

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



**DIAGNÓSTICO SEROLÓGICO DE *Brucella melitensis* EN
CAPRINOS MACHOS DE TORREÓN COAHUILA**

POR:

AURORA ALEJANDRA LUEVANO GUTIERREZ

TESIS

**PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA
OBTENER EL TÍTULO DE:**

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

TORREÓN, COAHUILA, MÉXICO

MAYO DE 2012

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
ANTONIO NARRO
UNIDAD LAGUNA
División Regional de Ciencia Animal**

TESIS

**“Diagnóstico serológico de *Brucella melitensis* en
caprinos machos de Torreón, Coahuila”**

APROBADA POR EL COMITÉ PARTICULAR DE REVISIÓN

ASESOR PRINCIPAL



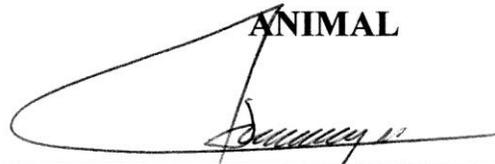
M.C.V. RAMÓN ALFREDO DELGADO GONZÁLEZ

COASESOR



M.V.Z. FERNANDO RIVERA OLVERA

**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

Mayo de 2012

“Diagnóstico serológico de *Brucella melitensis* en caprinos machos de Torreón, Coahuila”

TESIS ELABORADA BAJO LA SUPERVISIÓN DEL COMITÉ PARTICULAR DE ASESORIA Y APROBADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

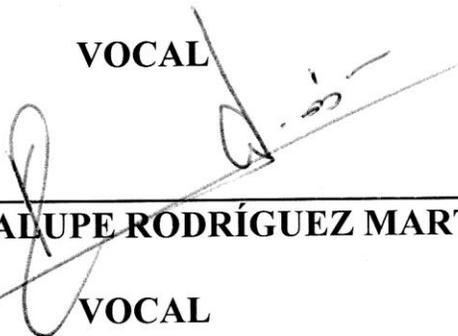
MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

PRESIDENTE



M.C.V. RAMÓN ALFREDO DELGADO GONZÁLEZ

VOCAL



M.V.Z. J. GUADALUPE RODRÍGUEZ MARTÍNEZ

VOCAL



M.C. MA. GUADALUPE DE LA FUENTE SALCIDO

VOCAL SUPLENTE



M.V.Z. LUIS JAMIER PRADO ORTIZ

DEDICATORIA

A Dios:

Por permitirme llegar a este día en el que doy un paso más en mi vida en mi formación, porque a pesar de los obstáculos siempre estuvo conmigo dándome fuerza para continuar a pesar de que no ha sido sencillo. Le agradezco por dejarme llegar hasta aquí.

A mis padres:

Rodrigo Gerardo Luévano Castañeda y Guadalupe Gutiérrez Hernández.

Por darme la vida, por apoyarme, por darme siempre aliento por sus palabras sinceras, sus consejos, por los jalones de orejas, por acompañarme en mi camino, los valores que me dieron y que hoy hacen de mi la mujer que soy. Por educarme porque ambos trabajaron con mucho esfuerzo y sin quejarse para darme mi carrera. Gracias por amarme como soy y por todo lo que me han dado y espero desempeñarme de la mejor manera tanto en mi carrera como persona para que estén orgullosos de mi.

A mis hermanos:

Silvia Carolina, Vanessa Guadalupe, Clara Angélica.

Hermanas porque hemos compartido cosas buenas y malas, que nos han ayudado a crecer, que aunque cada una con su carácter muy distinto nos hemos mantenido juntas. Gracias por ser además de hermanas amigas de toda la vida.

A mis familiares:

Agradezco a esta gran familia que dios me a dado llena de tíos primos que siempre han creído en mi y que me han dado siempre palabras de aliento. A mis abuelos que aunque algunos ya no están aquí siempre me dieron todo su amor y que yo se que desde le cielo están felices de verme terminar mi carrera y a mi abuela Silvia Hernández Ríos porque siempre tiene para mí todo su cariño, abrazos y besos te amo abuelita.

A mi pareja:

Clara Azucena Escobedo García.

Por regalarme momentos felices e inolvidables, por su apoyo, su comprensión, por estar en las buenas y en las malas a mi lado y por hacerme más feliz el camino por esta vida gracias por estar siempre a mi lado. Te amo.

A mis amigos:

A esos amigos que se volvieron mis hermanos, por compartir las penas y las alegrías que estuvieron desde el inicio de mi carrera por su apoyo por brindarme siempre el abrazo necesario, la sonrisa por hacer más alegres mis días por sus palabras por los jalones de orejas entre ellos puedo mencionar a Isabel Fernández Torres, Selene Zavaleta Muñiz, Brenda Mariana Hernández Cuellar.

Por esas tardes de estudio que se volvían mas amenas con su compañía, por las salidas a prácticas, los congresos por cada uno de esos pequeños momentos que se quedaran por siempre en mi mente. Gracias amigos

AGRADECIMIENTOS

Les agradezco a todas las personas que me apoyaron para que este trabajo se haya podido llevar a cabo, entre esas personas se encuentran el MCV Ramón Alfredo Delgado Gonzales por ayudarme a realizar mi trabajo de tesis por toda su dedicación, paciencia y sus palabras, usted sabe médico que más que como mi asesor de tesis lo veo como un amigo, al MVZ Fernando Rivera Olvera quien me dio la oportunidad de realizar mis prácticas en el Comité de Campaña de Erradicación de la TB y Brucelosis de la Región Lagunera por su apoyo incondicional para realizar mi trabajo de tesis facilitándome el uso del laboratorio, muchísimas gracias médico.

De igual manera agradezco a las personas que forman parte del comité a la MVZ Alma Salinas Ávila por compartir todos sus conocimientos sobre el tema, a las Químicas que trabajan en el Comité de Campaña por tenerme la paciencia de enseñarme a realizar las pruebas y a todos los médicos que trabajan ahí por ofrecernos todo su apoyo y conocimientos.

Así también le agradezco a mi Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro U.L. por haberme permitido obtener los conocimientos básicos referentes a mi carrera, gracias a todos mis maestros, los cuales me brindaron sus conocimientos y me motivaron con ello a dedicarle un gran empeño a esta carrera tan hermosa como lo es la Medicina Veterinaria y Zootecnia. Me siento muy orgulloso de haber concluido mis estudios profesionales en esta institución y espero poner su nombre muy en alto.

CONTENIDO

| | |
|-----------------------------------|-----|
| ÍNDICE DE FIGURAS Y CUADROS..... | v |
| RESUMEN | vi |
| I. INTRODUCCIÓN | 1 |
| II. ANTECEDENTES | 2 |
| 2.1 Definción | 3 |
| 2.2 Etiología | 4 |
| 2.3 Epidemiologia..... | 5 |
| 2.4 Patogenia | 8 |
| 2.5 Lesiones | 10 |
| 2.6 Diagnóstico..... | 13 |
| 2.7 Control y tratamiento | 16 |
| III. JUSTIFICACION..... | 21 |
| IV. HIPOTESIS..... | 21 |
| V. OBJETIVOS | 22 |
| VI. MATERIALES Y METODOS | 23 |
| VII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN | 266 |
| IX. CONCLUSIONES | 29 |
| X. LITERATURA CITADA..... | 300 |

ÍNDICE DE FIGURAS Y CUADROS

| | Página |
|--|--------|
| Figura 1. Orquitis en macho producto de la infección por <i>Brucella</i> . | 10 |
| Figura 2. Epididimitis en macho producto de la infección por <i>Brucella</i> . | 11 |
| Figura 3. Cola del epidídimo de un carnero con brucelosis. | 11 |
| Figura 4. Ubicación del Municipio de Torreón en el Estado de Coahuila. | 23 |
| Figura 5. Antígeno elaborado con la cepa 1119-3 de <i>Brucella abortus</i> . | 24 |
| Figura 6. Realización de la Prueba de Tarjeta con Rosa de Bengala. | 25 |
| Figura 7. Ubicación de ejidos con resultados positivos, en Torreón Coahuila | 28 |
| Cuadro 1. Especies de brucelas que afectan a los animales domésticos y silvestres | 3 |
| Cuadro 2. Resultados | 27 |

RESUMEN

La *Brucella* causa enfermedad en caprinos, ovinos, bovinos, porcinos, caninos, mamíferos marinos y varias especies silvestres de animales. La principal manifestación de la brucelosis en caprinos son fallas reproductivas en hembras, abortos y nacimiento de crías débiles y en machos causa orquitis y epididimitis, ocasionando grandes pérdidas económicas al productor y al sector salud por ser una enfermedad zoonótica. El objetivo del presente trabajo fue obtener un censo del número total de machos caprinos en el Municipio de Torreón, Coahuila y conocer la prevalencia de brucelosis. El estudio comprendió un muestreo de sangre de 165 machos caprinos de 23 ejidos y se trabajaron con la Prueba de Tarjeta con Rosa de Bengala. Los resultados obtenidos fueron 43 muestras positivas (26.06%) y 122 negativas (73.93%), mostrando una alta prevalencia de la enfermedad pese a las medidas de control y campañas de vacunación que se llevan a cabo en la región.

