SALUD

SECRETARÍA DE SALUD

LNR-INDRE BRUCELOSIS

DGE EPIDEMIOLOGÍA

Epi-centro de la Salud Pública

QBP. Liz Grisel Beltrán Parra

Brucelosis

Sinónimos

Brucelosis	Sir David Bruce
Enfermedad de Bang	Bernhard Bang
Presentación clínica	Fiebre ondulante

Localización geográfica :

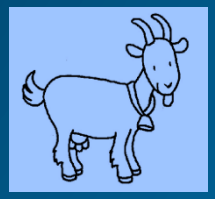
fiebre de Malta, fiebre mediterránea
fiebre de Gibraltar, etc.

BRUCELOSIS

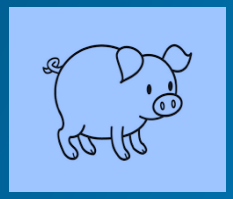
Genero: *Brucella*

Especies:

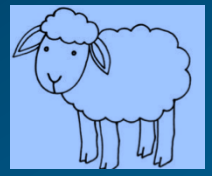
B. abortus



B. melitensis



B. suis



B. ovis

B. canis

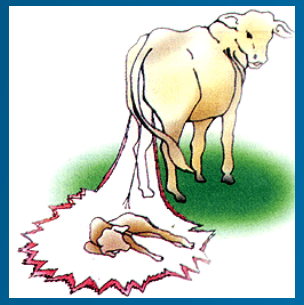
B. neotomae

Mecanismos de Transmisión

SALUD
SECRETARÍA DE SALUD

Contacto directo

Inhalación y contacto con animales infectados



Contacto indirecto

A través de alimentos (leche y sus derivados)
Material contaminado

Humanos

Es asociada al consumo de leche y quesos no pasteurizados
Ocupacional exposición en el laboratorio y por médicos veterinarios

Diagnóstico por laboratorio

- Datos clínicos
- Antecedentes epidemiológicos
- Resultados de laboratorio

Métodos de laboratorio:

- Métodos directos (bacteriológico)
- Identificación del agente etiológico
- Métodos indirectos(serológico)
- Anticuerpos específicos anti brucela

Diagnostico bacteriológico

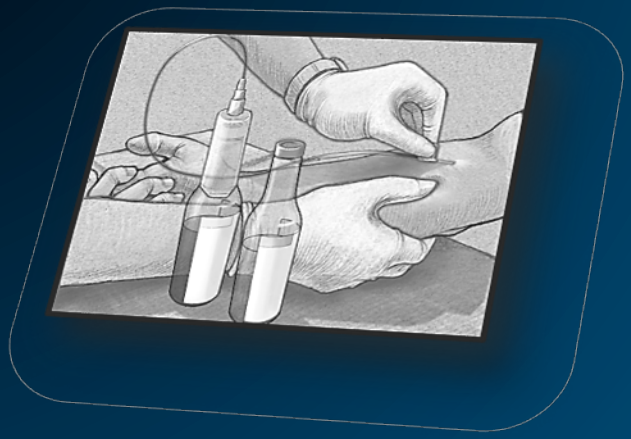
Bacteriológico
Sangre, LCR, Medula ósea, ganglios linfáticos, Líquido sinovial
Cultivo
Aislamiento
Identificación de especie y biovariedades

Diagnóstico Bacteriológico

Cuando tomar la muestra	Etapa febril Tan pronto como sea posible Antes de iniciar tratamiento antibacteriano
Cantidad de muestras	Tomar 2 o 3 muestras en bacteriemia: Adultos: 8-10 mL Pediátricos de: 2-3 mL
Medio de transporte	Frasco para hemocultivo a temperatura ambiente sin refrigerar

