

ABORDAJE INTEGRAL DE LA BRUCELOSIS EN EL MARCO DE UNA SALUD

Programa de Brucelosis en México: Diagnóstico por Laboratorio

QBP. Eduardo Jiménez Sánchez
JEFE DEL LABORATORIO DE BRUCELOSIS
INSTITUTO DE DIAGNÓSTICO Y REFERENCIA EPIDEMIOLOGICOS



03 mayo 2022

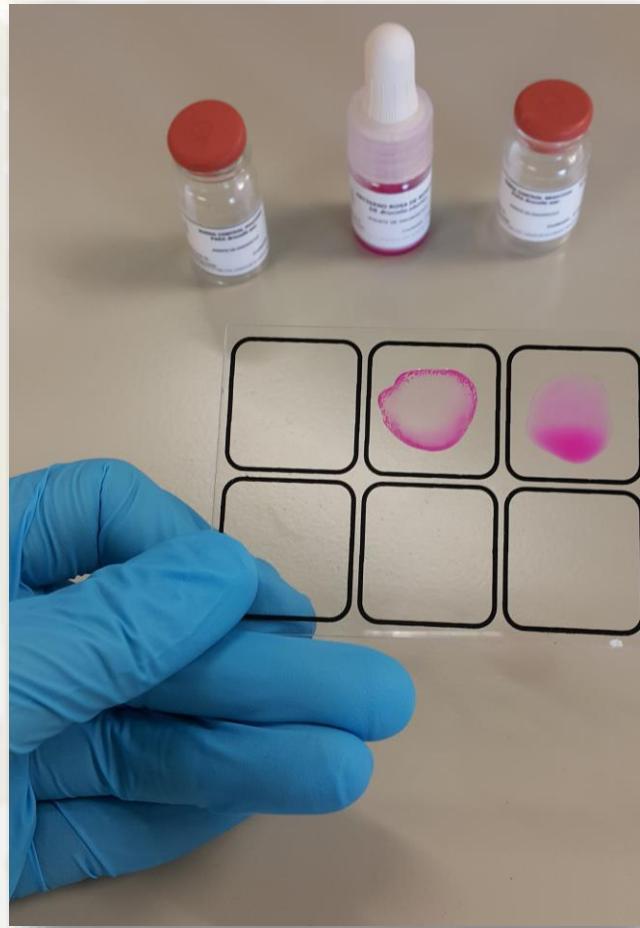
- Zoonosis de importancia a nivel nacional
- Incidencia 2.7 a 7.9 / 100,000
- Principal fuente de infección: consumo de productos lácteos sin pasteurizar.
- Principales especies implicadas:
 - *Brucella melitensis*
 - *Brucella abortus*
 - *Brucella suis*
- El **28.99%** del territorio nacional está reconocido en fase de Erradicación (Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria Fecha de publicación 23 de junio de 2021).
- **6,274** pacientes el 27% fue diagnosticado por clínica y evidencia epidemiológica y el 73% por pruebas de laboratorio.

BRUCELOSIS EN MÉXICO



3.42 % (66,982 hab.)

1992. Seroepidemiología de la brucellosis en México. Ahidé López Merino .Indre, ENCB, Salud Pública



DIAGNÓSTICO EN MÉXICO

Criterios de laboratorio

Diagnóstico presuntivo

- **Rosa de Bengala (RB) para tamiz:** Muestras reactivas deben ser confirmadas por una prueba confirmatoria validada.

Diagnóstico confirmatorio

- **Aislamiento de *Brucella* spp** en sangre u otras muestras clínicas.
- **Prueba de Aglutinación Estándar (SAT):** Prueba positiva.
- **Prueba de Aglutinación en presencia de 2 mercaptoetanol (2ME):** Prueba positiva.

Otras pruebas complementarias: ELISA, ELFA, PCR en tiempo real, Inmunocromatografía, Coombs, MALDITOF, etc.

LABORATORIO NACIONAL DE REFERENCIA

Instituto de Diagnóstico y Referencia Epidemiológicos, InDRE

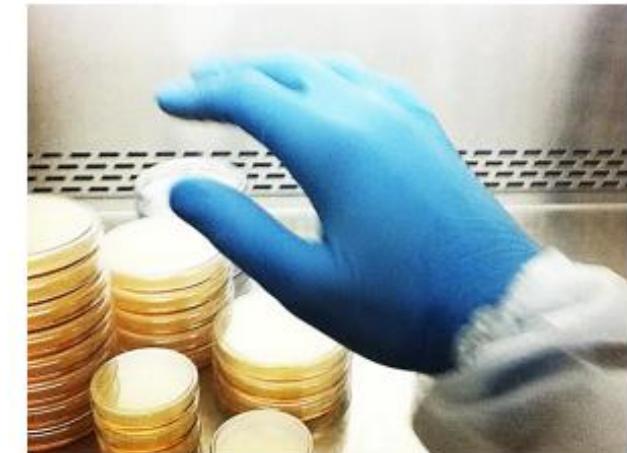
- Identificación y Biotipificación de cepas circulantes.
- Evaluación y validación de pruebas de laboratorio.
- Control de calidad de la Red de laboratorios.
- Proveedor de materiales de referencia como cepas, controles y antígeno.
- Estandarización de antígenos para diagnóstico de acuerdo a la población de estudio.
- Estandarización de procedimientos y pruebas de laboratorio.



