

**UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA
ANTONIO NARRO
UNIDAD LAGUNA
DIVISION REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL**



“BRUCELOSIS EN BOVINOS”

MONOGRAFIA

POR

VICTOR HUGO RAMALES PLIEGO

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL TITULO DE:

MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

ASESOR PRINCIPAL:

MVZ. SILVESTRE MORENO AVALOS

TORREON, COAHUILA; MEXICO.

JUNIO DEL 2013

**UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA
ANTONIO NARRO
UNIDAD LAGUNA
DIVISION REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL**

“BRUCELOSIS EN BOVINOS”

MONOGRAFIA

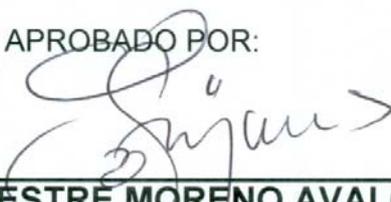
POR

VICTOR HUGO RAMALES PLIEGO

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL TITULO DE:

MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

APROBADO POR:



MVZ. SILVESTRE MORENO AVALOS
ASESOR PRINCIPAL



MVZ. RODRIGO ISIDRO SIMON ALONSO
COORDINADOR DE LA DIVISION REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL



Coordinación de la División
Regional de Ciencia Animal

TORREON, COAHUILA; MEXICO.

JUNIO DEL 2013

**UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA
ANTONIO NARRO
UNIDAD LAGUNA
DIVISION REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL**

"BRUCELOSIS EN BOVINOS"

MONOGRAFIA

POR

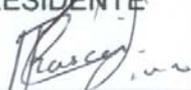
VICTOR HUGO RAMALES PLIEGO

QUE SE SOMETE A CONSIDERACION DEL H. JURADO EXAMINADOR COMO
REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL TITULO DE:

MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA
APROBADO POR



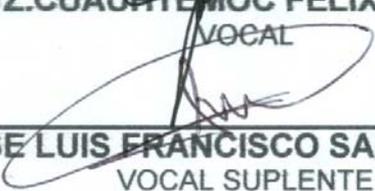
MVZ. SILVESTRE MORENO AVALOS
PRESIDENTE



MVZ. CARLOS RAUL RASCON DIAZ
VOCAL



MVZ. CUAUHTEMOC FÉLIX ZORRILA
VOCAL



MC. JOSE LUIS FRANCISCO SANDOVAL ELIAS
VOCAL SUPLENTE

TORREON, COAHUILA; MEXICO.

JUNIO DEL 2013

DEDICATORIA

A mis padres: con mucho amor, cariño, respeto y admiración a la Sra. Julia Pliego Villanueva y al Sr. Lidio Rames Ramos, por haberme dado la vida y la gran oportunidad de prepararme, gracias padres por confiar en mí. Por sus valiosos consejos, ejemplos, por esas noches de desvelos que fueron difíciles para ustedes y haberme enseñado a ser responsable. Es un orgullo poder demostrarles que he alcanzado una de mis metas que me propuse y que no los defraude, reciban este trabajo como muestra de agradecimiento por todo lo que hicieron por mí, gracias padres que Dios los proteja y los bendiga siempre.

A mis hermanos: Eduardo Rames Pliego, Imelda Rames Pliego, Yuridia Rames Pliego y L. Alfredo Rames Pliego, por sus valiosos consejos y animo de superación que siempre me dio por salir adelante al inicio de la carrera, por su apoyo incondicional que siempre me han dado, gracias hermanos. Que Dios los bendiga.

A Sandra Pacheco y Victor Emiliano Rames, por su comprensión y motivación que siempre me brindaron en los momentos difíciles de la carrera. Por qué ellos fueron una inspiración para seguir a delante en momentos difíciles y nunca dejar de luchar.

AGRADECIMIENTO

A **DIOS**, por dirigir siempre el rumbo de mi vida hacia un buen camino, hacia el camino de la superación.

A mi “**Alma Mater**”, por haberme brindado la oportunidad de prepararme y cumplir uno de mis grandes objetivos.

A mis padres, gracias por su confianza que siempre me brindaron, ustedes fueron la base para lograr mi más grande anhelo, ya que sin ustedes hubiera sido muy difícil; gracias porque he dado un paso más en la vida y he empezado otro, he logrado el sueño que tanto han deseado, el sueño de ambos se realizó, gracias por darme el tesoro más grande de mi vida. Que dios los bendiga siempre.

A mis amigos de la carrera de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Guillermo Barranco, Guadalupe Cuellar, Adrián Coyote, Mauricio Moran, Francisco Barreto, Alberto Ramírez, por su valiosa amistad que me brindaron durante el periodo de la carrera.

A todos mis compañeros de la universidad, que de una u otra forma convivieron, contribuyeron y me apoyaron a lo largo de mi carrera.

INDICE	
RESUMEN	1
INTRODUCCION	2
HISTORIA	4
CLASIFICACIÓN TAXONOMICA	5
CARACTERISTICAS DE LA BACTERIA (<i>BRUCELLA ABORTUS</i>)	5
Supervivencia de la bacteria en el medio ambiente	6
SINONIMIA	7
DISTRIBUCION GEOGRAFICA	9
Distribución geográfica de la brucelosis bovina	9
Distribución geográfica de la brucelosis en humanos	10
ESPECIES SUSCEPTIBLES	11
EPIDEMIOLOGIA	12
Brucelosis bovina	12
Brucelosis en humanos	13
ENFERMEDAD	14
TRANSMISION	14
Brucelosis bovina	14
Brucelosis en humanos	16
Ingestión	16
Inoculación	16
Contacto	16
Inhalación	17
PATOGENIA	18
Brucelosis bovina	18

Brucelosis humana	20
CONSECUENCIAS ZONOTICAS	21
SIGNOS	24
Signos en hembras	25
Signos en machos	26
LESIONES	27
DIAGNOSTICO	28
Prueba de anillo en leche (PAB)	28
Prueba placa rosa bengala	29
Prueba de rivanol	30
Prueba de fijación de complemento (CFT)	30
Elisa competitivo	30
DIAGNOSTICO BACTERIOLOGICO	32
COLECCIÓN Y CULTIVO DE MUESTRA	34
DIAGNOSTICO DIFERENCIAL	38
TRATAMIENTO	38
VACUNAS	39
CONTROL Y ERRADICACION	45
SITUACION ACTUAL DE LA CAMPAÑA NACIONAL CONTRA LA BRUCELOSIS EN MEXICO.	47

Índice de cuadros y figuras

Fig.1 Microorganismo de <i>brucella abortus</i> examinado Microscopio electrónico.	6
Fig. 2 Distribución geográfica de B. <i>abortus</i> es mundial	9
Fig.3 Regiones del mundo con elevada prevalencia de brucelosis humana.	11
Fig. 4 Forma de transmisión de la brucelosis en humanos.	17
Fig. 5 aborto y expulsión prematura de feto causado por <i>brucella abortus</i> .	24
Fig. 6 aborto y retención placentaria causado por <i>brucella abortus</i> .	26
Fig.7 Vacuna utiliza en América por país para control de la brucelosis bovina.	45
Fig.8 situación actual de la brucelosis en México.	

RESUMEN

Brucelosis es una de las zoonosis de mayor distribución e importancia en el mundo en donde existen pocos países libres de la enfermedad. (López et al. 2002) es una infección bacteriana contagiosa, de animales domésticos y humanos causada por miembros de brucella (Sozmen et al. 2004; Bricker et al. 1994) En humanos, la brucelosis puede causarse por *B. abortus*, *B. melitensis*, *B. suis* y raramente *B. canis* (López et al. 2002) así estos se infectan por ingestión de alimentos de productos animal. Contacto directo con animales infectados, o inhalación de Aerosoles infecciosos. (Hoover et al. 2000) además la brucelosis en humanos es una severa y debilitante enfermedad que requiere un prolongado tratamiento de antibióticos, Así su erradicación es el principal objetivo de programas de salud pública en países afectados (Morrión et al. 2004).

La enfermedad en el ganado bovino esta causada casi exclusivamente por *brucella abortus*, sin embargo, *B. suis* o *B. melitensis* están implicadas ocasionalmente en algunos hatos de ganado bovino. (Manual Merck 2000; Sozmen et al. 2004) y se extiende dentro del hato pero raramente causa aborto (Bricker et al. 1994).

Palabras claves: brucelosis, aborto, zoonosis, *brucella abortus*, retención placentaria

INTRODUCCION

La brucelosis es el resultado de infección por varias especies de *Brucella*, es una bacteria Gram.-negativa, facultativa e intracelular varia en la familia *brucellae*. Seis especies ocurren en animales y humanos: *Brucella abortus* (ganado bovino), *B. melitensis* (cabras y gatos), *B. suis* (cerdos), *B. ovis* (ovinos), *B. canis* (perros) y *B. Neotomae* (roedores). (FSPH, 2004; Morrión et al. 2004).

Brucelosis es una de las zoonosis de mayor distribución e importancia en el mundo en donde existen pocos países libres de la enfermedad. (López et al. 2002) es una infección bacteriana contagiosa, de animales domésticos y humanos causada por miembros de brucella (Sozmen et al. 2004; Bricker et al. 1994) En humanos, la brucelosis puede causarse por *B. abortus*, *B. melitensis*, *B. suis* y raramente *B. canis* (López et al 2002) así estos se infectan por ingestión de alimentos de productos animal. Contacto directo con animales infectados, o inhalación de Aerosoles infecciosos. (Hoover et al. 2000) además la brucelosis en humanos es una severa y debilitante enfermedad que requiere un prolongado tratamiento de antibióticos, Así su erradicación es el principal objetivo de programas de salud pública en países afectados (Morrión et al. 2004).