Palabras clave: *Brucella melitensis*, brucelosis, machos caprinos, Prueba de Tarjeta.

I. INTRODUCCIÓN

La *Brucella* causa enfermedad en caprinos, ovinos, bovinos, porcinos, caninos, mamíferos marinos y varias especies de animales silvestres. La cabras es el hospedador natural de *Brucella melitensis* (Gomes y col., 2006; Luo y col., 2006; Abbas y col., 2002; Leclerq y col., 2002; Godfroid, 2002; Garin-Bastuji y col., 1998; Corbel, 1997; Blasco, 1997). La principal manifestación de la brucelosis en animales son fallas reproductivas, en hembras abortos y nacimiento de crías débiles y en machos causa orquitis y epididimitis (Rahman y col., 2006).

Causa una zoonosis en todo el mundo y es una de las mayores causas de aborto en borregas y cabras, y el organismo es secretado en la leche e infecta a otros animales (Cassataro y col., 2004; Garin-Bastuji y col., 1998; Blasco, 1997; Elberg, 1981). Es conocida también como Fiebre de Malta, Fiebre del Mediterráneo, Fiebre Ondulante y Enfermedad de Bang (Taminiau, 2002; Malavolta y col., 2002; Abbas y col., 2002; Kreeger y col., 2002; European Commission, 2001). Es la enfermedad bacteriana de mayor prevalencia en el mundo transmitida de los animales al humano con 500,000 casos en humanos al año (Papas y col., 2006; Nicoletti, 2002; Alton, 1990). Las personas contraen la enfermedad por contacto directo con las membranas fetales, o con más frecuencia, es el resultado del consumo de leche contaminada no pasteurizada (Cassataro y col., 2004; Garin-Bastuji y col., 1998; Blasco, 1997; Elberg, 1981).

En la Comarca Lagunera no se tienen datos sobre la prevalencia de brucela en machos caprinos y siendo la caprinocultura una actividad importante en la región, la enfermedad afecta de manera importante a la producción de leche caprina y la venta de pie de cría. Por tal motivo, el objetivo del presente trabajo es conocer la incidencia de la enfermedad en la región, ya que tiene repercusiones en la salud pública, además de que produce pérdidas económicas al productor, y restricciones a los productos que se derivan de estas.

II. ANTECEDENTES

Uno de los primeros registros que existen, para llegar a conocer hoy en día la enfermedad conocida como brucelosis, es que fue una enfermedad que afectó a los marineros a bordo de sus naves en la guerra de Crimea. La Brucelosis entonces llamada Fiebre de Malta se caracterizó por ser una enfermedad crónica debilitante con la complicación de reumatismo, por lo que muchos marineros presentaron invalidez cada año (Wyatt, 1999). El capitán David Bruce fue enviado a Malta y condujo una investigación a partir de 1884. Él aisló un agente al que llamó *Micrococcus melitensis*, a partir de bazo humano de pacientes hospitalizados que habían consumido leche de cabra cruda (Nicoletti, 2002; Alton, 1990).

En 1905 se formó la Comisión Fiebre del Mediterráneo y varios miembros de esta comisión realizaron pruebas serológicas en cabras y encontraron aglutininas en el 50% de los animales. También se aisló la bacteria de la sangre y de la leche en por lo menos el 10% de las cabras. En 1895, el profesor Bernhard Bang, patólogo veterinario y bacteriólogo danés, describió un organismo causante de abortos en bovinos al cual llamó *Bacillus abortus*. En 1914, en Estados Unidos, fue aislada la especie *Brucella* de un feto de cerdo abortado la cual fue llamada *B. suis*. La descripción de los aislamientos de bovinos y cerdos condujo a un reconocimiento de la extensa distribución en otros países. El interés fue muy alto en bovinos en la primera parte del siglo XX, pues el aborto contagioso fue reconocido junto con la tuberculosis como causa seria de pérdidas económicas (Nicoletti, 2002).

El género *Brucella* incluye seis especies, cada una de ellas muestra una preferencia por un hospedador determinado aunque una especie puede infectar varias especies animales, así se tiene que: *B. abortus* infecta normalmente al ganado bovino, *B. melitensis* afecta cabras y ovejas, *B. suis* a cerdos, *B. canis* infecta perros, *B. ovis* causa infección específicamente en ovejas y *B. neotomae* a roedores. El hombre es susceptible a cualquiera de las cuatro primeras especies,

ya que se considera que *B. ovis* y *B. neotomae* poseen una baja virulencia que las restringe solo a ciertos hospedadores. En años recientes, el espectro de hospedadores de *Brucella* se ha ampliado al incluir a los mamíferos marinos (López y Contreras, 2004; Corbel, 1997).

Cuadro 1. Especies de brucelas que afectan a los animales domésticos y silvestres.

| Especies | Hospedador |
|----------------------|--|
| <i>B. abortus</i> | Bovinos, cánidos y hombre |
| <i>B. melitensis</i> | Cabras, bovinos, ovinos, cánidos y hombre |
| <i>B. suis</i> | Cerdos, cánidos y hombre |
| <i>B. canis</i> | Cánidos y hombre |
| <i>B. ovis</i> | Ovinos |
| <i>B. neotomae</i> | Roedores |
| <i>B. maris</i> | Focas, leones marinos, delfines y ballenas |

2.1 Definición

La brucelosis es una enfermedad de gran importancia económica y zoonótica (Garin-Bastuji y col., 1998; Minas, 2005), con alrededor de 500,000 casos en humanos al año (Papas y col., 2006).

La brucelosis caprina es una enfermedad infecto contagiosa crónica producida por alguna de las 3 biovariedades de *Brucella mellitensis* (Alton, 1990) que causa una enfermedad que afecta el aparato reproductivo y que a su vez causa grandes pérdidas económicas ya que provoca abortos y en machos causa orquitis y epididimitis (Rahman y col., 2006; Kolar, 1987).

2.2 Etiología

Los miembros de la familia *Brucellaceae* se consideran bacterias intracelulares Gram negativas (Garin-Bastuji y col., 1998; Blasco, 1997), aerobias e inmóviles (Gomes y col., 2006; Luo y col., 2006; Miyoshi y col., 2006; Zygmunt y col., 2002), de crecimiento lento que no poseen cápsula ni forman esporas. A diferencia de muchas otras bacterias, su genoma está constituido por dos cromosomas circulares y carece de plásmidos (Michaux-Charachon y col., 1997). Tienen un metabolismo oxidativo, basado en la utilización de nitratos como aceptores de electrones. Son catalasa y oxidasa positivos, no modifican la leche y en general no fermentan los azúcares (Wilfert, 1986).

Las brúcelas son bacterias pequeñas de forma cocobacilar, cuya principal característica es su capacidad de replicarse intracelularmente y que manifiestan una gran resistencia a los factores ambientales (Díaz y col., 2000).

El microorganismo es sensible a la luz solar, a los desinfectantes y a la pasteurización, puede sobrevivir varios meses en el agua a temperaturas de 4 °C a 8 °C; 2.5 años a 0° C o durante años congelado. En orina resiste 30 días, en fetos abortados 60 días y 200 en exudado uterino (García-Carrillo, 1987).

Miden de 0.5 a 1.5 µm de largo, son de crecimiento lento, sobre todo en el primer aislamiento y pueden requerir de medios enriquecidos (Acha y Szyfres, 1986; FAO/OMS, 1986; Río, 1988; López- Merino, 1991).

Estructura antigénica de la brucela.

Las brucelas tienen una membrana periplásmica interna, un espacio pariplásmico, una capa de peptidoglicano y una membrana interna. A través de esta última estructura se prolonga al exterior moléculas de lipopolisacáridos (LPS), que están compuestos por una cadena de polisacárido denominada antígeno "O", un oligosacárido y lípido "A". Este tipo de LPS es probablemente, el componente antigénicos más importantes de las brúcelas; sin embargo, también se ha mencionado al polisacárido "B" (poli B), a las proteínas de membrana externa (porinas, proteínas del grupo 3 y una lipoproteína ligada al peptidoglicano).

En base al aspecto de las colonias obtenidas en medio sólido, las diferentes especies de *Brucella* se clasifican habitualmente como lisas (S) o rugosas (R). Dentro de las primeras se encuentran *B. abortus*, *B. melitensis*, *B. suis* y *B. neotomae* y dentro de las segundas *B. ovis* y *B. canis*. El aspecto que adquieren las colonias se debe a la expresión del lipopolisacárido LPS en la superficie bacteriana, LPS-S en las lisas y LPS-R en las rugosas, aunque durante su crecimiento en los medios de cultivo pueden experimentar mutaciones que afectan la expresión del LPS (Cloeckaert y col., 2002).

