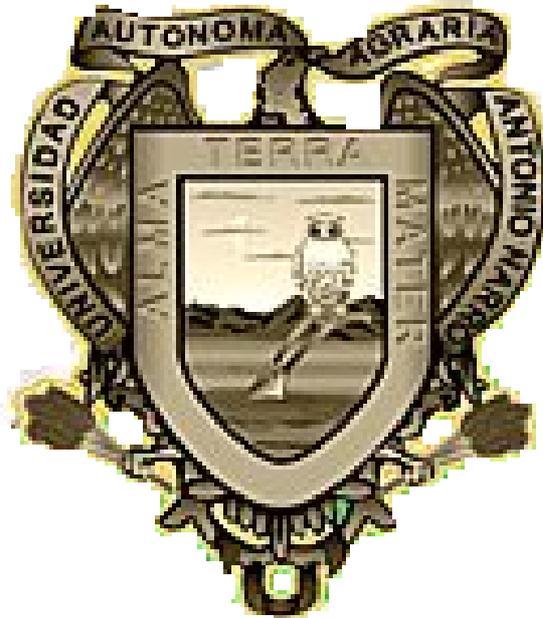


UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA "ANTONIO NARRO"

UNIDAD LAGUNA

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL



"BRUCELA, ENFERMEDAD OBSERVADA EN EL T.L.C"

POR

ADÁN ZAMORA MAR

MONOGRAFÍA

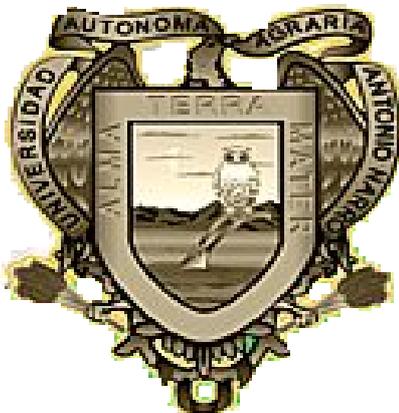
PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA
OBTENER EL TITULO DE:

MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA "ANTONIO NARRO"

UNIDAD LAGUNA

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL



"BRUCELA, ENFERMEDAD OBSERVADA EN EL T.L.C"

POR

ADÁN ZAMORA MAR

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

MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

APROBADA POR

M.C JOSÉ DE JESÚS QUEZADA AGUIRRE
PRESIDENTE DEL JURADO

MC. JOSÉ LUIS FCO. SANDOVAL ELÍAS
CORDINADOR DE LA DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL

UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA "ANTONIO NARRO"
UNIDAD LAGUNA

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL



MONOGRAFÍA

"BRUCELA, ENFERMEDAD OBSERVADA EN EL T.L.C"

MC. JOSÉ DE JESÚS QUEZADA AGUIRRE
PRESIDENTE DEL JURADO

IZ. JORGE H. BORUNDA RAMOS
VOCAL

MVZ. RODRIGO I. SIMÓN ALONSO
VOCAL

MVZ. CUAUHTÉMOC FÉLIX ZORRILLA
VOCAL SUPLENTE

INDICE

BRUCELOSIS EN EL TLC.....	3
1.- INTRODUCCION.....	3
2.- ANTECEDENTES DE LA BRUCELOSIS.....	4
3.- CONCEPTO DE BRUCELOSIS.....	5
4.- BRUCELLA.....	6
4.1.- IMPORTANCIA.....	7
4.2.- TAXONOMIA Y CLASIFICACIÓN ACTUAL.....	8
4.3.- MORFOLOGIA Y CULTIVO.....	8
4.3.1.- Morfología microscópica.....	8
4.3.2- Morfología colonia.....	9
4.4.- CARACTERES METABOLICOS.....	9
4.5.- CARACTERES INMUNOLOGICOS.....	10
4.5.1.- Inmunidad.....	10
4.5.2.- Inmunidad natural.....	10
4.5.3.- Inmunidad adaptativa.....	11
4.5.4.- Macrófagos.....	11
4.6.- RESISTENCIA.....	12
4.7.- EPIZOTIOLOGIA.....	12
4.7.1.- Distribución.....	12
4.7.2.- Transmisión.....	13
4.8.- SIGNOS.....	14
4.9.-PATOLOGIA.....	15

4.10.- TRATAMIENTO.....	15
4.11.- PROFILAXIS.....	15
5.- ZONOOSIS PROBLEMÁTICA EN SALUD PUBLICA.....	16
5.1. –Zoonosis.....	16
6.-Diseminación y contagio.....	17
7.-PRUEBAS DE LABORATORIO.....	18
7.1.- Métodos directos.....	18
7.2.- Métodos indirectos.....	19
7.2.1.- Pueba rápida en placa con antígeno rosa de bengala.....	20
7.2.2.- Aglutinación estándar en tubo.....	21
7.2.3.- Aglutinación estándar en microplaca.....	22
7.2.4.- Aglutinación en presencia de 2 mertacptoetanol en microplaca.....	24
8.- DIAGNOSTICO.....	25
8.1.- Técnicas serológicas, ventajas y desventajas.....	25
8.2.- Cultivo y subcultivo.....	27
8.3.- Métodos moleculares.....	28
8.4.- Epidemiología molecular.....	28
9.- VACUNACION.....	29
10.- NORMAS QUE RIGEN LA BRUCELOSIS.....	30
11.- RESUMEN.....	30
12.- RECOMENDACIONES.....	30
13.- REFERENCIAS.....	33
14.- GLOSARIO.....	36

BRUCELOSIS EN EL TLC

1.- INTRODUCCIÓN

A fines de los 80's, tomó importancia en el ámbito mundial la aparición de diferentes tratados de comercio. Debido a que la industria y su comercio tendieron a la adopción de normas de producción y comercialización uniformes para todos los países del mundo o gran parte de ellos. Con el propósito de asegurar la economía, ahorrar gastos, evitar el desempleo y garantizar el funcionamiento rentable de las empresas.

Ante este reto, México ha venido implementando medidas para cuidar la economía del país infundiendo servicios confiables en salud animal.(5,12)

La dirección General de Salud Animal por medio del Centro Nacional de Servicios de Diagnóstico en Salud Animal coordina a los laboratorios de diagnóstico que apoyan la sanidad animal en México, para que brindar un servicio confiable y oportuno que contribuya a salvaguardar la salud animal en el país, el objetivo es contar con una estructura organizacional y un sistema orientado a satisfacer de manera ágil, oportuna y eficiente a los productores pecuarios para aumentar la confiabilidad de los servicios en materia de salud animal. Los principales objetivos de los servicios nacionales veterinarios son la organización e implementación de métodos efectivos para prevenir y controlar las enfermedades infecciosas de los animales.(5,12, 22).

