

**DETERMINACION DE LA SEROPOSITIVIDAD A ANTICUERPOS DE
Brucella sp. ME DIANTE PRUEBA DE ROSA DE BENGALA, EN LA
POBLACION BOVINA DEL MUNICIPIO DE GUACHUCAL (NARIÑO)**

MONICA ANDREA BENITEZ PERUGACHE

**UNIVERSIDAD DE NARIÑO
FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS
PROGRAMA DE MEDICINA VETERINARIA
PASTO-COLOMBIA
2003**

**DETERMINACION DE LA SEROPOSITIVIDAD A ANTICUERPOS DE
Brucella sp. MEDIANTE PRUEBA DE ROSA DE BENGALA, EN LA
POBLACION BOVINA DEL MUNICIPIO DE GUACHUCAL (NARIÑO)**

MONICA ANDREA BENITEZ PERUGACHE

**Informe de semestre rural presentado como requisito parcial
para optar al título de Médico Veterinario**

**Presidente
JUAN BERNARDO SERRANO TRILLOS
Médico Veterinario**

**UNIVERSIDAD DE NARIÑO
FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS
PROGRAMA DE MEDICINA VETERINARIA
PASTO-COLOMBIA
2003**

NOTA DE ACEPTACION

JOSE LUIS DIAZ PANTOJA.

Jurado delegado.

DORIS LUCIA BOLAÑOS OLIVA

Jurado.

JUAN BERNARDO SERRANO TRILLOS

Presidente.

San Juan de Pasto, Mayo de 2003

“Las ideas y conclusiones aportadas en la tesis de grado, son responsabilidad exclusiva de sus autores”

Artículo 1º. Del acuerdo No. 324 de octubre 11 de 1976, emanado del Honorable Consejo Directivo de la Universidad de Nariño.

DEDICATORIA

*"A mi tierra mis gentes y mi cielo
ojalá que el ladrillo que a puro riesgo traje
para mostrar al mundo cómo era mi casa
dure como mis duras devociones".*

Mario Benedetti.

A la memoria de Adriana, a mi madre, a mis hermanas, a mis sobrinos, a Gabriel, a Hernán y a mis amigos.

MONICA ANDREA BENITEZ PERUGACHE

AGRADECIMIENTOS A:

La autora expresa sus agradecimientos a:

JUAN BERNARDO SERRANO TRILLOS, M. V.

LUIGY MORILLO, M. V.

INGRIT KOCH SANTACRUZ, M. V.

CATERIN SILVA FUQUEN. M. V.

DALTON HUGO ZAMBRANO, Coordinador ICA Regional Nariño.

LUIS ALFONSO SOLARTE . Zoot.

Al Programa de Medicina Veterinaria de la Universidad de Nariño.

Al personal que labora en la UMATA del Municipio de Guachucal.

A todas aquellas personas que de una u otra forma contribuyeron a la realización y culminación del presente trabajo.

CONTENIDO

	pag.
INTRODUCCION	22
1. DEFINICION Y DELIMITACION DEL PROBLEMA	25
2. FORMULACION DEL PROBLEMA	27
3. OBJETIVOS	28
3.1 OBJETIVO GENERAL	28
3.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS	28
4. MARCO TEORICO	29
4.1 ETIOLOGIA	29
4.2 MORFOLOGIA Y TINCION	30
4.3 CARACTERISTICAS DE CRECIMIENTO	30
4.4 RESISTENCIA	32
4.5 DIVERSIDAD	33
4.6 RESERVORIOS ZOOLOGICOS Y GEOGRAFICOS	35
4.7 EPIDEMIOLOGIA	36
4.7.1 Distribución	37
4.8 PATOGENIA	39

4.8.1	Transmisión	39
4.8.2	Antígenos de <i>Brucella</i> y determinantes de virulencia	40
4.9	MANIFESTACIONES CLINICAS	41
4.9.1	Acción de la Brucelosis en animales	43
4.10	TRATAMIENTO	46
4.11	PREVENCION Y CONTROL	46
4.11.1	Antecedentes sobre inmunización	47
4.11.2	Vacunación para el control de la Brucelosis bovina	48
4.12	DIAGNOSTICO SEROLOGICO DE LA BRUCELOSIS	51
4.12.1	Pruebas de Seroaglutinación	51
4.12.2	Prueba de Aglutinación rápida en placa	52
4.12.3	Prueba de Aglutinación en tubo	53
4.12.4	Interpretación de la Seroaglutinación en bovinos	53
4.12.5	Fijación de Complemento	56
4.12.6	2-Mercaptoentanol (2-ME)	58
4.12.7	Prueba del anillo	59
4.12.8	Prueba del Antígeno Tamponado ("Card test" prueba Rosa de Bengala)	59
4.13	PROYECTO NACIONAL DE PREVENCION Y CONTROL DE LA	

BRUCELOSIS BOVINA CON PERSPECTIVAS A SU ERRADICACION DE COLOMBIA	62
4.13.1 Importancia económica	62
4.13.2 Situación en Colombia	65
5. DISEÑO METODOLOGICO	67
5.1 LOCALIZACION	67
5.2 INSTALACIONES EQUIPOS Y MATERIALES	68
5.3 POBLACION Y OBJETO DE MUESTRA	69
5.4 TECNICA PARA LA RECOLECCION DE MUESTRAS	71
5.5 TECNICA PARA EL PROCESAMIENTO DE LA MUESTRA EN EL LABORATORIO	72
5.5.1 Prueba de Rosa de Bengala	72
5.6 DISEÑO EXPERIMENTAL Y ANALISIS ESTADISTICO	73
5.6.1 Tasa de prevalencia	73
5.6.2 Seropositividad en relación al número de animales	74
6. PRESENTACION Y DISCUSION DE RESULTADOS	75
6.1 ANALISIS DE LA SEROPOSITIVIDAD A BRUCELOSIS BOVINA EN EL MUNICIPIO DE GUACHUCAL DEPARTAMENTO DE NARIÑO	75
7. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	84
BIBLIOGRAFIA	86
ANEXOS	91

LISTA DE TABLAS

	pag.
Tabla 1. Géneros de <i>Brucella</i> y sus huéspedes naturales.	36
Tabla 2. Interpretación de las reacciones en la prueba de aglutinación estándar.	56
Tabla 3. Análisis de la seropositividad a anticuerpos de <i>Brucella sp.</i> en el Municipio de Guachucal.	76
Tabla 4. Análisis de seropositividad por Distribución geográfica.	78
Tabla 5. Análisis de seropositividad de acuerdo a la Densidad poblacional.	82

LISTA DE FIGURAS

	pag.
Figura 1. Predios positivos por vereda.	77
Figura 2. Bovinos positivos por vereda.	79
Figura 3. Bovinos positivos de acuerdo a la densidad poblacional.	81
Figura 4. Predios positivos de acuerdo a la densidad Poblacional	83

LISTA DE ANEXOS

pag.

Anexo A. Hoja de remisión de muestras para Diagnóstico

Serológico del ICA.

92

GLOSARIO

ABORTO: interrupción de la preñez antes de que el feto pueda desarrollar su vida independiente.

AGLUTININAS: anticuerpo que produce aglutinación de bacterias.

ANTICUERPOS: células especializadas en la inmunidad de un organismo animal.

ANTIGENOS: Sustancia que introducida a un organismo, puede provocar la formación de anticuerpos.

DILUCIÓN TAMPON O BUFFER: dilución que contiene sustancias que inhiben los cambios de pH o concentración de ion hidrógeno de la disolución.

EPIDIDIMITIS: Inflamación del epidídimo.

INMUNIZACION: técnica de medicina preventiva cuyo objetivo consiste en procurar resistencia inmune frente a un organismo infeccioso.

INMUNOGLOBULINAS: Proteínas de origen animal que se encuentran en el calostro y se encargan de la inmunidad del neonato.

ORQUITIS: Inflamación del testículo.

PATOGENO: Microorganismos o sustancias que afectan el organismo animal.

RESPUESTA INMUNITARIA: capacidad de los organismos de organizar una respuesta defensiva contra sustancias ajenas.

VACUNA: preparado de antígenos procedentes de microorganismos patógenos cuya finalidad es la creación de anticuerpos que reconozcan y ataquen a la infección y por lo tanto produzcan inmunidad.

ZOONOSIS: Enfermedad de los animales que se trasmite a las personas.

RESUMEN

El presente trabajo de investigación se realizó durante el semestre rural en el

Centro de Diagnóstico del Instituto Colombiano Agropecuario ICA. El objetivo fue determinar la presencia de anticuerpos de *Brucella sp.* en la población bovina del municipio de Guachucal ubicado al sur occidente del Departamento de Nariño, y al Norte de la provincia del Carchi (República del Ecuador) a 87 kilómetros de San Juan de Pasto a una altura de 3180 msnm. La región se halla integrada al Altiplano de Túquerres e Ipiales y se encuentra localizado geográficamente entre 0° 53' 55" y 1° 05' 25" de Latitud Norte y a una Longitud de 77° 32' 24" al occidente del meridiano de Grenwich. Con una Temperatura anual de 11°C.

Se tomaron de forma aleatoria un total de 1318 muestras de sangre de vacas mayores de 24 meses pertenecientes a 231 predios de diferentes veredas del municipio de Guachucal, las cuales fueron procesadas en el laboratorio del Centro de Diagnóstico del ICA en la ciudad de Pasto, mediante la prueba de Rosa de Bengala.

Para determinar el nivel de Seropositividad se tuvo en cuenta la densidad poblacional por predios así: predios de menos de 10 animales, de 11 a 25, de 26 a 50, de 51 a 100 y más de 100 animales, y se aplicó la formula para tasa de prevalencia.

Los resultados obtenidos de la investigación demostraron que el nivel de seropositividad para predios fue de 30.3%, es decir que de 231 predios evaluados 70 fueron positivos, en bovinos 175 serologías resultaron reactivas lo que corresponde al 13.3%.

La vereda Santa Rosa presentó el mayor porcentaje de seropositividad, con el 75% de los predios evaluados positivos, y el 35% de animales.

Los predios con una densidad poblacional de 51 a 100 y más de 100 animales obtuvieron los niveles más altos de seropositividad por predio 76.9% para los de 51 a 100 animales y del 100% para los de más de 100. Igualmente, estos predios resultaron con el mayor porcentaje de bovinos infectados, 19.3% y 18.64% respectivamente.

De estos datos se puede concluir que el nivel de seropositividad a anticuerpos de *Brucella sp.* en la población bovina del municipio de Guachucal es significativamente alta, tanto para predios como para animales y que el problema radica principalmente en los grandes productores.

ABSTRACT

The present research work was carried out during the rural semester in Diagnosis Center of Farm and Cattle Colombian Institute ICA. The objective was to determine the presence of antibodies of *Brucella sp* in bovine population into the Municipality

of Guachucal which is located to south west of Departament of Nariño, to north of Carchi province (Republic of Ecuador) to 87 Km of San Juan de Pasto, and with a height of 3180 meters above sea level. The region belongs to Tuquerres and Ipiales plain and, it was geographically beated between $0^{\circ} 53' 55''$ and $1^{\circ} 05' 25''$ north lattitude and $77^{\circ} 32' 24''$ longitude to west of Grenwich Meridian, and with a temperature of 11°C a year.

It was taken, in an aleatory form, 1318 blood samples from 24-month-year cows belong to 231 plots of different paths of Guachucal Municipality, which were prosecuted in ICA's Diagnosis Center Laboratory in the Municipality of Pasto through Bengale Rose Test.

In order to determine the serum-positive aspect, it was taken into account the population density per plots, as the following manner: plots

with a 10 animal population, between 11 to 25, 26 to 50, 51 to 100 and plots with a more of 100 animals population. It was applied the prevail rate formula.

The results obtained of this research demostrated that serum- positive level to plots was 30.3%, that is, 70 plots were positive from a total of 231 ones. In bovines, 175 serologies resulted in reactive, that is, a 13.3%.

Santa Rosa path showed the highest percentage serum positive aspect with a 75% of plots tested as positive and 35% animals.

Plots which had a population density of 51 to 100 and more of 100 animals got the highest levels of serum-positive points per plot with 76.9% those plots with 51 to 100 animals, and a percentage of 100% to those plots with more of 100 animals at the same manner, these plots showed the major percentage infected bovines, 19.3% and 18.64% respectively.

From these data, it was possible to conclude that serum- positive level to *Brucella sp.* Antibodies into bovine population of the Municipality of Guachucal was, significantly high, not only to plots but also to animals. This problems is present mainly in big producers.

INTRODUCCIÓN

El desarrollo socio-económico de los países con vocación y potencial agropecuario como Colombia, depende de la competitividad y calidad de sus sistemas de producción.

En este sentido la salud animal es el factor determinante del éxito como sustrato básico de la eficiencia, teniendo en cuenta que un individuo enfermo incrementa los costos por concepto de tratamientos y afecta los parámetros de productividad determinantes de la rentabilidad de la empresa.

La explotación pecuaria en Nariño, no solamente es importante por su participación en la economía, sino también por su relevancia en la implementación de normas sanitarias orientadas a preservar a su población animal de la introducción de plagas y enfermedades que eventualmente pueden afectar su salud y productividad.

Acebedo reporta que:

La protección sanitaria oficial a nivel fronterizo (primera barrera) como la detección (diagnóstico) y control sanitario al interior de los países, debe partir del conocimiento de la realidad sanitaria nacional, de su significado económico, expresado en pérdidas por morbilidad, mortalidad, producción, vetos comerciales, etc. Y sus estrategias de combate deben diseñarse con base en el conocimiento de la caracterización epidemiológica derivada del comportamiento eco-biológico de las plagas y enfermedades existentes en el país, como de las que constituyen una amenaza procedente de otras naciones¹.

