UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO UNIDAD LAGUNA

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL



EXPERIENCIA EN EL COMITÉ DE CAMPAÑA DE ERRADICACIÓN DE LA TB Y BR EN LA REGIÓN LAGUNERA DE TORREÓN COAH. Y DGO. AC. (PREVALENCIA DE BRUCELOSIS BOVINA DE UN HATO DE LA REGIÓN LAGUNERA)

POR:

EDILBERTO RODRÍGUEZ CRUZ

TESINA

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL TÍULO DE:

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

TORREÓN, COAHUILA MÉXICO

FEBRERO 2012

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



PREVALENCIA DE BRUCELOSIS BOVINA DE UN HATO DE LA REGIÓN LAGUNERA

POR: EDILBERTO RODRÍGUEZ CRUZ

TESINA

QUE SOMETE A LA CONSIDERACIÓN DEL H. JURADO CALIFICADOR COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL TÍTULO DE

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

APROBADO POR EL JURADO:

M.C. David Villarreal Reyes
PRESIDENTE

COORDINADOR DE LA DIVISIÓN REGIONAL DE CIENC

M. V. Z. RODRIGO ISIDRO SIMÓN ALONSO

Coordinación de la División Regional de Ciencia Animal

TORREÓN, COAHUILA, MÉXICO

FEBRERO 2012

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO UNIDAD LAGUNA

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL



PREVALENCIA DE BRUCELOSIS BOVINA DE UN HATO DE LA REGION LAGUNERA

TESINA

QUE SOMETE A LA CONSIDERACIÓN DEL H. JURADO CALIFICADOR COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL TÍTULO DE

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

APROBADO POR EL JURADO:

M. C. David Villarreal Reves

PRESIDENTE

M. V. Z. Carlos Raul Rascon Díaz

VOCAL

M. V. Z. Silvestre Moreno Avalos VOCAL

M. V. Z. Rodrígo I. Simón Alonso VOCAL SUPLENTE

COORDINADOR DE LA DIVISIÓN REGIONAL DESCRENCIA ANIMAL

M. V. Z. RODRIGO ISIDRO SIMÓN ALO

Coordinsción de la División Regional de Clencle Animal

TORREÓN, COAHUILA, MÉXICO

FEBRERO 2012

AGRADECIMIENTOS

Quiero darle gracias a Dios por darme la oportunidad de existir y de permitirme terminar mi carrera de M.V.Z., quiero darle gracias a mis padres Bernardo Rodríguez Martínez, Ananías Cruz Pamuceno por el apoyo incondicional que me brindaron, el cual fue muy importante para mi formación como hombre, profesionista y como hijo, también quiero agradecer a mis hermanos y tíos que me orientaron para concluir con este trabajo.

De igual manera quiero agradecer a los Médicos y Doctores que me apoyaron en el trayecto de mi carrera, principalmente a los que me asesoraron, al M.C. David Villarreal Reyes, M.V.Z Silvestre Moreno Avalos, M.V.Z. Carlos R. Rascón Díaz y M.V.Z. Rodrigo I. Simón Alonso.

DEDICATORIAS

Este presente trabajo va dedicado a todas aquellas personas que brindaron su apoyo ya que con mucho esfuerzo y sacrificio me dieron el apoyo para poder terminar la carrera de médico veterinario zootecnista.

A mis padres por haberme dado la vida primero y por apoyarme incondicionalmente haciendo esfuerzos y sacrificios para poder darme la tranquilidad de seguir adelante, por darme todo aquello que necesitaba, por haberme enseñado en la vida las cosas que debe de hacer uno para poder lograr sus metas y no quedarse viendo la vida de diferente manera, por darme los consejos que se necesitan en la vida para poder ser una gran persona, por esto y por muchas cosas más les dedico este trabajo.

A mis hermanos Juan Carlos, Yesenia y David que supieron ser pacientes y confiaron en mí para poder lograr esta meta.

También va dedicada para Katy mi novia que me animó a seguir adelante y no dejó que quedara esto a medias.

De igual manera va dedicada a todas aquellas personas que no confiaron en mí pero con esfuerzos y sacrificios aquí está este resultado.