LABORATORIO NACIONAL DE REFERENCIA

Instituto de Diagnóstico y Referencia Epidemiológicos, InDRE

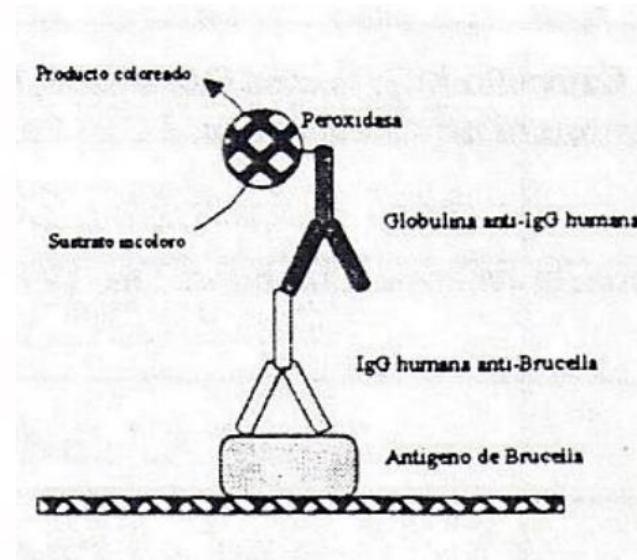
- **Identificación y Biotipificación de cepas circulantes.**
- Evaluación y validación de pruebas de laboratorio.
- Control de calidad de la Red de laboratorios.
- Proveedor de materiales de referencia como cepas, controles y antígeno.
- Estandarización de antígenos para diagnóstico de acuerdo a la población de estudio.
- Estandarización de procedimientos y pruebas de laboratorio.



LABORATORIO NACIONAL DE REFERENCIA

Instituto de Diagnóstico y Referencia Epidemiológicos, InDRE

- Identificación y Biotipificación de cepas circulantes.
- **Evaluación y validación de pruebas de laboratorio.**
- Control de calidad de la Red de laboratorios.
- Proveedor de materiales de referencia como cepas, controles y antígeno.
- Estandarización de antígenos para diagnóstico de acuerdo a la población de estudio.
- Estandarización de procedimientos y pruebas de laboratorio.



SENSIBILIDAD ANALÍTICA

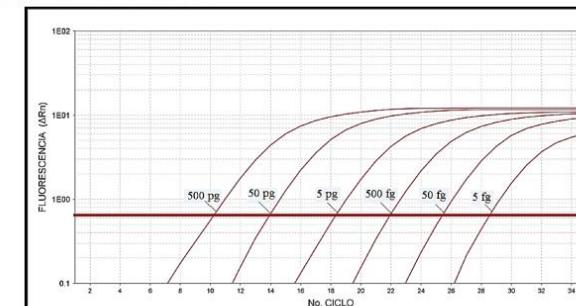
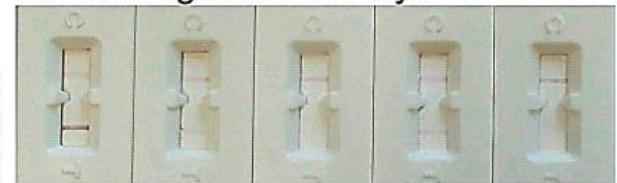
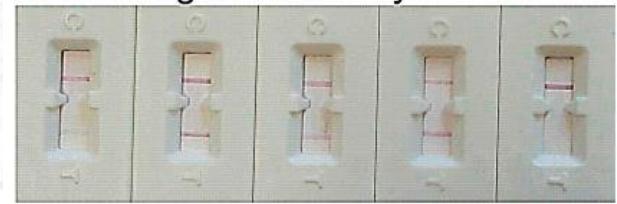


Figura 12. Sensibilidad de la prueba de PCR-IS711 para la detección de *Brucella* spp. Se realizaron diluciones decimales de DNA de *Brucella melitensis* M16. La sensibilidad analítica de la prueba es de 5 fg.

Brucella IgM flow assay



Brucella IgG flow assay



1-0 1:2,560 50-0 1:640 76-0 1:320 90-0 1:2,560 8-0 ≤1:20



LABORATORIO NACIONAL DE REFERENCIA

Instituto de Diagnóstico y Referencia Epidemiológicos, InDRE

RED NACIONAL DE VIGILANCIA POR LABORATORIO
Brucelosis

- Identificación y Biotipificación de cepas circulantes.
- Evaluación y validación de pruebas de laboratorio.
- **Control de calidad de la Red de laboratorios.**
- Proveedor de materiales de referencia como cepas, controles y antígeno.
- Estandarización de antígenos para diagnóstico de acuerdo a la población de estudio.
- Estandarización de procedimientos y pruebas de laboratorio.



Evaluación de los Laboratorios Estatales:

- Paneles de Evaluación Externa del Desempeño
- Auditoria y evaluación de competencia

LABORATORIO NACIONAL DE REFERENCIA

Instituto de Diagnóstico y Referencia Epidemiológicos, InDRE

- Identificación y Biotipificación de cepas circulantes.
- Evaluación y validación de pruebas de laboratorio.
- Control de calidad de la Red de laboratorios.
- **Proveedor de materiales de referencia como cepas, controles y antígeno.**
- **Estandarización de antígenos para diagnóstico de acuerdo a la población de estudio.**
- Estandarización de procedimientos y pruebas de laboratorio.

Reacciones Febriles

“Sin valor diagnóstico”

82% Se
67% Es
N= 633 muestras

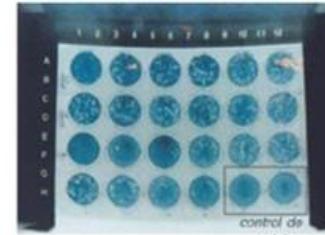


Figura N° 3. Resultados de PRNT. Se observa una muestra con título 1/10 y otra 1/40 (3)



Reacción de Widal (Antígeno Paratípico A, Antígeno Paratípico B, Antígeno Típico H, Antígeno Típico O)

Reacción de Huddleson (Antígeno Brucelar)

Reacción de Weil-Felix (Antígeno *Proteus vulgaris* Ox-19)