Nariño, se constituye en un punto estratégico dada su ubicación fronteriza con el Ecuador, su bajo nivel de tecnificación, las políticas de liberación de mercados y la globalización de la economía; dificultan en gran medida el trabajo de las entidades encargadas de la vigilancia y control sanitario, como es el caso particular de la seccional del ICA en

¹ **ACEBEDO, Fernando.** Análisis de riesgo en la salud animal. En: Revista ICA Informa. Bogotá, Colombia. Vol. 19, No. 1; P. 2.

este departamento, que es una de las 14 oficinas regionales de epidemiología del país y que cuenta con una oficina ubicada en la ciudad de Ipiales donde se realiza el control de importaciones de animales productos y subproductos pecuarios, además de un centro de diagnóstico medianamente equipado para la identificación de algunas enfermedades y para el procesamiento y envío de muestras a los laboratorios especializados del CEISA en Bogotá donde se confirman los diagnósticos de campo. Todas estas dependencias funcionan bajo la responsabilidad de personal especializado en el campo de la Epidemiología y el diagnóstico veterinario.

Lo que pretende el presente trabajo es dar a conocer el estudio que se realizó durante el semestre rural en el Centro de Diagnóstico del Instituto Colombiano Agropecuario (ICA -Regional Nariño) en la población bovina del Municipio de Guachucal con relación a la presencia de una enfermedad de gran relevancia dado su carácter zoonótico: la Brucelosis bovina, este estudio busca determinar la situación sanitaria de este importante municipio lechero y compararla con la realidad nacional.

1. DEFINICION Y DELIMITACION DEL PROBLEMA

Según el último reporte técnico del ICA:

En el departamento de Nariño de 174 predios examinados para Brucelosis, 27 resultaron seropositivos lo que corresponde al 16%, en cuanto al total de bovinos fueron examinados 1711 (1608 hembras y 103 machos) resultando seropositivos 124 hembras (8%) y 1 macho (1%); en el municipio de Guachucal se examinaron 7 predios de los cuales 5 resultaron seropositivos (71.5%) y 91 bovinos con 17 seropositivos (19%). Las pruebas utilizadas para estos análisis fueron las de Rosa de Bengala, ELISA indirecta y ELISA competitiva².

² **INSTITUTO COLOMBIANO AGROPECUARIO ICA.** Sistema de protección y vigilancia epidemiológica. Bogotá, Colombia: Editor Subgerencia de prevención y control. 1998. P. 54.

ICA, en relación con los estudios serológicos humanos, llevados a cabo por el Ministerio de salud asevera que:

En 1996 se estudiaron 251 sueros humanos, de los cuales fueron positivos 13 y corresponden a una seroprevalencia del 5,1%. 140 muestras procesadas por el ICA, para el departamento de Nariño, en el periodo comprendido entre 1996 – 2000 arrojaron como resultados 20 muestras positivas con 14% de prevalencia de los cuales 18 casos corresponden al municipio de Pasto (90%), uno en Santa Cruz (5%) y uno en Sandoná (5%)³.

Mier en su estudio sostiene que: "Se han realizado un total de 149 muestras en humanos en el departamento de Nariño, de las cuales han sido positivas 18, para una seropositividad del 12.08%, el Instituto Departamental de Salud, únicamente en el 2.001, ha tomado conciencia de la importancia como zoonosis de la enfermedad"⁴.

Por lo anteriormente anotado, es de vital importancia realizar estudios para conocer la prevalencia de esta zoonosis en la población bovina del municipio de Guachucal ya que ésta, por ser una zona eminentemente lechera, se constituye en una fuente importante para la diseminación

³ **INSTITUTO COLOMBIANO AGROPECUARIO ICA.** División de Zoonosis Regional Nariño. Boletín sobre Brucelosis Humana. Pasto, Colombia. No. 1, 2000. P. 1.

⁴ **MIER, José et al.** Brucelosis Pulmonar. Pasto, Colombia. No. 1, 2001. P. 2.

de la enfermedad.

2. FORMULACION DEL PROBLEMA

En consideración a los objetivos planteados para esta investigación se formula el siguiente problema.

¿Existen niveles de anticuerpos de *Brucella sp.* en la población bovina del Municipio de Guachuca en el departamento de Nariño?

3. OBJETIVOS

3.1. OBJETIVO GENERAL

Determinar la seropositividad a anticuerpos contra *Brucella sp* en la población bovina de 231 predios del Municipio de Guachucal en el Departamento de Nariño.

3.2. OBJETIVOS ESPECIFICOS

3.2.1 Establecer la relación entre tamaño de predio y la presencia de

la enfermedad.

3.2.2 Detectar por medio del estudio serológico de brucelosis el número de animales y predios afectados en el tiempo de muestreo.

3.2.3 Plantear soluciones a partir de los resultados de la presente investigación, en beneficio de la región.

4. MARCO TEORICO

4.1 ETIOLOGIA

Según Ángel:

Esta enfermedad fue descrita en 1814 por Burneo y Marston. Es producida por la *Brucella abortus* en el ganado vacuno, *Brucella suis* en el cerdo, *Brucella canis* en los perros, *Brucella mellitensis* en cabras y ovejas y todas las cepas, afectan la salud humana. El género *Brucella* esta conformado por cocobacilos Gram negativos, aerobios no esporulados, que tienen tendencia a la colonización intracelular (facultativo) fundamentalmente del sistema mononuclear fagocítico.

Genéticamente el género *Brucella* parece monoespecífico⁵.

El mismo autor expresa:

A pesar de mantenerse la nomenclatura que clasifica el género en seis especies conocidas, con sus respectivos biotipos, los estudios de hibridación de ADN indican que estos organismos constituyen una especie única, *Brucella mellitensis*, con múltiples biovariedades; solo cuatro de ellas son patógenas para el hombre, presentando mayor virulencia las variedades *mellitensis* y *suis*. El crecimiento *in vitro* es muy lento, por lo que ante la sospecha debe mantenerse en incubación hasta 4 y 6 semanas antes de considerarlo negativo⁶.

Ferrero manifiesta que:

Como bacteria Gram negativa su membrana citoplásmica está recubierta por una capa rígida de proteoglicano formada por fosfolípidos, proteínas y lipopolisacáridos endotóxicos siendo esta última molécula la que forma el antígeno responsable de la reacción antígeno – anticuerpo utilizada en las distintas pruebas serológicas para el diagnóstico. Algunas de las determinantes antigénicas son comunes a otros gérmenes Gram negativos, lo que justifica su reacción cruzada con ellos (*Escherichia coli* y *Yersinia enterocolitica*)⁷.

4.2 MORFOLOGIA Y TINCIÓN

⁵ **ANGEL, Gilberto.** Interpretación Clínica de Laboratorio. 4ª. Ed. Bogotá, Colombia: Panamericana, 1993. P. 94.

⁶ **Ibid., p. 95.**

⁷ **Neurobrucelosis. Ferrero Miguel** / España. 9 Ago. 2002. URL <http://www.inferror@meditex.es>.

Chung expresa que: “los microorganismos del género *Brucella* son cocobacilos pequeños que tienen un tamaño entre 0.5 – 1.5 µm de ancho, son inmóviles, no se tiñen de forma bipolar y carecen de cápsula. Esta bacteria se tiñe de rojo con el método de Machiavelo y con el Ziehl Neelsen modificado”⁸.

4.3 CARACTERÍSTICAS DE CRECIMIENTO

De acuerdo con el autor antes citado, se afirma que:

Los microorganismos del género *Brucella* crecen en aerobiosis y atmósferas con bajas concentraciones de O² pero no en anaerobiosis, la concentración de CO² y la tensión deben ser elevadas. Los cultivos no deben considerarse negativos hasta tanto no hayan transcurrido 21 días de incubación. Su temperatura óptima para crecimiento es de 37° C y el intervalo de temperatura para crecimiento está comprendido entre 20 y 40° C. El pH óptimo de crecimiento está entre 6.8 a 9.2.

Estos microorganismos son positivos a la catalasa y oxidasa. El aislamiento es posible únicamente en medios nutritivos complejos, porque el cultivo de *Brucella* requiere ciertos aminoácidos, tiamina, biotina, nicotinamida, pantotenato cálcico y trazas de magnesio⁹.

⁸ **CHUNG, Yuang.** Tratado de Microbiología Veterinaria. España: Acribia, 1983. P. 283.

⁹ **Ibid., p.** 284.

Jacques sustenta que: "el aislamiento de material muy contaminado exige la adición de sustancias que inhiben el crecimiento de flora acompañante, para tal fin se utilizan polimixina B, Acticliona, Bacitracina y el Cristal violeta. Las colonias son pequeñas, húmedas, brillantes y suelen aparecer al cabo de varios días"¹⁰.

Stuart expone:

Las muestras clínicas crecen con lentitud y suelen producir colonias en 5 a 10 días pero en ocasiones requieren cuatro a seis semanas para producir un desarrollo visible; las *Brucellas* también se cultivan en agar sangre color chocolate de soya tripticasa, *Brucella* y de suero de dextrosa. Las especies individuales de *Brucella* se identifican por reacciones de fermentación, producción de ureasa y H₂S, requerimientos de CO₂ para su desarrollo y su capacidad para crecer en medios que contengan tinte de tionina y fucsina básica y aglutinación con antisueros específicos, estas características también se utilizan para dividir las Brucelas en biovares, *B. mellitensis* y *B. suis* tienen cada una 4 biovares y *B. abortus* tiene 8¹¹.

4.4 RESISTENCIA

Chung respecto a la viabilidad de la *Brucella*, dice que:

¹⁰ **JACQUES, Nicolet.** Compendio de Bacteriología Médico Veterinaria. Zaragoza, España, 1986. P. 82

¹¹ **STUART, Walker.** Microbiología. México, D.F.: Mc Graw Hill Interamericana, 2000. P. 221

Esta puede permanecer viable en la orina, leche, agua, incluso en la tierra húmeda hasta cuatro meses, que resiste la congelación y la descongelación pero es destruida por la temperatura de pasteurización, por el calentamiento a 60° C, durante 10 minutos y por los desinfectantes usuales como: fenol, formol, cloro y roccal. Además reporta sensibilidad a la Estreptomicina, Eritromicina, Tetraciclina, pero existen variaciones según la especie y cepa¹².

De acuerdo con lo reportado por Ferrero:

Ha sido motivo de investigación la causa por la cual este patógeno sobrevive a los mecanismos intracelulares de destrucción, encontrando al lipolisacárido como el principal factor implicado. Además se ha encontrado la producción de monofosfato de adenina y guanina por parte de la *Brucella*, lo que al parecer inhibe la función de los lisosomas, el sistema de degranulación y activación de mieloperoxidasas y la producción del factor de necrosis tumoral¹³.

4.5 DIVERSIDAD

Jacques (88), en su libro señala las diferentes especies de *Brucella* y anota las siguientes características:

a. ***Brucella mellitensis***. Produce una infección asintomática y de curso crónico. Ocasiona a veces abortos repetidos o el nacimiento de animales débiles. Hay

¹² CHUNG,. Op. Cit., p. 284

¹³ Neurobrucelosis,. Op. cit., p. 88.

eliminación de gérmenes en la leche y orquitis en moruecos

b. *Brucella suis*. La enfermedad presenta un curso crónico después de una fase aguda. En los cerdos causa trastorno de la fertilidad acompañándose de abortos, en los machos origina orquitis y epididimitis. Presenta alteraciones anatomopatológicas en los ganglios linfáticos (linguales, pelvianos y del mesométrio) y en órganos (bazo y testículos) en forma de nódulos y granulomas o abscesos. Los títulos de anticuerpos son más bajos que los que presentan en la *Brucella* bovina.

c. *Brucella ovis*. La afección del epidídimo del morueco merma la calidad del esperma. Las hembras gestantes infectadas pueden abortar. El diagnóstico se basa en el mismo principio que el de las demás brucelosis, pero para las pruebas serológicas debe utilizarse el antígeno específico de *Brucella ovis*.

d. *Brucella canis*. Es causante de infección en el perro, de curso a menudo asintomático o sin manifestaciones típicas. Se caracteriza por la presentación de abortos en el último tercio de la gestación o por el nacimiento de cachorros débiles. Los machos sufren epididimitis, prostatitis, tumefacción escrotal; por regla general padecen esterilidad¹⁴.

De acuerdo con Blood:

e. *Brucella abortus*. La *Brucella abortus* tiene predilección por útero grávido, ubre, testículos y glándulas sexuales masculinas accesorias, ganglios linfáticos, cápsulas y bolsas articulares. Se localiza inicialmente en los ganglios

¹⁴ JACQUES,. Op. cit., p. 88

linfáticos que drenan la zona, y después se propagan a otros tejidos linfoides, incluyendo bazo y ganglios linfáticos mamaros e iliacos. Puede presentarse la infección congénita en los terneros recién nacidos como resultado de la infección dentro del útero, y esta puede persistir en una pequeña cantidad de terneros que pueden dar reacciones serológicamente negativas hasta después de su primer parto o aborto. Los bovinos no preñados pueden resultar infectados pero pierden sus anticuerpos humorales contra el microorganismo mucho más rápido que los bovinos que se infectan durante la preñez. En la vaca adulta no preñada suele ocurrir localización en la ubre, y el útero si se hace grávido, se infecta a partir de fases bacteriemias periódicas, que se originan en las ubres. Las ubres infectadas son clínicamente normales, pero tienen gran importancia como fuente de reinfección del útero y como fuente de infección para los terneros o para el hombre que ingiere la leche, y por ello son la base de la prueba de aglutinación de la leche y el suero. El eritritol, una sustancia producida por el feto y capaz de estimular el crecimiento de *Brucella abortus*, existe de forma natural en sus máximas concentraciones en la placenta y los líquidos fetales, y es, probablemente, responsable de que la infección se localice en estos tejidos. Al producirse la invasión del útero grávido las lesiones se inician en la pared del órgano, pero pronto es ocupada la luz del útero, lo que provoca endometritis ulcerosa grave de los espacios intercotiledonarios. El alantocorion, los líquidos fetales y los cotiledones placentarios son invadidos inmediatamente después, con destrucción de las vellosidades¹⁵.

