

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA  
"ANTONIO NARRO"**

**UNIDAD LAGUNA**

**DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL**



**“DIFERENCIACIÓN DE VACAS BRUCELOSAS POR VACUNACIÓN O  
CEPAS DE CAMPO, MEDIANTE PRUEBAS SEROLÓGICAS Y ESTUDIO  
BACTERIOLÓGICO”**

**POR**

**ÁNGEL ALFREDO NAVA JOACHIN**

**T E S I S**

**PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL**

**PARA OBTENER EL TÍTULO DE:**

**MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA**

**TORREÓN, COAHUILA, MÉXICO**

**JUNIO DE 2010**

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA  
"ANTONIO NARRO"**

**UNIDAD LAGUNA**

**DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL**



**DIFERENCIACIÓN DE VACAS BRUCELOSAS POR VACUNACIÓN O  
CEPAS DE CAMPO, MEDIANTE PRUEBAS SEROLÓGICAS Y ESTUDIO  
BACTERIOLÓGICO**

**T E S I S**

**PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL**

**PARA OBTENER EL TÍTULO DE:**

**MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA**

**POR**

**ÁNGEL ALFREDO NAVA JOACHIN**

**ASESOR PRINCIPAL**

**M.C.V. RAMÓN ALFREDO DELGADO GONZALEZ**

**TORREÓN, COAHUILA, MÉXICO**

**JUNIO DE 2010**

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA  
"ANTONIO NARRO"**

**UNIDAD LAGUNA**

**DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL**



**T E S I S**

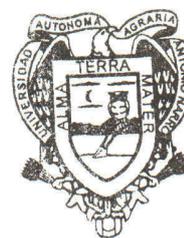
**DIFERENCIACIÓN DE VACAS BRUCELOSAS POR VACUNACIÓN O  
CEPAS DE CAMPO, MEDIANTE PRUEBAS SEROLÓGICAS Y ESTUDIO  
BACTERIOLÓGICO**

**TESIS APROBADA POR EL PRESIDENTE DEL JURADO**

**M.C.V. RAMÓN ALFREDO DELGADO GONZÁLEZ**

**COORDINADOR DE LA DIVISIÓN REGIONAL  
DE CIENCIA ANIMAL**

**M.V.Z. RODRIGO ISIDRO SIMÓN ALONSO**



Coordinación de la División  
Regional de Ciencia Animal

**TORREÓN, COAHUILA, MÉXICO**

**JUNIO DE 2010**

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA  
"ANTONIO NARRO"**

**UNIDAD LAGUNA**

**DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL**



**T E S I S**

**DIFERENCIACIÓN DE VACAS BRUCELOSAS POR VACUNACIÓN O  
CEPAS DE CAMPO, MEDIANTE PRUEBAS SEROLÓGICAS Y ESTUDIO  
BACTERIOLÓGICO**

**TESIS APROBADA POR EL H. JURADO EXAMINADOR**

**M.C.V. RAMÓN ALFREDO DELGADO GONZÁLEZ  
PRESIDENTE**

**M.V.Z. JOSÉ GUADALUPE RODRÍGUEZ MARTÍNEZ  
VOCAL**

**M.V.Z. M.C. FRANCISCO JAVIER PASTOR LÓPEZ  
VOCAL**

**M.V.Z. C.M. MA. GUADALUPE DE LA FUENTE SALCIDO  
VOCAL SUPLENTE**

**TORREÓN COAHUILA, MÉXICO**

**JUNIO DE 2010**

## **AGRADECIMIENTOS**

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

A mis padres FORTUNATO NAVA ESCOBAR Y ODILIA JOACHIN PASTRANA que me han apoyado en todo el trayecto de mi vida sin pedirme nada a cambio.

A mis hermanos, por su apoyo y confianza.

A mi familia ya que por ellos estoy aquí formándome como profesionista. Gracias familia.

A mis asesores: M.C.V. RAMÓN ALFREDO DELGADO GONZÁLEZ, JOSÉ GUADALUPE RODRÍGUEZ MARTÍNEZ, M.V.Z. M.C. FRANCISCO JAVIER PASTOR LÓPEZ, M.V.Z. C.M. MA. GUADALUPE DE LA FUENTE SALCIDO Por brindarme su apoyo y confianza en este proyecto.

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

A todos mis maestros por haberme transmitido parte de sus conocimientos que son una base firme para mi formación profesional.

A mi compañeros de grupo por haber convivido e interactuado conmigo. Gracias.

AL M.V.Z. ALFONSO LONGINOS MUÑOZ BENÍTEZ Y FAMILIA por su amistad, enseñanzas y por todas las cosas que hemos vivido, disfrutado.

## ÍNDICE DE CONTENIDO

I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. ANTECEDENTES.....	2
2.1 Historia.....	2
2.2 Etiología.....	2
2.3 Epidemiología.....	3
2.4 Transmisión.....	6
2.5 Factores de riesgos.....	7
2.6 Patogenia.....	8
2.7 Inmunología.....	8
2.8 Signos y lesiones.....	9
2.9 Tratamiento.....	10
2.10 Prevención y control.....	10
2.11 Vacunas.....	11
2.12 Métodos de diagnósticos.....	13
2.12.1 Diagnostico indirecto.....	13
2.12.2 Procedimiento de la prueba de anillo en leche.....	14
2.12.3 Procedimiento de la prueba de fijación del complemento.....	14
2.12.4 Procedimiento de la prueba de tarjeta.....	15
2.12.5 Procedimiento de la prueba de rivanol.....	16
2.12.6 Procedimiento de la prueba de inmunodifusión radial.....	17

2.12.7 Diagnostico directo del agente.....	17
III. JUSTIFICACIÓN.....	18
IV.HIPÓTESIS.....	18
V. OBJETIVOS.....	19
VI. MATERIALES Y MÉTODOS.....	19
6.1 Lugar de estudio.....	19
6.1.1 Fase de campo.....	20
6.1.2 Material de laboratorio para toma de muestras.....	21
6.1.3 Fase de laboratorio.....	21
6.1.4 Preparación y servido de medios de cultivo.....	21
6.1.5 Procedimiento de la técnica.....	22
VII. ANÁLISIS DE RESULTADOS.....	22
7.1 Resultados del diagnóstico serológico.....	23
7.2 Resultados de crecimiento bacteriológico en exudado vaginal y leche.....	25
VIII. DISCUSIÓN Y CONCLUSIÓN.....	27
IX. LITERATURA CITADA.....	29
X. GLOSARIO.....	41
XI. RECOMENDACIONES.....	43

## ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

- Figura 1** Prevalencia de la brucelosis bovina en un hato lechero de Coahuila.....23
- Figura 2.** Porcentaje de sueros positivos y negativos obtenidos a partir de la prueba de tarjeta al 8% con Ag de *B. abortus*.....24
- Figura 3.** Porcentaje de sueros positivos y negativos obtenidos a partir de la prueba de rivanol al 4 % con Ag de *B. abortus*.....24
- Figura 4.** Porcentaje de sueros positivos y negativos obtenidos a partir de la prueba de inmunodifusión radial con hapteno nativo.....25
- Figura 5.** Porcentaje de muestras positivas y negativas, al aislamiento de *Brucella spp.*.....26

## RESUMEN

La Brucelosis es una enfermedad que se mantiene como una de las zoonosis de mayor distribución en el mundo. El impacto económico en el sector pecuario es alto a causa de la reducción en la fertilidad del hato, el gran número de abortos y la disminución de la producción de leche.

Por tal motivo, la finalidad del presente estudio fue determinar mediante pruebas diagnósticas, si los anticuerpos que se presentan en bovinos vacunados con cepa 19 de *Brucella abortus* son debido a infección o a vacunación e intentar el aislamiento. El muestreo se realizó en un establo del municipio de Matamoros en el estado de Coahuila. Se muestrearon 56 vacas Holstein Fresian, que habían sido vacunadas de tres a seis meses de edad con cepa 19 de *B. abortus* a dosis clásica (1 x 10<sup>10</sup> unidades formadoras de colonia -ufc- por ml). Se obtuvieron 56 muestras de leche, 56 de suero y 56 de exudado vaginal. Se realizaron las pruebas tarjeta (PT), rivanol e inmunodifusión radial (IDR) con hapteno nativo.

La leche se centrifugó para ser inoculada en placas de medio Farrell, los hisopos de exudado vaginal, se inocularon en este mismo, medio Farrell, se incubaron en la estufa bacteriológica con 5-10% de CO<sub>2</sub>, a 37°C, se revisaron los medios cada 24 horas después de 10 días. Las colonias sospechosas se sembraron en medios de agar *Brucella*, para la identificación de la morfología colonial. Los resultados encontrados fueron del 4% de crecimiento, se aisló *Brucella* a partir de dos muestras de exudado vaginal. En las muestras de leche no se logró realizar aislamiento. Los sueros positivos PT 40 (71%), rivanol 41 (73%) e IDR 44 (79%). Debido a su elevada especificidad para los vacunados, se tomó como prueba de oro la IDR, el 79% de vacas fueron consideradas como positivas ha cepa de campo.

**Palabras clave:** *Brucella abortus*, vacunación, aislamiento, IDR.

## I. INTRODUCCIÓN

La Brucelosis es una enfermedad infectocontagiosa de origen bacteriano, que afecta una gran variedad de mamíferos domésticos y silvestres; se considera una de las zoonosis más importantes debido a su amplia distribución geográfica, produce grandes pérdidas económicas a la industria pecuaria (Marisela *et al.*, 2007), es un problema para la ganadería nacional e internacional (Mancilla *et al.*, 2008), se caracteriza por los efectos negativos que ocasiona en los procesos productivos y reproductivos de los animales domésticos, principalmente en ganado lechero, tales como la disminución de los índices de fertilidad (Diego *et al.*, 2008; Serrano *et al.*, 2007; Beatriz *et al.*, 2004), disminución en la producción láctea, ya que esta disminuye hasta un 30% (Enrique *et al.*, 2008), en el hombre se puede transmitir a través de la ingestión de leche y/o sus derivados, procedentes de animales infectados, cuando la leche no ha sido pasteurizada en forma adecuada. También puede transmitirse por contacto directo con animales infectados en las prácticas rutinarias del campo (Herrera *et al.*, 2007). Es una enfermedad, de declaración obligatoria y con mayor difusión en el mundo según la OMS (Organización Mundial de la Salud). Las estadísticas presentadas por la OMS, reflejan que cada año hay 500,000 casos nuevos de Brucelosis en el mundo. En 1994, en México, se aprobó la primera Norma Oficial Mexicana de Emergencia (NOM-011-EM-Z00-1994) para combatir la Brucelosis en los animales, en el mismo año se implementó para la prevención y control de la Brucelosis en el hombre la Norma NOM-022-SSA2-1994, y en 1995 se empezó a emplear la Norma NOM-041-ZOO-1995, que a la fecha se mantiene vigente. La Comarca Lagunera es una zona endémica de Brucelosis, enfermedad que tiende a la cronicidad por el desconocimiento en su diagnóstico, tratamiento e implicaciones en salud pública (Ortega *et al.*, 2009).