2.-ANTECEDENTES DE LA BRUCELOSIS

El curso de la Brucelosis en la historia de la humanidad ha sido tratado por varios autores, quedando muy bien definido. Bräwer y Lehnent entre 1878 a 1880 determinaron el carácter infeccioso de los abortos en bovinos. Bruce en 1887 señaló que la Fiebre de Malta del hombre la producía una pequeña bacteria, cuando logra aislar por vez primera el agente etiológico al cual llamó — *Micrococcus melitensis*— (García et al. 1988; Bofill et al. 1996). Bang y Stribolt en 1896 lograron comprobar que el aborto infeccioso en las vacas, lo causaba una bacteria que denominaron — *Bacillus infectiosi*—. En 1897 se produce un importantísimo avance en el diagnóstico serológico de la enfermedad una vez que Wright y Smith refieren las aglutinaciones específicas en sueros sanguíneos de los enfermos. Zammit en 1905 informa que las cabras transmiten la enfermedad al hombre — surge el concepto de zoonosis— a partir del consumo de la leche infectada. Traum en 1914 pone al descubierto la etiología del aborto epizoótico del cerdo. Evans en 1918 comprueba el íntimo parentesco entre el *Micrococcus melitensis* y el *Bacillus abortus*, estos resultados junto con los de Meyer y Shaw en 1920 permitió agrupar a estos microorganismos en un solo género bacteriano —*Brucella*— y denominarlos *Brucella melitensis* y *Brucella abortus* (Benítez, 1979).

Se conocen seis especies con sus correspondientes biotipos. Recientemente se produjo un aislamiento de una cepa de mamíferos marinos (10,17,23)

3.-CONCEPTO DE BRUCELOSIS

La brucelosis es una enfermedad de curso crónico, que causa abortos, disminución de la producción láctea, alargamiento del periodo interparto, e infertilidad Estrada, 1998. El genero *Brucella* esta formado por bacterias parásitas intracelulares facultativas, Existe una preferencia marcada por el huésped animal, se a encontrado que *B. abortus* infecta normalmente al ganado bovino, *B. melitensis* se relaciona mas con cabras y borregos, *B. suis* con cerdos, *B. canis* infecta perros, *B. ovis* causa infección específicamente a borregos y *B. neotomae* a roedores. El hombre es susceptible a cualquiera de las cuatro primeras especies, ya que se considera que *B. ovis* y *B. neotomae* poseen baja virulencia que las restringe solo a ciertos huéspedes (3,15). En años recientes, el amplio espectro de huéspedes de *Brucella* se ha ampliado a incluir a los mamíferos marinos, donde se ha realizado el asilamiento de *Brucella* a partir de una amplia variedad de focas, leones marinos, delfines y ballenas, en las costas de diferentes continentes en lo que de manera no oficial forman un grupo denominado *B. maris*, distinguiéndose dos tipo: el formado por cepas provenientes de cetáceos y el de las cepas aisladas de focas (4,8,16).

Es una enfermedad que primordialmente afecta a los animales y que incidentalmente se transmite al humano.(20)

4.- BRUCELLA

La brucelosis es una enfermedad infecciosa de los animales que se transmite al hombre constituyendo una zoonosis (22).

Brucella es el nombre genérico con el que se denomina a un grupo de pequeños cocos y cocobacilos gramnegativos aeróbicos, inmóviles y de crecimiento lento. Se reconocen tres especies clásicas que producen la brucelosis humana: *Brucella mellitensis* afecta fundamentalmente a cabras y ovejas, pero puede afectar a bóvidos y cerdos. Es la responsable de la gran mayoría de casos en España, ocasionando además los de mayor gravedad. *Brucella abortus* es el microorganismo implicado con mayor frecuencia en la brucelosis bovina y es poco frecuente en nuestro país. *Brucella suis* afecta primariamente al ganado porcino. Las tres especies menores (*B. canis*, *B. ovis* y *B. Neotomae*) no revisten importancia en patología humana. (25).

El agente causal de la brucelosis es la bacteria *Brucella* spp. Se trata de un cocobacilo, aeróbico, Gram negativo. Infecta en forma primaria a los animales. (10).

Varias circunstancias hacen a *Brucella* especial desde el punto de vista patogénico. En primer lugar, la virulencia de *Brucella* no va ligada a los factores de virulencia clásicos de otros gérmenes: exotoxinas o endotoxinas; en segundo lugar, *Brucella* consigue invadir y persistir en el interior de las células mediante la inhibición de los mecanismos celulares de muerte celular programada (apoptosis). La infección tiene lugar por contacto, consumo o inhalación de material infectado. La contaminación de las mucosas se sigue de su fagocitosis, dos componentes

de su superficie relacionados con los receptores de histidina, se relacionan con el proceso de internalización de *Brucella*. De los gérmenes fagocitados un 15-30% sobreviven en los lisosomas gracias a la inhibición en los polimorfonucleares de los sistemas mieloperoxidasa, peróxido de hidrógeno y superóxido dimutasa de Cu-Zn; se inicia así, su replicación sin afectar la integridad celular, lo que explica las diferencias entre sensibilidad antibiótica in vitro e in vivo. Además el lipopolisacárido liso de su superficie inhibe la activación de la vía alternativa del complemento. (27).

4.1.- IMPORTANCIA:

La lucha contra la brucelosis se basa en cuatro aspectos fundamentales: El conocimiento de la enfermedad, el diagnóstico correcto, la vacunación y la eliminación de los animales positivos con un único destino: sacrificio (22).

Las *Brucellas* spp. Son patógenos intracelulares que invaden y proliferan dentro de la célula huésped; su virulencia se asocia con la capacidad de multiplicarse al ataque de las células fagocíticas. Debido a la localización intracelular, el control de la infección requiere una célula mediada por la respuesta inmune, en la que el brazo con células T ayudantes de tipo 1 (Th1) es pertinente para la protección. Como en muchas otras bacterias Gram-negativas, el liposacárido es un componente importante de la membrana externa. El liposacárido tiene tres dominios: el lípido A, núcleo oligosacáridos, y el antígeno O o cadena lateral. La estructura completa de *Brucella* liposacárido no se ha dilucidado aún, pero se sabe de que el lípido A se compone de glucosamina, ácido tetradecanoico n,

ácido n-hexadecanoico, 3- ácido hidroxitetradecanoico, y de ácido 3 hidroxihexadecanoico(28).

4.2.- TAXONOMIA Y CLASIFICACIÓN ACTUAL

Tradicionalmente la clasificación de las especies de *Brucella* se hace en base a su huésped predominante (27).

La *brucella* se clasifica de la siguiente manera:

Reino: Proteobacteria

Clase: Rodospirilla

Orden: Rizobial

Familia: Brucellaceae

Género: *Brucella*

Especies: *B. abortus* (bovinos), *B. mellitensis* (cabras), *B. suis* (cerdos), *B. canis* (perros), *B. ovis* (oveja) y *B. neotomae* (roedores) (Tarjeta de enfermedades)

4.3.- MORFOLOGIA Y CULTIVO

4.3.1.- Morfología microscópica.- Bacilos cortos pequeños Gram negativos de 0.5 X 0.5 hasta 1.5 µm de longitud (Imagen de la Tinción de Gram). Al emplear la tinción de Zielh-Neelsen modificada, las brucelas se tiñen de color rojo y se observa la misma morfología. Otras bacterias se verán verdes.

4.3.2.- Morfología colonial.- En medio TSA, las cepas lisas producen colonias circulares, convexas con bordes regulares, translúcidos y coloración ámbar. A la

luz reflejada son brillantes, ligeramente opalescentes y de color gris azulado. En gelosa sangre no produce hemólisis, en agar Mac Conkey crecen poco y no fermentan la lactosa.

