

## Tema 22. GENEROS BRUCELLA, LEGIONELLA, PASTEURELLA Y FRANCISELLA

### CASO CLÍNICO

Acude a tu consulta paciente varón de 56 años, trabajador en una granja donde abundan animales de pastoreo. Refiere que aproximadamente unas 4 semanas “no se ha sentido bien” pues se siente cansado, con dolores musculares “de tipo calambres” en articulaciones, así como fiebre no cuantificada y disminución en el apetito y en número de deposiciones. A la exploración física destaca paciente con taquipnea, taquicardia, diaforesis, temperatura axilar de 39,2º C; campos pulmonares limpios y bien ventilados, ruidos cardiacos sin alteraciones, linfadenopatías cervicales e inguinales, hepato y esplenomegalia. Resto sin alteraciones.

### Género Brucella

La brucelosis o fiebre de Malta es una zoonosis transmisible ocasionalmente al hombre a partir de animales infectados. Dentro del género Brucella se reconocen seis especies. El hombre solamente puede ser infectado por *B. melitensis*, *B. abortus*, *B. suis* y *B. canis*.

### Características generales

Las brucelas son bacilos gramnegativos pequeños (0,6 X 1,5 micrómetros), inmóviles, no capsulados. Son microorganismos aerobios y algunas cepas especialmente *B. abortus* y *B. ovis* requieren una atmósfera de 10% de CO<sub>2</sub> para su crecimiento. Todas son catalasa positiva y oxidasa positiva (excepto *B. ovis* y *B. neotomae*), mientras que la producción de SH<sub>2</sub> y urea varía según las especies y cepas.

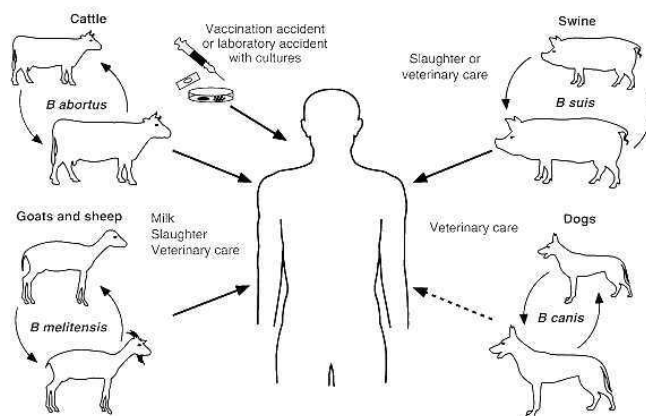
Las bacterias del género Brucella tienen una marcada tendencia a sufrir variación lisa-rugosa (S-R). Las características serológicas y de sensibilidad a los fagos se alteran considerablemente en la fase rugosa, por lo que las pruebas de identificación deben realizarse en fase lisa.

En las brucelas se han estudiado dos tipos de antígenos: estructurales y solubles. Los antígenos solubles se encuentran en el citoplasma y parecen tener un papel importante en la hipersensibilidad retardada. Dentro de los antígenos estructurales se encuentra el lipopolisacárido (LPS), endotóxico de la pared celular. En el (LPS) de las cepas en forma lisa se distinguen dos factores antigénicos (A y M) cuya proporción varía según las distintas especies y serotipos. Los factores A y M presentan cierta comunidad antigénica con los antígenos de superficie de otros bacilos gramnegativos; este hecho puede ser lugar a reacciones cruzadas que dificulten la interpretación de las pruebas serológicas. Otros antígenos estructurales de Brucella son las proteínas de membrana externa y dos polisacáridos relacionados (hapteno nativo y polisacárido B).

### Patogenia

El principal determinante de patogenicidad de las brucelas es el LPS liso. Cuando las brucelas se encuentran en fase S se comportan como parásitos intracelulares facultativos y esta propiedad está en relación con la patogenicidad. Las cepas en fase S son más resistentes a la actividad bactericida de los granulocitos. Las especies normalmente no lisas (*B. canis* y *B. ovis*) se asocian con un espectro de huéspedes muy limitados y con una baja capacidad de infectar a otras especies.