## **II. ANTECEDENTES**

### **2.1 Historia**

Históricamente, la Brucelosis fue reconocida como una enfermedad contagiosa por muchos años, antes de que fuera aislada la bacteria causal. Fue reportada por primera vez en 1859 por Marston en la isla de Malta, siendo aislada por primera vez a partir del bazo de soldados muertos en la isla de Malta (Ortega *et al.*, 2009). En 1887 en Dinamarca, *B. abortus* fue aislada de las membranas fetales y del contenido estomacal fetal. Más tarde, en 1905, fue aislada de leche de cabra y queso en Malta, y se denominó *B. mellitensis*. En el cerdo, primeramente llamada aborto contagioso del cerdo, fue reconocida como una enfermedad específica cuando *B. suis* se aisló en 1914 en Estados Unidos (John, 1987).

En 1930, una cepa de *B. abortus* de baja virulencia pero buenas propiedades inmunizantes, se aisló y se empleó para la inmunización de becerros contra la enfermedad (John, 1987).

### **2.2 Etiología**

Las bacterias del género *Brucella* son bacilos gram negativos, no esporulantes, sin capsula, ni flagelos, son microorganismos aerobios, cocobacilos, facultativos intracelulares, capaces de sobrevivir y multiplicarse dentro de las células del sistema fagocítico mononuclear y tejidos asociados y evaden los mecanismos solubles extracelulares de la respuesta inmune (Omar *et al.*, 2002; Díaz *et al.*, 2002), son patógenos intracelulares facultativos, se han agrupado en especies lisas (*B. abortus*, *B. mellitensis*, *B. suis* y *B. neotomae*) y especies rugosas (*B. ovis*, *B. maris* y *B. canis*) (Muñoz *et al.*, 2007), que infectan en forma persistente a

humanos y animales domésticos así como salvajes. Este género de bacterias se replica en los fagocitos mononucleares del hospedero (Omar *et al.*, 2002). Las colonias son de dos tipos: lisas(S) y rugosas (R) y relativamente pequeñas (0.7-1.2  $\mu\text{m}$  de largo por 0.5-0.7  $\mu\text{m}$  de ancho), húmedas y brillantes. La *Brucella* crece en aerobiosis y en atmósferas de bajas concentraciones de oxígeno, la temperatura óptima de crecimiento es de 37°C y un pH de 6.6 a 7.4, puede permanecer viable en orina, leche, agua y en tierra húmeda hasta 4 meses, resisten la congelación y la descongelación pero son destruidas por temperaturas de Pasteurización y por desinfectantes como fenol, formol y cloro. Este género comprende 7 sub-especies conocidas como: *B. abortus*, *B. melitensis*, *B. suis*, *B. ovis*, *B. canis*, *B. neotomas* y *B. maris*.

Reino: Bacteria

División: Proteobacteria

Clase: Proteobacteria alfa

Orden: Rhizobiales

Familia: Brucellaceae

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

### **2.3 Epidemiología**

Actualmente se considera a la Brucelosis como una enfermedad de distribución mundial, zoonótica y endémica, causa infecciones en los animales domésticos y silvestres, principalmente en el ganado bovino productor de leche criado en forma estabulada, debido al continuo contacto a que están sometidos los animales (Sergio, 2003; OIE, 2003; Rodríguez *et al.*, 2005; Alicia *et al.*, 2009). La incidencia y prevalencia de la

Brucelosis tienen importantes variaciones geográficas. Las zonas de mayor prevalencia corresponden a la región del Mediterráneo, *B. melitensis* es la especie más difundida seguida de *B. abortus* y *B. suis* (Hugo *et al.*, 2005), en algunos países los programas de control y erradicación hicieron posible su eliminación total, como en Inglaterra, Suecia, Dinamarca y Finlandia, Japón, Nueva Zelanda, Australia, Alemania y Estados Unidos (Roger *et al.*, 2005). En Argentina se han estimado pérdidas entre 42 y 66 millones de dólares anuales, basadas en terneros muertos, abortos y disminución de la producción de leche (Lavaroni *et al.*, 2004). En países de África tropical, se reportó una prevalencia serológica promedio de 22.5%. Sin embargo en Níger, Ruanda y Togo la prevalencia se consideraba muy alta (30 al 40%), pero en Benín y Camerún la prevalencia se consideraba relativamente baja (del 10 al 12%), en función de los diferentes sistemas de manejo presentes en cada región (Sergio 2003). En la India se considera endémica, con una prevalencia del 5%. Asimismo, se ha notificado en 25 de las 32 provincias que integran China, existe un 6.7% la prevalencia (ENCOLOMBIA, 2003; Rodríguez *et al.*, 2005). En Australia y Nueva Zelanda, los dos países más importantes de esta región en cuanto a producción de ganado se notificaron como libres en 1989, estatus que aún conservan (Díaz *et al.*, 2002). En Centroamérica, las prevalencias individuales y de hatos estimadas (considerando principalmente hatos lecheros) varían desde 4 hasta 25% (Moreno, 2002). En México, la Brucelosis bovina es uno de los principales problemas zoonosarios, el cual no ha sido posible cuantificar plenamente ya que no existen datos confiables de su prevalencia en el ganado bovino (Moreno *et al.*, 2002). Eurídice *et al.*, (1995), realizaron un estudio de la Brucelosis en 63 ranchos del trópico subhúmedo del estado de Guerrero, México, e informaron una prevalencia por hato de 52.33%, que tal vez se deba a que el estudio sólo consideró bovinos productores de leche. En 2002 en Tijuana, Baja California, se determinó la seroprevalencia de Brucelosis bovina de hatos lecheros, de una población

de 19,000 bovinos, mayores de seis meses de edad, usando la prueba de fluorescencia polarizada la seroprevalencia fue de 6.4%, considerada como moderada (Moreno *et al.*, 2002). En Tizayuca Hidalgo, se realizó un monitoreo de *B. abortus* en hatos lecheros por 7 años, al inicio la prevalencia era 15.3%. Se vacunaron con RB51 la totalidad de los animales negativos y monitoreo cada 30 días, hasta el día 270 sin eliminación de animales seropositivos la prevalencia e incidencia, eran 52% y 24.6% respectivamente, después de los días 390 a 960, se eliminaron animales positivos lo que permitió bajar la incidencia al 2% manteniéndose hasta los días 1,860 a 2,580, lo que demostró que la mejor manera de tratar esa infección, es con la eliminación de animales infectados (Herrera *et al.*, 2007). En el estado de México se realizó un trabajo para determinar la seropositividad de *B. abortus*, en sueros de bovinos de carne de acuerdo a la metodología de la NOM-041-ZOO-1994. Durante 2006, se obtuvieron 23,956 muestras, obtenidos de zonas geográficas del Estado y remitidas al CIESA para su diagnóstico, mediante las pruebas de tarjeta y rivanol. Los resultados fueron con la prueba de tarjeta de 4.42% y de 1.41% para la rivanol (Hidalgo *et al.*, 2007). Fuentes *et al.*, 2007, en Aguascalientes diferenciaron el ADN de cepas vacúnales y de campo de *B. abortus*, de vacas abortadas. De animales vacunados ocho meses antes con RB51 dosis reducida se recolectaron muestras de leche, suero y exudado vaginal de 30 vacas abortadas (166 a 260 días de gestación) se realizaron las pruebas de tarjeta, rivanol e inmunodifusión rápida para el diagnóstico. A las cepas aisladas se les realizó PCR con indicadores para las cepas RB51, cepa 19 y de campo lográndose aislar cepas lisas de *B. abortus* biotipo 1 de exudado vaginal, en 13 (43.33%) se encontró ADN correspondiente a la cepa RB51; en estas 13 vacas estaban incluidas las cuatro que resultaron positivas al estudio bacteriológico y de las que se aislaron cepas de campo de *B. abortus*. Las restantes nueve vacas resultaron positivas a RB51. En Puebla, se realizó un trabajo para

determinar la concordancia entre las pruebas de diagnóstico de Tarjeta y Rivanol en suero y una ELISA comercial en leche, para la detección de anticuerpos contra *B. abortus* en leche. Se tomaron 154 muestras vacas provenientes de 3 hatos lecheros vacunados con cepa reducida 19 y RB51. Los resultados de tarjeta y rivanol detectaron 0% de positivos, ELISA detecto el 7.26%. Al comparar la ELISA indirecta para leche con las pruebas serológicas oficiales se determino una sensibilidad del 91.4%, especificidad 93%. Por lo que se concluyo que la prueba de ELISA para la detección de anticuerpos en leche es una excelente alternativa para el diagnóstico de *B. abortus* (Bautista *et al.*, 2007). En México está ampliamente distribuida, siendo el suroeste la zona de mayor incidencia seguida del centro y en menor proporción la zona norte del país. Se estima una prevalencia nacional de 8.4% para bovinos productores de leche y de 4.3% para bovinos productores de carne (Sergio, 2003; Moreno *et al.*, 2002).

## **2.4 Transmisión**

**Oral:** Desde el punto de vista clínico el 95% de los animales adquieren la infección por esta vía, por el instinto de los animales de lamer los fetos abortados, los terneros recién nacidos y los órganos genitales de otras hembras recién paridas estas, secretan alrededor de 10 bacterias/gramo, aún en los casos asintomáticos (Eva *et al.*, 2007; Rodríguez *et al.*, 2005; Gerardo *et al.*, 2004).

