

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE NICARAGUA

UNAN – LEON

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA.



Trabajo de tesis para optar al título de Licenciado en Medicina Veterinaria

TEMA:

SEROPREVALENCIA DE ANTICUERPOS ANTI-BRUCELLA ABORTUS TIPO IgM e IgG, EN BOVINOS SACRIFICADOS EN EL RASTRO MUNICIPAL DE LA CIUDAD DE LEON SEPTIEMBRE-NOVIEMBRE 2006.

AUTORES:

**Br. Lissette del Carmen Campo Herrera.
Br. Berner Zeledonio Sánchez Sánchez**

TUTOR:

Dra. Christiane Düttmann

COLABORADORES :

**Dr. William Jirón
Dr. Alberto Montoya.
Dr. Román Vallecillo.**

León, 19 de Octubre del 2007.

RESUMEN

La presente investigación se realizó en el rastro municipal de la ciudad de León, en el período comprendido Septiembre-Noviembre 2006, con el objetivo de determinar la prevalencia de anticuerpos anti-Brucella abortus en bovinos enviados a este local para ser sacrificados y destinados a consumo humano. En este periodo se sacrificaron 1500 bovinos, de los cuales se eligieron 152 para este estudio, entre ellos machos y hembras mayores de 5 años realizándoles una toma de sangre las que fueron procesadas con las técnicas Rosa de Bengala y ELISA. Como resultado del estudio se obtuvo un 3.31% de seroprevalencia de brucelosis en ambas pruebas lo que equivale a 5 animales reactores.

Palabras Claves: ELISA, Rosa de Bengala, Brucella, seroprevalencia.

DEDICATORIA

Dedico esta tesis de manera muy especial:

A mi Madre

(Cándida Rosa Herrera E.)

A mi Padre (Daniel Campo)

Y mi hermano (Lester Campo).

AGRADECIMIENTOS.

En estas cortas líneas quiero agradecer a Dios y a todos aquellos que de una u otra forma han contribuido a la conclusión del presente trabajo, que sin ellos no hubiese sido posible realizarlo.

A mi madre por su apoyo, por quererme, por estar conmigo en todo momento.

Mi más sincero agradecimiento a mis maestros, Dr. Christiane Düttmann y el Dr. William Jirón por estar siempre disponibles a mis consultas y dedicarme parte de su tiempo en transmitir su valiosa experiencia y curiosidad científica.

Al Dr. Román por estar siempre dispuesto y haberme ayudado con su experiencia en el laboratorio.

Al Dr. Agustín por sus oportunas orientaciones. Gracias a ambos.

A mis compañeros en especial a Gladis, Margarita, Jessica, Mario, Lennon, Darwin y Berner por su oportuna ayuda en el muestreo.

Al Dr. Montoya que sin su ayuda este estudio no se hubiese realizado. Gracias Al Centro Nacional de Diagnostico y Referencia – MINSA Managua por darme esta oportunidad.

Finalmente a mis amigas Sara, Guadalupe, Xochilt, Maryuri con quienes he compartido momentos de alegría y tristeza durante toda mi carrera, Gracias.

AGRADECIMIENTO

Agradezco a Dios nuestro Padre por haberme dado la fuente de sabiduría, salud y fortaleza para llevar a cabo este trabajo investigativo, ya que sin su ayuda no hubiera sido posible culminar y lograr los objetivos planteados en este trabajo investigativo.

A mis padres por brindarme su apoyo incondicional, confianza y dedicación, ya que sin su apoyo no hubiese logrado culminar mi carrera.

Al Dr. Alberto Montoya, Lic. Román Vallecillo, Dr. Daniel Morales Arancibia quienes me facilitaron su ayuda para un desarrollo exitoso de este trabajo investigativo.

A mis tutores Dra. Christiane Düttmann y el Dr. William Jirón quienes gentilmente me brindaron, dedicación y paciencia necesaria durante el periodo de la investigación.

DEDICATORIA

Este trabajo investigativo se lo dedico:

Nuestro seños Jesucristo por ser la luz que me ha guiado siempre, es el que me ha fortalecido durante el transcurso de mis momentos difíciles y metas, en especial esta que es una meta crucial en mi vida.

Dedico este trabajo de investigación como un pequeño homenaje a mis padres Zeledonio Sánchez Roa y Manuela Sánchez Aguilar por todo su apoyo, por haberme inculcado deseos de superación y seguir adelante.

A mis hermanos Kenia Sánchez, Mariela Sánchez, Rodolfo Sánchez y a mi esposa Zeyra López, quienes me han brindado su apoyo incondicional, gracias por desear lo mejor para mí.

INDICE

	Páginas
1. Introducción	1
1.1 Antecedentes	3
1.2 Justificación	5
1.3 Hipótesis	6
2. Objetivos	7
3. Marco Teórico	8
3.1 Definición de Brucella	8
3.2 Definición del género Brucella	8
3.3 Características del género	9
3.4 Componentes antigénicos	10
3.5 Etiología	11
3.6 Epidemiología	12
3.7 Vías de contagio	13
3.8 Patogenia	15
3.9 Manifestaciones clínicas	17
3.9.1 Complicaciones	20
3.10 Inmunidad	21
3.10.1 Vacunación de terneros con cepa-19	22
3.10.2 Resistencia al medio	23
3.11 Diagnóstico	24
4. Tratamiento	31
5. Control y profilaxis	32
6. Material y método	34
7. Metodología de las Técnicas Diagnósticas	37
8. Resultados	33
9. Discusión	42
10 Conclusiones	43
11 Recomendaciones	44
12 Bibliografía	45
13 Anexos	48
Grafico:	
Seroprevalencia de brucelosis bovina.	49

ABREVIATURAS Y TERMINOS TECNICOS UTILIZADOS EN ESTE TRABAJO INVESTIGATIVO.

- CNDR: Centro Nacional de Diagnostico y Referencia.
- Micro aglutinación: Es la reacción que se da entre el antígeno y el anticuerpo que ha desarrollado cualquier animal, esta reacción solo puede ser observada a través de un microscopio de campo oscuro.
- Patógeno: Término que se le da a los agentes que originan y desarrollan una enfermedad.
- PBS: Fosfato salino buffer.
- Prevalencia: Término utilizado en epidemiología para determinar el número de personas que sufren una enfermedad con respecto a la población en estudio.
- Ph: Índice que expresa el grado de acidez o alcalinidad de una disolución, puede estar entre 0 – 7 disolución ácida y de 7 – 14 disolución básica.
- Seroprevalencia: Prevalencia encontrada en sueros.
- Serovar: Es la unidad básica que nos permite conocer y explicar la relación entre agente etiológico – Hospedador.
- Zoonosis: Enfermedad o infección que se da en los animales y que es transmisible al hombre en condiciones naturales.
- Ruiz Castañeda: Nombre que especifica medios de cultivo en base solida y en base liquida para Brucella.
- ELISA: (Enzyme Linked Inmuno Sorbent Assay) Ensayo Inmuno enzimático.
- Rosa de Bengala: Técnica diagnostica utilizada en campo para la detección rápida de brucelosis.
- FC: Fijación de Complemento.
- RFC: Reacción de Fijación de Complemento.
- PCR: Reacción en Cadena de la Polimerasa.
- LPS: Lipopolisacáridos.
- SRE: Sistema Retículo Endoplasmico.
- TMB: Tetrametillbencidina (solución de paro de reacción).
- NRAG 586: National Radiotherapy Advisory Group 586.

1. INTRODUCCION.

La brucelosis es una patología antroponozoonótica de distribución mundial, conocida desde hace muchos años, que sin embargo continua siendo un problema sanitario y económico de envergadura, caracterizada por su marcada tendencia a la cronicidad y curso lento con cuadros clínicos que incluyen abortos, retención placentaria, artritis, esterilidad en machos e inflamación de órganos y tejidos (Kubuafor y col., 2000).

La brucelosis se caracteriza por ser una enfermedad infecciosa crónica que da lugar a que la mayoría de las vacas permanezcan así por toda su vida útil. Esto sucede si se expusieron a temprana edad y particularmente antes de la primera preñez. A menudo la infección persiste en la ubre y en los ganglios vecinos desde donde vuelve a invadir el útero preñado. La ausencia de síntomas clínicos en una vaca después del primer aborto y la persistencia de la infección, permite que las vacas sirvan de reservorio y fuente de infección por mucho tiempo (Kubuafor y col., 2000).

La fuente de infección de la brucelosis la constituyen los animales infectados que excretan gran cantidad de bacterias junto con los tejidos y productos de abortos, en la leche, y en menor medida en las secreciones genitales, por tanto, es de mucha importancia tomar en cuenta el riesgo laboral al que están expuestos los veterinarios, ganaderos, matarifes, carniceros, trabajadores de frigoríficos y personal que manipula estos productos.

El único diagnóstico inequívoco es el directo, el cual consiste en el aislamiento e identificación del microorganismo causal a partir de la leche, escobillones vaginales o tejidos del animal. Sin embargo, como no siempre es posible aislar la bacteria de los animales vivos y el método es engorroso y caro para ser aplicado en grandes campañas, en la práctica se realiza el diagnóstico indirecto, basado en la demostración en los animales de una respuesta inmune serológica o alérgica frente a antígenos específicos de *Brucella*.

Para interpretar correctamente un diagnóstico positivo es necesario emplear más de una prueba serológica, además de conocer la situación epidemiológica de la brucelosis bovina en la zona en cuestión. Para obtener resultados adecuados sería preciso utilizar una combinación de una prueba de gran sensibilidad (Rosa de Bengala) y otra de mayor especificidad (ELISA).

Teniendo en cuenta la baja prevalencia de la enfermedad en nuestro país y la existencia de estudios anteriores (MAG-FOR, Dr. Bustamante 2005), nos proponemos en este trabajo indagar la prevalencia de brucelosis bovina en animales que llegan al rastro municipal de León a través de 2 métodos serológicos y brindar información para la propuesta de la aplicación de la prueba de ELISA en el “Plan para el Control de brucelosis bovina en Nicaragua”.

1.2. ANTECEDENTES.

A finales de la década de los 70 comenzaron a realizarse experimentos con la prueba de ELISA, para ser aplicada en el diagnóstico de la Brucelosis en varias especies de animales y el hombre. (Heck y col en 1982).

Según Isloor y col., 1998, en 23 estados de la India la seroprevalencia fue de 1.9% al utilizar la prueba en placa Rosa de Bengala.

Brown y Hernández de Anda en 1998 describen diferencias significativas en diferentes regiones de México con menor seroprevalencia con respecto a los otros, además fueron diferentes significativamente entre la región norte (0.22%), sur-central (3.18%) y el sur costero (9.42 %).

En el 2004 en un estudio realizado en el municipio la Cañada de Urdaneta, estado Zulia, Venezuela se obtuvo como resultado una seroprevalencia de 20,3%.

