brucellosis: Analysis of 214 cases by agglutination tests and review of the literature. *Rev Infect Dis* 1991; 13 :359-72.

Zammit T. Report of the Commission on Mediterranean fever, part III. Harrison and Sons: London; 1905. p.83

Zhan Y, Kelso A, Cheers C. Differential activation of Brucella reactive CD4 + T cells by Brucella infection or immunization with antigenic extracts. *Infect Immun* 1995 ; 63:969-75.