

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
SUBDIRECCIÓN DE POSTGRADO



SEROPREVALENCIA Y FACTORES DE RIESGO PARA LA BRUCELOSIS EN
CABRAS Y OVEJAS EN AGOSTADERO EN EL SURESTE DE COAHUILA,
MÉXICO

Tesis

Que presenta ALBERTO ALMANZA LÓPEZ
Como requisito parcial para obtener el Grado de
MAESTRO EN CIENCIAS EN PRODUCCIÓN AGROPECUARIA

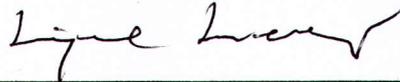
Torreón, Coahuila

Diciembre 2020

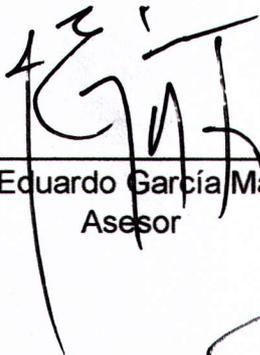
SEROPREVALENCIA Y FACTORES DE RIESGO PARA LA BRUCELOSIS EN
CABRAS Y OVEJAS EN AGOSTADERO EN EL SURESTE DE COAHUILA,
MÉXICO

Tesis

Elaborada por ALBERTO ALMANZA LÓPEZ como requisito parcial para
obtener el grado de Maestro en Ciencias en Producción Agropecuaria con la
supervisión y aprobación del Comité de Asesoría



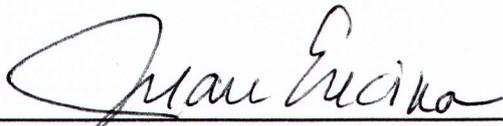
Dr. Miguel Ángel Mellado Bosque
Asesor Principal



Dr. José Eduardo García Martínez
Asesor



Dr. Jesús Alberto Mellado Bosque
Asesor



Dr. Juan Antonio Encina Domínguez
Asesor



Dra. Leticia Romana Gaytán Alemán
Jefe de Departamento de Postgrado



Dr. Marcelino Cabrera De La Fuente
Subdirector de Postgrado

Agradecimientos

En primera instancia agradezco a mi comité de asesores, y colaboradores quienes me apoyaron incondicionalmente, a la Srita. Guzmán, personas de gran sabiduría, capacidad y conocimiento científico, quienes se han esforzado por ayudarme a llegar al punto en el que ahora me encuentro.

Sencillo no ha sido el proceso, pero gracias al ímpetu de transmitirme sus conocimientos y dedicación, que los caracteriza, he logrado importantes objetivos como culminar el desarrollo de este trabajo con éxito y satisfacción e impulsarme a continuar con mi preparación profesional.

Dedicatoria

Dedico mi tesis a todos aquellos que han descubierto que hay vida antes de la muerte.

ÍNDICE GENERAL

INTRODUCCIÓN	1
Objetivo general	3
Objetivo específico	3
Hipótesis.....	3
Justificación.....	3
REVISIÓN DE LITERATURA.....	4
Antecedentes históricos de la brucelosis.....	4
2.1 Aspectos Generales	16
2.1.2 Etiología	17
2.1.3 Características microbiológicas de la bacteria	18
2.1.4 Características de crecimiento y de cultivo	19
2.1.5 Antígenos	20
2.1.6 Anatomía Microscópica de la Bacteria	20
2.1.7 Membrana externa	21
2.1.8 Membrana interna	22
2.1.9 Taxonomía	23
2.1.10 Sinonimia de la brucelosis.....	24
2.2. Manifestaciones clínicas de la enfermedad.....	24
2.3 Transmisión.....	26
2.4 Diagnóstico.....	29
2.4.1 Procedimiento para realizar la prueba de tarjeta o rosa de bengala: ...	30
2.4.2 La prueba de rivanol (R).....	31
2.4.3. La prueba de fijación del complemento (FC).....	31

2.4.4 Anillo en leche	32
2.4.5 Inmunodifusión doble en gel.....	33
2.5 Factores de riesgo.....	33
2.6 Epidemiología.....	36
2.7 Patogenia	39
2.7.1 Etapas evolutivas de la infección:.....	39
2.8 Control.....	44
2.8.1 Fase en control.....	46
2.8.2 Para la fase en erradicación.....	46
2.8.3 Fase libre.....	47
2.9 Vacunación.....	48
2.9.1 Vacunas y vacunación.....	49
2.9.2 Vacunas utilizadas en la Campaña	50
2.9.3 Problemática detectada en los programas de vacunación para la prevención y erradicación de la brucelosis.....	50
2.10 Situación y desarrollo en México	54
2.11 Antecedentes históricos en México	55
MATERIALES Y MÉTODOS.....	58
3.1 Ubicación geográfica del estudio.....	58
3.2 Características del área de estudio.....	59
3.2.1 Descripción del sitio.....	59
3.2.2 Características de los hatos	59
3.3. Material y equipo	60
3.4 Colección de la muestra	61
3.5 Recolección de datos	62

3.6 Toma de muestra de sangre para obtención de suero	62
3.7 Detección serológica por la técnica de rosa de bengala	62
RESULTADOS Y DISCUSIONES.....	64
CONCLUSIONES	68
BIBLIOGRAFÍA.....	69

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Especies que integran el género <i>Brucella</i> , hospedadores conocidos y características bioquímicas y antigénicas que permiten clasificarlas en biovariedades. A y M: configuraciones alternativas del PSO, R: LPS de las cepas rugosas.	18
Cuadro 2. Mecanismos de transmisión de la infección.	28
Cuadro 3. Supervivencia de <i>Brucella melitensis</i> en distintos medios.	38
Cuadro 4. Huéspedes, especies de <i>Brucella</i> , vías de transmisión, patogenia..	44
Cuadro 5. Soluciones desinfectantes recomendadas para la acción contra <i>Brucella</i> spp en las instalaciones pecuarias (NOM-041-ZOO-1996).....	48

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. <i>Brucella melitensis</i> (flechas).	17
Figura 2. Esquema representativo de la membrana de <i>Brucella</i> spp, cepas lisas.	20
Figura 3. Interpretación visual de los resultados de las pruebas rosa de bengala (izquierdo) <i>Brucella capt</i> (derecha).	31
Figura 4. Trafico intracelular de <i>Brucella</i>	41
Figura 5. Distribución de <i>Brucella melitensis</i> en el sureste de Coahuila de Zaragoza.....	58

Resumen

SEROPREVALENCIA Y FACTORES DE RIESGO PARA LA BRUCELOSIS EN CABRAS Y OVEJAS EN AGOSTADERO EN EL SURESTE DE COAHUILA, MÉXICO

Por:

Alberto Almanza López

Para obtener el grado de Maestro en Ciencias en Producción Agropecuaria.

Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro

Director de tesis: Dr. Miguel Ángel Mellado Bosque.

Se evaluó la seroprevalencia de anticuerpos contra *Brucella* en suero de cabras y ovejas criadas en sistemas pastoriles semiáridos del noreste de México. Se evaluaron como factores de riesgo de seropositividad a brucelosis la especie, el género y la raza dominante. Los datos fueron de 375 rebaños de cabras y/o cabras y ovejas mezcladas. Entre 2016 y 2019 se recolectaron muestras de suero de 11,001 cabras y 4,741 ovejas y se analizaron con la prueba de la tarjeta de brucelosis. La enfermedad afectó al 12 % de los hatos. La prevalencia general de seropositividad a brucelosis en cabras y ovejas se estimó en 2.1 % (IC del 95 % = 1.78-2.31) y 0.8 % (IC del 95 % = 0.58-1.10), respectivamente. La seropositividad a la brucelosis fue dos veces más probable ($p < 0.01$) en cabras que en ovejas. El riesgo de seropositividad a la brucelosis en cabras y ovejas fue 2.3 y 3.2 veces mayor ($p < 0.01$) en hembras que en machos. Las cabras Toggenburg tuvieron más probabilidades ($p < 0.01$) de ser seropositivas a la brucelosis que todas las demás razas de cabras, mientras que las ovejas criollas tuvieron más probabilidades de ser seropositivas a la brucelosis en comparación con las razas compuestas de ovejas de pelo. Finalmente, las hembras en comparación con los machos presentaron mayores probabilidades de dar positivo en la prueba de brucelosis.

Palabras clave: raza, brucelosis, prueba de tarjeta, caprino, ovino.

Abstract

SERO-EPIDEMIOLOGY OF BRUCELLOSIS IN GOATS AND SHEEP ON RANGELAND IN NORTHERN MEXICO

By:

Alberto Almanza López

To obtain the degree of Maestro en Ciencias en Producción Agropecuaria

Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro

Thesis Director: Dr. Miguel Ángel Mellado Bosque.

The seroprevalence of *Brucella* antibodies in serum of goats and sheep reared on semi-arid pastoral systems of northeastern Mexico was assessed. Additionally, species, gender, and predominant breed were evaluated as risk factors for seropositivity to brucellosis. Data were from 375 flocks of goats or co-mingled goats and sheep. Serum samples from 11001 goats and 4741 sheep collected between 2016 and 2019 were analyzed with the brucellosis card test. The disease affected 12% of flocks. The overall prevalence of brucellosis seropositivity in goats and sheep were estimated at 2.1% (95% CI = 1.78-2.31) and 0.8% (95% CI = 0.58-1.10), respectively. Brucellosis seropositivity was two times more likely ($p < 0.01$) in goats than sheep. The risk of seropositivity to brucellosis for goats and sheep was 2.3 and 3.2 times higher ($p < 0.01$) in females than males. Toggenburg goats were more likely ($p < 0.01$) to be seropositive to brucellosis than all other breeds of goats, whereas criollo sheep were more likely to be seropositive to brucellosis compared to *hair sheep composite breeds*. The current study revealed that, despite the absence of *Brucella* vaccination, brucellosis is not widely distributed in the study area. Also, of all animals screened, seropositivity to *Brucella* infection was highest in Toggenburg when compared to other dairy and meat breeds; Criollo sheep also presented the highest seropositivity to brucellosis compared to *hair sheep composite breeds*. Finally, females compared to males had increased odds of testing positive for brucellosis.

Keywords: breed, brucellosis, card test, goat, sheep.

INTRODUCCIÓN

Una de las principales enfermedades bacterianas zoonóticas en México es la brucelosis, ya que es transmitida por caprinos infectados. Entre las especies del género *Brucella* más conocidas se distinguen: *Brucella abortus*, *B. mellitensis*, *B. canis*, *B. ovis*, *B. suis*, las cuales son patógenas para los humanos. La especie que se encuentra con mayor frecuencia en cabras es *Brucella mellitensis*, y junto con *Brucella abortus* y *Brucella suis*, son los agentes zoonóticos más importantes a nivel mundial (Moreno *et al.*, 2002).

La seroprevalencia de esta enfermedad varía en las distintas regiones del país, oscilando alrededor del 10 % (Acosta-González *et al.*, 2009), debido al tipo de sistema de producción, en el cual existen muchas rutas de contagio, como pastoreo en áreas en común, así como agujajes que comparten con otros hatos, intercambio de sementales, hacinamiento en corrales (<5 metros cuadrados por animal), esto por parte de los productores (Marín *et al.*, 2016). Aunado a lo anterior están los recursos limitados que otorgan las autoridades como vacunaciones a pequeña escala, inmunizaciones aplicadas erróneamente, en las cuales la vacuna es repetitiva, sin respetar las indicaciones del fabricante, tipo de vacuna inadecuada, vacunación de machos, lo cual provoca, además de problemas de fertilidad, que algunos animales pasen inadvertidos a las pruebas serológicas de rutina, esto entre otros factores contribuyen a no poder controlar y erradicar la enfermedad. (Mellado *et al.*, 2016).

A nivel nacional, se ha implementado la prueba de brucelosis para reconocer animales seropositivos y proceder a sacrificarlos, pero por la falta de políticas y recursos destinados a la remuneración de dichos animales a los productores, han mermado la capacidad de controlar y erradicar este tipo de enfermedades, además que los caprinos y ovinos en el norte de México (zonas semiáridas) representan un sustento de vida para los productores, y estos son renuentes a deshacerse de animales infectados, ya que no obtienen los apoyos prometidos en tiempo y forma, además de tener la creencia de que las cabras pueden curarse

espontáneamente y regresar a sus parámetros productivos normales. La mayoría de los productores al no contar con asesoría y controles sanitarios sobre sus animales, corren el riesgo de ser contagiados, incluso todos los actores involucrados en estos sistemas de producción (Salinas *et al.*, 2011).

Ahora sabemos que la vía de transmisión más frecuente a los humanos es a través de la leche, y sus subproductos como el queso fresco, yogurt, mantequilla, de leche no pasteurizada (Pérez-Guerrero *et al.*, 2008; Dadar *et al.*, 2019). Debido a los canales de comercialización, la adquisición de dichos subproductos en zonas urbanas, contribuye a la dispersión de estos microorganismos, desde zonas rurales endémicas (Silva, 1954), además de ser manipulados con carente o nulo cuidado y prevención. Esta enfermedad cursa inadvertida, ya que no presenta signología patognomónica, la cual pueda alertar y permita el aislamiento o correcto manejo del animal enfermo, lo cual favorece su cronicidad y diseminación (Castro *et al.*, 2005).

Además del impacto negativo en salud pública también se ve reflejado en el sector agropecuario, ya que representa constantes y graves pérdidas económicas, al disminuir la producción láctea, intervalo entre partos, perdidas por aborto o neonatos débiles y por consiguiente de bajo peso al destete, además de restricciones de movilización y comercialización de los animales (Díaz-Aparicio, 2013).

Con la finalidad de determinar la seroprevalencia individual y factores de riesgo para la brucelosis en pequeños rumiantes en un clima semiárido, se muestrearon caprinos y ovinos, en los cinco municipios correspondientes al sureste de Coahuila, de distintas edades, razas, condición corporal, estado fisiológico, identificándose con un identificador oficial (identificador SINIIGA o arete de campaña provisto por el CPPEC), para profundizar en la epidemiología de esta enfermedad en caprinos y ovinos del sureste de Coahuila.

Objetivo general

Determinar la seroprevalencia individual y de hato, de las infecciones por *Brucella* en cabras y ovejas en pastoreo en un ambiente semiárido en los cinco municipios del sureste del Estado de Coahuila.

Objetivo específico

Los objetivos secundarios fueron la identificación de algunos factores de riesgo para la ocurrencia de brucelosis, inherentes al propio animal tales como género, edad y raza.

Hipótesis

Existe una alta seroprevalencia de brucelosis en los hatos caprinos y ovinos de ejidos del sureste de Coahuila, ya que las características del hato, área geográfica, sistema de producción y comercialización son favorables a desarrollar este tipo de afecciones.

Justificación

En las zonas áridas y semiáridas de México, una gran cantidad de campesinos dependen de las cabras y ovejas como sustento de vida, principalmente en sistemas mixtos agrícolas / pastorales. Debido a que la mayoría de estos sistemas de producción de pequeños rumiantes no están sujetos a programas de salud, las personas que dependen de este tipo de ganado tienen un alto riesgo de infección por brucelosis, dado a que se dispone de información limitada sobre la prevalencia de la brucelosis en las comunidades ejidales con sistemas de producción extensiva, debido a la dificultad de recopilar información en áreas extensas, ya que estas comunidades de productores primarios dependen económica y culturalmente de las cabras y ovejas, es importante identificar algunos factores de riesgo asociados con la brucelosis en cabras y ovejas en agostadero.

REVISIÓN DE LITERATURA

Antecedentes históricos de la brucelosis

La leche es provista por cabras, que son pastoreadas por la Ciudad y ordeñadas afuera de las casas, para obtenerla sin mezclarla con agua, cada familia maltesa las cría para su propio uso

Un estudio antropológico reciente de una osamenta de un *Australopithecus africanus* (que data de 2.5 millones de años) encontró lesiones en los cuerpos vertebrales compatibles con la brucelosis, se presume que la fuente de infección pudo haber sido el consumo de carne y/o tejidos infectados de animales salvajes (Corbel, 2006). Estudios filogenéticos apuntan a que este microorganismo es milenario ya que las cabras y ovejas han sido el huésped de *Brucella melitensis* durante siglos (86,000 a 296,000 años). Posteriormente con la domesticación de este tipo de ganado, hace unos 10,000 años, la trashumancia y el comercio fenicio (propagación de la infección en todo el litoral Mediterráneo e islas de este mar durante el primer milenio antes de Cristo) fue un factor detonante del aumento de casos de esta enfermedad. Ya en el siglo XVI fue introducido en América por los españoles y portugueses (Pappas y Panagopoulou, 2006).

Un testimonio más, de la antigua presencia de brucelosis caprina, está documentada en la erupción del Volcán del Monte Vesubio en Italia entre el 24 y 25 de agosto del año 79 D.C., destruyendo por completo Pompeya, Estabia y Herculano (alrededor de 5000 muertes). El examen de microscopía electrónica de barrido de los restos de quesos carbonizados, en excelente estado de conservación de la cuajada de la leche, reveló una variedad de bacterias posiblemente *Lactobacillus*, además incluye a cocos (morfológica y dimensionalmente) compatibles con el género de *Brucella*, lamentablemente no se ha podido analizar dichos microorganismos por métodos moleculares debido a las altas temperaturas y el tiempo que permaneció bajo el lodo volcánico; mientras que un examen antropológico de restos esqueléticos de “fugitivos” que trataban de escapar del lodo volcánico, reveló una condición artrítica y lesiones óseas típicas de brucelosis en 17.4 % de los adultos, esta cifra era alta y

teóricamente se relaciona con el consumo de leche y subproductos de ovino (Capasso, 1999).