ÍNDICE GENERAL

>	AgradecimientosI
>	DedicatoriasII
>	Índice generalIII
>	ResumenIV
>	Introducción1
>	Marco teórico2
>	Objetivo general10
>	Objetivos particulares10
>	Materiales y métodos11
>	Resultados
>	Conclusión14
>	Bibliografía15

RESUMEN

La brucelosis es una enfermedad altamente infecciosa de distribución mundial, que ocasionan importantes pérdidas económicas en las UPA y en salud pública. Por tanto, el objetivo de este estudio fue determinar la prevalencia de brucelosis bovina en un hato lechero de la región lagunera. Se utilizaron 2,701 bovinos de leche de la raza Holstein Frisan, a las cuales se les tomó una muestra de sangre, y se les realizó la PT 8% y la Prueba de Rivanol. (PR). La PT al 8%, se empleó para la detección de anticuerpos contra *Brucella*, considerando positivos aquellos sueros con una leve aglutinación; la PR, se empleó para la detección de anticuerpos de los sueros positivos a PT al 8%, considerando positivos una dilución de 1:25 o superior. El análisis indico, que la PT al 8%, marcó una prevalencia del 4.81% (130 bovinos); de dichos animales positivos a PT al 8%, el 24.61% (32 bovinos) resultaron negativos a dicha prueba, mientras el 61.53% (80 bovinos) tuvieron una titulación de 1:200 a la PR. Por tanto, se concluyó que se deben implementar programas de control sanitario basados en monitoreo serológico, para detectar animales infectados en el hato y evitar así la propagación de esta enfermedad en la UPA con la finalidad de incrementar la producción de leche en las mismas.

Palabras clave: Abortos, bovinos, *Brucella abortus*, Rosa de bengala, prueba de rivanol, problemas reproductivos

INTRODUCCIÓN

Un desequilibrio ecológico, provoca el brote de algunas enfermedades que son trasmitidas al hombre, de manera que estas tienen un fuerte impacto económico en las diferentes sociedades y culturas que se han dedicado a la domesticación y producción de las diferentes especies de animales destinadas a la transformación de alimentos para el consumo humano. Aunado a esto, la brucelosis bovina suele presentarse principalmente con problemas reproductivos (PR) con mayor incidencia, que son probablemente la patología más importante por las diversas implicaciones que ocasionan. Estos PR generalmente se caracterizan por infertilidad, repetición de celos, abortos, malformaciones congénitas, nacimientos de crías débiles, prematuras o becerros muertos, así como orquitis e infecciones de las glándulas sexuales accesorias en machos. Lo que provoca serias pérdidas económicas en las Unidades de Producción Animal (UPA). Estos problemas tienen múltiples etiologías. Como la bacteria Brucella sp., causante de dicha enfermedad antes mencionada, de amplia distribución geográfica en la mayoría de los países del mundo. Sin embargo, la alta prevalencia y su constante incidencia, ha provocado que este microorganismo se registre en países en vía de desarrollo. En México, la brucelosis es causa de una importante zoonosis bacteriana que provoca grandes pérdidas económicas, en la ganadería mexicana, principalmente en la producción de leche (Bustamante et al., 2000; D' Pool et al., 2004; Rivera et al., 2004; Córdova et al., 2007).

2. MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes

Bräwer y Lehnent entre 1878 a 1880 determinaron el carácter infeccioso de los abortos en bovinos, mientras 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 y 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* (Rodríguez *et al.*, 2005).

2.2. Brucelosis Bovina

Es una enfermedad infectocontagiosa de gran importancia desde cualquier punto de vista, se encuentra ubicada en la lista B de la OIE donde se enumeran enfermedades trasmisibles que se consideran importantes desde el punto de vista socioeconómico y/o sanitario a nivel nacional. Es ocasionada por bacterias del género *Brucella*, microorganismos Gram negativos, parásitos intracelulares facultativos. Existen 7 especies de *Brucella* (*B. abortus*, *B. melitensis*, *B. suis*, *B. canis*, *B. ovis*, *B. neotomae y B. maris*), pero solo cuatro son capaces de causar la enfermedad y son muy importantes en salud pública. Los miembros de este género, afectan a numerosas especies animales y constituyen un grave problema, no solamente por las pérdidas económicas que provoca en el ganado, sino también por su condición de zoonosis. Es considerada también como una enfermedad ocupacional, ligada a

los trabajos relacionados a la ganadería, como en el caso de carniceros, ganaderos, veterinarios y personal de laboratorio, aunque también afecta a grupos poblacionales debido al consumo de productos lácteos crudos o deficientemente cocidos (Rodríguez *et al.*, 2005; OIE, 2003).