Las cepas rugosas, el , producen colonias semejantes en la forma pero varían considerablemente en tamaño, color, consistencia y textura (16).

Las *brucellas* son microorganismos delicados de crecimiento lento en el aislamiento primario. Crecen en la mayoría de los medios de agar sangre y a veces en agar McConkey; sin embargo, pueden requerir incubación durante 3 o más días. El aislamiento en el hemocultivo puede tardar hasta 4 o 6 semanas, aunque el crecimiento es más rápido cuando el cultivo de sangre se transfiere a medios de agar. El medio ideal de crecimiento, es el cultivo bifásico de Ruiz Castañeda. *B. abortus* requiere incubación en atmósfera con suplemento de CO₂ (21).

4.4.- CARACTERES METABOLICOS

La bacteria que causa la brucelosis despliega un mecanismo para controlar el número de glucosas (un tipo de azúcar) presente en una molécula denominada “glucano cíclico”, que es producida por esa bacteria y que es un factor clave en su virulencia. (12).

4.5.- CARACTERES INMUNOLOGICOS

4.5.1.- Inmunidad

La inmunidad contra la brucelosis es principalmente mediada por la respuesta inmune celular ya que es un patógeno intracelular. El estudio de la respuesta inmune celular a *Brucella abortus* comenzó cuando Mackaness (1964) utiliza la cepa 19 como un organismo microbiana modelo para demostrar protección cruzada con otras bacterias intracelulares en vivo (3). Él mostró que los ratones infectados con *B. abortus* están protegidos contra la infección por otra bacteria intracelular, la *Listeria monocitogenes* (3,20).

4.5.2.- Inmunidad natural.

En estados tempranos de la infección por *Brucella*, el rol de la respuesta innata es reducir el número inicial de bacterias promoviendo una respuesta Th1 en el huésped (4,13). Los macrófagos, los neutrófilos, las células Natural Killer (NK) y el complemento juegan un rol clave en esta fase temprana de la respuesta a la invasión frente a este microorganismo(1).

4.5.3.- Inmunidad adaptativa.

Está ampliamente aceptado que la inmunidad mediada por células es el mecanismo efector más relevante en la protección frente a *Brucella* debido a que es un parásito intracelular. Las citoquinas son moléculas clave para una adecuada respuesta inmune mediada por células. La exposición prolongada de un animal a *Brucella* cambiaría la respuesta inmune, desde una inmunidad mediada por células hacia una respuesta humoral (caracterizada por la producción de IgM e IgG1), respuesta que se relaciona con una disminución en la actividad de las células T ayudadoras tipo 1, favoreciéndose de esta forma un incremento de la actividad de las células T ayudadoras de tipo 2, disminuyendo la respuesta inmune celular, lo que favorecería de esta forma el establecimiento de la enfermedad crónica. (1).

4.5.4.- Macrófagos.

Los macrófagos juegan un rol central en la respuesta inmune frente a *Brucella*, ya que actúan como células fagocíticas profesionales y como células presentadoras antígenos. Procesan antígenos en sus compartimentos intracelulares y los presentan en el contexto del Complejo Mayor de Histocompatibilidad (MHC) a linfocitos T, promoviendo de esta manera la respuesta inmune adaptativa. En este sentido, se ha encontrado que el LPS de *Brucella* interfiere con la vía de presentación de antígenos por MHC II (22).

Las funciones bactericidas de los macrófagos frente a *Brucella* se encuentran centradas en la actividad de las especies reactivas de nitrógeno, las cuales son inducidas por IFN- γ y el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α) (1).

4.6.- RESISTENCIA

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 brucelas 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. En los restos de animales congelados, las bacterias sobreviven por muchos años. En materiales desecados que contengan materias orgánicas y protegidas de la luz solar, pueden retener su infectividad por muchos años. (15).

4.7.- EPIZOTIOLOGIA

4.7.1.- Distribución

En el mundo la infección animal por *B. abortus* sigue siendo la mas frecuente a pesar de la vacunación masiva y se considera que la mayor parte de casos en humanos son producidos por *B. mellitensis*, aunque su real incidencia es desconocida. Las zonas de mayor prevalencia animal corresponden a la región del Mediterráneo, Asia occidental, y algunas partes de África y América Latina, principalmente en México, Brasil y Colombia.

En Estados Unidos se considera una enfermedad rara, siendo relacionada en su gran mayoría a exposición laboral, hallando como etiología mas frecuente la *B. abortus* y la *B. suis*, siendo muy raras las otras dos especies. En niños su incidencia es muy baja, menos del 10% de los casos se presentan en menores de 19 años. En el mundo se reporta la *B. mellitensis* como el agente etiológico más frecuente causante de la enfermedad a, pesar de variaciones dependiendo de las zonas geográficas (20).

4.7.2.- Transmisión

La forma principal de contagio es por vía digestiva, esta se produce cuando los animales lamen fetos abortados, terneros recién nacidos y/o los genitales de otros animales, y si estos están brucelosos se produce una ingestión masiva de bacterias. También es importante la ingestión de alimentos y bebidas contaminadas con secreciones vaginales y leche de hembras enfermas. La vía genital puede ser importante solo si se realiza inseminación artificial con semen infectado, de lo contrario, la brucelosis bovina no es una enfermedad venérea. El semen de un toro infectado puede contener grandes cantidades de brucelas pero sin embargo no contagia a la vaca. La razón es que la acidez de la vagina contribuye a destruir a las brucelas.

Esta enfermedad tiene un período de incubación variable pues la bacteria luego de ingresar al organismo se multiplica en ganglios y órganos del sistema retículo-endotelial y el tiempo del mismo varía de acuerdo al estado fisiológico del animal. El período de incubación siempre es mas corto en el animal preñado. El signo

principal de la enfermedad es el aborto al final del tercio de la preñez (5 a 7 meses). No es infrecuente la presencia de natimortos debido a esta enfermedad. La principal fuente de contagio son las secreciones vaginales que se producen desde aproximadamente 15 días antes del aborto o parto hasta 4 semanas siguientes al mismo. Algunos experimentos demostraron que se pueden eliminar hasta 1×10^{14} brucelas por gramo de placenta. Lo que nos está indicando la gravedad del fenómeno que representa el aborto y más aún el parto de un animal bruceloso que nos confunde pues creemos que puede estar sano, sin embargo elimina tantas brucelas como aquel que padece. El calostro y la leche también son portadores de brucelas y aunque la eliminación es intermitente. (22).

4.8.- SIGNOS

En la brucelosis por *B. abortus* el signo clínico característico en la vaca es el aborto, que ocurre después del quinto mes de gestación. La bacteria produce inflamación del alantocorión, interfiere con la circulación hacia el feto y pasa endotoxinas que posteriormente causan la muerte del feto y expulsión. La placenta se observa difusa y gruesa, los cotiledones con áreas de necrosis, el feto edematoso y con petequias, contenido estomacal turbio. La infección en la ubre es común e intermitente. Los animales jóvenes son bastante resistentes a la *B. abortus*, pero su susceptibilidad aumenta con el desarrollo sexual y la preñez.