Durante el Siglo IV. Hipócrates de Cos (460 A.C-370 A.C.) Médico de la antigua Grecia, se considera como una de las figuras más destacadas de la historia de la medicina, y muchos autores se refieren a él como el "padre de la medicina". Él, describió una enfermedad similar en signos y síntomas (fiebres de tipo ondulante) a la brucelosis, se basaba en la observación y sostuvo que la enfermedad tenía una explicación física y racional, es decir, se basa en la desarmonía de los cuatro elementos (agua, aire, tierra y fuego) fundamentales de la materia y de los cuatro "humores" (sangre, flema, bilis negra y bilis amarilla) que formaban la vida, y afirmaba que la relación de estos con la temperatura, cantidad e intensidad, eran constituyentes de la salud y la incongruencia de estos, eran la enfermedad. Esta propuesta, causante de la fiebre, duró hasta mediados del siglo XIX, hasta la aplicación de la microbiología y patología.

En su Notas que llamó "Of the Epidemics", introduce la clasificación de fiebres cotidianas, tercianas y cuartanas, denominó "fiebres" a los que mejoraban espontáneamente (hoy, fiebre tifoidea, fiebre reumática, fiebres palúdicas). Por el contrario, llamó "pirexia" a las fiebres con agravación progresiva hacia la muerte (Castro, 2005).

Eyre, sugiere que si alguien tuvo una idea de la fiebre de Malta antes del siglo XIX, éste fue el gran Hipócrates. No existió algún otro médico según la historia que durante todo ese tiempo (siglos entre Hipócrates y la época contemporánea) que hubiera tenido noción más o menos exacta de esta fiebre particular. Además de la descripción de dos casos humanos compatibles con esta enfermedad. Con más de 120 días de duración, que vivieron en el litoral mediterráneo, seguramente por el antecedente de haber consumido leche cruda o derivados de productos de ovinos o cabras infectados (Franco *et al.* 2007; Foster, 2009).

Las referencias y descripciones de casos clínicos compatibles con brucelosis humana se informaron de manera constante en historias de campañas militares e informes hospitalarios. Sin embargo, la identificación del agente etiológico, el

reservorio y la epidemiología de la enfermedad no se reveló hasta la segunda mitad del siglo XIX, cuando el gobierno británico decidió encontrar una solución para sus tropas que permanecían en la isla de Malta y que anualmente sufría de pérdidas sustanciales causadas por la llamada "fiebre de Malta".

En 1751, George Cleghorn (1716-1789), Cirujano del ejército británico, a mediados del siglo XVII, identificó casos de ataques febriles recurrentes en la Isla de Menorca mientras estaba de servicio, recopiló datos sobre las enfermedades más comunes en la isla, mientras ofrecía tratamientos a las tropas y a la comunidad local, estos hallazgos los plasmó en su trabajo (Moore, 2004) "Observaciones sobre las enfermedades epidémicas en Menorca del año 1744 a 1749". En la introducción, describía varios temas como el clima, las costumbres de los nativos y la historia natural de la isla, utilizó cuadros meteorológicos, enlistó nombres nativos de plantas y animales, George resume sus observaciones en siete capítulos. Todos estos están llenos de apuntes originales y dan derecho al libro a un lugar permanente entre los tratados médicos ingleses (Coakley y Lettsom, 2014).

En 1803, Manuel Rodríguez Caramazana (1765-1836), cirujano del ejército español, en 1800, ejerció como médico en los lazaretos y cordones sanitarios establecidos en Andalucía, con motivo de la epidemia de fiebre amarilla de aquel año y posteriormente intervino en la guerra luso-española. Al terminar los casos agudos de fiebre y al terminar la guerra, obtuvo el grado de doctor en cirugía y solicitó ser destinado al Hospital Militar de Menorca. En 1803, describió claramente la fiebre de Malta y distribuyó un folleto de ocho páginas sobre este título en Menorca. Este folleto no fue recibido favorablemente por las autoridades ("El lazareto de Maón"), debido a su recomendación de medidas estrictas para proteger a las personas de la enfermedad y cuál debía ser su gestión sanitaria (Hoover, 1997).

En 1809 la expedición de Walcheren fue un fracaso. Indirectamente derribó al gobierno británico, Las condiciones en Walcheren eran indescriptibles y exacerbaban la situación a causa de la inundación, escaso personal médico, y las

condiciones sanitarias de las tropas británicas se deterioraron rápidamente. John Webb, el inspector general de Hospitales, escribió lo siguiente: “los primeros casos cursaron con fiebre, debilidad, anorexia, dolor de cabeza y cuerpo, hepatomegalia, muchos murieron, más del 58 % de los militares, además del personal médico, al principio se pensó en malaria, pero fue una combinación de varias enfermedades (tifus exantémico, fiebres tifoideas, paratifoideas, y ondulantes). La expedición terminó oficialmente en febrero de 1810, atendiendo a las tropas en Inglaterra, para este momento ya habían fallecido 60 oficiales y 3,900 hombres (Martin, 1999).

Durante 1853-1856 en la guerra de Crimea se observaron numerosos casos de fiebres prolongadas, es posible que esta fiebre fue traída de Crimea y se manifestó en la Isla de Malta, con la llegada de soldados (muchos de ellos enfermos) y sus construcciones como fuertes por lo que se sospechó de una infección nueva, la cual se extendió a los países del Mediterráneo, en particular a la isla de Malta. La guerra de Crimea enfrentó entre 1853 y 1856, en la Isla de Balaclava, a Gran Bretaña, Francia, imperio otomano y Cerdeña, contra Rusia. Por cuestiones económicas (acceso marítimo de Rusia al Mediterráneo, y religiosos (franco-cristianos y católicos versus Rusia que eran Ortodoxos), se pagó un precio muy caro, la desnutrición y las enfermedades causaron más muertes que las balas. Nunca se supo con claridad la cifra de soldados muertos, fue la antesala de lo que se esperaba en las guerras mundiales del siglo XX.

En 1856, Florence Nightingale (1820-1910), de origen británico, fue fundadora de las bases de la enfermería moderna. Realizó importantes contribuciones a la salud pública a través del mejoramiento de los servicios sanitarios, estableciendo manuales de enfermería y aplicando herramientas como la estadística. Al ver la gran pérdida de personal del ejército durante la guerra de Crimea y que no precisamente eran por heridas de guerra sino por enfermedades de curso febril, prevenibles muchas de ellas, por falta de higiene (16,000 de 18,000 soldados), mientras atendía con fervor al personal de la tropa, enfermó en hospitales de Estambul (Üsküdar) donde es más probable que haya adquirido la enfermedad y

Crimea (Balaclava), su propia salud se demeritó, contagiándose de un tipo de enfermedad febril debilitante en la Isla de Crimea. Ésta se manifestó con signos típicos de la brucelosis (fiebre ondulante), tuvo cinco recaídas principales durante el curso de la enfermedad, que fueron probablemente los síntomas habituales de la brucelosis, en esa época los médicos no conocían la enfermedad, por lo que diagnosticaron fatiga y trastorno psicológico, no fue hasta el siglo XX, que, con los avances médicos y científicos, al analizar su vida y signos se concluyó que padeció de brucelosis crónica (McDonald, 2001; Gil, 2005).

“Nadie puede imaginarse los horrores de la guerra. Las heridas, la sangre, la fiebre, la disentería. El frío, el calor, el hambre”

Florence Nightingale ('La dama de la lámpara')

En 1859, Jeffery Allen Marston (1831-1911), cirujano general y asistente quirúrgico en la Real Academia de Medicina en el Reino Unido, debido a que padeció la enfermedad, la definió y describió los hallazgos con gran detalle y la llamó "fiebre remitente mediterránea o gástrica". La diferenciación en tres tipos de fiebre, en un reporte que realizó acerca de la fiebre de Malta, siendo el primer autor en diferenciar clínica y patológicamente los cuadros febriles. Para empezar, los clasificó en tifoideo o entérico, el segundo, fiebre de corta duración no debilitante de tres a cinco días, y el tercero, la fiebre mediterránea, común en la Isla de Malta y de comportamiento recurrente (pirexia ondulante). Los soldados que enfermaban de este tipo particular de fiebre tenían un rango de 15 a más de 700 días (90 días promedio), con baja mortalidad, alrededor de dos puntos porcentuales, los descubrimientos de Louis Pasteur y Robert Koch fueron de gran ayuda, pero no se tenía aun un diagnóstico definitivo. Sus últimas anotaciones fueron la crudeza de sus propios sufrimientos debidos a la enfermedad, la irregularidad de la fiebre, la languidez y cansancio, dolores musculares y articulares, síntomas gastrointestinales y la larga duración de la enfermedad (Marston, 1861).

En 1879, Henry Richard Lobb Veale (1831-1908), cirujano mayor de la Armada Británica, describió que un gran número de personal militar británico enfermaba

con fiebre continua, de origen desconocido, quedó incapacitado y hospitalizado en la isla de Malta, por lo que se requería mayor cantidad de personal Médico. Veale hace mención de un caso de duración de dos años de hospitalización, el cual estuvo observándolo directamente (julio de 1885 y fue dado de alta a fines de 1886). En su opinión, un ataque conferiría inmunidad, también asegura que la fiebre de Malta y la fiebre de las rocas son idénticas en la signología, en comparación con la malaria o tifus, por ejemplo; no tiene su cuadro clínico, los órganos a los que afecta, ni su mortalidad (Veale, 1879). En su libro llamado "The Notation Case-Book" utiliza símbolos y abreviaturas en lugar de palabras para expresar algunos síntomas y signos de las enfermedades, además asigna valores numéricos a condiciones que admiten este modo de expresión, y en tercer lugar en el registro de los fenómenos ofrecidos por los diferentes sistemas del cuerpo en forma tabular en la medida de lo posible, concluyendo con las siguientes anotaciones: La fiebre de Malta es una enfermedad específica bastante distinta de la entérica y fiebre remitente. Es causado por la entrada al sistema de un diminuto parásito, ninguna droga actualmente conocida tiene el poder de modificar la acción de la bacteria en el sistema. El tratamiento debe dirigirse principalmente a mantener al paciente fortalecerse con líquidos, alimentos fácilmente digeribles y, cuando sea necesario, por estimulantes. La extracción del paciente del área infectada no corta el curso de la fiebre (Bruce, 1889).

En 1884, Sir David Bruce (1855-1931), cirujano capitán de la Armada Británica nacido en Australia, después de calificar en medicina en 1881, se unió al ejército en 1883 y trabajó en el Hospital de la Estación, Valletta, Malta, originalmente la Santa Enfermería del Caballeros de Malta. Fue enviado a esa Isla para investigar la causa de la "fiebre de Malta u Ondulante" (más tarde llamada brucelosis en su honor), denominada así porque la fiebre era de ocurrencia periódica, con malestar y dolores de cabeza, que podía durar meses, e incluso llegaba a ser fatal. A finales de 1886, utilizando un microscopio, observó una gran cantidad de micrococos en una nueva preparación de la pulpa esplénica de los soldados que habían muerto por la enfermedad (diciembre 26 de 1886), descubrió que las

personas adquirirían esta enfermedad al tomar leche de cabra contaminada, encontró un microorganismo que denominó “melita” que significa Malta en Latín, (*Micrococcus mellitensis*); en muestras de bazos de 4 pacientes inoculados en el agar nutritivo de Koch (el cual fue perfeccionado por Mary Elizabeth Steele, su esposa y brillante microscopista, una experta técnica de laboratorio) y pudo reproducir la enfermedad en monos siguiendo los postulados de Koch, no así en dos conejillos de indias, ocho conejos y nueve ratones. También demostró el alto grado de capacidad del microorganismo para producir la enfermedad y su diseminación a los diferentes órganos en un individuo infectado. En 1895 fue enviado a Sudáfrica a esclarecer una enfermedad de bueyes y equinos que pastoreaban en las planicies, a la que los nativos llamaban “Nagana o espíritu deprimido” encontrando en la sangre uno microorganismo al que nombró *Tripanosoma Brucei*, que destruía los glóbulos rojos y consecuentemente morían (Wyatt, 2009).

En 1887, Guiseppe Caruana Scicluna (1853-1921) perteneció al Servicio de Salud Pública de Malta como Inspector sanitario y químico analítico en 1881. Colaboró con David Bruce en el aislamiento y cultivo del *Micrococcus mellitensis*, del bazo de pacientes aislando el microorganismo utilizando agar en placas. Fue él quien jugó un papel imprescindible en establecer la epidemiología de la enfermedad, además de sugerir a Zammit que la leche de cabra era la fuente de la infección y que debían analizarse cabras al azar, ya que especulaban que solo unas pocas podían estar infectadas naturalmente de las 20,000 que había en la isla y por un medio aún desconocido se infectaban los humanos, pensando también en los mosquitos como vectores. En 1905 dedujeron que las cabras eran susceptibles a la infección por brucelosis y, segundo, que la infección natural era muy frecuente. Scicluna escribió en un panfleto: “En 1903 se habían observado casos de fiebre entre personas que vivían en granjas en las que se mantenían cabras lecheras que suministraban leche en Sliema. A principios de 1904, un funcionario de salud pública descubrió que la sangre de una cabra “reaccionó fuertemente a la fiebre remitente”. Nunca fue reconocido su nombre en tan importante descubrimiento (Wyatt, 2000).

En 1891, Matthew Louis Hughes (1867-1899), Capitán cirujano, colaboró en el área de bacteriología de la fiebre ondulante (en el cultivo del agente causal en bazos de 14 pacientes fallecidos por esa causa). Fue miembro de la comisión que atendió la plaga de Benghazi, infectado en el Hospital Estación Valletta en 1896 y autor de la monografía con historia bibliográfica de la enfermedad "Fiebre de Malta, del Mediterráneo o fiebre ondulante" (Macmillan Londres, 1897). En este trabajo clásico, Hughes describe los signos y síntomas de la enfermedad, además de información epidemiológica complementaria, después nombrada Brucelosis, pero él sugería, que la causa, eran las condiciones insalubres locales. Hughes propuso el nombre de fiebre ondulante que fue recomendado por el congreso Internacional de medicina de Londres en 1913. Este término describía las principales características y constantes de la enfermedad (fluctuaciones de la curva de temperatura). A pesar de los logros y esfuerzos en el descubrimiento del agente causal de la fiebre, las técnicas de serología para diagnóstico por la prueba de aglutinación, la fuente y el modo de transmisión siguió siendo un misterio. La enfermedad continuó siendo un importante problema de salud para la estación de tropas británicas.

En 1897, Sir Almroth Edward Wright (1861-1947), Bacteriólogo británico y su colaboradores Semple y Smith, desarrollaron una prueba de aglutinación en suero (a partir de las pruebas de Gruber y Durham) y demostraron la presencia de aglutininas específicas en la sangre de pacientes infectados, lo que ayudó a diferenciar a aquellos que sufrieron "brucelosis" de aquellos con fiebre tifoidea (cólera) o malaria, utilizando pequeñas cantidades de emulsión con el micrococcus y suero sanguíneo, el frasco se mantenía a temperatura ambiente durante 24 horas, (el tubo control contenía una emulsión de organismos vivos y suero diluido de una persona sana). La muestra control permaneció turbio, no así el que contenía anticuerpos de pacientes que mostraron "pequeñas grumos o precipitados en el fondo del tubo (Wright y Semple, 1897). Dentro de sus actividades desarrolló una vacuna que confería inmunidad en contra de la fiebre tifoidea, probada en más de 3 mil militares en la India y la Guerra de Boer en Sudáfrica, con excelente resultado, al inicio de la Primera Guerra Mundial, Gran

Bretaña, era el único país con sus soldados protegidos contra la fiebre tifoidea, factor que contribuyó a que menos soldados murieran a causa de enfermedades infecciosas (Wright, 1897). Este médico salió de ejército y desarrolló vacunas contra la tuberculosis entérica, la neumonía y colaboró en muchos estudios sobre las opsoninas (sustancias o enzimas que hacen más apetecible a las bacterias de ser fagocitadas por las células de defensa).

En 1897, Bernard Lauritz Frederik Bang (1848-1932), veterinario Danés, y su colaborador Stribolt, fueron reconocidos por sus investigaciones sobre la tuberculosis bovina, su identificación y métodos de control y por su investigación sobre la vacunación contra la viruela y sobre las enfermedades bacterianas de los animales. El Dr. Bang recuperó el bacilo de *Mycobacterium bovis* en la leche de vacas enfermas y fue de los pioneros en implementar hervir la leche para eliminar las bacterias, ya que la gente acostumbraba a que las cabras se ordeñaban en la puerta de las casas para observar que no se adulterara. Utilizó un modelo de control de la tuberculosis que consistía en aislar los animales, realizar la tuberculización, los reactores, eliminarlos (por parte de personal oficial), aquellos, que no eran reactores, se consideraban sanos. En cuanto a la enfermedad en bovinos, A mediados del siglo XVIII se conocieron historias de epizootias de aborto contagioso. Jennings en 1864, pensaba que la afección era causada por influencias de simpatía, una vaca preñada al observar abortar a otra, lo hacía también; por esto, aislaban a las parturientas. Por el contrario, Bang describió el aislamiento de otro miembro del género *Brucella*, *Bacillus abortus* como él lo llamó, a partir de membranas fetales de ganado bovino (Bang, 1906) y del útero de una vaca preñada con signos de aborto. Fue famoso por su lema "hágase lo más útil posible" (Rizzo, 2005).