LABORATORIO NACIONAL DE REFERENCIA

Instituto de Diagnóstico y Referencia Epidemiológicos, InDRE

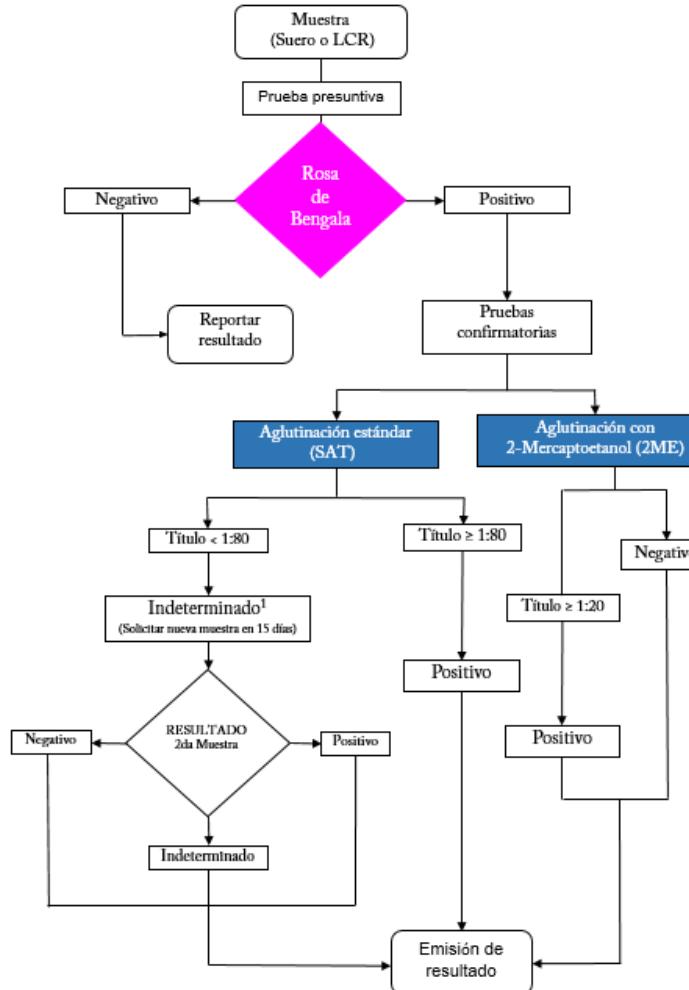
- Identificación y Biotipificación de cepas circulantes.
- Evaluación y validación de pruebas de laboratorio.
- Control de calidad de la Red de laboratorios.
- **Proveedor de materiales de referencia como cepas, controles y antígeno.**
- **Estandarización de antígenos para diagnóstico de acuerdo a la población de estudio.**
- Estandarización de procedimientos y pruebas de laboratorio.



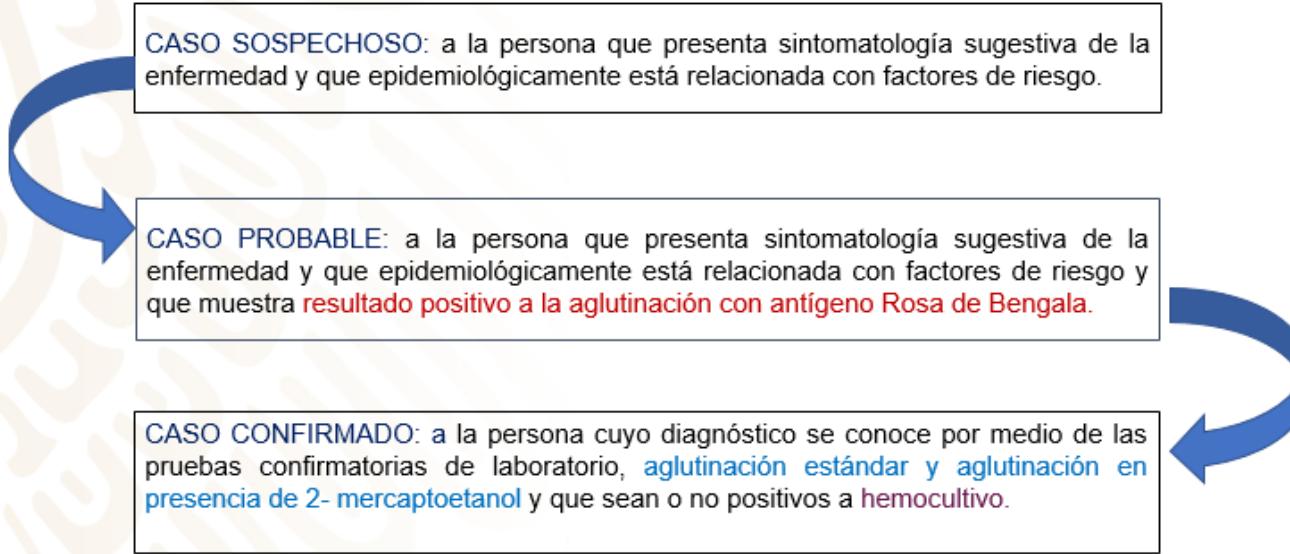
LABORATORIO NACIONAL DE REFERENCIA

Instituto de Diagnóstico y Referencia Epidemiológicos, InDRE

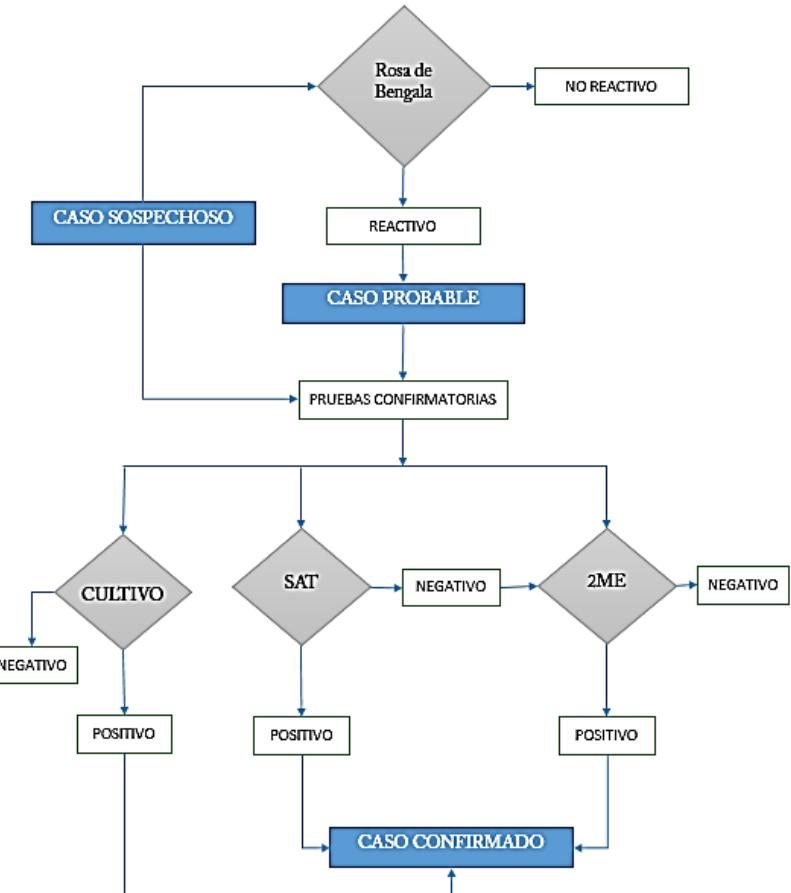
- Identificación y Biotipificación de cepas circulantes.
- Evaluación y validación de pruebas de laboratorio.
- Control de calidad de la Red de laboratorios.
- Proveedor de materiales de referencia como cepas, controles y antígeno.
- Estandarización de antígenos para diagnóstico de acuerdo a la población de estudio.
- **Estandarización de procedimientos y pruebas de laboratorio.**