La enfermedad en el ganado bovino esta causada casi exclusivamente por *brucella abortus*, sin embargo, *B. suis* o *B. melitensis* están implicadas ocasionalmente en algunos hatos de ganado bovino. (Manual Merck 2000; Sozmen et al. 2004) y se extiende dentro del hato pero raramente causa aborto (Bricker et al. 1994).

Así la enfermedad es caracterizada por disminución de eficacia reproductiva, principalmente abortos, (Sozmen et al. 2004; Bricker et al.1994) además partos prematuros y retención placentaria, reducción de producción de leche y en menor grado, orquitis en machos (Richey et al. 1997; Sozmen et al. 2004; Manual Merck 2000).

La brucelosis bovina todavía es endémica en muchas regiones del mundo aunque ha sido buen resultado la erradicación en algunos países. (Sozmen et al. 2004)

Esta zoonosis esta considerada por la Organización Mundial de la Salud (OMS) como la de mayor distribución mundial, suponiendo un problema de salud publica de primer orden, además por el enorme impacto que la brucelosis animal tiene en la industria ganadera, y así la Organización Internacional de Epizootias (OIE) la considera una de las enfermedades transmisibles de mayor importancia socioeconómica y sanitarias. (Vadillo 2002) además, la brucelosis es una causa principal de pérdidas económicas directas, y un impedimento importante para comercio y exportaciones. (Morrión et al. 2004) el más gran impacto económico resulta de brucelosis bovina causada por brucella abortus (Bricker et al. 1994)

HISTORIA

El género *Brucella*, descrito en 1920 por Meyer y Shaw, está formado por bacterias parásitas intracelulares facultativas, que producen el aborto epizoótico en muchas especies domésticas de animales y una enfermedad febril septicémica o infecciones focalizadas en el hombre. El descubrimiento del agente etiológico de la enfermedad, conocida como fiebre de Malta, se realizó a finales del siglo XIX, por un grupo de investigadores encabezados por D. Bruce. (López et al. 2002)

Las *brucellas* fueron aisladas por primera vez En 1887, David Bruce para quien el género que *Brucella* se nombra, aisló el organismo causativo de los bazo de cinco casos fatales de soldados británicos muertos en la isla de Malta de una enfermedad febril denominada fiebre de Malta. (Hoover et al 2000; Bernard et al. 2000) y clasificó dentro del género *Micrococos*.

Diez años después, M. L. Hughes que había acuñado el nombre “fiebre ondulante,” publicó una monografía de hallazgos clínicos y patológicos detallados en 844 Pacientes. En ese mismo año, B. Bang, un investigador dinamarqués, identificó un organismo que él llamó el “el Bacilo de aborto,” en las placentas y fetos de ganado padeciendo aborto infeccioso (enfermedad de Bang).

En 1917, Alicia C. Evans del departamento de agricultura de los Estados Unidos reconoció que el organismo de ese Golpe era idéntico al descrito por Bruce como el agente causativo de brucelosis humana. Además observó que los organismos estaban estrechamente relacionados desde el punto de vista morfológico, antigénico y metabólico, fueron clasificados en un género aparte denominado

brucella. El organismo infecta principalmente ganado, ovejas, cabras, y otros rumiantes en que causa aborto, muerte fetal, y la infección genital. (Hoover et al. 2000; Bernard et a 2000)

En México, desde hace ya varios años la brucelosis se presenta tanto en población rural como urbana, de ambos sexos, económicamente activa, entre 20 y 45 años de edad con mayor número de casos en mujeres. Los niños de alrededor de 10 años son una población en riesgo creciente. La mortalidad reportada es de alrededor de 30 casos anuales. (López et al 2002)

CLASIFICACIÓN TAXONOMICA

El encuentro taxonómico actual sitúa al genero *brucella* en el dominio bacteria;

Reino: *Proteobacteria*.

Familia: *Brucellaceae*.

Clase: *Rodospirilla*.

Género: *Brucella*.

Subdivisión (subclase) *alpha*.

Especie: *brucella abortus*

Orden: *Rizobial*.

(Vadillo 2002) (FAO. 2005).

CARACTERISTICAS DE LA BACTERIA (*BRUCELLA ABORTUS*)

El genero *Brucella* representa un patógeno intracelular que pertenece al subgrupo 2 de las á proteobacterias (Arestegui et al.2001) causa una enfermedad contagiosa de mamíferos que es transmitido a humanos. Rumiantes y cerdos son infectados en muchas áreas del mundo. Y la fauna silvestre no es exenta de la

brucelosis (Richey et al. 1997) *brucella abortus* es la mayor causa común agente de brucelosis en ganado bovino (Sozmen et al. 2004)

Las características del organismo son cocos Gram. Negativos o bacilos cortos (0.5 a 0.7 por 0.6 por 1.5 mn) sencillo con poca frecuencia en par, cadena corta o grupos pequeños. (Figura 1) Son no móvil, acapsular, no esporulado, aerobio, crecimiento optimo en rango de temperatura desde 20 a 40 °C (CFIA.2005).



Fig.1 Microorganismo de *brucella abortus* examinado Microscopio electrónico.

Brucella abortus se encuentra entre las 3 especies denominada clásicas que sean subdividido a su vez en biovariedades. *B. abortus* se subdivide en 7 (1-7), entre sus características es el requerimiento de CO₂ para el crecimiento (Bernard et al. 2000). *Brucella* puede producir ureasa, oxido nitrito o nitrato, y es oxidasa y catalasa positivo.

Con base en los estudios bacteriológicos realizados en México, se conoce la existencia de los siguientes biovars de *B. abortus*: 1, 4, 5 y 6, siendo el biovar 1 el más frecuente y el biovar 4, el más virulento para el hombre. (López et al.2002) La mayoría del biovariedades de *B. abortus* requiere incubación en una atmósfera de 5% a 10% de dióxido del carbono para crecimiento. (Hoover et al 2000)

Supervivencia de la bacteria en el medio ambiente

La supervivencia del microorganismo en el ambiente puede jugar un rol importante en la epidemiología de la enfermedad (FAO. 2005)

La *Brucella* puede sobrevivir en agua corriente por varios meses a 4-8 ° C, 2.5 años a 0 ° C y varios años en tejidos o medios congelados, además puede sobrevivir hasta 60 días en suelos húmedos y hasta 144 días a 20 ° C y 40% de humedad relativa (FAO.2005)

También puede sobrevivir 30 días en la orina, 75 días en fetos abortados y más de 200 días en exudados uterinos (CFIA. 2005; FAO. 2005) así como también puede sobrevivir hasta 60 días en suelos húmedos y hasta 144 días a 20 ° C y 40% de humedad relativa.

Se ha mencionado que *Brucella* puede sobrevivir en materia fecal, desperdicios de establos y abonos líquidos de estiércol por 85-103 días en invierno, 120-210 días en primavera, 30-180 días en verano y 50-120 días en el otoño.

Las especies de Brucella son sensibles a la temperatura, humedad y pH (CFIA. 2005) además a la luz solar directa así como a desinfectantes y a la pasteurización (FAO.2005) brucella es muy sensible a la radiación ionizante y son inactivados a través de irradiación ultravioleta (5 minutos) y pasteurización a temperaturas de 60 °C por 30 minutos (CFIA.2005; López et al. 2005)

SINONIMIA

En humanos

Fiebre de Malta.

Fiebre ondulante.

Melitococia .

Fiebre del mediterráneo. (FSPH.2004; Bernard et al. 2000; NOM-041.1995)

En animales

Aborto Enzotico.

Aborto Epizoótico.

Aborto Infeccioso.

Aborto Contagioso.

EN GANADO BOVINO (ENFERMEDAD DE BANG.) (CFIA.2005; FSPH.2004; Manual Merck. 2000; NOM-041.1995; N. Acha. Et al 2001)

DISTRIBUCION GEOGRAFICA

Distribución geográfica de la brucelosis bovina

La distribución geográfica de la brucelosis es mundial (Fig.2) pero la distribución de las diferentes especies de *brucella* y sus biovariedades presentan variaciones geográficas. *B. abortus* es la más ampliamente difundida (N. Acha et al 2001)

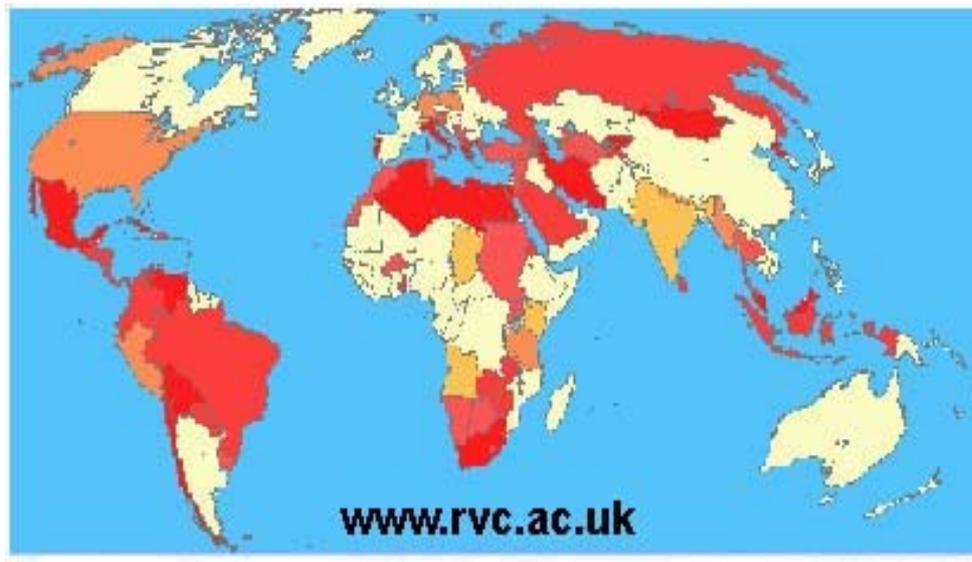


Fig. 2 Distribución geográfica de *B. abortus* es mundial

La brucelosis bovina todavía es endémica en muchas regiones del mundo aunque ha sido exitosamente erradicado en algunos países (Sozmen et al.2004) La brucelosis se encuentra mundialmente pero se controla bien en la mayoría países desarrollados. *B. abortus* se ha erradicado de Japón, Canadá, Europa norte, Australia y Nueva Zelanda. (FSPH.2004)