No obstante que se ha sugerido la existencia de una cápsula, actualmente se reconoce que la cadena polisacárido del LPS es el antígeno inmunodominante de superficie (Nicoletti y Winter, 1990; Tizard, 1995).

2.3 Epidemiología

La brucelosis es una antropozoonosis directa de gran importancia, no solo por la enfermedad que causa en los animales y el hombre, sino por las pérdidas económicas que genera. La enfermedad es altamente transmisible, se propaga con gran facilidad en un hato o rebaño libre que resulte infectado. En animales afecta primordialmente a hembras gestantes, provocando abortos, mortinatos,

nacimientos de crías débiles, baja en fertilidad y hasta 30% de disminución en la producción láctea. En el hombre presenta un cuadro inespecífico y cuyo polimorfismo y curso variado dificulta seriamente el diagnóstico. Los animales infectados y enfermos eliminan a la bacteria a través de sus excretas, productos del aborto, secreciones vaginales y semen (Díaz-Aparicio y col.1990).

La transmisión vertical se da por la infección del feto *in utero* debido a que su madre se encuentra afectada con alguna de estas bacterias. Esta última situación está debidamente sustentada y constituye uno de los mayores problemas en los planes de lucha que se tienen contra la enfermedad, ya que si el producto se infecta dentro del primer tercio de la gestación y no es abortado, los epítomos de la bacteria serán reconocidos como propios por el sistema inmune y así las pruebas diagnósticas convencionales serán incapaces de identificarlos, por lo que este individuo jugará un papel como portador asintomático dentro de la explotación (Tizard, 1997).

La forma principal de contagio es la vía digestiva, esta se produce cuando los animales lamen fetos abortados, terneros recién nacidos y/o los genitales de otros animales, y si estos están brucelosos se produce una ingestión masiva de bacterias. También es importante la ingestión de pastos, forrajes y aguas contaminados con secreciones vaginales y leche de hembras enfermas. Algunos autores consideran que el contagio por vía cutánea tiene por lo menos, la misma importancia, por ejemplo: se pueden producir infecciones mediante las camas infectadas, cuando haya lesiones en las tetillas o en los extremos de los miembros (Rodríguez y col., 2005).

La vía genital puede ser importante solo si se realiza inseminación artificial con semen infectado, de lo contrario, la brucelosis no es una enfermedad venérea (Acha y Szyfres, 1988; López y col., 1991).

La transmisión es menos frecuente por vía respiratoria, mediante la inhalación de polvo y partículas que transportan brúcelas, puede tener importancia durante el verano cuando se reúnen los animales en corrales y mangas para realizar vacunaciones y desparasitaciones (Rodríguez y col., 2002; Rodríguez y col., 2005).

La leche juega un papel fundamentalmente en la transmisión de la enfermedad, tanto a animales lactantes como al hombre, pues grandes cantidades de bacterias se eliminan vía glándula mamaria (Alton y col., 1988; Nicoletti, 1990; Plommet, 1984; Wright y Nielsen, 1990).

De ahí que las principales vías de entrada de la enfermedad al hombre sean a través de la piel intacta o por soluciones de continuidad, a través de las membranas mucosas y la más importante en la población general, a través de la ingestión de leche cruda o derivados proveniente de animales infectados (Michaux-Charachon y col., 2002; Nielsen, 2002).

Estudios epidemiológicos de la Secretaria de Salud, demuestran que la principal forma de contagio para los humanos es el consumo de productos lácteos y leche fresca de animales infectados. Esto se explica en parte por los hábitos de consumo y costumbres de la población al otorgar, empíricamente, mayores propiedades nutritivas a estos productos; por otro lado la *Brucella spp* sobrevive durante mucho tiempo en productos lácteos a bajas temperaturas, por ello la principal estrategia de educación para la salud es que la población consuma leche pasteurizada o hervida y derivados elaborados con esta. Asimismo, se ha observado que no existe, necesariamente, una relación entre los centros de producción y la incidencia de la enfermedad, pues dadas las rutas de comercialización de los productos mencionados, la enfermedad se presenta con igual frecuencia en zonas rurales y urbanas. Por ello en nuestro País no se puede tipificar a la brucelosis como una enfermedad solo de grupos laborales

expuestos al riesgo como veterinarios, ordeñadores, y vaqueros, entre otros (Elberg, 1959; Expert Committee on Brucellosis, 1986).

2.4 Patogenia

Las especies de *Brucella* son patógenas intracelulares facultativas, su virulencia está relacionada con la capacidad que poseen para - resistir el efecto bactericida de los componentes del suero normal, - adherirse, penetrar y multiplicarse en una gran variedad de células eucarióticas, tanto fagocíticas como no fagocíticas. La localización intracelular las mantiene protegidas de los antibióticos y de factores bactericidas del plasma como complemento y anticuerpos, lo que determina la naturaleza crónica de la infección (Guzmán-Verri, y col., 2001).

Los microorganismos de *Brucella melitensis* penetran en el cuerpo a través de las membranas mucosas como son la mucosa bucal, nasal, conjuntival, prepucial, gastrointestinal, y también se han producido infecciones experimentales con aerosoles (Robles, 2008).

En el punto de penetración o mucoso se concentran células polimorfonucleares, que ingieren a los microorganismos, los cuales se multiplican en su interior. A continuación, las bacterias, que en gran parte son intracelulares, son transportadas por los linfáticos a los nódulos regionales (FAO/OMS, 1986).

El resultado de este enfrentamiento es el que determina si la infección invasora va a ser contenida o no. En caso de que no lo sea, las bacterias, que se hallan situadas en el interior de las células polimorfonucleares y mononucleares, son transportadas al torrente sanguíneo, poco después pueden observarse numerosos leucocitos parasitados en los sinusoides hepáticos. Las acumulaciones focales de células de Kupffer contienen una gran cantidad de microorganismo y a los pocos días, forman granulomas típicos. En algunos mamíferos (bovinos, porcinos, ovinos, caprinos) las brúcelas se acumulan en las glándulas mamarias, dando

lugar a una infección en leche y en los órganos genitales, afectando especialmente al útero gestante y provocando el aborto (López- Merino y col., 1991).

Cuando *Brucella melitensis* se establece en el epidídimo, genera una reacción inflamatoria caracterizada por edema perivascular e infiltración celular del tejido conectivo. Se produce hiperplasia del epitelio de los túbulos epididimarios y un proceso de metaplasia conduce a la formación de vesículas intraepiteliales. Los cambios epiteliales conducen a la extravasación de espermatozoides al intersticio causando una fuerte reacción inflamatoria y la formación de granulomas espermáticos en respuesta a la liberación de ácido micólico por parte de los espermatozoides lisados. Las vesículas seminales y las ampollas parecen ser el asiento más común de la infección por *B. melitensis*. Esto explicaría la presencia de machos positivos a la serología de *B. melitensis*, pero sin lesiones palpables en los órganos reproductivos. *B. melitensis* se puede aislar en machos a partir de semen, epidídimo, testículo, vesículas seminales, ampollas de los conductos deferentes, glándulas bulbo-uretrales, hígado, riñón, bazo y linfonodos regionales. De todos ellos, la seminal es la vía más importante de excreción de la bacteria y de transmisión de la enfermedad. El epidídimo puede estar totalmente afectado, pero la situación más común, es que este afectada la cola del epidídimo (Robles, 2008).

2.5 Lesiones

La brucelosis puede reducir la fertilidad de los machos afectados, en diferentes grados dependiendo del estado y severidad de la infección. La bacteria se localiza en el epidídimo, causando una inflamación infecciosa (orquitis) (Figura 1) en el tejido lo cual subsecuentemente causa un bloqueo en el paso del líquido espermático (epididimitis) (Figura 2) (Robles, 2008; Astorga, 2001).

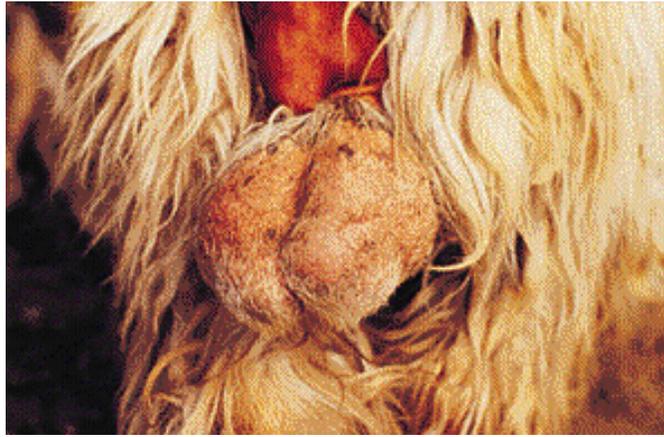


Figura 1. Orquitis en macho producto de la infección de Brucella. Astorga (2001).