En 1904, William Heaton Horrocks (1859-1941), cirujano capitán promovido a cargo de Mayor, Miembro de la Junta de Asesores Médicos del Ejército como experto en saneamiento, además, Miembro de la Comisión de la Royal Society sobre la fiebre mediterránea, informó el descubrimiento del *Micrococcus melitensis* en la leche de una cabra aparentemente sana. Para el 26 de junio,

había encontrado el microbio en la leche de 5 cabras, mientras que el Dr. Themistocles Zammit lo había encontrado en la sangre de una de las tres cabras el 18 de junio de 1905. Sir David Bruce había demostrado previamente que la causa de esta fiebre era *Micrococcus melitensis*, pero fue Horrocks quien demostró que la cabra era la fuente de la fiebre mediterránea y fue de él la idea de alimentar a un mono con la leche de cabra para inocularlo de esta forma con el agente causal. La mitad de las cabras se vieron afectadas, de las cuales una décima parte pasa constantemente el microbio en su leche (Horrocks, 1904).

En 1904, Themistocles Zammit (1864-1935), Doctor Maltes, planteó la hipótesis de que las cabras eran susceptibles a la fiebre de Malta y que la enfermedad se propagaba de las cabras a los humanos. Para probar su hipótesis, Zammit alimentó cabras seronegativas y sanas con cultivos de agar de *M. melitensis* mezclados con sus alimentos (descubrió que cinco de cada seis cabras reaccionaron al análisis de sangre). Zammit, ya había intentado reproducir la infección del animal más importante en la economía doméstica maltesa, a saber, la cabra, no solo por los métodos habituales sino, lo que es más importante, tomando en cuenta experimentos realizados con animales sanos seleccionados. No se produjeron efectos constitucionales, pero un mes después de la administración del crecimiento de un cultivo en tubo de agar de *Micrococcus melitensis* mezclado con la comida, se descubrieron aglutininas específicas en el suero sanguíneo y aumentaron constantemente en cantidad a medida que pasó el tiempo. Este experimento se repitió con resultados similares y, meses después, se descubrió que la reacción del suero todavía estaba presente, aunque disminuyó en cierta medida. Se realizó un examen sistemático de la sangre, la orina y la leche y Zammit pudo demostrar que el microorganismo específico podría aislarse de todos y cada uno de estos fluidos (Eyre, 1912).

El hallazgo de Zammit fue denominado "uno de los mayores avances jamás realizados en el estudio de la epidemiología", fue un parte aguas en la investigación por que en poco tiempo lograron eliminar la enfermedad de los

soldados; además, revolucionó las ideas sobre vectores como transmisores de enfermedades.

En 1904 se formó la 'Comisión de la Fiebre Mediterránea', encabezada por el propio Sir Bruce, para abordar el problema de la brucelosis en la isla de Malta (Vassallo, 1992). Los miembros de la Comisión de Fiebre del Mediterráneo fueron: el Cirujano del personal Ernest Shaw, el Dr. Themistocles Zammit, el Dr. Ralph Johnstone, el capitán James Crawford Kennedy RAMC y el Cirujano del personal Ernest Gilmour RN.

En 1906, J.W.H. Eyre (1869-1944) cooperó en la Comisión de la Royal Society sobre la fiebre mediterránea. Realizó informes sobre la morbilidad y mortalidad dentro de las tropas navales, del ejército, así como la población civil en un lapso de 7 años (1901 a 1907), y obtuvo como resultado que "la Marina tenía 1,705 casos con 30 muertes y el ejército en Malta tuvo 1,947 casos con 55 muertes, un promedio de mortalidad del 2.3%, o acumulada con la población civil de 4,627 casos con 489 muertes lo cual da una mortalidad combinada del 6.9% (Eyre, 1912).

En 1914, Jacob Traum (1882-1966), Doctor en veterinaria, Austriaco, en Estados Unidos de Norteamérica, junto con su colaborador Mohler, identificaron la última de las zoonosis más extendidas de este género: *Brucella suis* (en un principio conocida como *American melitensis*), ya que se piensa que el aborto contagioso ya estaba establecido en el estado de Texas y Nuevo México (primeros casos registrados en 1905). Él, obtuvo el llamado bacilo de Bang en leche de vacas que a simple vista eran saludables, y de amígdalas de personas que consumían leche sin pasteurizar. Además de la fiebre aftosa, realizó contribuciones en Europa tales como estudios de erradicación de tuberculosis, brucelosis, triquinosis y enfermedad de Newcastle en aves de corral. Fue este Doctor quien describió el exantema vesicular, una enfermedad porcina indistinguible de la fiebre aftosa, como una entidad separada (López, 1992).

En 1918, Alice Catherine Evans (1881-1975) fue una científica Estadounidense, presidenta del Comité Interamericano de Brucelosis. Estudió las bacterias

patógenas de productos de la leche, y eso condujo a su innovador trabajo sobre la brucelosis, también fue crucial para el proceso de aceptación de la pasteurización y relacionó al bacilo de Bang con el *Micrococcus melitensis*. En 1920, las tres especies de bacterias descritas recibieron el nombre genérico de *Brucella* en honor al Doctor David Bruce. Recibió severas críticas luego de publicar sus resultados acerca de la pasteurización, por parte de los investigadores, médicos veterinarios, que no creían en su afirmación de que los patógenos eran zoonóticos (se transmitían de animales a humanos). La industria láctea también fue incrédula de su advertencia de que la leche cruda debe pasteurizarse para salvaguardar la salud humana; en 1922 se enfermó de brucelosis y por 20 años fue convaleciente. Sus esfuerzos para demostrar que no solo era un riesgo para trabajadores agropecuarios sino, también para la población que consumía los subproductos lácteos, una vez demostrado esto, la industria láctea entendió la necesidad de utilizar de manera obligatoria este procedimiento. En reconocimiento a su logro, en 1928 la Sociedad de Bacteriólogos Estadounidenses eligió a Evans como la primera mujer presidenta de la organización (Evans, 1918).

En 1920, Karl Friedrich Meyer (1884-1974) de origen suizo, marcando el comienzo de su investigación sobre la causa de la encefalitis equina, se adentró en el estudio epidemiológico de la tifoidea, malaria, esporotricosis, ántrax, botulismo, coccidiomicosis, psitacosis, uso de tetraciclinas, fiebre amarilla, hepatitis viral y brucelosis (James, 1974). Él junto con el Dr. Edward B. Shaw propusieron la formación de un nuevo género bacteriano, el género *Brucella*, y le asignaron el nombre del entonces conocido *Micrococcus melitensis* como *Brucella melitensis* debido a criterios y características como su susceptibilidad a diferentes colorantes y su capacidad de aglutinación, estableciendo que los agentes causales de la brucelosis humana y caprina eran indistinguibles (Meyer y Shawn, 1920).

El género sólo lo conformaban *B. melitensis* y *B. abortus*, hasta que el Dr. I. Forest Huddleson incorporó a *B. suis* en este nuevo género bacteriano

(Huddleson, 1931). Unos años más tarde se agregaron a este grupo dos nuevos miembros: *B. ovis*, la cual fue aislada por Buddle en 1956 de epididimitis del carnero y *B. neotomae* aislada por Stoenner y Lackmann en 1957 de roedores y que no se ha vinculado con enfermedad en humanos hasta hoy en día. Posteriormente, Carmichael y Bruner en 1967-68, aislaron e identificaron como *B. canis* al agente que naturalmente se asocia a perros, pero que, ocasionalmente, puede causar enfermedad en el hombre.

2.1 Aspectos Generales

Brucella es el género de bacteria responsable de causar en los humanos la enfermedad conocida como fiebre de malta, ondulante o mediterránea, entre otras sinonimias, es de carácter infeccioso, altamente contagiosa, afecta a una amplia gama de animales, siendo común, en especies como caprinos y ovinos en países en desarrollo, lo cual tiene repercusiones de índole reproductivo y grandes pérdidas económicas (Cutler *et al.*, 2005). Como también afecta al ser humano, se cataloga como una de las principales antropozoonosis de países en los cuales es endémica, como en México, la cual es causante de problemas severos de salud animal y pública. Los individuos se contagian ingiriendo productos y subproductos de origen animal contaminados, y manteniendo los productores primarios un estrecho contacto con animales enfermos de brucelosis. Las acciones dirigidas a su control, y sobre todo, las preventivas, se ven obstaculizadas debido a la gran variedad de rutas de contagio además de que no se tiene un panorama real y actualizado de esta enfermedad (Castro *et al.*, 2005).

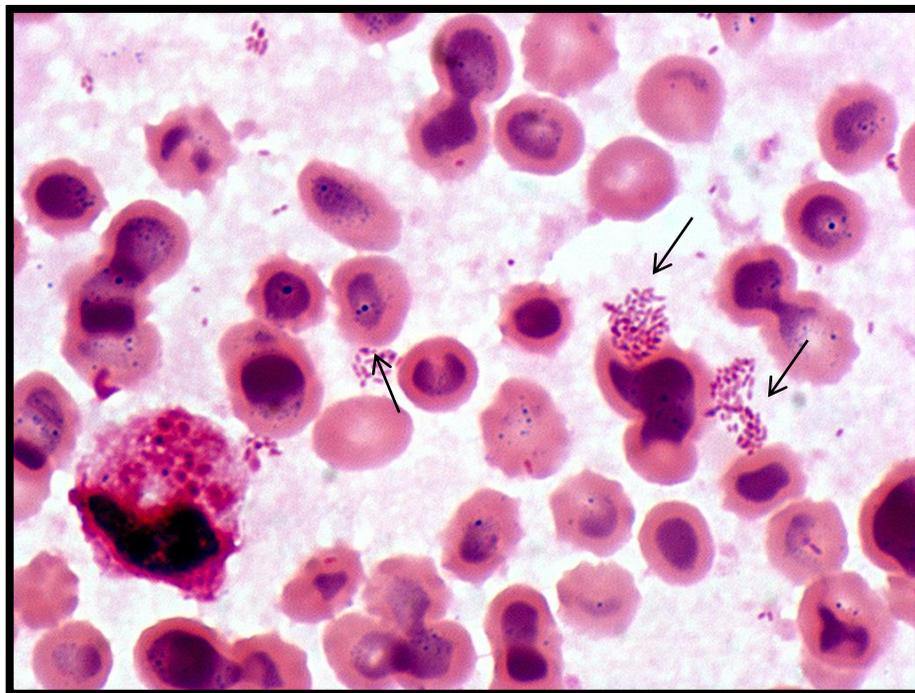


Figura 1. *Brucella melitensis* (flechas).

2.1.2 Etiología

El agente etiológico de la brucelosis caprina es *Brucella melitensis*, para el caso de ovinos puede ser además de ésta, *Brucella ovis*. Las demás especies conocidas de *Brucella* hasta ahora son, *B. abortus*, *B. suis*, *B. canis*, *B. neotomae*; recientemente se han identificadas también *B. pinnipidiales*, *B. ceti*, *B. microti*, *B. Inopinata*, (Cloeckert et. al., 2001), *B. papionis* (Whatmore et. al., 2014), *B. vulpis* (Scholz et. al 2016), siendo las primeras cuatro las más patógenas para el ser humano. Según (Godfroid et al., 2005) han sido reportados estudios en donde se encontraron anticuerpos en contra de *Brucella*, entre ellos, venados, búfalos, alces y algunos cerdos salvajes, siendo estos animales reservorio y portadores del microorganismo.

Las características metabólicas, antigénicas, bioquímicas, entre otras, nos permiten clasificar a las especies de *Brucella* en biovariedades, las cuales se enlistan en la siguiente Cuadro (Blasco, 2001).

Cuadro 1. Especies que integran el género *Brucella*, hospedadores conocidos y características bioquímicas y antigénicas que permiten clasificarlas en biovariedades. A y M: configuraciones alternativas del PSO, R: LPS de las cepas rugosas.

Especie	Hospedador	Biovariedad	Producción de H ₂ S	Necesidad de CO ₂	Sensibilidad a los colorantes		Aglutinación con sueros monoespecíficos			Cepa	Patogenicidad en humanos
					Tionina	Fucsina	A	M	R		
<i>B. melitensis</i>	bovinos,	1	-	-	+	+	-	+	-	Lisa	Elevada
	ovino, cánidos,	2	-	-	+	+	+	-	-		
	hombre	3	-	-	+	+	+	+	-		
<i>B. abortus</i>	Bovinos, cánidos, hombre	1	+	+	-	+	+	-	-	Lisa	Moderada
		2	+	+	-	-	+	-	-		
		3	+	+	+	+	+	-	-		
		4	+	+	-	+	-	+	-		
		5	-	-	+	+	-	+	-		
		6	-	-	+	+	+	-	-		
		7	+	-	+	+	+	+	-		
		8	-	+	+	+	+	+	-		
		9	+	+	+	+	-	+	-		
<i>B. suis</i>	Cerdos, hombre	1	-	-	+	-	+	-	-	Lisa	Moderada
		2	-	-	+	-	+	-	-		
		3	-	-	+	+	+	-	-		
		4	-	-	+	-	+	+	-		
		5	-	-	+	-	-	+	-		
<i>B. canis</i>	Cánidos,		-	-	+	-	-	-	+	Rugos	Moderada
<i>B. neotomae</i>	Roedores		+	-	-	-	+	-	-	Lisa	Desconocida
<i>B. ovis</i>	Ovinos		-	+	+	-	-	-	+	Rugos	No posee
<i>B. maris</i>	Focas, leones marinos, ballenas.									-	Desconocida

2.1.3 Características microbiológicas de la bacteria

Brucella spp., es una bacteria gram negativa, inmóvil, ya que no presenta flagelos en su estructura, además de no generar esporas. Sus dimensiones oscilan entre 0.5 a 0.7 µm de diámetro por 0.5 hasta 1.5 µm de largo, por lo que le da una apariencia cocobacilar (Alton *et al.*, 2002). No produce cápsulas verdaderas, tiene la capacidad de supervivencia dentro y fuera de las células, prefiriendo los del tipo macrófago, de esta manera aprovechan la capacidad de fagocitosis de este tipo celular para ingresar en ellas, pueden observarse en grupos reducidos, aisladas o en pares (Holt *et al.*, 1994).

Presenta marcada resistencia a ser teñida con ácidos débiles, ya sea por el método Ziehl-Neelsen, Macchiavelo o Köster; adquiere una coloración rojiza, no así para *B. ovis* (Corbel *et al.*, 1984), otras bacterias se tiñen de color verde.

2.1.4 Características de crecimiento y de cultivo

La temperatura a la cual se ha obtenido el mayor crecimiento es alrededor de 37° C, un pH de 6.6 a 7.4; por lo general, son catalasa y oxidasa positivos, regularmente no son fermentadores de azúcares, y no producen cambios en la estructura de la leche ni gelatinas (Wilfert *et al.*, 1986).

Son aerobios estrictos, ya que utilizan el oxígeno o nitrato, por medio de proteínas llamadas citocromos, como último compuesto que recibe en la respiración celular, pero, en algunas especies o biovares pueden requerir cierto grado de CO₂, aproximadamente 5 a 10 % (Holt, 1994), son muy sensibles a la acción de los rayos UV (solares), a la desecación y principalmente las destruye la pasteurización.

Respecto al cultivo, las colonias son visibles después de 48 horas en medios sólidos especiales, previamente incubadas por al menos cuatro días, estas bacterias se clasifican en colonias lisas (S) de 1 a 2 mm de diámetro con bordes regulares, circulares y convexas, translúcidas de coloración ámbar, aumentando de tamaño y tornándose un poco más oscuras hacia un tono gris azulado (Dokuzoguz *et al.*, 2005), y albergan a las especies *B. abortus*, *B. mellitensis*, *B. suis* y *B. neotomae*. Estas especies por ser lisas son más virulentas, y comparten semejanza en cuanto a su estructura, no así con la membrana externa de algunas enterobacterias, como por ejemplo *Salmonella spp*, *Yersinia enterocolitica*, *Pseudomonas spp.*, *Escherichia coli* (Corbel, 1983). Las colonias que difieren de estas características pueden ser rugosas (R) las cuales son de mayor tamaño que las primeras, de aspecto granular y un tanto viscoso, incluyendo las especies *B. ovis* y *B. canis*. Por último, las colonias (M) o mucosas son más translúcidas que las primeras y un poco más similares a las segundas, pero de consistencia más pegajosa. La textura observada en las colonias se debe al lipopolisacárido (LPS) que se encuentra en la superficie bacteriana, los cuales pueden sufrir modificaciones que afecten el LPS. (Ariza C.J., 1995).

2.1.5 Antígenos

Existen diversas sustancias exógenas que provocan una reacción inmunitaria por parte del huésped (Tizard, 2000), así las bacterias gram negativas, como *Brucella*, presentan el lipopolisacárido (LPS), hacia el cual se monta la respuesta humoral, éste ha sido el antígeno más estudiado por ser el más abundante, antigénico y externo de la membrana celular externa (López-Merino, 1989), denominándosele también como “endotoxina”, presenta algunas diferencias en cuanto a los que presentan otras bacterias gram negativas incluso entre las mismas brucelas (Fernandez-Prada *et al.*, 2001) siendo diferentes entre las cepas lisas y rugosas, en cuanto que las primeras están ausente o hay remanentes de la cadena “O”, y a la proporción de lípido “A”, esta endotoxina presenta baja actividad endotóxica, sin perder su capacidad inmunógena (López-Merino, 1989).