La prevalencia de brucelosis en nuestro país es la más baja en Centroamérica. En el año 2004, el Programa de Vigilancia del MAG-FOR realizó un estudio epidemiológico cuyos resultados fueron de una prevalencia del 0.12% para la brucelosis bovina, según especialistas de Sanidad Animal del MAG-FOR.

En el año 2005 se realizó un trabajo de brucelosis en la Isla de Ometepe logrando certificar Moyogalpa y Altagracia como libres de brucelosis bovina.

Este Programa de Certificación comenzó en el año 97 con poco personal, en el 2004 se estructuró una imagen de certificación a grandes rasgos. Entre 1997 y el 2005, se certificaron más de 750 fincas, con un promedio de cincuenta vacas por finca.

Según el Dr. Bustamante (Epidemiólogo del MAGFOR) se han certificado libres de brucelosis fincas en los municipios de Río Blanco, Paiwás, y en San Pedro de Lovago, además se ha iniciado el estudio en Esquipulas (Matagalpa), obteniendo resultados mínimos de reactores.

“En Nueva Guinea, el Almendro y El Coral, se ha trabajado un total de 80 comarcas (520 fincas y 380 productores) recolectándose y procesándose un total de 71,121 muestras para brucelosis. En esta zona trabajan de forma coordinada con el INTA, institución que cuenta con un Laboratorio de Diagnóstico Veterinario, que el MAG-FOR ha certificado para que realice y procese exámenes.

En países vecinos como Costa Rica y Honduras se reportan datos de prevalencia que oscilan entre los 20-25% respectivamente (Memish et al 2004).

1.3 JUSTIFICACION

Según MAGFOR-LEON, la prevalencia de brucelosis en el 2004 a nivel nacional era de 0.12% en la población del ganado bovino. Estos datos han sido obtenidos a través de pruebas convencionales (Rosa de Bengala y Rivanol). Sin embargo hay que tomar en cuenta que estos resultados corresponden a bovinos en pie muestreados con fines de exportación, siendo todos animales jóvenes (novillos) que se envían a los mataderos industriales tanto nacionales como centroamericanos para exportación de carnes. Cabe señalar que en países vecinos como Costa Rica y Honduras reportan datos de prevalencia preocupantes que oscilan entre los 20-25% respectivamente (Memish et al 2004), mientras que las autoridades de Salud Animal de Nicaragua indican que existe una prevalencia menor del 1.0%.

Por tanto, nos hemos planteados realizar el presente estudio con el objetivo de conocer la seroprevalencia de brucelosis en bovinos adultos del municipio de León destinados a sacrificio para consumo local.

Tomando en cuenta la importancia que tiene la falta de medidas higiénico-sanitarias en el rastro municipal de León y la poca supervisión de esta situación por parte del MAGFOR consideramos estos elementos como factores de riesgo para la salud pública.

1.4 HIPOTESIS

Ho: Posibilidad de que la prevalencia observada sea igual a la prevalencia esperada.

Ha: Posibilidad de que la prevalencia observada sea mayor que la prevalencia esperada.

2. OBJETIVOS

General:

- Determinar la Seroprevalencia de anticuerpos anti-Brucella-abortus en bovinos sacrificados en el Rastro Municipal de la ciudad de León, durante el período de Septiembre a Noviembre / 2006.

Específicos:

- Detectar la presencia de Anticuerpos anti-Brucella abortus, de tipo IgM e IgG en los bovinos seleccionados mediante la técnica de Rosa de Bengala.
- Detectar la presencia de Anticuerpos anti-Brucella abortus, de tipo IgG en los bovinos seleccionados mediante ELISA de preparación local.

3. MARCO TEÓRICO

3.1 DEFINICIÓN DE BRUCELOSIS.

Conjunto de enfermedades ocasionadas tanto en el hombre como en los animales por microorganismos del género *Brucella*, con episodios recurrentes de fiebre, debilidad, sudoración y dolores vagos. Zoonosis de patologías muy contagiosas.

El término de *Brucella* se ha denominado en honor a Sir Davis Bruce (Castañeda.1996).

3.2 DEFINICIÓN DEL GÉNERO BRUCELLA.

Las especies se diferencian del huésped reservorio, por las propiedades de crecimiento, reactividad bioquímica y la composición de ácidos grasos de la pared celular.

El género se clasifica como bacilos gramnegativos no fermentadores y comprende 4 especies patógenas para el hombre:

1. *B. abortus*: Antes comúnmente denominado Bacilo de Bang. Esta especie ataca particularmente al ganado bovino en el que provoca aborto, también es patógeno para el hombre. Sin duda es la más difundida en el mundo a causa de la gran distribución del ganado bovino, la infección de *Brucella abortus* en el hombre esta considerada, menos grave que la causada por otra especie y produce enfermedad leve sin complicaciones supurativas, además de granulomas no caseosos del Sistema Nervioso Central (SNC).

2. *B. melitensis*: Esta especie ataca particularmente a cabras y ovejas, es patógena para el hombre. La mayor parte de los casos de brucelosis humana han sido producidos por *B. melitensis* considerada entre todas las especies del género *Brucella* la más invasiva y patógena, además, es la más difundida en Italia y cuenca del Mediterráneo.

3. B. suis: Afecta particularmente a los cerdos causando abortos y lepra. El biotipo 2 esta difundido sobre todo en Europa Central y Occidental. Es patógena para el hombre siendo la causa de una enfermedad más debilitante, de mayor duración y con mayor frecuencia de complicaciones graves.

4. B. canis: Afecta a los perros causando abortos y epididimitis, especie patógena para el hombre, hasta ahora ha producido pocos casos de enfermedad. En 1967 se verificó el primer caso, y se diferencia por una sintomatología generalmente más benigna y por un curso más breve.

3.3 CARACTERÍSTICAS DEL GÉNERO

Brucella es un parásito obligado con características intracelulares facultativo y capacidad de invadir tejido animal, causa abortos contagiosos en cabras, vacas y cerdos. En el hombre puede producir infecciones sistémicas o localizadas en hueso, tejidos y órganos (Nowlan, P. et al.1985)

Al igual que todas las Eubacterias gramnegativas presentan una envoltura celular formada por una membrana externa y un espacio peri plasmático entre ellas (Kodner.1988).

Las Brucelas son coco bacilos pequeños o bastoncitos que miden de 0.5 -0.7 x 0.6 -1.5um, aislados y más raramente en cadenas cortas, desprovistos de cápsulas, inmóviles, no esporulados gram negativos (Riley.et al.1984).

In vivo: es común la forma cocoide y se observan en pequeños racimos dentro del citoplasma de la célula infectada. **In Vitro:** En las células teñidas por tinción de gram se observan bacilos pleomórficos, sin coloración bipolar y escasamente captan el colorante por lo que debe aplicarse un tiempo mayor (1-3 minutos), no son organismos ácidos-alcohol resistentes pero retienen cierta cantidad de fucsina básica en presencia de ácidos o álcalis diluidos (Aydee et al.1991).

En su estructura, se observan: una envoltura celular en la cual se encuentran distribuidos asimétricamente fosfolípidos, proteínas y un lipopolisacárido, membrana citoplasmática, espacio periplasmático (Blasco.1994), proteínas relacionadas con el transporte de nutriente y un gel glicopeptídico (mureina o peptidoglicano) responsables de la forma e integridad osmótica de la bacteria (FAO/OMS.1986).

La temperatura optima para las spp *Brucella* es de 37°C con limites que fluctúan entre 30°C-40°C, el Ph optimo es de 6.6-7.4 y la presión osmótica es de 203-607 KPa (2-6 atmósfera). Las Brucelas no producen la licuefacción de la gelatina ni la lisis de eritrocitos, no modifican la leche tornasolada ni la vuelven alcalina (FAO/OMS.1986).

Las Brucelas se desarrollan en medios estrictamente aerobios, con producción de H₂S, exigencia de CO₂, producción de ureasa, catalasa, crecen lentamente en presencia de colorantes como tianina y fucsina básica, aglutinan con sueros monoespecíficos y lisis con diferentes fagos, reducen los nitratos a nitritos, requieren de carbohidratos pero no producen ácidos ni gas en cantidades suficientes para su clasificación, son relativamente inactivas desde el punto de vista metabólico (FAO/OMS.1968).

3.4 COMPONENTE ANTIGENICO:

Las Brucellas tienen una estructura antigénica muy homogénea; los principales antígenos hasta ahora identificados incluyen los complejos lisos y rugosos de lipopolisacáridos (S-LPS y R-LPS) y dos polisacáridos relacionados, el hapteno nativo (NH) y el polisacárido B (poli B) siendo estos los mas significativos y por lo menos veinte antígenos proteínicos o glucoproteínicos (FAO/OMS.1986). Los antígenos LPS están situados en la superficie, mientras que la mayoría de los antígenos proteínicos se encuentran en el interior de los microorganismos *Brucella*. Los LPS y algunos antígenos proteínicos intervienen en pruebas de diagnostico y en la actividad protectora de la vacunas (FAO/OMS.1968).

3.5 ETIOLOGÍA

La brucelosis humana es consecuencia de la brucelosis animal debido a que la única fuente de contagio para el hombre es el animal infectado o sus productos, (Blasco, et.al.1994)

En 1886, Sir Davis Bruce fue el primero en descubrir el agente causal de brucelosis humana en el Bazo de personas muertas por esta infección. Es un germen gram negativo al que designó con el nombre “Micrococcus Melitensis” debido a su tamaño, forma cocoide y por haberse encontrado en un caso de Fiebre de Malta, (Castañeda, et al.1986)

Es una antropozoonosis que siempre tiene un origen animal. La enfermedad en humano es la expresión accidental de la enfermedad en los animales se encuentran mucho más diseminadas. Se identifica con diferentes nombres en el mundo basados en los microbiólogos que aislaron y descubrieron inicialmente los microorganismos: Sir Davis Bruce y Bernard Bang; *Enfermedad de Bang*, por el cuadro clínico, *Fiebre ondulante* o el lugar donde se han producido epidemias, *Fiebre de Malta*, *Fiebre remitente del Mediterráneo*, *Fiebre Gibraltar*, *Fiebre de Constantinopla*, *Fiebre de Creta* (Murray, et al).

La OMS en 1968 afirmó que entre las zoonosis, enfermedades transmitidas de los animales al hombre, la brucelosis “es responsable de más enfermedades, miserias y pérdidas económicas que cualquier otra zoonosis” (Pila. et al.1997).