En toros se produce orquitis con presencia de abscesos, inflamación del epidídimo y órganos accesorios reproductivos. La orquitis puede ser unilateral o bilateral. Semen proveniente de animales infectados transmite la enfermedad al

usarlo en inseminación artificial; existen razas que son más susceptibles que otras (24).

4.9.- PATOLOGIA

La mayoría de los animales se infectan directamente a través de la mucosa oronasal, por ingestión de alimentos contaminados o por inhalación de polvo de los establos con microorganismos que los animales han secretado con la leche o los exudados vaginales. La *B. abortus*, además de infectar al ganado bovino, puede infectar a otras especies como búfalos, bisontes, alces, jabalíes, zorros, renos, camellos y animales marinos (1).

4.10.- TRATAMIENTO

La prevención de la diseminación de la brucelosis se basa en de vacunas adecuadas contra la infección por *B. abortus*. Con este se han utilizado clásicamente cepas bacterianas atenuadas y componentes antigénicos propios de la *Brucella*. La habilidad de un antígeno específico para inducir en forma preferencial una respuesta Th1 es un aspecto importante a considerar en el desarrollo de vacunas contra *Brucella abortus* (1).

4.11.- PROFILAXIS

La prevención de la brucelosis en el hombre, ha estado principalmente ligada al control y erradicación de la infección en los animales. En la mayoría de los países afectados, la brucelosis animal ha sido controlada a través de programas de

vacunación . Las vacunas propuestas y oficialmente aceptadas para uso animal están constituidas de suspensiones viables de cepas de Brucella atenuadas, principalmente B.abortus B19 y B. melitensis Rev1. Sin embargo, existen algunos países que se han caracterizado por presentar una prevalencia continua y elevada, en los cuales se han implementado otras medidas complementarias de control. Entre ellas, inicialmente se introdujo la vacunación de los individuos en alto riesgo por su profesión o actividad. La vacunación como medida preventiva ha jugado un papel trascendental en el control y erradicación de la brucelosis en muchos países ya que las vacunas existentes han sido de gran ayuda a pesar de algunos inconvenientes que presentan. Es indudable que es el camino de elección para aquellos países que aún están lejos de controlar la brucelosis animal. La búsqueda de la vacuna ideal aún no termina (16)

5.- ZONOOSIS PROBLEMÁTICA EN SALUD PÚBLICA

5.1.- Zoonosis

La brucelosis es una de las principales zoonosis bacterianas que adquiere el humano. Es una enfermedad infecciosa sistémica Sus principales síntomas son: dolor de cabeza y fiebre. Su contagio se produce a través de dos vías:

El contagio directo a través de la piel, que es el mecanismo más frecuente, al menos en el medio rural; la vía digestiva, vía inhalatoria o ambas.

El contacto con los animales vectores y/o sus productos derivados (carne y leche).

Se insiste en que es una enfermedad que se presenta como endemia en países que tienen a la ganadería como una de sus actividades económicas y que puede adquirirse como infección del viajero, cuando visitantes de áreas endémicas consumen leche o queso sin pasteurizar, provenientes de animales infectados (13).

La *Brucella melitensis* es la más importante agente zoonótico, seguido por la *Brucella abortus* y *Brucella suis*. Esto se correlaciona con el hecho de que en todo el mundo, el control de la brucelosis bovina (debido a la *B. abortus*) se ha logrado en mayor medida que en el de las ovejas y cabras con *B. melitensis* debido a, estas últimas especies siendo las más importantes (21)

6.- DISEMINACIÓN Y CONTAGIO

Los huéspedes animales, excretan gran cantidad de bacterias junto con los tejidos y productos de aborto, en la leche; en menor medida por excreciones genitales que contaminan los sitios donde se encuentran como el suelo, traspatios corrales, la paja de las camas, el agua de arroyos, canales y pozos (16). También la *Brucella* es excretada en la leche, por lo que el humano adquiere la enfermedad a través de productos lácteos no controlados, principalmente leche y queso fresco, el hombre adquiere la infección al inhalar polvo o pelo contaminado, a través de abrasiones o cortaduras en la piel, por salpicaduras en la conjuntiva, por aerosoles formados en algún proceso, a través de una transfusión de sangre o de un trasplante de tejido donde la médula ósea representa un mayor riesgo, por auto inoculación accidental de sangre del animal infectado o de vacunas (4). Otra forma de transmisión es de la madre con brucelosis al hijo a través de la leche materna o de la placenta, el consumo de carne cruda o mal cocida, proveniente

de animales infectados, representa un riesgo menor, ya que el músculo contiene baja cantidad de brucella, la transmisión se efectúa con más frecuencia a través del consumo de leche, queso fresco y otros derivados lácteos(13).

7.- PRUEBAS DE LABORATORIO

El diagnóstico de la brucelosis humana depende del conjunto de datos clínicos, antecedentes epidemiológicos y resultados de laboratorio (5). En los animales no siempre se cuenta con antecedentes clínicos que orienten el diagnóstico, excepto en abortos o retenciones placentarias por lo que los resultados de laboratorio son determinantes. Los métodos de laboratorio pueden dividirse en dos grupos: los directos, que buscan identificar el agente etiológico en una muestra biológica del caso y los indirectos, por medio de los cuales se busca la presencia de anticuerpos contra Brucella. Como en ocasiones no es posible esperar el tiempo que se requiere para obtener un aislamiento de brucelas y éste no siempre se logra, frecuentemente se recurre a los métodos indirectos para establecer el diagnóstico.

Los métodos de diagnóstico de laboratorio se enlistan a continuación (11, 12, 19).

7.1.- Métodos directos

- . Aislamiento en medios de cultivo
- . Identificación de especies por pruebas fisiológicas
- . Identificación de biovariedades con antisueros monoespecíficos

. Tipificación con fagos

. Amplificación del genoma por reacción en cadena de la polimerasa

7.2.- Métodos indirectos

Demostración de anticuerpos

-Aglutinación de bacterias teñidas con rosa de Bengala (prueba con antígeno “Rosa de Bengala”*, prueba de tarjeta**) (6,7)

-Aglutinación de bacterias no teñidas (aglutinación estándar*) (8,9)

-Aglutinación de bacterias no teñidas presencia de un agente reductor

-(prueba del 2-mercaptoetanol*) (12)

-Aglutinación de bacterias teñidas de un agente precipitante de macroproteínas
(Prueba de rivanol**)

-Fijación del complemento** (13)

-Doble inmunodifusión de agar**

- ELISA*, ** (14)

-Prueba de fluorescencia polarizada** (18)

Demostración de anticuerpos específicos en productos animales

-Prueba de anillo en leche**

• En muestra de humanos.

