

**UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA
ANTONIO NARRO**

UNIDAD LAGUNA

DIVISION REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL



**“DIAGNOSTICO DE *BRUCELLA* SPP EN CABRAS DE ESTABLOS
LECHEROS DE LA COMARCA LAGUNERA”**

POR

OSCAR PEREZ GONZALEZ

T E S I S

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL

PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

TORREÓN, COAHUILA, MÉXICO

JUNIO DE 2011

**UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA
ANTONIO NARRO**

UNIDAD LAGUNA

DIVISION REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL



**“DIAGNOSTICO DE BRUCELLA SPP EN CABRAS DE ESTABLOS
LECHEROS DE LA COMARCA LAGUNERA”**

TESIS APROBADA POR EL ASESOR PRINCIPAL

M.C.V. RAMÓN ALFREDO DELGADO GONZALEZ

COORDINADOR DE LA DIVISION REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL

M.V. Z RODRIGO ISIDRO SIMON ALONSO.



**Coordinación de la División
Regional de Ciencia Animal**

TORREÓN, COAHUILA, MÉXICO

JUNIO DE 2011

**UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA
ANTONIO NARRO**

UNIDAD LAGUNA

DIVISION REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL



**DIAGNOSTICO DE BRUCELLA SPP EN CABRAS DE ESTABLOS
LECHEROS DE LA COMARCA LAGUNERA**

TESIS APROBADO POR EL H. JURADO EXAMINADOR

Ramon A. Delgado G.

M.C.V. RAMON ALFREDO DELGADO GONZALEZ

PRESIDENTE

M.V.Z. JOSE GUADALUPE RODRIGUEZ MARTINEZ

VOCAL

Ma. Guadalupe de la Fuente Salcido
M.V.Z. M.C. MA. GUADALUPE DE LA FUENTE SALCIDO

VOCAL

Erika Gabriela Palomares Resendiz
DRA. ERIKA GABRIELA PALOMARES RESENDIZ

VOCAL SUPLENTE

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
"ANTONIO NARRO"
UNIDAD LAGUNA
DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL

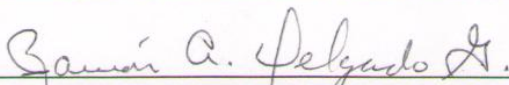
TESIS

"DIAGNOSTICO DE BRUCELLA SPP EN CABRAS DE ESTABLOS
LECHEROS DE LA COMARCA LAGUNERA"

POR: OSCAR PEREZ GONZALEZ

QUE SE SOMETE A CONSIDERACIÓN DEL COMITÉ PARTICULAR
DE ASESORÍA COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL
TÍTULO DE:

MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA


M.C.V. RAMON ALFREDO DELGADO GONZALEZ

ASESOR PRICIPAL


M.V.Z. J. GUADALUPE RODRIGUEZ MARTINEZ

ASESOR


DRA. ERIKA GABRIELA PALOMARES RESENDIZ

ASESOR


M.C FRANCISCO JAVIER PASTOR LÓPEZ

ASESOR


MVZ. RODRIGO ISIDRO SIMÓN ALONSO.

COORDINADOR DE LA DIVISION REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL
Coordinación de la División
Regional de Ciencia Animal



TORREÓN, COAHUILA, MEXICO

JUNIO DE 2011

AGRADECIMIENTOS Y DEDICATORIAS

A Dios: Que me ha puesto en este camino y que me ha dado la oportunidad de formarme profesionalmente y espiritualmente, gracias Dios por nunca abandonarme en los momentos más difíciles de mi vida siempre estás ahí Señor cuando más te necesito Gracias.

A mis padres: Queridos padres les dedico de la manera más humilde, pero con mucho amor este logro, agradeciendo la confianza, que han puesto en mí, al darme su apoyo al compartir mis logros y tropiezos sin pedir nada a cambio. Padres queridos, nunca olvidaré los esfuerzos y sacrificios que han hecho, para que yo tuviera esta oportunidad en mi vida, sabiéndome guiar por el buen camino con ejemplo y amor. Mil gracias de todo corazón queridos padres, solo le pido a Dios que los cuide siempre y me permita seguir disfrutando de su agradable compañía aun por muchísimos años.

A mis hermanos: Ángel, David, Angélica, Nenito, Ivonne y a las mas chiquita pero no menos importante Lupita. Por ser mis segundos padres y amigos, por preocuparse tanto por mí y siempre tratar de llevarme por el camino del progreso, los quiero.

A mis abuelos: Onésimo, Cuca, Elvira y Felipe. Que con la sabiduría de Dios me han enseñado a ser quien soy hoy. Gracias por su paciencia por enseñarme el camino de la vida, gracias por sus consejos, por el amor que me han dado y por el apoyo incondicional en mi vida. Gracias por llevarme en sus oraciones por que estoy seguro que siempre lo hacen.

A mis tíos: Betty, Onésimo, Chuy, Armando, Reyna, Marcial. Por haberme enseñado el valor de la familia, gracias por ser amigos, cómplices y hermanos.

A mis cuñadas y cuñado: Vanessa, Miriam y Agustín. Gracias por ser tan lindas y tener siempre una sonrisa para mí, por el apoyo en todo momento y obviamente por darme a mis hermosos sobrinos.

A mis amigos: Adriana, Érika, Yessica Mariel, Adal, Agustín (Clark), Goyo, Benito, Miguel (Poeta), César, Nahúm. Formaron parte de esta aventura y siempre se quedaran en mis recuerdos.

A la familia Morales Velázquez: Por haberme aguantado tres años de mi vida y ser parte de mi formación sin pedirme nada a cambio, gran parte de lo que soy se los debo a ustedes y eso nunca se me olvidará GRACIAS.

Al Ingeniero Martín Esaú Benítez Rivas y al Médico Veterinario Zootecnista Jaime Benítez Rivas: por haberme apoyado en mi carrera y brindado un techo donde vivir, pero sobre todo por haberme tratado como uno más de su familia, de antemano muchas gracias primos.

A mi Alma Mater: Por darme la oportunidad de ser parte de ella y formarme como profesional y haber tenido tantas experiencias bonitas e inolvidables durante mi carrera.

AGRDECIMIENTOS ESPECIALES

Primero y como mas importante, me gustaría agradecer sinceramente a mi asesora de tesis **Dra. Erika Gabriela Palomares Reséndiz**, su esfuerzo y dedicación. Sus conocimientos, sus orientaciones, su manera de trabajar, su persistencia y su paciencia y su motivación han sido fundamentales para mi formación muchas gracias GABY.

Al **M.C.V. Ramón Alfredo Delgado González**, por haber inculcado en mí un sentido de seriedad, responsabilidad y rigor académico sin los cuales no podría tener una formación completa como Médico Veterinario Zootecnista.

Al **Dr. Efrén Díaz Aparicio**, a su manera, ha sido capaz de ganarse mi lealtad y admiración, así como sentirme en deuda con el por todo lo recibido durante el periodo de tiempo que ha durado esta tesis.

Y por ultimo pero no menos importante, estaré eternamente agradecido con el **M.V.Z. Francisco Javier Pastor López**, por la oportunidad que me brindó al unirme a su equipo de trabajo y con ello realizar mi tesis.

Agradezco al apoyo financiero al fondo mixto CONACYT en el proyecto **Estudio Epidemiológico de Enfermedades que Afectan la Producción Caprina en México**.

INDICE.

	Página
AGADECIMIENTOS Y DEDICATORIAS	i
AGRADECIMIENTOS ESPECIALES	iii
RESUMEN	vii
I. INTRODUCCION	1
II. ANTECEDENTES	2
2.1 Etiología	3
2.2 Taxonomía	5
2.3 Resistencia y supervivencia	5
2.4 Composición antigénica de la Brucella	6
2.5 Epidemiología	8
2.6 Transmisión	9
2.7 Factores de riesgo	10
2.8 Patogenia de la brucelosis	11
2.9 Inmunología	12
2.10 Manifestaciones clínicas	13
2.11 Prevención y control de la brucelosis	14
2.12 Pruebas de diagnóstico	15
2.12.1 Rosa de Bengala 3%	16
2.12.2 Inmunodifucion radial	17
2.12.3 ELISA	17
2.13 Vacunación	18
2.14 Vacunación en México	19
2.15 Campaña nacional contra la brucelosis en animales	20
2.16 Producción caprina en México	21
2.17 Brucelosis en caprinos	21
2.18 Situación de la brucelosis caprina en México	22
2.19 Brucelosis en caprinos de la Comarca Lagunera	24
2.20 La enfermedad como problema de salud pública	25

III. JUSTIFICACION	26
IV. OBJETIVOS	27
V. MATERIAL Y METODOS	27
5.1 Lugar de trabajo	27
5.2 Caprinos Muestreados	28
5.3. Tipo de estudio	28
5.4 Calculo del tamaño de la muestra	29
5.5 Tipo de muestreo	29
5.6 Calculo del tamaño de la muestra por explotación	29
5.7 Criterios de inclusión de los caprinos muestreados	30
5.8 Descripción de las muestras colectadas	30
5.9 Procedimiento para la colección, conservación y envío de muestras	30
5.10 Procedimiento para el transporte de las muestras	31
5.11 Encuesta por rancho	31
5.12 Cedula individual por caprino	31
5.13 Pruebas diagnosticas	31
5.14 Desarrollo de la técnica	32
5.15 Interpretación de resultados	33
5.16 Encuestas individuales y por rebaños	33
5.17 Base de datos	33
5.18 Análisis estadístico	34
VI. ANALISIS Y RESULTADOS	34
VII. DISCUSIÓN	36
VIII. CONCLUSION	38
8.1 Recomendaciones	39
8.2 Propuesta de medidas de manejo de los rebaños que contribuyan a disminuir el riesgo de presentar brucelosis	40
IX. LITERATURA CITADA	42

INDICE DE CUADROS Y FIGURAS

	Página
Cuadro 1. Supervivencia de brucella en distintos materiales	5
Cuadro 2. Relación entre especies de Brucella, vías de transmisión y patogenicidad	10
Figura 1. Ubicación de la comarca lagunera: torreón, Coahuila y Gómez palacio Durango	28
Figura 2. Prevalencia de brucelosis caprina en rebaños por municipio.	34
Figura 3. Porcentaje de brucelosis caprina por rebaños.	35
Figura 4. Prevalencia de animales positivos a brucelosis a partir de la prueba de tarjeta al 3% con Ag de <i>brucella abortus</i> .	35
Figura 5. Porcentaje de sueros positivos y negativos obtenidos a partir de la prueba de tarjeta al 3% con Ag de <i>B.abortus</i>	36

RESUMEN.

La Brucelosis es una enfermedad que se mantiene como una de las zoonosis de mayor distribución en el mundo. El impacto económico en el sector pecuario es alto a causa de la reducción en la fertilidad del rebaño, el gran número de abortos y la disminución de la producción de leche. La importancia de conocer la prevalencia de la enfermedad en cabras nos permite llevar a cabo medidas de control y erradicación, por tal motivo, la finalidad del presente estudio fue determinar la seroprevalencia de brucelosis en ganado caprino en rebaños caprinos de la comarca lagunera realizado durante los meses de abril 2010 a mayo del año 2011. Se muestrearon 60 rebaños en 7 municipios, recolectando un numero de 793 muestras, a las cuales se les realizó un estudio serológico para detectar la presencia de inmunoglobulinas. Se utilizo la técnica de prueba de tarjeta con Rosa de Bengala, según los procedimientos de la NOM-041- ZOO-1995. Se observó una seroprevalencia total del 22% y una seroprevalencia de 62% por rebaño. De acuerdo a estudios previos en el 2001, donde se observo una seroprevalencia del 30% en este trabajo fue menor, sugiriendo que la vacunación y control de la enfermedad por el comité de campaña contra la brucelosis en la región lagunera ha tenido un impacto evidente.

Palabras clave: Brucelosis, *Brucella melitensis*, seroprevalencia, prueba de Tarjeta con Rosa de Bengala.

I. INTRODUCCION.

La Brucelosis es una enfermedad infectocontagiosa de origen bacteriano, que afecta tanto al humano como a una gran variedad de mamíferos domésticos y silvestres; se considera una de las zoonosis más importantes debido a su amplia distribución geográfica, produce grandes pérdidas económicas a la industria pecuaria (Díaz *et al.*, 2002). Esta enfermedad tiene distribución mundial y es considerada enzoótica en México, diagnosticada en todos los estados de la República y se considera una de las principales zoonosis (Velázquez *et al.*, 1998). Los animales domésticos más afectados son los caprinos, los bovinos, los porcinos, los ovinos y los caninos (Estrada, 1998).