Las alteraciones más destacables, según Jacques son:

La retención de secundinas y la inflamación fibrinopurulenta y necrozante de los cotiledones. A pesar del restablecimiento clínico sin complicaciones la infección persiste sobre todo en

¹⁵ **BLOOD, Henderson.** Medicina Veterinaria. 7ª. Ed. México: Interamericana, Mc Graw Hill, 1992. P. 729.

los ganglios linfáticos supramamarios, con eliminación intermitente en la leche. En el toro se observa orquitis, epididimitis, con necrosis y granulomas y no afecta la calidad del esperma, pero en cronicidad, produce eliminación intermitente. En la oveja y cabra es rara la infección con estas manifestaciones y en equinos son típicas las infecciones esporádicas con: bursitis, tendovaginitis y artritis¹⁶.

4.6 RESERVORIOS ZOOLOGICOS Y GEOGRAFICOS

Chung, establece que:

La especie *Brucella* se clasifica como parásito obligado. Cada una de las especies tiene un hospedador diferente que sirve de reservorio natural a infección. Las Brucellas clásicas son: *Brucella abortus* y *Brucella suis*, han limitado la gama de hospedadores al igual que su distribución geográfica de un hospedador determina la distribución de la especie o biovariedad. Cada una de las nuevas especies del género *Brucella*, (*Brucella neotomae*, *Brucella ovis*, *Brucella canis*) se circunscriben en una sola especie hospedadora tal como se indica en la Tabla 1¹⁷.

4.7 EPIDEMIOLOGIA

Blood, Precisa que: "la Brucelosis está ampliamente distribuida y posee enorme importancia económica en casi todo el mundo, sobre todo en el

¹⁶ JACQUES, Op. Cit., p. 89

¹⁷ CHUNG, Op. Cit., p. 284

ganado lechero. La incidencia varía considerablemente según los rebaños afectados, regiones y países”¹⁸.

Tabla 1. Géneros de *Brucella* y huéspedes naturales.

ESPECIE <i>BRUCELLA</i>	HUESPED NATURAL	INFECTA AL HOMBRE
B. mellitensis	Cabra, oveja	Sí
B. abortus	Vaca	Sí
B. suis	Cerdo, roedores	Sí
B. canis	Perro	Sí
B. ovis	Oveja	No
B. neotomae	Roedores	No

Fuente: Ferrero (1997,2)

Con respecto a la edad, Blood manifiesta que:

La infección por *Brucella*, afecta a bovinos de todas las edades, pero persiste, con mayor frecuencia, en animales sexualmente adultos. La infección congénita puede también afectar a terneros nacidos de hembras enfermas. La infección ocurre en el útero y puede permanecer latente en el ternero durante toda su vida. El animal da pruebas serológicas negativas en su primer parto, momento en el cual comienza a excretar el microorganismo. Los terneros nacidos de hembras reactivas suelen ser serológicamente positivos durante 4 a 6 meses debido a los anticuerpos calostrales y

¹⁸ BLOOD, Op. Cit.,p.729.

después suelen convertirse a serológicamente negativos, aún cuando puede haber una infección latente en una pequeña porción de estos animales. Estas infecciones latentes en los animales serológicamente negativos son de gran importancia porque pueden permanecer inadvertidos y finalmente actuar como fuente de infección¹⁹.

4.7.1. Distribución. Acerca de la distribución, Rodríguez asevera que:

La Brucelosis es una enfermedad que se mantiene como una de las zoonosis de mayor distribución en el mundo, aunque en pocos países se ha logrado erradicar y en muchos se encuentre bajo control, el impacto económico en el sector pecuario es alto, debido a la reducción en la fertilidad del hato, gran número de abortos ocasionados, el nacimiento de becerros débiles, el bajo peso al destete y la reducción en la producción de leche. Además de ser un problema económico en la industria pecuaria, la Brucelosis es también un problema de salud pública, por el riesgo de contagio para el hombre, ya sea en su trabajo, al estar en contacto con animales con brucelosis, o al consumir productos de origen animal infectados y sin las debidas medidas de higiene

Actualmente se considera a la Brucelosis como una enfermedad de distribución mundial; sin embargo, en algunos países los programas de control y erradicación que se han venido desarrollando han permitido su eliminación total, como es el caso de Inglaterra, Suecia, Dinamarca y Finlandia; o bien reducir considerablemente su incidencia, como es el caso de Japón, Nueva Zelanda, Australia, Alemania y Estados Unidos. En México ha sido reportada en casi todos los estados, lo que indica que puede presentarse en todos los climas. Sin embargo, la prevalencia de la enfermedad es más alta en ganado lechero en sistemas de manejo intensivos, que en ganado de carne bajo crianza en sistemas semi o extensivos donde las características ecológicas permiten altos índices de agostadero y propician una alta densidad en

¹⁹ **Ibid., p. 730.**

la población, siendo por lo tanto, las zonas relacionadas con los centros de producción lechera las que presentan tasas de infección bovina que fluctúan entre el 1 y el 6%. En el estado de Yucatán, México, el Comité de Fomento y Protección Pecuaria, reportó en 1998 una seroprevalencia en bovinos de 1.54% utilizando la pruebas de Rosa de Bengala y Rivanol. En la actualidad debido a la campaña de erradicación que realiza las autoridades sanitarias la seroprevalencia es cada vez más baja²⁰.

4.8 PATOGENIA

4.8.1. Transmisión. Un artículo publicado por Agrobot, señala que:

Desde el punto de vista clínico, es importante señalar que las *brucellas* al invadir los placentomas en desarrollo, los líquidos y tejidos fetales, pueden producir daño intenso, lesionando severamente la función placentaria y por consiguiente la circulación materno/fetal, dando lugar a los abortos, eliminándose enormes descargas de bacterias en los tejidos y loquios abortados, lo que representa el principal riesgo de contaminación de alimentos y la principal fuente de infección para los animales susceptibles. Los animales adquieren principalmente la infección por vía oral, pudiendo adquirirse por vía cutánea, mucosa y congénita; no se consideran a vectores, fomites y vehículos como elementos de importancia en su diseminación. Los sementales no son transmisores importantes por contacto sexual, a excepción del gran riesgo que representa el semen congelado usado en la inseminación artificial (en el coito el semen se deposita previo al cuello uterino, y en la inseminación artificial posterior al cuello uterino). El hombre está considerado como hospedero terminal de la enfermedad, incapaz de transmitir la

²⁰ **Rodríguez, Roger.** "Brucelosis bovina". Nuevo Periodismo. 27 abril, 2003
<<http://www.hotmail.com/cluna27/>>

enfermedad a otros animales y la forma en que la adquiere es sin duda por contacto directo con las descargas del aborto, que fácilmente pueden penetrar a través de la piel maltratada, por pequeñas cortaduras en las manos, por vía conjuntival o al ingerir leche cruda²¹.

Para Blood:

En los fetos infectados con *Brucella abortus* natural y experimentalmente, los cambios titulares incluyen hiperplasia linfoide en múltiples ganglios linfáticos, hiperplasia de la corteza adrenal y focos inflamatorios diseminados compuestos principalmente, por grandes leucocitos mononucleares. Es probable la neumonía fetal debido a la localización de los focos perivasculares en los septos interlobulares del pulmón, lo que es un indicio de la diseminación hematógena en el feto, más que por aspiración de los líquidos fetales contaminados. Los fetos inoculados con suficiente cantidad de *Brucella abortus* abortarán entre los 7 y 19 días postinoculación. El aborto se produce, principalmente, en los últimos 3 meses de gestación, siendo el periodo de incubación inversamente proporcional al estadio de desarrollo del feto en el momento de la infección. *Brucella abortus* es un microorganismo intracelular, lo que probablemente sea un factor importante de supervivencia en el hospedador y puede explicar tanto los títulos transitorios que se encuentran en algunos animales después de episodios aislados de bacteriemia, como la desaparición de los títulos en animales con infección latente²².

Stuart explica: "las *Brucellas* ocasionan infecciones agudas y crónicas del sistema reticuloendotelial, la principal característica patógena de

²¹ Brucelosis. Agrobot/Argentina. 27 abril 2003. <http://www.agrobot.com.ar>.

²² **Blood, Op. Cit ., p. 732**

este microorganismo es su capacidad para sobrevivir dentro de macrófagos no estimulados²³.

4.8.2. Antígenos de *Brucella* y determinantes de virulencia.

El autor antes mencionado expone que:

Las muestras primarias de *Brucella* presentan morfología lisa (S), pero las muestras subcultivadas se hacen rugosas (R). Aunque los términos liso y rugoso se emplean para describir cambios de encapsulación en otras bacterias, las *Brucellas* carecen de cápsula, en vez de ello, los cambios de las *Brucellas* reflejan modificaciones de membrana externa. La transición de la forma S a la forma R parece ser una respuesta a la acumulación de D-alanina, excretada por las formas S al descenso del nivel de PO₂ del medio durante el crecimiento de las *Brucellas*. Las formas S parecen ser más aptas que la R para sobrevivir dentro de los fagocitos. Se identifican 3 antígenos superficiales en las *Brucellas*, dos de ellos se expresan en las formas S y uno en las formas R, los antígenos de las formas S son más específicos que los de las formas R y su presencia varía entre las especies individuales; *B. mellitensis*, expresa principalmente, antígeno M (por *mellitensis*), mientras que *B. abortus* y *B. suis*, expresan grandes cantidades de antígeno A (por *abortus*) y pequeñas cantidades de antígeno M. Las muestras primarias de *B. canis* y *B. ovis*, expresan antígeno R (por rugoso)²⁴.

4.9 MANIFESTACIONES CLINICAS

²³ STUART, Op. Cit.,p. 221

²⁴ Ibid., P. 222

MERCK, considera que:

El aborto es la manifestación más obvia de la enfermedad. Las infecciones también pueden dar lugar a producción de mortinatos, placenta retenida y menor producción de leche. En los abortos no complicados generalmente no esta afectada la salud general.

En el toro, las vesículas seminales, las ampollas, los testículos y los epidídimos pueden estar infectados; como resultado, el microorganismo es excretado en el semen. En estos toros puede demostrarse aglutininas en el plasma seminal y pueden ocurrir abscesos en los testículos. El microorganismo ha sido aislado en articulaciones artríticas²⁵.

Cotrina y Fernandez explican que:

La enfermedad cursa en tres fases consecutivas: la primera fase es latente, durante la cual no es posible detectar la infección ni siquiera mediante técnicas de laboratorio; en la segunda fase, aunque no aparecen los síntomas clínicos, es posible demostrar la infección con el empleo de diferentes técnicas serológicas. En este periodo es en el que se presenta una efímera septicemia. Con mucha frecuencia, la enfermedad queda limitada a estas dos primeras fases, sobre todo en los países donde existe un programa de pesquiasaje sistemático o de vigilancia de la enfermedad. En las hembras gestantes, el síntoma fundamental y de mayor trascendencia económica y sanitaria es el aborto. Por lo general este se produce en la

²⁵ **MERCK.** Manual Merck de Medicina Veterinaria. 4ª. Ed. Barcelona, España: Océano, 1993. P.769.

segunda mitad de la gestación (entre los 6 y 8 meses); suele ser espontáneo y a menudo presenta retención placentaria a continuación del aborto, si se llega a obtener una siguiente gestación, entonces el aborto ocurre más tardíamente o adquiere la forma de un parto prematuro es muy raro que una misma vaca sufra tres abortos.

Las hembras adultas no grávidas, aunque sufren un proceso fugaz, quedan infectadas de por vida, lo que constituye una característica de especial importancia en el orden epizoótico. La sintomatología clínica en los toros es poco precisa; la evolución del proceso puede conducir al desarrollo de orquitis y bursitis, principalmente tarsiana y carpiana. En los animales jóvenes, los gérmenes desaparecen del organismo, lo que explica la rápida evolución de la enfermedad en ellos. Los cambios histológicos más significativos son la necrosis e inflamación del útero y la inflamación de la ubre; en los ganglios linfáticos infectados se puede encontrar hipertrofia reticular e hiperplasia, también se puede observar hiperplasia linfoide²⁶.

4.9.1. Acción de la Brucelosis en animales. De acuerdo con

Becton:

Las terneras de hasta 8 meses en general son resistentes a la infección. La resistencia en terneras no vacunadas disminuye gradualmente a medida que se acercan a la madurez sexual. Novillos y vaquillas no vacunadas son muy susceptibles a la infección, aunque la susceptibilidad es mayor durante la preñez: alrededor del 50% de los animales no vacunados abortan tras la infección inicial y, posteriormente, algunas quedan estériles. La infección en vacas tiende a localizarse en

²⁶ **COTRINA, Narey y FERNANDES, Aramis.** Brucelosis: Un problema Sanitario y Económico. La Habana, Cuba: Editorial Científico Técnico, 1991. P. 57.

el útero preñado, ubres y glándulas linfáticas. El establecimiento de este estado portador en una gran porción de animales es un factor importante de la perpetuación de la enfermedad. En el caso típico, el animal aborta sólo una vez tras la infección y las crías siguientes pueden ser normales.