El epidídimo o la parte del mismo que esté afectada estará aumentada de tamaño, firme al tacto y con un contorno anormal. Al cortar el órgano aparecen abscesos o granulomas con un contenido cremoso o caseoso y es comprobable un fuerte aumento del tejido conectivo intersticial (Figura 3).



Figura 2. Epididimitis en machos producto de infección por *Brucella*. Astorga (2001).

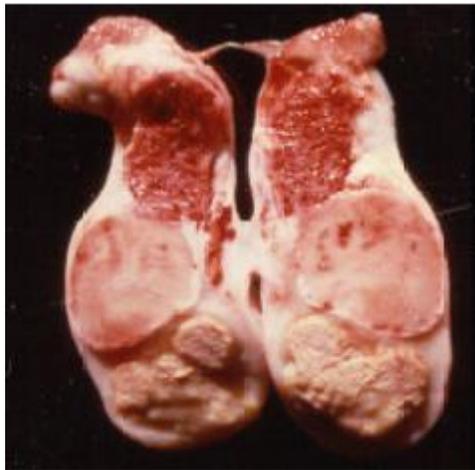


Figura 3. Cola del epidídimo de un carnero con brucelosis. Se observan granulomas y abscesos con material cremoso en su interior y fibrosis. Robles, (2008).

Las lesiones microscópicas en los epidídimos consisten en edema intersticial con infiltración de linfocitos y células plasmáticas. Como resultado del edema intersticial y cambios en el epitelio se produce un angostamiento y obliteración de la luz del túbulo epididimal con éstasis espermático dando lugar a la formación de granulomas o abscesos espermáticos, Estos están conformados por un núcleo de espermatozoides extravasados rodeados por células epitelioides células gigantes

y linfocitos. Comúnmente se desarrolla alrededor del granuloma un proceso activo de fibrosis. Las lesiones microscópicas en las vesículas seminales y ampollas de los conductos deferentes consisten en infiltración de macrófagos, linfocitos, células plasmáticas y neutrófilos dentro del estroma y del epitelio, y procesos de fibrosis e hiperplasia epitelial con vesículas intraepiteliales, similares a lo observado en epidídimo (Robles, 2008).

En fases agudas existe algún aumento de volumen de los linfonodos y tal vez del hígado o bazo debido a infiltración de células plasmáticas y polimorfonucleares y proliferación de células fagocíticas mononucleares. Se puede apreciar la formación de granulomas microscópicos en los órganos afectados. Estudios histológicos sugieren que durante la bacteriemia, las brucelas son endocitadas por trofoblastos eritrofagocíticos y la placentitis producida conlleva al aborto. La muerte y falta de desarrollo del feto parece ser debida a la interrupción del suministro de sangre más que a la toxicidad producida por los organismos invasores. Algunos fetos pueden tener fluidos sanguinolentos en cavidades y aumento del tamaño del hígado y bazo. En fetos abortados la brucela es especialmente numerosa en pulmones, contenido del estómago y bazo (Fechner, 1966; Abalos, 1997).

Las membranas fetales presentan cambios en parte o todas ellas. Los cotiledones pierden su apariencia rojo-sangre y se ven engrosados, necróticos y grisáceos. También puede haber engrosamiento y edema de la membrana entre los cotiledones (Fechner, 1966).

2.6 DIAGNOSTICO

Son numerosos los métodos a los que se puede recurrir para determinar la presencia de brucelosis en un rebaño. Las técnicas más utilizadas, son aquellas tendientes a identificar la existencia de anticuerpos específicos en el suero de los animales en estudio.

Diagnóstico directo (bacteriológico) de brucelosis. Para la demostración bacteriológica del agente, se recomienda, sobre todo, el envío inmediato del feto abortado, sin abrirlo, trozos lesionados de las membranas fetales, loquios frescos o el cuajar. Puede hacerse la investigación a partir de muestras de esperma, de leche, punciones sinoviales de articulaciones o de vainas tendinosas afectadas clínicamente, o de punciones de abscesos, para propósitos determinados o en caso de hallazgos especiales. Se consideran menos apropiados, o inapropiados del todo, los estudios de orina y heces (Beer, 1987).

Diagnóstico indirecto (serológico) de brucelosis. Es indudable que el aislamiento e identificación de las especies del género *Brucella* es la evidencia real de que el animal se encuentra infectado. El material que puede ser utilizado para el aislamiento es el procedente del aborto como cotiledones placentarios, líquidos amnióticos, contenido gástrico, hígado y bazo fetales; material de necropsia como bazo, útero, glándula mamaria, linfonodos, submaxilares, parotídeos, retrofaríngeos, mesentéricos, mediastídeos, supramamarios, muestras de leche, exudado vaginal o uterino y semen (Villegas y col., 1999).

Sin embargo, las dificultades que implica el aislamiento de estas bacterias y el tiempo que se invierte para ello es demasiado alto, de ahí que las pruebas de diagnóstico jueguen un papel muy importante. Para estas muestra existen algunas dificultades como de detectar la infección durante el periodo de incubación (infección reciente) o durante estados crónicos de la enfermedad; particularmente en brucelosis, se presenta la dificultad de distinguir anticuerpos producidos por

una infección natural de aquellos anticuerpos producidos por una reciente vacunación (Cusur, 2001; Montes, 2001).

a) Prueba de anillo en leche o de Bang: Es otro tipo de reacción de aglutinación que depende de la presencia de aglutininas específicas en la leche; constituye un método relativamente eficiente y preciso para localizar rebaños infectados, si se realiza a intervalos frecuentes y se aplica donde en zonas donde la tasa de rebaños infectados es más bien baja. El antígeno es teñido con hematoxilina. Es una prueba que detecta IgM, IgA e IgG (Agüero, 1981).

b) Rosa de Bengala (Prueba de aglutinación rápida en tarjeta): El antígeno es teñido con Rosa de Bengala y está suspendido en un medio ácido (pH 3,6), este último inhibiría las inmunoglobulinas inespecíficas. Se han realizado diversos estudios para determinar la sensibilidad y especificidad demostrando la necesidad de ajustar la concentración celular del antígeno a un 3% para optimizar la sensibilidad de la prueba al 100% (Díaz y col., 1999).

Para incrementar la sensibilidad de la Prueba de Tarjeta en procedimientos de investigación, esta prueba fue modificada a una concentración celular del 3% en cabras, en lugar del 8% que es usado en bovinos (Alton y col., 1988, Diaz-Aparicio y col., 1994).

c) Prueba de Coombs: Prueba muy sensible sobre todo para el diagnóstico de caprinos, pero de ejecución lenta y laboriosa. Utiliza antisuero preparado contra las inmunoglobulinas de la especie que se probará. Puede detectar anticuerpos incompletos que no pueden ser apreciables por otras pruebas (Uceda y col., 1983).

d) Fijación de complemento: Detecta cuantitativamente anticuerpos no aglutinantes como IgG, también detecta IgM no inactivadas por el calor. El inconveniente es que no diferencia animales vacunados recientemente de

infectados y no detecta portadores latentes. Es conveniente inactivar el suero a 62°C para eliminar la actividad anticomplementaria. Resulta una prueba útil para animales que han sido vacunados con Rev 1, ya que se hacen negativos a este test, dentro de los siguientes seis meses post vacunación (Pinochet y col., 1981).

e) ELISA: Es una prueba que posee una sensibilidad y especificidad elevadas para la detección de inmunoglobulinas anti-brucela (Ig). Las IgM aparecen tempranamente y descienden tras los primeros meses, incluso en enfermos no tratados, mientras que las IgG aparecen también temprano pero permanecen elevadas de forma prolongada, incluso en pacientes con buena evolución clínica. Se pueden utilizar anticuerpos policlonales como monoclonales, siendo en este último el que entrega un 100% de sensibilidad y especificidad. Detecta animales recientemente infectados, además puede diferenciar los enfermos de los vacunados (Rojas y Alonso, 1995).

f) Prueba de Rivanol: El rivanol es un colorante de acridina que tiene la capacidad de sedimentar las proteínas del suero, entre ellas los anticuerpos de tipo IgM que predominan en el caso de una vacunación o infección primaria, quedando los de tipo IgG, que se encuentra en mayor cantidad sólo en estimulaciones inmunogénicas posteriores. Para lograr una buena aglutinación se utiliza una solución de rivanol al 1% junto con el suero del animal a probar, en una proporción de 1:1; esta reacción provocará la sedimentación de IgM's y un sobrenadante rico en IgGs. Tras diferentes experimentaciones se concluyó que esta prueba no ofrece ninguna ventaja para ser utilizada en el diagnóstico confirmatorio de la brucelosis caprina (Díaz y col., 2000).

La Organización Internacional de Epizootias aprobó las siguientes pruebas para el diagnóstico de brucelosis en bovinos: Prueba de Tarjeta con de Rosa de Bengala, la prueba de fijación de complemento, Análisis inmunoabsorbente ligado a enzimas y la prueba de Fluorescencia Polarizada (Biancifiori y col., 2000; Nielsen y col., 1989; Nielsen y col., 1996).