Grandes productores de carne como son Australia, Canadá, Estados Unidos, Francia, Gran Bretaña y Nueva Zelanda, entre otros están libres de Brucelosis bovina o están apunto de serlo. Tres países ganaderos importantes que son:

Argentina, Brasil, México, todavía tienen programas de control limitados, la prevalencia más alta de estos se observa en el ganado lechero (N. Acha et al 2001)

Al evaluar financieramente un programa para la lucha contra la Brucelosis Bovina en la Comarca Lagunera de México en 1990 consigna una prevalencia de 10.31% (REDVET.2005)

Distribución geográfica de la brucelosis en humanos

La distribución geográfica de la brucelosis humana depende de la distribución de la brucelosis animal sin embargo La verdadera incidencia de la brucelosis humana es desconocida en gran parte debido a la infradeclaración y cambia mucho de unos países a otros e incluso entre las diferentes regiones de un mismo país (Rodríguez et al. 2001)

En humanos, la brucelosis es rara en Europa, Canadá y Estados Unidos pero ocurre regularmente en el Medio Este, el mediterráneo, México y Centroamérica (FSPH. 2004)

La infección está muy extendida por todo México y al igual que este país, la infección por *B. abortus* es endémica y es un problema sanitario de primera magnitud en la mayoría de los países de Centroamérica y Sudamérica. (Fig. 3)

Los datos existentes son muy imprecisos pero diferentes estudios realizados de forma puntual han mostrado que en algunas regiones la prevalencia puede superar el 30% del ganado bovino. (Rodríguez et al.2001)



Fig.3 Regiones del mundo con elevada prevalencia de brucelosis humana.

B. melitensis es más patógena y tiene más capacidad infectante para el hombre que *B. abortus*. Esto explica el mayor riesgo de infección humana a partir de ganado ovino y caprino, reservorios habituales de *B. melitensis*, que a

Partir de ganado bovino, reservorio habitual de *B. abortus* (Rodríguez et al.2001)

ESPECIES SUSCEPTIBLES

Los autores que se han referido al tema concuerdan en que son muy diversas las especies susceptibles a la enfermedad

Entre animales domestico afectado por especies de *brucella* encontramos;

B. melitensis (cabras y gatos)

B. abortus (ganado bovino)

B. suis (cerdos)

B. ovis (ovinos)

B. canis (perros)

B. Neotomae (roedores) (REDVET.2005)(FSPH 2004)(Morrión et al. 2004)

EPIDEMIOLOGIA

Brucelosis bovina

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 (Rodríguez et al. 2001)

Con base en los estudios bacteriológicos realizados en México, se conoce la

Existencia de los siguientes biovares de *B. abortus*: 1, 4, 5 y 6, siendo el biovar 1 el más frecuente y el biovar 4, el más virulento para el hombre (López et al. 2002)

La infección en vacas, se ha visto como un problema de gran trascendencia

Epizootiológica en algunos países del sur de Europa, del Medio Oriente y en México (López et al.2002) además la prevalencia mas alta se presenta en ganado lechero.(FAO.2005)

La brucelosis se trata de una de las enfermedades más importantes en América latina como en otras zonas de desarrollo preindustrial además Las estimaciones oficiales sobre las pérdidas anuales por brucelosis bovina en América latina son de aproximadamente US\$ 600 millones lo cual explica la prioridad otorgada al control de esta infección en las actividades de los servicios de salud animal (N. Acha et al 2001)

Brucelosis en humanos

Al ser la brucelosis una zoonosis, la fuente de infección la constituyen los animales infectados que, en su mayoría son aquellas especies productoras de alimento así el ganado y sus productos son la fuente de infección más común, aunque los perros también pueden jugar un papel importante en la epizootiología de la enfermedad en nuestro medio rural.

Con base en los estudios bacteriológicos realizados en México, se conoce la

Existencia de los siguientes biovarios de *B. abortus*: 1, 4, 5 y 6, siendo el biovar 1 el más frecuente y el biovar 4, el más virulento para el hombre.

.El predominio de un mecanismo de infección u otro dependerá de las condiciones socioeconómicas y de los hábitos del individuo así como de las características del medio social que se considere. En los países que tienen un mejor nivel sanitario, la enfermedad es de carácter casi exclusivamente profesional, mientras que en los menos desarrollados, una parte importante de los casos corresponde a la población general, que adquiere la infección a través de la ingesta de productos lácteos no controlados, principalmente leche y queso fresco.

En México, desde hace ya varios años la brucelosis se presenta tanto en población rural como urbana, de ambos sexos, económicamente activa, entre 20 y 45 años de edad con mayor número de casos en mujeres. Los niños de alrededor de 10 años son una población en riesgo creciente. La mortalidad reportada es de alrededor de 30 casos anuales (López et al. 2002)

ENFERMEDAD

TRANSMISION

Brucelosis bovina

Las vías de transmisión de las *brucellas* son la digestiva, respiratoria y la conjuntival (Vadillo 2002)

La mayor forma de transmisión por *B. abortus* es por la ingestión de forrajes contaminados, agua y por membranas fetales (CFIA.2005; Richey et al.1997) así también por medio de contacto directo con fetos abortados, y recién nacido infectado, contacto con la placenta, Los fluidos fetales y las descargas vaginales de los animales infectados (Richey et al. 1997; CFIA.2005; FSPH.2004) los animales son infecciosos después de un aborto o al termino del parto (FSPH.2004)

El instinto de las vacas de lamer los órganos genitales de otras vacas contribuye también a la transmisión de la infección, sin embargo algunos autores consideran que el contagio por vía cutánea tiene por lo menos, la misma importancia (REDVET.2005)

También pueden encontrarse bacterias en la sangre, orina, leche y semen; la diseminación en leche y semen puede prolongarse o de toda la vida. Infección ocurre por ingestión y a través de las membranas mucosas (FSPH.2004) penetración a través de las abrasiones superficiales, y posiblemente contacto con piel (Quinn et al. 2003)

La glándula mamaria puede ser infectada por contacto directo; en ganado, la ubre puede estar colonizado por *B.abortus*, de *B. melitensis* de *B.suis*, por contagio por medio de la manos de obreros de la granja (FSPH. 2004)

Además por inhalación como también por medio de Fomites, moscas, garrapatas, ratas y perros también pueden transmitir esta enfermedad (CFIA.2005)

Si bien la exposición indirecta a las bacterias del género *Brucella* puede estar mediada por animales salvajes, los pájaros y el agua (contaminada con otina, descargas uterinas o materia fecal y desechos de vacas abortadas), se ha observado que solamente los perros pueden transportar trozos de placenta o fetos abortados de un lugar a otro, generando la exposición directa al microorganismo (FAO.2005)

Se ha determinado que aproximadamente el 65 % de las vacas infectadas abortan; de éstas, el 65% abortan solo una vez, y el 23%, dos veces. Un porcentaje mucho más pequeño abortan más de dos veces. Cuando el aborto no se presenta y la preñez llega a su término, a menudo la cría está débil y el animal recién nacido sufre neumonía y enteritis, lo cual retrasa seriamente su desarrollo. Se estima que del 40 al 50% de las vacas afectadas tienen obstaculizadas su capacidad reproductora, como resultado de la enfermedad (REDVET.2005)

Brucelosis en humanos

La brucelosis se transmite al hombre a partir del animal infectado, quien constituye el auténtico reservorio de la enfermedad. El germen puede penetrar en el organismo por múltiples vías (Figura 4) (Rodríguez et al. 2001) como ingestión de alimentos de productos animal, contacto directo con animales infectados o inhalación de aerosoles infecciosos (8)

Ingestión

La ingestión de leche cruda, no pasteurizada infectada y sus derivados es uno de los más comunes modos de transmisión de la enfermedad en zonas endémicas. La carne no suele ser vehículo de transmisión ya que temperaturas de 70°C durante 10 minutos, destruyen las brucellas, que por otra parte se encuentran en baja concentración en el tejido muscular.

Inoculación

El auto inoculación accidental de vacuna de *Brucella* viva, puede suceder durante el proceso de vacunación de animales. Igualmente, la adquisición de la enfermedad puede ser el resultado de un accidente biológico que implique pinchazo en personal sanitario de laboratorios.