Por lo menos el 85% de estos animales siguen siendo reaccionantes a la prueba de aglutinación estándar y pueden excretar *brucella* del útero en pariciones posteriores, aparentemente normales, y por lo tanto constituyendo un foco de infección. El periodo que media desde la exposición a la detección de anticuerpos contra la *brucella* en el suero se define como período de incubación. Este es variable, pero en general una prueba de aglutinación positiva se presenta dentro de los 30 días, aunque puede llevar 8 meses o más. En la mayoría de los casos el aborto sobreviene entre 1 y 4 meses después de la exposición, según el estado de gestación en el momento de la exposición. En un aborto sin complicaciones, casi nunca se afecta la salud general del animal. Comúnmente, los toros infectados no presentan evidencias físicas de la enfermedad. No obstante, en algunas ocasiones se produce orquitis y la *brucella* puede ser aislada en diversos tejidos del tracto genital. También se puede demostrar la presencia de anticuerpos en el semen de esos toros, o presentarse abscesos en los testículos. Se ha aislado el microorganismo en articulaciones artríticas de vacunos.²⁷

THURMOND y HIETALA, en su artículo mencionan que:

La *Brucella abortus*, se transmite principalmente entre animales por exposición a fetos abortados y placentas o a terneros recién nacidos procedentes de vacas infectadas. La bacteria se puede encontrar en

²⁷ **BECTON, Paul.** Programa de Erradicación de la Brucelosis en Estados Unidos. Instituto Interamericano de cooperación para la Agricultura, OEA. Buenos Aires, Argentina: Redisa, 1981. P.3.

altas concentraciones en tejidos de abortos y en placentas de partos normales; en algunos casos la concentración de bacterias llega a ser de hasta 4×10^9 - 10^{13} /g. La infección puede ser transmitida por penetración a través de la piel (inclusive estando sana), por ingestión o a través de las membranas oculares. Debido a que la bacteria puede ser encontrada en altas concentraciones en fetos, placentas y algunos terneros infectados, una vaca puede ser fácilmente infectada por contacto con solo una pequeña cantidad de tejido. La infección también puede ser adquirida por consumo de leche procedente de vacas infectadas. La transmisión también puede ocurrir si las vacas pastorean en zonas contaminadas por la bacteria o se les da comida contaminada. La contaminación de la comida puede ser debida, por ejemplo, por usar el mismo contenedor para mezclar el alimento y para acarrear los fetos y terneros muertos. La bacteria no es capaz de multiplicarse en el medio ambiente, no llegando a sobrevivir más de 30 días en el verano y 100 en el invierno. Es susceptible al calor y a la luz del sol, pero no a la congelación; en ciertas especies como los caballos o los cerdos, la bacteria puede persistir largo tiempo constituyendo un reservorio de la infección en el hato.

Ocasionalmente la infección puede ocurrir congénitamente, es decir, un ternero es infectado antes de nacer. La tasa de transmisión congénita es probablemente baja (10% de las vacas infectadas). Sin embargo, las vacas infectadas congénitamente pueden presentar una infección latente, manteniéndose serológicamente negativas por varios meses o incluso un año y pudiendo diseminar la bacteria cuando aborta o pare. Los animales más susceptibles a la infección son los sexualmente maduros, hembras preñadas, especialmente aquellas en la última mitad de gestación. La mayor exposición a las bacterias se produce en el tiempo de los partos, cuando las vacas no infectadas llegan a estar expuestas a terneros, fluidos uterinos y placentas de vacas infectadas. Consecuentemente, un punto de control es identificar y eliminar las vacas infectadas antes de que paren. La vacunación con la cepa 19 ha sido utilizada para aumentar la inmunidad contra la infección; no debe considerarse que la vacunación proteja a una vaca completamente. La vacunación actúa incrementando la protección contra la infección y será eficiente cuando la cantidad de bacteria a la que se expone el animal no sea excesiva. Si una vaca ingiere o es expuesta a una gran concentración de bacteria, como ocurre en fetos abortados y en locales de partos, es probable que la vacunación no sea efectiva. Por lo tanto, el objetivo general es el maximizar la inmunidad del hato; cuanto

mayor proporción de animales vacunados en el hato mayor será su inmunidad²⁸.

4.10. TRATAMIENTO

Los mismos autores refieren que: "debido a la característica de ser una bacteria intracelular, la mayoría de los tratamientos no son efectivos cuando se emplean en animales. Entre los tratamientos se puede mencionar la mezcla de estreptomicina y oxitetraciclina. Sin embargo, en los animales se recomienda el sacrificio de los seropositivos"²⁹.

4.11. PREVENCIÓN Y CONTROL

Cotrina y Fernandez exponen que:

La lucha contra la brucelosis no puede quedar circunscrita sólo a uno de los factores que intervienen en la cadena de transmisión, como pudiera ser el incremento de la inmunidad de los animales previamente susceptibles, sino que es necesario recurrir a una combinación de medidas específicas y de otras generales. Estas medidas, al conjugarse armónicamente, permiten frenar la propagación de la infección, y de forma eventual, pueden conducir a crear las condiciones necesarias para alcanzar la erradicación, meta cuya factibilidad ya ha podido ser demostrada en otros países.

²⁸ **THURMOND, Mark y HIETALA, Sharon.** "Conceptos para el Control de la Brucelosis en Hatos Lecheros". Revista Cdrom. Sep. 2002. < <http://www.msc.es/salud/epidemiología/resp./revista-cdrom/vol71/71-2-181.pdf>>

²⁹ **Ibid.,p.2**

Cualquiera que sea la modalidad fundamental de combate que se decida aplicar en un territorio o país determinado se deben tomar consideración los factores siguientes:

- ✓ Aplicación de vacunación
- ✓ Saneamiento ambiental
- ✓ Técnicas de manejo
- ✓ Diagnóstico
- ✓ Aprovechamiento de los productos provenientes de los hatos o animales infectados
- ✓ Sistema de vigilancia³⁰.

4.11.1. Antecedentes sobre inmunización. Becton refiriéndose a lo expuesto por Bang informó que:

Se obtenía la protección del ganado contra la brucelosis tras la inyección de cultivos vivos de *brucella*, pero no se obtenía protección alguna con organismos muertos. Dado que quedó claramente demostrado que los cultivos viables de *brucella abortus* ofrecerían protección al ganado contra la brucelosis, se emprendieron intensas investigaciones en varias zonas para hallar el agente inmunológico más cercano al ideal.

Las primeras investigaciones en los Estados Unidos parecían tan prometedoras que en 1919 la Oficina Industrial Animal concedió licencias a empresas bioquímicas para producir y distribuir preparados inmunológicos viables. No obstante, resultó evidente que algunas de esas vacunas estaban produciendo infecciones persistentes y que los animales vacunados eran peligrosas fuentes de la enfermedad. Los funcionarios de la Oficina de Industria Animal tomaron el liderazgo en la búsqueda de una vacuna más confiable. Sus esfuerzos se vieron recompensados por el descubrimiento de

³⁰ COTRINA, Op. Cit., p. 114.

una cepa diferente de la *brucella* que parecía adecuada para los fines de inmunización en gran escala. Este cultivo conocido como cepa 19 de *brucella abortus*, fue aislado por primera vez por Buck en 1923, de leche de bovino. El cultivo era originalmente muy virulento, pero después de permanecer en agar a temperatura ambiente durante un año (más bien accidentalmente), la virulencia de la cepa se atenúo y siguió atenuada en los subcultivos y en sus pasajes en animales³¹.

4.11.2. Vacunación para el control de la Brucelosis bovina.

Nicoletti afirma que:

El control de los animales enfermos debe perseguir dos objetivos fundamentales: La producción más eficaz de alimentos y la prevención de enfermedades zoonóticas. En general, este control incluye uno o más de los procedimientos siguientes: vacunación, eliminación de los animales enfermos y métodos de higiene para reducir la exposición de los animales susceptibles a los agentes patógenos.

El examen de la brucelosis a menudo termina en un debate acerca del control y la erradicación del mal. Todos concuerdan en que la erradicación de una enfermedad es una meta válida, pero debe reconocerse que solo algunas enfermedades pueden ser erradicadas y que son numerosos los factores que conspiran contra la obtención de resultados positivos. La mayoría de los países no están en condiciones de considerar la aplicación de un programa orientado a la erradicación de la brucelosis. Animales valiosos son necesarios para la producción de alimentos y el ganado de reemplazo no está económicamente al alcance del país o de

³¹ BECTON, Op. Cit., p. 5.

los ganaderos. Por lo tanto, al considerar el control de una enfermedad deben tenerse en cuenta las condiciones nacionales y locales, tales como el tamaño de los rebaños, prácticas agrícolas, disponibilidad de animales, capacidad técnica y servicios de laboratorio y de otro tipo.³²

El mismo autor sobre la **Vacuna Cepa 19** cita la recomendación del Comité de expertos de la FAO/OMS:

Una dosis de entre 3×10^8 y 10×10^8 microorganismos vivos, por vía subcutánea. Esta dosis es capaz de proteger por lo menos durante un año y los anticuerpos detectables por medio de la prueba de reacción de fijación de complemento o de la prueba de diaminoethacyacridina descienden, generalmente, por debajo de los niveles diagnósticos después de 6 a 8 meses. Sin embargo, observaciones en el laboratorio, así como en el campo, indican que de 90 a 95% de las vacas inmunizadas con dosis reducidas pierden sus títulos serológicos fijadores del complemento en menos de 6 meses; pero el resto, de 5 a 10%, permanecen positivas con títulos serológicos muy altos durante 8 a 12 meses o más. La Cepa 19 puede ser aislada de estos reactores persistentes en una porción notable. También como un método alternativo, se ha sugerido la inmunización por vía conjuntival, administrando de 5×10^9 a 10×10^9 microorganismos, la cual, bajo condiciones experimentales y con dos dosis a intervalos de 4 a 8 meses, brinda una buena protección y no provoca prácticamente reacciones serológicas³³.

³² **NICOLETTI, Paul.** Vacunación para el control de la Brucelosis bovina, III reunión Interamericana de Directores de Salud. Buenos Aires, Argentina: Redisa III, 1981. P. 1.

³³ **Ibid., p. 2**

Con respecto a la **Vacuna RB51** un artículo publicado por los laboratorios Shering

Plough dice que:

RB51 es una vacuna viva, altamente atenuada recomendada para el uso en bovinos. La vacuna no induce anticuerpos que interfieren con el diagnóstico (en otras palabras, los tests de aglutinación, Rivanol, 2-mercaptoetanol, fijación de complemento, ELISA, etc. se mantienen negativos).

Los animales se pueden revacunar con cepa RB51 sin inducir serología positiva, la revacunación aumenta la inmunidad. La vacunación de animales preñados con cepa RB51 puede causar algunos abortos, la tasa de abortos depende de la condición del predio (previa vacunación, incidencia de la enfermedad, etc.) y puede fluctuar entre 0 y 2%. Animales que abortan debido a la vacuna no seroconvierten. La vacuna no cura la enfermedad; animales que están incubando la enfermedad pero no han seroconvertido y que son vacunados durante este periodo con RB51, seroconvertirán y serán diagnosticados como infectados, animales que están seropositivos debido a vacunación con cepa 19 ó por estar infectados no se tornan seronegativos con vacunación RB51.

En general se recomienda: Vacunar todas las terneras a la edad de 4 - 10 meses de edad con dosis completa subcutáneamente. La edad óptima sería entre 5 -8 meses; los machos no se vacunan. Revacunar a los 12-16 meses de edad ó antes del encaste (unas 2-3 semanas antes de poner con el toro ó inseminación), esto aumenta la inmunidad en los animales, mientras más severo el problema de la brucelosis más recomendable es la revacunación. Animales sobre 12 meses de edad se pueden revacunar con la dosis completa ó reducida, dependiendo de la severidad de la situación, los animales revacunados pueden revacunarse nuevamente, esperar por lo menos 6 meses desde la última revacunación.

Es mejor evitar la vacunación de animales preñados ya que existe un pequeño riesgo de aborto, el riesgo de aborto debería ser más alto con la dosis completa. Se pueden revacunar con cepa RB51 animales que fueron vacunados previamente con cepa 19, si la vacunación con cepa 19 indujo seropositividad, vacunación con RB51 no eliminara esta reacción. En un predio con alta incidencia de Brucelosis con abortos se recomienda vacunar todas las hembras del predio (incluso los animales preñados) y luego seguir con el programa sugerido anteriormente; la incidencia de abortos debido a la infección bajara después de la vacunación³⁴.

4.12. DIAGNOSTICO SEROLOGICO DE LA BRUCELOSIS

4.12.1. Pruebas de Seroaglutinación. Según Casas:

Las pruebas más usadas en el diagnóstico de la brucelosis humana y animal son las de seroaglutinación ya que estas detectan la presencia de los anticuerpos IgM e IgG. A pesar de sus conocidas limitaciones, han permitido realizar con éxito campañas de control y erradicación de la brucelosis animal en varios países del mundo.

Se las emplea también cuando se desea conocer el contenido de anticuerpos de *Brucella* en el suero sanguíneo en términos de Unidades Internacionales (U.I.). Los anticuerpos IgM se aglutinan más intensamente que los IgG ya que, al ser las moléculas más voluminosas, poseen un mayor número de sitios de reacción por lo que se supone que pueden alcanzar más fácilmente que los IgG los determinantes antigénicos ubicados sobre moléculas adyacentes. El título de un suero es la más alta dilución que causa un determinado grado de aglutinación y se expresa en unidades que corresponden al

³⁴ Vacuna antibrucelica. / 27 abril, 2003. <http://www.sheringplough.com>

recíproco de esa dilución³⁵.

4.12.2. Prueba de Aglutinación Rápida en Placa. El autor anteriormente citado explica que:

Esta prueba se aplica sólo o conjuntamente con la prueba de tubo: los sueros sospechosos y positivos con la prueba de placa se someten a la prueba lenta de tubo. Su empleo es muy útil, incluso en zonas o regiones libres de Brucelosis, para rectificación de rebaños libres.

La concentración del antígeno es alta (18-12%) y se debe ajustar para darle una sensibilidad comparable a la del antígeno de tubo. Las diluciones de rutina son: 1:25, 1:50, 1:100 y 1:200. Cuando se desea obtener el título final, los sueros problema se deben diluir 1:16 con suero normal negativo, luego se practicarán las diluciones habituales que correspondan a 1:400, 1:800, 1:1600, 1:3200.

El método ofrece la ventaja de ser rápido y sencillo, lo que permite aplicarlo en escala masiva en las campañas de control y erradicación. Su desventaja es que puede producir aglutinaciones inespecíficas³⁶.

4.12.3. Prueba de Aglutinación en Tubo. Nuevamente Casas con relación a esta prueba sostiene que:

³⁵ **CASAS, Olascoaga.** Centro Panamericano de Zoonosis, OPS/OMS. Diagnóstico serológico de la Brucelosis. Buenos Aires, Argentina: Casilla 3092, correo central-1000, 1985. P. 5.