Diagnóstico de Brucelosis



NOM-022-SSA2-2012.



- **CASO SOSPECHOSO:** Un caso que es compatible con la descripción clínica y está vinculado epidemiológicamente a casos sospechosos/confirmados de animales o alimentos de animales contaminados.
- **CASO PROBABLE:** Un caso sospechoso con diagnóstico presuntivo de laboratorio.
- **CASO CONFIRMADO:** Un caso sospechoso o probable con diagnóstico confirmatorio de laboratorio.

Dx. de la Brucelosis

Interpretación de las pruebas de laboratorio en la respuesta inmune

Ig G
Ig M
Ig A

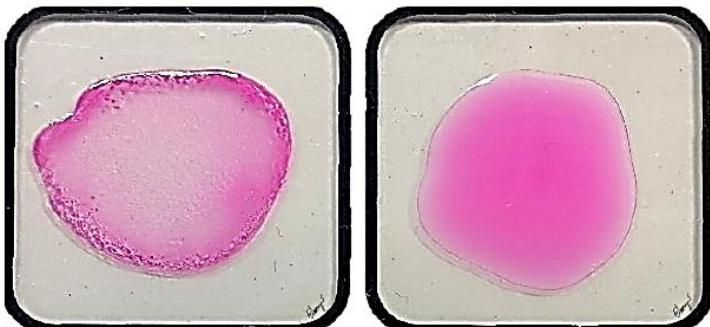


Imagen 3. Prueba presuntiva para el diagnóstico de Brucellosis. A la izquierda se observa una prueba positiva de aglutinación con antígeno Rosa de Bengala y a la derecha una prueba negativa. InDRE 2016.

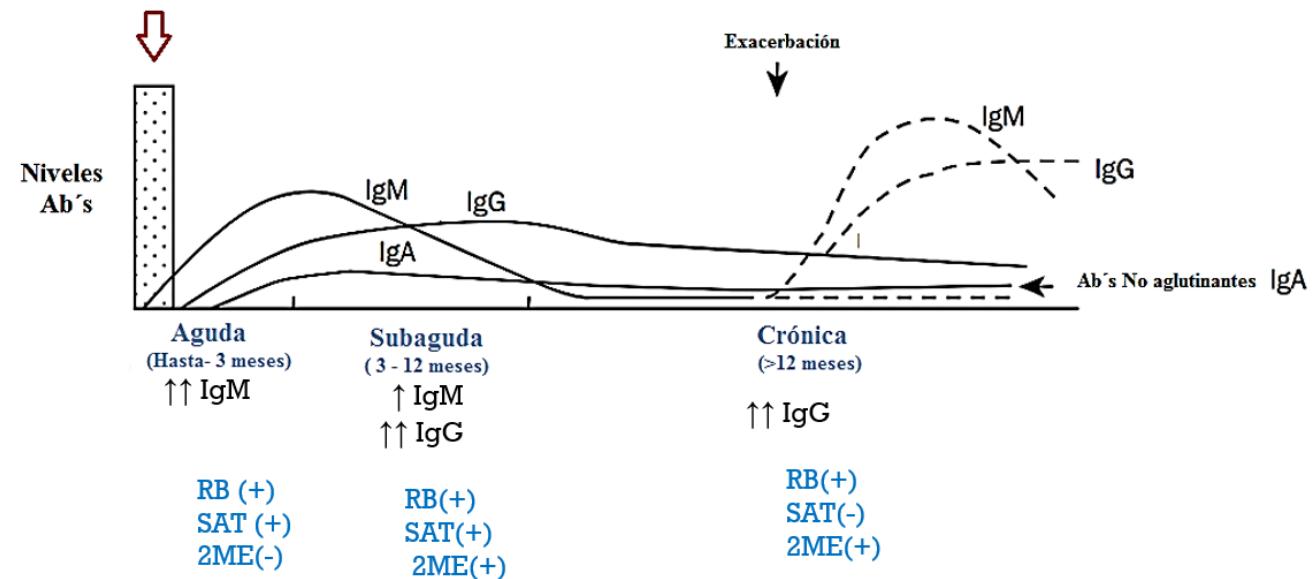
CASO SOSPECHOSO -----> CASO PROBABLE



- SAT**
• Ig G
• Ig M
- 2-ME**
• Ig G

Titulación de la muestra:
1:20
1:40
1:80
1:160
1:320
1:640
1:1,280
1:2,560
1:5,120
1:10,240