Contacto

El contacto con animales infectados o sus productos es probablemente el mecanismo principal de transmisión de la enfermedad. Las brucellas penetran a través de la piel sana o macerada y de las mucosas nasal y conjuntiva. Pudiendo llegar a ser el responsable del 60-70% de todos los casos registrados.

inhalación

La ruta inhalatoria ocurre habitualmente como un riesgo profesional entre Pastores, trabajadores de mataderos, carniceros, trabajadores de plantas de procesamiento de carne, veterinarios, trabajadores de la lana, etc. Por otra parte, la inhalación de aerosoles es la ruta más frecuente de infección entre los trabajadores de laboratorios (Rodríguez et al. 2001)

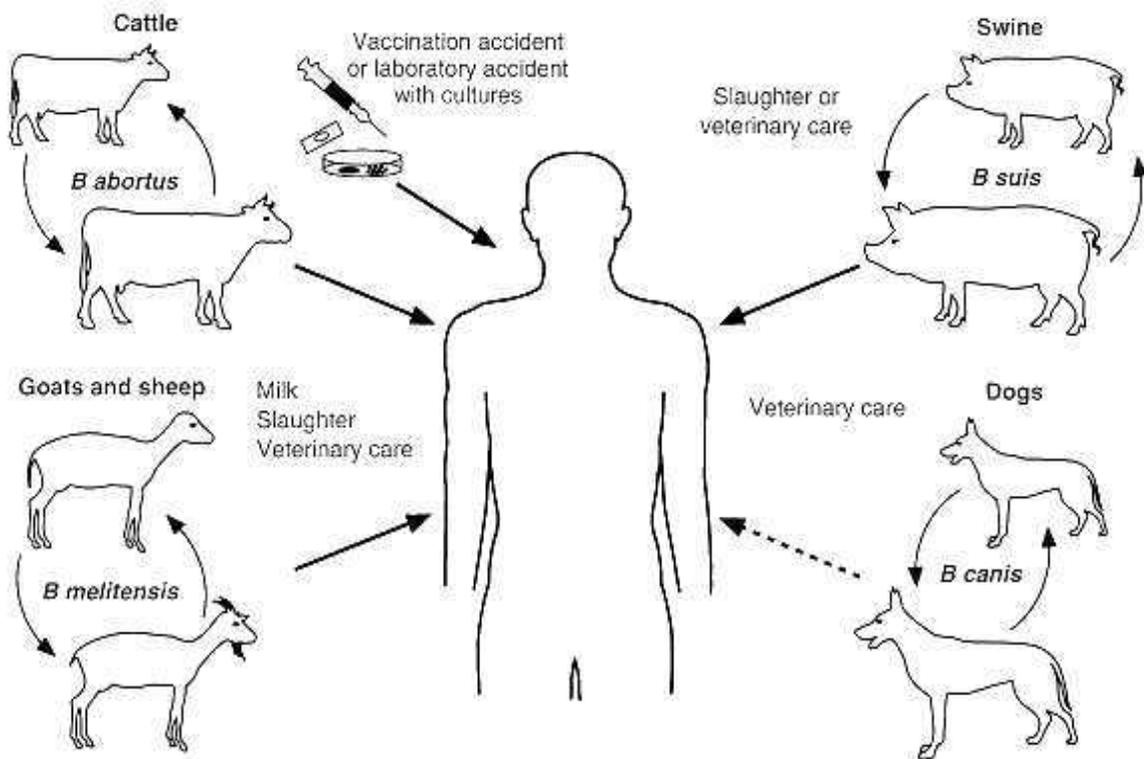


Fig. 4 Forma de transmisión de la brucelosis en humanos.

PATOGENIA

Brucelosis bovina

El establecimiento y resultado de infección con *brucellae* depende del número de organismos infectados y su virulencia así también susceptibilidad del hospedador (Quinn et al. 2003). *B. abortus* es una bacteria Gram. Negativa son patógenas intracelulares, facultativos, (López et al. 2002; FSOH. 2004) así la localización intracelular las mantiene protegidas de los antibióticos y de factores bactericidas del plasma como complemento y anticuerpos, lo que determina la naturaleza crónica de la infección (López et al. 2002).

Brucellae, que carece de la mayor membrana exterior lipolisacárido, produzca colonias ásperas y es menos virulento que aquéllos que derivan de las colonias lisas. Aunque organismos liso y áspero pueden entrar en células del hospedador las formas ásperas normalmente se eliminan al contrario de las formas lisas que puede persistir y puede multiplicar.

Brucellae persiste dentro de macrófagos pero no dentro de neutrófilos. Inhibición de fagosoma y lisosoma la función es un mecanismo mayor para la supervivencia intracelular y un importante determinante de virulencia bacteriana (Quinn et al. 2003)

Bacteria entra en el cuerpo a través de membranas mucosas, las conjuntivas, en laceraciones e incluso de a piel intacta (CFIA.2005; Manual Merck. 2000) se

multiplican primero en los ganglios regionales y luego son conducidas por la linfa y la sangre a diferentes órganos(N. Acha et al. 2001)así la desiminación a través del sistema linfático.(CFIA.2005)la bacteriemia intermitente produce diseminación y localización en los órganos reproductores y las glándulas asociadas en animales sexualmente maduros(Quinn et al.2003) los animales pueden transmitir organismos de *Brucella* durante aborto séptico, en el momento de sacrificio, y en su leche.(Hoover et al. 2000)si el animal es gestante, la bacteria también invade el útero y placenta además Animal gestante sexualmente maduro es más susceptible ala infección. (CFIA.2005) las localizaciones mas frecuentes del la bacteria se hallan en ganglios linfáticos útero, ubre, órganos genitales del toro, bazo e hígado (N. Acha et al. 2001) en brucelosis crónica, los organismos pueden localizar en articulaciones o discos intervertebral (Quinn et al.2003)

El Eritrol un hidrato de carbono qué estimula la multiplicación de las *brucelas* además actúa como un factor de crecimiento de estas (Hoover et al 2000; N.Acha et al.2001). Está presente en concentraciones altas en la placenta de ganado. Este factor de crecimiento también se encuentra en otros órganos como la glándula mamaria y epidídimo, que es blanco para *brucella* (Quinn et al. 2003)lo que explica la gran susceptibilidad de los tejidos fetales del bovino (N. Acha et al. 2001).

Además los organismos de la brucelosis se desprenden por millones en la placenta y en los fluidos asociados con fetos y abortos (Richey et al. 1997). Los productos de concepción en el momento de aborto pueden contener 10/10 bacterias por el gramo de tejido (Hoover et al. 2000).

Posteriormente que una vaca aborta o pare normalmente, el agente patógeno no permanece mucho tiempo en el útero pero la infección se vuelve crónica y las brucelas se acantonan en los ganglios y glándulas mamarias de las vacas donde las brucelas pueden permanecer en la ubre durante años (N. Acha et al. 2001)

Brucelosis humana

Las especies de *Brucella* son patógenas intracelulares facultativas, su virulencia está relacionada con la capacidad que poseen para resistir el efecto bactericida de los componentes del suero normal, adherirse, penetrar y multiplicarse en una gran variedad de células eucarióticas, tanto fagocíticas como no fagocíticas (López et al.2002)

En el hombre la infección brucelar presenta una gran tendencia hacia la cronicación y se caracteriza fundamentalmente por fiebre ondulante, y focalización (artritis, orquitis, osteomielitis, endocarditis, etc.)

Brucella es una bacteria Gram. negativa que se comporta como patógeno intracelular facultativo que puede desarrollarse y multiplicarse en el interior de las células fagocíticas humanas. Precisamente esta capacidad para sobrevivir en células de vida media larga como los macrófagos explica en parte la evolución hacia la cronicidad de esta enfermedad (Rodríguez et al.2001)

La localización intracelular las mantiene protegidas de los antibióticos y de factores bactericidas del plasma como complemento y anticuerpos, lo que determina la naturaleza crónica de la infección (López et al. 2002)

Además, la supervivencia en el interior de las células infectadas permite que *Brucella* se encuentre durante la mayor parte de su ciclo vital al abrigo de los factores humorales bactericidas de la sangre y tejidos y de los antibióticos, siendo

ésta una de las causas del fracaso antibiótico en la brucelosis humana(Rodríguez et al.2001)

La capacidad de producir ureasa aparentemente juega un papel en la colonización del huésped, a través de la ruta gastrointestinal. La enzima degrada la urea modificando el pH en el sitio en donde se encuentre la bacteria. Además, la bacteria se adhiere con cierta facilidad a la superficie de las mucosas debido a su gran hidrofobicidad, ya que *Brucella* no posee ni

Fimbrias ni cápsula; ambas características favorecerían la colonización y la generación de la enfermedad (López et al. 2002)

Así la actividad patogénica de las brucelas se basa fundamentalmente en su capacidad para evadir la actividad bactericida intracelular de las células fagocíticas y la modulación de la respuesta inmunitaria humoral y celular por parte de algunos de los componentes de las brucelas (Rodríguez et al. 2001)

CONSECUENCIAS ZOOTICAS

La brucelosis, conocida como Fiebre de Malta o Fiebre Ondulante, son también sinónimos para la enfermedad en el hombre (FAO.2005) Es una severa y debilitante enfermedad que requiere de un prolongado tratamiento de antibiótico frecuentemente con séquelas (Moriyon et al. 2004)

Una de las características de la enfermedad causada por brucella abortus es la fiebre ondulante así también dolor de cabeza, fatiga dolor de articulaciones y hueso y otros síntomas (Richey et al. 1997) La brucelosis se clasifica como,

aguda, subaguda, con recaídas y crónica cuando tiene más de un año.(López et al. 2002)

Los síntomas de una brucelosis aguda causada por *B. abortus*, como la de muchas otras enfermedades febriles consiste en escalofríos, sudores profusos y elevación de temperatura puede variar desde normal hasta 40° C. además sudoración (N. Acha et al 2001)

Por otra parte la brucelosis crónica es una enfermedad insidiosa con una sintomatología profusa (FAO. 2005) los síntomas están asociados con un estado de hipersensibilidad, esta puede durar muchos años, con o sin presencia de focos de infección localizada (N. Acha et al. 2001) que podría confundir el diagnóstico con otras enfermedades que afectan a los distintos órganos y sistemas (FAO.2005)