En el género *Brucella* se reconocen las especies *B. melitensis*, *B. abortus*, *B. suis*, *B. canis*, *B. ovis* y *B. neotomae*, pero en estos dos últimos no se han encontrado casos en humanos. (Nicoletti, et.al.1989)

3.6 EPIDEMIOLOGIA

La brucelosis continúa siendo un problema tanto económico como sanitario en amplias zonas de Asia, África y América Latina. En la Unión de Estados Europeos la brucelosis se puede considerar como erradicada en el Norte de Europa, siendo los países del Mediterráneo los que continúan teniendo problemas sobre todo en ganado ovino y caprino (Vargas. 1986).

En nuestro país la brucelosis en el ganado vacuno se puede considerar controlada, mientras que la ovina sigue siendo un problema resistente y es la principal fuente de infección en los humanos. Sin embargo en la actualidad no se han reportado casos de brucelosis humana. (Boletín Epidemiológico MINSA – Managua).

La brucelosis se adquiere por contacto directo con secreciones y excreciones de los animales infectados o bien al ingerir leche de vaca, oveja, cabra o sus derivados (mantequilla – queso), que contienen microorganismos viables, raras veces se transmiten de persona a persona, por lo que el hombre está considerado como huésped terminal, incapaz de transmitir a otros la enfermedad (Blasco, et al.1994).

Por el íntimo contacto con los animales por parte de los granjeros, carniceros, trabajadores de frigoríficos y personal que manipula estos productos, ofrecen una mayor oportunidad para la propagación al hombre que otras infecciones transmitidas por animales domésticos, trayendo como consecuencia ser la más difundida que la Triquinosis, Ornitosis, Toxoplasmosis y Carbunco(Pila, et al.1997).

La brucelosis humana junto con la Tuberculosis y la Meningitis Meningocócica, es la enfermedad bacteriana específica más frecuente en España (Montes, et al), ocupando el primer lugar entre los países Europeos, cifrándose actualmente en un aproximado de 7 casos por 100.000 habitantes.

Se calcula que el número de casos contabilizados es de 3 a 5 veces inferior a la incidencia real, debido en parte a la falta de declaración y a la existencia de infecciones asintomáticas; está distribuida en todo el mundo y cada año se declaran más de 200.000 casos documentados pero la incidencia de la enfermedad es mucho más baja en Estados Unidos donde se declara aproximadamente un caso anual por millón de habitantes (Montes, et.al).

3.7 VÍAS DE CONTAGIO

El modo de infección más eficiente de Brucelosis es sin duda el contacto directo con las descargas del aborto que contienen grandes cantidades de *Brucella* vivas alrededor de 10^{13} Brucellas/gr (Samartino.1993). Fácilmente pueden penetrar al hombre por vía conjuntiva, a través de piel maltratada o por pequeñas hendiduras de las manos, otra fuente de infección son las vísceras, sangre y excretas de animales enfermos, por esta vía la dosis de *Brucella* requerido para producir enfermedad es menor que por la digestiva. El estiércol y pasto son fuentes de bacterias viables durante varios meses después de la contaminación (Nicoletti.et al.1990).

- **VIA RESPIRATORIA**

A través de la inhalación de materiales infectados disecados o aerosoles penetran por la mucosa del tracto respiratorio superior o por pulmón, se pueden incluir en caso de vía de infección dentro del grupo enfermedades profesionales.

- **VIA DIGESTIVA**

Es la más extendida y genera el mayor número de casos en países donde los hábitos alimentarios incluyen el consumo de leche cruda. Se ha informado que existe mayor riesgo de adquirir una brucelosis cuando la leche esta contaminada con *B. Melitensis* y *B. suis* que *B. abortus* ésta es destruida mas rápidamente por el jugo gástrico y además por ser lábil al ácido láctico de la leche.

Se ha sugerido que las aglutininas de la leche de vaca infectada podrían ejercer un efecto atenuante en el crecimiento de Brucella o en su infectividad, por todo se ha concluido que para *B. abortus* la vía digestiva es el mecanismo de transmisión menos eficiente.

La Brucella puede ser transmitida de una mujer embarazada con brucelosis activa a su producto a través de la placenta provocando aborto o brucelosis en el recién nacido (Lopez.et al.1991).

La transmisión natural de la enfermedad ocurre mediante la ingestión de los microorganismos, los cuales están presentes en gran numero en los fetos abortados, en las membranas fetales y en las descargas uterinas. El ganado bovino puede ingerir alimentos o agua contaminadas o puede lamer los genitales contaminados de otros animales.

La transmisión venérea desde toros infectados a vacas sensibles parece ser rara. Las vacas pueden infectarse por inseminación artificial cuando se deposita semen contaminado con Brucella en el útero, pero se a descrito que no ocurre cuando el semen se deposita en el medio del cuello uterino.

3.8 PATOGENIA

Una vez que penetra la bacteria a través de la mucosa o piel alcanza el torrente sanguíneo, es fagocitada por macrófagos polimorfonucleares (PMN) para ser llevados a las células del Sistema Retículo Endotelial (SRE) donde prolifera, en el huésped con respuesta normal habrá formación de granulomas, se destruirá la bacteria y la lesión granulomatosa desaparecerá meses después. La evolución depende de la respuesta celular del huésped y la capacidad del agente (Lopez.et al.1991).

La inoculación de *Brucellas* vivas durante la vacunación animal se menciona como más importante la vacuna de *B. abortus* cepa 19 y la *B. melitensis* Rev.1 por salpicadura que contaminan la piel y conjuntiva por inyección o ingestión accidental de cultivos y a través de aerosoles. En los veterinarios puede producirse en grave diagnóstico sistémico o local después de la auto inoculación accidental con vacunas anti-*Brucella* preparadas con microorganismos vivos o muertos (Lopez.et al.1991).

En términos generales la infección por *B. melitensis* cursa por una marcada toxicidad, siendo la toxemia el punto más distintivo en esta especie; *B. suis* es más común que cause lesiones destructivas y supurativas, *B. abortus* puede causar un estado tóxico o bien dar lesiones localizadas, habitualmente el enfermo está menos grave o presenta enfermedad en zonas endémicas donde los individuos están continuamente en riesgo de infectarse, el período de incubación varía dependiendo de la virulencia del organismo, su vía de entrada y la dosis infectante (Samartino.1993).

Aunque pueda parecer repetitivo, conviene remarcar algunas de las características patogénicas y epidemiológicas particulares de esta enfermedad para poder comprender su profilaxis. La excreción de *Brucella* por la vaca infectada tiene lugar por tres vías:

Genital:

Después del aborto o del nacimiento de un ternero normal o prematuro. En este caso la excreción es masiva, pero de corta duración (alrededor de 21 días).(Philippon, A.; Renoux, G. 1970).

Mamaria:

En este caso la excreción suele ser débil, salvo al principio de la lactación. En ocasiones puede persistir durante toda la lactación e incluso durante lactaciones sucesivas. (Philippon, A.; Renoux, G.1971).

Congénita:

En este caso la ternera puede nacer infectada pero viable, pudiendo permanecer con infección latente (negativa en las pruebas de diagnostico) hasta la edad adulta, desarrollando la enfermedad clínica con su primera gestación. Esto suele ocurrir en un 10% de las terneras nacidas de madres infectadas.

El transporte de la infección a grandes distancias ha sido observado frecuentemente sin que las vías de contagio hayan podido ser establecidas con certeza. Puede sospecharse la intervención de vectores mecánicos como el agua de los ríos, los aerosoles y los vectores animales tales como el perro. La vía mas importante de contagio de la vaca es por si misma, la infección latente y la curación aparente son dos características esenciales en la enfermedad. Después de la contaminación inicial la fase de latencia y de incubación pueden ser de muy larga duración.

3.9 MANIFESTACIONES CLINICAS

Las vacas inmaduras sexualmente son altamente resistente a B. abortus y la susceptibilidad aumenta con el desarrollo sexual y con la gestación. El grado de infección es más alto en la época final de la primera gestación que ha seguido la exposición del animal a la bacteria. La capacidad de trasmisión a vacas susceptibles esta relacionado con el numero de bacterias excretadas en el momento del parto o aborto y cesa cuando desaparece la excreción de bacterias por los fluidos producidos en el posparto.

1. Intermittente: pacientes con cansancio crónico, crisis de escalofríos, fiebre y sudoración predominando las artralgias.
2. Variable: síntomas que pueden ser distintivos en cada período de reactivación, predominando signos de depresión, ansiedad y fatiga crónica, acompañada de dolor generalizado que cambia de localización sin evidencia de signos físicos.
3. Continua: forma constante con fiebre de baja magnitud, usualmente nocturno y acompañada de diaforesis y lasitud externa, puede haber exacerbación extrema del cansancio y debilidad.

Brucelosis Aguda:

El periodo de incubación puede ser de 1 – 3 semanas, por lo general no es posible determinarlo después de una exposición prolongada como en el caso de brucelosis profesional , la enfermedad puede ser leve y autolimitada o grave y prolongada, acompañada de toxemia (FAO/OMS.1986).

Los síntomas como fiebre, la mayoría alta e intermitente, se presentan en la tarde y noche acompañada de cefalea intensa de localización frontal y occipital. La diaforesis descrita con olor a paja mojada.

En el transcurso de la evolución pueden presentarse síntomas focales y otras focalizaciones que pueden ser la aparición de granulomatosis hepática (Pila.et al.1997).

La afectación del SNC caracterizada por irritabilidad, confusión o somnolencia y la endocarditis son las complicaciones más graves de la enfermedad, particularmente produce durante la noche fatiga, anorexia, pérdida de peso, artralgias, cefalea, dolores generalizados y mialgias.

En la enfermedad de gravedad media por lo general se produce la recuperación natural en 1 a 3 semanas, persistiendo por mucho mas tiempo la debilidad, cuando la enfermedad es prolongada la grafica de la temperatura puede seguir un patrón ondulante, de aquí el nombre de Fiebre Ondulante (FAO/OMS.1986).

En la Brucelosis aguda puede producirse la muerte como consecuencia de toxemia extrema, trombocitopenia, endocarditis, epistaxis y sangrado gastrointestinal (FAO/OMS.1986).

Brucelosis crónica:

Se cataloga como crónica cuando persiste o recurre durante un tiempo de 6 meses o más, el comienzo puede ser insidioso o seguir un ataque agudo (Pila.et al.1997).

No está totalmente definida, síndrome febril de poca intensidad, no va acompañada de bacteriemia, se presenta con focos de infección localizados o sin ellos. En algunos pacientes las consecuencias de la enfermedad se prolonga durante años, dando lugar a la brucelosis crónica, con artralgias, impotencia funcional músculo esquelético, alteraciones neurovegetativas.

Seroprevalencia de anticuerpos anti-Brucella abortus tipo IgM e IgG, en bovinos sacrificados en el rastro municipal de la ciudad de León, Septiembre-Noviembre 2006.