La brucelosis, también conocida como enfermedad de Bang, fiebre ondulante y aborto contagioso, es una enfermedad de curso crónico, que se caracteriza por los efectos negativos que ocasiona en los procesos productivos y reproductivos de los animales domésticos ocasionando grandes pérdidas económicas a la ganadería nacional se caracteriza por los efectos negativos que ocasiona en los procesos productivos y reproductivos de los animales domésticos (Diego *et al.*, 2008; Serrano *et al.*, 2007;).

En el humano la transmisión sucede a través de productos lácteos elaborados con leche no pasteurizada, como crema, yogurt, mantequilla y queso; estos últimos se consideran la mayor fuente de infección. La transmisión por aerosoles es posible tanto en el campo, el laboratorio como en los rastros; a causa de esto, la brucelosis es considerada como una enfermedad ocupacional entre los vaqueros, veterinarios, matanceros y técnicos de laboratorio (Velázquez *et al.*, 1998).

Es una enfermedad, de declaración obligatoria y con mayor difusión en el mundo según la OMS (Organización Mundial de la Salud). Las estadísticas presentadas por la OMS, reflejan que cada año hay 500,000 casos nuevos de Brucelosis en el

mundo. En 1994, en México, se aprobó la primera Norma Oficial Mexicana de Emergencia (NOM-011-EM-Z00-1994) para combatir la Brucelosis en los animales, en el mismo año se implementó para la prevención y control de la Brucelosis en el hombre la Norma NOM-022-SSA2-1994, y en 1995 se empezó a emplear la Norma NOM-041-ZOO-1995, que a la fecha se mantiene vigente. La Comarca Lagunera es una zona endémica de Brucelosis, enfermedad que tiende a la cronicidad por el desconocimiento en su diagnóstico, tratamiento e implicaciones en salud pública (Ortega *et al.*, 2009).

II. ANTECEDENTES HISTORICOS

Históricamente, la Brucelosis fue reconocida como una enfermedad contagiosa por muchos años, antes de que fuera aislada la bacteria causal. En el año de 1887 David Bruce aisló el agente causal de la brucelosis, del bazo de soldados británicos muertos como consecuencia de la enfermedad; nombrándolo *Micrococcus melitensis* (Orduña, 2001). Veinte años después se descubrió que las cabras eran el reservorio de la enfermedad y por lo tanto fuente de infección para el humano al consumir leche y queso de cabra sin pasteurizar (Suarez, 2000).

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* (Suarez, 2000).

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 (Orduña, 2001).

2.1 Etiología

Orduña, (2001). Menciona desde un punto de vista epidemiológico la brucelosis se presenta como una zoonosis de extraordinaria complejidad debida a la variedad de especies de *Brucella* implicadas y a las características epidemiológicas que presenta cada una de ellas.

Las bacterias del género *Brucella* son bacilos gram negativos, no esporulantes, sin capsula, ni flagelos, son microorganismos aerobios, cocobacilos, facultativos intracelulares, capaces de sobrevivir y multiplicarse dentro de las células del sistema fagocítico mononuclear y tejidos asociados y evaden los mecanismos solubles extracelulares de la respuesta inmune (Díaz *et al.*, 2002).

El género *Brucella* pertenece a la subdivisión $\alpha 2$ de las Proteobacterias, junto con otras bacterias que se asocian de forma pericelular e intracelular con células de animales y plantas, ya sea como patógenos o como simbioses (Moreno *et al.*, 2002).

El ADN de este género es altamente homogéneo y se ha propuesto como una sola especie genómica a *B. melitensis*, mientras que las otras especies se proponen como subespecies de ésta. En los años 90 se reportó el aislamiento en mamíferos marinos y han surgido nuevas especies que afectan a mamíferos y roedores. El género *Brucella* incluye ocho especies, las cuales tienen un hospedero preferencial, aunque algunas de éstas pueden afectar a más de una especie animal. Son patógenos intracelulares facultativos, sus colonias son relativamente

pequeñas (0.7-1.2 μm de largo por 0.5-0.7 μm de ancho), húmedas y brillantes. Se han agrupado en especies lisas y especies rugosas.

B. abortus es una especie lisa que afecta principalmente al ganado bovino, pero también causa la enfermedad en ovinos, caprinos y equinos. Posee siete biotipos.

B. melitensis también es una especie lisa que causa la enfermedad principalmente en caprinos, ovinos y bovinos y en otras especies animales, donde destaca el reporte reciente de que infecta peces de agua dulce (Bastuji *et al.*, 1998). Posee tres biotipos.

B. suis, especie lisa cuyo hospedero preferente es el cerdo, aunque también afecta a los bovinos. Tiene cinco biotipos.

B. ovis, especie rugosa que solamente afecta ovinos.

B. canis, especie rugosa que infecta a cánidos.

B. neotomae ha sido aislada de la rata del desierto.

En los mamíferos marinos se han identificado las siguientes especies: *B. ceti* aislada de cetáceos y *B. pinnipedialis* encontrada en pinnípedos (Foster *et al.*, 2002). En el año 2007, se describió una nueva especie, *B. microti* aislada en el ratón de campo (*Microtus arvalis*) y en el zorro rojo (*Vulpes vulpes*) (Scholz *et al.*, 2008).

Se identificaron unos aislamientos de primates no humanos (*Papio spp*) asociados a retención de placenta, aborto y nacimiento de crías muertas, que presentan semejanza morfológica con *Brucella*. Mediante el análisis de las secuencias, no se han establecido características de alguna especie conocida, por lo que podría ser una nueva especie (Schlabritz-Loutsevitch., 2009).

2.2 Taxonomía

Reino: *Bacteria*

División: *Proteobacteria*

Clase: *Proteobacteria alfa*

Orden: *Rhizobiales*

Familia: *Brucellaceae*

Género: *Brucella* (Díaz *et al.*, 2002; Roger, 2005).

2.3 Resistencia y Supervivencia

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 brúcelas 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 (López, 1998).

En el **Cuadro 1**. Se puede observar la supervivencia de la bacteria en distintos materiales

<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.

Fuente: Acta Bioquím Clín Latinoam 2005; 39 (2): 203-16

La *Brucella* crece en aerobiosis y en atmósferas de bajas concentraciones de oxígeno, la temperatura óptima de crecimiento es de 37°C y un pH de 6.6 a 7.4, puede permanecer viable en orina, leche, agua y en tierra húmeda hasta 4 meses, resisten la congelación y la descongelación pero son destruidas por temperaturas de Pasteurización y por desinfectantes como fenol, formol y cloro (Estrada, 1998; Hornsby *et al.*, 2000; Moriyón, 1998).

En general, *Brucella* es susceptible a la mayoría de los antibióticos, como lo muestran los trabajos publicados en los que se realizaron ensayos *in vitro* empleando diferentes métodos. Las sulfonamidas, los aminoglicósidos 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 (López *et al.*, 1998).

2.4 Composición antigénica de la *brucella*

Las bacterias del genero *Brucella* poseen una envoltura celular compleja formada por una membrana citoplasmática, una membrana externa y un espacio periplasmático intermedio. Este último contiene enzimas, entre ellas muchas que detoxifican los agentes nocivos procedentes del medio, proteínas relacionadas con el transporte de nutrientes, varias de las enzimas actúan sobre los antibióticos β -lactámicos y, como componente estructuralmente más importante, un glucopeptídico (mureína o peptidoglicano) responsable de la forma e integridad osmótica de la bacteria (Moriyón, 1998).

La membrana externa contiene distribuidos asimétricamente fosfolípidos, proteínas y un lipopolisacárido, considerado el principal antígeno. Este consta de

una parte glicolípida (Lípido A) insertada en la membrana externa, y por tanto no expuesta a la superficie; y otra exclusivamente polisacáridica dirigida hacia el exterior (Moriyón, 1998; Forestier *et al.*, 1999).

En una infección por bacterias gram negativas las células del huésped son expuestas a antígenos, esto ocurre en dos categorías estructurales diferentes: proteínas y LPS, los cuales ejercen distintas funciones activadoras en el sistema inmune (Forestier *et al.*, 1999; Moriyón, 1998). Por su localización en la superficie de la célula y su inmunogenicidad, el LPS es el primer antígeno frente al que aparecen anticuerpos (IgM e IgG), tanto en la infección como en la vacunación. Este puede comprobarse en todas las pruebas que emplean como antígenos células completas (en las que el LPS interviene como antígeno principal) o empleando el LPS purificado (Moriyón, 1998; McQuiston *et al.*, 1999).

Los organismos de *Brucella* que exhiben un fenotipo liso son generalmente más virulentos que las de fenotipo rugoso. El fenotipo liso es debido a la presencia de un LPS completo en la membrana externa celular, la cual está compuesta de lípido A, un núcleo de oligosacáridos y un polisacárido con una cadena O (Alonso *et al.*, 1995). El LPS de cepas de *Brucella* rugosas no contienen la cadena O. En *B. abortus* el LPS ha sido involucrado en neutralizar algunas actividades bactericidas de los fagocitos y demuestra que es esencial para la supervivencia intracelular (Gómez *et al.*, 1995; McQuiston *et al.*, 1999; Tibor *et al.*, 1999).

El LPS y las proteínas de la membrana externa de cepas lisas contribuyen a la activación de la respuesta inmune. Una vez que la bacteria penetra al organismo, llega primero los nódulos linfáticos regionales; una vez que ha vencido esta barrera se disemina por la vía linfática o por la vía hemática al hígado, bazo y genitales. Durante la infección *B. melitensis* se aloja primariamente en las células fagocíticas, estimulando a más fagocitos a migrar debido a que sus componentes, sus productos y su interacción con componentes séricos que son quimiotácticos, la bacteria por lo general resiste el ataque del sistema inmunitario, dando paso al

establecimiento de la infección crónica, diseminándose a los diferentes órganos, pero en particular, en esta especie se ha demostrado que la cepa virulenta lisa evita la fusión fago-lisosoma y que se replica intracelularmente más eficientemente que las cepas atenuadas (Lord y Cherwonogrodzky, 1992; Moriyón, 1998).

Estudios de los componentes de la cubierta celular de las cepas virulentas del género *Brucella* sugieren que algunas fracciones como los ésteres tipo cera, los lípidos neutros, el lípido A y el alto contenido de fosfatidilcolina, interfieren con la función fagosoma-lisosoma y con ciertas actividades oxidantes subcelulares de los leucocitos polimorfonucleares (Moriyón, 1998).

Brucella expresa componentes nucleótidos y es probable que inhiba la fusión fago-lisosoma por la liberación de purinas (extractos de la 5'guanosa monofosfato y adeninas). Diversos autores relacionan la liberación de purinas y la presencia de la cadena O del lipopolisacárido a la supervivencia; ya que se ha observado que las cepas lisas de *B. abortus* son más resistentes a la destrucción intracelular en células fagocíticas (por ejemplo la cepa 2308), y más resistentes a la acción de sustancias bactericidas contenidas en el lisosoma. *Brucella* resiste a los intermediarios del oxígeno (peróxido de hidrógeno y radicales hidroxilos), formados en los fagocitos durante la explosión respiratoria que acompaña a la fagocitosis para la destrucción de las bacterias ingeridas. Se sabe que la superóxido dismutasa (SOD) y la catalasa, que son enzimas que se han encontrado en *Brucella*, se integran en el mecanismo de defensa que desarrollan algunos microorganismos frente a la toxicidad oxidativa (Moriyón, 1998).

2.5 Epidemiología

Actualmente se considera a la Brucelosis como una enfermedad de distribución mundial, zoonótica y endémica. La incidencia y prevalencia de la brucelosis tienen importantes variaciones geográficas. Las zonas de mayor prevalencia corresponden a la región del Mediterráneo, Asia occidental, algunas partes de

África y América (Estados Unidos, México, Brasil, Perú, Colombia y Argentina). *B. melitensis* es la especie más difundida seguida de *B. abortus* y *B. suis*. (Castro *et al.*, 2005).

Las cabras infectadas son en gran medida responsables de diseminar la enfermedad a la población humana, pues excretan gran cantidad de bacterias capaces de sobrevivir en el medio ambiente por periodos relativamente largos motivo por lo que el control de la enfermedad en esta especie es indispensable para combatir la zoonosis (Castro, 2005).

2.6 Transmisión

La fuente de infección la constituyen los animales infectados que excretan gran cantidad de bacterias junto con los tejidos y productos de abortos, en la leche, y en menor medida en las secreciones genitales, contaminando de esta forma el suelo, los corrales, la paja de las camas, el agua de arroyos, canales y pozos. *Brucella* es capaz de sobrevivir en el medio ambiente, fuera del hospedador, por períodos relativamente largos (Castro *et al.*, 2005).