2.1.6 Anatomía Microscópica de la Bacteria

Las características anatómicas son similares entre las bacterias gram negativas, observándose en su parte más externa la llamada envoltura celular (carece de capsula), membrana externa, espacio periplásmico intermedio, en el cual existen proteínas y enzimas que tienen funciones en el transporte de solutos y en su parte más interna, la membrana citoplásmica, la cual rodea y protege al citoplasma (Moriyon and Lopez-Goni, 1998; Vassen *et al.*, 2019).

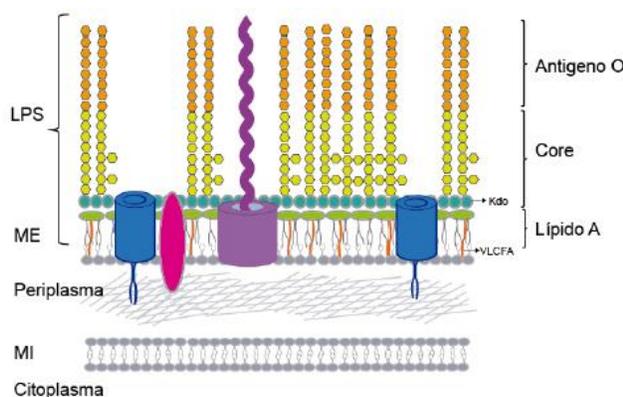


Figura 2. Esquema representativo de la membrana de *Brucella* spp., cepas lisas.

Entre las enterobacterias, el elemento peptidoglicano o gel glucopeptídico, el cual es el responsable de otorgar integridad osmótica al microorganismo, es similar entre las enterobacterias y está estrechamente unido a la membrana externa (Velasco *et al.*, 1998), mientras que el polisacárido de *Brucella* se ancla a proteínas del grupo tres del (“omps”), proteínas de la membrana externa, por sus siglas en inglés, dichas proteínas, son clasificadas en base a su peso molecular, siendo el grupo uno (89 y 94 kDa); grupo dos (35 y 40 kDa), identificadas como porinas (canales transmembranales), y grupo tres (25 y 30 kDa). Las proteínas del primer grupo, aunado a otras de bajo peso molecular, se denominan “omp menores” y las del grupo dos y tres se denominan “omp mayores” las cuales están expresadas con mayor abundancia, pero con menor accesibilidad en las cepas lisas que en las rugosas, por un componente de la cadena O del LPS en estas cepas (CloECKaert *et al.*, 2020).

2.1.7 Membrana externa

Es la estructura responsable de ser una barrera funcional entre el medio ambiente y el microorganismo, a la vez cumpliendo el rol de barrera física ya que protege a éste de la respuesta inmunitaria por parte del huésped. El éxito de supervivencia de la bacteria depende de la integridad de esta estructura, la cual en la mayoría de las enterobacterias están formadas por fosfatidiletanolamina y en *Brucella* predomina la fosfatidilcolina, explicando la resistencia a algunos antimicrobianos (Comerci *et al.*, 2006; Geiger *et al.*, 2013).

Dentro de la membrana externa (ME) se encuentra el lipopolisacárido (LPS), denominado su principal antígeno, el cual se divide en 3 regiones principales, siendo el lípido A, (formado de glucosamina y diaminoglucosa), que actúa como soporte de la molécula a la superficie de la *Brucella* ya que está anclado a una capa de lípidos, está conformada por dos partes (Fugier *et al.*, 2007). La primera glucolípida, la cual está en la parte interna de la (ME) y no expuesta a la superficie, y la segunda que, sí está expuesta, de carácter polisacárida, la cual a su vez, la conforman el núcleo, que es un oligosacárido intermedio (formado de

glucosamina, glucosa, manosa, quinovosamina y ácido 3, deoxi-D-mano-2 octulosónico, mejor conocido como, KDO), y por último, el antígeno O (PSO), siendo la parte más distal del (LPS), y su función es ser la parte más antigénica (epitopo), constituida de un homopolímero de alrededor de 100 unidades de 4-formamido-4,6-dideoxy-D-manosa, conocido como perosamina (Freer *et al.*, 1995), que si se presentan en las cepas lisas, no así en las rugosas (Velasco *et al.*, 1998), suelen ser de dos tipos, el alfa 1-2 y alfa 1-3, estas características son base para la diferenciación en las biovariedades, (configuraciones A y M). Anteriormente llegó a describirse de otros dos polisacáridos conocidos como (HN) o hapteno nativo y el (PB) polisacárido B, el primero aislado de cepas lisas y el segundo por una cepa mutante de *B. melitensis* cepa rugosa, para fines prácticos los antígenos polisacáridos, que reaccionan a serología son los anteriormente descritos A y M, además de la forma libre del (PSO) (Aragón *et al.*, 1996). *Brucella* tiende a formar bicapas lipídicas muy estables (Vizcaino *et al.*, 1996). En particular, esto se debe a la presencia de varias proteínas de membrana externa (OMPs) que mantienen interacciones hidrofóbicas con otros componentes y/o contienen dominios hidrofílicos que le permite unirse al peptidoglicano. Como consecuencia, estas características contribuirían a la rigidez propia de la célula de *Brucella* en comparación con otras bacterias Gram negativas (Vizcaino *et al.*, 1996; Moriyon *et al.*, 1998).

2.1.8 Membrana interna

Las estructuras que están presentes en el citoplasma del género *Brucella* son homogéneas entre sus especies, algunas pueden ser utilizadas como método diagnóstico de la enfermedad (Baldi, 1994, Stemshorn *et al.*, 1981) por medio de antígenos utilizados en la prueba de ELISA y en las reacciones intradérmicas, particularmente dos, la BP26 la cual es de expresión periplásmica y la glicoproteína A2, que le confiere protección térmica (utilizada en diagnóstico de bovinos), y está sujeta a la formación de riboflavina, la cual se sintetiza en la bacteriemia (Deb *et al.*, 2013).

2.1.9 Taxonomía

Los estudios de hibridación del ADN-ADN y la relación que guardan entre sus antígenos, han dado como resultado una alta similitud entre las bacterias pertenecientes al género *Brucella* (>90%), en cuanto al análisis del ácido ribonucleico (ARN 16S), se ha catalogado a *Brucella* en el grupo alfa del subgrupo 2 de la clase proteobacteria junto con bacterias simbiotes, patógenas de plantas y animales de la familia Rhizobiaceae y parásitos de vida intracelular como *Bartonella* spp. *Brucella* spp y *Rickettsia* spp (Moreno *et al.*, 1990) y con bacterias de vida libre patógenas oportunistas del hombre como *Mycoplasma* y *Ochrobactrum intermedium*, que son bacterias del medio ambiente asociadas a infecciones oportunistas en el hombre, con la que comparte el 98.8% en homología del ARNr 16S (Velasco *et al.*, 1998; Moreno *et al.*, 1990; Scholz *et al.*, 2008).

La clasificación tradicional reconocía a *B. melitensis*, biovariedades 1, 2 y 3 con afinidad por el ganado ovino y caprino; *B. abortus*, biovariedades 1, 2, 3, 4, 5, 6 y 9 con afinidad por bóvidos; *B. suis*, biovariedades 1, 2, 3, 4 y 5 con afinidad por el ganado, *B. canis* con afinidad por cánidos; *B. ovis* por óvidos y *B. neotomae* por ratas del desierto (Olsen y Palmer, 2014). Pero al analizar la homología del ADN y ver su parentesco, se propone nombrar a *B. melitensis* como una sola especie, considerando a las demás especies como biovariedades de ésta (Hoyer y McCullough, 1968; Verger *et al.*, 1987; Verger *et al.*, 2000). Se analizó la propuesta, por un lado, los científicos que demuestran una homología de más del 77 % en la secuencia en la totalidad de especies de este género y por otro lado, los que prefirieron la denominación clásica para efectos prácticos por lo que el Subcomité (ICSP, International Committee Systematics of Prokaryotes) volvió a la nomenclatura anterior en el año 2006 (Gee *et al.*, 2004). Según Cloeckert *et al.* (2001), las especies de mamíferos tanto domesticados como de vida silvestre son distintas molecularmente y fenotípicamente a las especies marinas, por lo que las llamaron *B. cetaceae* y *B. pinnipediae*, para aquellas que afectan ballenas, delfines y focas, respectivamente. Pero el organismo encargado de la taxonomía, las denominó *Brucella ceti* y *Brucella pinnipedialis* (Foster *et al.*,

2007), y más recientemente agregada al catálogo de este género, *Brucella microti* y *Brucella inopinata*, para referirse a las aisladas de zorro rojo y aislada a partir de un implante de mama infectado, respectivamente (Scholz *et al.*, 2010).

Para Marianelli *et al.* (2006) y Whatmore *et al.* (2007), los avances en análisis moleculares, dejan al descubierto que algunas de las biovariedades de algunas especies como biovar 5 de *Brucella suis* se podría catalogar más hacia las especies que se aislaron recientemente de mamíferos marinos, así como biovar 3 de *Brucella abortus* en la que se dividió en dos subgrupos de los cuales no está tan relacionada a las características que guardan las de su misma especie (Ocampo-Sosa *et al.*, 2005 y Whatmore *et al.*, 2006).

2.1.10 Sinonimia de la brucelosis

Esta enfermedad también es conocida con diversos nombre dependiendo del contexto cronológico / cronología de hallazgos de la enfermedad: Fiebre del Mediterráneo, Fiebre napolitana, Fiebre nueva de Creta, Fiebre de Constantinopla, Fiebre de Chipre, Fiebre de Gibraltar, Enfermedad de las Fuerzas Armadas, Fiebre Melitocócica, Fiebre de Malta, Fiebre sudoralis, Fiebre caprina, Enfermedad de Bang, Aborto Contagioso, Aborto epizoótico, Fiebre de Traum, Fiebre del Río Grande, Adeno-Typhoid, Gastric and Biliious Remittent fever, Intermittent-typhoid, Fiebre ondulante, Fiebre recurrente, Fiebre melitensis.

2.2. Manifestaciones clínicas de la enfermedad

El periodo prepatente dependerá de las biovariedades, medio ambiente y del propio huésped, el cual presenta un rango bastante amplio que va desde 14 hasta 180 días, estos signos pueden ser muy inespecíficos por lo que es casi imposible detectar animales infectados, después de la entrada del microorganismo, es provocada una bacteriemia, la cual se asocia con fiebre la cual puede ser intermitente, anorexia, fatiga, entre otros, después de que se establece, en la hembra en los nódulos linfáticos y afectando de muchas maneras al aparato

reproductivo (principalmente útero y glándula mamaria), produciendo en ocasiones, infertilidad, placentitis, o retención placentaria, metritis, nacimientos prematuros, muertes neonatales, disminución en la productividad tanto láctea como de crías, y por ende, menos cantidad y calidad de animales destetados, camadas pequeñas en caso de hembras políticas (perras y cerdas), repetición de celos y días abiertos entre partos (Blood, 2002). Los abortos son pocos frecuentes y en ocasiones solo lo hacen una sola vez, pero eliminan el microorganismo durante el parto, aunque este sea normal; en los machos también provoca infertilidad, dermatitis escrotal, inflamación del epidídimo uni o bilateral y sus estructuras adyacentes, provocando orquitis (Silva *et al.*, 2011).

Los hallazgos a la necropsia, puede presentarse hepatomegalia y esplenomegalia, afección del aparato locomotor como artritis y discoespondilitis, que se manifiestan con paresia o ataxia, alteración oftalmológica como uveítis, la vía de entrada de microorganismo es por vía conjuntival, digestiva, mucosa oro-nasal, genital y por contacto directo, siendo esta forma horizontal y/o vertical, a través del canal de parto y calostro al amamantar las crías (Ardoino *et al.*, 2006).

En otros rumiantes (bovinos), las hembras infectadas, luego de la parición, eliminan gérmenes en el calostro y la leche, sobre todo en la primera etapa de lactación, disminuyendo a medida que avanza la lactancia y pudiendo eliminar bacterias en forma intermitente hasta la tercera semana. En caso de mastitis intersticial, la liberación de *Brucella* es permanente. También se eliminan bacterias por heces y orina, pero en menor número.

En el hombre, el cuadro clínico, la gravedad y la evolución de la infección varían en función de la especie de *Brucella* infectante, de la concentración del inóculo y del estado del paciente (Laplume *et al.*, 2013). El período de incubación en los humanos se estima que podría ser de 1 a 3 semanas, pero puede llegar a varios meses. Luego del periodo de incubación, la infección puede evolucionar a diferentes formas clínicas: asintomática o subclínica, aguda o crónica. Los síntomas característicos son fiebre continua, intermitente o irregular, de duración variable (10 a 30 días), cefalea, fatiga, diaforesis, mialgias, pérdida de peso,

anorexia, malestar generalizado, con o sin signos de localización como artritis /espondilitis, meningitis endocarditis, orquitis/epididimitis. El examen físico es inespecífico el hallazgo más frecuente, en 30- 50 % de los casos es la hepatomegalia y/o esplenomegalia. La enfermedad osteoarticular es la complicación más común; se observa en 20 a 60 % de los pacientes. El sistema genitourinario es el segundo sitio más común en la brucelosis focal, puede observarse en 2 al 20 % de los casos. En el hombre se presenta como orquitis o epididimitis. La infección adquirida durante el embarazo constituye un riesgo de aborto espontáneo (Galińska, 2013).

2.3 Transmisión

Los factores que afectan la transmisión y por ende la prevalencia de esta enfermedad son multifactoriales, como, los sistemas de manejo, practicas pecuarias, canales de comercialización, hábitos alimenticios, calendarios de manejo zosanitario, usos y costumbres, higiene en la obtención de productos y elaboración de subproductos de la leche (Corbell, 2006; Rajala *et al.*, 2016; Alhamada *et al.*, 2017).

Entonces, la transmisión entre animales, incluso al humano (zoonosis), es por la diseminación del microorganismo a través de las mucosas y serosas del aparato digestivo y/o del aparato respiratorio, así como a través de la mucosa conjuntival, siendo menos frecuente la infección por el contacto directo pudiendo penetrar la piel intacta, o en caso de la existencia de pequeñas erosiones (Crespo-León, 1994; Poester *et al.*, 2013), por excreciones genitourinarias, como, líquidos y membranas fetales, descargas vaginales excretadas contaminadas con *Brucella* spp., durante o después del parto, sea este normal o no, siendo un momento clave para esparcir la enfermedad (O.I.E., 2008). Por lo tanto, a través de la historia se ha observado que la temporada de pariciones es el punto álgido de propagación de la enfermedad, debida a la excreción del agente causal de animales incluso aparentemente sanos y consumo de leche fresca y subproductos lácteos (Capparelli *et al.*, 2009). En la opinión de Ferreira *et al.*

(1990) algunos animales que actúan como hospederos intermediarios o vectores, podrían ser los roedores, caninos, entre otros, los cuales consumen y propagan desechos de partos y/o abortos, introduciéndolos en hatos que podrían ser libres del microorganismo. Ferreira *et al.* (1990) y Crespo-León (1994) mencionan la interacción de insectos hematófagos en la diseminación de la enfermedad, ya que se han aislado bacterias de este género de *Stomoxys calcitrans* (mosca de los establos), estas se alimentan de todo tipo de secreciones y sangre al igual que las garrapatas, contribuyen a la ruta de contagio.

Debido al tropismo de este microorganismo por órganos linfoides como ganglios linfáticos supramamarios y aparato reproductor, se considera la excreción constante e intermitente de las bacterias en leche, aún en partos y lactaciones ulteriores (Díaz-Aparicio, 2013), además de la contribución de la transmisión de la bacteria por personal a cargo del hato, no solo por las manos del ordeñador, sino que también por el técnico, al utilizar de forma inadecuada vacunas, no respetando las indicaciones del fabricante, así como la utilización de instrumental contaminado, la cual se le conoce como vía iatrogénica (Ferreira *et al.*, 1990).

Louzã (1993) reportó que en el macho las células espermáticas podrían ser un vector como vehículo de la bacteria. Incluso por el uso de tecnologías en asistencia reproductiva, ya que, el semen es depositado directamente en cuernos uterinos o en su caso en el útero, siendo el cérvix y sus propiedades, como el pH, una barrera físico-química, además de que las secreciones como pus, derivada de afecciones articulares sería, también una forma de contagio, ya que se trata de una enfermedad en la cual no se presentan signos patognomónicos o específicos, y en ocasiones es inadvertida, es muy complicado identificar animales contagiados por lo que el ingreso de animales infectados al hato, o que no se conoce su estado zoonosanitario, compromete la sanidad del propio, además de que muy pocos productores de caprinos y ovinos optan por tener buenas prácticas de manejo que involucran la identificación de animales reactivos y su desecho, por lo que al pastorear distintos hatos en la misma área geográfica, crea

un constante riesgo de infección para aquellos que son sanos (Blaha, 1989; Marín *et al.*, 2016).

Cuadro 2. Mecanismos de transmisión de la infección.

Vía de infección	Puerta de entrada	Fuente de infección	Población en riesgo
Oral	Mucosa digestiva	Leche cruda, derivados de lácteos	Población en general
Por contacto	Piel erosionada, conjuntiva, mucosa nasal	Productos animales contaminados: placenta, heces, secreciones vaginales	Trabajadores en contacto con animales infectados o sus productos(veterinarios, matarifes, cuidadores), personal del laboratorio
Respiratoria	Mucosa nasal	Aerosol en laboratorios con muestras contaminadas, vacunas vivas, aerosol en establos, lanas	Personal del laboratorio, trabajadores de la lana, personal de limpieza de los establos
Parental	Inoculación accidental	Vacunas vivas, material biológico contaminado	personal del laboratorio, veterinarios, población en general

2.4 Diagnóstico

A pesar de que la prueba fehaciente, para establecer un diagnóstico preciso, es el aislamiento del microorganismo, a partir de muestras de líquidos y/o secreciones corporales, así como tejidos; Swai *et al.* (2009) menciona que *Brucella spp.*, es una bacteria sumamente peligrosa y virulenta. Se ha demostrado que en las unidades de experimentación (biotérios) que las dosis mínimas infectantes, varían solamente de una decena a un centenar de células, éstas, por su característica de formar fácilmente aerosoles y por su fácil propagación, se llegó a catalogar como una bacteria con potencial de bioterrorismo, y por esta misma razón solo se le permite manipularla en laboratorios de bioseguridad nivel tres, con equipo y personal altamente capacitado (Ponce de León-Rosales, 2001), debido a que es muy común el contagio por vía conjuntival o penetrando no solo heridas en la epidermis sino también la piel intacta.