** En muestra de animales

7.2.1.- PRUEBA RÁPIDA EN PLACA CON ANTIGENO ROSA DE BENGALA

- 1). El antígeno se mantiene a 4°C y antes de comenzar la prueba, tanto los Sueros como el antígeno deben alcanzar la temperatura del laboratorio (aproximadamente 20°C).
- 2). Se recomienda no realizar la prueba con sueros hemolizados o lipémicos ya que pueden dar resultados falsos positivos.
- 3). Si no se cuenta con una placa de vidrio con círculos, se emplea una placa de vidrio limpia y desengrasada. Con lápiz graso se traza una cuadrícula con cuadros de unos 3 X 3 cm.
- 4). En el primer cuadro se colocan 0.03 mL (30 µL) del suero problema y 0.03 mL de antígeno rosa de bengala y se homogeniza la suspensión con ayuda de un palillo de madera. El resto de los cuadros se pueden ocupar para otros sueros, reservando dos para los testigos positivo y negativo que se tratan de la misma manera que los sueros problema.
- 5). Se agita la placa con movimientos rotatorios durante 4 minutos frente a una fuente de luz indirecta y se busca la formación de grumos (aglutinación).
- 6). Primero se observan los testigos para buscar la reacción esperada, si no ocurre, se desecha la prueba, se repite y, si continúan los resultados no esperados, se cambia el antígeno por el de un frasco nuevo o el de un lote nuevo.
- 7). Los resultados se interpretan como positivo (cualquier tipo de aglutinación) y negativo (sin aglutinación luego de 4 minutos)

8). La prueba tiene validez cualitativa y NO se recomienda hacer diluciones, se invalida el resultado si se lee después de 4 min. particularmente si se seca la muestra.

9). Los sueros positivos se analizan por aglutinación estándar en tubo o microplaca y por aglutinación en presencia de 2-mercaptoetanol.(8)

7.2.2.- AGLUTINACIÓN ESTÁNDAR EN TUBO

1). La prueba se lleva a cabo con diluciones de la muestra problema en solución salina con fenol al 5%, el suero problema se diluye 1:10 y a partir de él se hacen diluciones dobles seriadas. Luego se añaden volúmenes iguales del antígeno y se busca la aglutinación.

2). restantes se colocan 0.5 mL de solución salina fenolada.

3). perfectamente. De este tubo se toman 0.5 mL y se pasan al segundo, se mezcla bien y se transfieren 0.5 mL al tercero y así sucesivamente hasta el tubo 10, del cual se desechan 0.5 mL.

4). Simultáneamente se preparan dos series de tubos, una para un suero testigo positivo y otra para un suero testigo negativo y se diluyen de la misma manera que el suero problema.

5). En cada tubo de cada serie se añaden 0.5 mL de la suspensión del antígeno blanco diluido previamente 1:10 en solución salina fenolada. Las diluciones finales de las muestras son: tubo 1, 1:20; tubo 2, 1:40; tubo 3, 1:80; tubo 4, 1:160; tubo 5, 1:320; tubo 6, 1:640, tubo 7, 1:1280, tubo 8, 1:2560, tubo 9, 1:5120, tubo 10, 1:10240.

- 6). Se agitan bien todos los tubos y se incuban a 37°C durante 48 horas.
- 7). Los tubos se examinan sin agitar con una fuente luminosa colocada debajo de ellos para facilitar la lectura.
- 8). El grado de aglutinación se mide en comparación con el testigo positivo, por la mayor o menor clarificación que se haya producido en los tubos y la formación de una malla de aglutinación en el fondo del tubo.

++++ Aglutinación-sedimentación completa con clarificación total del sobrenadante.

+++ Aglutinación casi completa, clarificación del 75%.

++ Aglutinación pronunciada y transparencia del 50%.

+ Sedimentación parcial y clarificación del 25%.

-Clarificación nula.

9)El título del suero corresponde al último tubo con clarificación del 75 al 100%.

10). El resultado, con base a la NOM-022-SSA se considera positivo cuando el título es mayor o igual a 1:80. Es importante señalar que cuando hay exceso de anticuerpos se presenta el fenómeno de zona, por lo que se recomienda emplear siempre la serie completa de tubos.(8)

7.2.3.- AGLUTINACIÓN ESTÁNDAR EN MICROPLACA

1). Es la adaptación a un micrométodo de la aglutinación estándar en tubo. Utiliza una placa de microtitulación de 96 pozos con fondo en U.

- 2). También en este método se recomienda hacer 10 diluciones del suero o LCR, en el primer pozo se colocan 180 μL de solución salina fenolada al 0.5% y en los otros de la misma fila se agregan 100 μL de esa solución.
- 3). En el primer pozo se añaden 20 μL de la muestra problema y se mezcla perfectamente. Se toman 100 μL de este pozo y se transfieren al segundo. Se debe continuar así hasta llegar al último pozo, del cual se descartan 100 μL .
- 4). En cada placa se deben incluir series similares con sueros testigos positivo y negativo.
- 5). A todos los pozos se les agregan 100 μL de antígeno blanco diluido previamente 1:10 en solución salina fenolada. La dilución de la muestra por pozo es la misma que para el método en tubo y va de 1:20 hasta 1:10240.
- 6). La placa se incuba a 37°C durante 24 horas y en el fondo del pozo se busca un conglomerado formado por una malla de aglutinación, que al inclinar ligeramente la placa permanece adherida al fondo.
- 7). El título corresponde a la dilución del último pozo de la serie donde hubo formación de malla bien definida y con base a la NOM-022-SSA2-1994, es positiva cuando el título es mayor o igual a 1:80. En este método al igual que el de aglutinación estándar en tubo, el exceso de anticuerpo puede originar fenómeno de zona por lo que se recomienda emplear siempre la serie completa(20).

7.2.4.- AGLUTINACIÓN EN PRESENCIA DE 2-MERCAPTOETANOL EN MICROPLACA

Esta técnica es una variante, como micrométodo, de la aglutinación en tubo en presencia de 2-ME y se emplea una microplaca de 96 pozos con fondo en U.

1). También en este método se recomienda hacer 10 diluciones del suero o LCR, En el primer pozo se colocan 180 μL de solución salina con 2-ME al 0.71% y 100 μL a cada uno de los siguientes 9 pozos.

2). En el primer pozo se vierten 20 μL de la muestra y se mezclan perfectamente. Se toman 100 μL del este pozo y se pasan al segundo.

Después de mezclar, se transfieren 100 μL al tercero y así sucesivamente hasta el último, del cual se desechan 100 μL .

3). En todos los pozos se agregan 100 μL del antígeno blanco diluido 1:10 en solución salina. Las diluciones finales de las muestras van de 1:20 hasta 1:10240

6). La placa se incuba a 37°C durante 24 horas. Al cabo de ese tiempo se leen los resultados de igual manera que en la aglutinación estándar en microplaca.

7). De acuerdo a la NOM-022-SSA-1994, cualquier título de aglutinación se considera positivo y se debe a la presencia de inmunoglobulinas de la clase IgG.(8)

8.-DIAGNOSTICO

Debido a que las bacterias del género *Brucella* son de lento crecimiento, el diagnóstico y la confirmación se basan en técnicas serológicas y en algunos casos el cultivo (11).

El diagnóstico de brucelosis se basa en la sospecha clínica de la enfermedad, que debe confirmarse por demostración de brucella en el organismo y/o en la de anticuerpos antibrucella en sangre. Las pruebas serológicas son un método rápido, accesible y de un costo aceptable. Su dificultad estriba en su variable interpretación, dependiendo de si nos encontramos en áreas endémicas o no áreas urbanas o rurales y de la elección de la titulación a partir de la cual consideremos como positiva (15).

8.1.- Técnicas serológicas, ventajas y desventajas.