³⁶ **Ibid., p. 10.**

Se puede usar como prueba diagnóstica básica y también como método para corroborar los resultados obtenidos con otras pruebas serológicas, por ejemplo, la prueba en placa. La prueba esta sujeta a menos errores de manipulación y presenta menos reacciones inespecíficas que la de la placa. Los sueros hemolisados no son adecuados para la aglutinación lenta en tubo por la interferencia del fenol con la hemoglobina libre, que puede ocasionar Pseudo-aglutinaciones.

En esta prueba se emplean las diluciones 1:25, 1:50, 1:100 y 1:200 y un antígeno estandarizado con una concentración celular de 0,045% suspendido en dilución fisiológica al 0.85% y fenolada al 0.5%. Cuando se desea obtener el título final de los sueros, como es de rutina en el diagnóstico de la Brucelosis humana, se deberá usar el método de las diluciones múltiples o el método de la dilución múltiple alternada. En todos los casos las muestras se incuban a 37° C durante 48 horas³⁷.

4.12.4. Interpretación de la Seroaglutinación en Bovinos. Cotrina

y Fernandez mencionan que:

La prueba de aglutinación permite reconocer una alta proporción de animales infectados por Brucella; no descubre sin embargo, todos los animales infectados (falsos negativos). En otros casos, en menor número, se presentan aglutinaciones con título significativo en animales no infectados (falsos reaccionantes) causadas por reacciones heteroespecíficas.

³⁷ **Ibid., p. 11.**

Los títulos observados en animales infectados no son siempre significativos y pueden ser muy bajos. En los animales expuestos por primera vez durante la gestación, es bastante frecuente que las aglutininas aparezcan varios días y hasta dos semanas después del aborto o del parto. Durante la gestación, una pequeña porción de animales puede mostrar una disminución pasajera de la tasa de aglutininas. Este fenómeno se ha explicado por la migración de las inmunoglobulinas de la circulación general a las glándulas mamarias.

En casos de infección crónica de larga duración, la prueba de seroaglutinación puede ser negativa. En estos animales han desaparecido las IgM que tienen gran avidéz por los antígenos aglutinantes³⁸.

El Comité mixto FAO/OMS, en el texto citado por Casas, hace referencia a que:

En Brucelosis recomienda que no se clasifiquen como reaccionantes positivos los bovinos no vacunados o sin certificación oficial de vacunación que den títulos inferiores a 100 U.I/ml, y los vacunados cuyo título sea inferior a 200 U.I/ml, los títulos de 50 y 100 U.I/ml (es decir, la mitad de los anteriores) se considerarán como dudosos o sospechosos en animales no vacunados y en los oficialmente vacunados respectivamente. Debido a los largos períodos de incubación de la brucelosis bovina, el movimiento de animales que pertenecen a un rebaño infectado presenta riesgos, aún cuando se los hubiere examinado una vez con resultado

³⁸ COTRINA, Op. Cit., p. 118.

negativo. En cambio, no hay inconvenientes en permitir su traslado bajo control con destino al sacrificio. La seguridad es mayor cuando el rebaño ha pasado dos pruebas negativas con un intervalo de 60 días y, preferentemente, de 90 días. En las hembras que abortan y cuyos títulos serológicos son bajos o sospechosos, se debe repetir la seroaglutinación a las 2 a 4 semanas. Se aconseja someter a los animales con títulos sospechosos o dudosos a pruebas complementarias para determinar si se trata de reacciones cruzadas o inespecíficas o sí, por el contrario, contrajeron la infección por *Brucella*. El diagnóstico de la Brucelosis bovina se debe interpretar en función del criterio de rebaño o ható. La única garantía para introducir sin riesgos animales en un ható libre de brucelosis se basa en que provengan de rebaños, regiones o países libres.

Se ha demostrado que muchos toros reaccionan a la infección con títulos bajos o regresan rápidamente a títulos bajos. Los títulos altos (100 U.I. o más) son significativos y de fácil interpretación. Los títulos bajos, en cambio, son difíciles de interpretar y hay que recurrir a pruebas complementarias y a pruebas de plasma seminal para conocer su significado. En los toros, las lesiones por la brucelosis están confinadas generalmente al tracto genital; la demostración de anticuerpos en el plasma seminal es indicativa y a veces se obtienen títulos más altos que en el suero sanguíneo³⁹.

Tabla 2. Interpretación de las reacciones en la prueba de Aglutinación Estándar (*).

³⁹ CASAS,. Op. Cit ., p 13.

Reacción a la dilución de:				Diagnóstico	
1:25	1:50	1:100	1:200	No vacunado	Vacunado
-	-	-	-	Negativo	Negativo
i	-	-	-	Negativo	Negativo
+	-	-	-	Negativo	Negativo
+	i	-	-	Sospechoso	Negativo
+	+	-	-	Sospechoso	Negativo
+	+	i	-	Sospechoso	Sospechoso
+	+	+	-	Positivo	Sospechoso
+	+	+	i	Positivo	Sospechoso
+	+	+	≥+	Positivo	Positivo

(*) Nota: Actualmente estos estándares no son aceptados por la Comunidad Económica Europea que exige que los animales con más de 30 U.I. sean clasificados como reaccionantes.

Fuente: CASAS, Olascoaga (1985,14).

4.12.5. Fijación de Complemento. De acuerdo con el mismo autor:

La prueba de fijación del Complemento es excelente para el diagnóstico de la brucelosis humana y animal; es un procedimiento sensible y específico para descubrir los anticuerpos de la *Brucella*. Además de ser más laboriosa que los otros procedimientos serológicos, tiene el inconveniente de que participan muchas variables que afectan su uniformidad y de que algunos de sus ingredientes pierden actividad

rápidamente, por lo que es esencial aplicar los controles adecuados. Por otra parte aún no se ha establecido un criterio o estándar internacional, como ha ocurrido con la seroaglutinación. Dado que la prueba de FC se emplea en muchos países, se ha sugerido repetidamente que se establezca dicho estándar.

Uno de los métodos más utilizados es la fijación del complemento basada en 100% de hemólisis, la que se puede realizar en tubo o en placa de plástico. Otro procedimiento es el uso de la FC con 50% de hemólisis, que se puede ejecutar con la macro o microtécnica; es más exacto y ofrece excelentes resultados, pero su ejecución exige personal técnico muy bien adiestrado y más tiempo. Se ha demostrado que la correlación entre la infección y la reacción positiva es más estrecha y coincidente en esta prueba que en la seroaglutinación. Además los anticuerpos heteroespecíficos producen menos problemas que en la aglutinación; en los animales expuestos experimentalmente que resisten el desafío, las reacciones positivas se producen con una menor frecuencia en la FC que en la aglutinación. Otra ventaja importante de la FC es que, a menudo, resulta positiva en infecciones crónicas, por lo tanto es útil para aclarar el significado de sueros sospechosos en la seroaglutinación⁴⁰.

Para Casas:

Los sueros sometidos a la prueba de FC deben estar exentos de eritrocitos y hemólisis. Sin embargo, una ligera hemólisis no resta precisión a la prueba; es muy importante que los sueros no estén ni bacteriológica ni químicamente contaminados, para ello se deben extraer asépticamente y transportar a bajas temperaturas y guardarse a 4° C por un breve período, hasta el momento de la prueba; los sueros se deben inactivar antes de efectuar la prueba para destruir el

⁴⁰ **Ibid.,p.** 21

complemento; al mismo tiempo, se inactivan los anticuerpos inespecíficos y disminuye la actividad anticomplementaria, para esto se los somete a temperaturas que van desde 56 a 60° C. En el bovino infectado o vacunado con Cepa 19, tanto las IgM como las IgG1 tienen actividad fijadora del complemento. Sin embargo, las IgG1 son mucho más efectivas que las IgM, las IgM fijan ávidamente el complemento a 37° C y aún a 4° C, mientras que las IgG lo hacen más efectivamente a 4° C⁴¹.

4.12.6. 2-Mercaptoetanol (2-ME). Cotrina y Fernadez afirman que:

Es una prueba selectiva que detecta solamente la presencia de las IgG se basa en que los anticuerpos IgM, con configuración de pentámero, se degradan en cinco subunidades semejantes por la reducción de los enlaces de disulfuro, debido a la acción de ciertos compuestos que contienen radical tiol, tales como el 2-mercaptoetanol, la cisteína y ditiotreitól. Esas subunidades poseen constantes de sedimentación 7S, y antigenicidad, pero pierden la actividad de cuerpo plurivalente y se comportan como anticuerpos univalentes. Aún cuando las subunidades están integradas por dos cadenas pesadas y dos livianas, al combinarse con el antígeno no originan complejos suficientemente grandes como para precipitar o aglutinar, probablemente como consecuencia de algún impedimento estérico. Las moléculas de IgG, en cambio, no sufren un efecto obvio que altere su actividad para dar reacciones objetivas como la aglutinación. La prueba se usa, por lo tanto como evidencia presuntiva de la presencia de anticuerpos de la clase IgG⁴².

⁴¹ **Ibid.,p.** 22

⁴² **COTRINA, Op. Cit., p.** 119.

4.12.7. Prueba del Anillo. Los mismos autores explican que:

Esta prueba se utiliza para la detección de casos tanto precoces como crónicos. También se la recomienda para determinar la especificidad de los títulos significativos que aparecen circunstancialmente en hatos libres de brucelosis. Sin embargo, la alta sensibilidad de la prueba, especialmente en áreas de vacunación, podría determinar la condena de un importante porcentaje de animales libres de infección.

Se ha calculado que la probabilidad de obtener una prueba de anillo positiva mezclando leches de 25 vacas, de las cuales sólo dos son reaccionantes a la seroaglutinación, es del 96%, cuando hay tres vacas positivas es del 99%. Pueden ocurrir reacciones positivas en animales adultos vacunados poco tiempo antes con la Cepa 19; estas reacciones aparecen a la semana y persisten durante 2 o 3 meses, pueden reaparecer hacia el final de la lactancia, en cambio la vacunación de los terneros no interferirá en la prueba de anillo cuando los animales alcanzan la madurez y entran en producción⁴³.

4.12.8. Prueba del Antígeno Tamponado ("Card test"; prueba de Rosa de Bengala). Casas manifiesta que:

La prueba de la tarjeta ha encontrado una amplia aplicación como prueba para pesquisaje en rebaños bovinos; por lo

⁴³ **Ibid.,p.** 36

general se considera que es demasiado sensible, especialmente en animales inmunizados con Cepa 19. Es un procedimiento cualitativo rápido, de aglutinación macroscópica que se efectúa con una sola dilución y que detecta principalmente los anticuerpos IgG1. aunque se ha demostrado que también reaccionan los IgM, pero no los IgG2. Se emplea un antígeno coloreado con Rosa de Bengala, tamponado a un pH de 3.65 y con una concentración celular del 8%. El antígeno tiene una buena estabilidad a 4° C, pero puede deteriorarse si se expone rápidamente a temperatura ambiente. Es muy importante que el antígeno posea la adecuada sensibilidad y el correcto pH, y que reúna todos los requisitos que exigen las normas de preparación.

Al principio, el método se utilizó exclusivamente para porcinos; más tarde se modificó el antígeno para bovinos. Es una prueba que se usa como tamiz o descarte y también como complementaria o alternativa de otras pruebas básicas. Se puede aplicar como método de vigilancia en áreas libres de infección y para descubrir rebaños infectados a nivel de rebaños de carne o a nivel de mataderos y frigoríficos.

El método consiste en mezclar cuidadosamente sobre una tarjeta especial o sobre una placa de vidrio, volúmenes iguales de 0.03 ml de suero o plasma sin diluir con 0.03 ml de antígeno tamponado. A continuación, se imprime un movimiento de vaivén a mano o por medio de un oscilador mecánico (12 movimientos por minuto) durante 4 minutos. Se procede inmediatamente a la lectura y se clasifican las muestras como negativas cuando no hay aglutinación y positivas, cuando la hay. No existe la categoría de sospechoso. La lectura indica principalmente la presencia o ausencia de aglutininas brucélicas IgG1. Los resultados de la prueba de la tarjeta y los de la aglutinación en placa o tubo pueden no coincidir. En la seroaglutinación en placa o en tubo reaccionan los anticuerpos aglutinantes IgM e IgG2, mientras que en esta prueba reaccionan principalmente los IgG1⁴⁴

⁴⁴ CASAS,. Op. Cit ., p 31.

Además, sostiene Casas:

Es una prueba de gran utilidad, especialmente en áreas en los que no se emplea la vacunación en bovinos. En los animales vacunados entre 3 y 8 meses de edad esta prueba se hace negativa rápidamente y no interfiere en el diagnóstico posterior una vez que los animales sobrepasan los cuatro meses de edad. En cambio, algunos animales vacunados después de los 8 meses reaccionarán posteriormente a la prueba de antígeno tamponado.

Hay una buena correlación entre los resultados de la prueba de la tarjeta y la FC. En las dos pruebas interviene principalmente el mismo tipo de anticuerpos. La prueba de la tarjeta da resultado negativo en una porción apreciable de animales que presentan títulos bajos en la aglutinación en tubo y que corresponderían a reacciones heteroespecíficas o a títulos residuales de vacunación, lo que permite aclarar rápidamente el diagnóstico.

Además esta prueba facilita la identificación de animales infectados que presentan títulos bajos o que están crónicamente infectados ya que no reaccionan o reaccionan ligeramente a la prueba de aglutinación y en los que predominan las IgG, o que tienen exclusivamente esta inmunoglobulina.

Una reacción positiva con el antígeno tamponado indica que:

- Hay presencia de IgG1 en el suero o plasma;
- Hay alta probabilidad de aislar *Brucella* de las secreciones o tejidos de esos animales;

- El animal es un excretor potencial y, por lo tanto, peligroso para la salud del rebaño;
- Es necesario aislar o eliminar a ese reaccionante.

Por su simplicidad se la considera la mejor prueba diagnóstica disponible para propósitos de vigilancia⁴⁵.