Para cabras la OIE aprobó las pruebas de Tarjeta y Fijación del Complemento, aunque su uso no ha sido validado mediante un análisis estadístico para ovejas y cabras en comparación con estudios similares en bovinos (Nielsen y col., 2004).

2.7 CONTROL Y TRATAMIENTO

La Organización Mundial de la Salud (2000) y otros organismos, han establecido planes para eliminar la Brucelosis en los caprinos, ovinos y otras especies tanto en Europa como en América Latina. En México, algunos estados han reportado la erradicación de *Brucella abortus* en ganado bovino, pero no en ovinos (*brucella ovis*) y en caprinos (*Brucella melitensis*), género que es capaz de infectar a todo tipo de ganado domestico y al humano, por el mal manejo y cuidado sanitario de los hatos involucrados (Díaz y col., 2001).

Basado en la prevalencia de la brucelosis del país, la distribución, y la capacidad de los servicios veterinarios para el control de los parámetros epidemiológicos, se recomiendan tres políticas de control y erradicación para las enfermedades: 1) prueba y sacrificio, 2) vacunación de animales jóvenes con prueba y sacrificio de animales infectados, y 3) vacunación masiva.

Las condiciones de muchas regiones donde existe la enfermedad, son bastante primitivas y las medidas de control difíciles de aplicar. En muchos casos las campañas previas de información y educación, por parte de las autoridades de agricultura o de salud, son más valiosas como un primer paso a las medidas de control puntuales. El control esta basado en tres estrategias que son: uso de vacunas, medidas sanitarias y diagnóstico, eliminación.

Vacunación:

Varias vacunas han sido usadas para la protección del caprino contra la brucelosis. La Cepa 19 de *B. abortus* que ha sido utilizada ahora es reemplazada con éxito por la Cepa Rev 1 de *B. melitensis*. Se reporta otra vacuna viva, la *B. suis* Cepa 2 utilizada en China y administrada por vía oral como exitosa en el control de la enfermedad (Abalos, 1997).

La vacuna más usada y recomendable es la Rev 1. Es una vacuna viva, atenuada de *B. melitensis* que protege por 4 a 5 años sin disminución de la tasa de anticuerpos. Su uso se recomienda en impúberes con dosis completa. Se ha usado esta vacuna en dosis reducida, inmunizando hembras gestantes o lactando, sin que se comprobara una posterior eliminación de la cepa vacunal, ni reversión de ésta, produciendo una respuesta serológica muy disminuida. (Pinochet y col., 1981). Experimentalmente se ha corroborado lo anteriormente mencionado, ya que en hatos de cabras de diferentes edades y dosis de vacuna Rev 1, se ha demostrado que en dosis más pequeñas que las normales se protege a la cabra adulta de la infección (Mancera y col., 1992).

La recomendación es vacunar las hembras entre los 3 y 8 meses de edad, dando el tiempo suficiente para que los anticuerpos decaigan al llegar a estado adulto o productivo, cuando deban ser probadas no aparezcan positivos a las pruebas de diagnóstico (Abalos, 1997).

Las hembras pueden abortar si se inocula con grandes dosis de la cepa. En estos casos, los organismos de la vacuna pueden encontrarse sin dificultad en las membranas fetales y en el mismo feto. El ganado susceptible, en contacto con las hembras que han abortado como resultado de la vacunación, no llega a infectarse. La vacuna de Cepa 19 se puede aplicar en crías y adultos por vía subcutánea (Hagan y col., 1970).

Dada su acción sobre el sistema celular formador de anticuerpos, se llega a un incremento de las defensas específicas. Pero estos fenómenos no son capaces de producir una inmunidad suficiente. Solamente cuando los órganos genitales se han desarrollado suficientemente, para que las bacterias puedan actuar en sus tejidos (es posible la aparición de una inmunidad orgánica del útero). Si un animal inmunizado se le infecta con brucelas virulentas, éstas sólo se difunden de manera pasajera en el torrente circulatorio, pero no encuentran terreno adecuado para fijarse y proliferarse en los tejidos uterinos que se han hecho refractarios (Fechner, 1966).

Medidas sanitarias:

Las medidas están encaminadas a limitar la diseminación de la infección en el rebaño. Como la resistencia conferida por la vacunación no es absoluta, las medidas sanitarias disminuirán el desafío natural al que están expuestos los animales y así se mejorará la probabilidad de éxito.

Se indica que básicamente hay cinco áreas principales que merecen atención:

- Los propietarios deben ser educados sobre los principios básicos de la enfermedad y deben saber si sus rebaños están infectados o no.
- Mantenimiento de parideras limpias, si es posible individuales, que puedan ser desinfectadas con facilidad. Corrales de parición sucios y superpoblados ayudan a la diseminación y persistencia de la infección.
- En un rebaño infectado, todo parto debe ser considerado como foco de infección y el producto del parto o aborto (membranas y fetos) debe ser incinerado o enterrado profundamente. Los animales que abortaron deben ser removidos del rebaño, pero no vendidos a menos que sean beneficiados inmediatamente.
- Visitantes innecesarios, especialmente niños, deben ser mantenidos fuera de las dependencias durante la temporada de partos.
- Debe existir una adecuada higiene durante la ordeña, para evitar la diseminación de la infección entre ubres y el ordeñador (Abalos, 1997).

Erradicación por prueba y sacrificio:

La más segura forma de erradicar la brucelosis, es identificar los rebaños infectados y eliminar todos los animales. Sin embargo esto no es posible de llevar a cabo, especialmente entre el grupo tradicional de tenedores de caprinos. Cuando la prevalencia es menor de 2%, los rebaños deben ser mantenidos bajo condiciones cerradas estrictas y proteger de la reentrada de la infección. En estas condiciones es posible la erradicación, siempre que se tenga disponible servicios veterinarios, laboratorio para vigilancia y los medios administrativos para implementar el programa, controlar movimiento de animales, entre otras.

Según Abalos (1997) los requerimientos básicos para un programa de erradicación pueden resumirse en los siguientes puntos:

- Los rebaños cuyo estatus no se conoce deben ser testados para establecer la presencia o ausencia de infección.
- En rebaños infectados todos los animales en edad reproductiva deben estar debidamente identificados. Los muestreos serológicos deben realizarse a intervalos de 30 a 60 días hasta que se logre un muestreo negativo. Luego, dos muestreos negativos separados por 6 meses son suficientes para declarar al rebaño libre de la infección. Los sueros deben ser sometidos a Fijación de Complemento y en ausencia de vacunación, la prueba de Rosa Bengala será suficiente.
- En rebaños donde se use Rev 1, se requiere de la prueba de Fijación de Complemento.
- Los animales reaccionantes deben ser eliminados a mataderos lo antes posible y cuando sea necesario debe pagarse una adecuada indemnización a los propietarios.
- Animales nuevos en el predio sólo deben provenir de rebaños libres de la infección.

- Cada uno o dos años los rebaños declarados libres deben someterse a un proceso de vigilancia.

Las medidas utilizadas en la brucelosis bovina pueden ser igualmente utilizadas en caprinos. La vigilancia, es el mecanismo técnico que nos permite saber donde está la enfermedad, es decir, nos señala cuales son los predios o rebaños, incluso los animales que están infectados. La vigilancia se realiza en varios lugares estratégicos como son: plantas lecheras, acopios lecheros y queserías, mataderos, ferias, laboratorios de diagnóstico, veterinarios y rebaños aledaños. Saneamiento, son las actividades que se ejecutan para eliminar la enfermedad de un rebaño, mediante el establecimiento de un plan de manejo de rebaño infectado. Control de la difusión, se utilizan medidas que impidan la difusión de la enfermedad en los rebaños infectados o para proteger los sanos; como vacunaciones que nos aumentan la inmunidad, y el control de movimiento y remate de hembras positivas. Todas estas labores son realizadas por Médicos Veterinarios Acreditados, condición que garantiza como oficiales las actividades efectuadas en el programa de Erradicación (Donzé, 1997).

Para controlar la enfermedad, la medida recomendable es el sacrificio de todos los animales enfermos, y la desinfección de corrales e instalaciones. En caso de no ser posible tan drástica medida, se debe aislar los enfermos y tratarlos con tetraciclina de larga acción (10 mg/kg c/72 hrs.) durante 6 semanas combinado con estreptomycin (1 gr. diario vía intramamario durante 3 semanas), y repetir las pruebas serológicas. (Mareco Gonzalo, 2009)

III. JUSTIFICACION

La caprinocultura es una actividad que ha crecido en los últimos años. En la comarca lagunera existe un gran número de ganado caprino el cual es fuente de ingresos para muchísimas familias, pero esta actividad se ha visto afectada entre muchos factores con la presencia de enfermedades como la brúcela que produce abortos y muertes en animales adultos además de ser una enfermedad zoonótica.