Al igual que brucelosis aguda los síntomas mas frecuentes son debilidad, cefalalgia, dolores y sudores. La angustia y depresión son comunes en los casos de infección prolongada no diagnosticada, especialmente cuando el paciente debe continuar trabajando y tiene pocas oportunidades de descanso (FAO/OMS.1986).

3.9.1 Complicaciones:

Las más frecuentes son Tromboflebitis, Leucopenia, Epididimoorquitis, Espondilitis y Artritis periférica especialmente en las caderas, rodillas y hombros que pueden resultar comprometidos todos los sistemas del organismo (FAO/OMS.1986).

3.9.2 Complicaciones o manifestaciones focalizadas de la enfermedad

COMPLICACIONES	FORMA DE MANIFESTACION
<i>Osteoarticulares</i>	Artritis. Espondinitis. Sacroileítis. Osteomielitis. Bursitis Tenosinovitis.
<i>Genitourinarias</i>	Orquiepididimitis. Prostatitis y Cistitis. Nefritis intersticial. Glomerulonefritis.
<i>Neurológicas</i>	Meningoencefalitis. Absceso cerebral Mielitis. Neuritis. Depresión. Psicosis.
<i>Cardiovasculares</i>	Endocarditis. Miocarditis. Pericarditis.
<i>Digestivas</i>	Hepatitis granulomatosas. Hepatitis difusa no granulomatosa. Absceso hepático. Colecistitis.
<i>Cutaneas</i>	Exantema (macular, papular, nodular, petequeial). Eritema nodoso. Vasculitis.leucocitoclastica.
<i>Pulmonares</i>	Adenopatía hilar. Bronconeumonía. Neumia cavitada, patrón intersticial Empiema.
<i>Hematologicas</i>	Anemia, leucopenia, trombopenia y pancitopenia. Coagulación intravascular.diseminada.

3.10 INMUNIDAD

Conocer la respuesta inmune de los bovinos ante la infección o vacunación con Brucella abortus revierte gran importancia para el diagnóstico y vigilancia de la enfermedad. Los isotipos de inmunoglobulinas que intervienen en la respuesta inmune contra Brucella abortus son las IgM, IgG1, IgG2 e IgA (Cortina y Fernández, 1991). Algunas de las características más importantes de estas son:

IgM.

- No atraviesa la placenta.
- Es termolábil.
- Sensible al mercaptoetanol.
- Es aglutinante.
- Fija el complemento.

IgG.

- Atraviesa la placenta.
- Termoestable hasta 60 °C.
- Resistente al mercaptoetanol.
- Fija muy bien el complemento.

IgA.

- No atraviesa la placenta.
- No fija el complemento.
- Abundante en la leche.

Existen elementos que diferencian la respuesta de inmunoglobulina en la infección de campo y durante la vacunación, en esta última también existen diferencias, principalmente relacionadas con la edad del animal en el momento de la vacunación. Para tratar sobre los aspectos anteriores nos basaremos en los resultados de Nielsen y col, en 1992, el cual estudió empleando la técnica de ELISA, animales infectados artificialmente con una cepa de B. Abortus y vacunados con cepa 19 (terneros y adultos).

3.10.1 Vacunación de terneros con cepa 19:

Se Observó que los primeros anticuerpos en producirse en gran cantidad fueron los del tipo IgM (alrededor del día 5), seguido por los del tipo IgG1, producidos en igual magnitud al día siguiente. De 10 a 15 días después de la vacunación, apareció la respuesta de IgG2 en una magnitud de aproximadamente el 50% de la respuesta de IgG1. La IgG2 fue seguida de una pobre pero sustancial respuesta de IgA en suero. La respuesta de anticuerpos se prolongó con estas características hasta un período de 8 a 10 meses, a partir de este momento no fueron evidentes. Los animales adultos vacunados de la misma forma siguieron el mismo patrón inmunológico, sin embargo, dos aspectos fueron diferentes:

1. La respuesta de anticuerpos fue prolongada, detectándose anticuerpo posterior al año de vacunación.
2. Una parte de los animales permanecieron persistentemente infectado por la cepa vacunal, en estos la respuesta de anticuerpos fue similar a la de aquellos animales con infección de campo.

En los animales que permanecieron crónicamente infectados la respuesta de IgG2 fue considerablemente baja, incluso indetectable en algunos de ellos, mientras que la respuesta de IgM e IgG1 fue de gran magnitud y sostenida.

La carencia de anticuerpos IgG2, puede jugar un rol importante en la inhabilidad del animal para eliminar B. Abortus.

3.10.2 RESISTENCIA AL MEDIO AMBIENTE

La capacidad de las Brucellas para vivir bajo diversas condiciones experimentales, ambientales y climáticas hacen pensar que este microorganismo es altamente resistente; sin embargo, en otras circunstancias este germen se muestra delicado y con exigencias nutricionales complejas, muere por la acción de la luz solar directa en 4 horas y también por el calor: la temperatura normal de pasteurización (62.7°C durante 30 minutos o 71.6°C durante 15 segundos) son suficientes para eliminar microorganismos de la leche, el descenso del Ph es nocivo por lo que no resisten en el ácido láctico (Nicoletti.et al.1989).

En condiciones apropiadas sobreviven en el medio ambiente durante períodos que pueden ser prolongados: en el polvo o suelo hasta 10 semanas, en el agua de 10 a 70 días en función de la disminución de la temperatura, son sensibles a altas temperaturas, radiaciones ionizantes, luz ultravioleta y a la mayoría de los desinfectantes comunes usados a las concentraciones normales recomendados (Lopez.et al.1991).

Sobrevivencia de Brucella en el medio ambiente.

Material	Tiempo de Supervivencia
Suelo y Estiércol.	80 días
Polvo.	15 a 40 días
Leche a temperatura ambiente	2 a 4 Díaz
Fluidos y secreciones en verano	10 a 30 minutos
Lanas de depósitos	110 días
Agua a 37° C y Ph de 7.5	Menos de 1 día
Agua a 8°C y Ph de 6.5	Menos de 57 días
Fetos mantenidos a la sombra	6 a 8 meses
Descarga vaginal mantenida en hielo	7 meses
Cuero manchado con excremento de vaca	21 días
Paja	29 días
Grasa de ordeño	9 días
Heces bovinas naturales	1 a 100 días
Tierra húmeda a temperatura ambiente	66 días

3.11 DIAGNOSTICO

Los signos clínicos clásicos son:

- Epididimitis y orquitis.
- Aborto después del quinto día de gestación.
- retención de placenta.
- Metritis.
- Infertilidad temporal.

3.11.1 MEDIOS PARA EL AISLAMIENTO PRIMARIO:

Las *Brucellas* en su hábitat natural (tejidos lesionados), son microorganismos intracelulares lo que explica que necesiten de medios especialmente enriquecidos o artificiales.

Los medios líquidos se utilizan para el aislamiento primario a partir de sangre y otros líquidos orgánicos. El método más satisfactorio para aislar *Brucella* consiste en sembrar directamente en medios sólidos apropiados porque en ellos es más probable que las características del microorganismo se conserven esencialmente inalterables (Castañeda, et al.1986).

Las especies de *Brucella* no desarrollan en medios de cultivos que contengan solamente peptona, se requiere triptosa o tripteina y algunas veces suplementos como infusión de hígado, suero bovino o hidrolizado de levadura (Balows, et. al 1991).

Aún en estos medios, los organismos crecen lentamente y los cultivos deben mantenerse durante 3 semanas para poder descartarse como negativos, se recomienda el uso de frascos de Castañeda que contienen caldo de tripteina soya (cultivo primario), en este medio las colonias son pequeñas inicialmente translúcidas y después azul grisáceas, las colonias tardan en aparecer de 3-4 días hasta 1 semana y un pico de agar para hemocultivos, los cuales se tienen que transferir a agar tripteina en 4-7 días (Nicoletti,et al.1989).

A partir de los medios enriquecidos se procede a la siembra en tubos inclinados de agar Brucella, medio selectivo que contiene digerido pancreático de caseína, digerido péptido de tejido animal, autolizado de levadura y bisulfito de sodio, que se recomienda para el aislamiento de Brucellas a partir de muestras que pueden estar contaminadas con otras especies de bacterias (Koneman, et al 1989). Se incuban en aerobiosis, atmósfera parcial de CO₂ durante 48 hrs. Posteriormente se hace una suspensión en caldo soya Tríptica a una concentración de aproximadamente 10⁹ bact/ml a partir de la cual se realizan pruebas de identificación:

- Medio de Kligler: Comprueba la capacidad de fermentación de azúcar.
- Urea de Chistensen: Importante para observar la producción de ureasa (fig. 1.3 pag 52).
- Medio de SIM: Observa la no movilidad de las Brucellas y la ausencia de producción de indol.
- Citrato de Simons: Determina la utilización del citrato como fuente de carbono.
- Agar Soya Tríptica: Explora la producción de H₂S utilizando acetato de plomo como indicador (fig. 1.4 pag 52).

3.11.2 DIAGNÓSTICO DIRECTO

3.11.2.1 CULTIVO:

El diagnóstico definitivo suele basarse en el aislamiento del microorganismo a partir de sangre y con menor frecuencia del líquido cefalorraquídeo, orina o tejido. Las muestras para primo aislamiento deben sembrarse preferentemente en medios bifásico de Ruiz Castañeda modificado (utiliza una fase sólida y otra líquida), a partir del cual periódicamente se hacen resiembras y duplicado en medios enriquecidos que son Agar Brucella, Agar Eugón, Agar Chocolate, y Agar Sangre (fig. 1.1 pag 52), estas placas sembradas por duplicado se incuban en series de aerobiosis y atmósfera parcial de CO₂ (5-10%) durante un período mínimo de 7 días, el desarrollo bacteriano es entre 3-4 días. El aislamiento de *Brucella* spp a partir de hemocultivo suele ser la primera fuente diagnóstica de la enfermedad en áreas geográficas con muy baja incidencia (Koneman.et al.1989).

3.11.2.2 CARACTERÍSTICAS DEL CULTIVO:

Las colonias de *Brucella abortus* y *melitensis* apenas son visibles antes de las 48 horas de incubación alcanzando al cuarto día un diámetro alrededor de 1- 1.5 mm respectivamente. Las colonias son convexas, circulares con bordes netos, de color gris blanquecino y traslucidas por encima de los 4 días de incubación; las colonias se hacen mayores tomando un color de miel pero permanecen traslucidas. En la lupa binocular por iluminación oblicua las colonias presentan un aspecto azulado. Las colonias rugosas tienen una morfología y tamaño similar a las lisas pero se diferencian por que tienen una estructura más granulosa y una coloración más amarilla. Existe un procedimiento en inundar la placa con solución acuosa de cristal violeta, el cual permite una diferenciación de las colonias lisas de las rugosas (Blasco, et al.1994).