4.13. PROYECTO NACIONAL DE PREVENCIÓN Y CONTROL DE LA BRUCELOSIS BOVINA, CON PERSPECTIVAS A SU ERRADICACION DE COLOMBIA.

4.13.1. Importancia económica. Un estudio hecho en México por Vetteck asegura que:

Uno de los países de América Latina con mayor incidencia de Brucelosis principalmente en bovinos, ovinos y caprinos es México. Las pérdidas que ocasiona se calculan en millones de dólares anuales por concepto de eliminación de animales infectados, abortos, infertilidad y productos contaminados, las prevalencias más altas observadas en ganado lechero se calculan que ocasionaron pérdidas en América Latina de aproximadamente 600 millones de dólares anuales. Por otro lado, en México, la Secretaría de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural (SAGAR) estimó en 1995, pérdidas en la ganadería bovina de carne de aproximadamente \$16.255,433 y en ganadería de leche, alrededor de \$22.477,752 considerando que las vacas con Brucelosis reducen su producción láctea en un 20%. Se estima que la Brucelosis produce durante un ciclo productivo una pérdida de 217 litros promedio por vaca, y un índice de fertilidad del 65-70%. Esto arrojó un costo negativo de aproximadamente \$59.994,008 poniendo en

⁴⁵ **Ibid.,p.** 32

manifiesto la importancia sanitaria y económica de la enfermedad en México⁴⁶.

De acuerdo con lo reportado por el ICA:

Recientemente se estableció el primer ciclo de vacunación contra la Brucelosis, por tratarse de un problema sanitario de gran envergadura que ocasiona pérdidas anuales estimadas en \$42.000 millones y por ser un riesgo para la salud humana (zoonosis). El gerente general del ICA, hizo un llamado a los ganaderos para que junto con la vacunación de la Fiebre Aftosa también sean vacunadas todas las terneras dentro del ciclo establecido para la Brucelosis Bovina y mencionó que: "en la actualidad, esta enfermedad afecta el 7% de la ganadería, unos 541.000 bovinos, principalmente destinados a la cría y producción de leche; 16% de los predios bovinos se encuentran infectados, lo cual corresponde aproximadamente a 70.000 de estos. La mayor presentación de casos ocurren en los departamentos de Cundinamarca, Boyacá, Nariño, Caquetá, Casanare, Arauca, Córdoba y Sucre." La Brucelosis Bovina, ocasiona pérdidas anuales por la considerable reducción en la producción de leche en vacas infectadas, hasta de un 20%, esto es más o menos 39.500 toneladas de leche; otra causa son los abortos, 163.000 terneros, aproximadamente y el sector ganadero afectado ha gastado más de \$12.100 millones en costos de tratamientos en vacas, novillas y toros que a la postre no son curativos de la enfermedad, que en muchos casos puede llegar a ocasionar la muerte de las vacas por peritonitis, esto debido a la retención de placenta, en este aspecto se tiene un estimativo de pérdidas de \$800 millones.

La vacunación contra la Brucelosis Bovina, la supervisión de la misma y su registro ante el ICA son de obligatoriedad y las realizarán las organizaciones ganaderas, cooperativas y otros entes del sector que formen parte de la infraestructura técnica y administrativa del

⁴⁶ Brucelosis. VetTech / México. 27 abril, 2003. <http://www.vettek.com>

Programa Nacional para la Erradicación de la Fiebre Aftosa establecida por FEDEGAN y debidamente autorizados por el ICA. Los ganaderos de predios libres que cumplan con la vacunación y demás medidas establecidas en el Programa Nacional de Prevención y control de la **Brucelosis Bovina**, podrán solicitar al ICA el ingreso al programa de Fincas Libres de Brucelosis Bovina, como prenda de garantía y de confianza en el comercio de los animales y subproductos, con lo cual el ganadero aumenta sus ganancias y evita posibles riesgos en la salud de él, de sus trabajadores, de su familia y de los consumidores de leche y quesos⁴⁷.

Narváez y Peña en su estudio, concluyen que:

Los indicadores de fertilidad presentaron valores que se consideran deficientes debido a la incidencia de Brucelosis en el Municipio de Aldana, departamento de Nariño, lo que redonda en considerables pérdidas económicas, ya que de acuerdo a los valores obtenidos en dicho estudio con relación por ejemplo, a los días abiertos, (120.40) se observa una diferencia de 12.40 días respecto al valor de referencia, lo que equivale a una pérdida económica de \$ 60.258,14. Los autores atribuyen las pérdidas económicas además de la Incidencia de Brucelosis, a factores como problemas sanitarios de diferente índole, problemas nutricionales y de manejo⁴⁸.

4.13.2. Situación en Colombia. Según el ICA: "Se está realizando una campaña para erradicar la brucelosis, que nos está limitando la exportación de

⁴⁷ Arranca el primer ciclo de vacunación contra Fiebre Aftosa y Brucelosis. ICA/Colombia. 27 abril, 2003. <http://www.ica.gov.co/prensa/2002-15.asp>.

⁴⁸ **NARVAEZ ORTIZ, Mario Fernando y PEÑA OJEDA, Carlos Andrés.** Evaluación serológica de la Brucelosis bovina y su correlación económica con la fertilidad en hatos del Municipio de Aldana, Nariño, Colombia. Pasto 2000, 71 p. Trabajo de grado (Médico Veterinario). Universidad de Nariño. Facultad de Ciencias Pecuarias.

carne, leche y todos los derivados. La prevalencia de este problema sanitario en los hatos lecheros es de 3.2% en la Región Andina, 3.1% en la Región Caribe y 1.5% en el Piedemonte Llanero⁴⁹.

Rincón refiriéndose a la situación en Colombia manifiesta que:

La ampliación de zonas libres de Fiebre Aftosa y el establecimiento de hatos sin Brucelosis; la erradicación de la Tuberculosis bovina y la Salmonelosis Aviar, la disminución de la Rabia bovina y la Peste porcina, la reducción de enfermedades aviarias, las campañas contra los parasitismos y la defensa contra las enfermedades como la Encefalitis Equina y la Encefalopatía Espogiforme Bovina hacen parte de la lucha que tienen que librar diariamente las autoridades sanitarias y ganaderas, para tratar de disminuir los 42 mil millones de pesos que pierde el país anualmente por la ocurrencia de estas enfermedades y los cuales pueden aumentarse notablemente si se presenta una de las llamadas enfermedades exóticas. La presencia de las enfermedades tiene efectos directos en las explotaciones animales, como son: alta mortalidad y morbilidad, baja producción, pérdidas por alteraciones reproductivas, tratamiento de animales enfermos, disminución del valor de los productos de los animales en la granja y marginación de los mercados internacionales.

Para frenar estos efectos nocivos y aumentar los ingresos del sector pecuario el gobierno nacional ha delegado esa responsabilidad al ICA entidad que a su vez dispone de una infraestructura y talento humano; en la división de sanidad

⁴⁹ Arranca el primer ciclo de vacunación contra Fiebre Aftosa y Brucelosis. Op., Cit ., p 2

animal la cual adelanta las campañas y sigue las políticas para defender estos flagelos que azotan parte de la economía del país⁵⁰.

5. DISEÑO METODOLOGICO

5.1 LOCALIZACIÓN

⁵⁰ **RINCON, M.** La sanidad animal en Colombia. En: Revista ICA informa. Vol. 23, No. 4; 1999; P. 5.

El Municipio de Guachucal, está ubicado al sur occidente del Departamento de Nariño, y al Norte de la provincia del Carchi (República del Ecuador) a 87 kilómetros de San Juan de Pasto a una altura de 3180 msnm. La región se halla integrada al Altiplano de Túquerres e Ipiales y se encuentra localizado geográficamente entre 0° 53' 55" y 1° 05' 25" de Latitud Norte y a una Longitud de 77° 32' 24" al occidente del meridiano de Greenwich. Con una Temperatura anual de 11°C⁵¹

El análisis de laboratorio se llevó a cabo en el centro de Diagnóstico del Instituto Colombiano Agropecuario, ubicado a 113' de Latitud Norte y 5:8' de Longitud Oeste del Meridiano de Bogotá; a una altura sobre el nivel del mar de 2554 metros y temperatura promedio de 14°C. ⁵²

5.2 INSTALACIONES EQUIPOS Y MATERIALES

Para la toma de muestras en el campo se tiene en cuenta la utilización de los siguientes equipos:

⁵¹ UNIDAD MUNICIPAL DE ASISTENCIA TECNICA AGROPECUARIA. Programa Agropecuario Municipal (PAM). Guachucal, Colombia, 1994. P. 120.

⁵² PASTO, Plan de Desarrollo: Todo por Pasto 1995-1997. Pasto, Colombia: Editar, 1995. P. 7.

- ❖ Botas de trabajo.
- ❖ Agujas calibre 16 de 1 y 1 ½ pulgadas.
- ❖ Tubos de ensayo previamente esterilizados.
- ❖ Guantes de látex.
- ❖ Desinfectante.
- ❖ Overol.
- ❖ Cinta de enmascarar.
- ❖ Nariguera.
- ❖ Jeringas.
- ❖ Lasos.
- ❖ Tabla para el control de datos.
- ❖ Cava para el transporte de muestras.

Para el procesamiento de las muestras en el laboratorio del ICA se utilizó los siguientes materiales y reactivos:

- ❖ Blusa de laboratorio
- ❖ Suero o muestras sanguíneas.
- ❖ Tubos de serología.
- ❖ Gradilla.

- ❖ Antígeno Rosa de Bengala (reactivo).
- ❖ Pipeta semiautomática.
- ❖ Reloj cronómetro.
- ❖ Cinta para rotular.
- ❖ Marcador para rotular.
- ❖ Desinfectante.
- ❖ Palillos.
- ❖ Centrífuga.

5.3 POBLACION Y OBJETO DE MUESTRA

Para el diagnóstico serológico se muestreó hembras mayores de 24 meses.

Mediante la aplicación de las fórmulas epidemiológicas del Centro Panamericano de Zoonosis (Cepanzo, 1979, 10), se obtuvo el número de muestra así:

Fórmula para el número de muestra:

$$n = \frac{(\alpha)^2 p \cdot q}{\frac{K \cdot R^2}{100}}$$

Donde:

n = Tamaño de la muestra.

$(\alpha)^2$ = Valor constante para el 95% de confianza.

P = Prevalencia.

q = (1- p)

K = Margen de error permisible.

R = Confiabilidad.

Entonces:

$$n = \frac{(1.96)^2 \times 13.5 \times 86.5}{\frac{20 \times 5^2}{100}}$$

n = 934.

El número de muestras que se empleó para el estudio superó el valor de la muestra estadísticamente representativa para la población.

En total se tomaron 1318 muestras de bovinos hembras mayores de 24 meses, distribuidas en 231 predios así:

116 predios con <de 10 bovinos para un total de 310 animales;

65 predios con 10 – 25 bovinos para un total de 365 animales;

32 predios con 25 – 50 bovinos para un total de 318 animales;

13 predios con 50 – 100 bovinos para un total de 207 animales;

5 predios con > de 100 bovinos para un total de 118 animales.

231 predios Σ 1318 animales.

5.4 TECNICA PARA LA RECOLECCION DE MUESTRAS

La toma de muestras fue llevada a cabo por los Técnicos de la UMATA del Municipio de Guachucal, mediante punción venosa en la vena caudal. Se tomó aproximadamente de 5 a 10 cc de sangre con agujas calibre 16 de 1 ½ pulgadas, para facilitar el trabajo, se sujetan con la ayuda de una nariguera. Cada muestra de sangre se depositó en sendos tubos previamente esterilizados y se rotuló convenientemente con el nombre o número del animal, el hato de donde procede, la vereda y la fecha, y se somete a refrigeración hasta el momento de analizarlas y se enviaron al Centro de Diagnóstico del ICA en la ciudad de Pasto, con su correspondiente hoja de remisión (Anexo 1).

5.5 TECNICAS PARA EL PROCESAMIENTO DE MUESTRAS EN LABORATORIO.

5.5.1. Prueba de Rosa de Bengala. Belalcazar y Corrella (1982,47), afirman que la prueba de Rosa de Bengala se realiza de la siguiente manera:

- a. Colocar 0.03 ml de plasma o suero problema sobre uno de los cuartos de la lámina de vidrio.
- b. Colocar una gota del antígeno Rosa de Bengala cerca de la gota de suero.
- c. Mezclar bien el suero y el antígeno utilizando un agitador distinto para cada muestra.
- d. Hacer girar la lámina o tarjeta durante cuatro minutos a razón de 10 a 12 movimientos por minuto.
- e. El resultado de la prueba se lee a los cuatro minutos sobre un fondo blanco. Las reacciones positivas presentan grumos de aglutinación que pueden ser grandes o pequeños.⁵³

5.6 DISEÑO EXPERIMENTAL Y ANALISIS ESTADISTICO

El planteamiento de hipótesis es el siguiente:

⁵³ **BELALCAZAR, Amparo y CORELLA, Francisco.** Incidencia de Brucelosis en hatos lecheros del Municipio de Pasto. Pasto 1982, 47 p. Trabajo de grado (zootecnista). Universidad de Nariño. Facultad de Ciencias Pecuarias.

$H_0 = P_1 = 0$

H_0 = La seropositividad a anticuerpos de *Brucella sp* determinada mediante prueba de Rosa de Bengala es igual a Cero.

Hipótesis alterna

$H_1 = P_1 \neq 0$

H_1 = La seropositividad a anticuerpos de *Brucella sp* determinada mediante prueba de Rosa de Bengala es diferente de Cero.