En humanos es causante de la fiebre ondulante o fiebre de malta, siendo este un hospedero accidental. Es endémica y está presente en todo el país, con distintos grados de prevalencia. Los animales se contagian por ingestión de material contaminado o por penetración a través de la piel, y es de rápida difusión a través del organismo, con eliminación por leche, orina, materia fecal, placenta y descargas vaginales. Los animales enfermos abortan y contaminan el ambiente con sus descargas. El macho, en cambio, no juega un rol importante en la difusión de esta enfermedad. Los animales enfermos no padecen síntomas clínicos característicos, solamente trastornos generales, y cuando se sospecha la enfermedad se debe buscar una elevación en los títulos de anticuerpos séricos. La prueba de elección es la de antígeno bufferado en placa, BPA, 2-mercaptoetanol, Rosa de Bengala (Prueba de Tarjeta 8%), y Prueba de Rivanol, más el aislamiento de *Brucella* en leche, calostro y fetos abortados (Omer *et al.*, 2007).

2.2.1. Estructura Antigénica

Los microorganismos del género *Brucella* son cocobacilos Gram negativos, no esporulados, acapsulados, carentes de pilis o flagelos. Poseen una envoltura celular característica: la membrana externa (ME), la membrana interna y un espacio periplásmico intermedio. En el periplasma hay proteínas y un gel glucopeptídico denominado peptidoglicano (PG) responsable de la forma e integridad osmótica de la bacteria. El citoplasma es rico en ADN, ARN, y proteínas citosólicas, algunas de ellas importantes desde el punto de vista del diagnóstico (Estein, 2006).

2.2.2. Antígenos de membrana externa

Los antígenos de la ME de *Brucella* representan el punto de contacto inicial entre el patógeno y el hospedador. Las moléculas mejor caracterizadas corresponden a dos grupos: el lipopolisacárido (LPS) y las proteínas de la membrana externa (OMPs: "outer membrane proteins") (Estein 2006).

2.2.2.1. Lipopolisacáridos

Las especies de *Brucella* pueden ser clasificadas como "lisas" (smooth, S) o "rugosas" (rough, R) de acuerdo al aspecto de las colonias en medio sólido (Estein 2006). Las cepas de *Brucella* en fase lisa son las más virulentas y su ultraestructura es semejante a la de algunas enterobacterias (*Yersinia enterocolítica*, *Salmonella Iandau*, *Pseudomona maltophilia*, *Escherichia coli*), aunque presenta ciertas diferencias en las características de su membrana externa (ME) (Castro, 2005).

La ME de *Brucella* es rica en fosfatidilcolina a diferencia de la perteneciente a las enterobacterias relacionadas con ella, que es rica en fosfatidiletanolamina. Su componente más abundante y mejor estudiado es el LPS, que se conoce también con el nombre de endotoxina. En él se distinguen tres regiones: el lípido A, inserto en la hoja externa de la membrana, un oligosacárido intermedio, llamado núcleo, y el polisacárido O (PSO), también conocido como cadena O, ausente o presente con pocos residuos en el LPS-R (Fig. 1) (Estein 2006; Castro *et al* 2005; Moreno *et al.*, 2009).

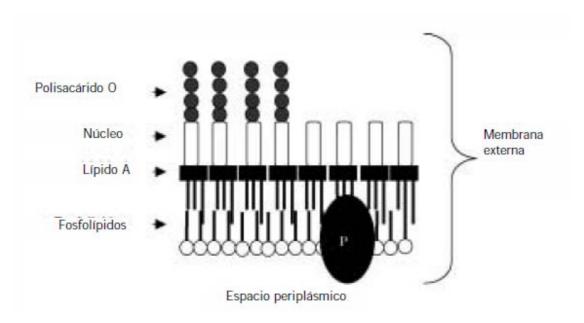


Figura 1: Esquema simplificado de la membrana externa de la pared celular de Brucella. El LPS-S de las formas lisas está constituido por el lípido A, el núcleo y el polisacárido O (PSO). El LPS-R de las formas rugosas carece de cadena O o está reducida a muy pocos residuos (Castro *et al.*, 2005).