Este trabajo pretende proporcionar datos sobre la prevalencia de brúcela en machos caprinos ya que el municipio de Torreón Coahuila no cuenta con ellos y resultan de gran importancia para el control y la prevención de esta enfermedad que afecta de manera importante a los caprinocultores y a la población.

IV. HIPOTESIS

El 20% de los machos caprinos son seropositivos a la infección por *Brucella melitensis* mediante la Prueba de Tarjeta con Rosa de Bengala.

V. OBJETIVOS

Objetivo general

- Conocer la situación actual de la brucelosis en caprinos machos del municipio de Torreón, Coahuila.

Objetivos específicos

- Obtener un censo del número de machos caprinos en Torreón, Coahuila
- Conocer la seroprevalencia de brucelosis en machos caprinos, del municipio de Torreón, Coahuila.

VI. MATERIALES Y METODOS

1. Origen y características de las muestras

La presente investigación se llevó a cabo en el municipio de Torreón, Coahuila se localiza aproximadamente en las coordenada 25° 32' 40" N, 103° 26' 30" W a una altitud de 1120 msnm (Imagen 4); limita al oriente con la ciudad de Matamoros, y al sureste con el estado de Durango. Se tomaron 165 muestras de sangre de machos caprinos para la obtención de suero de 23 ejidos del municipio de Torreón, Coahuila. Con un sistema de explotación extensiva.



Figura 4. Ubicación del Municipio de Torreón en el Estado de Coahuila.

2. Procedimiento

Se tomaron 10 mL de sangre de la vena yugular de los machos en condiciones asépticas, utilizando tubos de ensaye al alto vacio y agujas (0.70 x 36 mm) estériles. Cada tubo fue debidamente identificado con datos de edad, raza, número de arete, nombre del productor y ejido perteneciente. Se transportaron en hieleras para su procesamiento en el laboratorio.

3. Procesamiento en laboratorio

Los tubos se centrifugaron a 3000 rpm durante 3 minutos para la separación del suero y se realizó la Prueba de Tarjeta con Rosa de Bengala para la detección de anticuerpos contra *Brucella melitensis*.

Se utilizó el antígeno elaborado con la cepa 1119-3 de *Brucella abortus*, teñido con Rosa de Bengala amortiguado con ácido láctico, a un pH 3.65 (+/- 0.05). Con una concentración celular al 3% para caprinos y ovinos (Figura 5), Aba Test Tarjeta al 3% elaborado por Productora Nacional de Biologicos Veterinarios. Esta prueba está basada en la detección de anticuerpos circulantes IgG e IgM.



Figura 5. Antígeno elaborado con la cepa 1119-3 de *Brucella abortus*.

Procedimiento de la Prueba de Tarjeta con Rosa de Bengala.

1. Se depositan 30 μL de suero con pipeta automática en una placa de cristal.
2. Se depositan 30 μL de antígeno sin que estos se mezclen.
3. Se mezclan con ayuda de un aplicador.
4. Se coloca la placa sobre un agitador eléctrico durante 4 minutos.
5. Se lleva a cabo la lectura e identificación de la aglutinación, sobre un aglutinoscopio.
6. Se identifican las muestras positivas de las negativas con marcador y se separan.



Figura 6. Realización de la Prueba de Tarjeta con Rosa de Bengala.

VII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El objetivo de este trabajo de investigación fue conocer la incidencia de brucelosis en machos caprinos del municipio de Torreón Coahuila.

Se obtuvieron en total 165 muestras de sangre provenientes de los machos existentes en 23 ejidos de Torreón, Coahuila; de estas muestras 43 muestras resultaron positivas (26.06%) y 122 negativas (73.93%).



Constantemente se han realizado estudios para conocer la prevalencia de brucelosis en diversos estados de México arrojando resultados que advierten su gran importancia por el porcentaje de animales positivos. Estudios realizados en el estado de Puebla (Cuesta Blanca) muestran una población infectada de caprinos en un 8.13% de la serología analizada en 590 muestras siendo más afectados los animales con perfil lechero, lo que refleja mayor susceptibilidad que los de carne (Hernández y col., 2010). En Durango (Tlahualilo, La Victoria, Nombre de Dios) se obtuvo un resultado de un total de 333 animales muestreados de 5.7% positivos a *Brucella melitensis* (Ortega-Sánchez y col., 2006). En Coahuila (Saltillo) se reportan rangos de brucelosis de 0 a 50%, con un promedio general de 15% (Ruiz,

y col., 2007). En todos estas investigaciones la prueba que se utilizó para el diagnóstico fue la Prueba de Tarjeta con Rosa de Bengala según los procedimientos de la NOM-041ZOO-1995.

Cuadro 1. Resultados de brucelosis en caprinos machos por ejido.

| Ejidos | Machos Muestreados | Positivos | Negativos |
|---------------------------------|--------------------|-----------|-----------|
| CORRALES SAN BERNARDO | 2 | 1 | 1 |
| COL. LAS ROSAS | 2 | 1 | 1 |
| GRANJA COVADONGA | 1 | 0 | 1 |
| EJIDO JOSE MARIA MORELOS SEC. 2 | 8 | 4 | 4 |
| EJIDO LA PARTIDA | 12 | 6 | 6 |
| EJIDO PROVIDENCIA | 2 | 0 | 2 |
| EJIDO EL PERU | 4 | 0 | 4 |
| EJIDO ANA | 1 | 1 | 0 |
| EJIDO LA PAZ | 2 | 0 | 2 |
| EJIDO NUEVO MIELERAS | 3 | 2 | 1 |
| GRANJA PALACIOS ALBA | 1 | 0 | 1 |
| EJIDO SAN LUIS | 11 | 0 | 11 |
| EJIDO SANTA FE | 17 | 4 | 13 |
| EJIDO LA ROSITA | 6 | 5 | 1 |
| EJIDO LA LIBERTAD | 2 | 1 | 1 |
| EJIDO EL AGUILA | 19 | 8 | 11 |
| EJIDO LA COLONIA | 7 | 2 | 5 |
| EJIDO EL BARREAL DE GUADALUPE | 10 | 0 | 10 |
| EJIDO JIMULCO | 14 | 4 | 10 |
| EJIDO FLOR DE JIMULCO | 10 | 4 | 6 |
| EJIDO JALISCO | 16 | 0 | 16 |
| EJIDO TRINIDAD | 5 | 0 | 5 |
| EJIDO JUAN EUGENIO | 10 | 0 | 10 |
| | | | |
| TOTAL | 165 | 43 | 122 |