Las brucelas penetran en el organismo a través de la piel o mucosas (digestiva, conjuntival o respiratoria). En la puerta de entrada son fagocitadas por los leucocitos polimorfonucleares y conducidas a los ganglios linfáticos donde se multiplican en el interior de los fagocitos mononucleares. Desde los ganglios linfáticos pueden pasar a la sangre originando una bacteriemia. En algunos casos, la diseminación hematogénea da lugar a una infección localizada en órganos y tejidos ricos en células del sistema reticuloendotelial, donde producen granulomas compuestos por linfocitos y células epiteloides gigantes.



Fuentes de infección por Brucella

Tomado de: [www.qsbs.utmb.edu/microbook/ch028.htm](http://www.qsbs.utmb.edu/microbook/ch028.htm)

### Manifestaciones Clínicas

La sintomatología de la brucelosis es muy polimorfa y difiere de unos casos a otros. La instauración de los síntomas puede ser aguda con carácter septicémico o solapado con febrícula e incluso ausencia de fiebre. En ocasiones la enfermedad evoluciona en el mismo paciente bajo las dos modalidades clínicas mencionadas. Unas 2-8 semanas tras el contagio aparece una primera fase febril con síntomas muy inespecíficos entre los que destacan sudores copiosos, las algias, el estreñimiento y la fiebre, que sigue un patrón ondulante si la enfermedad no recibe tratamiento adecuado. Otros síntomas y signos posibles son astenia, linfadenopatía, hepato y esplenomegalia. Puede existir una segunda fase más prolongada

en la que la fiebre es sustituida por un síndrome febricular y predominan las manifestaciones localizadas en diferentes órganos y tejidos: osteoartritis metastásicas, neurobrucelosis y endocarditis. Con frecuencia la brucelosis evoluciona como una infección subaguda crónica de larga evolución en cuyo curso pueden surgir brotes agudos de reactivación. Dado que la instauración de los síntomas de la brucelosis puede ser solapada, a menudo es difícil diferenciar entre las formas aguda y crónica de esta enfermedad. Se definió la brucelosis crónica como la persistencia de síntomas durante más de 12 meses después de establecido el diagnóstico. La mayoría de los pacientes con brucelosis crónica presenta focos persistentes de infección como lesiones supuradas en hueso, hígado o bazo, o han recibido una terapia inadecuada en el episodio inicial.

Diagnóstico microbiológico. Métodos Directos. Aislamiento.

La sangre y la médula ósea son las muestras que proporcionan un mayor rendimiento. Las brucelas se desarrollan lentamente en los cultivos y suelen requerir medios complejos para su aislamiento primario; los más útiles son el caldo de agar triptosa o tripticasa-soja. Los cultivos deben incubarse al menos durante 30 días. EL hemocultivo según la técnica de Castañeda (medio con fase líquida y fase sólida) constituye el procedimiento de elección en la primera fase de la enfermedad. Las colonias no hemolíticas, oxidasa y catalasa positivas que no fermentan la glucosa o la lactosa, pueden ser sometidas a reacciones de aglutinación con antiseros monospecíficos para *Brucella*. Para la completa determinación de especie y biotipo debe analizarse la producción de ureasa y SH2, la sensibilidad a ciertos colorantes (tionina y fucsina básica), el perfil de oxidación metabólica y el patrón de lisis por fagos.

Métodos indirectos

1. Reacción de seroaglutinación. Mide la cantidad total de anticuerpos aglutinantes. No existe un título que pueda considerarse invariablemente diagnóstico, aunque se considera que títulos de 1:80 a 1:160 son expresión de brucelosis activa en zonas no endémicas. En áreas rurales con alta prevalencia de la infección se consideran significativos títulos de 1:320 o 1:640. En las formas crónicas es posible encontrar títulos bajos o incluso negatividad de la reacción, siendo necesario recurrir a la prueba de Coombs anti-*Brucella*.
2. Rosa de Bengala. Es una aglutinación rápida sobre la placa en la que el suero del enfermo se enfrenta a una suspensión de brucelas teñidas con rosa de Bengala. Es muy valiosa como prueba de orientación y guarda una estrecha correlación con la aglutinación en tubo.
3. Prueba de Coombs anti-*Brucella*. Su objetivo es la demostración de anticuerpos no aglutinantes. Es especialmente útil en el diagnóstico de las brucelosis crónicas, en las que las determinaciones

son frecuentemente negativas. Otras técnicas son la fijación del complemento, y las técnicas de ELISA, para la determinación de las diferentes clases de anticuerpos.