2.2.2.2. Proteínas de la membrana externa (OMPs: "outer membrane proteins")

Las OMPs de *Brucella* se clasifican en mayores y menores de acuerdo con su abundancia relativa, hallándose ambas intercaladas en la membrana y estrechamente unidas al LPS por fuerzas hidrofóbicas. Muchas de estas OMPs han sido caracterizadas desde el punto de vista genético, inmunológico, estructural y funcional (Estein, 2006).

2.2.2.3. Antígenos Internos

En *Brucella* han sido identificadas varias proteínas periplásmicas inmunogénicas cuyos genes han sido clonados, tales como la superóxido dismutasa (SOD) dependiente de Cu y Zn (Bricker *et al.*, 1990; Beck *et al.*, 1990), y BP26 o CP28 (Cloeckaert *et al.*, 1996; Rossetti *et al.*, 1996) y P39 (De Fays *et al.*, 1999). Entre las proteínas citosólicas se han caracterizado las proteínas del estrés térmico: GroEL, GroES, DnaK, HtrA; las proteínas YajC, UvrA; la bacterioferritina (BFR), la gliceraldehído-3- fosfato deshidrogenasa

(GAPDH) y las proteínas ribosomales: L7/L12 y cp24. También se han identificado y purificado proteínas de actividad desconocida con pesos moleculares de 14 kDa, 22,9 kDa y 32,2 kDa (Estein, 2006).

2.3. Estructura interna

Las proteínas citoplasmáticas de las bacterias del género *Brucella* son específicas de ese género y la mayoría son compartidas por todas las especies. Algunas de estas proteínas son de interés diagnóstico, como por ejemplo la glicoproteína A2 termorresistente, una proteína de 17 kDa, involucrada en la síntesis de riboflavina, que aparece en la fase activa de la infección y la proteína periplásmica BP26. Todas estas proteínas forman parte de un antígeno denominado CP, empleado en pruebas de ELISA (Castro, 2005).

2.4. Prevención de la enfermedad

Para controlar la enfermedad, las medidas recomendables son el sacrificio de todos los animales enfermos, la desinfección de corrales e instalaciones, así como la vacunación como principal herramienta para el control de la enfermedad, pero para ser efectiva debe de ir acompañada de buenas prácticas sanitarias y diagnósticas (Jacabo *et al.*, 2002; Navarro *et al.*, 2005).

La prevención de la diseminación de la brucelosis se basa en la administración de vacunas adecuadas contra la infección por *B. abortus*, en base a esto, han utilizado clásicamente cepas bacterianas atenuadas y componentes antigénicos propios de la *Brucella*. Para inducir en forma preferencial una respuesta de tipo humoral (Rivers *et al.*, 2006). Las vacunas tradicionales en brucelosis han seguido dos líneas principales de desarrollo: las vacunas atenuadas vivas y las vacunas inactivadas o bacterinas (homólogas o heterólogas), en ambos casos se trata de vacunas celulares (Bacteria entera). (Estein, 2006).

2.4.1 Vacunación celular

2.4.1.1 Vacunas vivas atenuadas

El empleo de vacunas atenuadas asegura la inducción de una respuesta inmunitaria completa contra un gran número de componentes y una reestimulación del sistema inmune gracias a la replicación de la bacteria. Estas cepas son capaces de establecer una infección limitada imitando el proceso de infección natural por cepas silvestres y confiriendo de esta manera protección contra el aborto y la infección. Sin embargo, el empleo de estas vacunas puede ocasionar abortos en las hembras gestantes e infertilidad por infección genital. Por otro lado, estas vacunas (también denominadas aglutinógenas) inducen Ac que interfieren con las pruebas serológicas de rutina, impidiendo la diferenciación entre animales infectados y vacunados. Tal es el caso de *Brucella abortus* S19. (Estein, 2006)