Oral: Desde el punto de vista clínico el 95% de los animales adquieren la infección por esta vía, por el instinto de los animales de lamer los fetos abortados, los terneros recién nacidos y los órganos genitales de otras hembras recién paridas estas, secretan alrededor de 10 bacterias/gramo, aún en los casos asintomáticos (Rodríguez *et al.*, 2005).

Vía cutánea: Tiene la misma importancia, por ejemplo: se pueden producir infecciones mediante las camas infectadas, cuando haya lesiones en los extremos de los miembros, en el espacio interdigital que faciliten la penetración del agente patógeno en capas profundas de la piel, al ordeñar, se introduce *Brucella* en la piel de los pezones a través de manos humedecidas con leche infectada. La cantidad de bacterias/gramo que se elimina en leche es variable, pudiendo oscilar desde

menos de 100 hasta 200.000 (sin precisar volumen) (Rodríguez *et al.*, 2005; Muñoz, 2007).

Las prácticas habituales de manejo de las cabras; préstamo de sementales, pastoreo de rebaños en lugares comunes, reposición con animales de otros rebaños, facilitan la diseminación de la enfermedad. Las vías de contagio son múltiples y no muy conocidas. Sin embargo, la mayor cantidad de los animales se infectan a través de las vías oral y respiratoria, bien por ingestión de materias contaminadas o bien por inhalación del polvo de los establos (Blasco *et al.*, 2001). En el **cuadro 2**. Se muestran la relación entre especies de *Brucella*, vías de transmisión y patogenia.

<i>Huésped</i>	<i>Especie de Brucella</i>	<i>Vías de transmisión</i>	<i>Patogenia</i>
Bovinos	<i>B. abortus</i>	Oral, nasal y conjuntival.	Abortos. Orquitis. Epididimitis. Ocasionalmente artritis.
Cerdos	<i>B. suis</i>	Oral y genital.	Aborto. Esterilidad. Orquitis.
Ovinos	<i>B. ovis</i>	Genital.	Abortos (poco frecuentes). Epididimitis.
Perros y otros cánidos	<i>B. melitensis</i> , <i>B. abortus</i> , <i>B. canis</i> , <i>B. suis</i>	Oral y genital.	Abortos. Esterilidad. Epididimitis. Dermatitis escrotal
Humano	<i>B. melitensis</i> , <i>B. abortus</i> , <i>B. canis</i> , <i>B. suis</i>	Inoculación conjuntival. Inhalación. Cutánea. Digestiva.	Fiebre aguda e intermitente. Adenopatías. Hepatoesplenomegalia Complicaciones osteoarticulares,

Fuente: Acta Bioquím Clín Latinoam 2005; 39 (2): 203-16

2.7 Factores de riesgo

La adquisición de animales de reemplazo infectados es la principal causa de introducción de Brucelosis a hatos libres, también la proximidad con otros hatos infectados es un factor predisponente para el ingreso o la aparición de Brucelosis en un rebaño, asimismo el tamaño del hato, la densidad de población y manejo sanitario del hato (Roger, 2005), la infección se puede producir en todos los animales, considerando la edad, el sexo, tiempo de gestación y la resistencia

natural a la enfermedad, que influye en la evolución de la infección. La susceptibilidad parece estar más relacionada con la madurez sexual que con la edad. Más sin embargo, tenemos que las crías nacidas de hembras infectadas, usualmente son seronegativas a *Brucella* por un largo período y posteriormente convertirse en positivas (Díaz *et al.*, 2002). Otro aspecto importante de esta zoonosis es que afecta principalmente al personal que labora en lugares donde se tiene contacto directo con las fuentes de infección, como médicos veterinarios, trabajadores de establos, rastros, laboratorios de diagnósticos etc., (Venegas *et al.*, 2007).

2.8 Patogenia de la brucelosis

Las brúcelas penetran al organismo principalmente por la vía oral, aunque también pueden hacerlo por la vía conjuntival, por inhalación, a través de heridas e incluso en el semen y la transmisión congénita. (Díaz, 2001) Posterior a su entrada, la bacteria migra por vía linfática hasta los primeros nódulos linfáticos regionales, donde se multiplica y produce la infección. Esta etapa de colonización local o regional corresponde al periodo de incubación de duración variable, que oscila entre 14 y 180 días, prolongándose hasta la aparición de anticuerpos (Crespo 1993).

A partir de los nódulos linfáticos se produce una diseminación que constituye la denominada primoinvasión por *Brucella*, que se inicia con su paso al torrente circulatorio, a través del cual coloniza diferentes órganos el bazo, el hígado o la médula ósea, posteriormente provoca sucesivas ondas septicémicas que, generalmente coinciden con un periodo febril en el hospedador. Esta fase constituye un requisito imprescindible para alcanzar la placenta e implantarse en ella y en la que cualquier mecanismo inmune capaz de reducir el nivel y/o duración de la bacteremia podría reducir las posibilidades de colonización. Se puede desarrollar una evolución variable de la enfermedad que dependerá de la totalidad de factores que influyen en la susceptibilidad. En general, tanto en ovinos como en

caprinos, se suele producir una localización aislada bien sea placentaria, mamaria, osteoarticular, hepatoesplénica, testicular. (Hornitzky, 1986).

En los mamíferos superiores la placenta es un órgano complejo, constituido conjuntamente por tejidos maternos y fetales, que regula el transporte de sustancias nutritivas desde la madre al feto y se denomina “efecto barrera” al paso selectivo de moléculas a través de ella. Tradicionalmente se ha considerado que *Brucella* coloniza los cotiledones placentarios y el útero, donde se multiplica muy activamente en el epitelio que reviste las vellosidades embrionales del corion presentes en las hembras en gestación, propagándose entre ellas y la mucosa uterina, dando lugar a procesos inflamatorios, posteriormente necróticos, que alteran las conexiones entre la placenta fetal y materna. De tal forma que pueden atravesar la barrera placentaria y localizarse en el feto, principalmente en el pulmón, bazo, hígado, miocardio y contenido del abomaso. Este proceso tiene como consecuencia alteraciones en la nutrición y oxigenación del feto, dando lugar a su muerte y expulsión, es decir, al aborto (Crespo, 1993).

Si el animal no está gestante, la localización usual es la ubre, donde se produce mastitis intersticial y afecta los linfonodos adyacentes. También se puede localizar en hígado, pulmón, linfonodos y bazo donde se producen focos granulomatosos, quedando infectados de por vida, la bacteria es fácilmente fagocitada por los macrófagos, pero resiste la destrucción posterior por ser un macrófago intracelular facultativo, permanece a salvo de los mecanismos de defensa por largos periodos de tiempo, pudiéndose multiplicar dentro del fagocito, la reacción huésped-parásito es muy compleja y debido a esto el periodo de incubación es variable y está influenciado por la fase de gestación, número y virulencia de las bacterias, edad y vacunación previa (Bastuji, 1998).

2.9 Inmunología

El ingreso de la *Brucella* al organismo suele desencadenar un proceso inflamatorio agudo a los pocos días pos infección, desarrolla estrategias para su supervivencia, como permanecer en el fagosoma intacto y bloquear la fusión posterior con el lisosoma, por la presencia de la cadena O y los lípidos de ornitina que interactúan directamente con la membrana del fagosoma y de esta forma se protege de la acción de los péptidos catiónicos y enzimas líticas presentes en los gránulos lisosómicos (Estrada *et al.*, 2007). Induce la activación de los mecanismos de defensa que se inician con la participación de algunos componentes de la inmunidad innata, como el complemento (C), los neutrófilos y los macrófagos. La activación del C por las vía clásica y alterna juega un rol muy importante en la resistencia contra bacterias gram negativas. Los neutrófilos son las primeras células del huésped que se ponen en contacto con *Brucella*. La opsonización de las bacterias por anticuerpos y complemento facilita su fagocitosis. Como ya se ha mencionado, *Brucella* es capaz de sobrevivir y multiplicarse dentro de los neutrófilos durante el curso de la infección y de esta forma es transportada a los tejidos linfoides donde se produce la muerte de las bacterias intracelulares esto es necesario para la desgranulación de los gránulos de los neutrófilos, con la siguiente liberación de mieloperoxidasa, la *Brucella* posee mecanismos que inhiben esta desgranulación y evitan así su destrucción (Hugo *et al.*, 2005). En la respuesta humoral, la primera reacción a la adquisición de la infección, ya sea en forma natural o por vacunación, es de inmunoglobulina M (IgM), seguida por la activación de la IgG como efecto secundario. En animales vacunados con la cepa 19 la primera respuesta aparece alrededor de los 13 días posvacunación; se encuentran anticuerpos aglutinantes IgM (aglutininas) que permanecen en la circulación por 90 días (Roger, 2005).

2.10 Manifestaciones clínicas

Las manifestaciones clínicas más evidentes es el aborto durante los últimos dos meses de gestación, los fetos permanecen en el útero 24 a 72 horas después de

mueren o nacen crías vivas pero muy débiles y en poco tiempo después mueren, por lo general se produce la autólisis de los tejidos suaves, acompañado en algunas ocasiones por retención de placenta y metritis, piómetra (Roger, 2005; López, 1998).

El período de incubación es difícil de establecer ya que varía de acuerdo a diversos factores (concentración y virulencia de la bacteria, estado físico, nutricional e inmunológico del huésped). Los promedios de incubación varían de 15 días a varios meses. En análisis histopatológicos en fetos, se observan lesiones de hepatitis necrótica multifocal y bronconeumonía exudativa (Limón *et al.*, 2007), en machos adultos produce alteraciones testiculares epididimitis y algunas veces orquitis, atrofia testicular (Blasco, 2002).

2.11 Prevención y control de la brucelosis

1. Diagnóstico. Juega un papel importante con respecto a la disminución de focos de infección, de tal manera que es fundamental emplear las pruebas serológicas que presenten una mayor sensibilidad y especificidad, con lo cual se pretende identificar a los animales infectados reduciendo así la probabilidad de un error.
2. Eliminación o aislamiento de reactivos. Se refiere a los hatos libres y los hatos en control. El primero obliga al ganadero a sacrificar a los animales reactivos en un periodo no mayor a los 10 días posteriores a la fecha en que fueron comunicados los resultados. Dicho sacrificio debe hacerse en un rastro autorizado por la SAGARPA. El segundo se refiere al sacrificio de reactivos, que a su vez pueden ser aislados. El aislamiento puede ser completo (unidades de segregación autorizadas) o parcial en el mismo hato a criterio del MVZ oficial. Este aislamiento se puede realizar por un periodo no mayor un año, al término del cual los animales serán enviados a un rastro autorizado para su sacrificio.
3. Desinfección. Cuando se identifica un animal reactivo, se aísla o elimina del resto del ganado, siendo necesario una desinfección química del corral o

áreas en las que el animal se alojaba. Se realiza primero una limpieza mecánica para eliminar materia orgánica, posteriormente se utilizan los siguientes desinfectantes recomendados por la norma oficial mexicana: solución de cloruro de cal al 2.5% de cloro activo, solución de hidróxido de sodio al 2%, creolina al 5% y fenol al 1%.

4. Vacunación. En México la Norma Oficial Mexicana para la Campaña Nacional Contra la Brucelosis en animales, contempla el uso obligatorio de la vacuna Rev 1 de *Brucella melitensis*, en dos presentaciones la primera en dosis normal de 2 ml para animales de 3 a 4 meses, la segunda en dosis reducida de 1 ml para animales mayores de 4 meses y/o gestante.
5. Control de movilización de animales. Es de gran importancia para el éxito o fracaso de los programas de control de la *Brucella* el tener bajo vigilancia la movilización de los animales, considerando el área de origen y el destino, así como el motivo de la movilización. Animales procedentes de hatos libres se pueden movilizar por todo el país sin restricción alguna, en contraste los animales procedentes de hatos en control, se autoriza su traslado dentro de zonas en control y con el fin de ser llevados a las áreas de aislamiento o al rastro (Flores 1994, OIE 2004, Brucelovac 2005, Olsen 1997, Plummet 1994, SAGARPA 1995).

2.12 Pruebas de diagnóstico

En la actualidad se dispone de un gran número de pruebas serológicas como la RB3%, la Inmunodifusión Radial (IDR), la ELISA, todas ellas pueden ser útiles cuando se emplean con un criterio adecuado.

El éxito de los programas sanitarios contra brucelosis obedecerá de la eficacia del diagnóstico, el cual depende de a la calidad de las pruebas utilizadas, la especificidad, sensibilidad e índice de detección de animales enfermos.