La brucelosis se caracteriza por su extraordinario polimorfismo clínico, su curso ondulante y su tendencia a presentar recaídas y evolucionar a la cronicidad, debido a la capacidad de supervivencia intracelular del microorganismo causal (Rodríguez et al. 2001)

Las complicaciones ocasionales incluyen artritis, endocarditis, hepatitis granulomatosa, meningitis, uveítis, orquitis, cholecystitis, osteomielitis y lesiones en hueso. Los casos raros de encefalitis, neuropathy periférico, los radiculoneuropathy y síndromes del meningovascular tienen también se informado (FSPH. 2004)

Las brucelas se localizan intracelularmente en los tejidos del sistema reticuloendotelial, tales como los ganglios, la médula ósea el bazo e hígado, la reacción tisular es de tipo granulomatoso. La duración de la enfermedad puede durar desde pocas semanas o meses o hasta años (N. Acha et al. 2001)

En México, la mayoría de los casos de brucelosis humana, están relacionados al consumo de leche, queso fresco, crema y otros derivados sin pasteurizar (Lopez et al. 2002)

Cada año se producen alrededor de medio millón de casos de brucelosis humana en el mundo. En América latina los países en donde se registra el mayor número de casos son Argentina, México y Perú. En áreas de brucelosis enzooticas, en especial la bovina, hay muchas infecciones que transcurren de modo asintomático (N. Acha et al. 2001)

La brucelosis también es reconocida como una enfermedad de riesgo laboral para los campesinos, veterinarios y trabajadores de la industria de la carne que se encuentran en áreas endémicas de la enfermedad. Pueden contraer brucelosis a través de la piel, conjuntivas o por las membranas mucosas de la nariz. Los veterinarios pueden enfermarse por la manipulación de fetos abortados o terneros aparentemente nacidos sanos de vacas enfermas, por maniobras ginecológicas u obstétricas o por inspección transrectal de vacas enfermas (FAO. 2005)

Los programas de control y erradicación de la brucelosis bovina tienen un marcado efecto sobre la reducción de la incidencia de la infección humana

El tratamiento recomendado en la brucelosis aguda es de una dosis diaria de 600 a 900 mg de rifampicina, combinada con 200 mg diarios de doxiciclina, durante 6 semanas por lo menos (N. Acha et al. 2001)

SIGNOS

El síntoma principal de la brucelosis en todas las especies es el aborto o la expulsión prematura de fetos (Figura 5) (N. Acha et al. 2001)



Fig. 5 aborto y expulsión prematura de feto causado por *brucella abortus*.

En ganado brucelosis es una enfermedad primordial de hembras. Toros pueden ser infectados pero estos no son fácilmente infectados. Los organismos de la brucelosis se localizan en los testículos de los toros y donde en las hembras los organismos se localizan en la ubre, útero y nódulo linfático contiguo al útero (Richey et al. 1997)

En hatos afectados brucelosis pueda producir disminución de fertilidad, producción de leche reducida, los abortos en animales de reemplazo susceptibles y degeneración del testicular en toros (Quinn et al. 2003)

Signos en hembras

Problemas de abortos pueden encontrarse en hatos con un alto porcentaje de vacas preñadas susceptibles (Quinn et al. 2003)

La infección en vacas presenta síntomas el cual incluyen aborto, durante el último tercio de la gestación con retención placentaria y terneros débiles al nacimiento (Figura 6). Además partos prematuros así disminución en la producción de leche (Richey et al. 1997; Sozmen et al. 2004; CFIA.2005; FSPH. 2004)

Vacas infectadas normalmente sólo aborta una vez. Los siguientes terneros pueden nacer débiles o sanos y normales. Algunas vacas infectadas no exhibirán ningún síntoma clínico de la enfermedad y tendrán partos con terneros normales (Richey et al. 1997, FSPH. 2004)

Los abortos normalmente ocurren durante la segunda tercio de gestación (FSPH. 2004; Quinn et al. 2003; N. Acha et al. 2001) el aborto es una consecuencia de placentitis que involucra cotiledones y tejidos intercotiledonarios (Quinn et al. 2003) y en consecuencia una metritis que puede ser causa de infertilidad permanente (N. Acha et al 2001)

Los signos sistémicos normalmente no ocurren (FSPH 2004) en las hembras no preñadas no muestran síntomas clínicos y cuando se infectan con anterioridad al servicio muchas veces no abortan (N. Acha et al 2001) así como en los abortos no complicados generalmente no está afectada la salud general (Manual Merck. 2000)

En las vacas inseminadas artificialmente con semen infectado, los calores pueden volver repetidas veces, como en el caso de vibriosis y tricomoniasis (N.Acha et al.2001)



Fig. 6 aborto y retención placentaria causado por *brucella abortus*.

Signos en machos

En el toro, las vesículas seminales, las ampollas, los testículos y los epidídimos pueden estar infectados; como resultado, el microorganismo es excretado en el semen (Manual Merck 2000)

Cuando la enfermedad se manifiesta clínicamente en toros la brucelosis produce orquitis (inflamación de los testículos) además absceso testicular con disminución de libido e infertilidad (Richey et al.1997; CFIA.2005; Manual Merck 2000; N.Acha 2001.) a veces puede haber atrofia del testículo debido a adherencia y fibrosis, son frecuente la vesiculitis seminal y la ampulitis (N.Acha 2001)

Después de un largo término de la infección se puede desarrollar artritis (CFIA.2005; FSPH 2004; Manual Merck. 2000) además ocasionalmente se observa higroma (N.Acha 2001, Quinn et al.2003)

Se ha establecido que la brucelosis en los toros, no siempre resulta en infertilidad, aunque la calidad del semen, puede estar alterada. Los toros que permanecen fértiles y funcionalmente activos, generarán y diseminarán bacterias con el semen durante la fase aguda de la enfermedad, la que puede cesar o volverse intermitente (FAO.2005)

LESIONES

En el feto puede haber autólisis puede estar normal o tenga evidencia de bronconeumonía. En ganado bovino a veces se ve placentitis aguda o crónica. Los cotiledones pueden verse rojos o amarillos, normal o necrótico. La región intercotidelonaria es típicamente coriácea, con una apariencia húmeda y engrosamiento focal, placentitis con edema y necrosis de los cotiledones y un engrosamiento y región intercotidelonaria coriácea.

Al sacrificio las lesiones inflamatorias granulomatosas puede encontrarse en el tracto reproductor, glándula mamaria, los nodos de linfa supramamarios y articulaciones de animales del adulto (FSPH.2004)

DIAGNOSTICO

El diagnóstico de brucelosis depende de pruebas serológicas y bacteriológica en el aislamiento e identificación de especies de brucella. (Quinn et al.2003; Manual Merck.2000) Los signos clínicos no son específicas aunque los abortos del primero-ternero de vaquillas y animales de reemplazo pueden hacer pensar en la presencia de la enfermedad.

Pruebas serológicas es usado para comercio internacional además identificando hatos infectados o lotes y animales individuales en esquemas de erradicación nacional (Quinn et al.2003).Un diagnóstico presuntivo puede ser hecho identificando los organismos característicos con una modificada tinción ácido-rápida. El diagnóstico definitivo es por cultivo o serológico (FSPH.2004).

Métodos moleculares como PCR para el descubrimiento de brucellae en tejidos y fluidos se ha descrito (Quinn et al.2003; FSPH. 2004). A veces puede aislarse de la sangre en infección temprana (FSPH.2004).

Prueba de anillo en leche (PAB)

Dirigido en muestras de leche por volumen por supervisar infecciones en hatos lecheros. Sensible pero no puede ser fiable en hatos grandes. (Quinn et al. 2003) es barata y de fácil, simple y rápida implementación. Es capaz de detectar los anticuerpos anti-Brucella del tipo IgM e IgA unidos a las células lipídicas de la leche (FAO.2005)

Además se realiza como prueba de vigilancia epidemiológica, en el control oficial y los programas de erradicación (Manual Merck.2000; NOM-041.1995) los resultados deben de confirmarse con pruebas serológicas. Esta prueba se debe de practicar en muestras de leche cruda, fluida y fresca. (NOM-041.1995) así la situación de la brucelosis en hatos lecheros en un área puede vigilarse aplicando PAB a intervalos de 3 a 4 meses. (Manual Merck.2000) los resultados se interpretaran como negativos en ausencia de anillo teñido y positivo los que presentan anillo teñido en la superficie. (NOM-041.1995)

Prueba placa rosa bengala

Prueba de despistaje útil (Quinn et al.2003). Es una técnica de aglutinación focalizada, debido a que no necesita de un equipamiento especial, es simple y fácil de implementar, se la utiliza prueba-tamiz para la detección de anticuerpos contra Brucella (FAO.2005)

Esta prueba de tarjeta se realiza con muestra de suero no hemolizado (NOM-041.1995) la suspensión del antígeno se ajusta a ph 3.65(+/-0.05). (Quinn et al.2003,NOM-041.1995), permitiendo aglutinación por anticuerpos igG1.sólo prueba cualitativa, los resultados positivos requieren confirmación por CFT o ELISA(Quinn et al.2003) los resultados de la prueba se clasifican solo en dos: positivos o negativos, dependiendo de la presencia o ausencia de aglutinación.(NOM-041.1995)

Prueba de rivanol

Se debe de realizar solo en suero no hemolizado positivos a la prueba de tarjeta, con reactivo de rivanol (lactato de 2 etoxi 6,9 diamino acridina) los resultados se clasificaran en sueros positivos y negativos, se consideran positivos todos aquellos sueros de animales vacunados que presentan reacción de aglutinación completa en cualquiera de las diluciones. La aglutinación completa en una dilución mayor o igual a 1/50 será una prueba positiva (NOM-041.1995).