Copyright Dennis Kunkel

### Tratamiento

El principal problema en el tratamiento de estos enfermos deriva de las recaídas en el proceso y la tendencia a evolucionar a la cronicidad. Los antibióticos más activos in vivo son las tetraciclinas, aminoglucósidos, rifampicina, trimetropim-sulfametoxazol y algunas de las nuevas quinolonas. Debe emplearse más de un antibiótico y utilizar fundamentalmente aquellos con capacidad de penetración intracelular debidamente probada durante períodos prolongados de tiempo. La asociación de rifampicina con doxiciclina parece ser la menos tóxica y la más eficaz. Las recaídas se tratan con una pauta similar a la usada en la fase inicial, ya que las brucelas continúan siendo sensibles en la mayoría de los casos. En el tratamiento de las complicaciones se recomienda el uso de doxiciclina asociada a uno o dos antibióticos adicionales y la continuación del tratamiento durante varios meses, según la respuesta terapéutica.

### Epidemiología

La enfermedad puede adquirirse por:

1. Contagio directo mediante el contacto con animales o restos de animales infectados.
2. Por ingestión de leche o derivados lácteos no pasteurizados. La ingestión de productos lácteos contaminados es el mecanismo principal de transmisión en la población general.

### Prevención

La prevención de la brucelosis humana se dirige hacia la detección de los animales enfermos para su posterior segregación o sacrificio y a la vacunación de los animales sanos. Otras medidas complementarias son las dirigidas al saneamiento de los productos de origen animal (higienización de leches, quesos y otros productos lácteos). Se ha intentado conseguir vacunas para su aplicación en personas con elevado riesgo profesional; los últimos ensayos van dirigidos al empleo de vacunas constituidas por fracciones antigénicas.

## GENERO LEGIONELLA

Legionella es una causa importante de neumonías graves adquiridas tanto en la comunidad como en el medio hospitalario, que se presentan esporádicamente o bien en forma de brotes.

En el género Legionella, perteneciente a la familia Legionellaceae, se incluyen 39 especies con 59 serotipos. Algunas se aíslan tanto de muestras clínicas como ambientales, mientras que otras han sido exclusivamente aisladas del ambiente. *L. pneumophila* es causante del 90% de las infecciones en humanos. De éstas, el 80% se deben al serogrupo 1.

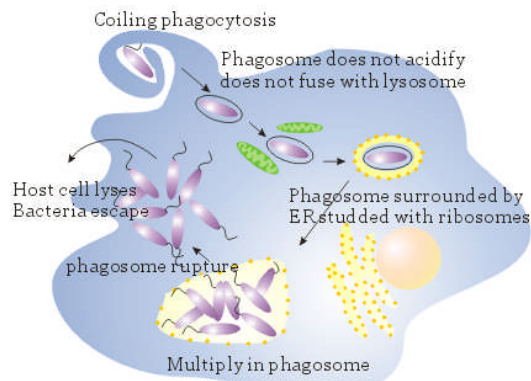
### Características generales.

Los miembros de la familia Legionellaceae son bacilos gramnegativos, no esporulados, carentes de cápsula y dotados de flagelos y fimbrias. Su tamaño oscila entre los 2-3 micrómetros de longitud por 0,5-0,7 micrómetros de anchura. No se tiñen bien con la tinción de Gram, siendo necesario recurrir a tinciones especiales para su visualización (Giménez o Dieterle). Todos los miembros de esta familia producen catalasa y son relativamente inertes desde el punto de vista bioquímico. *L. pneumophila* es asacarólítica, oxidasa negativa, ureasa negativa, y es capaz de producir la hidrólisis del hipurato. Son gérmenes que pueden sobrevivir en muy variadas condiciones físicas, químicas y biológicas.