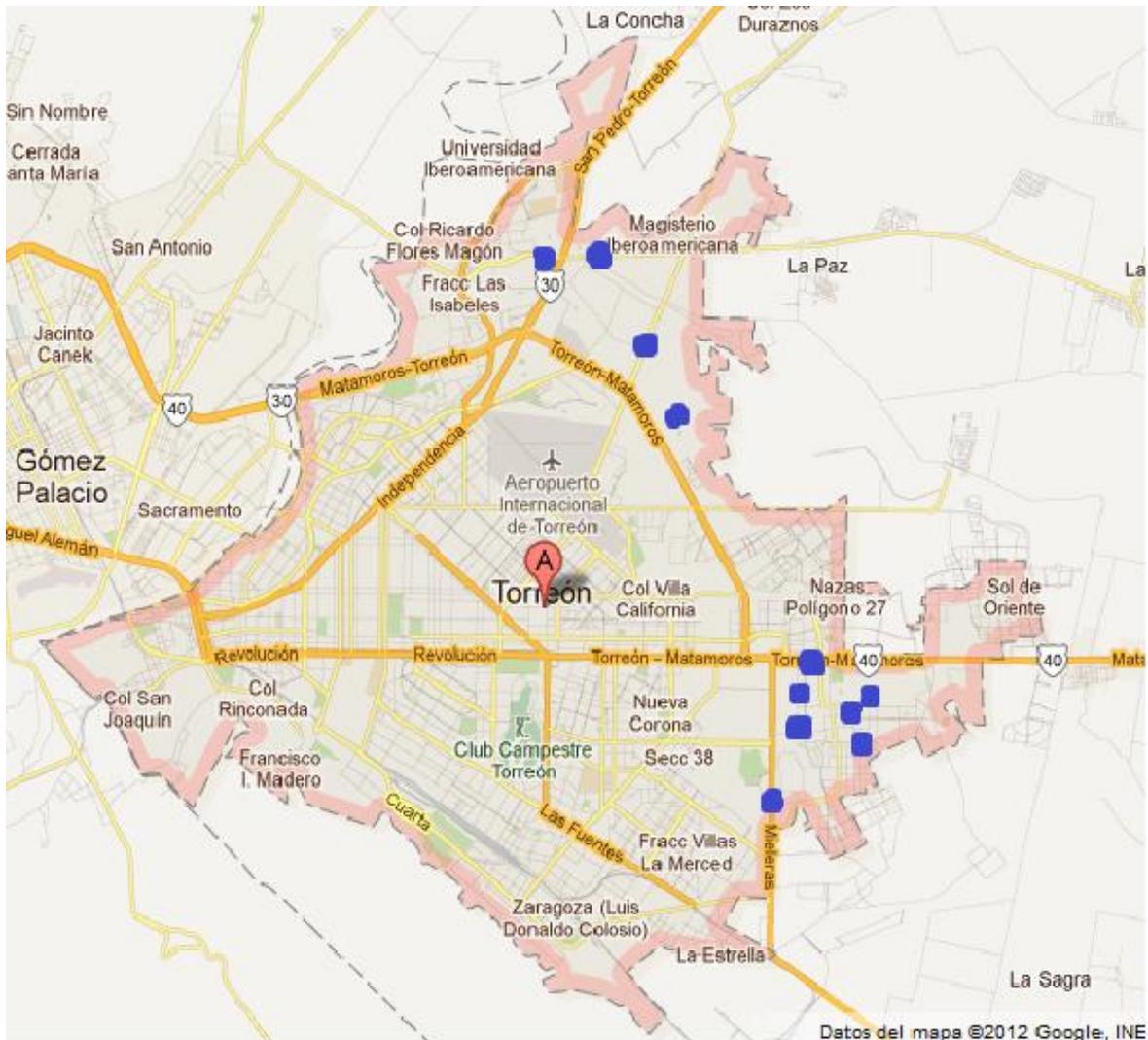


Figura 7. Ubicación de ejidos con resultados positivos, en Torreón Coahuila.

Se tiene que tomar en cuenta que estos estudios se han realizado con hembras y machos caprinos no siendo específicos como en el presente trabajo. Así muchos estudios realizados no consideran la separación entre machos y hembras, sin embargo en el estudio realizado en Puebla no especifica el número total de machos muestreados solo se menciona que hubo un total de 5 machos que resultaron positivos. En el estudio realizado en Durango se especifica que de 11 machos muestreados ninguno fue positivo a *Brucella* y en el estudio realizado en Coahuila no menciona cuantos machos fueron positivos a la prueba tan solo muestran a las hembras con mayor incidencia (14%) que los machos (1%).

Hay que considerar para futuros estudios las lesiones que se presentan en machos caprinos como epididimitis que son económicamente considerables para el productor (Ruiz y col., 2007). Los hallazgos macroscópicos en una etapa ya crónica de la enfermedad consisten en aumento del tamaño de alguna de las partes del epidídimo o bien puede estar afectado todo el órgano con atrofia testicular y adherencias (Robles, 2008).

VIII. CONCLUSION

La Prueba de Tarjeta con Rosa de Bengala es la prueba Tamiz más eficiente para detectar animales reactivos a *Brucella melitensis* (biotipos 1 y 2) y en menor grado a la *Brucella abortus*.

Los machos caprinos infectados deben eliminarse de un hato productor de leche caprina para evitar contagios y diseminación de la brucelosis

IX. LITERATURA CITADA

1. Abalos, P. 1997. Curso de capacitación en sanidad animal caprina, "Brucelosis caprina". La Serena, Chile. 19 pp.
2. Abalos, P.; Pérez, P.; Núñez, F. y Retamal, T. 1994. Prevalencia de brucelosis caprina en la IV Región de Chile. Avances en ciencias veterinarias. Chile. 1516 pp.
3. Abbas B., Agab H.A. 2002. Review of camel brucellosis. Preventive veterinary medicine. 55(1):47-56.
4. Acha, P.N. y Szyfres, B. 1986. Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. 2° ed. Pub. Cinrif N° 503, Organización Panamericana de la Salud, Washington D.C.
5. Alton, G. 1990. *Brucella melitensis*. In: Animal Brucellosis, Nielsen K.H. y Duncan J.R., eds. CRC Press, Boca Raton, Florida, USA, 383–409.
6. Alton, G., Jones, L.M., Angus, R.D. y Verger, J.M. 1988. Techniques for the brucellosis laboratory, p. 63. Institut National de la Recherche Agronomique, Paris, France.
7. Astorga Márquez Rafael, Librado Carrasco Otero 2001; Patología de los pequeños rumiantes en imágenes p. 144; Volumen 31 de Ciencias Veterinarias, Consejo General de Colegios Veterinarios de España
8. Biancifiori, F., Garrido, F., Nielsen, K., Moscati, L., Duran, M., y Gall, D. 2000. Assessment of a monoclonal antibody-based competitive enzyme linked immunoassay (CELISA) for diagnosis of brucellosis in infected and Rev-1 vaccinated sheep and goats. Microbiologica. 23:399–406.
9. Blasco, J.M. 1997. A review of the use of *B. melitensis* Rev 1 vaccine in adult sheep and goats. Prev. Vet. Med. 31:275–283.
10. Robles, C.A. 2008; Brucelosis en carneros por *Brucella ovis*. 1a ed. - Bariloche: Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria - INTA, EEA Bariloche p.p. 27.
11. Cassataro, J., Pasquevich, K., Bruno, L., Wallach, J.C., Fossati, C.A. y Baldi, P.C. 2004. Antibody reactivity to Omp31 from *Brucella melitensis* in

- human and animal infections by smooth and rough *Brucellae*. Clin. Diag. Lab. Immun. 11(1):111-114.
12. Cloeckaert, A., Vizcaino, N., Paquet, J., Bowden, R.A. y Elzer, P.H. 2002. Major outer membrane proteins of *Brucella* spp.: past, present and future. Vet. Microbiol. 90(1-4):229-247.
 13. Corbel, M.J. 1997. Brucellosis: an overview. Emerg. Infect. Dis. 3:213–221.
 14. FAO/OMS. 1986. Comité Mixto FAO/OMS de Expertos en Brucelosis. Sexto Informe, OMS, Genova.
 15. Díaz-Aparicio, E., Ayala, G., Céspedes, M., Sánchez, U., Rivero, L. y Prado, F. 1990. Epidemiological study of caprine brucellosis in Aldama, Chihuahua, México, and implementation of a control program, preliminary results. In: Abstract of the Workshop Animal Disease Diagnostic in Latin America. San José Costa Rica. 38-45.
 16. Díaz-Aparicio, E., Marín, C., Alonso-Urnamenta, B., Aragón, V., Pérez-Ortiz, S., Pardo, M., Blasco, J.M., Díaz, R. y Moriyon, I. 1994. Evaluation of serological tests for the diagnosis of *Brucella melitensis* Infection of goats. J. Clin. Microbiol. 32:1159–1165.
 17. Díaz-Aparicio, E., Hernández, A.L., Ochoa, D.V., Blasco, M.J.M., Suárez, G.F. 2000. Evaluación de la prueba de rivanol para el diagnóstico de la brucelosis en caprinos. Vet. Méx., 31:53-58.
 18. Díaz-Aparicio, E., Hernández, L., Valero, G., Arellano, B. 2001. Brucelosis. INIFAP/OPS/IICA. Fundación Produce, A. C. Guanajuato, México. D. F. 2a Edición.
 19. Donzé, A. 1997. Brucelosis, desafío de todos. ¿Cómo erradicaremos la brucelosis?. Boletín N° 1. Editorial Servicio Agrícola y Ganadero. Victoria, Chile. Pp 8 .
 20. Elberg, S.S. 1981. A guide to the diagnosis, treatment and prevention of human brucellosis. World Health Organization publication VPH/81.31. World Health Organization, Geneva, Switzerland.

21. Elberg, S.S. 1959: Immunization against brucella infection immunological and epidemiological studies in Córdoba Spain, Bull. Org. Mond. Snte. 20:1033-1051.
22. European Commission, 2001: Scientific Animal Health Opinion – Brucellosis in sheep and goats. European Commission; DG SANCO, DOC-C.2/AH/R23/2001.
23. Fechner, J. 1966. Vacunas y vacunación de los animales domésticos. Editorial Acribia. Zaragoza, España. 170 pp.
24. García-Carrillo, C. 1987. La brucelosis de los animales en América y su relación con la infección humana. OIE
25. Garin-Bastuji, B., Blasco, J.M., Grayon, M. y Verger, J.M. 1998. *Brucella melitensis* infection in sheep: present and future. Vet Res. 29:255-274.
26. Godfroid, J. 2002. Brucellosis in wildlife. Revue scientifique et technique (International Office of Epizootics). 21(2):277-286.
27. Gomes, C.P., Costa, M.G., Azevedo, V. y Costa, O.S. 2006. *Brucella* spp noncanonical LPS: structure, biosynthesis, and interaction with host immune system. Microbiol. Cell. Factories. doi:10.1186/1475-2859-5-13.
28. Guzmán-Verri, C., Chaves-Olarte, E., von Eichel-Streiber, C., López-Goñi, I., Thelestam, M., Arvidson, S., Gorvel, J.P., Moreno, E. 2001. GTPases of the Rho subfamily are required for *Brucella abortus* internalization in non-professional phagocytes: direct activation of Cdc42. J. Chem. Biol. 276:44435-44443.
29. Hagan W.A. y Bruner D.W. 1998. Microbiology and Infectious Diseases of Domestic Animals. 8th Ed. Comstock: Ithaca 1998.
30. Hernández, J.E., Franco, F.J., Villarreal, O.A., Camacho, J.C. y Juárez, C.E. 2010. Presencia de brucelosis en cinco rebaños caprinos de Cuesta Blanca en el estado de Puebla, México. XXXV Congreso de la Sociedad Española de Ovinotecnia y Caprinotecnia. Valladolid, España. 351-355.
31. Kolar, J. 1987. Control of *Brucella melitensis* brucellosis in developing countries. Ann. Inst. Pasteur Microbiol. 138:122–126.