5.6.1. Tasa de prevalencia. Es una medida estadística que se emplea para caracterizar la frecuencia de una enfermedad en un momento y período determinado y es igual:

$$TP = \frac{\text{Número de casos de una enfermedad determinada}}{\text{Número de animales de esa población en la misma fecha o período en una misma área.}}^{54}$$

5.6.2. Seropositividad en relación al número de animales.

Para obtener la seropositividad en relación al número de animales, se

⁵⁴ **MOSQUERA, Carlos.** Métodos de muestreo. Pasto, Colombia. Universidad de Nariño. 1994. P. 8

tuvo en cuenta los siguientes parámetros:

- ❖ Predios con menos de 10 animales.
- ❖ Predios de 11 a 25 animales.
- ❖ Predios de 26 a 50 animales.
- ❖ Predios de 51 a 100 animales.
- ❖ Predios de más de 100 animales.

6. PRESENTACION Y DISCUSION DE RESULTADOS

6.1 ANALISIS DE SEROPOSITIVIDAD A BRUCELOSIS BOVINA EN EL MUNICIPIO DE GUACHUCAL DEPARTAMENTO DE NARIÑO.

Para el diagnóstico serológico se muestrearon 1318 bovinos hembras mayores de 24 meses sobre un total de 231 predios, en el Municipio de

Guachucal, departamento de Nariño, con el objeto de conocer la seropositividad a anticuerpos de *Brucella sp* en esta zona del país.

Se superó el tamaño de la muestra estadísticamente representativa de la población ya que el estudio se realizó como trabajo de vigilancia epidemiológica en este Municipio durante los meses de semestre rural en el Centro de Diagnóstico del ICA, por lo tanto dicho estudio se elaboró bajo los objetivos y expectativas de la entidad.

De los 231 predios sometidos al estudio, 70 resultaron positivos lo que corresponde al 30.3%.

A nivel individual de los 1318 animales muestreados 175 revelaron presencia de anticuerpos contra *Brucella sp*, es decir mostraron reacción positiva a la prueba de Rosa de Bengala, lo que equivale al 13.3% (Tabla 3).

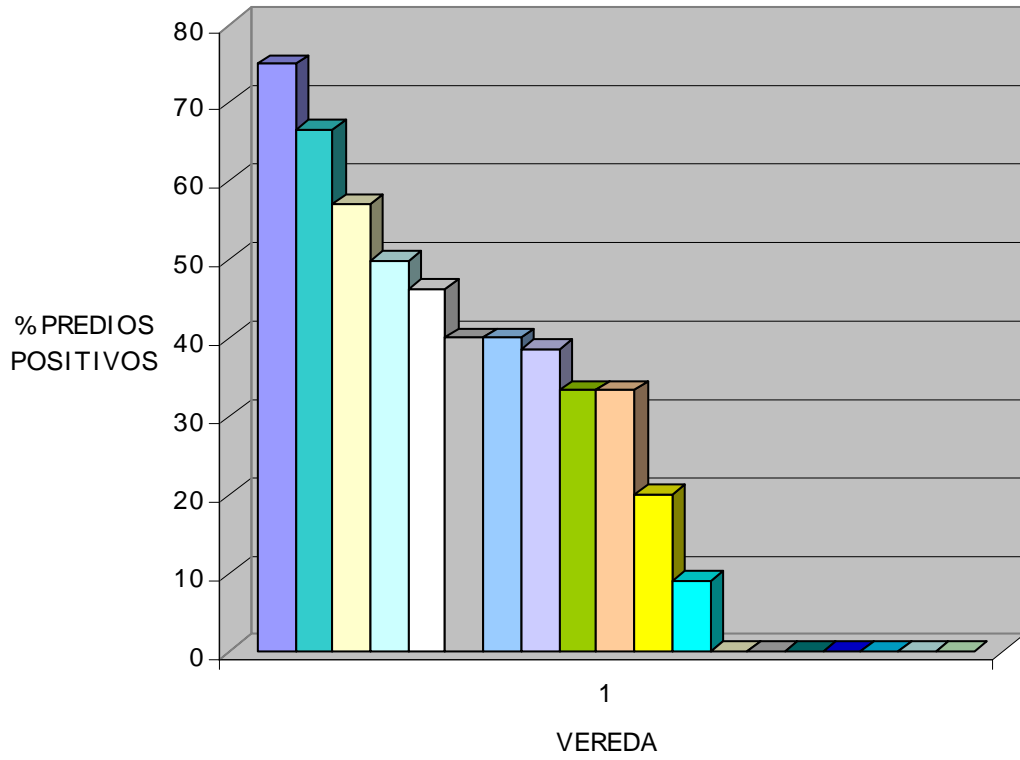
Tabla 3. Análisis de la seropositividad a anticuerpos de *brucella sp*, en el Municipio de Guachucal - departamento de Nariño.

No. Predios muestreados	231
No. predios positivos	70
No. Animales muestreados	1318
No. Animales positivos	175
% de predios positivos	13.3
% de animales positivos	30.3

Por lo tanto se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alterna: La seropositividad a anticuerpos de *Brucella sp*, determinada mediante prueba de Rosa de Bengala es diferente de cero.

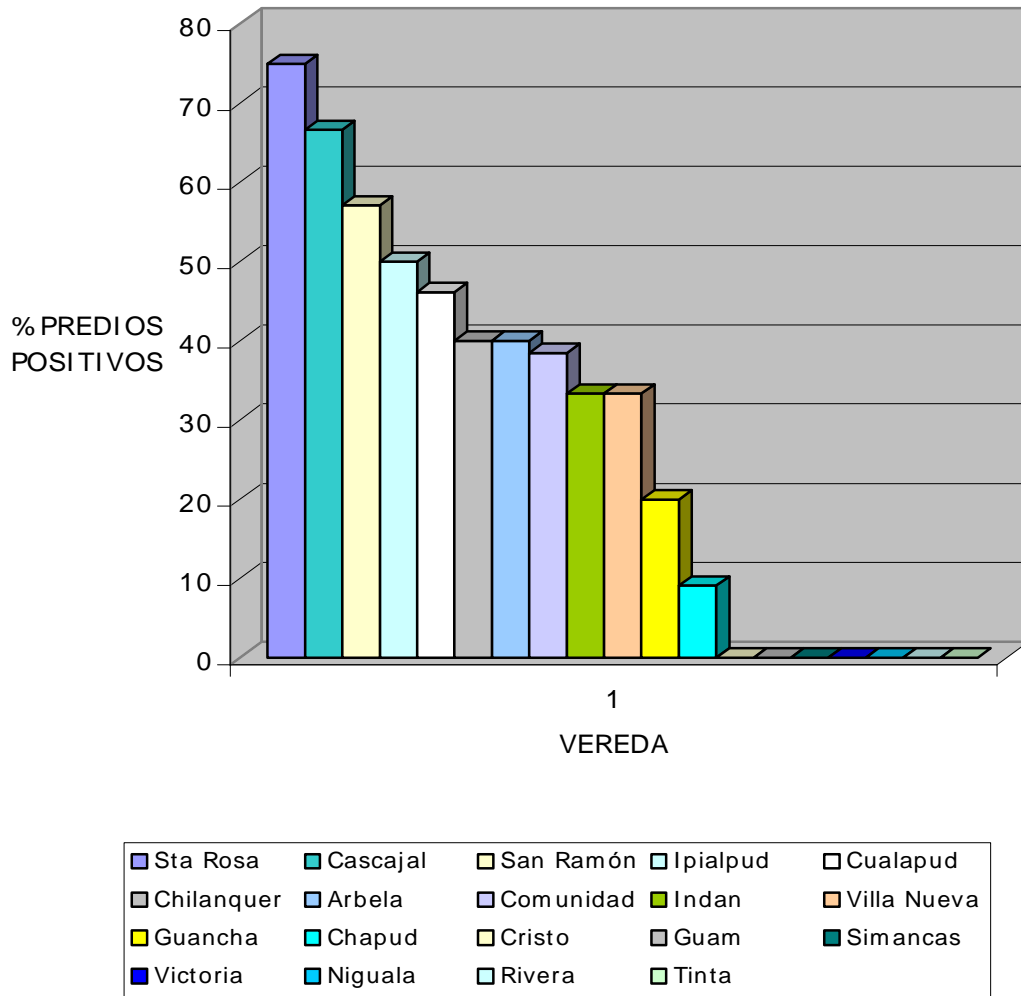
De acuerdo a la distribución geográfica y número de predios afectados, con relación al total muestreado por vereda, Santa Rosa mostró el mayor porcentaje de positividad, con 3 predios positivos de 4, es decir el 75% (Figura 1).

Figura 1. % Predios positivos por



- | | | | | |
|------------|----------|-----------|----------|-------------|
| Sta Rosa | Cascajal | San Ramón | Ipialpud | Cualapud |
| Chilanquer | Arbela | Comunidad | Indan | Villa Nueva |
| Guancha | Chapud | Cristo | Guam | Simancas |
| Victoria | Niguala | Rivera | Tinta | |

Figura 1. % Predios positivos por vereda



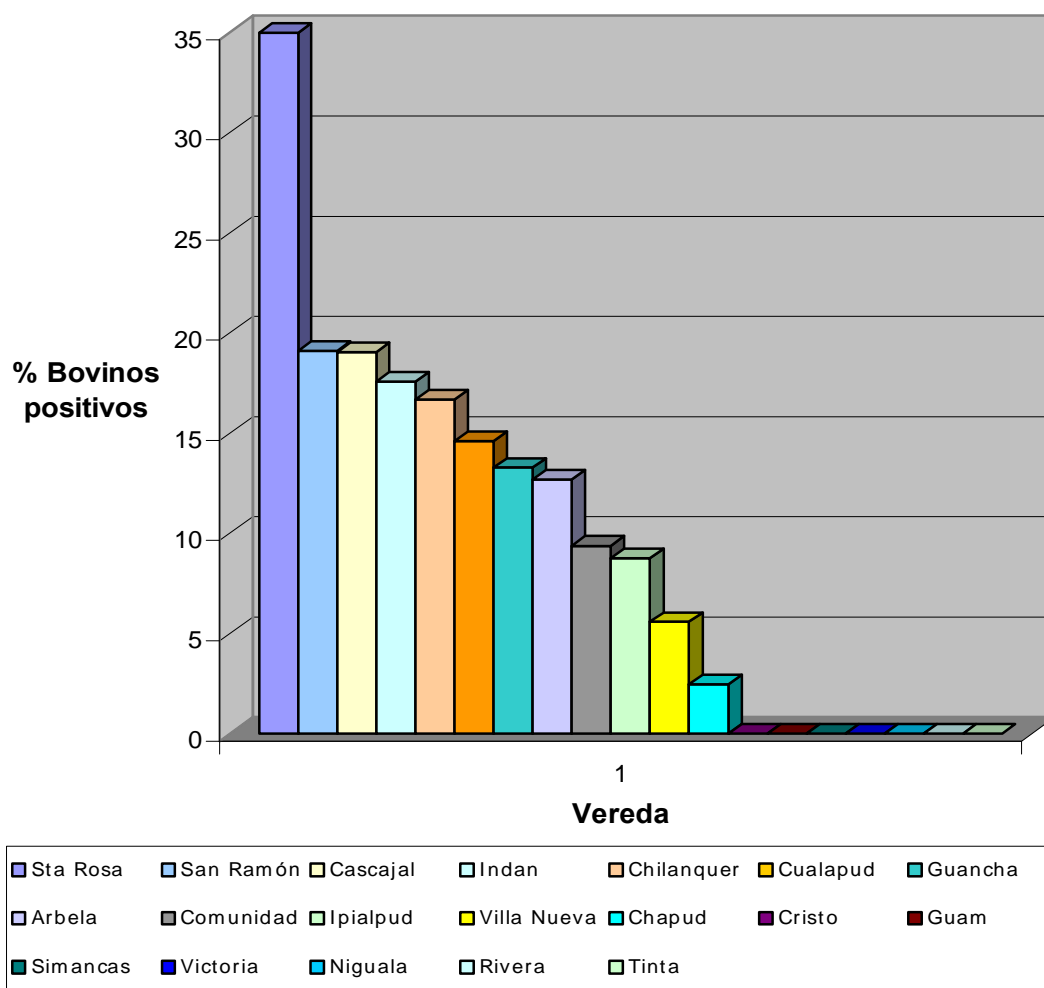
Con respecto a la poblaci3n muestreada y el n3mero de animales positivos por vereda, Santa Rosa present3 el mayor porcentaje de positividad con el 35%, las veredas San Ram3n, Cascajal, Indan, Chilanquer y Cualapud obtuvieron el 19.1, 19.04, 17.6, 16.7 y 14.6% respectivamente (Tabla 4, figura 2).

Tabla 4. Análisis de seropositividad por Distribución Geográfica.

VEREDA	PT	PP	% P	AT	AM	AP	% A	ANPR*
Chilanquer	60	24	40	1338	400	70	16.7	22.3
Cualapud	26	12	46.2	662	198	29	14.6	25.4
Arbela	20	8	40	586	158	20	12.7	29.3
Cristo	17	0	0	121	57	0	0	7.1
Guam	17	0	0	98	43	0	0	5.7
Simancas	16	0	0	96	38	0	0	6
San Ramón	14	8	57.1	343	94	18	19.1	24.5
Comunidad	13	5	38.5	168	64	6	9.4	12.9
Chapud	11	1	9.09	97	40	1	2.5	8.2
Cascajal	6	4	66.7	272	42	8	19.04	45.3
Guancha	5	1	20	35	15	2	13.3	7
Victoria	5	0	0	31	16	0	0	6.2
Ipialpud	4	2	50	144	45	4	8.8	36
Santa Rosa	4	3	75	110	40	14	35	27.5
Niguala	4	0	0	24	14	0	0	6
Indan	3	1	33.3	58	17	3	17.6	19.3
Villa Nueva	3	1	33.3	65	18	1	5.6	21.7
Rivera	1	0	0	18	9	0	0	18
Tinta	1	0	0	12	5	0	0	12

***PT:** predios totales **PP:** predios positivos **% P:** porcentaje predios positivos **AT:** animales totales **AM:** animales muestreados **AP:** animales positivos **% A:** porcentaje animales positivos **ANPR:** animales por predio.