Diagnóstico bacteriológico

Medio bifásico , Ruiz Castañeda



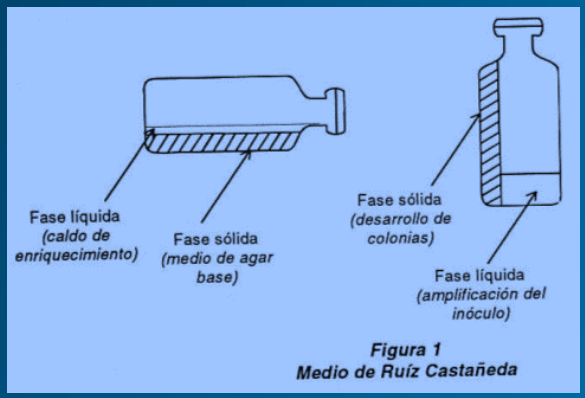


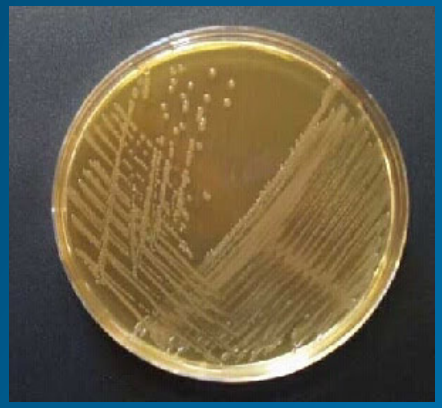
Figura 1
Medio de Ruíz Castañeda

- Inocular inmediatamente.
- Incubar por 4 a 6 semanas a 37ºC.
- Revisar los hemocultivos bañando la superficie diariamente.

Aislamiento

Medio de cultivo:

Agar soya tripticasa enriquecido
Agar sangre de carnero 10%
Mac Conkey



Condiciones de CO_2 a 37ºC de 48 a 72 horas.
Condiciones de aerobiosis y anaerobiosis

Morfología colonial: colonias pequeñas de 1 a 2mm ,color ámbar.

.

Nivel de bioseguridad lll

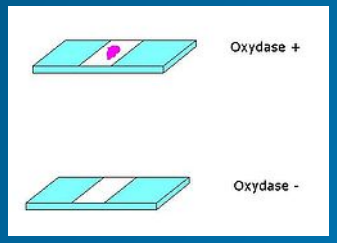
Aislamiento

SALUD
SECRETARÍA DE SALUD

Pruebas de identidad:

Oxidasa
Catalasa
Tinción de Gram

Aglutinación con suero polivalente



Identificación

Especie y biovariedad

Bioquímicas	Urea TSI SIM Citrato de Simmons TSA con tira de acetato de plomo	+ Glucosa y lactosa - Movilidad :neg Indol: neg Negativo + Negativo
Crecimiento en colorantes	Tionina 1:25,000, 1:50,000 Fucsina básica 1:50,00; 1:100,000	Variable

Diagnóstico bacteriológico

Susceptibilidad a bacteriófagos	Tiblisi (Tb), Wydbrige (Wy), Berkeley (Bk)
Aglutinación con sueros monoespecificos	A y M

Determinación de especie y biovariedad

Con base a la morfología colonial las pruebas con colorantes y las pruebas bioquímicas y fisiológicas

Cuadro de identificación de especie y biovariedad

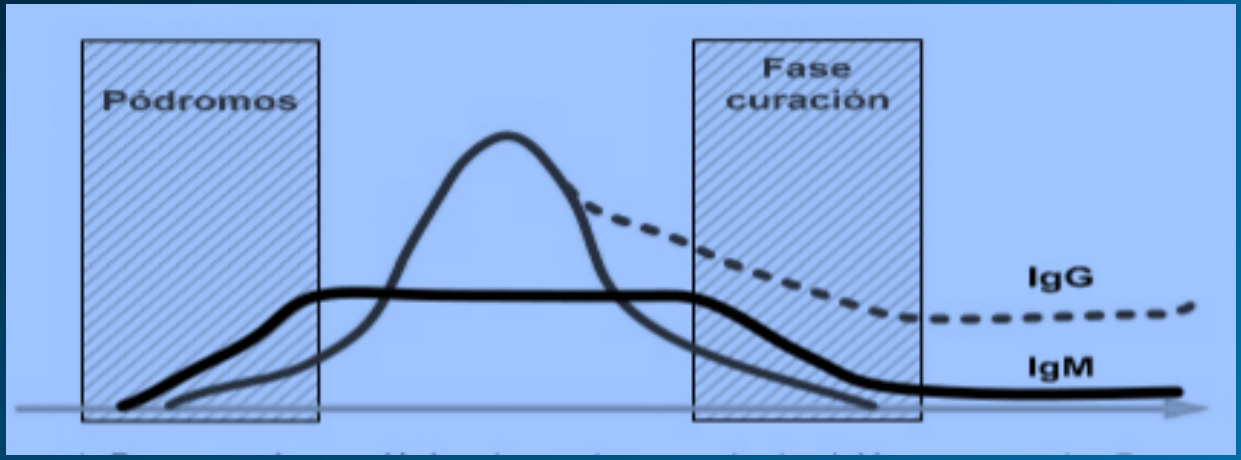
SALUD
SECRETARÍA DE SALUD

Tabla I. *Especies que integran el género* Brucella, *hospedadores conocidos y características bioquímicas y antigénicas que permiten clasificarlas en biovariedades. A y M : configuraciones alternativas del PSO, R: LPS de las cepas rugosas.*