Algunos investigadores coinciden en señalar la validez del diagnóstico serológico a pesar de las limitaciones que presenta la detección individual de animales enfermos, particularmente los pequeños ruminantes, por lo cual los resultados han de interpretarse siempre de forma colectiva y, en consecuencia, un rebaño habrá de considerarse como afectado por la enfermedad, aunque solo haya detectado en él un animal positivo. Éstas circunstancias implican a su vez, el carácter colectivo de medidas profilácticas, que tendrán al rebaño como unidad mínima de actuación sanitaria (Díaz, 1993).

2.12.1 Rosa de Bengala (RB) 3%

Esta prueba del antígeno brucelar amortiguado recibe diversos nombres, tales como: buffered *brucella* antigen (BBA); rose bengal plate test (RBPT); así como prueba de tarjeta o card test. En 1967 piets y schilf desarrollaron este antígeno acidificado tamponado estable, que consiste en una suspensión de *brucella abortus* cepa 1119-3 en una concentración de 8% amortiguada a un pH 3.5 y teñida con rosa de bengala (Díaz *et al*; 2001).

Díaz Aparicio y *col*, (1993). Demostraron que en ovinos y caprinos la modificación en la concentración del antígeno de tarjeta del 8% al 3%, aporta resultados más fieles al aumentar la sensibilidad en la detección de animales positivos. Esta modificación ya ha sido incluida en la norma oficial mexicana NOM-041-ZOO-1995, campaña nacional contra la brucelosis en animales, publicada en el diario oficial el 20 de agosto de 1996.

La aglutinación inespecífica de las brúcelas lisas desaparece a un pH ácido 3.6, mientras que en estas condiciones se mantiene la actividad de los anticuerpos específicos. Esta observación es la base de la RB, en la que se emplea un antígeno (Ag) celular teñido con este colorante y tamponado a pH 3.5. Es un procedimiento cualitativo rápido de aglutinación macroscópica que se efectúa en

una sola dilución. En la RB, la estructura frente a la cual actúan los anticuerpos es el LPS (Díaz *et al.*, 1993).

2.12.2 Inmunodifusión radial (IDR)

Es una prueba que identifica IgG frente al HN que se encuentra en un gel, que es depositado en placas especiales, se perfora el gel y se agregan los sueros problema, si algún suero resulta positivo se presenta una precipitación alrededor del pozo. Esta prueba se recomienda cuando se pretenda diferenciar animales con reacciones vacúnales o por cepas de campo (Blasco y Díaz, 1992).

2.12.3 Elisa

Es una prueba de reconocido valor de reconocido valor para el diagnóstico de brucelosis en bovinos, en los que se han evaluado varios antígenos y conjugados. En los caprinos el número de trabajos sobre ELISA para diagnosticar brucelosis es mínimo (Díaz *et al.*, 2001).

Permite cuantificar los anticuerpos específicos de las clases IgM, IgG e IgA con actividad anti-LPS de la *Brucella* (Young, 1991).

A finales de los años 70, se desarrolló la ELISA, para aplicarla al diagnóstico de brucelosis en varias especies de animales y en el hombre.

Según los resultados obtenidos por Hornitzky y Searson la prueba es un método sensible, específico y económico. Aplicaron la ELISA con el objetivo de diagnosticar la brucelosis caprina, posteriormente se compararon los resultados obtenidos con otras pruebas como la Fijación del Complemento, 2-Mercaptoetanol, y aglutinación Lenta. Y se comprobó que la ELISA es más específica con un 95% de efectividad (Luna, 2004).

2.13 Vacunación

La *Rev 1* es la vacuna más utilizada actualmente en ovinos y caprinos, se debe tener en cuenta que la *Rev 1* es una cepa viva atenuada y por tanto supone la penetración y multiplicación de dicha cepa en los animales. En 1955 Herbert y Elberg encontraron una cepa de *B. melitensis* no dependiente de la estreptomina a la que llamaron *Rev 1* (Varela *et al.*, 1973). La cepa *Rev 1* es de baja virulencia, es altamente antigénica, es estable y no revierte a patógena por pasajes continuos. La cepa *Rev 1* es un revertiente en fase lisa obtenido a partir de una cepa estreptomina dependiente de *Bucella*. La *Rev 1* puede ser excretada en la leche de las cabras vacunadas, siendo este un fenómeno transitorio persistiendo a veces hasta dos lactaciones (Elberg, 1981).

Una dosis de 1×10^9 u.f.c., protege a la cabra de por vida cuando se aplica a cabras de 3 a 6 meses de edad (Elberg, 1981). Sin embargo esta contraindicada en cabras preñadas, pues puede ocasionar aborto, y en cabras lactando puede eliminarse por la leche. Además los animales quedan como positivos a las pruebas serodiagnósticas, siendo los anticuerpos fijadores de complemento los que permanecen durante mayor tiempo (Alton, 1990). Existen discrepancias en las respuestas serológicas posteriores a la vacunación convencional (vía subcutánea, dosis normal) en ovinos y caprinos, ya que dicha respuesta oscila, entre cuatro y veinte meses. En cambio al usar la vacunación con dosis reducida en cabras adultas estas resultan negativas a las diversas pruebas serológicas entre los 3 y 7 meses después (Alton, 1990). En la vacunación de cabras gestantes se sabe que el uso de la dosis normal presenta serios problemas de abortos (Elberg, 1981). Una alternativa es el uso de la dosis reducida ya que su aplicación en cabras gestantes no provoca aborto (Alton, 1990).

La vacunación durante un brote de la enfermedad no causa efecto sobre el curso de la infección, pero puede tener un efecto de supresión de abortos. Esta vacunación masiva y sistemática de caprinos disminuye la presencia de los abortos en rebaños o explotaciones, interrumpe la transmisión de la enfermedad,

evita su difusión y tiene como resultado la disminución de la prevalencia, permitiendo la ejecución de una vigilancia epidemiológica adecuada.

2.14 Datos sobre la vacunación en México

La vacunación es una herramienta importante para interrumpir la difusión de la brucelosis. Sin embargo, la vacunación sólo disminuye el riesgo de contagio, sin eliminarlo por completo. Además, debe estar integrada en un programa de control que contemple el diagnóstico y las medidas sanitarias (Blasco, 1997).

En México el programa de control de la brucelosis, usa la vacunación con la cepa *Rev 1* de *B. melitensis*, aplicando la dosis clásica en cabritas jóvenes y la dosis reducida en cabras adultas recomendándose la vacunación de hembras vacías. Siendo hasta el momento *Rev 1*, la única vacuna eficaz para el ganado ovino y caprino, que induce una respuesta serológica muy semejante a la de la infección natural (Elberg, 1981).

Actualmente se considera que esta vacuna debe usarse tanto en programas previos de vacunación masiva, que aspiran a reducir la incidencia en zonas endémicas, como en los que combinan vacunación y diagnóstico serológico, con el fin de erradicar la enfermedad.

Es importante destacar el hecho de que a pesar de que la población de ganado caprino en México rebasa ligeramente los 9 millones de cabezas y que la NOM para la campaña señala que la vacunación es obligatoria en todo el territorio nacional, el número de vacunas utilizadas anualmente para prevenir la infección en cabras en el país no rebasa las 830,430 dosis que es la cifra más elevada de vacunas *Rev 1* utilizadas en un año, situación que ocurrió en 1999. En los años subsecuentes el número de dosis aplicadas ha sido inferior a las 680 mil, lo que implica una limitada cobertura de vacunación. En el año 2005 únicamente se utilizaron 309,244 dosis sumando las dos presentaciones autorizadas

oficialmente, la conocida como vacuna dosis completa para cabritas jóvenes de la cual se aplicaron 65, 905 dosis y la llamada vacuna en dosis reducida, para animales adultos, de las que se aplicaron 243, 339 vacunas (Flores, 2007).

La vacunación usando la dosis completa por vía conjuntival, parece ser una excelente opción. Sin embargo, en nuestro país no ha sido utilizada, aunque ahora un laboratorio español está tramitando su entrada al mercado mexicano (Flores, 2007).

SAGARPA, contraviniendo las recomendaciones técnicas en contra de esta medida emitidas y sustentadas por el Comité de ovinos y caprinos del Consejo Nacional de Salud Animal (CONASA), ha autorizado en México el uso de la cepa RB51 para los caprinos, tanto en dosis reducida como completa, la vacuna viene sin embargo en una sola presentación y lo que varía es la dosis que se aplica, siendo 1 ml para la dosis reducida y 2 ml para la dosis completa.

2.15 NOM-041-ZOO-1995. Campaña Nacional contra la Brucelosis en los animales

La NOM-041-ZOO-1995 (Campaña Nacional contra la Brucelosis en los animales) dice textualmente es su inciso 8.4: Vacuna para caprinos y ovinos.- Las vacunas utilizadas para la inmunización de cabras y ovejas deben estar elaboradas con la cepa *Rev1* de *Brucella melitensis*, ajustándose a lo siguiente: a) Se puede utilizar en dos formas: La dosis clásica para cabras y ovejas de 3 a 4 meses de edad y la dosis reducida, para hembras mayores de 4 meses; b) La dosis clásica debe contener de 1 a 2×10^9 ufc de *Brucella* por cada ml de vacuna reconstituida, siendo la dosis de 1 ml; c) No debe aplicarse la vacuna en dosis clásica a hembras mayores de 4 meses ni a animales gestantes o enfermos; d) La vacuna en dosis reducida debe tener un título de 1×10^5 ufc de *Brucella* por cada dosis; e) Bajo ninguna circunstancia se permitirá diluir la vacuna en presentación de dosis clásica, para obtener dosis reducidas; f) La vacuna en dosis reducida puede aplicarse a todas las hembras mayores de 4 meses que estén sanas, aun cuando

estén gestantes; g) No debe aplicarse en ningún caso la vacuna a caprinos ni ovinos machos; h) No debe aplicarse la vacuna a caprinos ni ovinos castrados, sean machos o hembras; i) En aquellos casos en que la Secretaría, con base en un diagnóstico de situación lo justifique, será obligatoria la vacunación de todas las hembras de bovinos; j) La vacunación oficial de cabras y ovejas será realizada o supervisada por un Médico Veterinario oficial o aprobado; k) Al aplicar la vacuna para la prevención de la brucelosis en caprinos y ovinos, el Médico Veterinario oficial o aprobado debe extender una constancia de vacunación; l) La constancia de vacunación debe incluir datos específicos sobre la unidad de producción, identificación precisa del o los animales vacunados, marca y número de lote de la vacuna así como la fecha de vacunación, fecha de caducidad del producto y edad de los animales, debiendo indicar si se aplicó la vacuna en dosis clásica o reducida; m) El Médico Veterinario oficial o aprobado debe instrumentar la identificación permanente del animal mediante un arete oficial u otra que autorice la Secretaría; n) El Médico Veterinario oficial o aprobado debe informar a la Secretaría sobre sus actividades de vacunación (NOM-041-ZOO-1995).

2.16 Producción caprina en México

En el año 2008 en México la población caprina era de 8, 952,144, cabezas, de las cuales menos de 300,000 cabezas eran destinadas para la producción, la producción de carne en ese año fue de 42,389 toneladas y una producción anual de leche de 163,900 litros (SIAP, 2008).

2.17 Brucelosis en caprinos

Los caprinos son los principal hospedador de *B. melitensis*, sin que ello quiera decir que el microorganismo no sea patógeno para otras muchas especies animales. En México cinco de siete especies de *Brucella* han sido aisladas, esto incluye a *B. melitensis*, *B. abortus*, *B. suis*, *B. canis* y *B. ovis*. Algunos de los aislamientos se han hecho en especies animales que no son sus huéspedes

habituales, por ejemplo una cepa de *B. suis* fue aislada de queso de leche de vaca y algunas cepas de *B. melitensis* fueron aisladas de leche de vaca. Casos esporádicos son causados por *B. abortus* o *B. suis* han sido observados en ovinos y cabras (Moriyón, 1998).

La brucelosis se encuentra en la lista enfermedades de conformidad con las disposiciones de la Oficina Internacional de Epizootias (OIE), que comprende enfermedades transmisibles que se consideran importantes desde el punto de vista socioeconómico y/o sanitario para las economías nacionales y cuyos efectos para el comercio internacional de animales y productos pecuarios no son desdeñables (Renoux, 1961).

Las especies más susceptibles a la infección con *Brucella melitensis* son los caprinos y los ovinos, sin embargo el caprino puede infectarse con otras especies de *Brucella*, especialmente si comparte su hábitat con bovinos o cerdos infectados. Como en las demás especies, la enfermedad se manifiesta en hembras con aborto, los machos rara vez sufren de infecciones genitales (Crespo, 1993).