En la superficie celular de las legionelas existe un antígeno soluble termolábil, que es causante de la especificidad de serogrupo. También se ha demostrado la existencia de antígenos específicos de especie, cuya naturaleza química no ha sido aún completamente aclarada.

### Patogenia

*L. pneumophila* posee una proteína de superficie de 24-kD denominada MIP (o potenciador de la infectividad del macrófago por sus siglas en inglés), que es requerida para una óptima infección intracelular y para la total expresión de la virulencia. Se han encontrado otras moléculas potencialmente implicadas en la patogenidad: la legiolisina con actividad hemolítica, una metaloproteasa, una fosfolipasa C y el lipopolisacárido con débil actividad endotóxica in vivo.



Patogenia. Tomado de

<http://microbewiki.kenyon.edu/images/a/a0/Legionella.png>

*L. pneumophila* es un patógeno intracelular facultativo, principalmente de los monocitos y de los macrófagos alveolares. El microorganismo penetra por inhalación en el pulmón, donde afecta sobre todo alveolos y bronquiolos terminales. Una vez aquí son fagocitados por los macrófagos alveolares en cuyo interior residen en unos fagosomas especializados. Dichos fagosomas no se fusionan con los lisosomas, lo que les permite eludir los mecanismos bactericidas de estas organelas. Dentro del fagosoma continúa la multiplicación bacteriana hasta que finalmente el macrófago es destruido y la progenie bacteriana liberada. Las legionelas estimulan a las células diana que, a su vez, liberan citocinas capaces de atraer a otras células inflamatorias hacia los focos de infección. El daño histiográfico puede ser atribuido a los productos bacterianos tóxicos o bien a las sustancias liberadas por los propios leucocitos.

## Manifestaciones Clínicas

El espectro de las infecciones por *Legionella* es variado y comprende los siguientes tipos:

1. Infecciones subclínicas. Se evidencian por la presencia de anticuerpos frente a *Legionella* spp. en ausencia de sintomatología.
2. Fiebre de Pontiac. Es una enfermedad gripal, aguda y autolimitada, no asociada con neumonía. Los síntomas comienzan de manera brusca tras 5-6 horas de incubación. Las manifestaciones clínicas más frecuentes son la fiebre, escalofrío y mialgias localizadas. La enfermedad regresa en todos los casos sin ningún tipo de tratamiento en el plazo de 2-5 días. Aunque la epidemia inicial fue causada por *L. pneumophila* serogrupo 1, este cuadro clínico también puede ser producido por otras especies de *Legionella*.
3. Neumonía. También conocida como enfermedad de los legionarios. Se trata de una afección con frecuencia grave, producida en la mayoría de los casos por *L. pneumophila* serotipo 1. Tras un período de incubación de 2-10 días aparece un cuadro inespecífico con fiebre, escalofríos, cefaleas, mialgias y malestar general. La fiebre suele ser el primer signo y no remite si no se instaaura tratamiento apropiado. Suele aparecer tos seca, aunque con el tiempo puede volverse productiva. Rápidamente se desarrollan infiltrados que afectan a uno o más lóbulos inferiores.

En ocasiones las manifestaciones pulmonares pueden acompañarse de diarrea, hiponatremia y alteración del estado mental (confusión, estupor, desorientación o letargia).



Rx neumonía por Legionella  
[aapredbook.aappublications.org](http://aapredbook.aappublications.org)

4. Infecciones extrapulmonares. Suelen aparecer como consecuencia de una diseminación hematológica en el curso de una neumonía. Se han descrito casos de pielonefritis, infección de heridas, abscesos cutáneos y perirrectales, pericarditis, miocarditis y endocarditis sobre válvulas protésicas.