3.11.2.3 EXAMEN MICROSCÓPICO:

Una vez observado el crecimiento en el medio bifásico se procede a la realización del gram en busca de la presencia de bacilos cortos pleomórficos o cocobacilos gramnegativos sin tinción bipolar. *Brucella* spp presenta unas características tintoriales especiales, aunque no es una bacteria ácido-alcohol resistente, no sufre decoloración con ácidos débiles (Blasco, et al.1994).

Así mismo, en el gram cuando la exposición al alcohol-acetona es muy breve, presenta decoloración irregular, observándose en la misma muestra la coexistencia de pequeños cocobacilos gramnegativos y grampositivos, no siendo extraño tener un diagnóstico presuntivo de brucelosis por hemocultivo en 2 ó 3 días. Tras la tinción del gram de estas colonias para observar su aspecto característico, se realiza la reacción de la oxidasa positiva y aglutinación con suero específico frente a *Brucella* (suero anti-*Brucella* polivalente), suficiente para identificar el aislamiento (Castañeda.1986).

3.11.3 DIAGNÓSTICO INDIRECTO

Las pruebas serológicas indican las titulaciones de anticuerpo específicos presentes en cada paciente, las más utilizadas son:

3.11.3.1 ROSA DE BENGALA (RB):

Consiste en la detección cualitativa de anticuerpos de tipo aglutinante, presentes en el suero de animales infectados por *Brucella*. Se basa en una reacción antígeno - anticuerpo, en la cual se enfrenta el suero a investigar, a un antígeno de *Brucella* abortus coloreado y a Ph ácido. Tiene baja proporción de resultados falsos negativos debido a que es positiva cuando hay anticuerpos específicos de cualquiera de las clases de inmunoglobulinas: IgA, IgM e IgG por lo que es positiva desde casi el inicio de la sintomatología. Presenta elevado grado de correlación con la seroaglutinación y por su simplicidad es muy útil como prueba de screening con 100% de sensibilidad y 77.6% de especificidad (Montes, et al.).

3.11.3.2 FIJACIÓN DEL COMPLEMENTO.

Se basa en la propiedad del complemento de fijarse a los inmunocomplejos, la reacción comprende las siguientes etapas:

- Se enfrentan diluciones del suero con un antígeno de Brucella abortus para RFC al 1%, de estar presentes los anticuerpos, reaccionan, formándose los Inmunocomplejos.
- El complemento presente en el tubo de reacción se fija al inmunocomplejo (antígeno + anticuerpo) en caso de que éste se haya formado (sistema bacteriolítico).
- Se agrega el sistema hemolítico incompleto (hemolisina + eritrocitos) con el objetivo de evidenciar la reacción antígeno – anticuerpo.
- Finalmente se leen los tubos de acuerdo a la presencia o no de hemólisis.

Procedimiento de la técnica:

Con los reactivos preparados de acuerdo a la NRAG 586, se colocaron 3 tubos en una gradilla con las diluciones (1:5 y 1:10) del suero problema y un control de suero (barbital). Se inactivaron a $60 \pm 0,5$ °C en baño maría durante 30 minutos. Paralelamente se prepararon los controles positivos y negativos, el control de antígeno, de complemento, hemolisina y control de hemolisina e isotonicidad de la solución fisiológica. Se agregó 0,25 ml de antígeno para RFC diluido al 1 % a los tubos que contenían los sueros problemas y controles correspondientes, de igual forma se agregaron 0,5 ml de complemento diluido según la dosis del título. Se incubó a $37 \pm 0,5$ °C en baño de maría durante 30 minutos y se agregó el sistema hemolítico incompleto (eritrocitos al 2 % y hemolisina diluida según título), finalmente se incubó de igual forma antes de realizar la lectura, comenzando por los controles, una primera después de dejar los tubos en reposo durante 10 o 15 minutos y la otra al día siguiente. Para la interpretación de los resultados seguimos estrictamente los criterios expresados en NRAG 291.

3.11.3.3 RIVANOL:

La prueba de rivanol se realiza a los sueros de animales positivos a la prueba de tarjeta con la finalidad de diferenciar una respuesta postvacunal de una respuesta de tipo infeccioso. El rivanol es un colorante de acridina que tiene la capacidad de sedimentar las proteínas del suero, entre ellas los anticuerpos del tipo IgM que predominan en el caso de la vacunación o infección primaria quedando los del tipo IgG que se encuentran en mayor cantidad solo en estimulaciones inmunogénicas posteriores. Para lograr una buena aglutinación se utiliza una solución de rivanol al 1% junto con el suero del animal a probar en una proporción de 1:1, esta reacción provocará la sedimentación de las IgMs y un sobrenadante rico en IgGs.

3.11.3.4 SEROAGLUTINACIÓN CON 2-MERCAPTOETANOL:

Útil para evaluar a pacientes con brucelosis crónica y para controlar la eficacia de la quimioterapia. Esta técnica es una modificación de la seroaglutinación en la que se usa solución salina al 0.85% con 0.1 M de 2-mercaptoetanol. Este compuesto es capaz de destruir las moléculas de IgM perdiendo éstas su capacidad aglutinante, sin interferir con las IgG que son las que se cuantifican (Pila, et al.1997).

3.11.3.5 PRUEBA DE AGLUTINACIÓN LENTA EN TUBOS (SAT):

Es una prueba individual, usada por los programas de control y erradicación en el mundo, presenta limitantes como la no poder diferenciar Anticuerpos producidos por la vacuna con la cepa 19, de aquellos producidos por una infección natural.

3.11.3.6 ENZIMOINMUNOANÁLISIS (EIA):

Descritos hace 25 años, se basan en 2 fenómenos biológicos: la elevada especificidad de los anticuerpos y la alta actividad de algunas enzimas, comprendiendo dos etapas generales: la reacción de un inmunorreactante con un antígeno (antígeno o anticuerpo) y la detección de ese inmunorreactante por medio de la utilización de un conjugado enzimático (Moreno. S Med Clin 1992).

Son técnicas que detectan la presencia de anticuerpos específicos (IgM – IgG) basados en el uso de células *B. abortus* enteras, tienen LPS de colonias *abortus* lisas, extractos proteicos de *B. abortus* y Lipoproteínas de colonias lisas de *B. melitensis* como antígenos de fase sólida. Muestran excelentes valores de sensibilidad y especificidad que las pruebas serológicas estandarizadas para diagnosticar brucelosis.

En la etapa de revelado del ELISA se emplean sustratos cromogénicos o mezclas de sustratos y compuestos cromogénicos. La reacción enzima – sustrato se detienen por agregado de ácidos o bases produciendo un efecto batocrómico o hipsocrómico del máximo de absorbancia, con el aumento del coeficiente de extinción molar. En los EIA la enzima mas utilizada es la peroxidasa y el cromógeno mas utilizado es el 3-metil-2-benzotiazolina hidrazona (MBTH), una vez oxidado reacciona con el ácido 3-dimetilamino benzoico (DMAB) formando un complejo oxidativo, además produce una indamina catiónica de color azul púrpura con un máximo de absorción a 590 nm.

Los EIA son uno de los pocos sistemas que utilizan cromógenos no carcinogénicos y tienen una elevada detectabilidad ((MORENO S Med Clin 1992).

3.12 TRATAMIENTO

Dado que el tratamiento con un solo antibiótico se ha asociado a una elevada incidencia de recaídas, siempre que es posible se utiliza la terapia combinada, por ejemplo, Doxaciclina 200 mg o Tetraciclina 500 mg durante 3-6 semanas (es el agente terapéutico más efectivo, se recomienda asociarlo con algún amino glucósido) y Amikacina, Kanamicina o Estreptomicina de uso más amplio 1 g diario por 14 días.

Otros antibióticos como los sulfas combinados (Trimetropin-sulfa, TMP-SMX), han demostrado alta eficacia, 160 mg de Trimetropin y 800 mg de sulfametoxasol 2 veces al día por 6 semanas.

La Rifampicina 600 a 900 mg por un mínimo de 6 semanas (es otro antimicrobiano utilizado que penetra el interior de las células fagocíticas y alcanza el SER donde persisten las Brucellas).

En niños de 8 años se han utilizado TMP-SMX y estreptomicina durante 3-5 semanas, si hay toxemia junto con los antibióticos pueden administrarse también prednisona a dosis de 20 mg durante 5-7 días. Los dolores músculo esqueléticos, sobre todo en la columna requieren a veces la administración de 15-60 mg de Codeína cada 4-6 hrs. En casos agudos es necesario limitar la actividad del paciente, recomendando reposo en cama durante los períodos febriles.

3.13 CONTROL Y PROFILAXIS.

3.13.1 OBJETIVO DE LA PROFILAXIS:

- Disponer de un sistema adecuado de vigilancia epidemiológica.
- Contar con medios técnicos, humanos y financieros adecuados.
- La protección de zonas indemnes, se trata esencialmente de vigilancia para detectar focos eventuales y control de las importaciones y movimiento de ganado.
- Erradicación a corto y mediano plazo, se dirige a aquellas zonas en las que la prevalencia es baja y los medios de acción suficientes.
- La interrupción de la transmisión por vacunación masiva y sistemática, da como resultado la disminución de la prevalencia.

3.13.2 Estrategia del control de la brucelosis bovina.

- Elegir el objetivo correspondiente a la situación epidemiológica inicial y a los medios disponibles.
- Ajustar correctamente el objetivo en función de la evolución de la situación.
- Coordinar los programas en funcionamiento en las diferentes zonas de la región para pasar progresivamente de un programa de vacunación hacia el programa de erradicación y después al de vigilancia.

La elección debe basarse en las consideraciones siguientes:

- Si hay condiciones epidemiológicas favorables, prevalencia baja (menor del 5% de los rebaños), contagio entre rebaños débil y medios técnicos y financieros disponibles la elección se hará a favor de la erradicación por sacrificio.

Seroprevalencia de anticuerpos anti-Brucella abortus tipo IgM e IgG, en bovinos sacrificados en el rastro municipal de la ciudad de León, Septiembre-Noviembre 2006.

- En condiciones epidemiológicas medias, prevalencia superior al 5% de los rebaños y contagio mal dominado a causa de las costumbres tradicionales de cría, un programa de vacunación es indispensable.
- Sería irrealista poner en marcha un política de sacrificio sin detener primeramente la propagación de la enfermedad.
- En condiciones malas, prevalencia elevada, contagio mal dominado y con recursos técnicos, humanos y financieros limitados, un programa de vacunación deberá ser elegido y aplicado sistemáticamente mientras que las condiciones no sean mejoradas.
- Un programa de erradicación por sacrificio necesita que todos los animales detectados como positivos en un control diagnostico de rutina sean aislados y sacrificados con rapidez. (PLOMMET, M.: 1984.)