Por esta razón, Romero *et al.* (1999) mencionan que se requieren de métodos diagnósticos, sensibles, específicos, rápidos, económicos además de prácticos, aun cuando se pueden presentar animales falsos positivos (Nielsen, 2002), y así el diagnóstico de la brucelosis se basa de manera rutinaria en la detección de anticuerpos circulantes, proporcionando datos muy importantes del comportamiento de la enfermedad (patrones epidemiológicos), para poder evaluar las estrategias de control y erradicación que se han llevado a cabo (Adone y Pasquali, 2013).

A pesar de las características y limitaciones (reacción cruzada con *Yersinia enterocolitica* O:9, por ejemplo), de las pruebas serológicas, siguen siendo la herramienta de diagnóstico más apropiada (Kittelberger *et al.*, 1995; Serra *et al.*, 2004) además de ser las únicas certificadas por la Secretaria de Agricultura y Desarrollo Rural (SADER) y reconocidas internacionalmente por la OIE (2008), efectuadas por personal oficial o aprobado, entre las que se encuentra la prueba de tarjeta, Rosa de Bengala (RB), fijación del complemento (FC) y prueba de anillo en leche (especies lisas), que son las más utilizados en el diagnóstico de

la infección por *Brucella melitensis* (Kirovski *et al.*, 2005; Garin-Bastuji *et al.*, 2006). Ésta se utiliza como prueba de "barrido" mientras que la (FC) se utiliza como prueba de confirmación, mientras que para detección de *Brucella ovis*, es la prueba de inmunodifusión doble (NOM-041-ZOO-1995).

Para Alton *et al.* (1987), la reacción antigénica entre las bacterias del género *Brucella spp.* y los anticuerpos producidos por el sistema inmune del huésped, en respuesta a esta bacteria, es la base de las pruebas serológicas siendo su objetivo calcular la inmunidad humoral del caprino, en este caso, a partir de muestras de suero no hemolizado, leche entera o su suero, y secreciones tanto vaginal como seminal según sea el caso.

2.4.1 Procedimiento para realizar la prueba de tarjeta o rosa de bengala:

- La muestra señalada en la presente norma para la identificación de *Brucella* a partir del animal vivo es suero sanguíneo no hemolizado.
- El antígeno es el autorizado por la Secretaría de Salud, y debe reunir las siguientes características:
 - Elaborado con la cepa 1119-3 de *Brucella abortus*.
 - Teñido con rosa de bengala en ácido láctico.
 - pH de 3.65 (\pm 0.05).
 - Concentración celular del 8 % para bovinos y del 3 % para caprinos y ovinos.

Los resultados de la prueba de tarjeta, que es de fácil realización, bajo costo y permite procesar un elevado número de muestras, arrojarán sólo dos clasificaciones: positivos y negativos, dependiendo de la presencia o ausencia de aglutinación, según sea el caso; la RB es una prueba con elevada sensibilidad aunque su especificidad no es tan elevada, ya que no permite la discriminación entre animales inmunizados con Rev-1 y aquellos infectados de forma natural (NOM-041-ZOO-1995; Bercovic *et al.*, 1998).

2.4.2 La prueba de rivanol (R)

Es de uso exclusivo en suero sanguíneo de ganado bovino:

- Se utilizan sueros no hemolizados, positivos a la prueba de tarjeta, homogeneizando el antígeno autorizado por la (SADER) con reactivo de rivanol (lactato de 2 etoxi 6,9 diamino acridina).
- El antígeno debe ser elaborado con la cepa 1119-3 de *Brucella abortus* y debe reunir las siguientes características:

- Teñido con una mezcla de verde brillante y cristal violeta
- pH 5.8 a 6.2
- Concentración celular 4%

Los resultados son divididos en sueros positivos y negativos. Se consideran positivos, cuando sueros de animales no vacunados que presenten aglutinación completa en cualquiera de las diluciones, desde 1/25 a 1/400. En el caso de ganado inmunizado, la aglutinación completa en una dilución mayor o igual a 1/50 será considerada positiva.

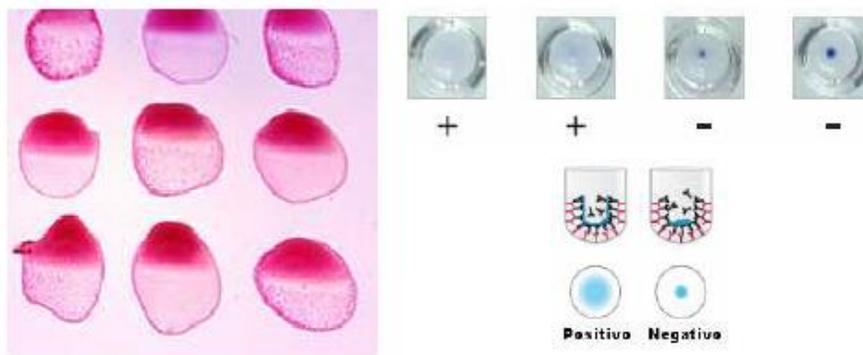


Figura 3. Interpretación visual de los resultados de las pruebas rosa de bengala (izquierdo) *Brucella cap* (derecha).

2.4.3. La prueba de fijación del complemento (FC)

Se debe realizar con sueros no hemolizados que hayan resultado positivos a las pruebas de tarjeta y/o rivanol en diferentes especies animales, especialmente la

causada por *B. mellitensis* en pequeños rumiantes (Blasco *et al.*, 1994a), la sensibilidad y especificidad según (Garin-Bastuji, 1993b), es de (88 % y 100 %, respectivamente).

Para la realización de esta prueba, se emplea el antígeno preparado con la cepa 1119-3 de *Brucella abortus*, sin teñir y con las siguientes especificaciones:

- pH 6.8 a 7.0
- Concentración celular de 4.5 %

Los resultados clasifican a los sueros como positivos y negativos. Los primeros son aquellos en los que se obtienen títulos mayores a 1/16 en frío o mayores a 1/8 en caliente. En el caso de caprinos y ovinos los positivos son aquellos en los que se obtienen títulos mayores de 1/4.

2.4.4 Anillo en leche

Como parte de vigilancia epidemiológica, se puede utilizar esta prueba, en la cual tiene el inconveniente de que los resultados deben confirmarse con pruebas serológicas, las muestras utilizadas son leche fresca cruda, realizándose con antígeno autorizado por la (SADER), con las siguientes características:

- Teñido con hematoxilina
- pH entre 4.0 y 4.3
- Concentración celular de 4 %

Para bovinos, los resultados que presenten anillo teñido en la superficie, son considerados positivos, y negativos en ausencia de dicho anillo, y para referirnos a los resultados de caprinos, se catalogan como positivas si manifiestan la formación de grumos coloreados en la columna de leche o bien un botón coloreado en el fondo del tubo, si es negativo, no presenta ningún cambio la muestra y se tiñe por completo.

2.4.5 Inmunodifusión doble en gel

El diagnóstico de *B. ovis*, se realiza con dicha prueba, con muestras de suero sanguíneo no hemolizado de ovinos. Para la prueba se emplea antígeno proteico específico de *B. ovis* autorizado por la Secretaría de Salud, preparado a partir de la extracción en caliente con solución salina.

Los animales positivos a brucelosis, inician una investigación epidemiológica retrospectiva, se debe proceder a muestrear la totalidad del hato junto con los hatos colindantes (ya que al convivir, se consideran como un solo hato), además, deben permanecer en el predio en donde fueron muestreados, a menos que se obtenga el certificado zoosanitario para su movilización (transporte flejado), en cuyo caso debe realizarse directamente a un rastro para sacrificio inmediato o en el caso de zona en control, a una unidad de producción controlada (NOM-041-ZOO-1995).

Cuando se utilizan los métodos serológicos de diagnóstico deben tenerse en consideración la reactividad cruzada, y el tipo de anticuerpo que predomina en cada etapa.

2.5 Factores de riesgo

En México, hay una gran y vasta extensión de zonas áridas y semiáridas, en las cuales se concentra la mayor cantidad y calidad de las explotaciones caprinas y dentro de estas, se han identificado muchas áreas de oportunidad en la producción, siendo las pérdidas fetales uno de los principales factores reproductivos, según Falcón *et al.* (1990), Cepeda *et al.*, (1994), Mellado *et al.*, (2001; 2005b) de 15 a 70 % de abortos se presentan en hatos de cabras en agostadero, y estos son ligados principalmente a factores nutricionales y a los causados por agentes infecciosos (brucelosis, clamidias, entre otras).

Como se ha mencionado, la brucelosis es de las principales enfermedades antropozoonótica y está distribuida globalmente (Luna-Martínez, 2002, Acosta-

González, 2009), en México muchos de los sistemas de producción, no están sujetos a controles de calidad como lo son las buenas prácticas de manejo y por consiguiente no sujetos a programas de sanidad. Estos hatos están en riesgo de contraer la infección tanto los animales en producción, productores e incluso la fauna silvestre (Luna-Martínez, 2002). Según los datos obtenidos por Acosta-Gonzalez (2009) y Marín *et al.* (2016) esta enfermedad en cabras, en diferentes partes del país es de alrededor de 10 %.

Solorio-Rivera *et al.* (2007) indican que hay factores que influyen en la ocurrencia de brucelosis, siendo estos el desinterés por parte de los productores primarios, y de las autoridades encargadas de llevar programas para controlar este tipo de enfermedades, aunado de ser carentes en desarrollo tecnológico y de conocimiento en programas sanitarios y de higiene.

Se han descrito y evaluado diversos factores de riesgo, demostrando que la edad de las cabras y ovejas por lo general mayores de 24 meses tuvieron mayor tiempo de exposición al microorganismo que los animales jóvenes (Solorio- Rivera *et al.*, 2007; Rajala *et al.*, 2016; Alhamada *et al.*, 2017), la densidad en corrales de manejo siendo (<5 metros cuadrados por animal), tamaño del hato y la permanencia dentro del mismo (no recomendable que sea más de siete años de vida productiva), son factores que pueden predisponer la seropositividad de las cabras, el intercambio de animales (sementales) así como la convivencia con otros rumiantes (que se desconoce su estatus zoonosario), fauna silvestre, en agostaderos y aguajes en común (Reviriego *et al.*, 2000; Kabagambe *et al.*, 2001; Marín *et al.*, 2016).

La sensibilidad y especificidad de las pruebas, en ocasiones arrojan animales falsos negativos, por lo tanto, no son detectados por aquellas y se asume que están libres de la enfermedad, siendo portadores y diseminadores de ésta, a los realmente sanos, por lo tanto, será casi imposible controlar y erradicar la brucelosis (Minas *et al.*, 2007).

Como parte de los factores que ponen en riesgo la ganadería del país, los programas de vacunación contra este microorganismo en rumiantes productivos

en general, son limitados, en organización, recursos y capacidad, en ocasiones vacunados erróneamente con la vacuna RB51 que provoca que las caprinos y ovinos pasen desapercibidas por las pruebas de “barrido” en contra de brucelosis y provocando que algunas hembras preñadas aborten o se produzcan muertes fetales (Villa y Perea, 2008, Herrera, 2011), y siendo una fuente de contagio constante vías descargas vaginales durante y después del parto.

Para prevenir o reducir la incidencia de abortos es necesario asegurarse de que el hato se encuentre libre de brucelosis entre otras enfermedades abortivas (Megersa *et al.*, 2011). Se requiere, además, contar con cabras plenamente adaptadas a su medio ambiente, de tal forma que aún bajo condiciones de extrema sequía sean capaces de recorrer grandes distancias para coleccionar su alimento (Mellado, 2005b).

Los métodos de control y erradicación de la brucelosis no han dado resultado en México, ya que no existe coordinación adecuada entre productores, Secretarías de Desarrollo Rural en las entidades federativas, Secretaría de Agricultura, instituciones de sanidad animal al no eliminar en tiempo y forma a los animales considerados como positivos a esta enfermedad y su descendencia, además de programas de remuneración a los productores (Marín *et al.*, 2016).

El consumo de leche y subproductos lácteos sin pasteurizar contaminados con *B. melitensis*, son las principales rutas de contagio para los humanos (Seleem, 2010; Guzmán Hernández *et al.*, 2016). Estos productos pueden contener grandes cantidades de bacterias viables que se concentran en quesos, mantequillas, y cremas, principalmente, tanto en México como en muchos países (Thapar, 1986, Kara, 2013). La información disponible es limitada sobre la prevalencia de brucelosis en muchas comunidades rurales en México, debido a la dificultad de recopilar información en áreas extensas y a veces de difícil acceso.

Mellado (2008) menciona que para prevenir e implantar un programa efectivo de salud reproductiva se deba tener en cuenta los siguientes datos:

- (1) prevenir las enfermedades y desórdenes que causan problemas reproductivos.
- (2) tratar en forma efectiva aquellas enfermedades inevitables que se dan rutinariamente en cualquier hato de cabras.
- (3) identificar los problemas específicos que están alterando.

2.6 Epidemiología

Las variaciones geográficas influyen de manera muy marcada en la existencia y presentación de la enfermedad (*B. melitensis* es la especie más difundida seguida de *B. abortus* y *B. suis*), siendo el Mediterráneo, Asia occidental, algunas partes de África y América (Estados Unidos, México, Brasil, Perú, Colombia y Argentina) (Adams, 1997).

Este género infecta a muy variadas especies de hospedadores sean clásicos, preferenciales o accidentales, y son los bovinos, ovinos, caprinos, suinos, equinos, caninos, felinos, conejos, alces, búfalos, venados, corzos, renos, llamas, jabalíes, cabras montesas, zorros, hurones, gacelas, liebres, ratones, hamsters, osos, lobos, caribús y un grande número de aves como perdices, codornices y especies migratorias (Ocholi *et al.*, 2004; Zarnke *et al.*, 2006).

Estein *et al.* (2003) y O.I.E. (2008) argumentan que los ovinos además de ser susceptibles a *B. ovis*, lo son a *B. mellitensis*, han encontrado casos en los que se aisló de esta especie animal, a *B. abortus* y *B. suis*. Memish (2001) sustenta que además de perros y gatos que conviven en las explotaciones de caprinos, otras especies de vida silvestre como zorros, coyotes, venados, por mencionar algunas especies, pueden actuar como diseminadores de tipo mecánico de la infección (Paolicchi *et al.*, 1993; Garin-Bastuji *et al.*, 2014). Incluso los porcinos son susceptibles de *B. mellitensis* transmitida por los pequeños rumiantes (Meirelles-Bartoli, 2012).

Los animales infectados son los responsables de diseminar a este microorganismo, el cual es excretado en cantidades abundantes junto con las descargas vaginales y desecho de tejido procedentes del parto, de la leche y calostro, contaminando de esta manera corrales, áreas de maternidad, pastos, aguajes, siendo *Brucella* perfectamente capaz de subsistir bajo ciertas condiciones en ambientes agrestes para la bacteria, y haciéndolo por tiempos relativamente largos (Samartino, 2002).

La especie con mayor impacto es *B. melitensis* biovariedades 1 y 3, son por mucho las más comúnmente aisladas, además de ser la más patógena y representan un riesgo a la ganadería y salud pública (zoonosis); está catalogada como una barrera comercial (Benkirane, 2006; Banai, 2007; Seleem, 2010).

Epidemiológicamente y patológicamente, *B. abortus* y *B. melitensis* comparten algunas características, como signología en las especies a las que afectan, los cuales son el aborto, mortinatos, ocurriendo con mayor frecuencia en el último tercio de la gestación post infección, y en la mayoría de los casos por única ocasión, pero eliminando el agente causal de manera intermitente (Elzer, 2002; Blasco, 2011).

Otra vía de transmisión y factor de riesgo es que los cabritos y corderos, pueden contagiarse en el útero (Wang *et al.*, 2014), siendo mayor posibilidad a través del calostro y leche, estas bacterias al pasar desapercibidas por el sistema inmune, favorece infecciones latentes, los animales se vuelven portadores, y por ende, se dificulta su erradicación, por lo que se debería de eliminar las hembras rectoras a brucelosis y su descendencia (Banai, 2007). Respecto a los ovinos se observó en algunos estudios que pueden tener excreciones bacterianas durante el parto y lactación, no así en ocasiones a pesar de ser positivas; en otros corderos se realizaron pruebas diagnósticas serológicas con resultados negativos pero, al efectuar la necropsia, sus hallazgos y estudios bacteriológicos resultaron ser positivos a *B. melitensis*, algunos de madres que habían sido seronegativas a las pruebas de rutina (Herrera, 2011), en los carneros la epididimitis y orquitis pueden ocurrir, la biovariedad 3 ha sido aislada de higroma en los testículos.

El-Tras (2010) informa del aislamiento de *B. melitensis* (biovar 3), en el pez gato (*Ameiurus melas*), pero aún no se comprueba si es portador o por la contaminación de agua.