Especie	*Hospedador*	*Biovariedad*	*Producción de H_2S*	*Necesidad de CO_2*	*Sensibilidad a los colorantes*		*Aglutinación con sueros monoespecíficos*		
					Tionina	*Fucsina*	A	M	R
B. melitensis	Cabras, bovinos,	1	-	-	+	+	-	+	-
	ovino, cánidos,	2	-	-	+	+	+	-	-
	hombre	3	-	-	+	+	+	+	-
B. abortus	Bovinos,	1	+	+	-	+	+	-	-
	cánidos,hombre	2	+	+	-	-	+	-	-
		3	+	+	+	+	+	-	-
		4	+	+	-	+	-	+	-
		5	-	-	+	+	-	+	-
		6	-	-	+	+	+	-	-
		7	+	-	+	+	+	+	-
		8	-	+	+	+	+	+	-
		9	+	+	+	+	-	+	-
B. suis	Cerdos, cánidos,	1	-	-	+	-	+	-	-
	hombre	2	-	-	+	-	+	-	-
		3	-	-	+	+	+	-	-
		4	-	-	+	-	+	+	-
		5	-	-	+	-	-	+	-
B. canis	Cánidos, hombre		-	-	+	-	-	-	+
B. neotomae	Roedores		+	-	-	-	+	-	-
B. ovis	Ovinos		-	+	+	-	-	-	+
B. maris	Focas, leones marinos, delfines, ballenas.								

Diagnóstico serológico

- Detección de anticuerpos anti-*Brucella*
  - Aglutinación antígeno-anticuerpo



Diagnóstico serológico

SALUD
SECRETARÍA DE SALUD

Serológico
Prueba tamiz: **Aglutinación con Rosa de Bengala** **Cualitativa**
Pruebas confirmatorias **Aglutinación Estándar en microplaca** **Aglutinación con 2-mercaptoetanol en microplaca** **Semicuantitativa**

SALUD
SECRETARÍA DE SALUD

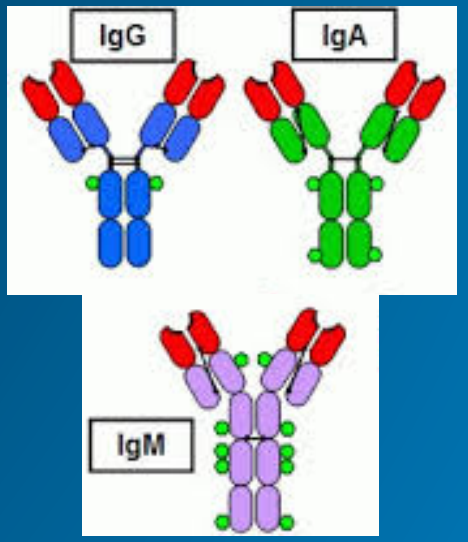
Antígenos para el Diagnóstico serológico

Característica	Rosa de Bengala	Antígeno de Wright (Blanco)
Cepa	*Brucella abortus* 119-3 o 99S	*Brucella abortus* 119-3 o 99S
Concentración celular	10,0± 2	2,0 – 4.5%
pH	3.65 ± 0,05	6,5 – 8,0

Diagnóstico serológico

Aglutinación con Rosa de Bengala

- Determina anticuerpos totales:
- pH de 3.65
- Sensible
- Especifica
- Cualitativa

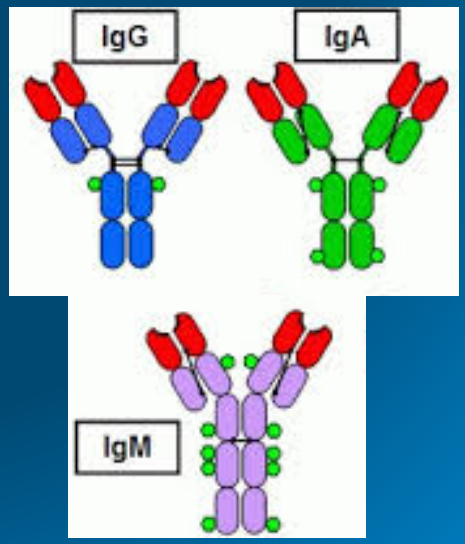
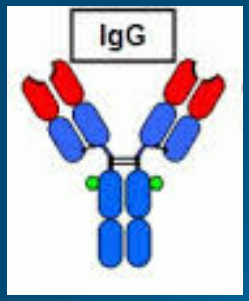