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

elimina en leche es variable, pudiendo oscilar desde menos de 100 hasta 200.000 (sin precisar volumen) (Rodríguez *et al.*, 2005; Muñoz *et al.*, 2007).

**La vía genital:** También es importante 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 pero sin embargo no contagia a la vaca. La razón es que la acidez de la vagina contribuye a destruir a las *Brucella* (Doris, 2006).

## **2.5 Factores de riesgos**

La adquisición de animales de reemplazo infectados es la principal causa de introducción de Brucelosis a hatos libres, también la proximidad con otros hatos infectados es un factor predisponente para el ingreso o la aparición de Brucelosis en un hato, asimismo el tamaño del hato, la densidad de población y manejo sanitario del hato (Roger *et al.*, 2005), la infección se puede producir en todos los animales, considerando la edad, el sexo, tiempo de gestación y la resistencia natural a la enfermedad, que influye en la evolución de la infección. La susceptibilidad parece estar más relacionada con la madurez sexual que con la edad (Silva *et al.*, 2002). Más sin embargo, tenemos que las terneras nacidas de hembras infectadas, usualmente son seronegativas a *Brucella* por un largo período y posteriormente convertirse en positivas (Díaz *et al.*, 2002). Otro aspecto importante de esta zoonosis es que afecta principalmente al personal que labora en lugares donde se tiene contacto directo con las fuentes de infección, como médicos veterinarios, trabajadores de establos, rastros, laboratorios de diagnósticos etc., (Venegas *et al.*, 2007).

## 2.6 Patogenia

La *B. abortus*, es un patógeno intracelular facultativo capaz de sobrevivir dentro de fagocitos, particularmente dentro del macrófago. Entra por cualquier vía, se libera a través de células fagocitarias, donde se puede multiplicar, llega a los nódulos linfáticos regionales, comienza a destruir tejidos linfáticos y se disemina vía sanguínea al tracto genital, testículos, útero, nódulos linfáticos abdominales, placenta y órganos del sistema retículoendotelial (bazo, hígado, médula ósea, vasos linfáticos), en bovinos, esta bacteria induce una infección crónica que frecuentemente resulta en aborto, falla en el mecanismo de expulsión de la placenta, infertilidad, disminución en la producción (Rocha *et al.*, 2008; Rivers *et al.*, 2006). En animales gestantes, la *B. abortus* tiene predilección por el útero, se transporta por la sangre; primero infecta el endometrio y después se disemina a la placenta y el feto, los líquidos fetales bovinos estimulan el crecimiento intracelular de *B. abortus* en los leucocitos, fagocitos de los bovinos. El eritritol, un alcohol con cuatro carbonos, constituyente de los líquidos fetales bovinos normales es el promotor del crecimiento preferencial de especies de *Brucella* dentro de estas células puesto que provee una fuente única de carbono para el metabolismo bacteriano, una consecuencia común de la *Brucella* es metritis e infertilidad (Carmen *et al.*, 2005).

## 2.7 Inmunología

El ingreso de la *Brucella* al organismo suele desencadenar un proceso inflamatorio agudo a los pocos días posinfección, desarrolla estrategias para su supervivencia, como permanecer en el fagosoma intacto y bloquear la fusión posterior con el lisosoma, por la presencia de la cadena O y los lípidos de ornitina que interactúan directamente con la membrana del fagosoma y de esta forma se protege de la acción de los

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

## **2.8 Signos y lesiones**

El período de incubación es difícil de establecer ya que varía de acuerdo a diversos factores (concentración y virulencia de la bacteria, estado físico, nutricional e inmunológico del huésped). Los promedios de incubación varían de 15 días a varios meses. Las manifestaciones clínicas más evidentes es el aborto durante los últimos dos meses de gestación, los

fetos permanecen en el útero 24 a 72 horas después de muertos o nacen crías vivas pero muy débiles y en poco tiempo después mueren, por lo general se produce la autólisis de los tejidos suaves, acompañado en algunas ocasiones por retención de placenta y metritis, piómetra (Roger *et al.*, 2005; López *et al.*, 2006), en análisis histopatológicos en fetos, se observan lesiones de hepatitis necrótica multifocal y bronconeumonía exudativa (Limón *et al.*, 2007), en machos adultos produce alteraciones testiculares epididimitis y algunas veces orquitis, atrofia testicular (Blasco *et al.*, 2002).

## **2.9 Tratamiento**

La susceptibilidad a los antimicrobianos de uso común en contra *Brucella spp.* Se analizó mediante dos diferentes medios de agar de Mueller-Hinton placas de agar sangre de carnero 5% y agar *Brucella* placas con 5% suero de caballo, ambos se utilizan para el cultivo de *Brucella spp.* Después de 48 horas las placas se examinaron y se comparan. No se encontraron diferencias significativas entre los dos medios de cultivo utilizados. La placa de agar Mueller-Hinton, permite detectar las zonas más claras de inhibición, por lo que es más fácil de leer la intersección de los bordes de la zona de inhibición. Todos los aislados fueron sensibles a los antibióticos probados (Rifampicina, doxiciclina, ciprofloxacino, ceftriaxona, y trimetoprim-sulfametoxazol) (Marianelli *et al.*, 2004).

## **2.10 Prevención y control**

Se debe establecer los procedimientos, actividades, criterios, estrategias y técnicas para el control y eventual erradicación de la Brucelosis en las especies susceptibles en todo el territorio nacional. Aplicando correctamente la NORMA Oficial Mexicana NOM-041-ZOO-1995, Campaña Nacional contra la Brucelosis en los Animales (Díaz *et al.*, 2002),

se deben implementar programas de control que consideren monitoreos serológicos continuos, con la finalidad de identificar oportunamente vacas en las que empieza 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 (Herrera *et al* 2007; Martínez *et al.*, 2005). El control de la enfermedad se apoya generalmente en la eliminación de los machos con diagnóstico clínico, bacteriológico y/o serológico positivo. Sin embargo, la vacunación es el medio más económico y práctico para controlar la infección por *B. abortus* en países con altas y medianas prevalencias pues la erradicación por medio de pruebas serológicas y eliminación de los animales es económicamente impracticable (Rondón *et al.*, 2002). Otras medidas de prevención son: mantener buenas medidas de higiene y manejo en las instalaciones, en casos de aborto separar inmediatamente a las hembras afectadas, manejar con precaución al feto abortado y las placentas utilizar (guantes, lentes, cubre bocas) para evitar el contagio por heridas, vía conjuntivas o respiratoria después destruirlos lo más rápido posible (incineración o enterramiento profundo), desinfectar el lugar y evitar el consumo de leche no pasteurizada y productos derivados, son la medidas más prácticas para evitar el contagio por vía digestiva (Diego *et al.*, 2008; Mirta *et al.*, 2001).

### **2.11 Vacunas**

La NORM-041-OO-1995. Señala que la vacunación es una práctica primordial para la prevención, control y erradicación de la Brucelosis. Se utilizan dos tipos de vacuna cepa 19: considerada como vacuna en dosis clásica, para prevenir la enfermedad en becerras de tres a seis meses de edad, y otra para hembras mayores de seis meses, incluso gestantes, denominada vacuna de dosis reducida. Esta última puede aplicarse en

hembras a partir de los 18 meses, en el caso de que hayan sido vacunadas con la dosis clásica a la edad de tres a seis meses, y también puede aplicarse en hembras mayores de seis meses que no recibieron la vacuna con dosis clásica.

### **Vacuna con cepa 19:**

Se considera que ésta es la vacuna más empleada para prevenir la Brucelosis bovina. Es una vacuna que contiene microorganismos atenuados de morfología lisa, incapaces de crecer en presencia del eritritol, se caracteriza por ser de baja virulencia, relativamente alta inmunogenicidad y buena antigenicidad (Sergio *et al.*, 2003).

La vacuna de *B. abortus* cepa 19 en su presentación de dosis clásica se ha elaborado en México desde 1951; los programas de la Campaña Nacional vigente señala como obligatorio vacunar con ella a todas las becerras de tres a seis meses de edad, debe contener  $5 \times 10^{10}$  de *Brucella* por cada mililitro de vacuna reconstituida. La vacuna cepa 19 en dosis reducida, debe contener un título de  $3 \times 10^8$  a  $3 \times 10^9$  UFC de *Brucella* por cada dosis, equivalente a 2 ml. Esta se debe aplicar a hembras mayores de 6 meses de edad, aun gestantes, el uso de la dosis clásica en animales adultos no es recomendado debido a que estos permanecen positivos a las pruebas serológicas; este inconveniente puede ser minimizado utilizando la dosis reducida, o bien realizando el diagnóstico después de los diez meses de haber vacunado (NOM, 1995; Bustamante *et al.*, 2000; Díaz *et al.*, 2002; Mancilla *et al.*, 2008; Schurig *et al.*, 2002). El riesgo del aborto, es del 2%, y una eventual infección en animales gestantes o sexualmente maduros, e infecciones mamarias persistentes con excreción activa en la leche, pudiendo provocar la infección en el hombre tras la inoculación accidental con la cepa 19 (Luis, 2006; Blasco, 2001).

### **Vacuna con cepa RB51:**

Es un mutante rugoso de *B. abortus* cepa 2308 virulento, carente de la cadena O del lipopolisacárido (residuos de perosamina) en la superficie bacteriana. La cepa RB51 se obtuvo naturalmente mediante el paso en serie en medios con rifampicina, y mediante la selección de colonias únicas con morfología rugosa, es menos virulenta para el ganado en comparación de la cepa 19, los animales vacunados eliminan menos microorganismos. En México, desde 1997 se ha empleado la vacunación de bovinos con RB51; su uso ha sido autorizado en la campaña nacional, La dosis normal 1 a 3 x 10<sup>10</sup> ufc y la dosis reducida 1 a 3 x 10<sup>9</sup> ufc, es de baja patogenicidad, la cual especifica que se podrá realizar solamente una vez, en animales adultos previamente vacunados con dosis clásica de hatos donde se presenten brotes de la enfermedad, no induce la formación de anticuerpos que reaccionen a las pruebas de diagnóstico oficial, siendo posible la diferenciación entre animales vacunados e infectados (NOM, 1995; Diaz *et al.*, 2002; Steven *et al.*, 1999; Beatriz *et al.*, 2004; Marisela *et al.*, 2007; Radostits *et al.*, 2002).