4. MATERIAL Y METODO:

Tipo de estudio:

La presente investigación corresponde es un estudio epidemiológico descriptivo de tipo transversal, el cuál se realizó en un período de tres meses de Septiembre- Noviembre del 2006.

Lugar del Estudio:

Rastro Municipal de la ciudad de León, ubicado en la zona occidental de la ciudad de León.

Población de estudio y tamaño de la muestra:

La población en estudio son todos los animales de la especie bovina, adultos enviados al Rastro Municipal de León para el sacrificio, destinado al consumo humano, independiente de la zona de procedencia del Departamento de León.

Se tomó como población datos de registro del Rastro Municipal de León; en el que se sacrifican un promedio de 21 bovinos diariamente de diferentes razas, sexo, edad y peso. Por tanto la población total aproximada de animales sacrificados en los tres meses de estudio es de 1500 aproximadamente.

Los cálculos para determinar el tamaño de la muestra se estimaron con el método Win Episcopo versión 2.0, tomando en cuenta de que la cantidad de bovinos sacrificados en el periodo de estudio en el rastro de la ciudad de León es de 1500, con un error aceptado de 1.5% y una seroprevalencia esperada de 1% (Informe nacional de Sanidad Animal, MAGFOR,2006) y con un nivel de confianza de 95%. El tamaño de muestra calculado fue de 152 bovinos aumentando un 10% por el mal manejo de las muestras teniendo un tamaño de la muestra total de 167.

Criterios intrínsecos:

Todos los bovinos enviados al rastro de León son de raza criolla.

Criterios extrínsecos:

Los animales muestreados son del departamento de León, procedentes de diferentes comunidades.

Factores de inclusión:

Bovinos adultos mayores de cinco años.

Factores de exclusión:

Animales menores de 5 años y propietarios en desacuerdo con el estudio a realizarse.

Divulgación:

Realización del estudio, presentación de resultados al MAG-FOR y a la dirección del Rastro del municipio de León, presentación del estudio en la feria científica de la UNAN-León.

Limitaciones:

Falta de conocimiento de la población total de bovinos del departamento de León y la diferencia en la procedencia de los animales muestreados, hace que la muestra tomada no sea representativa para todo el departamento lo que nos lleva a un sesgo de selección, pérdida del 10% de las muestras tomadas por mal manejo, hemolisis y en algunos casos poca cantidad en los microviales de suero a utilizarse. También otras limitaciones fueron el tiempo y distancia en que teníamos que recorrer para llevar las muestras al laboratorio.

Ventajas del estudio:

El lugar de estudio seleccionado hace que sea ventajoso por lo que tomamos animales de diferentes lugares del departamento el cual es accesible para la toma de muestra.

Selección y tipo de la muestra:

El muestreo se realizó dos veces por semana durante el período de tres meses contemplados para el estudio. Cada día de muestreo, se seleccionó los animales mayores (vacas y toros) por el método aleatorio sistemático entre 10-12 animales por día, a los cuales se les tomó muestra sanguínea, hasta completar el tamaño de muestra estipulado para este estudio.

La muestra consistió en sangre total extraída con agujas descartables calibre 18 de la vena yugular o caudal de cada bovino y recopilada en tubos de ensayos 16x100mm, sin anticoagulante, mantenido en frío (termo con hielo).

Posteriormente se trasladó al laboratorio para la separación y codificación de los sueros, colocados en microviales, el cual en todo momento se mantuvo en refrigeración a temperaturas de 0-4°C, hasta su análisis. En caso de que las muestras se necesitaban almacenar por varios días se congelaron a temperaturas de -20°C.

Unidad de Análisis:

El análisis de los sueros de animales se realizó por la técnica de ELISA de preparación local (CNDR-Managua) y Rosa de Bengala (proporcionada por el MAG-FOR) en el laboratorio de Zoonosis del Centro Nacional de Diagnóstico y Referencia del Ministerio de Salud (MINSa) Managua.

Análisis estadístico:

El análisis estadístico se realizó con la prueba de inferencia sobre parámetros en el programa de Epidat 3.1.

METODOLOGIA DE LAS TECNICAS DIAGNOSTICAS.

Procedimiento de la técnica Rosa de Bengala:

Sobre una placa de cristal cuadrículada se depositó 0,03 ml de suero y antígeno, posteriormente se mezcló con un agitador de cristal. Finalmente se movió la placa suavemente 6 veces en el mismo sentido, se dejó reposar durante 4 minutos y se procedió a la lectura de los resultados, comenzando por los sueros de referencia positivo y negativo.

Procedimientos de la técnica de ELISA Anti-Brucella abortus tipo IgG - IgM CNDR/MINSA:

1. Sacar del refrigerador y poner a temperatura ambiente los componentes del Kit ½ hora antes de su utilización.
2. Cada muestra de suero a estudiar fue previamente diluida 1:200. 5 µl de suero en 100 µl de Caseína al 5 %.
3. Los sueros controles positivos y negativos vienen listo a usarse, no necesitan ser diluidos.
4. Agregar los sueros a la microplaca o tira(s) a razón de 100 µl por pozo primero agregar el control positivo, después el control negativo y posteriormente cada una de las muestras.
5. Incubar 1 hora a 37°C en agitación leve.
6. Lavar 7 veces la microplaca o tiras a utilizar, agregando 300 µl/pocillo de la solución de Lavado (1X). En el último lavado se deja en reposo 1 minuto, luego se descarta la solución de lavado mediante volteo rápido de la microplaca o tiras y posteriormente eliminar los restos de la solución de lavado sacudiendo la placa dos o tres veces sobre un papel absorbente.
7. Añadir 50 µl del conjugado (Anti – Bovino IgG) a cada pocillo de la microplaca o tiras e Incubar 30 minutos a 37°C en agitación leve.
8. Realizar 7 nuevos lavados con solución de lavado 1X (según procedimiento descrito en el paso No. 6).
9. Añadir 100 µl del sustrato (TMB) a cada pocillo de la microplaca o tiras e incubar durante 15 minutos a temperatura ambiente en oscuridad.
10. Detener la reacción añadiendo 50 µl por pocillo de ácido sulfúrico 0,5M.

Seroprevalencia de anticuerpos anti-Brucella abortus tipo IgM e IgG, en bovinos sacrificados en el rastro municipal de la ciudad de León, Septiembre-Noviembre 2006.

11. Realizar la lectura de la microplaca o tiras en absorbancia en rangos de 450-630nm (Lector de Microplacas de ELISA automático).

12. Registrar los resultados y validarlos según los criterios de validez de la técnica:

Análisis cualitativo:

Se considerará válida la técnica, si hay coloración en pocillos correspondientes al Control Positivo y ausencia en pocillos correspondientes al Control Negativo.

Análisis cuantitativo:

Si la absorbancia media de los pocillos correspondientes al Control Positivo es > 1.0 y la absorbancia media del Control Negativo es < 0.45 . Además la relación de absorbancia entre el Control Positivo y el Control Negativo debe ser mayor de 2 veces, siendo éste, el criterio de validez más importante.

Materiales a utilizar:

Recogida de muestras:

1. Tubos de 16x100mm con tapón de hule para la recolección de las muestras.
2. Tubos al vacío (VACUETTE) de 9ml, 16X100mm
3. Agujas descartables estériles de 18Gx1 $\frac{1}{2}$ " .
4. Guantes de látex descartables no estériles (NIPRO)
5. Gradillas de 6X12 plásticas.
6. Algodón absorbente.
7. Botas de hule.
8. Gabacha desechables
9. Bolsas plásticas
10. Termo
11. Marcadores
12. Masking tape

En el laboratorio:

13. Alcohol 70%
14. Fenol. 5%
15. Microviales.
16. Pipetas automáticas multicanal (1-200 μ l, 1-50 μ l y 100-1000 μ l).
17. Puntas para pipetas automáticas de 50 μ l y 100 μ l (Fisher Scientific).
18. Placas de poliestireno de 96 pocillos para ELISA fondo plano (FALCON)
19. Viales Plásticos
20. Platos petris.
21. Asaz
22. Mechero
23. Biquer plástico.
24. Tinción diferencial de Gram
25. Campana de bioseguridad "Bio-II-A" (TELSTAR).

Seroprevalencia de anticuerpos anti-Brucella abortus tipo IgM e IgG, en bovinos sacrificados en el rastro municipal de la ciudad de León, Septiembre-Noviembre 2006.

26. Porta objeto
27. Cubre objeto
28. Agua destilada
29. Microscopio
30. Centrifuga
31. Centrifuga para microviales (IEC Micro-MB Centrifuga).
32. Incubadora (FISHER SCIENTIFIC).
33. Refrigeradora (SAMSUNG)
34. Erlenmeyer de 1000 ml
35. Balanza eléctrica.
36. Agitador mecánico 250rpm
37. Sonicator
38. Phimetro (calibrador de Ph)
39. Lector de ELISA

Reactivos biológicos:

40. Reactivos de Rosa de Bengala (Ag de *B.abortus*).
41. Reactivos para ELISA (Conjugados Sigma anti bovinos IgG 096K4854, Enzimas, sustratos).
42. Agar Tripticasa soya (Medio de cultivo sólido y liquido)
43. Agar Sangre (Medio de cultivo)
44. BHI (Infusión Cerebro-Corazón, Medio de cultivo liquido)
45. Reversión de la urea (Detección de enzima)
46. Caseína 5%.

Materiales para PBS buffer.

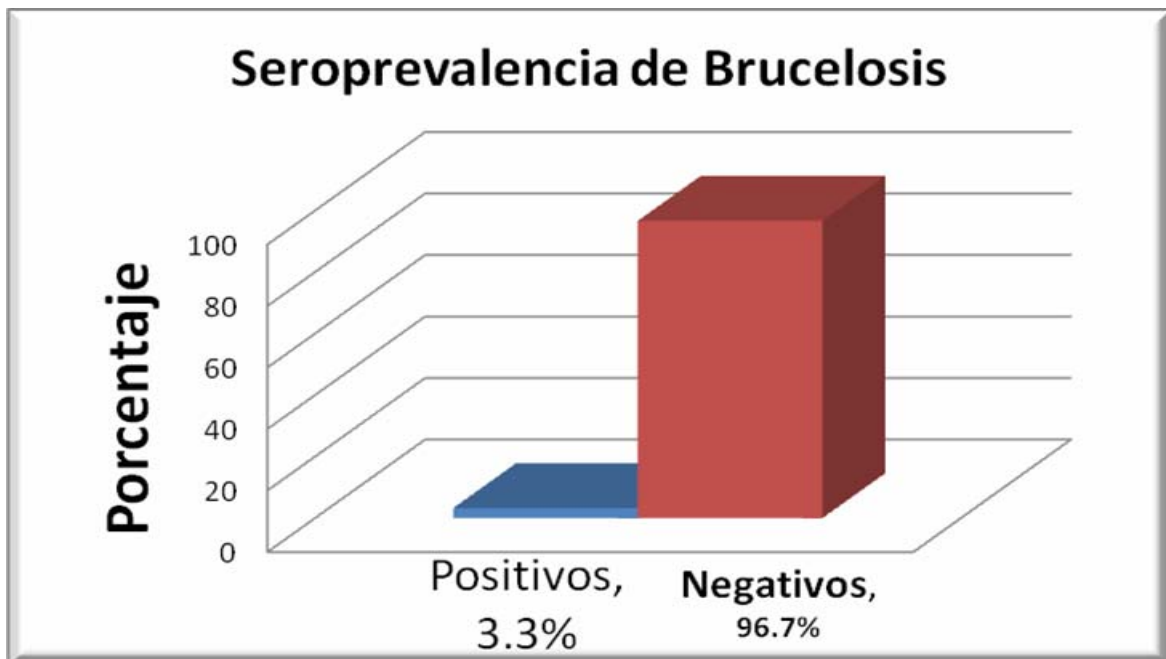
47. NaCl
48. KCl
49. KH_2PO_4
50. Na_2HPO_4
51. H₂O destilada.