CASO PROBABLE -----> CASO CONFIRMADO



Interpretación de pruebas SAT y 2ME

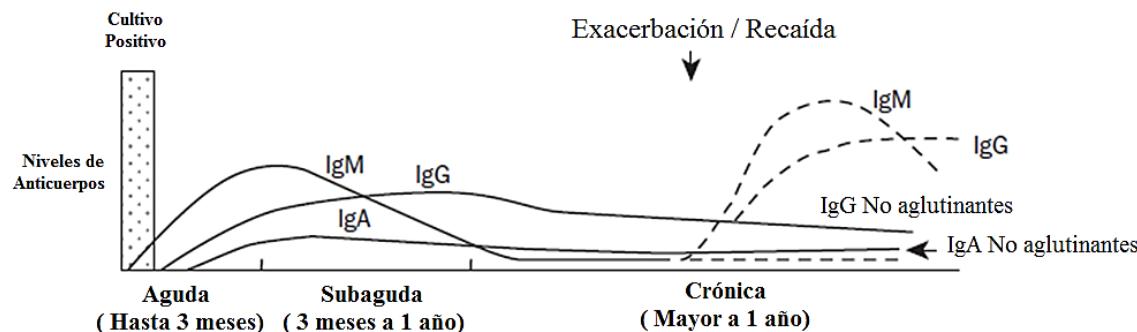
SAT	INTERPRETACIÓN
$\leq 1:40$	Negativo
$\geq 1:80$	Positivo

Valores o intervalos de referencia

2ME	INTERPRETACIÓN
Negativo	Negativo
$\geq 1:20$	Positivo

Seroconversión: Aumento de anticuerpos (4 veces) o paso de negativo a positivo (Valor de corte).

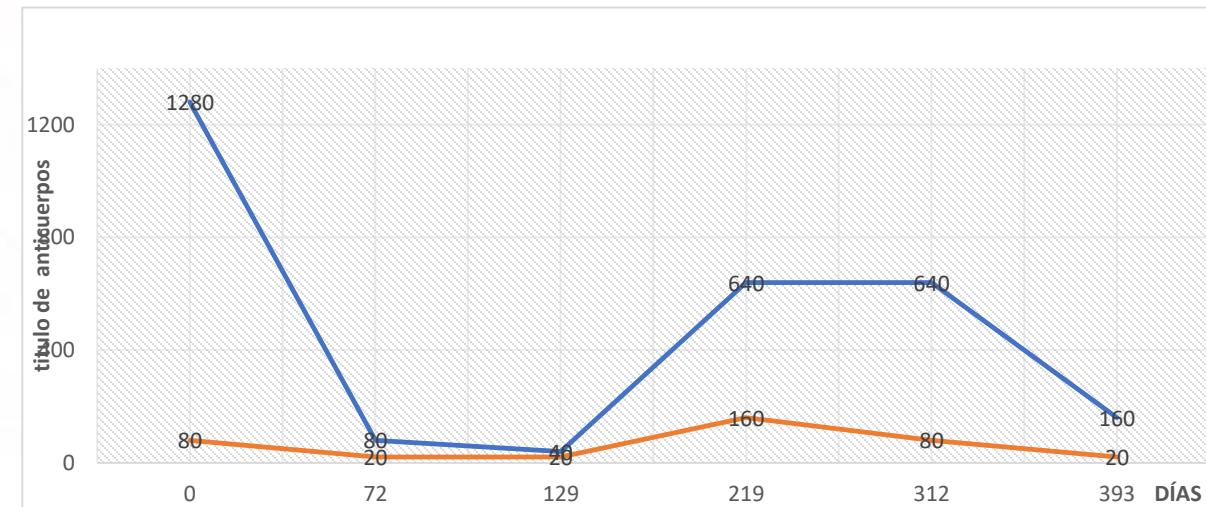
SEGUIMIENTO DEL PACIENTE CON BRUCELOSIS



Etapas de la Brucellosis

- Primera: Se realiza 30 días después del término del esquema.
- Segunda: Se realiza 90 días después del término del esquema.
- Tercera: Se realiza 180 días después del término del esquema.

Seguimiento/Control serológico

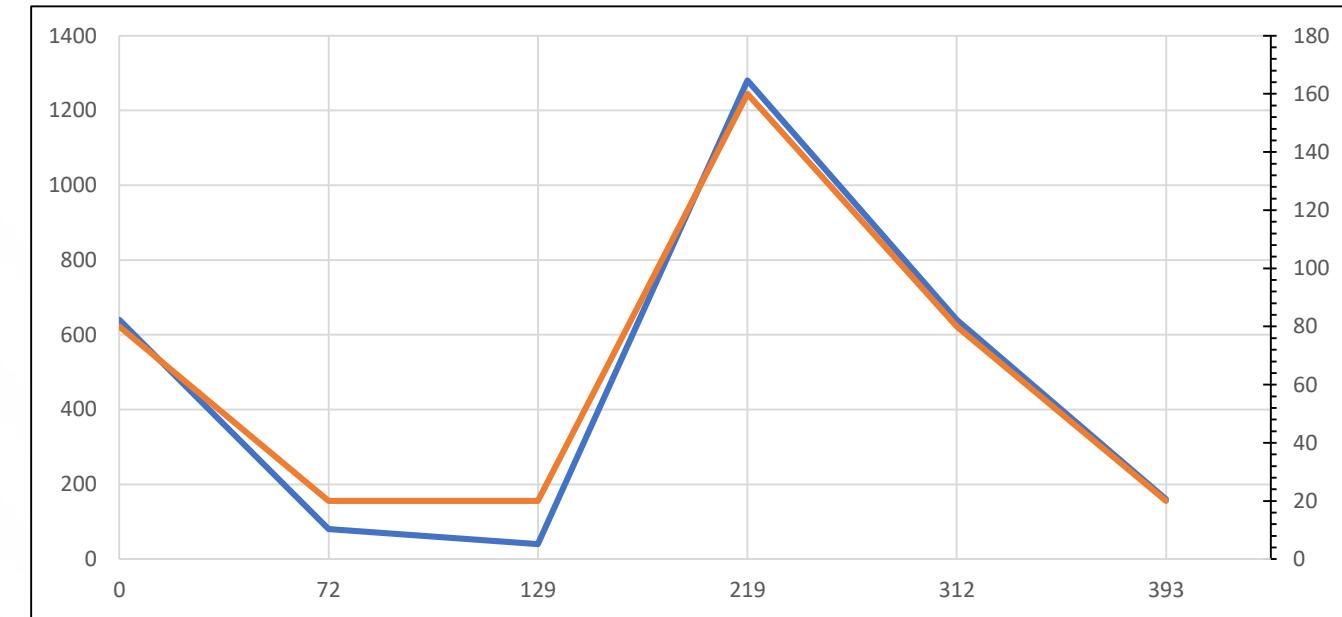


Muestra	Días desde la 1era muestra	RB	SAT	2ME
1ra	0	POS	1280	80
2da	72	POS	80	20
3ra	129	POS	40	20
4ta	219	POS	640	160
5ta	312	POS	640	80
6ta	393	POS	160	20