Prueba de fijación de complemento (CFT)

Esta es una prueba confirmatoria ampliamente aceptada para animales individuales (Quinn et al.2003), esta se debe realizar con sueros no hemolizados que hayan resultado positivos a las pruebas de tarjeta o rivanol (NOM-041.1995), los resultados se clasificaran a los sueros como positivos y negativos. Los positivos serán aquellos en los que se obtengan títulos mayores a 1/16 en frío o mayores a 1/8 en caliente (NOM-041.1995).

Elisa indirecta: prueba de despitage y confirmatoria

Elisa competitivo:

(usando anticuerpos monoclonal) prueba recientemente desarrollada con especificidad alta; capaz de descubrir todas clases de inmunoglobulina y puede usarse para diferenciar animales infectados de vacuna de ganado S-19

La prueba de ELISA ha demostrado ser tan específica y sensible como la prueba en amilo en leche y prueba aglutinación en suero en la detección de anticuerpos anti-Brucella en la leche y suero. Los resultados de ELISA están también usualmente de acuerdo con los obtenidos por la CFT (Quinn et al.2005)

Prueba aglutinación suero (SAT)

Mide los anticuerpos aglutinantes del tipo IgM, IgG1, IgG2 e IgA. La prueba es relativamente sencilla y fácil de implementar pero requiere de un equipamiento básico de laboratorio. La prueba puede ser utilizada para detectar infecciones agudas ya que los anticuerpos del tipo IgM son los primeros en aparecer después de la infección y reaccionan con mayor fuerza a la aglutinación que los anticuerpos del tipo IgG1 e IgG2.(FAO.2005)

Una prueba de aglutinación de tubo que falta la especificidad y sensibilidad; anticuerpos igG1 no puede descubrirse y puede llevarse a los resultados de falso negativo (Quinn et al.2003)

La prueba de anti-globulinas (Coombs)

Es capaz de detectar anticuerpos incompletos de Brucella del tipo IgG2 y se la utiliza para confirmar los resultados obtenidos por aglutinación SAT .La prueba de Coombs, si bien es laboriosa, es particularmente importante cuando la SAT es positiva y los resultados de la prueba CFT son negativos o no concluyentes.

Sin embargo, los resultados de la prueba de Coombs son indicativos de infección, solamente cuando los títulos son al menos dos veces superiores a los obtenidos por la SAT.

DIAGNOSTICO BACTERIOLOGICO

Las pruebas microbiológicas presentan la ventaja de identificar directamente la bacteria, y limitar así la posibilidad de resultados positivos falsos. (Radostitis et al. 2002)

Métodos de Tinción

Ziehl–Neelsen. Éste es el procedimiento usual para el examen de frotis de órganos. O fluidos biológicos que han sido previamente fijado con calor o etanol, y por este método, Los organismos de Brucella tiñen rojo contra un fondo azul. La presencia intracelular, los organismos ácido-rápidos débiles de morfología de Brucella o los organismos immuno-específicamente teñidos son evidencia presunta de brucelosis. Sin embargo, estos métodos tienen una sensibilidad baja en leche y producto lácteo donde Brucella están a menudo presentes en números pequeños y la interpretación frecuentemente es impedida por la presencia de glóbulos grasos.

CULTIVO

Medio basal

Normalmente se realizan el aislamiento directo y cultivo de *Brucella* en medios sólidos. Generalmente es el método más satisfactorio cuando permite aislar las colonias en vías de desarrollo y claramente reconocimiento. Los medios también limitan el establecimiento de mutantes no lisos y el desarrollo excesivo de contaminantes, Sin embargo, el uso de medios líquidos puede recomendarse para las muestras voluminosas o para el propósito de enriquecimiento. Una gama amplia comercial medios basales está disponible. Ej. *Brucella* medio basal, trypticase (o agar tryptone). Otros medios satisfactorios, como agar del serum-dextrose (SDA) o agar de dextrose de glycerol, puede usarse.

Medio de Castañeda, se recomienda para el aislamiento de *Brucella* de sangre y otros fluidos del cuerpo u ordeña, donde el cultivo de enriquecimiento normalmente se aconseja. El medio de Castañeda se usa porque *brucellae* tienden a disociar en medio del caldo, y esto interfiere con biotificación por técnicas bacteriológicas convencionales.

Medio selectivo

Todos los medios basales arriba expresado puede usarse para la preparación de medios selectivos. Se agregan antibióticos apropiados para suprimir el crecimiento de organismos otra causa de *Brucella*. El medio selectivo ampliamente usado es el

medio de Farell. Qué es preparado por la suma de seis antibióticos a un medio basal.

Como el número de organismos de *Brucella* es probablemente más bajo en leche, calostro y algún tejido como material de aborto, el enriquecimiento es aconsejable. En el caso de leche, los resultados son mejorados también por centrifuga y cultivo de la crema y granulo. El enriquecimiento puede llevarse a cabo en medio líquido que consiste en caldo del suero dextrosa, trypcase (o caldo tryptone) caldo de *Brucella* complementaron con una mezcla antibiótica de por lo menos amphotericin B (1 µg/ml), y vancomicina µg/ml) (todas las concentraciones finales). El medio de enriquecimiento debe incubarse a la 37° C en aire complementado con 5–10% CO₂ para 6 semanas, con subcultivos semanales en al medio selectivo sólido.

En medios sólidos convenientes, las colonias de *Brucella* persiguen visibles en 2-días periodo de la incubación. Después de 4 días la incubación de las colonias de *Brucella* son redondas, 1–2 mm en diámetro, con márgenes lisos. Ellos son translúcidos y un color miel pálidos cuando se ven platos en la luz del día a través de un medio transparente. Las colonias parecen convexas y blanco perladas. Después, colonias se muestran más grande y ligeramente más oscuras.

COLECCIÓN Y CULTIVO DE MUESTRA

Para el diagnóstico de brucelosis animal por examen cultivo, la opción de muestras depende normalmente de las señales clínicas observadas. Las más valiosas muestras incluyen fetos abortados (volúmenes del estómago, bazo y

pulmón), las membranas fetales, las secreciones vaginales (exámenes bacteriológicos), leche, semen y artritis o fluidos del hygroma.

Animales muertos, los tejidos preferidos para los cultivos son aquéllos del sistema retículo endotelial ej. La cabeza, nódulo linfático mamarios y genitales y bazo), en preñez tardada o temprano posterior al parto el útero, y la ubre. El crecimiento normalmente aparece después de 2–3 días, pero no deben desecharse cultivos como negativo hasta 8–10 días ha pasado.

Tejidos

Las muestras están asépticamente alejadas con instrumentos estériles y maceraron usando molendero del tejido con una cantidad pequeña de buffered de fosfato estéril salino (PBS), antes de que inocularse adelante a los medios sólidos.

Descarga vaginal

Un hisopo vaginal de aborto es una fuente excelente para la recuperación de Brucella y lejos menos arriesgado para el personal que el material de aborto. El isopo se raya entonces adelante a los medios sólidos.

Leche

Deben coleccionarse muestras de leche limpiamente después de lavar y secar la ubre entera y desinfectar las tetas. Es esencial que las muestras deban contener

leche de todos los cuartos, y deben tomarse 10–20 ml de leche de cada teta. Los primeros chorros se desechan y la muestra se ordeña directamente en un vaso estéril. El cuidado debe tenerse para evitar contacto entre la leche y las manos del ordeñador. La leche se centrifuga a 2000 g durante 15 minutos en tubos sellados (para evitar el riesgo de contaminación del aerosol de personal), y se extienden la crema y depósito en medio selectivo sólido, o separadamente o mixto. Si los brucellae están presentes en muestras de leche de volumen, sus números son normalmente bajos, y el aislamiento de las tales muestras es muy improbable.

Producto lácteos

Deben cultivarse producto lácteo, como quesos, en los medios descritos anteriormente. Cuando es probable que estos materiales contengan números pequeños de organismos, el cultivo de enriquecimiento se aconseja. Las muestras necesitan ser homogenizadas cuidadosamente antes del cultivo

Todas las muestras deben colectarse inmediatamente después de que sean tomadas, y debe transportarse al laboratorio de la manera más rápida. En la llegada en el laboratorio, deben helarse leches y muestras del tejido si ellos no serán cultivados inmediatamente.

Identificación

Los métodos recomendados por observar morfología colonial son el método de Henry, o método de violeta de cristal de Wilson de frotis colonias.

La identificación de organismos de Brucella puede ser llevada a cabo por una combinación de las pruebas siguientes: morfología del organismo y Gram. o tinción Estamp's , la morfología colonial, características de crecimiento, ureasa, oxidasa y el catalasa prueba, y la prueba de aglutinación de diapositiva con un suero policlonal de anti-Brucella.

Sin embargo, varias características, por ejemplo agregó CO₂ requisito para crecimiento, producción de H₂S (descubierto por acetato de primacia empapela), y crecimiento en la presencia de fuchsin básico y thionin a las concentraciones finales de 20 µg/ml, es revelado por pruebas de la rutina que pueden realizarse en laboratorios del nonspecialised ligeramente provistos

Métodos reconocimiento ácidos nucleico

PCR recientemente desarrollado proporciona un medio adicionales de descubrimiento y identificación de Brucella sp. a pesar del grado alto de homología de ADN dentro del género Brucella, varios métodos moleculares, incluso PCR se ha desarrollado que permite, hasta cierto punto, diferenciación entre las especies de Brucella y alguno de su biovars, Sin embargo este métodos se ha evaluado totalmente y se ha regularizado y ninguno está extensamente disponible (OIE.2005)

DIAGNOSTICO DIFERENCIAL

Otras enfermedades que causan aborto en las varias especies deben ser consideradas en ganado estos son:

Tricomoniasis (*trichomonas fetus*)

Vibriosis (*campylobacter fetus*)

Leptospirosis (*L. Pomona* y *L. hardjo*)

Rinotraqueitis infecciosa bovina

Micosis (*Aspergillus*)

Listeriosis (*listeria monocytogenes*)

Abortos viral infeccioso (CFIA.2005; Radostitis et al.2002)

TRATAMIENTO

El tratamiento es ineficaz debido al secuestro intracelular de las bacterias en los ganglios linfáticos, la glándula mamaria y los órganos reproductores. Las especie de *brucella* son intracelulares facultativas que pueden sobrevivir y multiplicarse en el interior de las células del sistema macrofagico.