Comúnmente el hombre se infecta por consumo de productos lácteos, especialmente quesos frescos procedentes de cabras infectadas con *B. melitensis*. La excreción de gérmenes por la leche puede ser constante o intermitente, dependiendo la cantidad microorganismos que se encuentren alojados en la glándula mamaria. Se ha reportado que los abortos son focos de infección para los animales y para el hombre (Crespo, 1993).

2.18 Situación de la Brucelosis caprina en México

La brucelosis se conoce en México desde 1905, cuando el Dr. Valenzuela sospechaba de la presencia de *Micrococcus melitensis* en humanos. Las sospechas tomaron cuerpo en 1912, cuando el Dr. Reséndiz relacionó la aparición de una enfermedad extraña, caracterizada por fiebre recurrente con la importación

de cabras murcianas en 1910. En 1921, Placeres demostró mediante estudios bacteriológicos y serológicos la presencia de la enfermedad en México (Roger, 2005). En México se ha descrito la presencia de brucelosis en cabras desde 1917 en los estados de Guanajuato y San Luis Potosí. En 1962 se reportó que los estados con mayor prevalencia de brucelosis caprina eran los Estados de Coahuila, Nuevo León y Zacatecas. En México, la población de cabezas de ganado caprino en 1989 era de 11 millones y la cobertura diagnóstica entre 1982 y 1992 no alcanzó nunca el 1% de este censo (Suarez, 2000).

En la República Mexicana la infección por *Brucella melitensis* en animales se encuentra difundida prácticamente en todas las áreas en donde existe ganado caprino. En 1997 la prevalencia de rebaños en los que existía la enfermedad era de 16.4%, mientras que la prevalencia en relación a cabezas de ganado afectado era de 3.0%. Para el año 2006 la Dirección General de Salud Animal registró una prevalencia de 10% respecto al número de rebaños infectados, en tanto que la prevalencia con respecto al número de cabezas de ganado caprino reactor a pruebas serológicas fue de 1.22%. Esto indica que en los últimos 10 años se ha logrado cierto grado de avance.

Es importante destacar el hecho de que a pesar de que la población de ganado caprino en México rebasa ligeramente los 9 millones de cabezas y que la NOM para la campaña señala que la vacunación es obligatoria en todo el territorio nacional, el número de vacunas utilizadas anualmente para prevenir la infección en cabras en el país no rebasa las 830,430 dosis que es la cifra más elevada de vacunas Rev 1 utilizadas en un año, situación que ocurrió en 1999. En los años subsecuentes el número de dosis aplicadas ha sido inferior a las 680 mil, lo que implica una limitada cobertura de vacunación. En el año 2005 únicamente se utilizaron 309,244 dosis sumando las dos presentaciones autorizadas oficialmente, la conocida como Vacuna Dosis Completa para cabritas jóvenes de la cual se aplicaron 65,905 dosis y la llamada Vacuna en Dosis Reducida, para animales adultos, de las que se aplicaron 243,339 vacunas.

Estas cifras hacen evidente que el avance de los programas de combate a la brucelosis caprina seguirá tan lento como ha sido durante los últimos 35 años, a menos que se tomen medidas enérgicas que permitan albergar mejores expectativa.

2.19 Brucelosis en caprinos en la comarca lagunera

La caprinocultura en la Comarca Lagunera tiene una tradición desde la época de la colonia, la crianza de esta especie se ha mantenido y transmitido de generación en generación, representando la principal fuente de trabajo para muchas familias rurales. Actualmente la Laguna tiene un inventario de 373,365 caprinos, siendo el primer productor nacional de leche con una producción de 79, 887,000 litros al año (SAGARPA, 2009), la cual en su mayoría es acopiada por dos empresas (Chilchota y Coronado), las cuales destinan la leche principalmente a la elaboración de quesos y dulces (Laria *et al*, 2006).

Siendo la comarca lagunera la principal región productora de leche de cabra de México, el control de esta enfermedad cobra mas importancia, ya que su control incide en la salud publica de la población rural que se dedica ala caprinocultura (por contacto directo con animales infectados o inhalación de aerosoles con partículas infectadas) y con los consumidores de lácteos sin pasteurizar (Laria *et al.*, 2006).

Si embargo la incidencia puede disminuirse mucho si se aplicara estrictamente la NOM, como lo menciona CONASA. La brucelosis caprina ha recibido poca atención, sin embargo, la economía de muchas zonas áridas o semi-aridas depende en gran medida de estos animales.

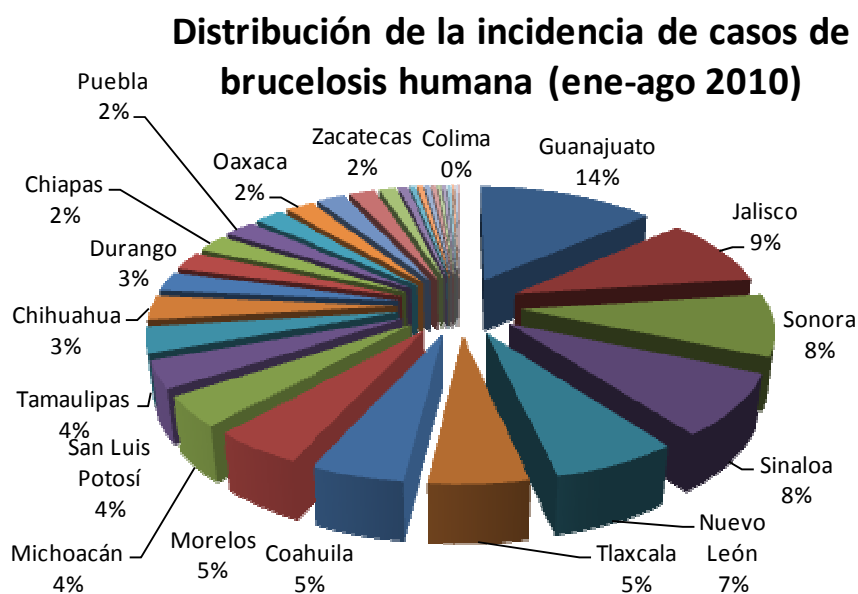
En la comarca lagunera lleva ya varios años en funcionamiento la campaña de control, tanto en bovinos como en caprinos, sin embargo durante mucho tiempo en cabras se uso indistintamente la misma vacuna que en bovinos, la cual tiene como

origen *B. abortus*, la cual si afecta a la cabras, pero no es la principal *Brucella* (la principal es *B. melitensis*).

2.20 La enfermedad como problema de salud pública.

Es una enfermedad que afecta a los animales e incidentalmente se transmite al humano. La brucelosis humana es causada principalmente por *B. melitensis* y *B. abortus*, pero también por *B. suis* y *B. canis*, nunca por *B. ovis*. La bacteria se transmite a través de la ingestión de leche y subproductos lácteos (crema, yogurt, mantequilla y queso) elaborados con leche no pasteurizada proveniente de animales infectados, por contacto directo con secreciones contaminadas y por aerosoles. Se considera una enfermedad ocupacional que afecta a veterinarios, matanceros, ganaderos, laboratoristas, etc.

La brucelosis humana conocida también como: fiebre del mediterráneo, fiebre de Malta, septicemia de Bruce, fiebre ondulante, enfermedad de Bang, aborto contagioso y aborto infeccioso, es una enfermedad de notificación obligatoria para los médicos. De acuerdo a los reportes generados por la Dirección General de Epidemiología SSA, hasta la semana 33 (del 15 al 21 de agosto) de 2010 se han reportado 1,622 casos de brucelosis humana.



Los datos oficiales de incidencia, aunados a los casos no reportados y/o mal diagnosticados, resaltan la importancia de la enfermedad en nuestro país. Lo anterior debe sensibilizar tanto a las autoridades, como a los profesionistas y productores de la importancia del control y erradicación de la enfermedad en los animales domésticos, la principal fuente de transmisión hacia los humanos en México. En referencia a la salud animal la Campaña Nacional Contra la Brucelosis en los Animales reporta que todo el territorio nacional está en fase de control, a excepción del estado de Sonora cuyo estatus es de libre, Yucatán y el norte del estado de Sinaloa se encuentran en fase de erradicación.

III. JUSTIFICACIÓN

La brucelosis es una zoonosis que causa importantes pérdidas a los ganaderos del país. Aun siendo la laguna un área de alta producción caprina, existen pocos trabajos que reporten la incidencia de la brucelosis por lo que la SAGARPA y el CONACYT convocaron a la realización de un estudio epidemiológico a nivel nacional en las principales zonas caprinocultoras del país.

Con el fin es establecer la prevalencia de la enfermedad, para después determinar cuáles son los factores de riesgo que están involucrados en su presentación favoreciendo que se estén infectando los animales, para así proponer con bases, medidas para el control.

La Prueba de Rosa de Bengala al 3% (RB3%) forma parte de las pruebas aceptadas por la Norma Oficial Mexicana (NOM-041-ZOO-1995) y por la Organización Internacional de Epizootias como prueba tamiz en el diagnóstico de la brucelosis. Es rápida, de fácil ejecución y permite el procesamiento de un gran número de muestras por día, es cualitativa, además de que en zonas de alta prevalencia da resultados muy satisfactorios aún en zonas geográficas económicamente deprimidas en las que no existe la posibilidad de acceso al

laboratorio, sabiendo que en la mayor parte del país la explotación de ganado caprino se realiza en condiciones de nomadeo.

IV. OBJETIVOS

Objetivo general

Determinar la prevalencia y los factores de riesgo asociados a la brucelosis en cabras de la comarca lagunera.

Objetivos particulares

- Determinar la prevalencia de la enfermedad
- Conocer el estado sanitario de los rebaños caprinos de la comarca lagunera en relación a la brucela.
- Proponer medidas de manejo de los rebaños que contribuyan a disminuir el riesgo de presentar brucelosis.

V. MATERIAL Y MÉTODOS

5.1 Descripción del lugar de trabajo.

El estudio fue realizado en Zona metropolitana de La Laguna, integrada por municipios tanto de Coahuila como del vecino estado de Durango. Los municipios incluidos en el estudio se muestran en el siguiente mapa. Figura 1

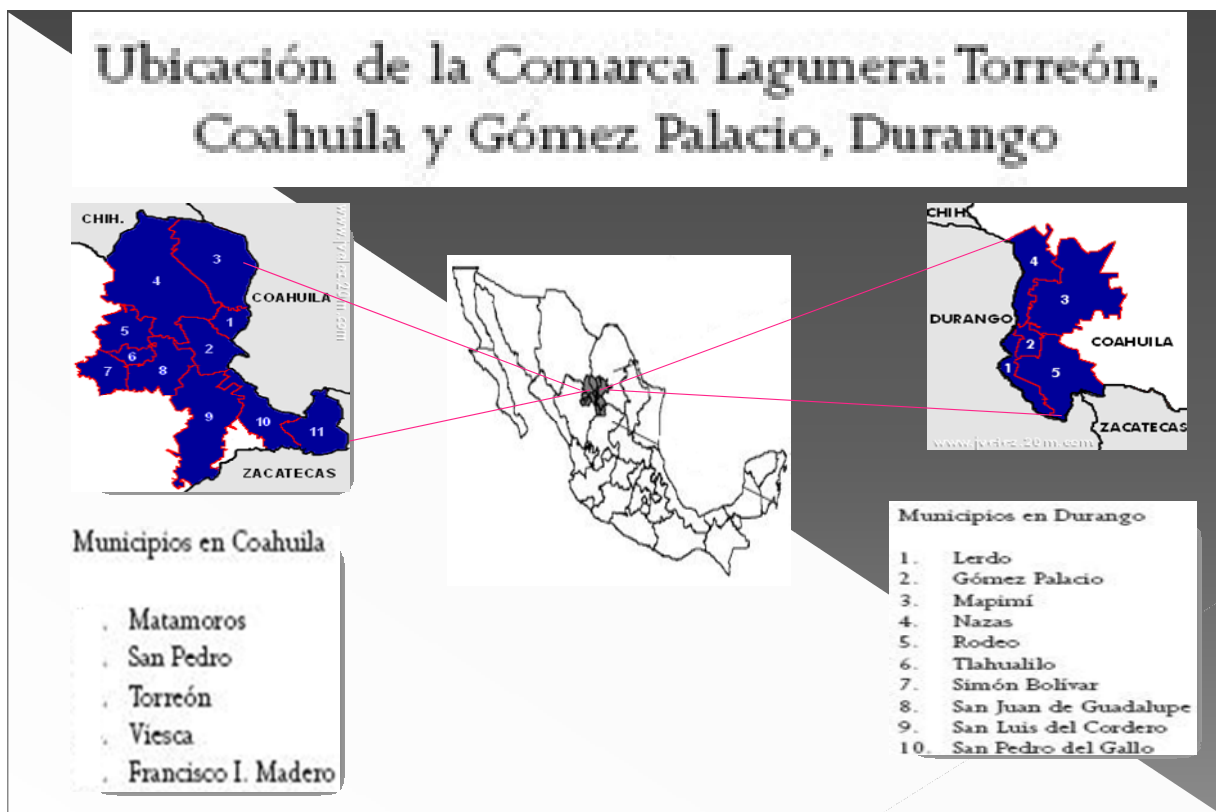


Figura 1. Ubicación de la comarca lagunera: torreón, Coahuila y Gómez palacio Durango

5.2 Caprinos muestreados

Las muestras de los caprinos utilizados en este estudio fueron tomadas de una población de rebaños con un sistema de producción extensivo característico de la comarca lagunera, no importando el numero de caprinos que conformaran el rebaño

5.3 Tipo de Estudio

El estudio aplicado fue de tipo transversal, el cual se caracteriza porque los sujetos de estudio se evalúan en una sola ocasión, prospectivos y se basan en el estudio de casos presentes al momento de la visita en la unidad de producción.