La cepa 19 de *Brucella abortus* es una cepa lisa que posee la cadena O del LPS, por ello, en animales inmunizados con esta cepa se pueden observar anticuerpos específicos contra este antígeno del tipo IgG1, IgG2b e IgM. El defecto genético que permite la atenuación de esta cepa aún no ha sido definido, pero hace que pierda un mecanismo de virulencia esencial. Su efectividad en el ganado bovino depende de variables como la edad de vacunación, dosis, ruta de administración y de la prevalencia de la brucelosis en el rebaño vacunado. Los anticuerpos inducidos por la vacunación con esta cepa interfieren con el diagnóstico tradicional de bovinos infectados con cepas silvestres de *B. abortus*, por lo que tiene un uso limitado en la vacunación del ganado (Rivers *et al.*, 2006); Al respecto, se han implementado modificaciones en la forma de administración: por un lado la reducción de la dosis inyectada, permitiendo vacunar animales púberes sin consecuencias serológicas duraderas. Por otro lado, el uso de la vía conjuntival ha mostrado inducir buena inmunidad con una respuesta serológica de corta duración, permitiendo incluso la revacunación (Estein, 2006)

Brucella abortus 45/20. La cepa 45/20 es una cepa rugosa, fue desarrollada por 20 pasajes repetidos de Brucella abortus 45 en cobayos. A pesar de que no induce anticuerpos contra la cadena O del LPS e induce una protección significativa contra la infección por Brucella abortus, no es muy utilizada porque es inestable y puede revertir a su forma virulenta in vivo. La cepa 45/20 también ha sido utilizada en forma inactiva, pero adicionada junto a un adyuvante oleoso, la que ha demostrado una relativa efectividad, pero provoca una reacción inflamatoria local en el sitio de la inyección. (Rivers y Col. 2006)

Brucella abortus RB51, es una cepa rugosa, resistente a rifampicina, que ha sido derivada de la cepa virulenta Brucella abortus 2308. Esta cepa es utilizada desde 1996 contra la brucelosis bovina en Estados Unidos y en otros países. Es administrada en dosis que fluctúan entre 1x1010 y 4x1010 UFC por mililitro (Unidades Formadoras de Colonias) en bovinos no menores de 4 meses de edad. La protección que proporciona la vacunación con esta cepa se debe a la activación de linfocitos T. La vacunación induce altos niveles de IFN-Υ, lo cual es fundamental en las etapas primarias de la infección. La inoculación intraperitoneal de B. abortus RB51 en ratones resulta en una colonización del bazo que desaparece luego de cuatro semanas postinmunización . La vacunación del ganado permite la diferenciación entre bovinos vacunados y aquellos infectados con cepas silvestres debido a que no induce anticuerpos contra la cadena O del lipopolisacárido. Sin embargo, se ha determinado que puede causar placentitis, endometritis e infección fetal, en vaquillas adultas que han sido vacunadas durante la preñez. Las vacunas vivas son patógenas para el hombre. Esto impone, por un lado, precauciones particulares durante la manipulación de la vacuna, y por el otro, introduce un importante problema de salud pública (Ramírez et al., 2009; Rivers et al., 2006; Estein, 2006).

2.4.1.2 Vacunas subcelulares

Las vacunas subcelulares (fracciones más o menos purificadas) reúnen importantes ventajas:

a) son seguras e inocuas, ya que no existe posible reversión a la forma salvaje como en las vacunas vivas atenuadas, ni peligro de transmisión a animales sanos;

- b) son más específicas, ya que en su diseño deberían ser incluidos antígenos diferentes de los empleados en el serodiagnóstico para poder distinguir animales infectados de vacunados;
- c) son eficaces, debido a que sólo incluyen aquellos antígenos capaces de inducir inmunidad protectora y adyuvante y/o citoquinas que mejoren su presentación, dirigiendo asimismo el impacto sobre el sistema inmunitario. (Estein, 2006).