32. Kreeger, T.J., DeLiberto, T.J., Olsen, S.C., Edwards, W.H. y Cook, W.E. 2002. Safety of *Brucella abortus* strain RB51 vaccine in non-target ungulates and coyotes. *J. Wild. Dis.* 38(3):552-557.
33. Leclercq, S., Harms, J.S., Rosinha, G.M., Azevedo, V., Oliveira, S.C. 2002. Induction of a Th1-type of immune response but not protective immunity by intramuscular DNA immunisation with *Brucella abortus* GroEL heat-shock gene. *J. Med. Microbiol.* 51(1):20-26.
34. León, A. y Guerrero, J. 1968: Inmunización de cabras contra la brucelosis con la cepa viva atenuada de *Brucella melitensis* B99B Rev. Invest. Salud Pública. (Mex. 41277-308).
35. López, A. y Contreras, A. 2004. *Brucella*. *Scand. J. Infect. Dis.* 36:636-638.
36. López-Merino, A. 1991. Brucelosis. Avances y perspectivas Publicación Técnica de INDRE. No. 6 D.G.E., S.S.A, México.
37. Luo, D.Y., Li, P., Xing, L., Zhao, G.Y., Shi, W., Zhang, S.L., y Wang, X.L. 2006. DNA vaccine encoding L7/L12-P39 of *Brucella abortus* induces protective immunity in BALB/c mice. *Chinese Med. J.* 119(4):331-334.
38. Malavolta, N., Frigato, M., Zanardi, M., Mule, R., Lisi, L., y Gnudi, S. 2002. *Brucella* spondylitis with paravertebral abscess due to *Brucella melitensis* infection: a case report. *Drugs under experimental and clinical research.* 28(23):95-98.
39. Mancera, A., Díaz, E., Vázquez, J., Velásquez, F., Suárez, F. y Flores, R. 1992. Vacunación de cabras con la cepa REV-1 de *Brucella melitensis* en diferentes dosis: evaluación serológica y desafío. *Vet. Méx.* 117-123.
40. Mareco Gonzalo 2001; Aborto ovino y caprino, Argentina; p. 5.
41. Michaux-Charachon S, Bourg G, Jumas-Bilak E, Guigue-Talet P, Allardet-Servent A, y O'Callaghan D. 1997. Genome structure and phylogeny in the genus *Brucella*. *J Bacteriol.* 179(10):3244-3249.
42. Minas, A. 2006. Control and eradication of brucellosis in small ruminants. *Small Rumin Res.* 62:101-7. doi:10.1016/j.smallrumres.2005.07.031
43. Miyoshi, A., Bermudez-Humaran, L.G., Ribeiro, L.A., LeLoir, Y., Oliveira, S.C., y Langella, P. 2006. Heterologous expression of *Brucella abortus*

- GroEL heatshock protein in *Lactococcus lactis*. Microbial Cell Factories. 5:14.
44. Rahman, M.S., Uddin, M.J., Jin-ho Park, Joon-seok Chae, Rahman, M.B. y Islam, M.A. 2006. A short history of brucellosis: special emphasis in Bangladesh. *Bangl. J. Vet. Med.* 4(1):1-6.
45. Nicoletti, P. 2002. A short history of brucellosis. *Vet. Microbiol.* 90(1-4):5-9.
46. Nicoletti, P. y Winter A.J. 1990. The immune response to *Brucella abortus* Th cell mediated response to infections in Animal Brucellosis Ed. by Nielsen K y Duncan R. CRC Press, Boca Raton, Fla.
47. Nielsen, K. 2002 Diagnosis of brucellosis by serology. *Vet. Microbiol.* 90: 447–459.
48. Nielsen, K., Gall, D., Jolley, G., Leishman, S., Balsevicus, P., Smith, P., Nicoletti, P. y Thomas, F.C. 1996. A homogeneous fluorescence polarization antibody assay for detection of antibody to *Brucella abortus*. *J. Immunol. Methods.* 195:161–168.
49. Nielsen, K., Gall, D., Smith, P., Balsevicius, S., Garrido, F., Duran, F.M. Biancifiori, F. Dajer, A. Luna, E., Samartino, L., Bermudez, R., Moreno, F., Renteria, T. y Corral, A. 2004. Comparison of serological tests for the detection of ovine and caprine antibody to *Brucella melitensis*. *Rev. Sci. Tech.* 23:979–987.
50. Nielsen, K., Cherwonogrodsky, J., Duncan, R. y Bundle, D. 1989. Enzyme immunoassay for the differentiation of antibody response to *Brucella abortus* vaccinated cattle. *Am. J. Vet. Res.* 50:5–9.
51. Nielsen, K. y Duncan, J.R. Antibody isotype response in adult cattle vaccinated with *B. abortus* S 19. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 19:205-214.
52. Norma Oficial Mexicana 041–ZOO–1995. Campaña Nacional contra la Brucelosis en los Animales. Diario Oficial de la Federación, México, 7 de noviembre de 1997.
53. Ortega-Sánchez, J.L., Martínez-Romero, A., García-Luján, C., Rodríguez-Martínez, R. 2006. Seroprevalencia de brucelosis caprina en el municipio de

- Tlahualilo, Durango. REDVET. Revista electrónica de Veterinaria. ISSN: 1695-7504-2009. 10(4).
54. Papas, G., Papadimitriou, P., Akritidis, N., Chistou, L. y Tsianos, E.V. 2006. The new global map of human brucellosis. *Lancet Infect. Dis.* 6:91-99.
55. Pinochet, L., Sánchez, M. y Abalos, P. 1981. Brucelosis. Monografías de Medicina Veterinaria. 3(2)44-80.
56. Plommet, M. y Fensterbank, R. 1984. La vaccination antibrucellique administree par voi conjontivale. *Dev. Biol. Stand.* 56: 681-687.
57. Río, J.A. 1988. Importancia de la Brucelosis en México. Memorias II Foro Nacional en Brucelosis, UNAM. CANIFARMA. SARH. México.
58. Rodríguez, A., Orduña, A., Ariza, X., Moriyón, I., Diaz, R., Blasco, J.M., Almaraz, A., Martínez, F., Ruiz, C. y Abad, R. 2002. Manual de Brucelosis. 1ª edición. Junta de Catilla y León. Consejería de Sanidad y Bienestar social (Eds), Catilla, España. Pp 139.
59. Rodríguez, Y., Ramírez, W., Antúnez, G., Pérez, S., Ramírez, Y., Igarza, A. 2005. Brucelosis bovina, aspectos históricos y epidemiológicos. *Revista Veterinaria REDVET.* 6: 1-9.
60. Ruiz, Z.F., Olivas, S.R., Obregón, J.F., Barreras, S.A., Vázquez, S.E., Fuentes, R.J.M. 2007. Incidencia de brucelosis y factores que la afectan en cinco unidades de producción caprina del municipio de Saltillo, Coahuila, México. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Depto. de Producción Animal. Saltillo, Coahuila, México.
61. Singh, S., Singh, N., Singh, M., Shankar, H. y Lalwani, D. 1994. Occurrence of abortions and seroprevalence of brucellosis in goats and sheep. *Small Ruminant Research* 14:161-165.
62. Taminiau, B., Daykin, M., Swift, S., Boschioli, M.L., Tibor, A. y Lestrade, P. 2002. Identification of a quorum-sensing signal molecule in the facultative intracellular pathogen *Brucella melitensis*. *Infect. Immun.* 70(6):3004-3011.
63. Tizard, I. 1997. Inmunología Veterinaria. 5a Ed. Interamericana, México.

64. Wilfert, C.M. 1986. *Brucella*. En: Zinsser, Microbiología. Joklik, W.K., Willet, H.P. y Amos, A.B. 18 Edición. Buenos Aires. Editorial Médica Panamericana. 764-771.
65. Wright, P.F. y Nielsen, K.H. 1990. Current and future serological methods, p. 305-320. In L. G. Adams (ed.), Advances in brucellosis research. Texas A&M University Press, College Station.
66. Zygmunt, M.S., Baucheron, S., Vizcaino, N., Bowden, R.A. y Cloeckert, A. 2002. Single-step purification and evaluation of recombinant BP26 protein for serological diagnosis of *Brucella ovis* infection in rams. *Vet Microbiol.* 87(3):213-220.