Los fallos en el tratamiento no se deben al desarrollo de una resistencia a antibióticos. Si no más bien a la incapacidad del medicamento de penetrar la barrera de la membrana celular (Radostitis et al.2002)

VACUNAS

Generalmente se está de acuerdo que bajo la mayoría condiciones, la vacunación es esencial para el control de la brucelosis bovina (Moriyon et al.2004; Manual Merck.2000) por lo tanto la reducción del número de reactivos en un hato se relaciona directamente con el porcentaje de animales vacunados (Manual Merck.2000).

En los organizadores naturales, la seguridad en vivo de la vacuna de la brucelosis (es decir ningún derramamiento de la vacuna viable y ningún efecto abortifaciente) depende de varios factores. El más importantes son la ruta y dosis de vacunación y el estado y periodo de preñez de los animales. El abortifaciente el efecto de vacunas de la brucelosis viva se vuelve claro cuando los animales se vacunan durante preñez. (5–6m para el ganado) subsecuentemente hay un intervalo de tiempo (1.5–2 meses) para las lesiones que llevan al desarrollo del aborto (Moriyon et al.2004)

Las vacuna en uso se basa en la Cepa 19 de Brucellas vivas y en menor importancia, la cepa vacunal B. abortus 45/20 compuesta por organismos muertos

en adyuvante (bacterina). En la última década, se ha desarrollado una nueva vacuna contra brucelosis denominada cepa RB51 (Figura. 7) (FAO.2005)

Vacuna cepa 19

La vacuna con cepa 19(S19) en ganado bovino es vacuna útil, toda vía es una efectiva herramienta para el control de brucelosis (Richey et al.1997; Moriyon et al.2004). Es una vacuna viva estimula el sistema inmunológico del animal vacunado es resistente de la enfermedad de brucelosis, Sin embargo tiene sus ventajas y desventajas (Richey et al.1997) son infeccioso para los humanos debido a que es excretada en la leche (FAO.2005) Así también puede ser abortificante cuando se usa en animales preñados (S19 también son de uso limitado en machos) (Moriyon et al.2004) además induce la producción de anticuerpos que pueden confundir el diagnóstico serológico de la brucelosis por un período de 12-36 meses (FAO.2005)

Infortunadamente, las pruebas serologicas usadas en la detección de infección de brucelosis en ganado no siempre elucidan si un animal determinado se infecta o simple exposición anticuerpos posvacunal (Moriyon et al.2004) así también no pueda diferenciar entre anticuerpos producidos cepa-19 vacuna y anticuerpos producidos contra los organismos enfermedad de brucelosis por lo tanto si un animal vacunado es analizado demasiado pronto o si el animal vacunado retiene los anticuerpos estimulado contra la vacuna para un periodo extendido, el animal vacunado resultaría positivo(Richey et al.1997)

La proporción de aborto causado por S19 es bajo (menos de 1% en un estudio grande que involucra más de 10 000 vacas qué tenían de 7 a 8 meses preñadas (Moriyon et al.2004)

Beceros al nacimiento de vacas vacunadas con cepa 19 vendrán adquiriendo anticuerpos antibrucela desde la vacuna a través del calostro. Inmediatamente después del nacimiento. Estos anticuerpos adquiridos vendrán normalmente circulando en el becerro, en el sistema sanguíneos para 3 0 4 meses, y pueden neutralizar o matar los organismos vivos si los becerros son vacunados durante el tiempo aun posee los anticuerpos (Richey et al.2004)

En México se utilizan 2 tipos de vacunas cepa 19;

Dosis clásica

Para prevenir la enfermedad en becerras de 3 a 6 mese de edad, este no debe de utilizarse en hembras mayores de 6 meses ni menores de 3 meses de edad.

Las becerras de 3 a 6 meses de edad, deben ser vacunadas con 5 ml de vacuna capa 19 en dosis clásica lo cual representa un mínimo de 5×10 UFC de brucella.

Dosis reducida

Dirigida para hembras mayores de 6 meses, incluso gestante, también puede aplicarse en hembras mayores de 6 meses que no recibieron la vacuna con dosis clásica.

La vacuna cepa 19 en dosis reducida, debe contener un título de $3 \times 10^8 \times 10^9$ UFC de brucella por cada dosis, equivalente a 2 ml (NOM-041.1995)

Vacuna cepa RB51

La cepa RB51 de *B. abortus* usada para vacunación, fue seleccionada por desarrollo de la cepa 2308 de *B. abortus* en presencia de rifampicina (FAO.2005)

En 1996 el USDA reconoció oficialmente y empieza usando una nueva vacuna contra la brucelosis, la nueva vacuna RB51, Es una vacuna viva derivada de ganado con brucelosis de la bacteria *Brucella abortus*. Diferente de cepa 19 sin embargo, vacuna RB-51 no estimula anticuerpos que son detectados normal en pruebas serologicas. (Richey et al. 1997) como rosa de bengala, aglutinación tubo y prueba de fijación de complemento (Moriyon et al.2004)

RB51 se ha vuelto la vacuna oficial para la prevención de brucelosis en ganado en varios países (OIE.2005) es estable y atenuado, pero la evidencia que es igual o aun mejor en términos de seguridad y eficacia que S19 permanece en polémica (Quinn et al.2003; OIE.2005)

EU se vacunan terneros subcutáneamente entre las edades de 4 y 12 meses con $1-3.4 \times 10^{10}$ cepa RB51 organismos viables. Vacunación de ganado con más de 12 meses de edad sólo se llevan a cabo bajo el autorización de los Oficiales de Salud Animales Estatales o Federales y la dosis recomendable es 1×10^9 cepa RB51 organismos viable.

En otros países, se recomienda para vacunar ganado como terneros (4–12 meses de edad) con una dosis $1-3.4 \times 10^{10}$. Con revacunación de 12 meses de edad

con una dosis similar para sacar un efecto del propulsor y inmunidad de aumento (OIE.2005)

Alguna demanda de los autores que RB51 prácticamente no cause abortos en vaquillas preñadas cuando usó a la dosis llena. y, según los resultados inéditos obtenido por el fabricante. La vacunación de 624 vacas preñadas producía sólo un aborto y excreción de leche causada por la vacuna (Moriyon et al.2004)

El uso de una dosis reducida (10/9 UFC) de S19 en ganado adulto bajan la proporción de aborto y excreción de leche Esta idea tiene se extrapolado a RB51, y ha sido mostrado esa inoculación a 5×10^7 CFU es seguro.

Sin embargo esto muy reducido dosis (109 CFU es el propuesto reducido dosifique para la vacunación del adulto con RB51) parece demasiado bajo para inducir inmunidad eficaz, En un comparativo estudie con un número corto de animales (n = 5 en cada grupo), ni RB51 ni S19 administrado intramuscularmente (9.4 y 3×10^8 CFU, respectivamente) causó abortos

o lesiones placentarias(Moriyon et al.2004)

Vacuna 45/20

Vacuna 45/20 se uso como una bacterina hace 25 años para controlar infección B. abortus en ganado bovino. Y era según informes recibidos útil en algunos países en la Unión europea (Moriyon et al.2004)

Bacterina 45/20 aunque menos eficaz, se ha usado en algunos esquemas de erradicación nacionales. Incluso cuando administró animal adulto, esta vacuna no induce títulos anticuerpo persistente (Quinn et al.2003)

Los resultados de experimentos controlados son satisfactorios en algunos casos pero no en otros. Y comparaciones directas con S19 era desfavorable (Moriyon et al.2004) Además produce una marcada reacción en la piel en el punto de aplicación (FAO.2005)

Es más, la calidad de la vacuna era una fuente constante de problemas. El uso de esta vacuna era abandonado cuando los problemas en pruebas serologicas asociaron a vacunación S19 estaba considerablemente reducido (Moriyon et al.2004)

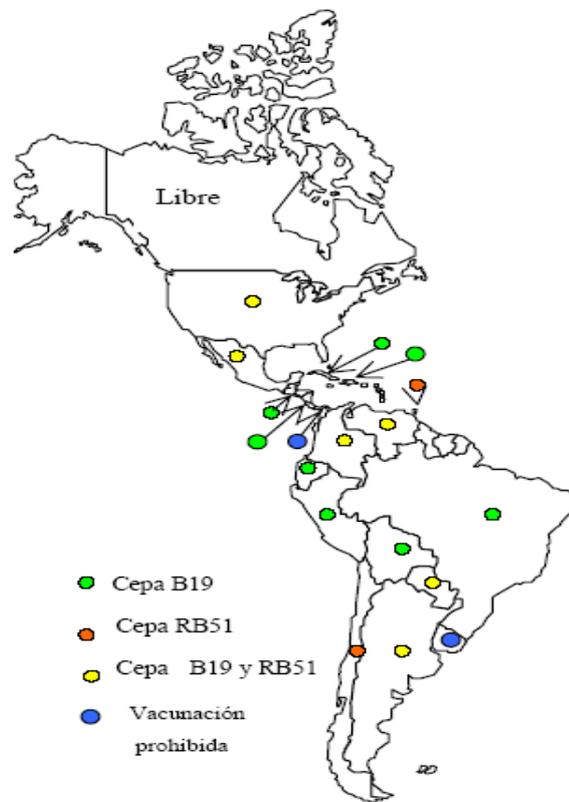


Fig.7 Vacuna utilizada en América por país para control de la brucelosis bovina.