5. RESULTADOS

De las 167 muestras tomadas únicamente se procesaron 151 debido al mal manejo de estas en el laboratorio (confusión con otras muestras y poca cantidad de suero a procesar). 5 de las cuales resultaron positivas con las 2 técnicas aplicadas (ELISA y Rosa de Bengala) presentando una seroprevalencia de brucelosis bovina en el rastro de León de 3.3% en el período de septiembre a Noviembre del 2006. Las muestras positivas fueron en los mismos 5 animales.

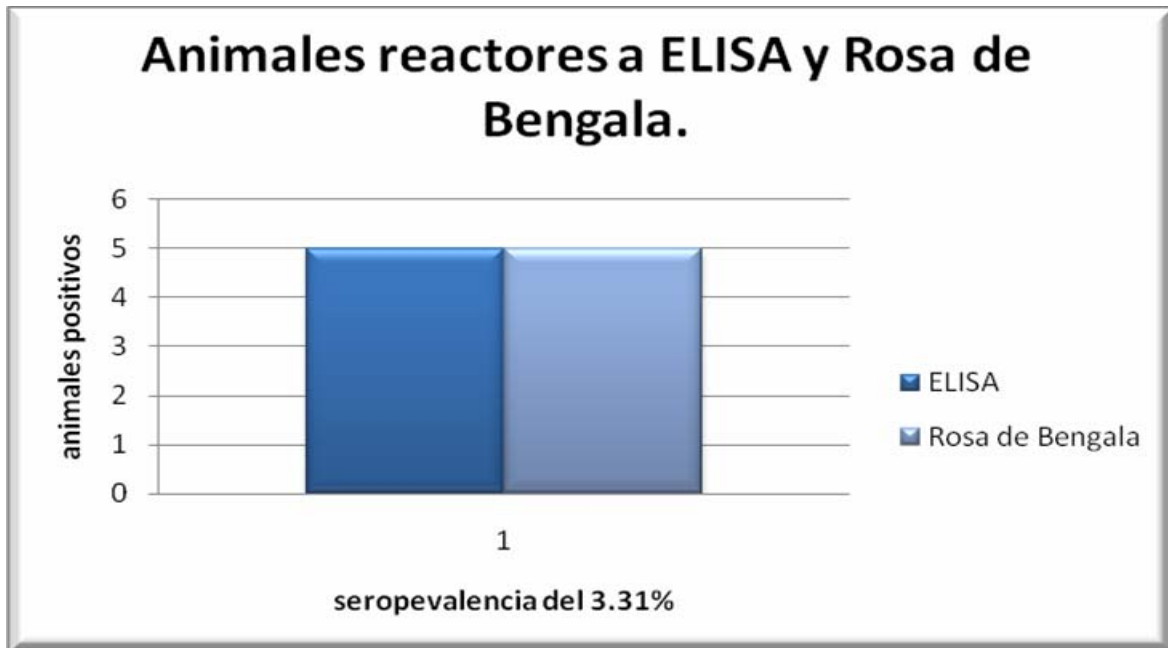
Al realizar la inferencia sobre parámetros se concluye que con una prevalencia observada de 3.311% y un intervalo de confianza entre 1.084 a 7.558 se rechaza la hipótesis nula para aceptar la hipótesis alternativa que la prevalencia observada es mayor que la esperada.

Fig 1: Seroprevalencia de la Brucella en sueros de bovinos provenientes del rastro del departamento de León.



Seroprevalencia de anticuerpos anti-Brucella abortus tipo IgM e IgG, en bovinos sacrificados en el rastro municipal de la ciudad de León, Septiembre-Noviembre 2006.

Fig. 2 Comparación de los resultados de ambas pruebas diagnosticas.



r

6. DISCUSIÓN

En nuestro estudio realizado en el rastro municipal de León en el 2006 se encontró una prevalencia de brucelosis bovina de 3.31% mientras en el año 2004 el MAG-FOR presentó en un reporte con una prevalencia de 0.12%. Esta diferencia probablemente es debido a la selección de los animales ya que el MAG-FOR realizó su investigación exclusivamente en animales con fines de exportación (Machos menores de 3 años), mientras la población en nuestro estudio incluye hembras y machos mayores de 5 años de tal manera que la probabilidad de haber tenido contacto con *Brucella* es más alta que en la población muestreada por el MAG-FOR.

Comparando los resultados obtenidos en nuestra investigación y la baja prevalencia en Nicaragua (según datos del MAG-FOR) con la elevada prevalencia de Honduras y Costa Rica, se concluye que estos países vecinos tienen datos mayores relacionados probablemente con la técnica y cepas utilizadas para detectar anticuerpos anti-*Brucella*, además de las vacunaciones contra *Brucella* que realizan en Costa Rica aumentando así los resultados positivos.

7. CONCLUSIONES

- Existe una elevada seroprevalencia de anticuerpo anti-Brucella abortus en las muestras estudiadas, siendo un 3.31% en comparación con los resultados obtenidos por el MAG-FOR que indican que en Nicaragua existe una prevalencia de brucelosis bovina del 0.12%.
- Con las 2 técnicas aplicadas (ELISA y Rosa de Bengala) se detectaron los mismos 5 animales positivos lo cual refuerza el resultado obtenido.

8. RECOMENDACIONES

- Dar continuidad a esta investigación seleccionando una población en estudio heterogéneo en fincas de pequeños, medianos y grandes productores.
- Mejorar el diagnóstico a nivel nacional a través de la utilización de la técnica ELISA, FC y PCR por parte del MAG-FOR a nivel nacional para obtener resultados confiables, utilizando cepas anti-Brucella adecuadas para esta región.
- Concientizar a la población y personas que manipulan productos y subproductos de origen bovino de lo grave que es esta enfermedad, las pérdidas económicas, el rol de los bovinos y otros animales (domésticos y silvestres), en la transmisión de la brucelosis.
- La existencia de un Médico Veterinario de planta, para realizar pruebas correspondientes o métodos diagnósticos de campo debe ser necesario para detectar posibles enfermedades de importancia en la salud pública.

9. BIBLIOGRAFIA

1. ACHA, P.; SZYFRES, B. Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. Organización Panamericana de la Salud (OPS). 2ªEd., Publicación Científica N° 503. 14-20 pp. 1992.
2. Alton, G. ; Jones, M. L. y Pietz, D. E. "Las técnicas de laboratorio en Brucelosis". 2a. Ed. Ginebra, Suiza. 1976.
3. Alexander. B.; SCHUNURRENBERGER, P. R Y Brown, R. R: <<Numbers of *Brucella abortus* in the placenta, umbilicus and fetal fluid of two naturally infected cows>>. *Vet, Record*, 108, 500, 1981.
4. Alberto Montoya Perez. Determinacion de la concentración de Hapteno Nativo y su papel en la Virulencia en diferentes Cepas de *Brucella abortus*. 1998.
5. Álvarez, E. (1998). Situación de la Brucelosis en América. Panorama general en Memorias del III Foro Nacional de Brucelosis. SAGAR, UNAM, OPS. Acapulco, Guerrero, México 20-21 de julio.
6. Aragón V, Díaz R, Moreno E, Moriyó I. Characterization of *Brucella abortus* and *Brucella melitensis* native haptens as outer membrane O-type polysaccharides independent from the smooth lipopolysaccharide. *J Bacteriol* 1996; 178 (4): 1070-9.
7. Bathke, W. : Brucelosis. En "Enfermedades Infecciosas de los animales domésticos" Joachim Beer. Ed. Acribia. Tomo II. Zaragoza España. Pags 142-156, 1981.
8. Beer, Joachim, 1981, Enfermedades infecciosas de los animales domésticos. Tomo II. Editorial Acribia. Zaragoza, España.
9. Blasco , J.M y Gamazo C. 1994 Brucellosis animal. *Invest. Y Ciencia*. Nov. P56-62.
10. CASAS, R. Diagnostico Serológico de la Brucelosis Bovina. *Boletín Centro Panamericano de Zonosis OPS/OMS*. 3-5 pp. 1974.
11. Cloeckert A, Tibor A, Zygmunt MS. *Brucella* outer membrane lipoproteins share antigenic determinants with bacteria of the family Rhizobiaceae. *Clin Diagn Lab Immunol* 1999; 6 (4): 627-9.
12. Cloeckert A, Tibor A, Zygmunt MS. *Brucella* outer membrane lipoproteins share antigenic determinants with bacteria of the family Rhizobiaceae. *Clin Diagn Lab Immunol* 1999; 6 (4): 627-9.
13. Empleo del Elisa DAVIH BRU 2 en el diagnostico serologico de la Brucelosis Bovina (Use of Elisa DAVIH BRU 2 in I diagnose serologico of the Bovine Brucelosis) Carmelo Cabrera Pérez MSc*; Eladio Silva Cabrera. Dr. C.**.Vet; Maricela Izquierdo Márquez. MSc** Consuelo García Montero Dr.C*. *Universidad Agraria de la Habana. **Centro de Investigaciones científica de la defensa civil. Cuba.
14. Gerardo D'Pool¹, Sergio Rivera Pirela¹, Teresita Torres², Mario Pérez¹, Arelis García¹, Osiris Castejón¹ y Nelda Rojas². Prevalencia de brucelosis bovina mediante ELISA competitivo en el Municipio la Cañada de Urdaneta, estado Zulia, Venezuela. *RC v.14 n.2 Maracibo* abr. 2004.
15. Heck, F.C.; Deyoe, B.L. and Willians, J.D. (1982): Antibodies to *B. Abortus* in sera from strain 19 vaccinated and non-vaccinated cows as determined by ELISA and conventional serologic methods. *Veterinary Immunology and Immunopathology*. (3): 629-630.