## **2.12 Métodos de diagnósticos**

El diagnóstico de Brucelosis en bovinos, caprinos, ovinos, y porcinos, se realiza en muestras de suero sanguíneo, leche, líquidos corporales y muestras de tejidos, mediante pruebas inmunológicas, estudios bacteriológicos u otros que sean autorizados por la Secretaria (NOM, 1995; Roger *et al.*, 2005; Díaz *et al.*, 2002).

### **2.12.1 Diagnóstico indirecto**

En México, el diagnóstico oficial de Brucelosis bovina se realiza mediante las pruebas serológicas de tarjeta (PT), fijación de complemento (FC) y rivanol "NOM. 41-ZOO -1995", sin embargo, durante el desarrollo de

estas pruebas indirectas se pueden presentar reacciones cruzadas con otras bacterias como *Yersinia enterocolitica* serotipo 09, dando como consecuencia falsos positivos (Rentara et al., 2005; Roger et al., 2005). A continuación se presentan algunas pruebas que detectan los títulos de anticuerpos de la enfermedad, los cuales varias en la sensibilidad y especificidad.

### **2.12.2 Procedimiento de la prueba de anillo en leche**

Se realiza como prueba de vigilancia epidemiológica. Los resultados deben con firmarse con pruebas serológicas. Esta prueba se debe practicar en muestras de leche cruda, fluida y fresca, realizándose con antígeno teñido con hematoxilina con un pH de 4.0 a 4.3 y una concentración celular de 4%, en el caso de bovinos, los resultados se interpretarán como negativos en ausencia de anillo teñido y positivo los que presenten anillo teñido en la superficie (Díaz et al., 2002; NOM, 1995).

### **2.12.3 Procedimiento de la prueba de fijación del complemento**

La prueba de Fijación de Complemento (FC) ha demostrado ser de gran sensibilidad y especificidad para el diagnóstico serológico de la Brucelosis en los animales domésticos y silvestres (Abraham et al., 2003), sirve para determinar títulos de anticuerpos fijadores del complemento contra cepas lisas de *Brucella* presentes en los suero, es la que mejor identifica animales infectados, sin embargo es compleja y difıcil de estandarizar por lo que queda fuera del alcance de muchos laboratorios (Alfredo et al., 1995), es capaz de detectar concentraciones muy bajas de IgG1, inmunoglobulina que predomina en la infección por *Brucella*. El complemento es un sistema de al menos veinte proteínas séricas que al activarse por una de sus dos vías (clásica o alterna), actúan mediante un mecanismo de reacción en cadena, el cual resulta entre otros, en la lisis de

membranas celulares. La prueba consta de 2 fases: invisible y visible, y se fundamenta en la activación del complemento por la vía clásica, en donde es necesario la presencia de la unión antígeno anticuerpo para iniciar la reacción. También consta de varios elementos: el antígeno, los glóbulos rojos, la hemolisina, el complemento, los sueros controles positivos y negativos y los sueros problema (Díaz *et al.*, 2002). Esta prueba se debe realizar con sueros no hemolizados que hayan resultado positivos a las pruebas de tarjeta y/o rivanol. Se empleará antígeno autorizado por la Secretaría, preparado con la cepa 1119-3 de *Brucella abortus*, sin teñir y con un pH 6.8 a 7.0 y una concentración celular de 4.5%. Los resultados se clasificarán como positivos y negativos. Los sueros positivos serán aquellos en los que se obtengan títulos mayores a 1:16 en frío o mayores a 1:8 en caliente (NOM, 1995).

#### **2.12.4 Procedimiento de la prueba de tarjeta**

En la placa de cristal se depositan 30 µl de suero problema con la ayuda de la micropipeta, liberando la punta en un recipiente que contiene agua y cloro al 15 %, en la placa se colocan 10 muestras problema y posteriormente se les añade 30 µl del antígeno estable de la cepa 1119-3 de *B. abortus*, que tiene la característica de una concentración celular del 8% para bovinos y un amortiguador de lactato a un pH de  $3.65 \pm 0.05$  y teñido con una solución de rosa de bengala al 2%. Los sueros y el antígeno deben estar en temperatura ambiente durante 30 minutos antes de realizar la prueba. Después de haber colocado el suero problema y el antígeno, se mezclan perfectamente utilizando para cada muestra el extremo de un aplicador o agitador. Cuando ya se haya terminado de mezclar, se realiza un ligero movimiento de rotación momentáneamente durante cuatro minutos, luego de haber pasado este tiempo se coloca la placa en una caja de campos oscuro para poder realizar la lectura de las muestras. Se observa si existe una aglutinación entre el antígeno y la

muestra problema lo cual indica que es positivo el caso a *B. abortus*, pero si no se presenta aglutinación indica que el caso es negativo (NOM, 1995; Díaz *et al.*, 2002).

### **2.12.5 Procedimiento de la prueba de rivanol**

Es una prueba de aglutinación directa en placas para el diagnóstico complementario de la Brucelosis, funciona como una alternativa para examinar los sueros positivos a la prueba de tarjeta. Se realiza en sueros no hemolizados, positivos a la prueba de tarjeta con reactivo de rivanol (lactato de 2 etoxi 6,9 diamino acridina). El antígeno debe ser elaborado con la cepa 1119-3 de *B. abortus*, teñido con una mezcla de verde brillante y cristal violeta con un pH 5.8 a 6.2 y una concentración celular 4%, se deja que el reactivo llegue a temperatura ambiente por una hora (en caso de que los sueros estén congelados o en refrigeración, se les deja en las mismas condiciones). Identificar cada tubo perfectamente y utilizando una pipeta graduada con una punta para pipeta automática por cada suero a probar, se agregan 200 µl de suero y se coloca 200 µl de solución de rivanol al 1% agitar el tubo mezclado bien y dejar reposar 30 minutos, posteriormente centrifugar a 10,000 rpm durante 15 minutos con el sobrenadante de color amarillo se realiza la prueba. Después de haber centrifugado las muestras; se deposita en la placa de cristal cuadrada 80 µl, 40 µl, 20 µl, 10 µl y 5 µl de sobrenadante de cada una de las muestras, a las cuales se les agregan 30 µl del antígeno para la prueba de rivanol a cada uno de los volúmenes de líquido en la placa, de esta forma se obtendrán las diluciones de 1:25, 1:50, 1:100, 1:200 y 1:400 respectivamente al ser mezcladas con el antígeno; se diluyen con aplicadores y luego se dejan reposar durante 3 minutos con breves rotaciones de vez en cuando. Al transcurrir el tiempo se obtienen los resultados que se clasificarán en sueros positivos y negativos. Se consideran positivos, todos aquellos sueros de animales no vacunados que

presenten reacción de aglutinación completa en cualquiera de las diluciones, desde 1:25 a 1:400. En el caso de ganado vacunado, la aglutinación completa en una dilución mayor o igual a 1:50 será una prueba positiva (Díaz *et al.*, 2002; NOM, 1995).

#### **2.12.6 Procedimiento de la prueba de inmunodifusión radial con hapteno nativo**

La prueba de inmunodifusión radial (IDR) usando como antígeno el hapteno nativo, presenta 96 % de sensibilidad y entre 80 a 100 % de especificidad, para el diagnóstico diferencial de vacas infectadas con *B. abortus* o vacunadas con la cepa S19. El hapteno nativo es un antígeno de tipo intracelular, por lo que solamente una exposición prolongada de la *Brucella* al sistema inmune, como es el caso de una infección de campo, produce anticuerpos contra este antígeno, y no cuando se trate de una exposición temporal al microorganismo, como es el caso de la revacunación con cepa 19. IDR con hapteno nativo obtenido a partir de la cepa de *B. melitensis* 16M, el antígeno se utilizó a una concentración de 1 mg/ml en un gel de agarosa preparado en una solución amortiguadora de glicina. Se colocaron 20 ml de cada uno de los sueros problemas en cada uno de los pozos en las placas de gel, se incubaron durante 24 h a temperatura ambiente, realizando la lectura al día siguiente (Esperanza *et al.*, 2006).

#### **2.12.7 Diagnóstico directo del agente**

##### **Aislamiento bacteriológico**

Las muestras que se recomiendan para el cultivo de *B. abortus* en cualquier especie son: contenido del estómago fetal, los pulmones, el hígado, el bazo, los nódulos linfáticos, el tejido mamario, las membranas fetales, secreciones vaginales, testículos el semen, la leche (estéril) (Roger *et al.*, 2005). Esta última, resulta muy recomendable ya que más del 80%

de los animales enfermos excretan *Brucella* por la leche y constituye una vía importante de transmisión al hombre; no obstante no existe suficiente información disponible relacionada con el diagnóstico bacteriológico en vacas a partir de este material (Martínez *et al.*, 2009). La muestra debe estar limpia y debe homogenizarse bien. El aislamiento en un medio de cultivo y la identificación de la *Brucella abortus* es el único método seguro de diagnóstico, pero requiere tiempo y personal especializado (Lesmes, 2002).

### **III. JUSTIFICACIÓN**

La Comarca Lagunera cuenta con 492870 bovinos productores de leche con una producción de 2402036.21 litros y es considerada como una de las principales cuencas lecheras del país por lo que es de gran importancia realizar la presente investigación sobre problemas que tienen efectos negativos sobre la producción de bovinos, tienen un impacto sobre la salud pública y por consecuencia derivan en grandes pérdidas económicas.

### **IV. HIPÓTESIS**

La seropositividad de las vacas de la Comarca Lagunera, es debida en su mayoría a cepas de campo.

## **V. OBJETIVOS**

### **Objetivo General:**

Identificar a vacas Brucelosas de la Comarca lagunera del estado de Coahuila y diferenciar si este estatus, es debido a cepas de campo o vacunales.

### **Objetivos específicos:**

Identificar vacas seropositivas a *Brucella abortus* por las pruebas de tarjeta, rivanol e inmunodifusión radial con hapteno nativo.