CONTROL Y ERRADICACION

El control de la brucelosis y el programa de erradicación tienen continuas multifasetas el programa usa inspección, verificación en los hatos, en los abastecimientos de mercados e instalaciones de sacrificio; cuarentena y despoblación del hato con pagos de indemnización, dirección del hato; y vacunación (Richey et al.1997) Para lograr la erradicación los requisitos pertinentes son; Identificación individual, estricto control de animales, movimiento y comercio,

y 100% cobertura de la vacuna y control de el estado clínico y serológico (Moriyon et al. 2004)

En casi todos casos, esto implica también tener los medios para enfrentar los costos de sacrificios animales infectados o sospechosos. Cuando la prevalencia es alta o estos requisitos no son encontrado (ej. En países de bajo ingreso) el punto revelante es usar la mejor vacuna en términos de protección y de interferencia en las pruebas serologicas no son un problema significativo desde que la única meta realista debe ser control de la enfermedad y para reducir pérdidas económicas y el contagio humano hasta la prevalencia es disminuida.

Cuando erradicación es la meta de un programa de brucelosis varias estrategias para disminuir la interferencia de vacuna S19 en el serodiagnóstico se han propuestos. ellos incluyen a los siguientes: 1 limitar vacunación a animales jóvenes 2.- para utilizar una dosis reducida en animales adultos y 3.- para vacunar por la ruta conjuntival(antes que subcutáneamente)

Estas estrategias normalmente se complementan con pruebas de diagnóstico que son favorablemente específico diferenciar entre animales vacunados e infectados . Las combinaciones de estas estrategias ha sido útil en países con servicios veterinarios eficiente y relativamente los hatos pequeños y bien controlados pero ellos puede ser difíciles de aplicar a hatos grandes o cuando la cría extensa y los sistemas transhumance existen ((Moriyon et al. 2004))

Erradicación nacional los esquemas son basado en el descubrimiento y sacrificio de ganado infectado. Vacunación de vaquillas jóvenes una medida estratégica durante los años tempranos de esquemas de erradicación, se discontinua cuando el predominio de alcances de la brucelosis baja niveles (Quinn et al.2003)

Aunque la preocupación por controlar la brucelosis data de muchos años fue hasta 1993, con la creación de la comisión nacional para la erradicación de la tuberculosis bovina y la brucelosis (CONETB) que se confirieron mayor importancia y recursos para enfrentar el problema en México.

La campaña nacional contra la brucelosis tiene dos vertientes: el muestreo serológico y la determinación de prevalencias en zonas de bajo riesgo, y la vacunación masiva de hembras susceptibles en zonas de riesgo medio y alto (Rodríguez 2005)

SITUACION ACTUAL DE LA CAMPAÑA NACIONAL CONTRA LA BRUCELOSIS EN MEXICO.

De acuerdo con lo señalamientos de la Norma Oficial Mexicana, la zona norte del estado de Sonora fue declarado como libre de Brucelosis Bovina, según decreto publicado en el Diario Oficial de la Federación, el 26 de noviembre de 2003.

Por otro lado, la zona sur del estado de Sonora y el estado de Yucatán se encuentran clasificados en fase de erradicación, mientras que el resto del país se encuentra en fase de control (Fig. 8) (SENASICA.2005)



Fig.8 situación actual de la brucelosis en México.

IMPORTANCIA ECONOMICA

Esta enfermedad posee gran impacto tanto en la salud pública como en la producción pecuaria, constituyendo una barrera para el comercio de animales y de subproductos de origen animal, lo cual afecta la economía de los países que aun no lo han podido erradicar (Arestegui et al.2001)

Son muy importante las pérdidas en la producción animal debidas a la brucelosis, principalmente por la reducción de leche en las vacas que abortan (Rodríguez et al.2005) En América latina se calcula que la prevalencia mas alta observadas en ganado lechero ocasionan pérdidas de alrededor de 600 millones de dólares anuales (N. Acha Pedro. Et al 2001)

Una secuela frecuente es la esterilidad temporal, que alarga el periodo entre lactancias, y de un rebaño infectado, el periodo medio entre dos lactancias puede prolongarse en varios meses, además de la pérdida de producción de leche, hay pérdidas de terneros y se interfiere en programas reproductivos.

La secretaria de agricultura, ganadería y desarrollo rural (SAGAR) de México estimó en 1995 pérdidas que se aproximan a 16 255 4 33 de pesos en la ganadería bovina de carne y a 22 477 752 en la ganadería de leche puesto que la producción Láctea de las vacas con brucelosis se reduce en 20%.

Se estima que la brucelosis ocasiona una pérdida promedio de 217 L por vaca y un índice de fertilidad de 65 a 70 % durante un ciclo reproductivo, esto arroja un costo negativo cercano a 59 994 008 de pesos que evidencia la importancia sanitaria y económica de la enfermedad en este país (Rodríguez et al.2005)

En países de Sudamérica, *brucilla abortus* presenta una mayor prevalencia en animales de ganado lechero, con valores que oscilan entre 0,1 y 20,3%. Se calcula que las pérdidas económicas causadas por la brucelosis bovina en las Américas ascienden a 270 millones de dólares norteamericanos (US\$); esta estimación se basa en las pérdidas de crías (47%), producción de leche (41) y costos de reposición (12%) (Rivera et al. 2003)

BIBLIOGRAFIA

Bernard D. Davis., Bolbecco Renato., Hernan N. Eisen., Harold S. Ginsberg.
Tratado de Microbiologia. 1ra. Edicion. Edit. Salvat.

Betsy J. Bricker AND Shirley M. Halling., 1994. Differentiation of Brucella abortus
bv. 1, 2, and 4, Brucella melitensis, Brucella ovis, and Brucella suis bv. 1 by PCR.
Journal Of Clinical Microbiology, Nov. 1994, p. 2660-2666. Vol. 32, No. 11

El Manual Merck De Veterinaria Quinta Edición. 2000. Brucelosis En Ganado
Bovino Océano Grupo Editorial. pp. 1120-1123

Hoover David L., And. Friedlander Arthur M., Brucellosis. Medical Aspects of
Chemical and Biological Warfare. 513-519. Chapter 25.

Institute for International Cooperation in Animal Biologics An OIE Collaborating
Center Iowa State University College of Veterinary Medicine; Jan. 2004

Brucellosis. 1-5.

López Merino Aidé y Contreras Rodríguez Araceli. Brucella., Escuela Nacional de
Ciencias Biológicas, Instituto Politécnico Nacional.

Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals.2004. 5th edition.
OIE.

M. Radostits., C. Gay. Clive., C. Blood Douglas., W. Hinchcliff. 2002; Medicina
Veterinaria, Tratado de las Enfermedades del Ganado Bovino, Ovino, Porcino,
Caprino y Equino. Volumen 1. Novena Edicion. Editorial McGraw-Hill-
Interamericana. Pp.1025-1041.

M.Sözmen., S.D.Erginsoy., O.Genc., E.Beytut., K.Özcan.,2004. immunohistochemical and Microbiological Detection of *Brucella abortus* in Aborted Bovine Fetuses. Departments of Pathology., and Microbiology., Faculty of Veterinary Medicine, University of Kafkas, Kars, Turkey. Acta Vet.Brno 73, 2004: 465-472.

Moriyón Ignacio., Grilló María Jesús., Monreal Daniel., González David., Marín Clara., López-Goñi Ignacio., Mainar -Jaime Raúl C., Moreno Edgardo., Blasco José María. 2004. Rough vaccines in animal brucellosis: Structural and genetic basis and present status. Review article. Vet. Res. 35 (2004) 1–38 INRA, EDP Sciences, 2004.

N. Acha Pedro y Boris Cifres. 2001. Organización Panamericana de la Salud; Zoonosis y Enfermedades Transmisibles Comunes al Hombre y a los Animales. Volumen I. Bacteriosis y Micosis. Publicación Científica y Técnica N#. 580 3ra Edición. Pp.28-34.

Norma Oficial Mexicana NOM-041-ZOO-1995, Campaña Nacional Contra la Brucelosis Bovina en los Animales.

P.J. Quinn, B.k. Markey, M.E. Carter, W.J.Donnely.2003. Veterinary Microbiology and Microbial Disease. Editorial Blackwell Publishing. Primera Edición. Pp.162-165.

Pathogen Safety Data Sheet., Brucellosis. May 8, 2005. The Biohazard Containment and Safety Unit , CFIA 4-5.

Richey E.J., and C. Dix Harrell. 1997. Brucella Abortus Disease (Brucellosis) in Beef Cattle. IFAS Extension. University of Florida.

Rodríguez Torres A., Orduña Domingo A., Ariza Cardena I. X., Moriyón Uría I., Diaz García R., Blasco Martínez J. M.,Almaraz Gómez A. Martínez Navarro

F.,Ruiz Cosín C., Abad Fernández R. 2001. Manual de Brucelosis. Junta De Castilla Y Leon.Consejería de Sanidad y Bienestar Social.*Dirección General de Salud Pública.*

Santiago Vadillo Machota., Segundo Piriz Doran., Emilio M. Mateos Yanes. Manual De Microbiología Veterinaria. 1ra. Edición. Edit. McGraw-Hill Interamericana 2003. **pp.**