Aglutinación con Rosa de Bengala

- 30 µl de suero + 30µL de Rosa de bengala
- Lectura en 4 min

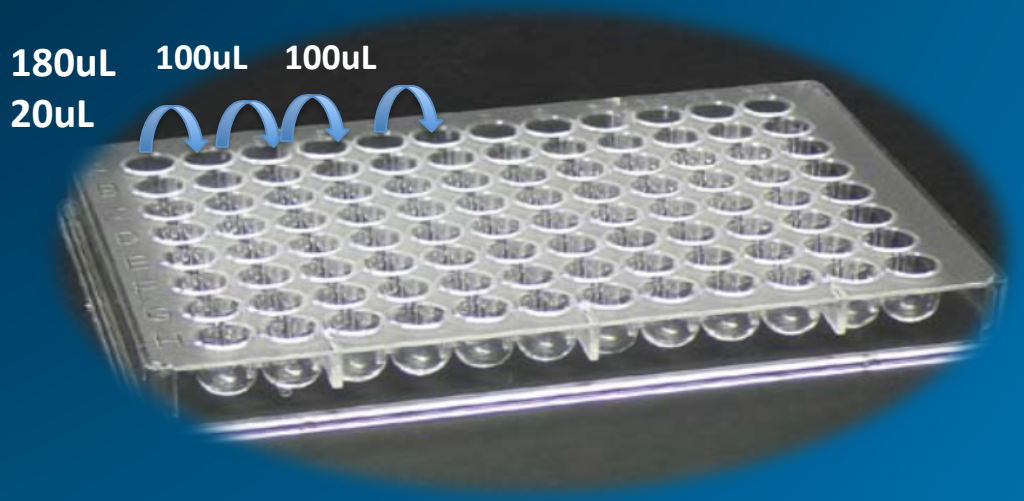
- Reacción positiva: Formación de grumos de aglutinación.
- Reacción negativa: Ausencia de grumos de aglutinación.
- Cualquier resultado positivo en la prueba tamiz debe ser analizado con las pruebas confirmatorias que determinen el tipo de anticuerpos presentes, así como el título.

Pruebas confirmatorias

Aglutinación estándar	Aglutinación 2-Mercaptoetanol
	 Inactiva a las IgM

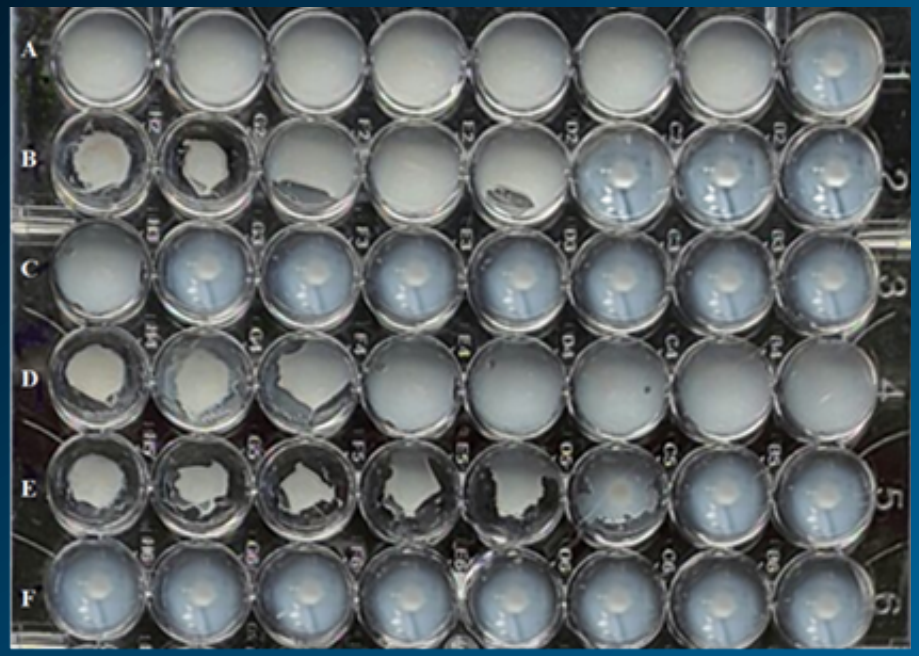
Pruebas confirmatorias

	Aglutinación estándar	Aglutinación 2-ME
Suero	20 microlitros	20 microlitros
Diluyente	Solución salina fenolada Al 0.5%	Solución de 2-ME al 0.71%