Realizar estudios bacteriológicos para el aislamiento de *Brucella spp* a partir de leche y exudado vaginal de vacas positivas a Brucelosis por pruebas serológicas, de acuerdo a los procedimiento de la NOM-041-ZOO-1995.

## **VI. MATERIALES Y MÉTODOS**

### **6.1 Lugar de estudio**

Las muestras para el presente trabajo de investigación fueron obtenidas de un establo localizado en el municipio de Matamoros Coahuila, al cual llegan vacas infectadas de tuberculosis, micoplasmosis y brucelosis de ocho hatos de la Comarca Lagunera, los cuales se localizan en los municipios de Torreón, Matamoros y Francisco I. Madero. Las muestras se trabajaron en Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Microbiología Animal, km. 15.5 Carretera México Toluca, Col. Palo Alto Cuajimalpa D.F. C.P. 05110.

### **6.1.1 Fase de campo**

#### **Toma de muestras**

Se recolectaron muestras de leche, suero sanguíneo y exudado vaginal de 56 vacas que habían presentado aborto en un lapso previo antes del estudio. El tiempo de gestación que tenían estas vacas al presentar el aborto varió entre 166 a 260 días.

#### **Toma de muestra de sangre**

Para la obtención de suero, se colectaron muestras de sangre de la vena coccígea media con equipo vacutainer sin anticoagulante (13 x 100 mm) de los animales que se encontraban en la etapa productiva. Se identificaron las muestras de acuerdo al arete que portaba cada animal, posteriormente las muestras se trasladaron al Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Microbiología Animal, km. 15.5 Carretera México Toluca, Col. Palo Alto Cuajimalpa D.F. C.P. 05110; donde se conservaron en refrigeración durante un período de 24 horas para permitir que se separara el coágulo y el suero, posteriormente se centrifugaron a 5000 rpm durante 10 minutos para poder extraer el suero, los cuales se guardaron en tubos eppendorf de 2 mL, en congelación a  $-20^{\circ}\text{C}$  hasta el momento de realizar la técnica de tarjeta al 100% de las muestras. Posteriormente a los sueros que resultaron positivas en tarjeta se conservaron en congelación a  $-20^{\circ}\text{C}$  para posteriormente realizar las pruebas de rivanol y la prueba de inmunodifusión radial (IDR) con hapteno nativo (Díaz *et al.*, 2002).

#### **Toma de muestras de leche**

Se recolectaron 56 muestras de leche de vacas en las que algunas abortaron, en cada muestra se tomaba leche de los 4 cuartos. La toma de muestras consistió en la recolección en Tubo Falcon de plástico de 50 mL

estériles a la hora de la ordeña, después del despunte y antes de empezar a ordeñar, los tubos Falcon se identificaron con el número del arete de la vaca, después se colocaron en una hielera y se transportaron al laboratorio en donde se pusieron a una temperatura de 3 a 7 °C.

### **6.1.2 Material de laboratorio para toma de muestras**

Se utilizaron tubos Falcon de plástico estériles de 50 mL, equipo vacutainer sin anticoagulante (13 x 100 mm), hisopos, guantes de látex, cubre bocas, cinta adhesiva y marcador indeleble, pipetas, tubos de ensaye nuevos de 10 mL, para centrifugado, mechero de gas, cajas de petri, asa microbiológica punta redonda, autoclave e incubadora.

### **6.1.3 Fase de laboratorio**

#### **Estudio bacteriológico**

Se realizó en las muestras de leche y exudado vaginal, inoculando placas de agar tripticasa soya + Reactivo de Farrell (Modified Brucella selective supplement, SRO209E), para el aislamiento, la identificación y la diferenciación entre fenotipo liso y rugoso (Fuentes *et al.*, 2007).

### **6.1.4 Preparación y servido de medios de cultivo**

1. Se disolvió en un matraz 43 g de Agar Tripticasa Soya (TSA) en 1000 mL de agua destilada.
2. Se calentó el matraz hasta que el contenido se tornó de un color amarillo cristalino.
3. Se hizo un tapón con gaza y algodón.
4. Se esterilizó en la autoclave a 121 ° C y por 15´ o 15 Lbs de presión.
5. Se dejó enfriar a 40 °C y se hirvió en cajas petri.

6. Una vez que se polimerizó el medio, se introdujo en cajas a pruebas de esterilidad en una estufa a 37 °C por 24 h.
7. Se empaquetaron las cajas y se identificaron los medios con nombre y fecha de elaboración.
8. Se refrigeraron las cajas.

#### **6.1.5 Procedimiento de la técnica:**

Se centrifugaron 10 ml de leche utilizando una pipeta estéril, en un tubo de ensayo nuevo a 2500 rpm por 10 minutos, después se decantó el sobrenadante y se tomó el precipitado de cada muestra para proceder a inocular. Se tomó con el asa microbiológica estéril el precipitado de cada muestra, se sembró en cajas de petri con agar tripticasa soya adicionado con el reactivo de Farrell (Modified *Brucella* selective supplement, SRO209E), después las cajas sembradas se sellaron con cinta adhesiva, para evitar la deshidratación del medio, se identificaron conforme el número de la muestra y se incubaron los medios ya inoculados en la estufa bacteriológica con 5-10% de CO<sub>2</sub>, a 37°C, de uno a cinco días, con un máximo de 10 días para después observar el crecimiento de *Brucella*. De las colonias sospechosas se realizaron frotis para la tinción de Gram, y se resembraron en medios de agar *Brucella*, para la identificación de la morfología colonial (Díaz *et al.*, 2002).

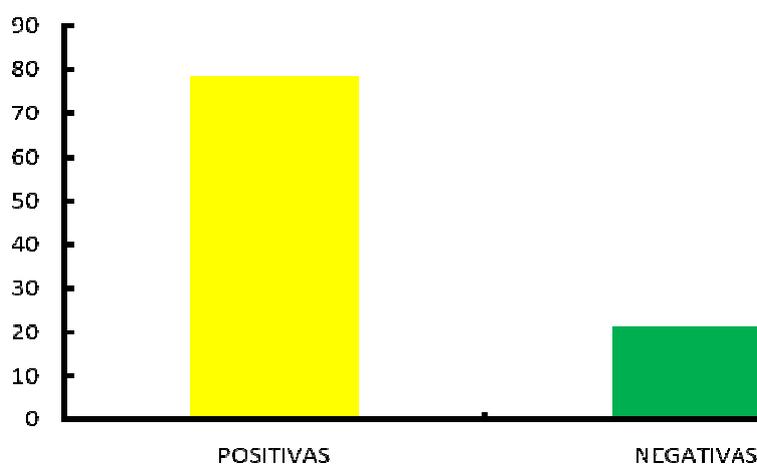
## **VII. ANÁLISIS DE RESULTADOS**

En esta investigación en la parte de serología se observó la prevalencia de la Brucelosis bovina en los animales muestreados.

Prevalencia: 
$$\frac{\text{Número de individuos positivos}}{\text{Total de la población estudiada}}$$

## Prevalencia del hato.

Al realizar el diagnóstico serológico a las 56 vacas mediante la técnica de prueba de tarjeta, utilizando el antígeno de *B. abortus* al 8 % como prueba tamiz y la técnica de rivanol e inmunodifusión radial con hapteno nativo como práctica confirmatoria. Se determinó que la prevalencia de vacas positivas a Brucelosis fue de 79% (44 positivas vs 12 negativas). Figura 2.

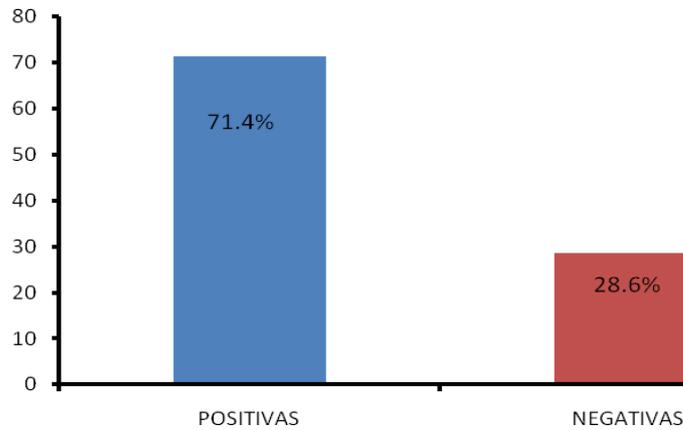


**Figura 1.** Prevalencia de la Brucelosis bovina en un hato lechero de Coahuila.

Los resultados obtenidos por nosotros indican que de 56 muestras a las cuales se les realizó la prueba de tarjeta, rivanol e IDR, 40 vs 16 (71.4% vs 28.6%); 41 vs 15 (73.2% vs 26.8%); 44 vs 12 (78.5% vs 21.5%), resultaron positivas vs negativas a la diversas pruebas respectivamente.

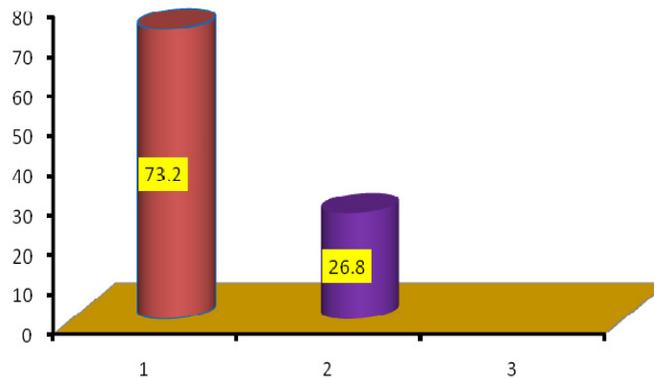
### 7.1 Resultados diagnóstico serológico

Los resultados obtenidos en la prueba de tarjeta al 8 % realizada a los sueros de bovinos procedentes del Estado de Coahuila, fueron los siguientes; 40 (71.4%) sueros son positivos y 16 (28.6%) sueros corresponden a negativos. Figura 2



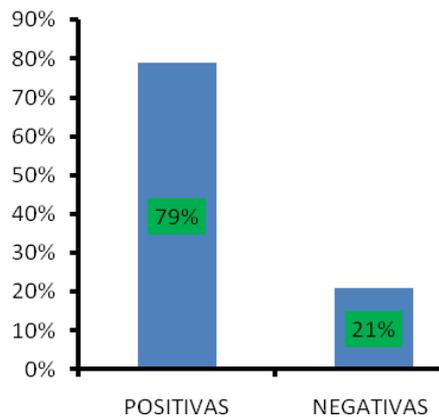
**Figura 2.** Porcentaje de sueros positivos y negativos obtenidos a partir de la prueba de tarjeta al 8% con Ag de *B. abortus*.