5.4 Cálculo del tamaño de muestra

El tamaño de muestra se calculó con base a la referencia del número de caprinos que existían en la región lagunera 2008, mediante la fórmula de proporciones de Levy SP, con una población total de 446 400 animales, una prevalencia del 20% y un intervalo de confianza del 95% y un error de 0.2 %:

$$n = \frac{N * Z\alpha^2 * p * q}{d^2(N - 1) + Z\alpha^2 * p * q}$$

La “n” resultante fue de 793 animales.

5.5 Tipo de muestreo

El método de muestreo empleado fue aleatorio simple al seleccionar los municipios utilizando una base de datos. Posteriormente se hizo una invitación a los productores a participar en el estudio, es decir, que en esta etapa el muestreo fue por conveniencia y finalmente en cada unidad de producción la selección de los animales se realizó de manera aleatoria simple y siguiendo los criterios de inclusión.

5.6 Cálculo del tamaño de muestra por explotación

Para integrar la muestra de cada explotación, los caprinos se seleccionaron al azar, el tamaño de la muestra en cada UP se estableció al momento de la visita y en base a la población que existía en ese lapso, se calculó mediante el proceso de Canonn y Roe (procedimiento que proporciona la probabilidad de detectar al menos un animal enfermo bajo la prevalencia esperada).

5.7 Criterios de inclusión de los caprinos muestreados

La población blanco consistió de todos los caprinos mayores de 1 año de edad, que los animales fueran de 1 año de edad las principales zonas caprinas de la comarca lagunera, que se percibieran aparentemente sanos al momento de la visita y por lo tanto no presentaran signos de ninguna enfermedad.

5.8 Descripción de las muestras colectadas

Se colectaron por cada animal muestras de:

- Sangre para la obtención de suero.
- Leche
- Un registro de datos individuales por cada cabra muestreada
- Un cuestionario por cada explotación.

5.9 Procedimiento para la colección, conservación y envío de muestras para desarrollar las actividades del Estudio epidemiológico de enfermedades que afectan la producción caprina.

Suero

Material

- Torundas con alcohol
- Tubos vacutainer sin anticoagulante (tapón rojo)
- Agujas para vacutainer
- Plumón de tinta indeleble y punto fino

Las muestras de sangre se obtuvieron de la vena yugular y fueron colectadas mediante el sistema vacutainer en tubos sin anticoagulante para la posterior obtención del suero.

Para la obtención de suero se centrifugo a 3000rpm durante 10min.

Leche

Materia

- Frascos o tubos estériles
- Marcador de tinta indeleble y punto fino

Lavar y desinfectar el pezón previo a la obtención de la muestra, cuidar de no tocar la piel con el frasco, desechar el primer chorro de leche de cada glándula mamaria. Solo el chorro de leche tendrá contacto con el frasco

5.10 Procedimiento para el transporte de las muestras

Todas las muestras se transportaron con refrigerantes en menos de 48 h, al Laboratorio de Tuberculosis del CENID-Microbiología INFAP donde se congelaron a -20°C hasta ser procesadas.

5.11 Encuesta por rancho

Por medio de un cuestionario se obtuvo información de las variables independientes que pudieran estar relacionadas con la presencia de la enfermedad como: tipo de explotación, ya sea de carne o cría, ubicación, tipo de manejo, etc.; necesarias para establecer los factores de riesgo.

5.12 Cédula individual por caprino

La cédula de datos individuales se utilizó para obtener información de municipio, rancho, edad, peso, sexo, estado de carnes, etc.).

5.13 Pruebas diagnósticas

Los sueros fueron evaluados empleando la prueba de rosa de bengala al 3% (rb3%) forma parte de las pruebas aceptadas por la norma oficial mexicana (nom-

041-zoo-1995) y por la organización internacional de epizootias como prueba tamiz en el diagnóstico de la brucelosis.

5.14 Desarrollo de la técnica

La presente técnica es rápida y cualitativa, de aglutinación macroscópica que se efectúa en una sola dilución y que detecta principalmente anticuerpos IgM y en menor grado IgG1. Sirve como prueba tamiz por su alta sensibilidad y permite reducir el número de pruebas diagnósticas para controlar y/o erradicar la brucelosis en un rebaño o hato. Se fundamenta en que las IgG1 específicas contra *Brucella*, todavía actúan a un pH de 3.8 lo que determina la especificidad de la prueba.

El antígeno y los sueros testigos deben mantenerse en refrigeración y congelación respectivamente.

Para realizar la prueba deben estar a temperatura ambiente, por lo que deben sacarse del refrigerador 30 minutos (incluyendo los sueros sospechosos) antes de realizar la prueba. La sensibilidad de la prueba se ve afectada por la temperatura a la que se realiza; si el antígeno y los sueros se usan inmediatamente después de sacarlos del refrigerador, la prueba pierde sensibilidad.

- Colocar una gota de 30 μ l de cada muestra de suero en un cuadro sucesivo de la placa, siguiendo un orden de izquierda a derecha y de arriba abajo. No se recomienda trabajar más de 10 muestras a la vez porque la gota de suero se deshidrata, sobre todo en climas cálidos.
- Agitar el antígeno y con la micropipeta (5-40 μ l) calibrada, colocar una gota de 30 μ l a un lado de cada gota de suero; esto es recomendable para evitar que empiece la reacción antígeno-anticuerpo antes de realizar la mezcla.

- Inmediatamente después de que se agregó la última gota de antígeno, mezclar el suero y el antígeno por rotación con un palillo por suero, a fin de obtener una mezcla homogénea.
- Mezclar durante 4 minutos por rotación manual suave de la placa, evitando que las muestras de los cuadros adyacentes se pongan en contacto entre sí.
- Realizar la lectura sobre el aglutinoscopio.

5.15 Interpretación de resultados

La lectura debe realizarse inmediatamente después de efectuar la mezcla por rotación.

La prueba se considera **NEGATIVA** cuando no se observa aglutinación.

La prueba se considera **POSITIVA**, cuando existe cualquier grado de aglutinación, la cual se observa con formación de grumos color rosa.

En esta prueba no existen sueros **SOSPECHOSOS**.

Si la prueba resulta **POSITIVA**, debe realizarse una prueba complementaria cuantitativa, (Rivanol o Fijación del Complemento).

5.16 Encuestas individuales y por rebaño

Las encuestas se aplicaron a caprinocultores de 60 rebaños, en total fueron 793 encuestas por cada caprino incluido en la muestra, todas las encuestas fueron capturadas en Excel para después ser procesadas mediante los programas estadísticos.

5.17 Bases de Datos

Se elaboraron dos bases de datos correspondientes a las explotaciones y a la población caprina, las cuales fueron depuradas resultando datos completos

(cuestionarios y resultado de diagnóstico) correspondientes a 793 caprinos que procedían de 86 explotaciones.

5.18 Análisis estadístico

La seroprevalencia global de la enfermedad se obtuvo dividiendo el número de positivos a RB al 3% encontrado al momento del estudio entre el total de animales muestreados.

VI. ANALISIS Y RESULTADOS

Seroprevalencia por Rebaño

En una muestra de 60 rebaños caprinos localizados en 7 municipios de la comarca lagunera, se determinaron 37 rebaños seropositivos a la prueba de tarjeta. La prevalencia aparente por rebaño fue de 62 %. (37 positivos vs 23 negativos). Figura 2

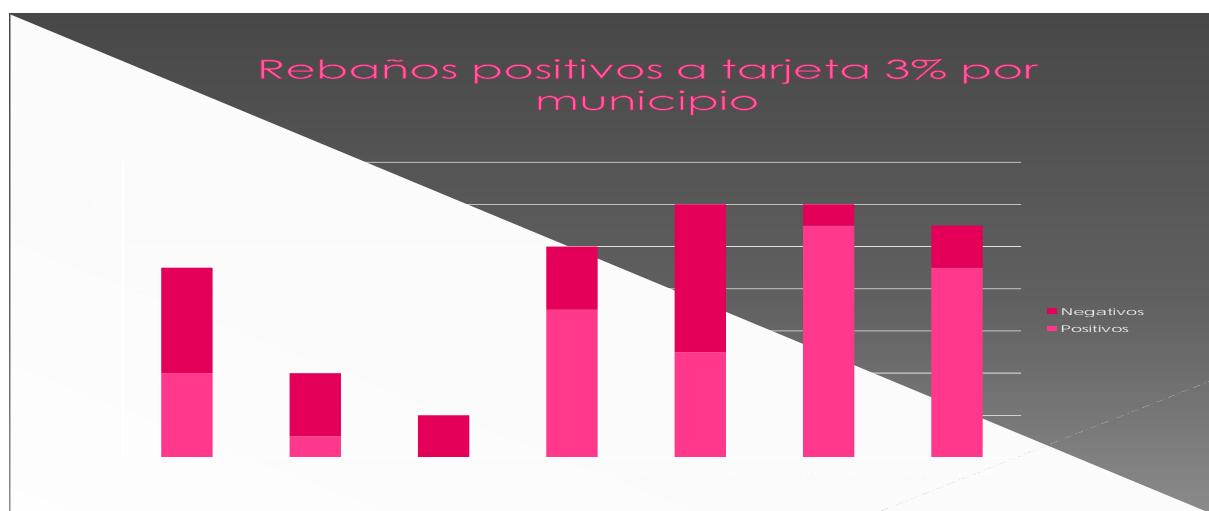


Figura 2. Prevalencia de brucelosis caprina en rebaños por municipio.

Porcentaje de rebaños positivos y negativos obtenidos a partir de la prueba de tarjeta al 3% con Ag de *B. abortus*. Figura 3

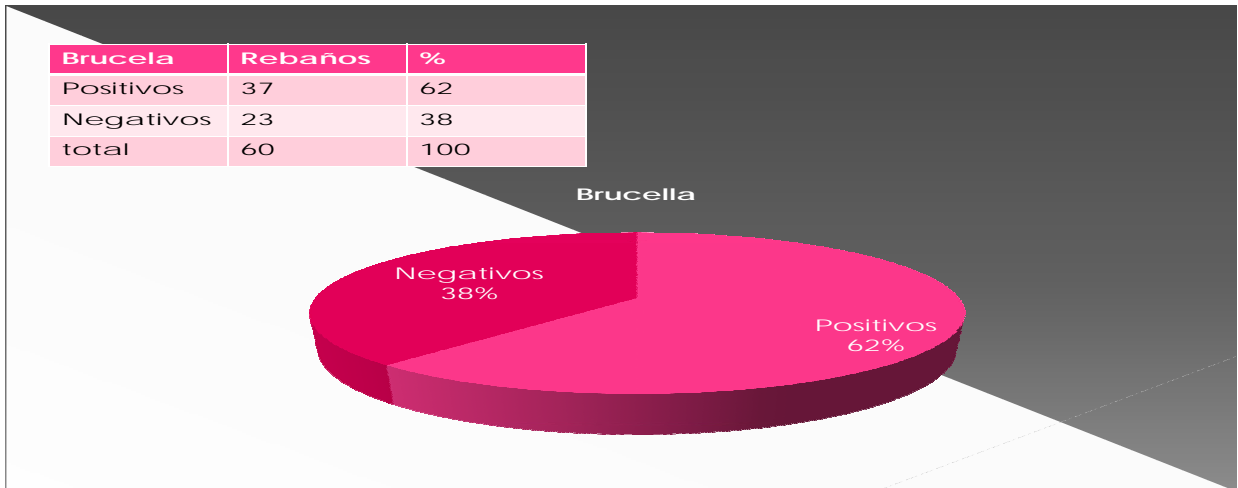


Figura 3. Porcentaje de brucelosis caprina por rebaños.