Diluciones: 1:20; 1:40; 1:80……1:5120

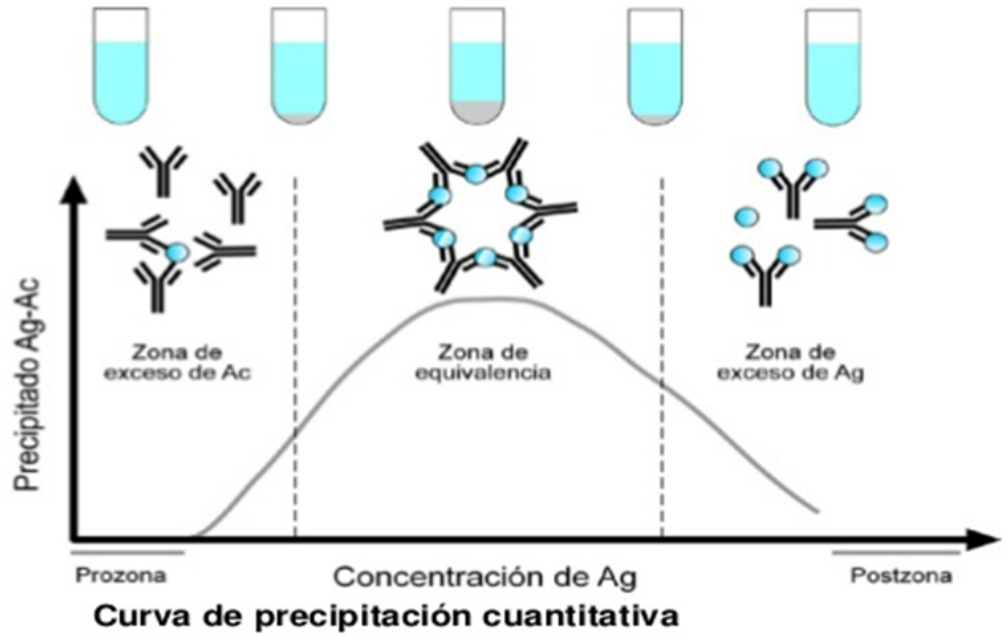
Pruebas confirmatorias



Reacción positiva: formación de una malla de aglutinación y clarificación del medio

Reacción negativa: formación de un botón de sedimentación

Diagnóstico Bacteriológico



Curva de precipitación cuantitativa

Pruebas confirmatorias.

- Aglutinación estándar en microplaca (SAT)

La prueba se considera positiva a partir de la dilución 1:80.

- Aglutinación con 2-mercaptoetanol (2-ME).

Los resultados en la prueba 2-ME se consideran significativos desde títulos de 1:20, reflejando una etapa activa de la infección.

Pruebas confirmatorias

Rosa de Bengala	Estándar	2-ME	Interpretación
Positiva	Negativa	Negativa	Indeterminado
Positiva	≥ 1:80	Negativa	Positiva
Positiva	≤ 1:40	1:20	Positiva
Positiva	≤ 1:40	Negativoa	Indeterminado

Pruebas confirmatorias

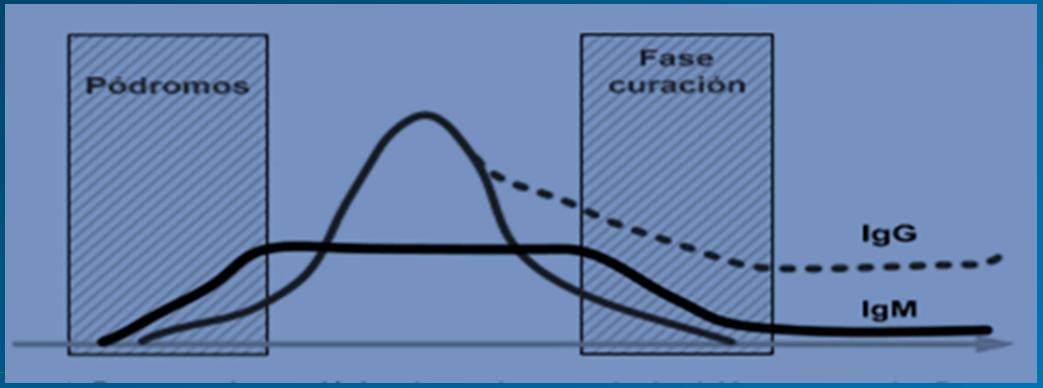
SALUD
SECRETARÍA DE SALUD

Indeterminado:

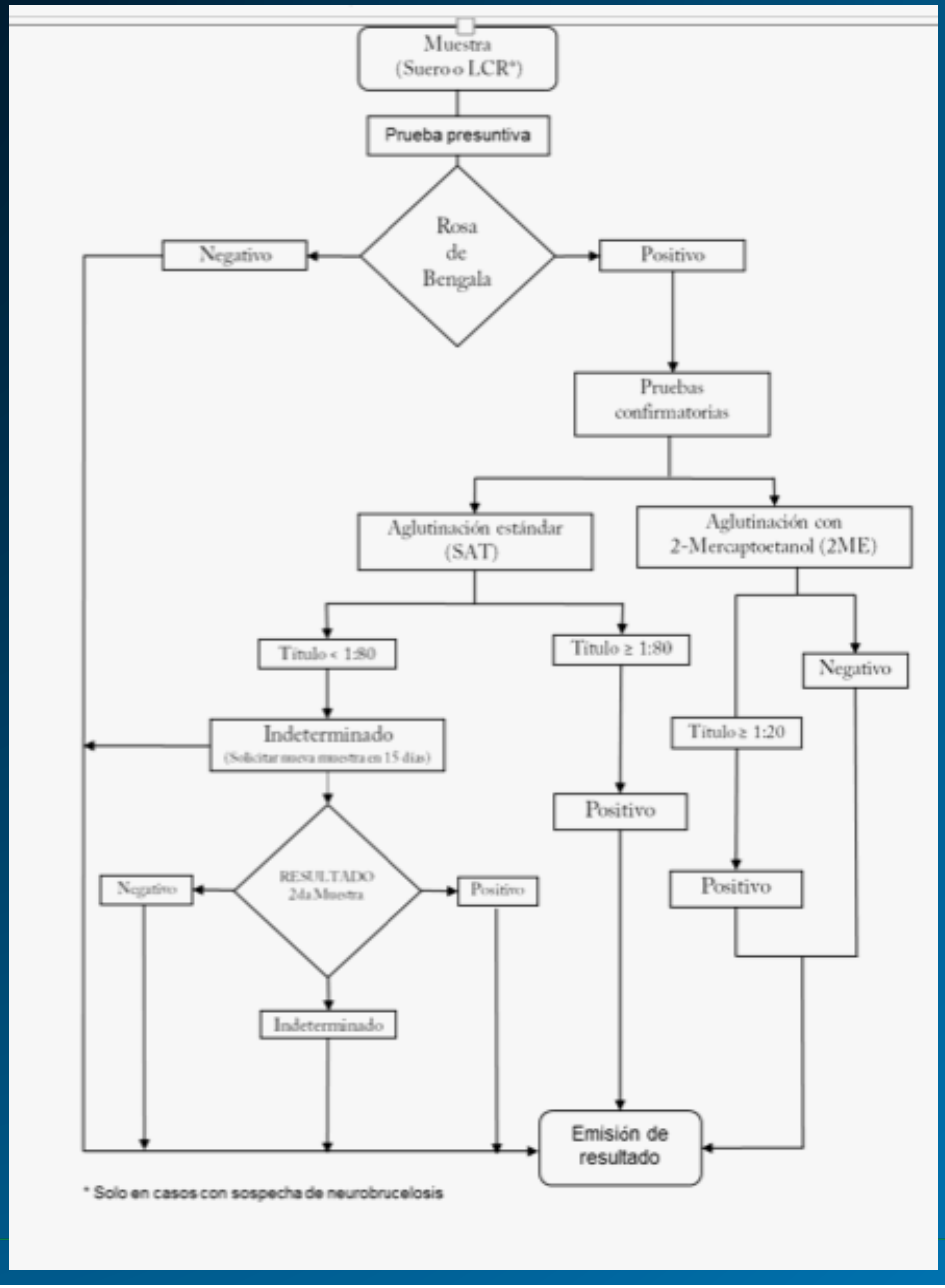
15 días después de la primera toma

Pacientes confirmados :

2°,3° y 4° toma de muestra a los 30, 90 y 180 días respectivamente después de haber concluido el tratamiento.



Algoritmo de Diagnóstico serológico



NOM-022-SSA2-1994, Para la prevención y control de la brucelosis en el hombre

SALUD
SECRETARÍA DE SALUD

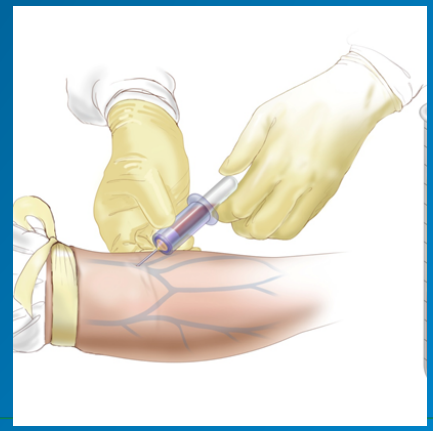
PRUEBA		POSIBLES	RESULTADOS	
	a	b	c	d
SAT	+	+	-	-
2-ME	-	+	+	-
Interpretación	Infección en etapa inicial	Infección de curso prolongado	Revisar técnica Repetir estudio	Repetir estudio, si se mantiene (-) se descarta brucelosis