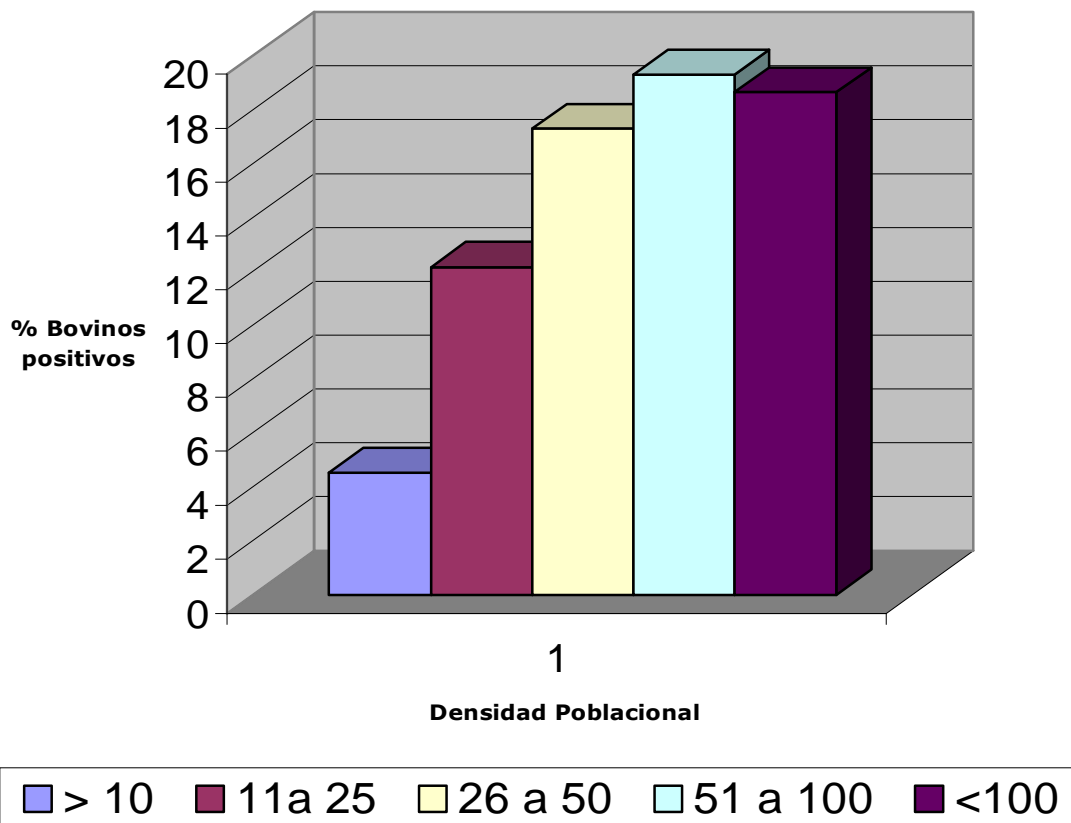
Figura 2. % Bovinos positivos por vereda



Con relación a la seropositividad según la densidad de la población bovina por predio, se observó que en los predios con menos de 10 animales, de 310 serologías se encontró 14 positivas, correspondiente al 4.52%; en fincas con densidad de población entre 11 y 25 animales, de 365 serologías 44 resultaron positivas es decir el 12.15%; en predios de 26 a 50 bovinos, de 318 animales, 55 serologías fueron

positivas equivalente al 17.29%; en predios con una densidad poblacional de 51 a 100 animales, el 19.3% resultó positiva es decir, 40 de 207 serologías y en fincas con más de 100 animales 22 de estos fueron positivos, o sea el 18.64% (Tabla 5, Figura 3).

Figura 3. Bovinos positivos de acuerdo a la densidad poblacional



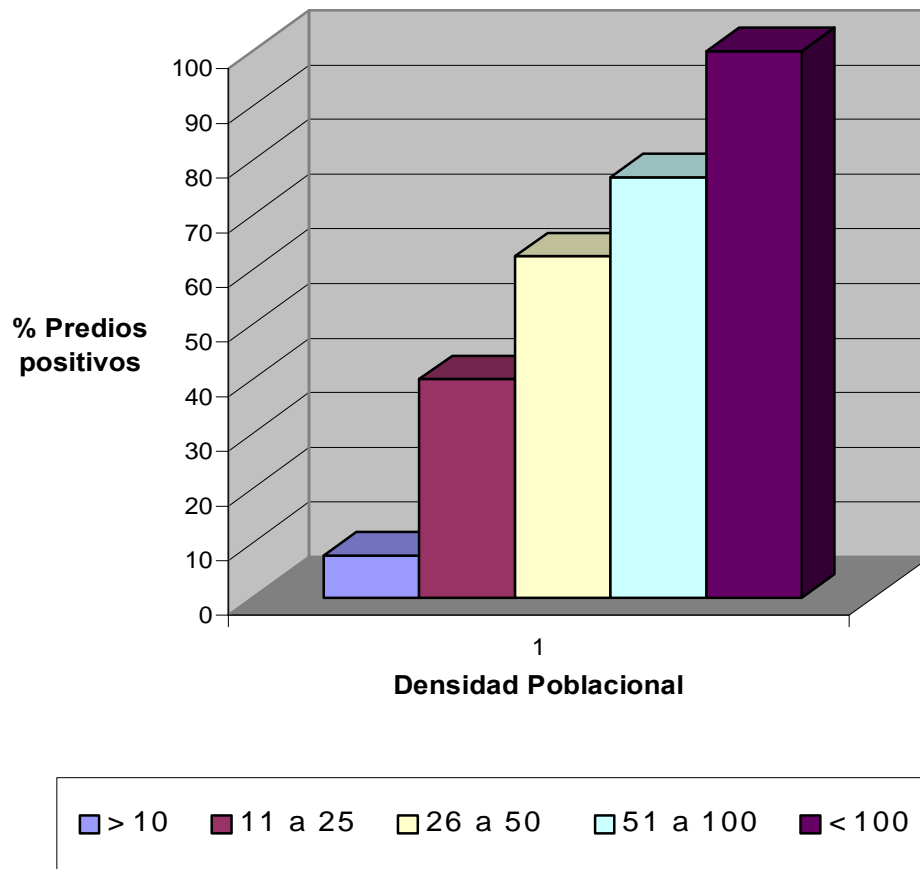
El estudio de seropositividad por predios, arrojó los siguientes resultados: 9 de 116 predios con menos de 10 animales fueron

positivos lo que representa el 7.75%, 26 de 65 predios con 11 a 25 animales resultaron positivos es decir el 40%, 20 de 32 predios con 26 a 50 animales fueron reactivos, equivalente al 62.5%, el 76.9% de fincas con 51 a 100 animales alcanzaron resultados positivos o sea 10 de 13, y en predios con más de 100 animales el resultado fue del 100% es decir que todos los predios evaluados (5) con esta densidad poblacional fueron seropositivos (Tabla 5, Figura 4).

Tabla 5. Análisis de la seropositividad con relación a la densidad poblacional

DENSIDAD POBLACIONAL	%PREDIOS +	%BOVINOS +	□ B/P
>10 animales	7.75	4.52	5.76
11-25 animales	40	12.5	17.8
26-50 animales	62.5	17.29	36.12
51-100 animales	76.9	19.3	59.7
<100 animales	100	18.64	110.4

Figura 4. % Predios positivos de acuerdo a la densidad poblacional



7. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

7.1 Conclusiones.

7.1.1 La seropositividad a anticuerpos de *Brucella sp* en el Municipio de Guachucal departamento de Nariño fue de 13.27% para bovinos y de 30.3% para predios, estos porcentajes se consideran altos con relación al número de animales muestreados en el presente trabajo.

7.1.2 Los predios con una densidad poblacional mayor de 100 animales presentaron el 100% de positividad, los de 51 a 100 animales el 76.9%, los de 26 a 50 animales el 62.5%, los de 11 a 26 animales el 40% y los de menos de 10 animales el 7.75%, con lo que se puede concluir que el problema no radica principalmente en los pequeños productores de leche.

7.1.3 La seropositividad individual en predios con una densidad poblacional mayor de 100 animales también fue la segunda más alta 18.64 %, precedida por el 19.3% de los predios de entre 51 a 100 animales, lo que ratifica la conclusión anterior.

7.1.4 Con respecto a la distribución geográfica se determinó que la vereda con el mayor porcentaje de seropositividad fue Santa Rosa con 3 de 4 predios muestreados correspondiente al 75%.

7.1.5 Igualmente la vereda Santa Rosa presentó el mayor porcentaje de bovinos reaccionantes (35%), seguida por las veredas San Ramón, Cascajal, Indan, Chilanquer y Cualapud.

7.2 Recomendaciones.

7.2.1 Concertar con los ganaderos especialmente con aquellos que tienen la enfermedad en sus hatos, soluciones a este grave problema, como su participación en los programas de hatos libres de Brucelosis.

7.2.2 Continuar e intensificar la vigilancia epidemiológica principalmente en todo el cinturón lechero del departamento de Nariño.

7.2.3 Implementar una cultura sanitaria, en la región concientizando no solo a los productores, sino a todos los actores involucrados, como gremios, Veterinarios, amas de casa, etc. De su papel en la búsqueda de soluciones a este problema.

7.2.4 Apoyar las campañas de vacunación contra Brucelosis bovina que emprendieron el gobierno Nacional y los gremios.

7.2.5 Realizar estudios que permitan conocer con mayor profundidad el impacto económico de la Brucelosis en nuestro departamento.

BIBLIOGRAFIA

ACEBEDO, Fernando. Análisis de riesgo en la salud animal. En: Revista ICA Informa. Bogotá, Colombia. Vol. 19, No. 1; 18 P.

ANGEL, Gilberto. Interpretación Clínica de Laboratorio. 4ª. Ed. Bogotá, Colombia: Panamericana, 1993. 607 P.

Arranca el primer ciclo de vacunación contra Fiebre Aftosa y Brucelosis.

ICA/Colombia. 27 abril, 2003. <http://www.ica.gov.co/prensa/2002-15.asp>.

BECTON, Paul. Programa de Erradicación de la Brucelosis en Estados Unidos. Instituto Interamericano de cooperación para la Agricultura, OEA. Buenos Aires, Argentina: Redisa, 1981. 15 P.

BELALCAZAR, Amparo y CORELLA, Francisco. Incidencia de Brucelosis en hatos lecheros del Municipio de Pasto. Pasto 1982, 47 p. Trabajo de grado (zootecnia). Universidad de Nariño. Facultad de Ciencias Pecuarias.

BLOOD, Henderson. Medicina Veterinaria. 7ª. Ed. México: Interamericana, Mc Graw Hill, 1992. 1570 P.

Brucelosis. Agrobit/ Argentina. 27 abril 2003. <http://www.agrobit.com.ar>.

Brucelosis. VetTech/México. 27 abril, 2003. <http://www.vettek.com>.

CASAS, Olascoaga. Centro Panamericano de Zoonosis, OPS/OMS. Diagnóstico serológico de la Brucelosis. Buenos Aires, Argentina: Casilla 3092, correo central-1000, 1985. 41 P.

CHUNG, Yuang. Tratado de Microbiología Veterinaria. España: Acribia, 1983. 673 P.

COTRINA, Narey y FERNANDES, Aramis. Brucelosis: Un problema Sanitario y Económico. La Habana, Cuba: Editorial Científico Técnico, 1991. 135 P.

INSTITUTO COLOMBIANO AGROPECUARIO ICA. División de Zoonosis Regional Nariño. Boletín sobre Brucelosis Humana. Pasto, Colombia. No. 1, 2000. 8 P.

INSTITUTO COLOMBIANO AGROPECUARIO ICA. Sistema de protección y vigilancia epidemiológica. Bogotá, Colombia: Editor Subgerencia de prevención y control. 1998. 106 P.

INSTITUTO COLOMBIANO AGROPECUARIO ICA, Subgerencia de protección y regulación pecuaria, grupo de control y erradicación de riesgos zoonosarios. Bogotá, Colombia: Produmedios, 2002. 9 P.

JACQUES, Nicolet. Compendio de Bacteriología Médico Veterinaria. Zaragoza, España, 1986. 275 P.

MERCK. Manual Merck de Medicina Veterinaria. 4ª. Ed. Barcelona, España: Océano, 1993. 2092 P.

MIER, José et al. Brucelosis Pulmonar. Pasto, Colombia. No. 1, 2001. 5 P.

MOSQUERA, Carlos. Métodos de muestreo. Pasto, Colombia. Universidad de Nariño. 1994. P. 8.

NARVAEZ ORTIZ, Mario Fernando y PEÑA OJEDA, Carlos Andrés.

Evaluación serológica de la Brucelosis bovina y su correlación económica con la fertilidad en hatos del Municipio de Aldana, Nariño, Colombia. Pasto 2000, 71 p. Trabajo de grado (Médico Veterinario). Universidad de Nariño. Facultad de Ciencias Pecuarias.

Neurobrucelosis. Ferrero Miguel / España. 9 Ago. 2002. URL <http://www.Inferreror@meditex.es>.

NICOLETTI, Paul. Vacunación para el control de la Brucelosis bovina, III reunión Interamericana de Directores de Salud. Buenos Aires, Argentina: Redisa III, 1981. 6 P.

RINCON, M. La sanidad animal en Colombia. En: Revista ICA informa. Vol. 23, No. 4; 1999; 25 P.

Rodríguez, Roger. "Brucelosis bovina". Nuevo Periodismo. 27 abril, 2003 <http://www.hotmail.com/cluna27/>

STUART, Walker. Microbiología. México, D.F.: Mc Graw Hill Interamericana, 2000. 526 P.

THURMOND, Mark y HIETALA, Sharon. "Conceptos para el Control de la Brucelosis en Hatos Lecheros". Revista Cdrom. Sep. 2002. <http://www.msc.es/salud/epidemiología/resp./revista-cdrom/vol71/71-2-181.pdf>>.

Vacuna antibrucelica. OIE/ 27 abril, 2003. <http://www.rr-americas.oie.int/fichas/biologicos/2000/VACUNA ANTIBRUCELICA.htm>.