Se han probado distintos antígenos de Brucella en su capacidad de inducir respuesta inmune mediada por células. Estos antígenos forman parte de la estructura de la bacteria, como la lipoproteína de 18 kDa presente en la superficie de Brucella, la proteína periplásmica P39, la proteína bacterioferritina y la proteína ribosomal L7/L12, que produce una protección equivalente a la alcanzada con la cepa 19 de B. abortus en ratones, con activación de células T CD4+ que secretan niveles significativos de IFN-Y. Las proteínas bacterioferritina y P39 no producen niveles significativos de protección contra Brucella, aunque se utilicen adyuvantes como CpG en su administración. También se han probado proteínas de choque térmico, como las proteínas UvrA, GroEL, GroES y HtrA de B. abortus, ya que se ha encontrado que éstas son altamente inmunogénicas en el curso de la infección con Brucella, estimulando tanto la inmunidad celular como la inmunidad humoral en el huésped infectado; sin embargo, no son capaces de estimular una respuesta inmune protectora eficiente frente a la infección con Brucella. A partir del extracto de proteínas totales de B. abortus RB51 se purificaron dos proteínas: una de 22,9 y otra de 32,2 kDa, de las cuales sólo la proteína de 22,9 kDa demostró ser capaz de otorgar cierto grado de protección. Los mejores resultados se han obtenido con la proteína de 18,5 kDa, SOD Cu/Zn de B. abortus, que es capaz de inducir una respuesta celular de tipo Th1, con inducción de la producción de IFN-Y e IL-2, pero no de IL-4 y además la capacidad de inducir una respuesta inmune protectora.(Rivers et al., 2006).

3.-OBJETIVOS

3.1. OBJETIVO GENERAL

Determinar la prevalencia de brucelosis bovina en una unidad de producción perteneciente a la región de la comarca lagunera en el municipio Gómez Palacio Durango.

3.2. OBJETIVOS PARTICULARES

- Por medio de la prueba rosa de bengala o tarjeta (PT) se determinará si los bovinos a estudiar presentan anticuerpos infecciosos a *Brucella*.
- Determinación de la prevalencia de brucelosis bovina en una unidad de producción lechera
- Desarrollar planes de control y prevención de la enfermedad

4. MATERIAL Y MÉTODOS

El presente estudio se realizó en una Unidad de Producción Animal (UPA) ubicada en el municipio de Gómez Palacio Durango, el cual posee una extensión territorial de 990.2 Km² de la superficie total del estado. Cuenta con una población de 257 352 habitantes, una altitud de 1138 msnm con una temperatura máxima de 42°C y mínimas de -0°C. Limita al norte con el municipio de Tlahualilo; al sur con Lerdo y al oriente con municipios de Torreón, Matamoros y San Pedro de las colonias del Estado de Coahuila (INEGI, 2010).

4.1. Metodología

Se trabajo en una UPA lechera, regida por un tipo de crianza de tipo intensivo con una población de 2701 bovinos hembras de la raza Holstein Frisan, de las cuales 998 eran vacas en producción con una edad promedio de 38 meses, 1075 eran vaquillas inseminadas y preñadas de 13-23 meses y 628 eran becerras de 4-12 meses. De estos animales se colectó una muestra de sangre por venopunsión coccígea empleando el sistema vacutainer aséptico de 5ml, de estos sangrados se obtendrá el suero por centrifugación a 3000 rpm x 10 min.

El diagnóstico se realizo en el laboratorio de Serología del Comité de Campaña de Erradicación de la Tuberculosis Bovina y Brucelosis de la Región Lagunera de Coahuila y Durango, ubicado en la ciudad de Torreón Coahuila. Donde a los sueros obtenidos del muestreo se les practicó la Prueba de Tarjeta (PT) al 8% y la prueba de Rivanol (PR).

Prueba de Tarjeta al 8% (PT). Se utilizará un antígeno de B. Abortus cepa 1119-3 a una concentración celular del 8% que se utiliza en bovinos con un pH de 3.5 ± 0.05 teñido de rosa de bengala. Esta técnica se realizará sobre una placa de vidrio cuadriculada a manera que se puedan hacer hasta 20 pruebas a la vez, colocando 0.03ml de antígeno mas 0.03ml de suero problema, mezclándose durante cuatro minutos e inmediatamente se efectuará la lectura girando rotatoriamente la placa para observar posibles aglutinaciones. Se

consideraran como positivos aquellos sueros que presenten cualquier grado de aglutinación, mientras los negativos serán aquellos sin aglutinación (Díaz *et al.*, 2000).