El control y erradicación de la enfermedad, deben tener una base epidemiológica para cada área geográfica determinada, y contar con los programas adecuados en la que los individuos que interactúan, se comprometan y realicen cada procedimiento en tiempo y forma, ya que los procedimientos y laboratorios deberán estar validados y autorizados (Minas, 2006; Blasco, 2011).

Cuadro 3. Supervivencia de *Brucella melitensis* en distintos medios.

Material	Tiempo de supervivencia
Suelo y estiércol	80 días
Polvo	15 – 40 días
Leche a temperatura ambiente	2 – 4 días
Fluidos y secreciones en verano	10 – 30 minutos
Lanas de depósitos	110 días
Agua a 37 °C y pH 7,5	Menos de 1 día
Agua a 8 °C y pH 6,5	Más de 57 días
Fetos mantenidos a la sombra	6 – 8 meses
Descarga vaginal mantenida en hielo	7 meses
Manteca a 8 °C	1 -2 meses
Cuero manchado con excremento de vaca	21 días
Paja	29 días
Grasa de ordeño	9 días
Heces bovinas naturales	1 – 100 días
Tierra húmeda a temperatura ambiente	66 días
Tierra desecada a temperatura ambiente	4 días

Acta Bioquím Clín Latinoam 2005; 39 (2): 203-16

2.7 Patogenia

Este género de microorganismo es patógeno intracelular facultativo, lo que significa que se mantiene fuera del alcance tanto de antibióticos, de los componentes plasmáticos bactericidas como el complemento y de los mecanismos productores de anticuerpos, sin causarle daño a la célula (Gorvel y Moreno, 2002); esto explica la naturaleza crónica de la enfermedad ya que son capaces de adherirse, penetrar y multiplicarse tanto en células fagocíticas como no fagocíticas (Pizarro-Cerda, 1998), así como tiene muchos factores de riesgo, tiene también varias formas de entrar al organismo desde la orofaringe hasta la vía genital, igualmente la afinidad por ciertos órganos es muy variada, desde la placenta, específicamente los trofoblastos, los macrófagos, algunos tejidos fetales como los pulmones, sistema reproductor masculino y femenino de los adultos (Adams, 2002; Neta *et al.*, 2010).

2.7.1 Etapas evolutivas de la infección:

1) Penetración y migración

El agente causal de la enfermedad primeramente es localizado por las células polimorfonucleares (PMN), pueden penetrar en el huésped por varias vías, como lo son, conjuntival por medio de aerosoles, nasofaríngea o aerógena, digestiva, por ejemplo, consumo de desechos durante el parto por parte de depredadores (Neta *et al.*, 2010), (en humanos por consumo de productos y subproductos contaminados y no pasteurizados), cutánea, mediante laceraciones o piel intacta. Siendo acarreadas de forma libre o en el interior de células fagocitarias, hacia los nódulos linfáticos más próximos, en los cuales ocurre la multiplicación (Blasco, 2001a; Barberán *et al.*, 2002; Starr *et al.*, 2012), es aquí en donde puede verse afectada la sensibilidad de la prueba, porque en ocasiones no se monta una respuesta serológica adecuada. (Mauricie *et al.*, 1998).

La supervivencia intracelular de *Brucella* condiciona el curso ondulante de la enfermedad y la tendencia a la recaída y evolución crónica, dependiendo si se

hospeda o ancla, produce hiperplasia linforeticular con duración e intensidad variable, y de no alojarse en el mencionado sistema, viaja por vía nódulos linfáticos y después por vía sanguínea (bacteriemia transitoria), situándose en cualquier tipo de órgano como hígado, bazo, ganglios linfáticos, médula ósea, y órganos reproductores (útero gestante, testículos, vesículas seminales, glándula mamaria) (Alton *et al.*, 2002; Barberán *et al.*, 2002), provocando picos febriles que se relacionan con la llegada al útero y feto de las bacterias, provocando casi siempre el aborto (Poester *et al.*, 2013).

2) Diseminación septicémica

Crespo-León (1994) señala que es aquí el punto crucial y decisivo para la bacteria de colonizar o no, al huésped, según interactúa con el sistema de defensa, ya que en ciertos órganos como en el útero, el cual está protegido del propio sistema inmune (no tienen resistencia inmunitaria de forma adecuada; Alton, 1995). Además de tener tropismo por el útero gestante ya que las células de la placenta son abundantes en receptores de manosa y en un factor de crecimiento conocido como eritritol, presente en tejidos placentarios animales, lo que explica la avidez de esta bacteria de crecer en este órgano (Pontow *et al.*, 1992; Aréstegui, 2001; Gopalakrishnan *et al.*, 2016).

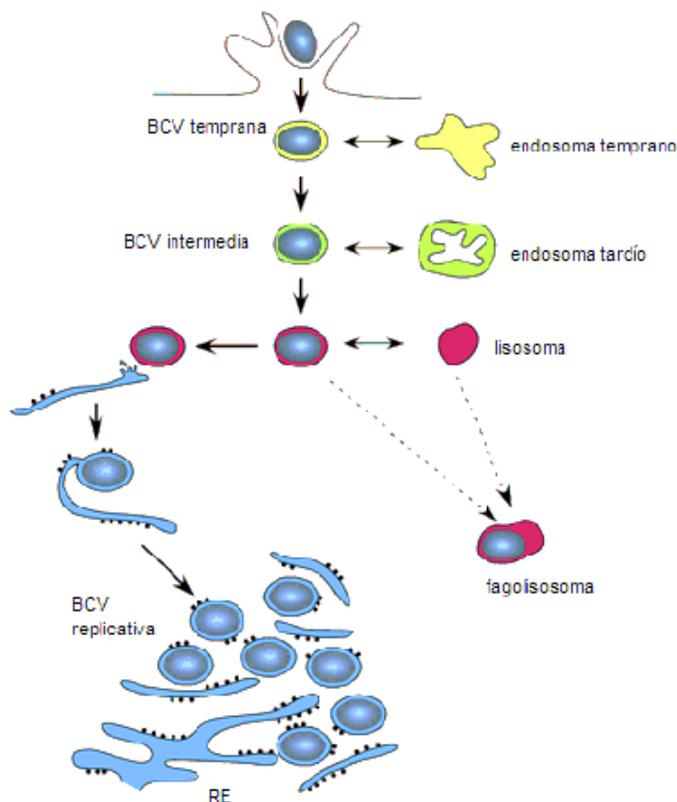


Figura 4. Tráfico intracelular de *Brucella*.

3) Estado de adaptación

Se caracteriza por pernoctación de la bacteria, en órganos blanco, como, glándulas mamarias, articulaciones, gónadas, placenta por mencionar algunos, y dependerá de la respuesta inmunitaria del huésped y susceptibilidad de este, con signología característica (Garín-Bastuji, 1993a), en esta fase existe diseminación de microorganismos e infección persistente, los animales generalmente abortan una vez, en el segundo tercio de la gestación (Gopalakrishnan *et al.*, 2016).

4) Persistencia o enfermedad latente

A pesar de que los microorganismos están presentes en el útero y otros órganos, los animales infectados por lo regular abortan una sola vez, pudiendo alcanzar cifras de hasta 40 %, dependiendo de la triada epidemiológica, a razón de las cabras o borregas que conviven en instalaciones en donde está presente la enfermedad (enzootia), tienden a presentar en menor medida el aborto, es por esta razón que en hatos en los cuales eran libres de la enfermedad, al

presentarse, repercute en altos niveles esta problemática; se ha observado que se pueden presentar dos posibilidades, siendo la primera que la infección se presente de forma latente, en la cual no se manifiesta por signología patognomónica y habrá entonces una intermitente diseminación de microorganismos siendo su punto álgido, durante la época de partos, o, la cura espontánea o autocura, que en los ovinos y en los caprinos es frecuente hasta los dos años de edad (Louzã, 1993; Crespo-León, 1994; Rossetti *et al.*, 2017).

Blasco *et al.* (1990) mencionan en sus estudios que la bacteria cuando es controlada y eliminada correctamente de los tejidos del hospedador completamente, se le conoce como “autocura absoluta”, y “autocura funcional” es la incapacidad del hospedador para diseminar *Brucella* en el ambiente, a pesar de esto, este término es debatible, (carácter individual, no aplicable a programas de control), ya que este problema puede estar oculto por una baja tasa de abortos y/o mortinatos en las hembras infectadas y por su disminución progresiva a lo largo de la vida reproductora de los animales (Blasco *et al.*, 1990).

El método para evadir ser destruidas por el sistema inmune, es que la bacteria se refugia dentro de las células, e infecta tanto monocitos como macrófagos, sobreviviendo dentro del fagosoma, y al no ser digerida y eliminada, ésta puede infectar otras células al ocurrir la destrucción de las que la contenían (Hoover *et al.*, 2002). La sobrevivencia intracelular es lo que propicia que esta enfermedad sea de carácter crónico, se sabe que *Brucella* spp escapa a la muerte dentro de los PMN, al producir guanosina 5' monofosfato (GMP) y adenina que inhiben la fusión fagosoma-lisosoma, la desgranulación y la activación del sistema mieloperoxidasa-haluro y la producción del factor de necrosis tumoral (Yu *et al.*, 2009). Una vez estando dentro del macrófago, debe sintetizar enzimas antioxidantes, proteínas como las de choque térmico o secuestradoras de hierro y otras más que la protejan del pH ácido (pH <4) ,además debe sortear condiciones extremas de estrés como escasas de nutrientes, intermediarios reactivos del oxígeno, entre otras para poder estar a salvo en el compartimiento

fagosomal, ya que tienen la capacidad de prevenir o limitar la fusión lisosoma-fagosoma, necesaria su eliminación, y de resistir las enzimas lisosómicas, después de la fusión (Thoen *et al.*, 1993).

Orduña-Domingo *et al.* (2001) hacen mención de que la opsonización con anticuerpos y el sistema de complemento, los cuales son responsables de eliminar a la bacteria al parecer, por ser verdaderos fagosomas y la activación de los sistemas bactericidas celulares. Además, comprobaron que el solo hecho de atraer anticuerpos y tener títulos altos de estos, no es sinónimo de curar la infección al menos en estudios en humanos.

Según Smith *et al.* (1962), el eritritol (descubierto en 1950), glúcido producido por el feto y capaz de estimular el crecimiento de esta bacteria, se expresa en sus máximas concentraciones en la placenta y líquidos fetales, siendo probablemente la predilección por estos órganos y en esa etapa de la gestación.

Por lo tanto:

→ Los ganglios linfáticos retromamarios son infectados, al estar gestante la hembra, se presenta una bacteriemia transitoria, y la infección avanza hacia placenta y útero, por lo que abortan, por lo regular una sola vez. Una vez situada en estos órganos, las lesiones se hacen presentes en la pared del mismo, provocando una endometritis, posterior necrosis de los placentomas y por ende muerte fetal, por interrupción del suministro de nutrientes y oxígeno, en ocasiones puede llegar a término pero dará como resultado cabritos y corderos débiles; el feto no presenta lesiones patognomónicas, regularmente encontrándose neumonía o bronconeumonía y los hallazgos de la placenta se encuentran con edema, necrosis y lesiones inflamatorias (Alsaif *et al.*, 2018).

→ En los machos, el curso de la enfermedad se presenta en testículos y glándulas sexuales accesorias, ya que es en estas estructuras (epidídimo) es en donde se produce eritritol, los hallazgos a la necropsia son fibrosis intersticial, adherencias focales entre túnica vaginal y testículo, por lo que la cantidad y

calidad de semen se ve afectado además del libido (Carrera-Chávez *et al.*, 2016).

Cuadro 4. Huéspedes, especies de *Brucella*, vías de transmisión, patogenia.

Huésped	Especie de <i>Brucella</i>	Vías de transmisión	Patogenia
Bovinos	<i>B. abortus</i>	Oral, nasal, conjuntival.	Abortos, orquitis, epididimitis, ocasionalmente artritis.
Cerdos	<i>B. suis</i>	Oral y genital.	Aborto, esterilidad, orquitis.
Ovinos	<i>B. ovis</i>	Genital.	Abortos (poco frecuentes), epididimitis.
Perros y otros cáninos	<i>B. melitensis</i> , <i>B. abortus</i> , <i>B. canis</i> , <i>B. suis</i>	Oral y genital.	Abortos, esterilidad, epididimitis, dermatitis escrotal.
Hombre	<i>B. melitensis</i> , <i>B. abortus</i> , <i>B. canis</i> , <i>B. suis</i>	Inoculación conjuntival, inhalación, cutánea, digestiva.	Fiebre aguda e intermitente, adenopatías, hepatoesplenomegalia, complicaciones osteoarticulares.

2.8 Control

El objetivo principal de esta disposición sanitaria es contener la enfermedad en áreas geográficas delimitadas, sobre todo las endémicas, mediante medidas que lleven a su eliminación en todo el territorio nacional (higiene en instalaciones, buenas prácticas pecuarias, vacunación, eliminación de reactores, desinfección, entre otras), tal como es mencionado en la NOM-041-ZOO-1995, el control, junto con la erradicación y la liberación de zonas de la enfermedad, se encuentran en el apartado de fases de la campaña (Reviriego, 2000).

Al realizar pruebas diagnósticas en hatos caprinos y ovinos, y se demuestra la interacción de esos animales con el microorganismo y se confirma su presencia, se inician las actividades epidemiológicas antes descritas y se tendrán que llevar a cabo las siguientes acciones:

- Realizar pruebas serológicas según la especie animal de que se trate, a la totalidad del hato (incluyendo otras especies de interés) y hatos colindantes
- Determinar la prevalencia e incidencia de la enfermedad
- Proceder a cuarentenar el hato (precautoria)
- Aislarlos de los animales sanos (realizar prueba confirmatoria según aplique el caso) y eliminar a los animales positivos
- Separar a los animales en grupos por sexo y edad
- Manejo sanitario de las crías, poniendo especial cuidado en la edad a la que deben ser vacunadas
- Implementar calendarios de manejo zoonosanitario (vacunación y desparasitación)
- Desinfectar instalaciones, desazolvar aguajes, remover el estiércol, eliminar los depósitos de agua comunitarios, etc.
- Restringir la entrada o salida de animales a otros predios (reemplazos de fuentes libres de brucelosis, revisar el estatus sanitario del hato de origen)
- Ropa exclusiva por área, revisar el estado de salud del personal que labora en la Unidad de Producción Pecuaria (UPP)
- Limitar la entrada a la granja de animales de otras especies (fauna nociva).
- En los rumiantes el control de la brucelosis se logra inmunizando a los animales a la edad recomendada (a través de la vacunación en contra de *Brucella spp.*) además de la implementación de controles zoonosanitarios y buenas prácticas de manejo, como realizar la prueba de brucelosis, para identificar animales infectados y evitar que estos contagien a los animales sanos al momento del parto o el aborto.
- No dar a las crías leche de animales infectados.

- Los resultados de estas medidas de control de la brucelosis tendrán un impacto directo en la producción láctea de la explotación (INIFAP, 2011).

2.8.1 Fase en control

La fase de control de la brucelosis para especies lisas (caprino, ovino y bovino), y/o epididimitis ovina por *Brucella ovis*, se reconocerá oficialmente cuando se lleven a cabo los siguientes compromisos:

- Iniciar la elaboración de un padrón estatal de productores;
- Control de la movilización;
- Vacunación obligatoria, salvo en los casos en que lo determine la Secretaría;
- Contar con el sistema de vigilancia epidemiológica (SIVE);
- Contar con un programa continuo de promoción de la campaña;
- Incorporación de los hatos a los programas de la campaña;
- Infraestructura de servicios veterinarios, técnicos y de diagnóstico;
- Eliminación de reactores mediante su envío a sacrificio y, en el caso de subprogramas de control a erradicación, enviarlos a unidades de producción controlada (UPC);
- Existencia de (UPC), opcional; y
- Prevalencia de hatos mayor al 3 % o desconocida.

2.8.2 Para la fase en erradicación

Para esta fase, además de los compromisos para control, se suman los siguientes:

- Aprobación expresa de la secretaria (SADER)
- Padrón estatal de productores actualizado;
- Existencia de casetas de vigilancia en operación;
- SIVE en operación;
- Contar con el 100 % de los hatos inscritos en la campaña, ya sea como hatos libres o en el subprograma de control-erradicación;

- Contar con infraestructura de servicios veterinarios técnicos y de diagnóstico en operación;
- Prevalencia de hato menor al 3 % con distribución conocida;
- Monitoreo en rastros;
- Contar con un dispositivo de emergencia en salud animal;

2.8.3 Fase libre

Respecto a la fase libre de la campaña, además de los compromisos cumplidos para erradicación, se debe contar con:

- Control estricto de la movilización de los animales.
- Constatación del 100% de los hatos, para verificar la prevalencia en la zona.
- Suspensión opcional de la vacunación.

Los animales reactivos, bajo el programa de hatos libres y los del programa de control-erradicación que no vayan a ser enviados a unidades de producción controlada, deben ser sacrificados en un rastro autorizado por la Secretaría de Salud, en un periodo entre 3 y 10 días posteriores a la notificación del resultado. No procederá ningún decomiso de canales o vísceras por causa de brucelosis, excepto cuando así lo indique la Secretaría (SADER). En el caso de ovinos reactivos a la prueba diagnóstica de *B. ovis* deben ser sacrificados en un rastro autorizado por la Secretaría de Salud en un periodo no mayor de treinta días, siempre y cuando el animal reactor no haya sido castrado. (NOM-041-ZOO-1995).