Actualmente las normas oficiales mexicanas NOM-041-ZOO-1995 y NOM-056-ZOO-1995 permiten la utilización de algunas pruebas serológicas, estableciendo que se deberá utilizar para el rastreo la prueba de tarjeta o rosa de Bengala y al menos una prueba confirmatoria (rivanol, fijación de complemento, prueba de anillo de leche, así como el hemocultivo en algunos casos) para el diagnóstico.

Las principales ventajas que presentan las pruebas serológicas son su rapidez y su costo relativamente bajo, sin embargo, todas las pruebas están basadas en la detección de anticuerpos, y se considera como animal enfermo a todo aquel que sea positivo tanto en la prueba de tarjeta como en la prueba confirmatoria, sin

tomar en cuenta la prevalencia de animales con serología positiva y ausencia de bacterias, como en el caso de aquellas que fueron vacunadas en etapas tempranas del desarrollo con la cepa S-19 antes de 1995 y que no se cuenta con un registro de su vacunación, o bien animales que en etapas tempranas de la enfermedad no han desarrollado anticuerpos y por lo tanto la serología es negativa². Además, son conocidas las diversas reacciones cruzadas que pueden aparecer dando como consecuencia una serología positiva en animales sanos^{1(15,29)}.

- **Rosa de Bengala (RB)**: prueba muy útil y rápida de *screening*. Positiva en el 95-99% de los pacientes con brucelosis. Su negatividad prácticamente descarta la enfermedad.
- **Seroaglutinación (SAT)**: sensibilidad y especificidad altas. La actividad aglutinante está ligada a inmunoglobulina de tipo Ig M, Ig G e IgA. Puede observarse "fenómeno de prozona", con negatividad en los primeros tubos y positividad en los siguientes.
- **Test de Coombs (TC)**: se basa en la demostración de anticuerpos antibrucella no aglutinantes de la clase Ig G (11,15,29).

Supervivencia de la brucella en los FMN (polimorfonucleares neutrofilos)

La supervivencia de la brucella en FMN bovinos ha sido analizada mediante estudios *in vitro* por diversos autores. Las cepas lisas virulentas de *B. abortus* pueden crecer en cultivos de células mononucleares sanguíneas, macrófagos peritoneales, macrófago de glándula mamaria y líneas celulares mamíferas. Se han encontrado diferencias significativas en la supervivencia de la *Brucella* en los

SMN entre animales de una misma especie, que podrían ser atribuidos a factores genéticos. (2,28)

8.2.- Cultivo y subcultivo.

El aislamiento e identificación de *Brucella spp.* constituye el diagnóstico definitivo de la enfermedad. El aislamiento suele realizarse a partir de muestras de fetos abortados, placenta, secreción vaginal, sangre, médula ósea y en algunos casos líquido cefalorraquídeo^{1,2}(10). En el caso de las muestras de sangre y médula ósea, el medio difásico de Ruiz-Castañeda, es el de elección.

Una pequeña proporción de casos presenta el crecimiento entre los 5-15 días, y sólo de forma excepcional, éste se retrasa hasta pasados 30-45 días. En los procesos agudos, incluso cuando la extracción de los hemocultivos se practica en fase afebril, el porcentaje de aislamiento oscila entre el 90-95% de los casos^{1,2}. El subcultivo suele realizarse por duplicado en placas de agar sangre al 10%, en caldo soya tripticasa (TSA) con extracto de levaduras al 0.5%, agar *Brucella* con y sin colorantes, agar chocolate, agar urea de Christensen y en agar Mac Conkey. Una serie se incuba en atmósfera de CO₂ y la otra en atmósfera normal a 36° C.

Al cabo de cuatro días, debe de observarse crecimiento visible en alguna de las series si existen células de *Brucella* viables. 2(17)

8.3.- Métodos moleculares.

Son métodos alternativos utilizados cada vez con mayor frecuencia debido a que acortan el tiempo de diagnóstico, además de que son altamente sensibles y específicos^{8,9}. Uno de los más utilizados es la reacción en cadena de la polimerasa (PCR, del inglés: *polimerase chain reaction*), que es un proceso bioquímico realizado *in vitro*, por una enzima DNA polimerasa termoestable, que duplica exponencialmente una secuencia específica de DNA y que al final de 20 a 35 ciclos produce millones de copias de la secuencia seleccionada.

Con el fin de incrementar la especificidad de la reacción se han ideado métodos de PCR múltiple, en los cuales se amplifica más de una secuencia específica de *Brucella spp*(³).

8.4.- Epidemiología molecular.

La caracterización genética de las cepas de *Brucella spp.* se realiza mediante el conocimiento de la “huella genética” de cada uno de los aislados. Los métodos basados en PCR son actualmente los más utilizados debido a que son relativamente económicos y seguros(^{6,10}). La amplificación al azar de DNA polimórfico (RAPD) ha demostrado ser una metodología efectiva para la caracterización genética de cepas ya que no se requiere un gen específico, ni información sobre el genoma en estudio(^{8,10}).

9.-VACUNACION

En algunos países del primer mundo la infección fue controlada mediante la vacunación con la cepa 19, con la cual lograron erradicar la enfermedad naciones como Canadá, Suecia, Finlandia, EU, Noruega y Dinamarca. Sin embargo, en los países del tercer mundo el padecimiento sigue teniendo una alta prevalencia.

La vacunación tiene que ser considerada como una herramienta importante para evitar la transmisión de la brucelosis entre los animales (8,27). En la actualidad en México, tanto las vacunas RB51 como la cepa 19, son consideradas en la norma para su uso en bovinos. El aumento de los nuevos casos se puede atribuir a que los animales seropositivos no se eliminaban de la explotación. El criterio de eliminación de animales seropositivos a brucelosis fue por deficiencias de acuerdo a su etapa productiva y reproductiva. El uso de vacunas solamente, no es suficiente para el control de la enfermedad, sobretodo en explotaciones con alta prevalencia de brucelosis(9,10,16). La presencia de animales seropositivos representa un factor de riesgo importante, siempre se encontrará en riesgo, por lo que se deben implementar programas de control que consideren monitoreos serológicos continuos, con la finalidad de identificar oportunamente vacas que empiezan la enfermedad, para evitar que contagien otros animales sanos al momento del parto o el aborto, además de la eliminación paulatina de estos animales seropositivos del hato; controlando la brucelosis, se reflejará directamente en la producción láctea de la explotación.

10.- NORMAS QUE RIGUEN LA BRUCELOSIS:

Secretaría de Salud. Norma Oficial Mexicana NOM-022-SSA2-1994, para la Prevención y Control de la Brucelosis en el Hombre en el Primer Nivel de Atención. Diario Oficial de la Federación. 30 de noviembre de 1995, pp 2-11.