20 a 30% de los pacientes desarrolla brucellosis crónica

CASO CLINICO 2369/15

- Femenino 62 años
- Guanajuato
- Artritis reumatoide



Muestra	Días desde la 1era muestra	RB	SAT	2ME
1ra	0	POS	40	NEG
2da	72	POS	80	20
3ra	129	POS	40	20
4ta	219	POS	1280	160
5ta	312	POS	640	80
6ta	393	POS	160	20

Reinfección en el 10%

CASO CLINICO 874/20

- Masculino 35 años
- Sepsis, febril 39.7°C
- Osteoarticular
- Dolor Muscular
- Factor ocupacional:
Médico veterinario,
inoculación accidental



Laboratorio:

1ra muestra:

ROSA de Bengala: Positivo
SAT: Negativo
2ME: Negativo

2da muestra:

ROSA de Bengala: Positivo
SAT: Negativo
2ME: Negativo

Laboratorio:

1ra muestra:

ROSA de Bengala: Positivo
SAT: 1:40
2ME: Negativo

2da muestra:

ROSA de Bengala: Positivo
SAT: 1:40
2ME: Negativo

Los resultados de estas pruebas deben considerarse evidencia de apoyo y deben interpretarse en el contexto de una enfermedad clínicamente compatible y antecedentes de exposición.

Pruebas complementarias:
Detección de ácidos nucleicos



CASO 734/19

- Femenino 27 años
- Sepsis, febril 39.7°C
- 5 días de inicio de síntomas



Los resultados de estas pruebas deben considerarse evidencia de apoyo y deben interpretarse en el contexto de una enfermedad clínicamente compatible y antecedentes de exposición.

Laboratorio:

ROSA de Bengala: Positivo

SAT: 1:40

2ME: Negativo

2da muestra:

ROSA de Bengala: Positivo

SAT: 1:40

2ME: Negativo

Hemocultivo:

Ochrobactrum anthropi

Caso 734/19. Reporte de Oncohematología, Leucemia Linfoblástica, patógeno oportunista por manipulación catéter.

CASO CLINICO 994/20

- Femenino 28 años
- Sepsis, febril 39.7°C
- Dolor Muscular
- Dolor hepático
- Factor ocupacional:
Médico veterinario,
criadero de perros.



Laboratorio:

1ra muestra:

ROSA de Bengala: Negativo

SAT: Negativo

2ME: Negativo

2da muestra:

ROSA de Bengala: Negativo

SAT: Negativo

2ME: Negativo

Pruebas complementarias:

- Detección de ácidos nucleicos
- Pruebas especiales Aglutinación antígeno rugoso R-2ME. Titulo 1:320

CASO CLINICO 32/21

- Masculino 43 años
- Sepsis, febril 39.7°C
- Dolor Muscular y articular
- Factor ocupacional:
Ganadero con consumo
de leche no pasteurizada.



Laboratorio:

1ra muestra:

ROSA de Bengala: Positivo

SAT: 640

2ME: 320

2da muestra:

ROSA de Bengala: Positivo

SAT: 320

2ME: 320

Pruebas complementarias:

- Hemocultivo: Aislamiento *B. abortus*

CASO CLINICO 17/18

Femenino 7 años

- Sepsis, febril 39.7°C
- Dolor Muscular y articular.
- Hepatomegalia
- Esplenomegalia
- Diagnóstico inicial:
Anemia o Probable
leucemia.
- Crianza de cerdos



Laboratorio:

1ra muestra:

ROSA de Bengal: Positivo

SAT: 1280

2ME: 640

2da muestra:

ROSA de Bengal: Positivo

SAT: 1280

2ME: 1280

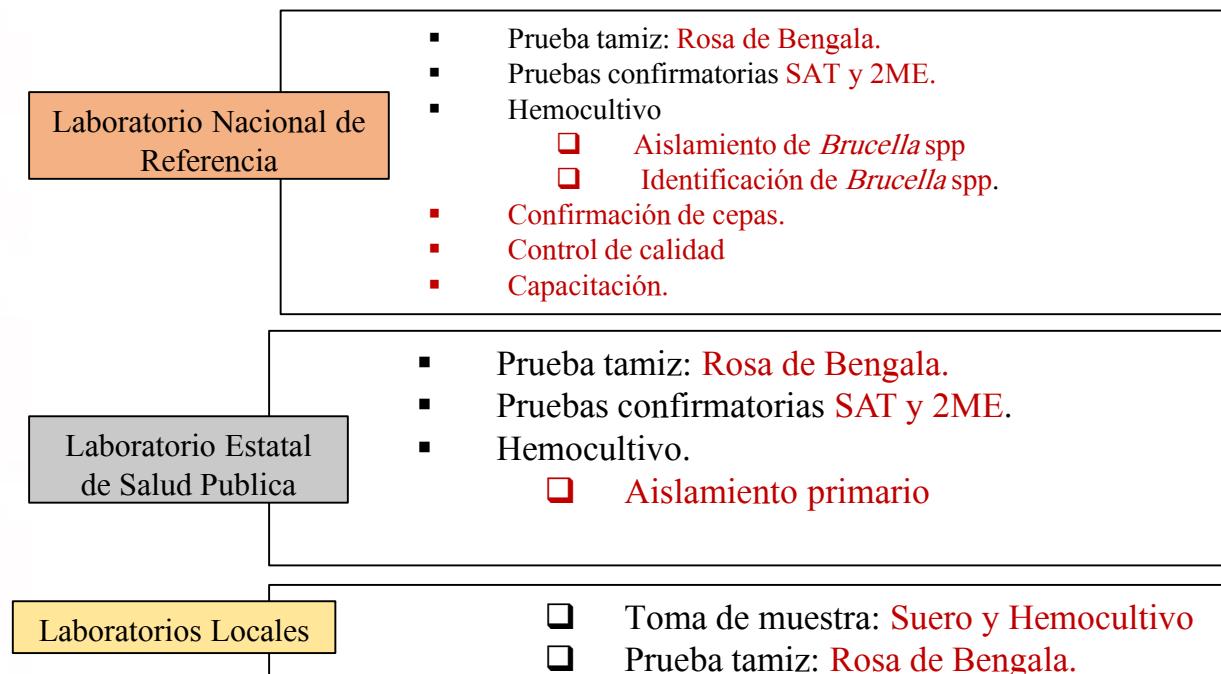
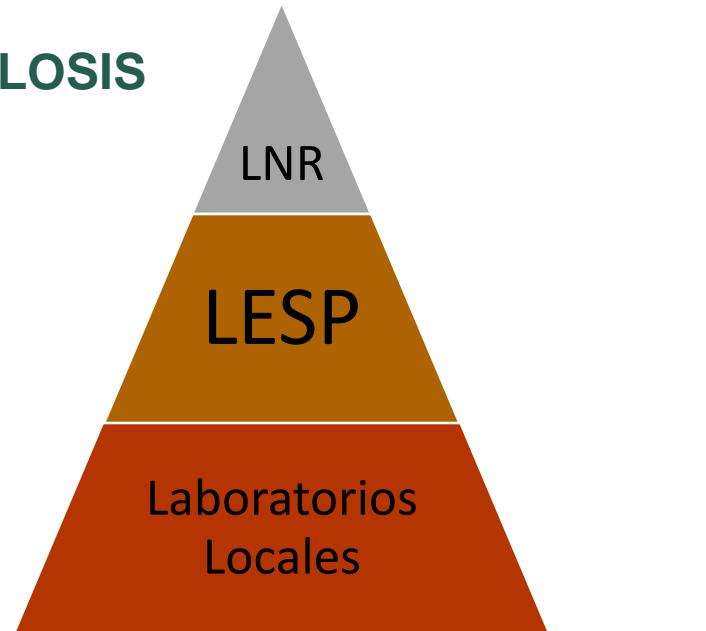
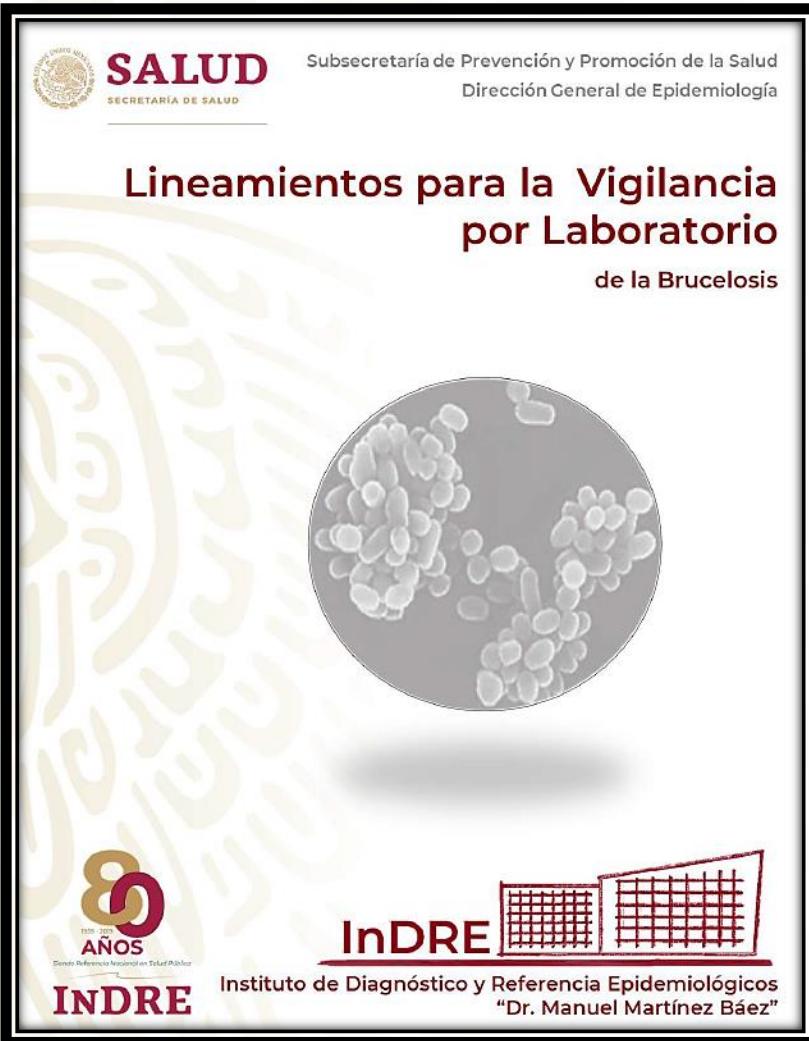
Pruebas complementarias:

- Hemocultivo: Aislamiento *B. suis*
- Tipificación Bv. 1



RED NACIONAL DE LABORATORIOS DE SALUD PÚBLICA BRUCELOSIS

Norma Oficial Mexicana NOM-022-SSA2-2012, Para la prevención y control de la brucelosis en el ser humano



RED NACIONAL DE LABORATORIOS DE SALUD PÚBLICA BRUCELOSIS

LABORATORIO DE BRUCELOSIS

Certificado:
ISO 9001-2015.
Sistemas de Gestión
de Calidad -
Requisitos

Acreditado:
MNX-EC-15189-IMNC-2015
Laboratorios clínicos-Requisitos
de la calidad y competencia

MALDITOF
PCR TIEMPO REAL
NGS

Serología
Rosa de Bengala,
Aglutinación con
SAT y 2-
Mercaptoetanol

Aislamiento e
Identificación de
Brucella spp

Red NACIONAL DE VIGILANCIA POR LABORATORIO
Brucelosis

Brucella spp.