Prevalencia en animales por municipio.

Al realizar el diagnóstico serológico a los 793 caprinos mediante la técnica de prueba de tarjeta, utilizando el antígeno de *B. abortus* al 3 % como prueba tamiz. Se determinó que la prevalencia de animales positivos a Brucelosis fue de 22% (172 positivos vs 621 negativos). Figura 4



Figura 4. Prevalencia de animales positivos a brucelosis a partir de la prueba de tarjeta al 3% con Ag de *brucella abortus*.

Porcentaje de sueros positivos y negativos obtenidos a partir de la prueba de tarjeta al 3% con Ag de *B. abortus*. Figura 5

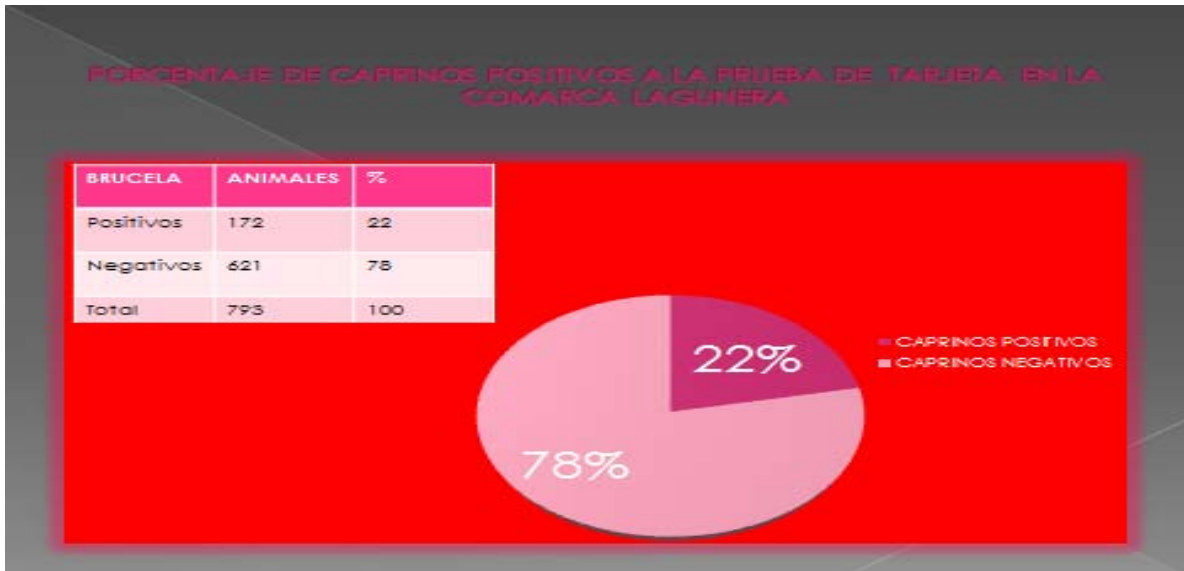


Figura 5. Porcentaje de sueros positivos y negativos obtenidos a partir de la prueba de tarjeta al 3% con Ag de *B.abortus*

VII. DISCUSIÓN.

Para el diagnóstico serológico de la brucelosis animal se han empleado muchas técnicas tratando de encontrar la ideal, es decir aquella que siendo simple de realizar y económica, sea muy sensible y específica. En estas condiciones, la pauta diagnóstica más recomendable consistiría en combinar una prueba de “*screening*” que detectase la mayor proporción posible de animales con anticuerpos frente a *Brucella*, con otra de gran especificidad, que detectase de entre estos últimos sólo los verdaderamente infectados (Herr et al., 1991).

El diagnóstico serológico surgió hace más de 100 años y a la fecha no se cuenta con ningún ensayo que sea 100% efectivo y por este motivo es que se emplean en varios países dos o más pruebas de acuerdo a sus necesidades y capacidades de sus laboratorios.

En México de acuerdo a la Norma Oficial Mexicana (NOM-041-ZOO-1995), quedó establecida la prueba de Rosa de Bengala modificada, a una concentración celular del 3% para pequeños rumiantes y no al 8%, gracias estudios previos, en uno de ellos Díaz y colaboradores, demostraron que el hecho de disminuir la concentración del antígeno al 3% y empleando 3 volúmenes de suero (75 µl) por 1 volumen de antígeno (25 µl) se incrementa significativamente la sensibilidad sin afectar su especificidad (Díaz, 2001).

Como prueba de “screening” oficial se usa la aglutinación rápida con antígeno Rosa de Bengala, que si se realiza correctamente, posee una sensibilidad próxima al 100%, pero que presenta una gran cantidad de resultados falsos positivos, particularmente en caso de antecedentes de vacunación subcutánea de los animales de reposición (Nielsen, 2002). Esta de los resultados falsos positivos se descarta en este trabajo, puesto que se trabajó con animales no vacunados.

De lo contrario la prueba de tarjeta se utiliza efectivamente, solo como prueba tamiz y para diferenciar un animal vacunado de uno infectado se realiza la prueba IDR con heptano nativo de antígeno como prueba confirmatoria para discriminar anticuerpos posvacunales de los ocasionados por la infección. Recientemente, se realizó un estudio en donde se determinó que el antígeno Rosa de Bengala con una concentración celular del 3% tiene una especificidad y sensibilidad relativa de 99.7% y 32.5%, respectivamente y con una concentración celular del 8% mostró una especificidad y sensibilidad relativa de 92.8% y 68.8%, respectivamente. Las limitantes que prevalecen en este tipo de estudios es la resistencia natural por parte de los caprinocultores a sacrificar a sus animales, porque viven del producto de sus animales y no siempre dan facilidades para muestrear a sus animales (Ortega *et al.*, 2009).

En 1997 en la republica mexicana la prevalencia de rebaños en los que existía la enfermedad era de 16.4%, mientras que la prevalencia en relación a cabezas de ganado afectado era de 3.0%. Para el año 2006 la Dirección General de Salud

Animal registró una prevalencia de 10% respecto al número de rebaños infectados, en tanto que la prevalencia con respecto al número de cabezas de ganado caprino reactor a pruebas serológicas fue de 1.22%. Esto indica que en los últimos 10 años se ha logrado cierto grado de avance (Díaz et al., 2002).

En el 2001 se realizó un estudio de brucelosis en cabras de la comarca lagunera donde se reportó una prevalencia de 30% (Gasperin, 2001).

El hecho de que en los 7 municipios trabajados en 6 se encontraran por lo menos un rebaño positivo y que en 6 de ellos el 50% de los rebaños fuesen positivos es alarmante ya que se demuestra que la brucella en caprinos sigue siendo un problema endémico en la comarca lagunera.

Al determinar la prevalencia real en base a la sensibilidad y especificidad de la RB3% se encontró que la prevalencia individual fue de 22% y de 62% en rebaños, este último dato refleja la gravedad que tiene la presencia de la brucella en estas zonas.

VIII. CONCLUSION

En México, la investigación sobre la brucelosis caprina es mínima, siendo una consecuencia de que la investigación en caprinos tiene lamentablemente muy poco interés de parte de las instituciones que se encargan de la investigación pecuaria en México. Últimamente se le ha dado un poco más de importancia a esta investigación debido a que el control de la brucelosis es actualmente una prioridad nacional y la investigación sobre esta enfermedad en las cabras afortunadamente o desafortunadamente no nos vendrá de fuera sino que la tendremos que generar nosotros. La investigación sobre brucelosis caprina en México, es muy poca y la que hay ha sido realizada en su gran mayoría por el INIFAP, que empezó a trabajar sobre brucelosis caprina desde 1971.

Los resultados de este estudio confirman que las infecciones por brucella melitensis están ampliamente diseminadas en los rebaños de las principales

regiones caprinas (de la comarca lagunera) de los Estados de Durango y Coahuila; encontrándose rebaños positivos en todos los municipios muestreados. Sin embargo, en el análisis realizado hasta el momento no se ha podido establecer que factores de riesgo tienen más importancia, esto puede ser debido a que la amplia diseminación de la enfermedad en los rebaños, dificulta dicho análisis al no poder comparar contra rebaños negativos.

Por otro lado es importante que las autoridades sanitarias tengan la certeza de que al realizar campañas de vacunación, todos los hatos sean vacunados y más aún entre los pequeños productores. Actualmente, se sabe que la prueba de tarjeta con antígeno Rosa de Bengala al 3% tiene elevada sensibilidad y especificidad empleado para diagnóstico de brucelosis caprina, pero sería bueno tener recursos para comparar los resultados con la prueba de ELISA, Fijación de complemento, PCR, etc., para eliminar falsos positivos por la reacción cruzada de *Brucella* con otras bacterias G (-) que comparten un LPS superficial.

8.1 Recomendaciones

- Reestructurar la campaña de brucelosis en caprinos, con la participación del sector productivo y con la asignación de recursos específicos (Para promoción, divulgación, capacitación, diagnóstico y vacunación).
- Que las decisiones sean tomadas por una directriz nacional y con la participación activa de los diferentes Estados (Funcionarios y Productores).
- Revisar el costo de las pruebas oficiales, así como el costo del servicio del médico que aplica las vacunas y pruebas, debido a que varían mucho, haciéndolas inaccesibles en algunos casos para los productores . Se sugiere una armonización de costos regional.
- Contar con un control de calidad para la prueba de tarjeta al 3%. Se deben incluir sueros patrón con la venta del antígeno (Positivo franco, Positivo débil y un negativo).

- Incluir en la Norma pruebas confirmatorias alternativas a la fijación del complemento, que sean más accesibles a los laboratorios. Se sugieren la inmunodifusión radial y la Fluorescencia Polarizada.
- Se debe incentivar la utilización del estudio bacteriológico, esto permitiría hacer otro tipo de estudios y tener registros como: epidemiología molecular, diagnóstico de otro tipo de *Brucella* diferentes a la especie *melitensis*, relacionar la brucelosis animal con brotes en humanos, etc.

8.2 Propuesta de medidas de manejo de los rebaños que contribuyan a disminuir el riesgo de presentar brucelosis.

Manejo de hato infectado con brucelosis.

- Para realizar el manejo de hato infectado, se escogerán aquellas explotaciones en donde se presenten las condiciones más favorables para aplicar las medidas de control, se realizaran evaluaciones productivas (leche, cabritos) y de pérdidas (abortos, infertilidad), para determinar si la aplicación de medidas de control redundan en disminución de la incidencia y esta a su vez en aumento de la producción.

Actividades a realizar en la explotación para el manejo de hato infectado con brucelosis

- Vacunación de cabritas de cuatro meses de edad con la vacuna Rev 1 a dosis normal 1×10^9 ufc/ml.
- Vacunación de hembras adultas vacías con la vacuna Rev 1 a dosis reducida 5×10^4 ufc/ml.

- Muestreo serológico mensual para pruebas de tarjeta al 3% e IDR con hapteno nativo de antígeno como confirmatoria para discriminar anticuerpos posvacunales de los ocasionados por la infección.
- Las cabras positivas serán identificadas de manera definitiva e indeleble.
- Se realizará la eliminación de las cabras positivas, o en su defecto la separación en corrales independientes durante el parto o aborto y dos meses después de esto.
- Las cabras brucelosas que no sean eliminadas, serán alojadas para su parición en un corral separado de los demás animales. Este corral será desinfectado con cloro, se colectarán las placentas que serán destruidas impidiendo el contacto con ellas.
- Las cabras positivas que permanezcan en el rebaño, serán ordeñadas al final del proceso, su leche será separada de la de los demás animales y será hervida o pasteurizada.
- Las cabritas nacidas de madres infectadas no serán usadas como reemplazos.
- Si se adquieren reemplazos de otros sitios, los animales deberán de proceder de hatos libres de la enfermedad, con resultados negativos a la serología.
- Si se utiliza un semental externo este deberá tener estas mismas características, proceder de hatos libres de la enfermedad y con resultados negativos a la serología.
- Si las cabras realizan pastoreo conjunto con caprinos de diferentes rebaños u otras especies animales, se deberá pensar en todos los rebaños como una sola explotación y abocarnos en un control integral de la brucelosis.