Prueba de Rivanol. Esta técnica es complementaria para el diagnostico oficial de brucelosis, ya que detecta anticuerpos de clase IgG, que están fuertemente ligados al estímulo antigénico y su presencia está relacionada con una infección activa o crónica, pudiendo así diferenciar animales vacunados con cepa 19 con una sensibilidad del 83% y especificidad del 93%. Se empleará solución de Rivanol al 1% y el antígeno elaborado con la cepa 1119-3 de Brucella abortus con una concentración celular del 4%, teñido con una mezcla de verde brillante y cristal violeta con un pH de 5.8 a 6.32. En un tubo de ensaye se mezclaran 40µl de solución de rivanol mas 40µl de suero dejándose reposar por 30min; con el sobre nadante color amarillo se realizará la prueba. En una placa de vidrio cuadriculada depositar 80µl, 40µl, 20µl, 10µl y 5µl de sobrenadante, agregar 30µl de antígeno para rivanol a cada volúmen, de esta forma se obtendrán diluciones de 1:25, 1:50, 1:100 y 1:400 respectivamente, mezclar desde la dilución mayor a la menor por cuatro veces y dejar reposar 6min, efectuar la lectura observando posibles aglutinaciones girando la placa rotatoriamente. Si en los animales no vacunados da aglutinación completa a una dilución 1:25 será considerado positivo mientras que en animales vacunados se considerará sospechoso y una aglutinación 1:50 se dará como positivo (Díaz et al., 2000).

Interpretación:

Positivo (+): hay aglutinación completa y los grumos formados están separados por líquido claro.

Positivo incompleto (+): hay aglutinación definida, pero no hay claridad completa en el líquido circundante a los grumos

Negativo (-): no hay aglutinación.

El resultado se expresa como positivo, seguido del título del suero en que ocurra la reacción (Díaz *et al.*, 2000).

5. RESULTADOS

La prevalencia de brucelosis presente en el hato lechero fue de 4.81% (130 bovinos), lo cual nos indica que el uso de la PT 8% permitió determinar que estos animales posiblemente han tenido contacto con este agente infeccioso aunque no es muy significativa. En tabla 1 se presenta la prevalencia del hato.

Tabla 1. Prevalencia de brucelosis bovina en un hato lechero del Municipio de Gómez Palacio Dgo.

	Animales		
	N^{\bullet}	Positivos	Prevalencia %
Hato Lechero	2,701	130	4.81

De los 130 bovinos positivos a PT 8%, el **24.61%** no presentaron títulos a PR, el 3.84% marcaron títulos a 1:25, el 3.07% a 1:50, el 6.92% a 1:100 y el **61.53%** a 1:200. Esto nos muestra que los 130 bovinos positivos a brucelosis puedan estar en diferentes estadíos de la enfermedad por la titulación arrojada por PR. En la tabla 2 se muestra en número de animales positivos a la PR.

Tabla 2. Animales positivos a la Prueba de Rivanol (PR)

		Prueba de Rivanol		
Negativos	1:25	1:50	1:100	1:200
32	5	4	9	80
24.61%	3.84%	3.07%	6.92%	61.53%

6. CONCLUSIÓN

En México, la brucelosis bovina es una enfermedad altamente infecciosa, causada principalmente por *B. abortus*, y se caracteriza por provocar abortos, disminución de la fertilidad y de la producción de leche hasta un 20%, afectando a diferentes especies animales tanto domesticas como silvestres, lo que ocasiona importantes pérdidas económicas en las UPA y en salud pública por su condición zoonótica, al ser una infección de distribución mundial.