16. Hugo Abel Castro¹, Sofía Raquel González², María Inés Prat³ Brucelosis: una revisión práctica* Acta bioquím. clín. latinoam. v.39 n.2 La Plata jun. 2005.
17. Instituto de Medicina Veterinaria (1980): Brucelosis. Saneamiento y profilaxis en las especies domesticas. NRAG 291 Ministerio de la Agricultura. República de Cuba.
18. Kubuafor, D.K. ; Awumbila, B. y Akanmori, B.D. (2000): Seroprevalence of brucellosis in cattle and humans in the Akwapim-South district of Ghana public health implications. : Acta Trop Jul 21;76(1):45-8.
19. Lucero NE. Diagnóstico microbiológico y redes de laboratorio; 1998.
20. Martín Moreno S, Guinea Esquerdo L, Carrero González P, Visedo Orden R R, Garcia Carbajosa S, Calvo Del Olmo T, Reverte Tejudo D. La brucelosis después del tratamiento: diagnóstico de las recidivas. Med Clin 1992; 99: 13 - 16.
21. Martín Mazuelos E, Nogales MC, Flórez C, Gómez Mateos JM, Lozano F, Sánchez A. Outbreak of *Brucella mellitensis* among microbiology laboratory workers. J Clin Microbiol 1994; 32: 2.035-2.036.
22. Martínez EML. Estudio serológico sobre brucelosis en bovinos en el Estado de Yucatán. Aspectos zoonóticos de la misma. Tesis de licenciatura, FMVZ-UADY, Mérida: 1978:18-22.
23. Memish, Z.A, Balkhy H.H. Brucelosis and Internacional Travel, Journal of Travel Medicin, Vol 11, Number 1 2004.
24. Ministerio de Agricultura y Ganadería. Dirección General de Protección Y Sanidad Agropecuaria División de Ganadería manual de normas y procedimientos para el control de erradicación de la brucelosis bovina. salud animal Managua 1996 brucelosis.
25. M. Rodríguez Zapata, J. Solera Santos*, L. Sánchez Martínez y M. Álvarez-Mon Soto**Brucelosis. Aspectos patogénicos. Clínica, diagnóstico y tratamiento. Formas específicas de enfermedad.
26. Montoya, A., CNDR/MINSA, Editorial, semana 42, del 17 al 23 de Octubre del 2004.
27. Nestor D'Anatro DI. LA .VE "Miguel C. Rubino". Aislamiento y Tipificación de *Brucella abortus*.
28. Nielsen, K.H.; Gall, D. ; Jolley, M.; Leishman, G.; Balasevicius, S.; Smith, P.; Nicoletti, P. and Thomas, F. (1996 a): A homogeneous fluorescence polarization assay for detection of antibody to *Brucella abortus*. J. Immunol. Methods. 195 (1-2): 161-8.
29. Nielsen, K.H.; Kelly, L.; Gall, D.; Gall, D.; Balasevicius, S.; Bosse, J.; Nicoletti, P. and Kelly, W. (1996 b): Comparison of enzyme immunoassay for the diagnosis of bovine brucellosis. Preventive Vet. Medicine. 26 (1): 17-32.
30. Nicoletti, Dr. J. M. Verger, Dr. I. Moriyon. Dr. R. Diaz. Tratado de Veterinaria practica, Brucelosis, Bovis. Abril 1994. Nº 57
31. Nowlan, P. y Gues, H.(1985): "Use of EDTA modified antigen in the serodiagnosis of bovine brucellosis". Vet. Rec. 12(2) : 27-32.
32. Ortiz, Eva.; Silva, E.; Nibot, Carmen.; Cabrera, C. e Izquierdo, Maricela. (2000): Estudio serológico de la brucelosis bovina Empleando el sistema DAVIH BRU 2. V. Congreso Nacional de Ciencias Veterinarias. Palacio de Convenciones. La Habana, Cuba.
33. Pérez I. Enfermedades infecciosas y parasitarias de los animales domésticos. 2da ed. La Habana: Instituto Cubano del libro, 1986. p 109-11.

- Rosales OC. Circulación de patógenos en la granja. Porciraama 1990; 160:31-4.
34. Plommet, M.: Les dernières 'etapes de la prophylaxie de la brucellose bovine. Bull Soc. Vet. Pratique, 68, 509 -517, 1984.
35. Solera J, Rodríguez-Zapata M, Geijo P, Largo J, Paulino J, Sáez L, et al. Doxycycline-rifampin versus doxycycline-streptomycin in treatment of human brucellosis due to *Brucella melitensis*. Antimicrob Agents Chemother 1995; 39: 2.061-2.067.
36. Solera J, Espinosa A, Martínez-Alfaro E, Sánchez L, Geijo P, Navarro E, Escribano J, Fernández JA. Treatment of human brucellosis with doxycycline and gentamicine. Antimicrob Agents Chemother 1997; 41: 80-84.
37. [HTTP://WWW.VETERINARIA.ORG/REVISTAS/REDVET/N050505.HTML](http://WWW.VETERINARIA.ORG/REVISTAS/REDVET/N050505.HTML)
38. Web: <http://www.minsa.gob.ni/vigepi/html/boletin/2004/editorial42.html>
39. www.seimc.org/control/revi_Sero/diagbruce.htm

ANEXOS

Grafico 1: Seroprevalencia de la Brucella en sueros de bovinos provenientes del rastro del departamento de León.

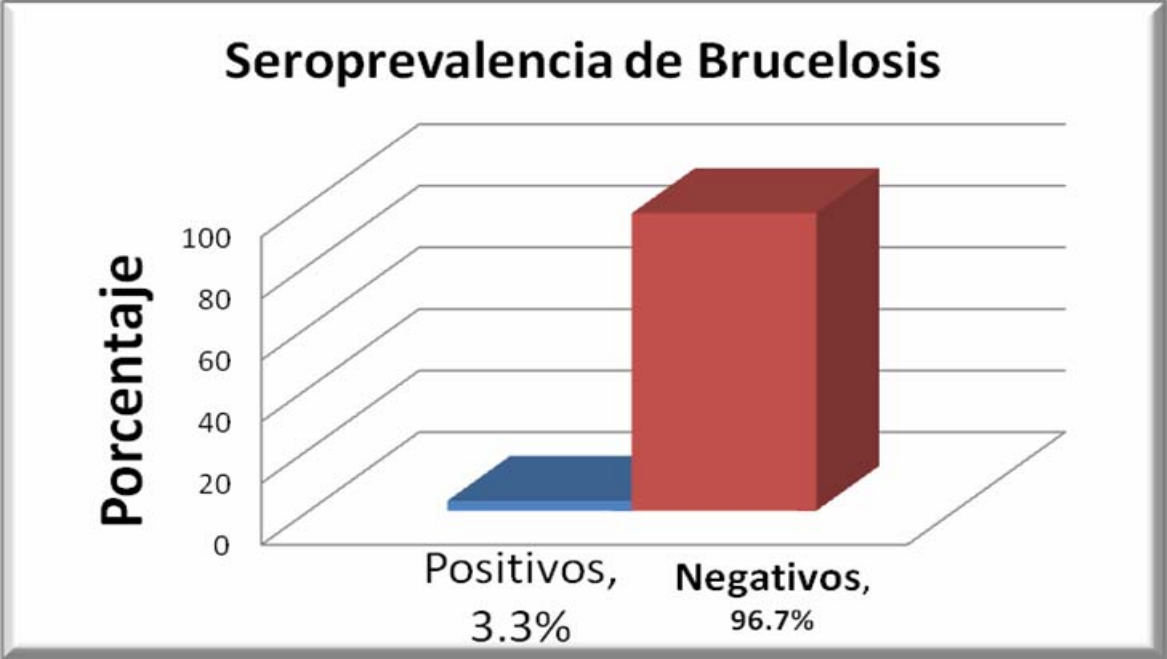
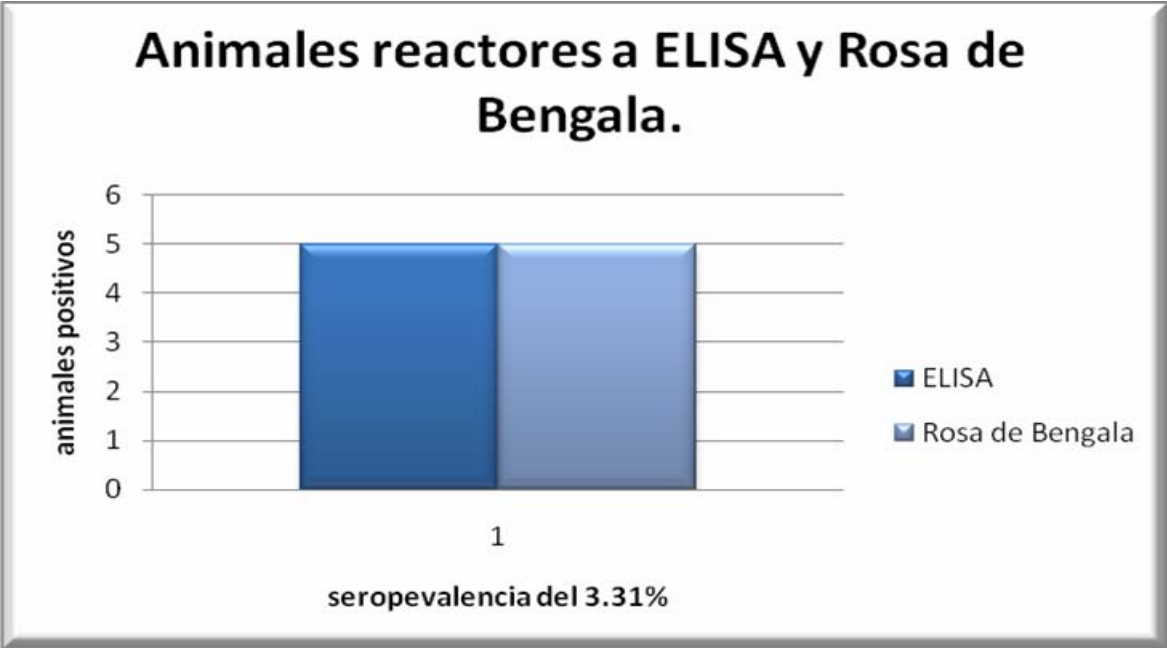


Grafico 2: Análisis de los resultados de ambas pruebas diagnosticas.



Materiales y reactivos utilizados en el laboratorio.



Fig. 1. Medio Sólido de cultivo de la Brucellas spp.



Fig.1.2. Sueros sanguíneos.



Fig. 1.3. Reversión de la urea. cultivo liquido BHI Y TSA.



Fig 1.4. Medios de



Fig. 2 Extracción de la muestra de sangre directamente de la yugular.