Toma y manejo de envió de muestras

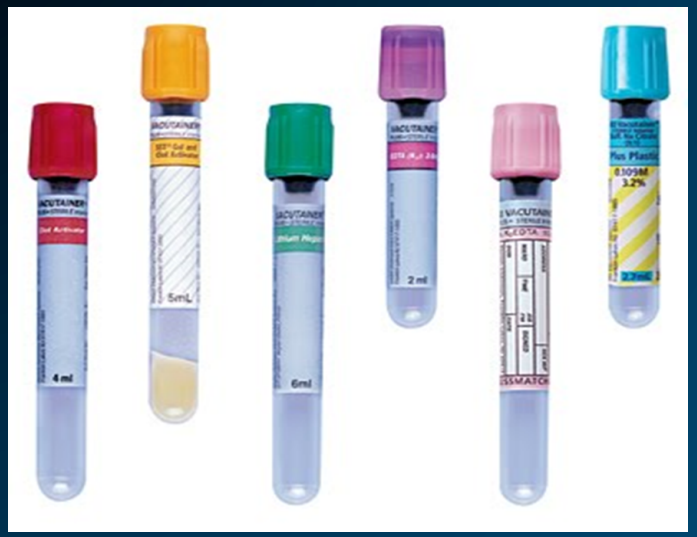
Objetivo de la toma de muestra

Obtener una muestra representativa cuali y cuantivamente de un material biológico del paciente que oriente:

- Diagnóstico
- Tratamiento
- Seguimiento
- Prevención de una enfermedad



Toma de muestra



CODIGO de COLOR	ADITIVO	MUESTRA	ANALISIS
Rojo	Sin Aditivo	Suero	Química Serología
Rojo/Gris / Amarillo Tapa Hemogard	Gel/Sin Aditivo	Suero	Química Serología
Celeste	Citrato	Plasma	Coagulación
Lila	EDTA	Plasma	Hematología
Verde	Heparina	Plasma	Química Serología
Negro	Citrato	Plasma	V.H.S.
Gris	Fluoruro	Plasma	Glucosa

- Introducir la muestra de sangre en el tubo de ensayo a través de las paredes y quitando la aguja de la jeringa.

Toma de muestra

Conservación de las muestras

Tipo de muestra	Número de muestra	Volumen de la muestra	Obtención	Envase	Conservación	Aditivos
Suero	1ª, 2ª, 3ª o 4ª muestra[a]	1.5 mililitros	La muestra es obtenida por personal calificado.	Tubo de ensaye que no sea de vidrio. Tubo eppendorf	4 horas a 20-25°C 72 horas a 4-8 °C Después de 72 h congelar a -20°C	Ninguno
Líquido cefalorraquídeo[b]	Una	1 mililitro	La muestra es obtenida por personal médico especialista	Tubo de ensaye que no sea de vidrio. Tubo eppendorf	5 horas a 20-25°C 48 horas a 4-8 °C Después de 48 h congelar a -20°C	Ninguno

a : Para confirmar el diagnóstico a los pacientes con resultado indeterminado se les solicitará por única vez una segunda muestra 15 días despues de la primera toma. Se debe realizar el seguimiento de los pacientes con diagnóstico positivo, por lo que se realiza una segunda, tercera y cuarta toma a los 30, 90 y 180 días respectivamente una vez concluido el tratamiento.

b : Indicada para pacientes con caso sospechoso de neurobrucelosis.

SALUD
SECRETARÍA DE SALUD

Lineamientos de Vigilancia por Laboratorio de la Brucelosis

Instituto de Diagnóstico y Referencia Epidemiológicos

"Dr. Manuel Martínez Báez"