#### Diagnóstico Microbiológico

##### METODOS DIRECTOS

1. Aislamiento. El esputo y las muestras obtenidas por broncoscopia son las que mayor rendimiento ofrecen, aunque Legionella también puede ser aislada a partir de sangre, líquidos corporales, abscesos y heridas. Todos los miembros del género crecen lentamente sobre medios sólidos y requieren L-cisteína para su aislamiento inicial. El medio de cultivo más utilizado es el BCYE suplementado con antibióticos. Deben incubarse al menos durante 3-5 días a 37° C. La identificación de los organismos aislados se verifica mediante la determinación de la dependencia de cisteína. Posteriormente se confirma el diagnóstico mediante métodos serológicos, genéticos o por cromatografía de gases.
2. Detección de antígenos. Puede realizarse inmunofluorescencia directa, mediante el uso de anticuerpos monoclonales específicos de especie. El test de antigenuria detecta antígenos bacterianos presentes en la orina mediante técnicas de radioinmunoanálisis. EL antígeno puede persistir en la orina durante meses después del episodio de neumonía, por lo que esta técnica puede ser positiva cuando otras son negativas.
3. Detección de ácidos nucleicos. Las sondas de ADN específicas de género suponen un método rápido para la detección de especies de Legionella en muestras clínicas. Su baja sensibilidad podría soslayarse mediante el empleo de técnicas de reacción en cadena de la polimerasa tanto para muestras clínicas como ambientales.

## METODOS INDIRECTOS

La detección serológica de anticuerpos tiene más utilidad para los estudios epidemiológicos que para el diagnóstico inmediato de la enfermedad por Legionella. Puede llevarse a cabo mediante técnicas de inmunofluorescencia indirecta, ELISA, y microaglutinación. Debe obtenerse muestras de suero durante la fase aguda y la convalecencia, dado que los anticuerpos séricos pueden no desarrollarse hasta bien avanzada la enfermedad. Como criterio de positividad para la inmunofluorescencia indirecta se acepta un aumento de cuatro veces o más el título de anticuerpos (título mayor o igual a 1:128) en dos muestras obtenidas durante la fase aguda y de convalecencia. Un título elevado (mayor a 1:256) en una sola muestra de suero con clínica compatible se considera como prueba de presunción diagnóstica.

## Tratamiento

Deben utilizarse agentes antimicrobianos con capacidad para penetrar en el interior de las células fagocitarias y alcanzar concentraciones adecuadas en dicho medio. Los macrólidos, las quinolonas, rifampicina, trimetoprim-sulfametoxazol y algunas tetraciclinas, han demostrado su eficacia in vivo frente a *L. pneumophila*. El tratamiento de primera elección es la eritromicina sola o asociada a rifampicina.

## Epidemiología

Las legionelas son microorganismos ubicuos que se han aislado a partir de muestras procedentes de diversos nichos ambientales (lagos, ríos, estanques y suelos pantanosos). Para su propagación se necesita la concurrencia de una serie de factores que constituyen los eslabones de la cadena epidemiológica:

1. Reservorio ambiental. Desde los ambientes acuáticos naturales, las legionelas pueden acceder a cierto tipo de instalaciones (agua caliente, aire acondicionado), que actúan entonces como reservorios principales.
2. Factores de amplificación. Ciertos factores ambientales pueden inducir un incremento importante en la concentración de microorganismos. Los tanques y tuberías de distribución de agua caliente, cuando las temperaturas no son demasiado elevadas (menores a 50º), favorecen el crecimiento de Legionella. Las torres de refrigeración y otros elementos de los sistemas de aire acondicionado constituyen también un hábitat ideal para el desarrollo de las legionelas.
3. Mecanismo de diseminación. La inhalación de aerosoles es el principal modo de transmisión.
4. Susceptibilidad del huésped. Es un punto clave en el desarrollo de la enfermedad. Entre los factores de riesgo destacan el tabaco, el alcohol y la existencia de enfermedades subyacentes.

## Prevención

Dado la ubicuidad de las legionelas en el medio ambiente y la falta de asociación de la mayoría de los aislamientos con la enfermedad, no parece estar justificada la aplicación de medidas de prevención primaria. Por el contrario, una vez que la enfermedad humana ha sido detectada, deben examinarse todas las posibles fuentes ambientales a fin de conocer cuáles están implicadas y proceder a la instalación de medidas de prevención secundaria.