Los resultados obtenidos en la prueba de rivanol 4 % realizada a los sueros de bovinos procedentes del Estado de Coahuila, fueron los siguientes; 41 (73.2%) sueros son positivos y 15 (27.8%) sueros corresponden a negativos. Figura 3



**Figura 3.** Porcentaje de sueros positivos y negativos obtenidos a partir de la prueba de rivanol al 4 % con Ag de *B. abortus*.

Los resultados obtenidos en la prueba de inmunodifusión radial con hapteno nativo, realizada a los sueros de bovinos procedentes del Estado de Coahuila, fueron los siguientes; 44 (79%) sueros son positivos y 12 (21%) sueros corresponden a negativos. Figura 4

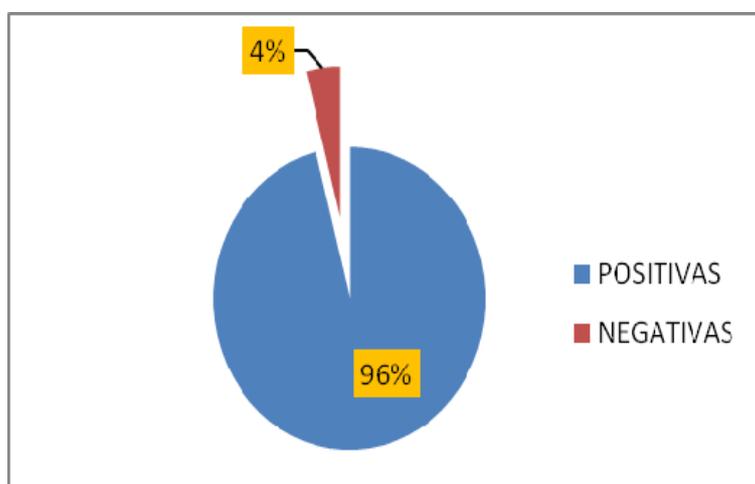


**Figura 4.** Porcentaje de sueros positivos y negativos obtenidos a partir de la prueba de inmunodifusión radial con hapteno nativo.

## **7.2 Resultados de crecimiento bacteriológico en leche y exudado vaginal**

Se trabajaron un total de 56 muestras de leche y 56 de exudado vaginal de vacas que habían presentado aborto en un lapso previo antes del estudio. El tiempo de gestación que tenían estas vacas al presentar el aborto varió entre 166 a 260 días. Las cuales fueron recolectadas en el mes de abril de un establo lechero de Matamoros, Coahuila. Se procesaron en el Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Microbiología Animal, km. 15.5 Carretera México Toluca, Col. Palo Alto Cuajimalpa D.F. C.P. 05110. La leche se centrifugó para ser inoculada en placas de medio Farrell, los hisopos de exudado vaginal, se inocularon en el mismo medio

Farrell, se incubaron en la estufa bacteriológica con 5-10% de CO<sub>2</sub>, a 37°C +/-2°C, se revisaron los medios cada 24 horas después de ser inoculado, durante diez días, observándose crecimiento a partir del tercer día de incubación, los medios contaminados se descartaron. A las colonias sospechosas se resembraron en medios de agar *Brucella*, para la identificación de la morfología colonial. Se observó crecimiento de las colonias características en 2 (4%) muestras. Las dos muestras positivas corresponden a exudado vaginal, 54 (96%) muestras fueron negativas, las dos vacas de donde fueron aisladas las cepas, resultaron positivas a las pruebas serológicas de tarjeta, rivanol en títulos de 1:400 e inmunodifusión radial. A partir de las muestras de leche no se logró realizar aislamiento.



**Figura 5.** Porcentaje de muestras positivas y negativas, al aislamiento de *Brucella spp.*

## VIII. DISCUSIÓN Y CONCLUSIÓN

El diagnóstico de la Brucelosis se realiza por métodos bacteriológicos y serológicos, este comenzó hace más de 100 años y desde entonces se han desarrollado diversas técnicas con el objetivo de lograr métodos precisos, con gran sensibilidad y especificidad. No obstante, ningún ensayo detecta el 100 % de los animales infectados y por este motivo la mayoría de los países utilizan dos o más pruebas de diagnóstico esta deben ser rápidas, de fácil interpretación y muy sensible, fácil de examinar todos los animales (Eva *et al.*, 2007; Díaz *et al.*, 2002). Varios autores que han trabajado con la prueba de IDR con hapteno navito, han observado una especificidad de por lo menos 80% en ganado bovino vacunado, tanto con dosis clásica como con dosis reducida de cepa 19, se ha descrito la capacidad que tiene la IDR para identificar animales positivos después de la vacunación con dosis reducida con paradas con otras pruebas como tarjeta, rivanol, y FC, en vacas que fueron muestreadas periódicamente; los resultados demostraron que la IDR fue la que menos resultados falsos positivos presentó, seguida por la de FC. Las pruebas de tarjetas y la prueba de rivanol fueron las que presentaron mayor número de falso positivos debidos a la vacunación (Jorge *et al.*, 2000; Abraham *et al.*, 2003; Esperanza *et al.*, 2006).

En nuestra investigación, se uso la prueba de IDR, debido a su elevada especificidad y su capacidad de diferenciar entre vacas infectadas y vacunadas con cepa 19, se determino una prevalencia del 79 % de las vacas rectoras a la IDR, y fueron consideradas como positivas ha *B. abortus*. El 71% de las vacas positivas ha PT y el 73%, a rivanol, estas pruebas arrojan falsos negativos, por lo que el diagnóstico de estos animales sería poco confiable. Con respecto a la prueba de rivanol, que la NOM la marca como oficial para diferenciar entre animales vacunados e

infectados, se debe considerar su uso debido a su baja especificidad y al hecho de arrojar resultados falsos negativos. Se concluye que las pruebas oficiales no son eficientes para diferenciar vacas revacunadas con cepa 19, por lo que la IDR es una buena alternativa para el diagnóstico. En el estudio bacteriológico se consiguió el aislamiento a partir de muestras de exudado vaginal de *Brucella*; los resultados obtenidos fueron del 4%, es decir, existen animales que resultan negativos, pero que están infectados, ya que se necesita una gran cantidad de bacterias para lograr el aislamiento, o que las muestras sean tomadas cuando se está excretando las *Brucella*.

## IX. LITERATURA CITADA

- Abraham AP., Efrén DA., Laura HA., Rafael PG., Edgar AS., Francisco SG. 2003. Serological and bacteriological evaluation of a bovine herd infected with brucellosis and revaccinated with a reduced dose of *Brucella abortus* strain 19. *Téc Pecu Méx*; 41 (2): 129 – 140.
- Doris M. Vega M. 2006. *Brucella abortus*: antecedentes y avances en aspectos de patogénesis, diagnóstico y control. Pontificia Universidad Javeriana Facultad De Ciencias. Microbiología Agrícola Y Veterinaria Bogotá, tesis, pp. 40 – 48.
- Radostis OM., Gay CC., Blood., DC., Hinchcliff kw. 2002. Medicina veterinaria; tratado de las enfermedades del ganado bovino, ovino, porcino, caprino y equino. Ed. 9ª Madrid, España. McGraw-Hill Interamericana. Vol. 1. Pp. 1025 – 1042.
- Schurig GG., Sriranganathan N. Corbel MJ. 2002. Brucellosis vaccciones: past, present and future. *Veterinary Microbiology*. 90: pp. 479 – 496.
- Alfredo DA., Edwin GR., Delfina ZV., Sandra L., VP. 1995. Comparación de cinco pruebas serológicas para la detección de anticuerpos contra *Brucella abortus* y reporte preliminar del porcentaje de reactores positivos en hatos bovinos en Yucatán, México. *Rev. Biomed*; (6): 84-90.
- Bautista B., Hernández A., Perea R., Enríquez A., Barrón L. y Saín S. 2007. Determinación de anticuerpos contra *Brucella abortus* a partir de muestras de suero y leche, utilizando las pruebas de Tarjeta, Rivanol y una ELISA comercial. Memoria del XXXI Congreso nacional de Buiatria y XIII Congreso latinoamericano de buiatria, Vol. 1: 192-196.

- Bautista. B., Enríquez A., Perea R., Barrón L., Zimmerman, S. 2007. Estudio comparativo entre las pruebas oficiales y la Elisa, para detección de anticuerpos de *Brucella abortus* en suero. Memoria del XXXI Congreso nacional de Buiatria y XIII Congreso latinoamericano de buiatria, Vol. 1: 206-208.
- Beatriz AR., Efrén DA., Marisela LH., Laura HA. 2004. Intracellular trafficking study of a RB51 *B. abortus* vaccinal strain isolated from cow milk. *Veterinary Microbiology* 98; 307–312
- Blasco J. M. 2001. Profilaxis médica de la brucelosis en los rumiantes: las vacunas clásicas y vacunas nuevas: En diagnóstico de Brucelosis animal. Efrén DA., Laura HA., Germán VE., Beatriz AR., *et al.* Editores INIFAP, SAGRAPA. 158 – 179.
- Blasco J. M. 2002. Unidad de Sanidad Animal, SIA/DGA, Ap. 727. 50080 Zaragoza Tfn. 976 716460 e-mail: jblasco@posta.unizar.es
- Carmen HT. Alfredo DC., Sonia CE., y Armando GZ. 2005. Cuantificación De *Brucella* Sp. En Bovinos De La Provincia De Canta, Lima. *Rev. Inv. Vet. Perú*; 16 (2): 158-162.
- Carter GR. y Wise DJ. 2003. *Essentials of Veterinary Bacteriology and Micology*. Iowa State Press, Sexta Edición, EUA. pp. 107 – 113.
- Darla R. Ewalt and Betsy J. Bricker. 2002. Validation of the Abbreviated *Brucella* AMOS PCR as a Rapid Screening Method for Differentiation of *Brucella abortus* Field Strain Isolates and the Vaccine Strains, 19 and RB51. *Journal of Clinical Microbiology*. Vol. 38, No. 8; pp. 3085–3086.
- Díaz E., Hernández L., Valero G., Arellano B. 2002. *Diagnostico De Brucelosis Animal*, 2<sup>a</sup>, edición, pp. 1 – 7.