Diagnóstico por Laboratorio en la RNLS

- ✓ Rosa de Bengala
- ✓ Aglutinación con SAT y
- ✓ 2-Mercaptoetanol

Evaluación de los LESP:

- ✓ Paneles de Evaluación Externa
del Desempeño.
- ✓ Boletín Caminando a la
Excelencia (Cumplimiento y
Concordancia).
- ✓ Reconocimiento a la
Competencia Técnica.
- ✓ Tecnovigilancia

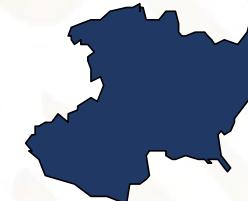
RNLSP Brucellosis



San Luis Potosí



Guanajuato



Michoacán



Tlaxcala

Especies identificadas	Estado
<i>B. abortus</i> bv 1	San Luis Potosí, Michoacán
<i>B. melitensis</i> bv 1	Nuevo León, Tlaxcala, Guanajuato, CDMX.
<i>B. suis</i> bv 1	Nuevo León,

2017	2018	2019	2020	2021	2022
8 Aislamientos <i>B. melitensis</i> bv 1	19 Aislamientos <i>B. melitensis</i> bv 1 <i>B. suis</i> bv 1 <i>B. abortus</i> bv 1	34 aislamientos <i>B. melitensis</i> bv 1 <i>B. abortus</i> bv 1	21 Aislamientos <i>B. melitensis</i> bv 1 <i>B. abortus</i> bv 1	7 Aislamientos <i>B. melitensis</i> bv 1	6 Aislamientos <i>B. melitensis</i> bv 1 <i>B. abortus</i> bv 1
Nuevo León InDRE (CDMX)	San Luis Potosí Nuevo León, Tlaxcala, Guanajuato, InDRE (CDMX)	San Luis Potosí Nuevo León, Tlaxcala, Guanajuato, InDRE (CDMX) Nuevo León Michoacán	NL Michoacán Durango	NL, CDMX	NL Michoacán Chiapas

CULTIVO DE BRUCELOSIS

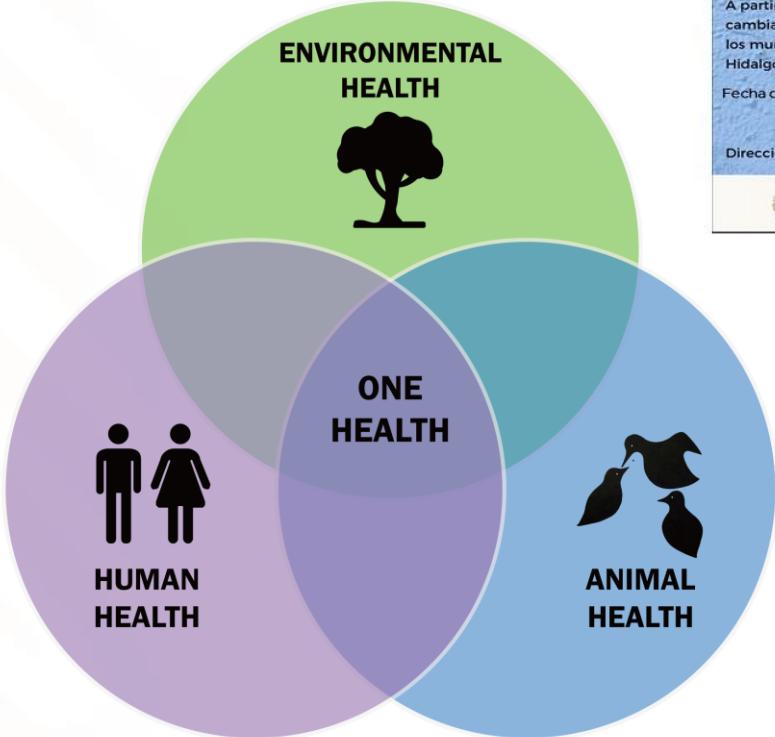
- Diagnóstico temprano de la enfermedad.
- Diagnóstico de Brucelosis crónica
- Diagnóstico de casos focalizados
- Determinación de sensibilidad contra antimicrobianos.
- Directrices en el diagnóstico
- Vigilancia Epidemiologica
- Diagnóstico de Brucelosis ocasionado por cepas Rugosas
 - Rev 1 Estreptomicina resistente
 - RBS1 Rifampicina resistente





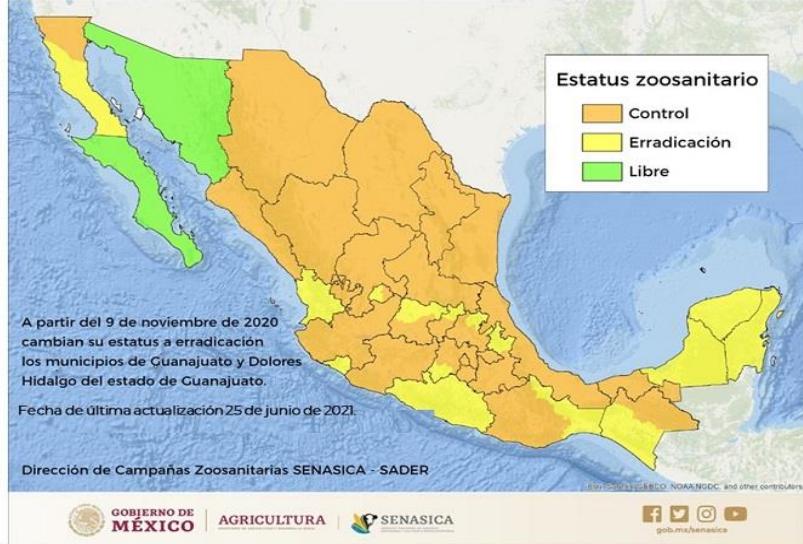
SALUD
SECRETARÍA DE SALUD
Cofepris ➤
Comisión Federal para la Protección
contra Riesgos Sanitarios

Species identificadas
<i>B. abortus</i> bv 1
<i>B. melitensis</i> bv 1
<i>B. suis</i> bv 1



Acciones en conjunto con las Instancias involucradas

¡GRACIAS!





Instituto de Diagnóstico y Referencia Epidemiológicos, InDRE

eduardo.jimenezs@salud.gob.mx

¡GRACIAS!