Resultados esperados

Contar con un modelo probado de manejo de hato infectado que permita desarrollar estrategias de control de la brucelosis caprina, apropiadas para las diferentes condiciones de nuestro país

IV. LITERATURA CITADA

1. Alonso, T.M., Rojas, X., y Cherwonogrodzky, J. 1995. Comparación de dos métodos de la extracción del polisacárido cadena O de *Brucella abortus* 119-3. Arch. Med. Vet. 27:139-141.
2. Alton, G.G. 1990. *Brucella melitensis*. Brucelosis en Animales. pp: 384-402 Ed. Nielsen y Duncan, Boca Ratón, USA.
3. Alvares, P.E. 2001. Situación de la Brucelosis en América: Panorama General. En: Diagnóstico de Brucelosis Animal. Díaz. E., Hernández, A.L., Valero, G., Arellano, B. (Eds) INIFAP, 1ª ed. México. pp 9 – 16.
4. Bastuji, B.G., Blasco, J.M., Grayón, M. y Verger, J.M. 1998. *Brucella melitensis* infection in sheep: present and future. Veterinary Research. 255-274.
5. Blasco, J.M. y Díaz, R.1993. *Brucella melitensis* Rev 1 vaccine as a cause of human brucellosis. Lancet. 342: 805.
6. Blasco, J.M. 2001. Profilaxis médica de la brucelosis en los rumiantes: las vacunas clásicas y vacunas nuevas: En diagnóstico de Brucelosis animal. Díaz, A.E., Hernández, L.H., Valero, E.G. .Editores INIFAP, SAGRAPA. 158 – 179.
7. Blasco, J.M. 2002. Unidad de Sanidad Animal, SIA/DGA, Ap. 727. 50080 Zaragoza Tfn. 976 716460 e-mail: jblasco@posta.unizar.es
8. Brucelovac ® cabras, registro SAGARPA B-0073-028. Septiembre 2005“Cabra”, Enciclopedia Microsoft® Encarta® Online, 2008.

9. Castañeda, M.R. y Tovar, R.1942. Studies on brucellosis in Mexico, comparative study of various diagnostic tests and classification of the isolated bacteria. J. Inect. Dis. 70, 97.
10. Castro, H.A. y González, R.S. 2005. Brucelosis: una revisión practica. Acta Bioquím Clín Latinoam; 39 (2): 203-16.
11. Cherwonogrodzky, J.W. y Ninno, Di. 1995. A polysaccharide vaccine to enhance immunity against brucellosis. Arch. Med. Vet. XXVII, pp 29-33.
12. Crespo, L.F.1993. Brucelosis Ovina y Caprina. Oficina Internacional de Epizootias, p. 267-268. Murcia España.
13. Díaz-Aparicio, E. Marín, B. Alonso, V. Aragón, S. Blasco, J.M. and Moriyón. 1993. Comparative analysis of Brucella and Yersinia enterocolitica O: 9 polysassharides of A and M type for the serological diagnosis of cattle, sheep and goat brucellosis. Journal of Clinical Microbiology pp. 3136-3141.
14. Díaz, A. E. 2001. Pruebas diagnósticas en brucelosis caprina. En: Diagnóstico de Brucelosis Animal. Díaz. E., Hernández, A.L., Valero, G., Arellano, B. (Eds.) INIFAP, 1ª ed. México, pp. 152 – 157.
15. Díaz, E., Hernández L., Valero G., Arellano B. 2002. Diagnostico De Brucelosis Animal, 2ª, edición, pp. 1 – 7.
16. Diego, V.C., María, F.T., Fabiola E. GC., Natalia, L.S., Carolina, O.M. 2008. Prevalence of brucellosis in cattle raw milk spread in the city of Popayan cauca. Facultad de Ciencias Agropecuarias Vol. 6 No. 2.
17. Elberg, S.S. 1981. Rev 1 *B. melitensis* vaccine. Part II 1968-1980. Vet. Bulletin. 51:67-72.

18. Estrada, A.A. 1998. Aspectos clínicos de la brucelosis humana. Memorias del III Foro Nacional de Brucelosis. 1998 julio 20-21; Acapulco (Guerrero) México Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia UNAM: 47-52.
19. Forestier, C. y Moreno, E. 1999. Interaction of *Brucella abortus* lipopolysaccharide with major histocompatibility complex class II molecules in B lymphocytes. *Infect. Immun.* 67(8):4048-4054.
20. Foster, G. Godfroid, F. Howie, H.M. Ross, A. Cloeckaert, R. J. Reid, S. Brew, and I. A. Patterson. 2002. A review of *Brucella* sp. infection of sea mammals with particular emphasis on isolates from Scotland. *Vet. Microbiol.* Vol. 90(1-4): 563-580.
21. Foster, G. Osterman, J. Godfroid, I. Jacques, A. Cloeckaert. 2007. *Brucella ceti* sp. Nov. And *Brucella pinnipedialis* sp. nov. for *Brucella* strains with cetaceans and seals as their preferred hosts. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* Vol.57 (Pt 11): 2688-2693.
22. Flores, C.R. 1994. Brucelosis: prevención y control, Memorias del "Curso de Capacitación de Coordinadores Estatales y Supervisores Distritales en Tuberculosis Bovina y Brucelosis", Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Secretaria de Agricultura y Recursos Hidráulicos., México (DF): SARH, 15-18 agosto.
23. Flores, C. R. 2007. Estrategias para el control de las zoonosis: brucelosis en México DF, Octubre 2007.
24. Gomez, P.H. y Rueda, E. 1995. Mecanismos de protección inducidos por proteínas de membrana externa de *Brucella abortus* cepa RB51. *Arch. Med. Vet.* XXVII, No Extraordinario. P65-75.
25. Herr, S. Lawrence, J.V. Brett, O.L, Ribeiro, L.M.1991. serological comparison of complement fixation reactions using *Brucella abortus* and *B. melitensis*

- antigens in *B. abortus* infected cattle. The Onderstepoort journal of veterinary research. 1991 Jun; 58(2):111-4.
26. Hornsby, L.R. Jensen, E.A. Olsen, C.S. 2000. Selective media for isolation of *Brucella abortus* strain RB51. Veterinary Microbiology 73, 51-60.
27. Hornitzky, M. y Searson, J. 1986. "The relationship between the isolation of *Brucella melitensis* and serological status of infected, non-vaccinated cattle". Aust. Vet. J.
28. Laria, C. Ricciardi, F. Marano, F. 2006. Live nativity and brucellosis, sicily. Emerging infectious diseases, vol 12, No. 12.
29. Limón, E.D. Arellano, R.B. Díaz, A.E. Flores, C.R. 2007. El uso de PCR para la identificación de *Brucella abortus* aislada de fetos abortados en un establo lechero del estado de Aguascalientes. Resumen de la Memoria de la XLIII Reunión Nacional de Investigación Pecuaria. Sinaloa, México. Vol. 1: 31.
30. López, M.A. 1998. La brucelosis como zoonosis de interés en México. Memorias del III Foro Nacional de Brucelosis. 1998 julio 20-21; Acapulco (Guerrero) México Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia UNAM: 53-62.
31. Lord, V.R. y Cherwonogrodzky, W.J. 1992. Evaluation of polysaccharide, lipopolysaccharide, and β - glucan antigens in gel immunodiffusion test for brucellosis in cattle. Am J Vet Res, Vol. 53. p389-392.
32. Luna, J. E. y Mejía, T.C. 2004. Brucellosis in México: Current status and Trends. Veterinary Microbiology pp. 621-630.
33. McQuiston, J. Vemulapalli, R. Inzana, J. Schurig, G. Sriranganathan, N. Fritzinger, D. 1999. Genetic characterization of a Tn5-disrupted glycosyltransferase gene homolog in *Brucella abortus* and its effect on lipopolysaccharide composition and virulence. Infect. Immun. 67(8):3830-3835.

34. Moreno, E. 2002. Brucellosis in Central America veterinary microbiology 90: 31 – 38.
35. Moriyón, U.I. 1998. Características estructurales y antigénicas de *Brucella*. En: Diagnóstico de Brucelosis. Díaz AE; Hernández AL; Valero EG; Velázquez QF. INIFAP, SAGAR.:10-22.
36. Muñoz, G.G.A. 2007. Estudio epidemiológico de *Brucella abortus* en bovinos holstein de traspatio en la zona sur del estado de Tlaxcala. Memoria del XXXI Congreso nacional de Buiatria y XIII Congreso latinoamericano de Buiatria, Vol. 1: 270 – 272.
37. Norma Oficial Mexicana de Emergencia NOM-EM-011-ZOO-1-1994. Campaña Nacional contra la Brucelosis en los animales.
38. Norma oficial mexicana NOM-022-ssa2-1994, "para la prevención y control de la brucelosis en el hombre, en el primer nivel de atención".
39. Norma Oficial Mexicana NOM-041-ZOO-1995. Campaña Nacional contra la Brucelosis en los animales.
40. Nielsen, K. 2002 Diagnosis of brucellosis by serology. Veterinary microbiology. Dec 20; 90(1-4):447-59.
41. Olsen, S. y Palmer, M. 1997. "la nueva vacuna contra la brucelosis, no causa falsos positivos". Hoards's Dairyman. Año 4 No. 2 p. 90-91.
42. Orduña, D.M. 2001. La brucelosis. Etiología y origen de la infección humana, pp.13-20. Servicio territorial de sanidad y bienestar social Valladolid.
43. Ortega, S.J. L. y Rodríguez, M.R. 2009. Seroprevalencia de brucelosis caprina en el municipio de Tlahualilo, Durango .México Vol. 10, N° 4 ISSN: 1695-7504. <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n040409/040929.pdf>

44. Organización mundial de la salud. 2004. Archivos de publicación anual, sanidad animal mundial.
45. Plummet, M. 1994. Control y profilaxis. Bovis, tratado de veterinaria práctica. Pp. 71-79. España.
46. Renoux, G. 1961. Brucellose caprine. I.-Bactériologie et sèrologie d'un troupeau de chèvres observé pendant deux ans et demi. Ann. Zootechn. Cap.10, pp. 233-277.
47. Rodríguez, Valera. Ramírez, W. Sánchez, A.G. Sánchez, P.F. Ramírez, P.A. 2005. Brucelosis bovina, aspectos históricos y epidemiológicos Vol. VI, N° 9. <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n090905.html>.
48. Roger, I.R.V. 2005. Enfermedades de importancia económica en producción animal, primera ed. Mcgran-hill Interamericana. Pp. 349-351.
49. Scholz, H.C. Hubalek, Z. Sedláček, I. Vergnaud, G. 2008. *Brucella microti* sp. Nov., isolated from the common vole *Microtus arvalis*. Int. J. Sys. Evol. Microbiol. Vol.58: 375–382.
50. Schlabritz-Loutsevitch, N. E. Whatmore, A.M. Nathanielsz, and Hubbard, G.B. 2009. A novel *Brucella* isolate in association with two cases of stillbirth in non-human primates -first report. J. Med. Primatol. Vol. 38 No.1:70-73.
51. Secretaria de Agricultura Ganadería y Desarrollo Rural (SAGARPA), 1995. Norma Oficial Mexicana de emergencia, campaña nacional contra brucelosis en los animales. (NOM-041-ZOO-1995). Diario Oficial de la Federación, Primera Sección. México.
52. Serrano, P. J. D. Villa, G. M. R. Franco, G. F. J. Memije A. F. 2007. Frecuencia de Brucelosis bovina en hatos lecheros del valle de Valsequillo Puebla.

Memoria del XXXI. Congreso nacional de Buiatria y XIII Congreso latinoamericano de Buiatria, Vol. 1: 202 – 206.

53. Servicio de información agroalimentaria y pesquera (SIAP), 2008.
54. Sistema de Información Agroalimentaria de Consulta (SIACON), 2006.
55. Suárez, G.F. 2000. Brucelosis. En: Díaz E, Hernández L, Valero G, y Arellano B. Diagnóstico de brucelosis animal. INIFAP-SAGAR, IICA, OPS-OMS.:1-8.
56. Tibor, A. y Decelle, B. 1999. Outer membrane proteins Omp10, Omp16, and Omp19 of *Brucella* spp. Are lipoproteins. Infection and Immunity Vol. 67 (9) 4960-4962.
57. Velázquez, M.O. y Domínguez, O.J.1998. La brucelosis como problema de salud publica en México. Memorias del III Foro Nacional de Brucelosis. 1998 julio 20-21; Acapulco (Guerrero) México Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia UNAM: 13-16.
58. Venegas, C.E. Martínez, G.D. Possani, L.D. Verdugo, R.A. 2007. Evaluation of humoral immune response induced in guinea pigs immunized with synthetic peptides of outer membrane proteins of *Brucella* spp. Resumen de la Memoria de la XLIII Reunión Nacional de Investigación Pecuaria. Sinaloa, México. Vol. 1: 14. P. 25.
59. Young, E.J. 1991. Serologic diagnosis of human brucellosis: analysis of 214 cases of agglutination test and review of the literature. Rev Infect Dis; 13:359-72.