Es por ello, que basándonos en los resultados presentados en este estudio y lo antes mencionado se concluye que la brucelosis es una enfermedad de importancia en México, donde actualmente los intentos de prevenir esta enfermedad se reducen a la aplicación de vacunas, sin embargo, no existe tratamiento que asegure la erradicación total de la enfermedad en la UPA, puesto que, esto conlleva a la eliminación de animales infectados, cosa que no resulta viable para grandes, medianos y pequeños productores y que toda pérdida afecta considerablemente su economía. Por tanto se deben implementar programas de control, basados en monitoreo serológico continuo con la finalidad de identificar oportunamente vacas que empiezan la enfermedad para así poder evitar que contagien a otros animales al momento del parto, el aborto o secreciones lácteas; la incidencia de dicha patología se verá disminuida, además de enfatizar un esfuerzo para la eliminación paulatina de estos animales seropositivos del hato, garantizando el control de estas enfermedades, mejorando así la eficiencia reproductiva y la producción de leche que se verá reflejada directamente en la UPA.

BIBLIOGRAFÍA

Bustamante SJ., Salazar HF., Díaz AE., Manzano CC., Pérez GR., Hernández AL., 2000. Estudio bacteriológico y serológico de Brucelosis en vacas revacunadas con dosis reducida de cepa 19 de *Brucella abortus*. *Téc Pecu Méx*; 38(1): 36-42

Castro HA. González SF. Prat MI. 2005. Brucelosis: una revisión práctica. Acta Bioquím Clín Latinoam. 39 (2): 203-16

Córdova IA., Córdova JC., Saltijeral OJ., Ruiz LC., Xolalpa CV., Córtes SS., Guerra LJ. 2007. Enfermedades abortivas en bovinos. Rev. Vet. 18(2):139-142.

D' Pool G., Rivera PS., Torres T., Pérez M., García A., Castejón O., Rojas N., 2004. Prevalencia de Brucelosis Bovina Mediante Elisa Competitivo en el Municipio La cañada de Urdaneta, Estado Zulia, Venezuela. *Revista Científica*; 14(2).

Estein SM.2006. Brucelosis: Inmunidad y vacunación (revisión bibliográfica). Revista REDVET 7(5): 1-25

Institute for International Cooperation in Animal Biologics (OIE). May 2003

Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI). 2009. www.inegi.gob.mx

Jacabo RA., Anderson L., Storani CA., Stamatti GM., Cipolini MF., 2001-2002. Diagnostico serológico de brucelosis bovina: variaciones de resultados postvacunales. *Redvet*; 12/13: 1 y 2

Díaz, E., Hernández, L., Arellano, B., et al. 2000. Diagnostico de Brucelosis Animal. Cenid Microbiología INIFAP-SAGAR. México pp.

Navarro VA., Bustamante NJ., Guillen OA., 2005. Estrategias de prevención y control de la brucelosis humana en el Perú. *Rev Perú Med Exp Salud Pública*; 22(2).

Omer M., Abdelaziz A., Abusalab M., Ahemed M., 2007. Survey of Brucellosis Among Shee, Goats, Camels and Cattle in Kassala Area, Eastern Sudan. *Journal of Animal and Veterinary Advances*; 6 (5): 635-637.

Ramírez C., Ernst S., Elvinger F., 2009. Respuesta serólogica a la vacunación contra brucelosis en bovinos provenientes de un rebaño libre vacunados con dosis de la vacuna cepa RB51. Arch. Med. Vet.; 41: 171-174

Rentería ET., Nielsen K., Licea NA., Montaño GF., Moreno RF. 2003. Evaluación de un programa de control de la brucelosis bovina en hatos lecheros de Baja California. Tec. Pecu. Mex. 41(3): 275-282.

Rivera GH., Benito ZA., Ramos CO., Manchego SA., 2004. Prevalencia de Enfermedades de Impacto Reproductivo en Bovinos de la Estación Experimental del Trópico del Centro de Investigaciones IVITA. *Rev Inv Vet Perú*; 15(2): 120-126

Rivers R., Andrews E., González-Smith A., Donoso G., Oñate A., 2006. *Brucella abortus:* Inmunidad, vacunas y estrategias prevención basadas en ácidos nucleicos. Arch. Med. Vet.; 38(1): 7-18

Rodríguez VY. Ramírez SG. Antúnez SF. Pérez BY. Ramírez PA. 2005. Brucelosis bovina, aspectos históricos y epidemiológicos. REDVET 6(9): 1-9