Héctor S. Sumano López, Luis Ocampo Camberos .2006. Quimioterapia de las enfermedades microbianas. Farmacología veterinaria, 3<sup>ra</sup>, edición, pp. 127-143.

Diego VC., María FT., Fabiola E. GC., Natalia LS., Carolina OM. 2008. Prevalence of brucellosis in cattle raw milk spread in the city of Popayan cauca. Facultad de Ciencias Agropecuarias Vol. 6 No. 2.

Encolombia. 2003. Brucelosis. Disponible en: <http://www.encolombia.com/medicina/pediatria/pediatria35400brucelosis.htm>.

Enrique H., Gabriela P., y Efrén DA. 2008. Milk Production Increase in a Dairy Farm under a Six-Year Brucellosis Control Program. CENID-Microbiología, INIFAP, Cuajimalpa, D.F., México; Journal (4), pp. 1 – 6.

Esperanza GM., Laura HA., Efrén DA. 2006. Radial immunodiffusion test with native hapten in the differentiation of cattle with repeated *Brucella abortus* S19 strain revaccinations. Téc Pecú Méx; 44 (2): 269 – 276.

Eurídice A. Salgado G. Carlos J. Jaramillo A. Luz S. Sanchez del A. Hugo Francisco Sánchez Jaime García Romero 1995. Estudio de brucelosis a partir de muestras de leche de bovinos en el trópico subhúmedo del estado de Guerrero. Vet. Mex. 26 (2).

Eva E. Ortiz Losada MS. Eladio Silva Cabrera Dr. C., Maricela Izquierdo Marqués MS. 2007. Normalización y evaluación del inmunoensayo ABICAP-BRU para el diagnóstico serológico de la Brucelosis Bovina. REDVET. Revista electrónica de Veterinaria 1695-7504 Volumen VIII Número 4  
<http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n030307.html>

- Francisco V., Sergio R., Gerardo P., Oswaldo VE., Milagros M., Gerhardt S. 2001. Histopathology and Bacteriology of Testes, Epididymus and Lymphonodules in bulls, RB51 Strain Brucella abortus Vaccine; Revista científica, fcv-luz/vol. XI, No, 5, 423-430.
- Fuentes D. Ma. D., Vitela M. I. V., Arellano R. B., Hernández C. R., Morales A. J. F. Cruz Vázquez., Suarez Güemes., Díaz A. E. 2007. Presencia de Brucella abortus vacunal de Rb51 en secreción vaginal de vacas abortadas. Resumen de la Memoria de la XLIII Reunión Nacional de Investigación Pecuaria. Sinaloa, México. Vol. 1: 14.
- Gerardo DP., Sergio RP., Teresita T., Mario P., Arelis G., Osiris C. y Nelda R. 2004. Prevalence of Bovine Brucellosis Using the Competitive ELISA Test in La Cañada de Urdaneta Municipality, Zulia State, Venezuela. Revista Científica, FCV-LUZ / Vol. XIV, N° 2, 168-176.
- Herrera L. E., Luna A. M., Banda R. V., Socci E. G., Guzmán R. C., Hernández A. L., Córdova L. D. 2007. Manejo de hato infectado por brucelosis bovina en el estado de Guanajuato, México. Memoria del XXXI Congreso nacional de Buiatria,. Vol. 1: 273-276.
- Herrera L. E., Palomares R. E. G., Ramírez M. M., Díaz A. E. 2007. Aumento en la producción láctea en un establo bovino, bajo un programa de control de brucelosis durante seis años. Resumen de la Memoria de la XLIII Reunión Nacional de Investigación Pecuaria. Sinaloa, México. Vol. 1: 27.
- Herrera L. E., Ramírez M. M., Palomares R. E., Hernández A. L., Díaz A. E. 2007. Monitoreo serológico mensual durante 7 años en un hato bovino lechero infectado inicialmente por Brucelosis. Memoria del XXXI Congreso nacional de Buiatria y XIII Congreso latinoamericano de Buiatria, Vol. 1: 259-264.

- Hidalgo MM., Beltrán LT., Velázquez OV., Lagunas BS., Monroy SH., y Nava RR. 2007. Distribución Regional de la seropositividad a *Brucella abortus* en bovinos productores de carne en el Estado de México, Resumen de la Memoria de la XLIII Reunión Nacional de Investigación Pecuaria. Sinaloa, México. Vol. 1: 69.
- Hugo AC., Sofia RG., María IP. 2005. Brucelosis una revisión práctica. Acta Bioquím Clín Latinoam; 39 (2): 203-16.
- Jinkyung K. Gary A. Splitter. 2003. Molecular Host-Pathogen Interaction in Brucellosis: Current Understanding and Future Approaches to Vaccine Development for Mice and Humans. Clinical Microbiology Reviews: Vol. 16, No. 1 pp. 65–78.
- John KW. 1987. Control sanitario de poblaciones animales. 2da Edición, McGraw- Hill, pp.: 160; 163.
- Jorge BS., Fernando Israel SH., Efrén DA., Carlos MC., Rafael PG., Laura HA. 2000. Estudio bacteriológico y serológico de brucelosis en cavas revacunadas con dosis reducida de cepa 19 de *Brucella abortus*. Téc Pecu Méx; 38 (1): 35 – 42.
- Julie Lamontagne, Máxime Béland, Anik Forest, Alexandra Côté-Martin, Najib Nassif, Fadi Tomaki, Ignacio Moriyón, Edgardo Moreno and Eustache Paramithiotis. 2010. Perseartche aortimcle ics-based confirmation of protein expression and correction of annotation errors in the *Brucella abortus* genome. Lamontagne *et al.* BMC Genomics; pp. 1 – 10. <http://www.biomedcentral.com/>
- Lavaroni. O. Aguirre. N. Vanzini. V. Lugaresi. C. Torioni. S. De Echaide. 2004. Evaluación de la reacción en cadena de la polimerasa para el diagnóstico de la brucelosis en un rebaño lechero infectado con *Brucella spp.* Revista Argentina de Microbiología. 36: 101-106.

- Lesmes Helbert VP. 2002. Seroprevalencia de *Brucella sp.* En bovinos criollos de crianza extensiva de la provincia de parinacochas, Ayacucho. [http://www.cybertesis.edu.pe/sisbib/2002/valdivia\\_pl/pdf/valdivia\\_pl-TH.2.pdf](http://www.cybertesis.edu.pe/sisbib/2002/valdivia_pl/pdf/valdivia_pl-TH.2.pdf).
- Limón G. ED., Martínez S. MG., Arellano RB., Díaz AE., Flores CR., Morales A. JF. 2007. El uso de PCR para la identificación de *Brucella abortus* aislada de fetos abortados en un establo lechero del estado de Aguascalientes. Resumen de la Memoria de la XLIII Reunión Nacional de Investigación Pecuaria. Sinaloa, México. Vol. 1: 31.
- López MA., Contreras RA. 2006. Agentes infecciosos Brucelosis. Revista Latinoamericana de microbiología. Vol. 48, No. 2 pp. 146-149.
- Lucio Córdova. 2009. *Brucella abortus* endocarditis: Survival of a 74 year old patient. Hospital de Enfermedades Infecciosas Santiago, Chile; Rev Chil Infect. 27 (1): 80-84.
- Luis E. S. 2006. Primer congreso ganadero CORFOGA. En Costaricia. <http://www.veterinaria.org/revistas/vetenfinf/bovino/brucelosis/index.htm>
- Mancilla M. Villarroel M. Saldías ME. Soto J. Zárraga AM. 2008. Genotypes of *Brucella abortus* field isolates from different geographical regions of Chile. Arch. Med. Vet- 40, 187-192.
- Marianelli C. Ciuchini F. Tarantino M. Pasquali P. Adone R. 2004. Genetic bases of the rifampin resistance phenotype in *Brucella spp.* J Clin Microbiol. Dec; 42(12): 5439-43.
- Marisela LH., Efrén DA., Rafael PG., Laura HA., Beatriz AR., Edgar AS., Francisco SG. 2005. Protection of *Brucella abortus* RB51 revaccinated cows, introduced in a herd with active Brucellosis, with

presence of atypical humoral response. *Com. Immun. Microbiol. Infect. Dis.* 28; 63 – 70.

Marisela LH., Laura JM., Laura HA., Rafael PG., Efrén DA., Francisco SG. 2007. Production of interferon gamma in whole blood cultures in response to *Brucella abortus* antigens in RB51-vaccinated cattle. *Téc Pecu Méx*; 45 (2): 147 – 159.

Martínez Herrera D. I. María A. Abeledo, A. Lara Gutiérrez, A. Peniche Cardaña, M.L. Robledo Salinas, E. Pulido Camarillo, T.J. Rosas Sastre, R. Flores Castro 2009. Evaluation of Methods For The Primary Isolation of *Brucella Melitensis* In Goat Milk *Rev. Salud Anim. Vol. 31 No. 3. 164-169.*

Martínez R. R. Toro. F. Montoya. M. Burbano. J. Tobón. J. Gallego y F. Ariza. 2005. Genetic Evaluation For Resistance Against Brucellosis In Colombian Creole Cattle *Bon. Arch. Zootec.* 54: 333-340.

Michel Eschenbrenner, Mary Ann Wagner, Troy A. Horn, Jo Ann Kraycer, Cesar V. Mujer, Sue Hagius, Philip Elzer, and Vito G. DelVecchio 2002. Comparative Proteome Analysis of *Brucella melitensis* Vaccine Strain Rev 1 and a Virulent Strain, 16M *Journal Of Bacteriology*, Vol. 184, No. 18 pp. 4962–4970.

Mirta B. Aréstegui. Catalina Gualtieri S. Javier Domínguez. Graciela Scharovsky O. 2001. Brucelosis bovina El Genero *Brucella* Y Su Interacción Con El Sistema Mononuclear Fagocítico; Vol. 32, No, 002, pp. 131-139.