Secretaría de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural. Proyecto de Norma Oficial Mexicana de Emergencia NOM-EM-011-ZOO-1994. Campaña Nacional Contra la Brucelosis en los Animales. Diario Oficial de la Federación. 8 de noviembre de 1995. pp 33-66

NOM-041-ZOO-1995

NOM-056-ZOO-1995

11.- RESUMEN

La Brucelosis afecta enormemente a la economía ganadera debido a las pérdidas económicas que ocasiona al tener que sacrificar a los animales infectados, además constituye un serio problema de salud pública. Nos encontramos con una grave problemática pues esta enfermedad nos impide como país el exportar nuestro ganado a otros países afectando la bolsa de mucho productores y comerciantes, cabe mencionar que esta enfermedad es un problema serio en la salud pública por que es zoonótica esto perjudica la venta y el consumo en nuestro mismo país, el trayecto aun es largo debido a la falta de información en productores de traspatio así como falta de asesoramiento técnico y clínico a los mismos.

12.- RECOMENDACIONES

Las campañas a tenido importantes logros, sin embargo, se debe de continuar con medidas que logren disminuir el proceso de la enfermedad:

- Intensificar el seguimiento epidemiológico de hatos infectados, hasta lograr sanear los hatos, levantar las cuarentenas y encontrar el origen de la infección.

- Controlar la movilización del ganado y exigir la vacunación total de los hatos lecheros en regiones de alta prevalencia. Para lograr el éxito en el control de la movilización del ganado es necesario considerar el cumplimiento de los requisitos sanitarios desde el origen, validándose este cumplimiento en el transito y confirmándose en el destino de la movilización.

- Mantener un programa de vacunación intensivo de becerras. No dejar becerras sin vacunar. Se esta elaborando un programa de vacunación que considere los puntos anteriores, y que surge de manera emergente, aumentando la inmunidad de los hatos con el antígeno adecuado en tiempo y forma, dependiendo de la situación en particular de cada hato y la prevalencia existente.

- Establecer un plan de bioseguridad que incluya hatos vecinos y asegure la permanencia del estatus de baja prevalencia y libres en los hatos.

- Implementar pruebas diagnosticas que diferencien animales infectados con cepas de campo de animales con una respuesta posvacunal particularmente con cepa 19, a fin de poder identificar los animales positivos inmediatamente.

- El monitoreo serológico en rastros y pruebas de anillo en leche en centros de acopio de leche a fin de identificar y analizar hatos infectados que no han sido probados en el barrido.

- Hacer pruebas bacteriológicas e histopatológicas para identificar y aislar la bacteria serán fundamentales para el diagnostico definitivo de la enfermedad y determinar la relación entre brucelosis y vacas abortadas.

- Se pretende crear una unidad de explotación de animales seropositivos. Concentrar en un solo establo a todos aquellos animales que resulten positivos a las pruebas diagnosticas oficiales y mandarlas a sacrificio una vez que terminen su producción. Será controlada y supervisada por un médico veterinario, con la organización y administración de los mismos ganaderos. Con el objetivo de reducir el riesgo de transmisión en los hatos y controlar el fin que tenga la producción de leche y sus derivados.

- También se esta planteando la idea de crear centros de recría, donde se garantice que las becerras de reemplazo están sanas, libres de enfermedades, entre ellas brucelosis y con un calendario de vacunación contra las principales enfermedades de la zona, dar un manejo adecuado de la alimentación e

integrarlas al hato en producción, ya gestantes, resultado de una inseminación con semen de buena calidad.

□ Hacer difusión y lograr que los productores tomen conciencia de que las medidas de bioseguridad que tomen en su hato harán que se logre controlar, disminuir, eliminar la infección y evitar que regrese a su ganado. Se plantea una estrategia de manejo de hatos infectados, donde se establezcan muestreos serológicos continuos, eliminación o segregación de animales seropositivos y vacunación, donde la continuidad de este proceso lleve al control y erradicación de la infección en el hato. Para esto se requiere la creación de fondos de contingencia que apoyen al ganadero en la despoblación de animales infectados y en la repoblación de animales sanos.

□ Capacitar a los médicos veterinarios a fin de que logren la interpretación de las pruebas serológicas y aplique las medidas epidemiológicas adecuadas a cada caso en particular. Que identifique por diagnósticos diferenciales las causas de aborto en los hatos, con estas acciones se lograra un proceso en la campaña zoonosanitaria que integre todo un complejo de aspectos epidemiológicos que lleven a sanear las diferentes regiones del Estado para lograr control y posterior erradicación en la región.

13.- REFERENCIAS

1).- Andrews E, Rivers R. et-al, 2006, **Brucella abortus: inmunidad, vacunas y estrategias de prevención basadas en ácidos nucleicos**, *Arch. med. vet.*, vol.38, no.1, p.7-18. ISSN 0301-732X.

2).- Aresteagui Gualtieri, 2001 “**El genero brucella y su interacción con el sistema mononuclear fagocítico**” vet. mex., 32 (2).

3).- Baldwin Cynthia L.2002, “**Immune response overview**”,Elsevier, **Veterinary Microbiology 1–2, Department of Veterinary and Animal Sciences and Program for Molecular and Cellular Biology**, 6 Paige Laboratory, University of Massachusetts, Amherst, USA,[disponible en archivo electronico, ext. pdf].

4).- Boschioli ML, Ouahrani-Bettache S, Foulongne V, Michaux-Charachon S, Bourg G, Allardet-Servent A, Cazevieille C, Lavigne JP, Liautard JP, Ramuz M, and O’Callaghan D. **Type IV secretion and *Brucella* virulence**. 2002b. Vet. Microbiol 90: 341-348.

5).- Candelo de Arriojas Nelly, 2004, “**Todo lo que se debe saber sobre brucelosis en bovinos**”, Revista Digital del Centro Nacional de Investigaciones Agropecuarias de Venezuela no. 4 enero- abril 2004.

6).- Díaz-Aparicio E, Arellano-Reynoso B. **Mecanismos de patogenicidad de *Brucella***. Memorias del curso

7).- “**Evolución de los mecanismos de virulencia de los microorganismos patógenos**”. Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán UNAM. 12-15 de agosto de 2003.

8).- Dohoo, I.; Martin, W. y Stryhn, H. (2003): **Veterinary Epidemiologic Research**, AVC Inc., University of Prince Edward Island, Prince Edward Island, Canada.

9).- Donnelley Moore, **Manual de Vacunas de Latinoamérica**. Edición 2005.Asociación Panamericana de Infectología. . pp620. pp:1-32.

10).- El Santafesino, 2005, “**Brucelosis, síntomas y características**”

- 11).- Enfermedades infecciosas.2004, **Bacteria “Brucella”. Patogenia. Síntomas. Fiebre de malta. Diagnóstico. Estudio bacteriano,”brucella”.**
- 12).- García Oviedo Laura,2007, **“Brucelosis en la mira”** ., Agencia CyTA-Instituto Leloir.
- 13).- Godfroid Jacques, Cloeckert Axel, et-al, 2005, **“From the discovery of the Malta fever’s agent to the discovery of a marine mammal reservoir, brucellosis has continuously been a re-emerging zoonosis”**, Vet.
- 14).- Hernández M. I., Luna M. E., Vicencio Mallen M., 2000 Manual de Procedimientos para el Diagnóstico de laboratorio. Cap. II **Brucelosis**. p.p. 35-62.
- 15).- J. Lottersberger, R. Pauli y N.B. Vanasco.2004. **Diagnóstico de brucelosis bovina**, Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas, UNL, Santa Fe.
- 16).- Lopez Merino Ahide, 2004, **Vacunas en la prevencion de brucelosis humana, Comité de brucelosis**.
- 17).- López M. Ahidé y Contreras R. Araceli. 2002, **“Brucella”** Escuela Nacional de Ciencias Básicas, Instituto Politécnico Nacional.
- 18).- Olsen, S. C., Stoffregen, W. S. (2005). **Essential role of vaccines in brucellosis control and eradication programs for livestock**. Expert Rev vaccines. 6: 915- 928.
- 19).- Ortiz Fernandez M. ,lopera Lopera E. et-al,2002 **“Brucelosis: comparación de los test serológicos de diagnostico”** , Servicio de Urgencias. Hospital "Valle de los Pedroches". Pozo blanco (Córdoba).
- 20).- Revista de pediatría 2003, **“Brucelosis, etiología, epidemiología”**.
- 21).-Romero, Navarro, et-al, 1999, **“Brucelosis como zoonosis bacteriana”** base de datos LILACS.