OBJETIVOS

Establecer y dar a conocer de forma clara y definida,

- ✓ **procedimientos estandarizados de diagnóstico ,**

  control de calidad

- ✓ **Garantizar la confiabilidad diagnóstico serologico de la RNLSP-Bru**

RNLSP-Bru

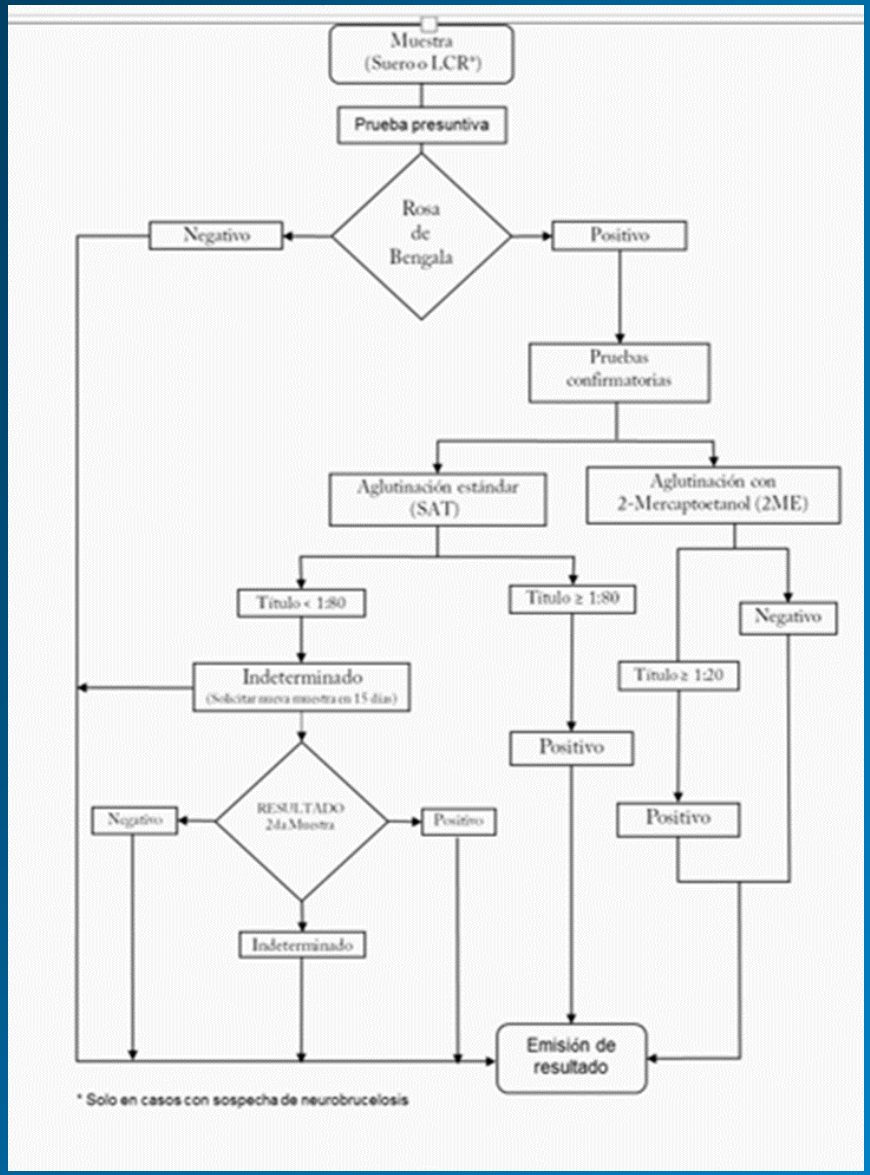
- ✓ LNR-InDRE
- ✓ 31-LESP
- ✓ Laboratorios jurisdiccionales o locales

Lineamientos

*Algoritmo diagnóstico
- control de calidad

*Diagnóstico oportuno y confiable

*Garantice la competencia diagnóstica de la RNLSP-Bru.



Estándares de calidad de la muestras

SALUD
SECRETARÍA DE SALUD

El estándar para la emisión de resultados es de 5 días hábiles para diagnóstico

Indicador	Tipo de indicador	Porcentaje Máximo	Valor del indicador	Fuente de información
Concordancia	Proceso	100	30	InDRE-SIS
Cumplimiento	Proceso	100	30	InDRE-SIS
Evaluación del desempeño	Desempeño	100	40	InDRE-SIS
Reconocimiento de la competencia técnica	Desempeño	100	40% de la calificación final	Supervisiones a los LESP

Programa de Evaluación al Desempeño

SALUD
SECRETARÍA DE SALUD

- Objetivo

- Evaluar el desempeño diagnóstico RNLSP

Identificar a aquellos con áreas de oportunidad por fallas técnicas u operativas

SALUD

SECRETARÍA DE SALUD

SECRETARÍA DE SALUD
SUBSECRETARÍA DE PREVENCIÓN Y PROMOCIÓN DE LA SALUD
DIRECCIÓN GENERAL DE EPIDEMIOLOGÍA
DIRECCIÓN GENERAL ADJUNTA DE EPIDEMIOLOGÍA

Dirección de Vigilancia Epidemiológica de Enfermedades No Transmisibles