Moreno E. 2002. Brucellosis in Central America *veterinary microbiology* 90: 31 – 38.

Moreno R. JF., Rementeria E. TB., Searcy BR., Montaña G. MF. 2002. Seroprevalencia y factores de riesgo asociados a brucelosis bovina en

datos lecheros de Tijuana baja California, Técnica Pecuaria, México; 40 (3): 243-249.

<http://www.tecnicapecuaria.org.mx/trabajos/200212171048.pdf>.

Muñoz G. G. A. 2007. Estudio epidemiológico de *Brucella abortus* en bovinos holstein de traspatio en la zona sur del estado de Tlaxcala. Memoria del XXXI Congreso nacional de Buiatria y XIII Congreso latinoamericano de Buiatria, Vol. 1: 270 – 272.

Murphy MA. Shariflou MR., Moran C. 2002. High quality genomic DNA extraction from large milk samples. Journal of Dairy Research Vol. 69 (4), pp. 645-649.

Norma Oficial Mexicana NOM-041-ZOO-1995. Campaña Nacional contra la Brucelosis en los animales.

Oficina Internacional de Epizootias 2003. Clasificación OIE de las enfermedades. París, Francia. Oficina Internacional de Epizootias. Disponibles en: <http://www.oie.int/esp/maladies/esclassification.htm#ListeB>

Olga A. Ginebra González Teresita A. Leiva Sánchez. 2001. Cocobacilos gramnegativos pequeños: *Brucella*, *Bordetella*, *Francisella* y *Pasteurella*: Microbiología y Parasitología Médicas: Alina Llop Hernández, Ma. Margarita Valdés Dapena Vivanco Jorge Luis Zuazo Silva. Tomo II, Capitulo 28, pp. 289-293.

Omar A. Saldarriaga Jorge E. Ossa y María T. Rúgeles 2002. Respuesta inmune y estrategias de evasión durante la infección con *Brucella* spp. Rev Col Cienc Pec Vol. 15: 2.

Ortega SJ. L. Martínez RA. García LC. Rodríguez MR. 2009. Seroprevalencia de brucelosis caprina en el municipio de Tlahualilo,

Durango .México Vol. 10, N° 4 ISSN: 1695-7504.  
<http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n040409/040929.pdf>

Pedro NA y Boris S. 2003. Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales, Vol. I Bacteriosis y micosis, 3° edición, Editorial Organización Panamericana de la salud, pp.28-52.

Quinn, P. J. B. K. Markey, M.E. Carter, W. J. C. Donnelly y F.C. Leary. 2005. Microbiología y enfermedades infecciosas veterinaria, primera ed. Acribia S. A. Pp: 197 – 203.

Ramirez M. Ernst S. Elvinger F. Rivera A. Rosenfeld C. 2002. Serologic response and time to eradication in herds with brucellosis vaccinated with strain 19 or strain RB-51; 10<sup>th</sup> Region, Chile. Arch. Med. Vet. XXXIV, N° 2, pp. 1 – 8.

Rentería T., Organes H., Fedorovich A., Medina E. Nielsen K., Montaña M., Moreno J., Pujol L. 2005. Evaluation of the polymerase chain reaction test (PCR), of diagnosis of bovine brucellosis. Téc Pecu Méx; 43 (1): 117-126.

Rivers R. Andrews E. González A. Donoso G. Oñate A. 2006. *Brucella abortus*: immunity, vaccines and prevention strategies based on nucleic acids. Arch. Med. Vet. 38, N° 1; pp. 1 – 12.

Rocha JC. Y Alejandro CI. 2008. Causes of placenta retention in the bovine livestock. RECVET. Vol. III, N° 2.  
<http://www.veterinaria.org/revistas/recvet/n020208.html>

Rodríguez Valera. Y. Ramírez. W. Sánchez. Antúnez. G. Sánchez. Pérez. F. Benet Y. Ramírez Pérez Adria Igarza Pulles. 2005. Brucelosis bovina, aspectos históricos y epidemiológicos Vol. VI, N° 9.  
<http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n090905.html>.

- Roger Iván RV. 2005. Enfermedades de importancia económica en producción animal, primera ed. Mcgran-hill Interamericana. Pp. 349-351.
- Rondón JE., Rosadio RA. (2002). Uso de la REV-1 en el control de la brucelosis ovina en empresa ovejera del Perú. Rev. Inv. Vet. Perú. 13(1): 52-60.
- Rosa I. Acosta-González, Ismael González-Reyes, Gerardo H. Flores-Gutiérrez. 2005. Prevalence of *Brucella abortus* antibodies in equines of a tropical region of México. 70:302–304.
- Rosanna Adone and Franco Ciuchini. 2001. *Brucella abortus* RB51 and Hot Saline Extract from *Brucella ovis* as Antigens in a Complement Fixation Test Used To Detect Sheep Vaccinated with *Brucella abortus* RB51. Clin. Diagn. Lab. Immunol. Vol. 8, No. 1: pp. 119–122.
- Sang Hyun Park. Young Sill Choi. Yu Jeong Choi. Soung Hoon Cho. And Hee Jung Yoon. 2009. *Brucella* Endocarditis with Splenic Abscess: A Report of the First Case Diagnosed in Korea. Yonsei Med J 50(1):142 – 146.
- Serafino J. Conde S. Zabal O. Samartino L. 2007. Multiplicación de *Brucella abortus* y producción de óxido nítrico en dos líneas celulares de macrófagos de distinto origen. Revista Argentina de Microbiología; 39: 193-198.
- Sergio Muñoz Melgarejo. 2003. Factores de riesgos asociados a la seropositividad a *Brucella abortus* en ranchos de ganado bovino de pie de cría o ciclo completo del municipio de tizimin, Yucatán, México. Universidad autónoma de Yucatán unidad de posgrado e investigación, pp. 1:6

- Serrano P. J. D., Villa G. M. R., Franco G. F. J., Memije A. F. 2007. Frecuencia de Brucelosis bovina en hatos lecheros del valle de Valsequillo Puebla. Memoria del XXXI. Congreso nacional de Buiatria y XIII Congreso latinoamericano de Buiatria, Vol. 1: 202 – 206.
- Silva I. Dangolla A. Kulachelvy K. 2000. Seroepidemiology of *Brucella abortus* infection in bovids en Sri Lanka Preventive Veterinary Medicine. 46:51-59.
- Steven C. Olsen. Norman F. Cheville. Betsy Bricker. Allen E. Jensen. Mitchell Palmer. Mark Stevens. 1999. Informe técnico sobre la vacunación del ganado con la cepa rb51 de *Brucella abortus*. Enfermedades de la reproducción; pp. 1 – 7. [www.produccion-animal.com.ar](http://www.produccion-animal.com.ar)
- Suzana P. Salcedo. María Ines Marchesini. Hugues Lelouard. Emilie Fugier. Gilles Jolly. Stephanie Balor. Alexandre Muller. Nicolas Lapaque. Olivier Demaria. Lena Alexopoulou. Diego J. Comerci. Rodolfo A. Ugalde. Philippe Pierre. Jean-Pierre Gorvel. 2008. *Brucella* Control of Dendritic Cell Maturation Is Dependent on the TIR-Containing Protein Btp1. PLoS Pathog 4(2): e21. doi:10.1371/journal.ppat.0040021.
- Venegas CE., Martínez GD., Possani LD., Verdugo RA. 2007. Evaluation of humoral immune response induced in guinea pigs immunized with synthetic peptides of outer membrane proteins of *Brucella spp.* Resumen de la Memoria de la XLIII Reunión Nacional de Investigación Pecuaria. Sinaloa, México. Vol. 1: 14. P. 25.
- Víctor Eustorgio Aguirre Arzola. Mónica Alvarado González José Luís Ihave González. Marisela Leal Hernández. Efrén Díaz Aparicio. Guadalupe Virginia Nevárez Moorillón. Francisco Javier Solís Martínez. Sigifredo

Arévalo Gallegos. Blanca Estela Rivera Chavira. 2008. Duplex polymerase chain reaction as a rapid, effective diagnostic test for bovine brucellosis using blood samples. *Tec. Pecu. Méx*: 46(2):147-158.

## **X. GLOSARIO**

**BP26:** Proteína periplásmica.

**CD14:** Molécula de membrana de los macrófagos.

**CMH clase I y II:** Complejo mayor de histocompatibilidad clase I y II.

**CP:** Antígeno citoplasmático libre de LPS.

**ELISA:** Ensayo inmunoenzimático.

**Eritritol:** Alcohol de cuatro átomos de carbono, factor de crecimiento para *Brucella*

**HN:** Hapteno nativo, químicamente idéntico al PSO pero libre.

**HS:** Antígeno para fijación de complemento, obtenido por calentamiento de una suspensión de *Brucella*.

**IFN- $\gamma$ :** Citoquina producida por los linfocitos TH1, células NK y LTC, participa en la formación de granulomas, en la activación de macrófagos e induce la expresión de CMH clase I y II.

**IL:** Interleuquina.

**LPS:** Lipopolisacárido, componente más abundante de la membrana externa de las bacterias del género *Brucella*.

**LPS-R:** Lipopolisacárido de las cepas rugosas.

**Animal expuesto:** Aquél que ha tenido contacto con animales enfermos o reactores 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  $\mu\text{m}$ ) 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. Zoonosológicas 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 zoonosanitarias 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.

## **XI. RECOMENDACIONES**

Se propone la eliminación gradual de animales seropositivos, comenzar con las vacas que hayan abortado anteriormente para que con esto haya control de la transmisión vertical. Si se utiliza transferencia de embriones, comprobar que las receptoras sean seronegativas.

Monitorear serológicamente a las hembras de reemplazo, tanto las nacidas en la unidad de producción, como a las adquiridas en otros ranchos, estados o país, así como también dejar para reemplazo, solo terneras hijas de vacas consideradas como seronegativas a Brucelosis, u otra enfermedad.

Realizar pruebas diagnósticas a los machos destinados para sementales y llevar acabo correctas medidas zoonosanitarias, las cuales tengan por objeto disminuir posibles vías de infección y estar atento a los posibles factores que pudieran poner en riesgo de enfermedad a las poblaciones bovinas.