22).- Samartino Luis, 2004, “Conceptos **generales sobre brucelosis bovina**”, jornada de actualización sobre brucelosis bovina, INTA, Castelar, Argentina.

23).- Samartino Luis. (2005)**Brucellosis Vaccines**, Memorias de Brucellosis 2005, Internacional Research Conference, Mérida, Yuc., México, Octubre 15 a 19 del 2005, pp.: 31-41.

24).- Segura Luque Juan Carlos, 2005, “**brucelosis**”, Hospital de Hellín, Albacete. Servicio de Salud de Castilla La Mancha (SESCAM)- España.

25).- Saravi, M.A.; Wright, P.F.; Gregoret, R.J.; Gall, D.E. (1995). **Comparative performance of enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) and conventional assays in the diagnosis of bovine Brucellosis in Argentina**. Vet. Immunol. Immunopathol. 47:93-9.

26).- Tarjeta de enfermedades “**Brucelosis de los bovinos**”. Departamento de agricultura, dirección de producción y sanidad animal, FAO.

27).- Uberos Fernández José, 2005, **Brucelosis**, Sociedad Española de Pediatría Extrahospitalaria y Atención Primaria.

28).- Ugalde, Juan Esteban, Comerci, Diego Jose, 2003, “**Evaluation of *Brucella abortus* Phosphoglucomutase (*pgm*) Mutant as a New Live Rough-Phenotype Vaccine**”, Nov. 2003, p. 6264–6269 Vol. 71.

29).- Vicencio Mallen M. (2004). **MANUAL de las Pruebas de Diagnóstico y de las Vacunas para los Animales Terrestres**. Quinta Edición. Tomo 1 (OIE). p 634.Cap. 1.1.7. Principios de Producción de Vacunas Veterinarias pp:62-74.Cap. 2.3.1. Brucelosis Bovina pp: 445-476.

14.- GLOSARIO

Animal expuesto: Aquél que ha tenido contacto con animales enfermos o reactivos a brucelosis.

Animal negativo: Aquél que ha sido sujeto a una o varias pruebas diagnósticas oficiales de brucelosis y cuyos resultados han sido negativos.

Bacteria: Las bacterias son microorganismos unicelulares que presentan un tamaño de algunos micrómetros de largo (entre 0,5 y 5 μm) y diversas formas incluyendo esferas, barras y espirales. Generalmente poseen una pared celular similar a la de plantas u hongos, pero compuesta por peptidoglicanos. Muchos antibióticos son efectivos sólo contra las bacterias ya que inhiben la formación de esta pared celular. Muchas bacterias disponen de cilios o flagelos y son móviles.

Brucelosis: También conocida como enfermedad de Bang, fiebre ondulante y aborto contagioso; causada por bacterias del género *Brucella*; provoca el aborto, disminución de la producción láctea e infertilidad de las especies susceptibles. Es una enfermedad infecto-contagiosa que afecta a los animales y al hombre, por lo que se considera una zoonosis.

Campaña: La Campaña Nacional contra la Brucelosis de los Animales.

Control: Conjunto de medidas zoonitarias que tienen por objeto disminuir la incidencia o prevalencia de la brucelosis en un área geográfica determinada.

Cuarentena: Medida zoonitaria basada en la observación y restricción de la movilización de animales por la presencia de brucelosis.

Desinfección: Utilización de medios físicos o químicos para la destrucción de microorganismos o gérmenes.

Especies lisas: Se refiere a las especies de *Brucella* spp que forman colonias lisas y que son *B. abortus*, *B. melitensis* y *B. suis*.

Especies rugosas: Se refiere a las especies de *Brucella* spp que forman colonias rugosas y que son *B. ovis* y *B. canis*.

Hato: Conjunto de animales, aun de diferente especie, que se encuentra ubicado en una unidad de producción, compartiendo instalaciones, agostaderos y/o aguajes.

Hato afectado: Corresponde al hato en el cual se han identificado animales reactivos a brucelosis en una o más pruebas.

Hato en control: Es el que cuenta con la constancia correspondiente, emitida por la Delegación de la SAGARPA en cada entidad del país, en cualquiera de las siguientes opciones: Hato en control-erradicación, hato en control-intensivo o hato en control-vacunación.

Hato libre: Es el que cuenta con la constancia correspondiente emitida por la Dirección.

Incidencia: Número de nuevos casos de brucelosis que aparecen en una población animal determinada, durante un periodo específico y en un área geográfica definida.

Infección sistémica: Infección en la que el patógeno está distribuido por todo el organismo, en vez de concentrarse en una zona.

Inmunidad: Es un término médico que describe el estado de tener suficientes defensas biológicas para evitar la infección, enfermedad, o otra invasión biológica no deseada.

Inmunidad activa: Dura más tiempo, y es a veces de por vida.

Inmunidad natural: Ocurre a través del contacto con un agente causante de la enfermedad, cuando el contacto no fue intencionado.

Inmunidad pasiva: Es a corto plazo, y normalmente dura sólo unos pocos meses.

Monitoreo: Procedimiento de vigilancia epidemiológica de la brucelosis, que se basa en actividades de muestreo en unidades de producción de leche, carne, doble propósito, en rastros u otra que determine la Dirección.

Movilización: Traslado de animales, productos o subproductos de un lugar a otro.

Muestra: Sangre, suero, tejidos, órganos, leche y lácteos u otros que se relacionen con la brucelosis y que sean definidos por la SAGARPA, con el propósito de ser analizados mediante pruebas de diagnóstico para identificar la presencia de la enfermedad.

Prevalencia: Número de casos de brucelosis en un periodo preciso, referida a una población animal determinada.

Virulencia: Designa el carácter patogénico, nocivo y violento de un microorganismo, como una bacteria, hongo o virus, o en otras palabras, la capacidad de un microbio de causar enfermedad

Zona en control: Área geográfica determinada en la que se operan medidas Zoonos sanitarias tendientes a disminuir la incidencia y prevalencia de brucelosis, en un periodo y especie animal específicas.

Zona en erradicación: Área geográfica determinada en la que se operan medidas zoonos sanitarias tendientes a la eliminación total de la brucelosis.

Zona libre: Área geográfica determinada en la cual se ha eliminado o no se han presentado casos positivos de brucelosis en los últimos 36 meses.