Cuadro 5. Soluciones desinfectantes recomendadas para la acción contra *Brucella* spp. en las instalaciones pecuarias (NOM-041-ZOO-1996).

Desinfectante (solución)	Concentración	T° de la solución	Tiempo de exposición
Hipoclorito de sodio o Hipoclorito de calico	2.5% cloro active	20°C	1 hora
Sosa cáustica	2%	70°-80°C	3 horas
Suspensión de cal recién apagada	15%	Ambiente	1 hora
Emulsión de creolina	5%	60°-70°C	1 hora
Solución de fenol	1%	37°C	15 minutos

En pisos de cemento o firme no poroso se aplicará a razón de 1 litro de solución por metro cuadrado. En suelos porosos se aplicará a razón de 2 litros de solución por metro cuadrado.

2.9 Vacunación

Para lograr contener esta enfermedad, los esfuerzos deben centrarse en 4 puntos principales con una estrategia dependiente de las características epidemiológicas:

1. Lograr elevar la inmunidad del hato lo cual se logra vacunando a los caprinos y ovinos.
2. Sistema de vigilancia y detección de animales positivos y su rápida eliminación.
3. Establecer buenas prácticas de manejo en higiene, que permitan disminuir el contacto de los animales con los microorganismos
4. Mantener estable la producción (Crespo León, 1994; (Schurig *et al.*, 2002; Zinsstag *et al.*, 2007)

Los objetivos de la Norma Oficial Mexicana Campaña Nacional contra la Brucelosis en los Animales (NOM-041-ZOO-1995), es obligatoria en todas las entidades federales y establece los procedimientos, actividades, criterios, estrategias y técnicas para el control y eventual erradicación de la brucelosis en las especies susceptibles, en este caso caprinos y ovinos.

2.9.1 Vacunas y vacunación

Estas medidas zoosanitarias están encaminadas a prevenir, controlar y erradicar la enfermedad, en áreas geográficas en la cual la presencia del microorganismo es alta, adaptándose a las condiciones socio-económico-culturales.

En los caprinos y ovinos, las vacunas vivas, se utilizan ya que estimulan primeramente la respuesta celular, ya que este tipo de inmunidad innata es la responsable de eliminar a bacterias intracelulares facultativas como *Brucella spp.*, y en segundo término generar respuesta inmunitaria con anticuerpos que tengan capacidad de tener “memoria” prolongada, post primo-infección (Oseguera Montiel *et al.*, 2019).

La Campaña, especifica las instrucciones para el control de esta enfermedad y la inmunización es por el uso de vacunas vivas que deben ser aplicadas a hembras negativas a brucelosis.

Proporcionar inmunidad mediada por células y anticuerpos para preparar al individuo en contra de un microorganismo es el propósito de cualquier programa de vacunación

La definición de vacuna se aplica a todos aquellos productos biológicos o inmunógenos que son aplicados por distintas vías, para proteger a los animales contra las enfermedades.

Por ejemplo, la aplicación de vacunas de virus o bacterias atenuadas (vivas) ofrece la ventaja de confortar al animal con una dosis antigénica mayor y más duradera que genera una respuesta citotóxica mediada por linfocitos T de memoria. Adicionalmente, la respuesta inmune se origina principalmente en el

sitio natural de infección, lo que favorece la inmunidad tanto a nivel sistémico como de mucosas.

Generalmente las vacunas de virus o bacterias atenuadas requieren de la aplicación de un solo refuerzo. Entre las desventajas del empleo de vacunas atenuadas está la posibilidad (aunque remota) de que la vacuna revierta a su forma virulenta, además de la complejidad y el costo de mantener una adecuada cadena fría (Kumar, 2016).

2.9.2 Vacunas utilizadas en la Campaña

La Rev 1 es una cepa no dependiente de estreptomina, de baja virulencia, altamente antigénica, estable y no revierte a patógena por pases continuos. La bacteria puede ser excretada esporádicamente en la leche de las hembras vacunadas, en el caso de brucelosis en ovinos (*B. ovis*), la vacuna Rev 1 previene la enfermedad provocada por *B. melitensis*, estando contraindicada la vacuna RB51 en cabras y ovejas, ya que ésta no es efectiva contra *B. melitensis*.

2.9.3 Problemática detectada en los programas de vacunación para la prevención y erradicación de la brucelosis

A) Falta de vacunación en zonas endémicas.

Debido a los recursos limitados con los que cuentan algunos programas de vacunación que solo se llevan a cabo de manera parcial en el hato, o solo en algunos hatos colindantes de algún área, cuando se realizan de manera tardía, provoca que los animales estén en riesgo de contraer la enfermedad, ya que existe intercambio de animales de los cuales no se conoce el estado zoonosanitario, y provoca un brote de la enfermedad, y es aquí cuando la vacunación se torna necesaria aunque debiese ser un método profiláctico.

Son los productores primarios y las estancias gubernamentales, así como todos los que participan en la cadena productiva los responsables de llevar las acciones que están descritas en la campaña, primero para prevenir la enfermedad y una

vez presentándose ésta, el tratar de eliminarla, pero si no se cuenta con los programas necesarios y aplicados de manera adecuada, estos esfuerzos serán en vano.

B) Desconocimiento de la distribución y aplicación de las vacunas en el país

Para analizar los datos correctamente, primero como lo señala la norma, debería existir un padrón ganadero actualizado, y contar con programas de inmunización masiva por áreas y/o regiones, contar además con el personal capacitado para este tipo de medidas, ya que, al no existir una base de datos del inventario ganadero, distribución aproximada de la prevalencia de la enfermedad y el avance de la campaña en cuanto a diagnóstico y vacunación, no se podrán completar los objetivos de la NOM-041.

C) Uso de combinación de vacunas

Las vacunas poseen características distintas de las que depende su uso y recomendaciones del fabricante; entre ellas destacan la prevalencia, el tipo de explotación, edad y etapa productiva de los animales y el estatus sanitario de la región. Por tal razón, es muy importante llevar un control por medio de instituciones de sanidad animal y que estas se apeguen a los protocolos de la campaña, para asegurar el correcto uso de los inmunógenos, ya que existen vacunas de casas comerciales que están a la venta para el público, o bien, existe personal que no está del todo capacitado para llevar a cabo estas acciones correctamente, en ocasiones al revacunar los hatos por error complica la eliminación de animales falsamente diagnosticados, repercutiendo en el control de la enfermedad.

D) Revacunaciones

Para la prevención de *B. melitensis* se ha realizado una práctica inadecuada que consiste en la revacunación frecuente de los animales. La Norma Oficial Mexicana NOM-041-ZOO-1995 de la Campaña Nacional contra la Brucelosis en los Animales indica que se deben utilizar las vacunas vivas aprobadas por la

Secretaría en dosis clásica o reducida, en ninguna parte del texto de la Norma se menciona que los animales deban ser revacunados.

E) Abortos en animales vacunados

Uno de los inconvenientes de la vacunación con la cepa Rev-1 es que puede provocar abortos cuando se aplica a hembras gestantes, así que, para evitar abortos por efecto de la vacunación, lo correcto es inmunizar a las hembras jóvenes utilizando la dosis normal recomendada.

F) La vacunación como riesgo de salud humana

Este tipo de inmunógenos son de alta virulencia para el humano, por lo tanto, representan un peligro de infección para el personal que las aplica, al inocularse por error al existir heridas en piel y no usar la protección indicada o al preparar la vacuna o por medio de aerosoles vía conjuntival.

G) La vacunación por sí sola no permite el control de la brucelosis

La vacunación de los animales es una medida y herramienta útil en el proceso de profilaxis y control de la enfermedad, pero no se debe utilizar como única estrategia por lo que se recomienda llevar a cabo un calendario zosanitario y muestreo como medida de vigilancia diagnóstica y oportuna para controlar la enfermedad, en hatos con existencia de positivos es muy importante remitir las muestras serológicas a laboratorios confiables para obtener resultados fiables y en tiempo razonable, para poder eliminar los animales seropositivos, y así en conjunto productores y personal acreditado en el área llevar a cabo la identificación permanente de los animales que resulten positivos para su eliminación del hato.

Todas los biológicos utilizadas en la los programas serán constatadas y autorizadas por la Secretaría (SADER), debiendo probarse cada lote producido conforme a las disposiciones de la misma. Según la NOM-041-ZOO-1995, se deben utilizar vacunas vivas, atenuadas y liofilizadas, para prevenir la brucelosis en bovinos, caprinos y ovinos. Todas las vacunas deben aplicarse por vía

subcutánea y con recomendaciones implícitas en esta norma (NOM-041-ZOO-1995).

H) Vacuna para caprinos y ovinos

Los biológicos utilizados para este fin en cabras y ovejas estar elaboradas con la cepa REV-1 de *Brucella melitensis*, con las siguientes características:

- Se puede utilizar en dos presentaciones: dosis clásica para cabras y ovejas de 3 a 4 meses de edad y la dosis reducida, para hembras mayores de 4 meses.
- La dosis clásica contiene de 1 a 2×10^9 unidades formadoras de colonia (UFC) de *Brucella* por cada ml de vacuna reconstituida, siendo la dosis de 1 ml, vía S.C.
- No debe aplicar la vacuna en dosis clásica a hembras mayores de 4 meses ni a animales gestantes o enfermos.
- La vacuna en dosis reducida debe tener un título de 1×10^5 UFC de *Brucella* por cada dosis.
- La vacuna no debe diluirse en presentación de dosis clásica, para obtener dosis reducidas.
- La vacuna en dosis reducida puede aplicarse a todas las hembras mayores de 4 meses que estén sanas, aun cuando estén gestantes.
- No debe aplicarse en ningún caso la vacuna a caprinos ni ovinos machos.
- No debe aplicarse la vacuna a caprinos ni ovinos castrados, sean machos o hembras.
- La vacunación oficial de cabras y ovejas será realizada o supervisada por un Médico Veterinario oficial o aprobado.
- Al aplicar la vacuna para la prevención de la brucelosis en caprinos y ovinos, el Médico Veterinario oficial o aprobado debe extender una constancia de vacunación.
- La constancia de vacunación debe incluir datos específicos sobre la unidad de producción, identificación precisa del o los animales

vacunados, marca y número de lote de la vacuna, así como la fecha de vacunación, fecha de caducidad del producto y edad de los animales, debiendo indicar si se aplicó la vacuna en dosis clásica o reducida.

- El Médico Veterinario oficial o aprobado debe instrumentar la identificación permanente del animal mediante un arete oficial u otra que autorice la Secretaría, ya sea arete de campaña otorgado por el CFPPEC o identificador SINIIGA.
- El Médico Veterinario oficial o aprobado debe informar a la Secretaría sobre sus actividades de vacunación, mediante un informe mensual.

El manejo de vacunas y antígenos debe realizarse bajo estrictas medidas de bioseguridad y de conservación de los biológicos (cadena fría) (INIFAP, 2011; NOM-041-ZOO-195).

2.10 Situación y desarrollo en México

La Brucelosis es una enfermedad con distribución mundial y en México es considerada como una enfermedad endémica (siendo la seroprevalencia distinta entre regiones, sobre pasando en algunas áreas el 40%, con baja o nula tasa de mortalidad (Aguilar et. al. 2011).

En México esta enfermedad está sujeta a mecanismos de vigilancia epidemiológica como lo reglamenta la NOM-041-ZOO-1995. Datos comparativos en el ser humano las especies más involucradas es *B. melitensis* (biovares 1, 2 y 3, siendo los más patógenos para el humano) y *B. abortus*, en los animales como ya se describió a lo largo de esta revisión de literatura, conlleva a grandes pérdidas económicas en la industria ganadera, principalmente por los abortos, la retención placentaria, la disminución de la producción lechera y el parto de becerros con debilidad y bajo peso al nacer (Ruiz et. al. 2012; McDermott, 2013).

La coyuntura es que al detectar animales diagnosticados, cualquiera que sea el método aprobado por la (SADER), es animal que debe ser sacrificado según lo establecido por organismos que rigen la salud mundial, y en países como México,

emergentes, esta medida es muy difícil de llevar cabo, debido a que particularmente los pequeños productores que dependen económicamente de la producción lechera, de quesos o de crías, en ocasiones son renuentes al sacrificio, ya que no son apoyados en tiempo y forma (Halliday, 2015).

2.11 Antecedentes históricos en México

En época de la Conquista en América latina, la diseminación de esta enfermedad habría ocurrido por la introducción de las cabras, y no fue sino hasta 1912 se catalogaron los primeros casos en humanos en Perú, y Morales Otero después de 10 años reportó abortos en ganado mayor, mientras que en Argentina D'Alessandro observó el mismo comportamiento pero hacia los 30's. Mirevent y colaboradores iniciaron estudios de hallazgos en humanos encontrando, muchos infectados, por fin *Brucella melitensis*, fue obtenida de cabras por Ithurrat (Padrón Tello *et al.*, 2011).

En la primera década del siglo XX se realizaron en México los primeros estudios para aislar bacterias del género *Brucella* en cabras con cuadros clínicos sospechosos de brucelosis; sin embargo, fue en 1923 que Placeres aísla e identifica *Brucella melitensis* por primera vez en un estudio clínico de 5 casos en humanos. Este suceso constató la presencia de brucelosis en el país (Hernández, 2002).

En México, hacia 1905, se hicieron muchos intentos de encontrar hallazgos de la enfermedad, siendo el Dr. Valenzuela el que gracias a estos (pirexias intermitentes), supuso que la enfermedad concordaba con la fiebre de Malta, siendo negativos los intentos de aislar el microorganismo. Al importar cabras de tipo murciano al Estado de Querétaro, Reséndiz observó casos febriles y con la misma sintomatología, pero al realizar estudios bacteriológicos, estos fueron negativos.

A inicios de los años 20's gracias a los estudios realizados por el Dr. Manuel Vergara y a la confirmación de Placeres, se encontró que ya se había diseminado al estado de Puebla incorporando las pruebas serológicas y bacteriológicas, detectándose caso en 1924 y 1935 en Distrito Federal y Jalisco, respectivamente.

El doctor López Portillo se dio la tarea de clasificar y analizar datos estadísticos de todos los estados de México, siendo los más afectados Coahuila, donde ocurrían diez muertes por cada 100 mil habitantes; enseguida el estado de, Durango, Chihuahua, Querétaro, Guanajuato, Tamaulipas, Nuevo León y el Distrito Federal; en el resto de las entidades tenían reportados menos casos (Padrón Tello *et al.*, 2011).

Debido a la necesidad de atender la demanda de casos nuevos de esta enfermedad, el Dr. Ruiz Castañeda en 1937 creó el primer laboratorio de diagnóstico de brucelosis, esto desencadenó más interés y proyectos como el primer Congreso Nacional de la Brucelosis, realizado en la ciudad de Guadalajara, donde se dieron a conocer nuevas técnicas de laboratorio. Gracias a esto más casos humanos se diagnosticaron, y en el tercer Congreso, realizado en Guanajuato, se empezó a analizar la incidencia y prevalencia de la enfermedad (Padrón Tello *et al.*, 2011).

Hacia 1941 a 1945 Ortiz Mariotte, presentó que los casos excedían los 1,339, en promedio anualmente, aunque se cree que son cifras muy conservadoras. Aun y cuando se notificaban y analizan los datos, no se conocía a ciencia cierta la prevalencia, por lo que en 1946, se celebró el primer Congreso Interamericano de Brucelosis, en el que muchos especialistas de varios países sentaron las bases de trabajo y reconocieron que la transmisión se efectuaba con más frecuencia a través de la leche, el queso fresco y otros subproductos no pasteurizados.

Por las características de la enfermedad y las deficiencias en diagnóstico, se presume que durante la década de los 70's no menos de 200 mil pacientes se infectaron de brucelosis de forma clínica, teniendo una prevalencia muy por encima de siete puntos porcentuales, de 1974 a 1988, Siendo la especie *B.*

melitensis la responsable de los cuadros clínicos, causado por usos y costumbres de consumir subproductos de leche de cabra contaminados con dicho microorganismo (Franco *et al.*, 2007).

Fue entonces que, en el *Diario Oficial de la Federación* en 1996, se publica la Norma Oficial Mexicana 041, Campaña Nacional contra la Brucelosis en los animales, en la cual, se establecen medidas necesarias para establecer un control estricto sobre la brucelosis, tendiente a su erradicación en las especies bovina, caprina, ovina y porcina, que permita a la ganadería nacional desarrollarse en mejores condiciones sanitarias y de inocuidad.

Desde ese momento se encaminan los esfuerzos y solo el norte de Sonora se encuentra libre de la enfermedad desde 1994; en fase de erradicación están Yucatán (2002) y el sur de Sonora (2003).

Los esfuerzos encaminados para erradicar la brucelosis en animales consisten en minimizar o suprimir la incidencia de brucelosis humana. Es necesario dar a conocer la enfermedad, la forma de identificarla, la vacunación y eliminar los animales infectados. Llevar a cabo de manera permanente estas medidas permitirá controlar y erradicar la brucelosis en los animales, tras de lo cual habrá mayores oportunidades para las exportaciones e intercambios con los estados que poseen un mejor estatus sanitario.

La situación actual (febrero 2020) se encuentra al estado de Baja California Sur reconocido como libre de Brucelosis y Sonora se encuentra libre de brucelosis causada por especies lisas. El 28.9% del territorio nacional está reconocido en fase de erradicación (reconocidos en fase de erradicación los estados de Campeche, Colima, Guerrero, Nayarit, Quintana Roo y Yucatán, así como las regiones A de Aguascalientes, Baja California, Chiapas, Guanajuato, Hidalgo, Estado de México, Puebla, Oaxaca y Querétaro) (Padrón *et al.*, 2011).

MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Ubicación geográfica del estudio

El estado de Coahuila de Zaragoza se localiza al norte del México, entre las coordenadas 27.29544° 53' - 24° 32' latitud Norte y 102.04404° 51' - 103° 58' longitud Oeste.

La superficie total del estado son 151,562.56 km², lo que representa 7.88% de la superficie total del país, en cuanto a extensión de terreno, ocupa el tercer lugar, Al norte colinda con los Estados Unidos de América al este con el estado de Nuevo León, al sur con Zacatecas y al oeste con Chihuahua y Durango. Está conformado políticamente por 38 municipios y su capital es la ciudad de Saltillo.

El presente estudio se llevó a cabo en cinco municipios del sureste de Coahuila: Arteaga (161 915.31 ha; 1.07%), Parras (1 051 780.05 ha; 6.98%), General Cepeda (261 529.91 ha; 1.74%), Saltillo (556 232.97 ha; 3.69%) y Ramos Arizpe (669 249.07 ha; 4.44%)



Figura 5. Distribución de *Brucella melitensis* en el sureste de Coahuila de Zaragoza.

3.2 Características del área de estudio

3.2.1 Descripción del sitio

El clima predominante en esta área geográfica es semiárido, la precipitación anual varía de 300 a 600 mm, 70 % de los cuales ocurre entre junio y octubre; Las precipitaciones son breves e intensas; La temperatura media anual para el área de estudio es de 23 ° C. El terreno consiste en valles, colinas y montañas con elevaciones que van desde 500 hasta 3,700 m. La vegetación es característica del desierto Chihuahuense y contribuye más que cualquier otro estado al número de especies endémicas (matorral micrófilo desértico, matorral rosetófilo, matorral montano, bosque montano bajo, bosque méxico montano, isotal, bosque húmedo subalpino).

3.2.2 Características de los hatos

Los hatos de cabras y ovejas varían en tamaño de 30 a 250 cabras adultas, con una mediana de 135 animales. Todas las cabras son hembras ya que los cabritos machos en esta zona son sacrificados alrededor de los 45 días de edad. Las cabras eran de las razas Nubias, Criollas, Toggenburg, Alpinas, Boer, Saanen y cruza entre estas, mientras que las razas de las ovejas fueron Dorper en su mayoría, Pelibuey, Criollas y en menor cantidad Charoláis, Texel y Merino. Todas las cabras y ovejas son de hatos comerciales y se alimentan exclusivamente de vegetación nativa, la mayoría de ellas sin alimento concentrado o suplementos de sal durante todo el año.

Las cabras comparten el pastizal con bovinos, equinos y ovinos. Las fuentes de agua en los pastos son principalmente abrevaderos, donde las cabras beben agua una vez al día. Los animales son encerrados cerca de la casa de los campesinos en la noche, sin acceso a alimentos y agua. Los corrales se construyen con materiales locales, principalmente, ramas de árboles y arbustos, con un espacio muy limitado por cabras (3-4 m² por animal). Todos los hatos están protegidos por varios perros guardianes de razas mixtas, que están profundamente unidos a las cabras.

Las cabras pastorean diariamente durante aproximadamente 7 h (de 1100 a 1800 h) en campo abierto, pastoreadas por el propietario por lo general. Las cabras y ovejas son llevadas a diferentes sitios de pastoreo todos los días, y los animales caminan aproximadamente 5 km diariamente desde el corral. La mayoría de las cabras no son vacunadas contra enfermedades endémicas (incluida la brucelosis) y no son tratadas contra parásitos internos y externos. En la mayoría de los hatos, el apareamiento grupal se realiza durante cuatro semanas en diferentes períodos del año, principalmente en enero y febrero. Las cabras son ordeñadas durante aproximadamente seis meses (40 a 60 litros / lactancia).

Los pesos de los animales adultos (aptos para la reproducción) oscilan entre los 30 y 45 kg y la relación de hembra-macho no supera los 40:1. Las pariciones ocurren en todas las épocas del año, concentrándose principalmente en junio y julio. Cuando el parto es inminente, la mayoría de las cabras no se sacan a pastorear, por lo que la mayoría de los partos ocurren en confinamiento. No se usa cama en corrales, por lo tanto, todos los cabitos recién nacidos permanecen sobre el estiércol acumulado. Debido a que los perros guardianes no tienen suficiente comida durante todo el año, estos animales ingieren ávidamente las placentas de todas las cabras que paren. Las cabritas hembras permanecen con sus madres durante el período de lactancia. La carga animal es de 7 a 15 hectáreas por cabra, lo que muchas veces supera la capacidad de carga de estos pastizales.

3.3. Material y equipo

En campo:

- Hoja de campo provista por (SADER-SENASICA)
- Pinza aretadora
- Identificadores individuales (tipo campaña o SINIIGA)
- Aguja de toma múltiple VACUETTE® 20G
- Porta aguja o guía para tubo vacutainer

- Tubos de plástico para toma de muestra y recolección de sangre 6 ml;
- BD Vacutainer® (activador de coagulo)
- Gradilla para tubos vacutainer
- Guantes de látex
- Overol de trabajo
- Lentes de seguridad

En laboratorio:

- Suero sanguíneo no hemolizado de caprino u ovino
- Suero testigo positivo y negativo
- Antígeno brucelar (elaborado con la cepa 119-3 *Brucella abortus* 3%)
- Fotoscopio o Aglutinoscopio
- Reloj temporizador
- Centrífuga
- Refrigerador
- Pipetas automáticas (30 µl)
- Palillos de madera mezcladores
- Agua destilada
- Agitador eléctrico
- Tubo para microcentrífuga (Eppendorf®)
- Placa de vidrio cuadrículada
- Vasos de precipitados
- Toallas desechables para limpieza
- Desinfectante
- Guantes de látex
- Bata médica de seguridad
- Lentes de seguridad

3.4 Colección de la muestra

Para el presente trabajo se consideró un tamaño de muestra de 15,859 cabezas de las cuales 12,198 fueron caprinos y 3,661 ovinos, constituidos en 230 y 146 hatos de caprinos y ovinos, respectivamente.

De los animales seleccionados para el trabajo se obtuvieron muestras de sangre de la vena yugular, para evaluar la seroprevalencia de brucelosis. Los análisis de las muestras para determinar la seroprevalencia de brucelosis se realizaron en

el Laboratorio del Comité para el Fomento y protección Pecuaria del Estado de Coahuila (Saltillo) con la Técnica de Rosa de Bengala.

3.5 Recolección de datos

Para iniciar con la toma de datos, se incluyeron en los hatos muestreados en la hoja de campo oficial de SADER-SENASICA, la fecha de muestreo, el nombre completo del productor, clave de UPP, localidad, municipio, número de identificación, especie animal, edad, raza y género.

3.6 Toma de muestra de sangre para obtención de suero

El muestreo se realizó con las medidas pertinentes para evitar riesgos de contagio (ropa y equipo adecuado), los productores con ayuda de familiares por lo regular, sujetan los animales de tal forma que sea expuesta la vena yugular para proceder a la toma de muestra (4 mililitros aproximadamente), para lo cual se utiliza una aguja 20G desechable para cada animal y se anota en el tubo de muestra el identificador de cada animal, en caso de no estar identificados, se realiza en ese momento, ya sea con arete tipo campaña proporcionado por el CFPPEC o bien identificador SINIIGA según sea el caso, los tubos se colocan en el mismo orden en una gradilla, en el que se anotaron en la hoja de campo, manteniéndolos alejados de los rayos solares y frescos, las agujas y material desechable se depositan en contenedores especiales de color rojo, al terminar de muestrear la totalidad del hato, con cuidado se traslada al laboratorio del CFPPEC para su análisis.

3.7 Detección serológica por la técnica de rosa de bengala

Una vez las muestras refrigeradas son entregadas al personal del laboratorio de CFPPEC, siguiendo los estándares de la prueba la cual se rigen por la NOM-041-ZOO-1995, para determinar la seroprevalencia de brucelosis. El antígeno *Brucella abortus* cepa 1119-3 al 3%, amortiguado con ácido láctico, y pH de 3.65

(PRONABIVE), se aclimata a una temperatura de $(22 + 4 \text{ }^\circ\text{C})$ durante 5 a 10 minutos, al igual que las muestras de suero, este antígeno es recomendable para el diagnóstico de Brucelosis exclusivamente con suero no hemolizado de ganado caprino y ovino.

En una placa de vidrio cuadrículada, se colocan 30 μl de antígeno de Rosa de Bengala, y suero de sangre no hemolizado, se mezclaron con palillos de madera desechables hasta hacer una zona circular de 2 centímetros de diámetro y se procedió por medio de un agitador eléctrico a homogenizarlos, con una duración de 4 a 5 minutos. Posteriormente se procede a la lectura de la reacción utilizando una fuente de luz indirecta (fotoscopio); si la muestra era positiva presenta una aglutinación característica con grumos moderados a grandes y si era negativa simplemente no se observó ningún cambio en la mezcla.

El material reusable utilizado para las muestras fue desinfectado, las puntillas son desechables y posteriormente se procedió a desinfectar el área donde se llevó a cabo el procesamiento de las muestras. La placa de vidrio se lava y seca, todo el material desechable como palillos de madera y puntas de micropipetas se deposita en contenedores de basura especiales.

La seroprevalencia fue de 1.67 % encontrando animales positivos en prácticamente todas las áreas de estudio por lo que los resultados obtenidos en este estudio nos permiten considerar a la brucelosis como de alta presencia; además del riesgo a la salud pública y las pérdidas económicas asociadas esta enfermedad.

RESULTADOS Y DISCUSIONES

Hubo 45 rebaños seropositivos de cabras o cabras y ovejas entre los 375 rebaños (12%) bajo investigación. De los 10620 sueros de cabra analizados, se detectaron anticuerpos frente a *Brucella* en 220 animales (2,05%); en el caso de las ovejas, 40 animales resultaron positivos de 4741 animales probados (0,84%). Los rebaños de muestreo empleados en esta investigación fueron generalmente diferentes a los de otros trabajos publicados en México en el sentido de que los rebaños en el presente estudio habían sido probados con la eliminación de animales serológicamente positivos hace varios años, aunque no existe ningún esfuerzo serio y consistente para lograr eventualmente un estado libre de enfermedad. A diferencia de nuestros hallazgos, estudios anteriores en México han reportado incidencias a nivel de rebaño de animales seropositivos entre 6.8 - 9.3% (Acosta-Gonzalez *et al.*, 2009; Marin *et al.*, 2016). Por lo tanto,

Aunque se ha encontrado anteriormente que las ovejas estaban infectadas con brucelosis en el norte de México (Nuñez-Torres *et al.*, 1999; Marin *et al.*, 2015), los informes de México son pocos, basados completamente en la presencia en muestras de animales de un solo sitio. ya menudo una sola encuesta durante un tiempo limitado. En el presente estudio, detectamos anticuerpos anti-*Brucella melitensis* en solo el 0,84% de las ovejas; esto indica que *Brucella* spp. las infecciones son relativamente raras en las poblaciones de ovejas que pastan en el sitio de estudio. Esta incidencia es comparable a la incidencia del 1,2% encontrada en el este de Sudán (Gumaa *et al.*, 2014). En el presente estudio no se aisló la especie *Brucella* pero se ha descrito brucelosis por *B. melitensis* en ovinos de la región donde se realizó este estudio (Marin *et al.*, 2015). Por lo tanto, probablemente *B. melitensis* se derrame a las ovejas desde el reservorio de las cabras.

Las cabras en estos sistemas de producción extensiva tenían dos veces más probabilidades de desarrollar brucelosis que las ovejas. Otros estudios en rebaños nómadas y sedentarios en zonas áridas también han encontrado que una mayor proporción de cabras resultó seropositivas a brucelosis que de ovejas

(Brisibe *et al.*, 1996). Sin embargo, en el centro de España la seropositividad a la brucelosis fue mayor para las ovejas (0,7%) que para las cabras (0,1%) en una zona donde algunos rebaños de estas especies compartían una zona de pasto comunal (Reviriego *et al.*, 2000). Dada la alta difusión de *B. melitensis* en un hospedador altamente susceptible (ovejas) y la falta de un programa de control de brucelosis consistente en México, la baja seroprevalencia de esta enfermedad en ovejas en el presente estudio es intrigante. Particularmente porque parir o parir en corrales abarrotados, como fue el caso en el presente estudio, favorece la propagación del organismo (Yilma *et al.*, 2016). Además, los perros nunca se retiran de estos rebaños y pueden infectarse, ya que estos animales comen placentas o fetos abortados de ovejas y cabras infectadas.

Para las cabras, las hembras tenían mayores probabilidades de seropositividad a la brucelosis que los machos. Asimismo, las ovejas tenían 2,3 veces más probabilidades de ser positivas a anticuerpos de *Brucella* spp. que los hombres (Cuadro 2). Estos resultados están en línea con los hallazgos de estudios con ovejas y cabras (Brisibe *et al.*, 1996; Mahboub *et al.*, 2013), solo ovejas (Kotadiya *et al.*, 2015) y solo cabras (Priya *et al.*, 2010). En ambientes áridos, donde los machos tenían un menor riesgo de seropositividad a la brucelosis que las hembras. Por otro lado, no se encontraron diferencias en la prevalencia de anticuerpos *Brucella* entre machos y hembras en razas autóctonas de cabras de Nigeria (Olufemi *et al.*, 2018). Los resultados del presente estudio podrían deberse al número mucho mayor de hembras en los rebaños porque la mayoría de machos y carneros de los rebaños estudiados se unen con hembras solo con fines de reproducción; por lo tanto, los criadores de cabras crían menos machos. Además, durante la temporada de cría, tienen menos posibilidades de estar expuestas a bacterias que se eliminan en los fluidos de parto o en el feto, la placenta y las secreciones de aborto de las hembras infectadas, ya que los machos y los carneros normalmente se aíslan para tener temporadas de reproducción controladas.

En comparación con los genotipos de Saanen, Toggenburg tenía 6.1 probabilidades más altas ($p < 0.01$) de ser seropositivo a brucelosis. Además, las cabras de Toggenburg tenían 2,2 veces más probabilidades de ser diagnosticadas con brucelosis que las cabras criollas ($p < 0,01$). Por lo tanto, estos hallazgos apoyan la hipótesis de que algunas razas de cabras lecheras son más resistentes a la infección por brucelosis. Se han descrito diferencias en las razas de cabras con respecto a la susceptibilidad a la brucelosis en diferentes países (Solorio-Rivera *et al.*, 2007; Ali *et al.*, 2015; Aworh *et al.*, 2017), aunque no se han encontrado diferencias en la susceptibilidad a la seropositividad a la brucelosis en razas autóctonas de Nigeria (Ogugua *et al.*, 2014; Olufemi *et al.*, 2018).

En el presente estudio, las cabras Saanen demostraron la capacidad de mantener una respuesta de seropositividad más baja a la brucelosis en comparación con otras razas de cabras lecheras y cárnicas. Se sabe que las razas de ganado lechero autóctonas y de menor rendimiento poseen una mayor resistencia a las enfermedades en comparación con las vacas de alto rendimiento (Gandini *et al.*, 2007; Curone *et al.*, 2018). Esto se aplicó parcialmente al presente estudio, ya que las cabras Saanen tenían una baja prevalencia de anticuerpos contra la brucelosis, pero las cabras Toggenburg presentaron la mayor seropositividad a esta enfermedad. Podría ser que esta raza de cabras tuviera una mayor movilización de reservas corporales, provenientes del tejido adiposo y muscular, y un estado energético negativo en los días inmediatamente posteriores a la parición puede conducir a mayores problemas de salud (Gandini *et al.*, 2007). Cabe mencionar que muchas de las cabras utilizadas en este estudio no eran de raza pura,

En comparación con Katahdin, las ovejas Pelibuey tenían 3.8 probabilidades más altas de ser seropositivas a la brucelosis y 2.1 probabilidades más altas que Dorper ($p < 0.01$, Cuadro 3). Sorprendentemente, las ovejas criollas presentaron mayor seropositividad a la brucelosis en comparación con todas las demás razas de ovejas. Esta respuesta es intrigante porque Criollo es una raza rústica bien adaptada a las duras condiciones ambientales. Otros autores han encontrado

diferencias de raza en la prevalencia de *Brucella* sp. anticuerpos en ovejas indígenas (Mahboub *et al.*, 2013; Patel *et al.*, 2017; Shuaib y Mansour, 2018). Estas discrepancias en la seroprevalencia entre razas podrían estar relacionadas con la variación genética involucrada en la resistencia del huésped (Bishop, 2010). Estos hallazgos sugieren que las razas compuestas de ovejas de pelo mantienen una alta cantidad de heterosis para la resistencia a la brucelosis; sin embargo, se requieren más investigaciones para reiterar esta opinión.

CONCLUSIONES

El estudio demostró que la brucelosis persiste en niveles endémicos bajos en los sistemas de pastoreo de ovejas y cabras en los pastizales de la región estudiada. Las cabras mostraron una seropositividad dos veces mayor a la brucelosis en comparación con las ovejas, lo que implica que estos animales pueden representar una amenaza potencial para las ovejas y el ganado en la región donde se realizó este estudio. Además, este estudio de campo en condiciones extensivas ha proporcionado evidencia epidemiológica de que las cabras cruzadas con predominio de Toggenburg eran más susceptibles a la seropositividad a la brucelosis que otras razas de carne y leche; Las ovejas criollas, por otro lado, presentaron una mayor seropositividad a la brucelosis en comparación con las razas compuestas de ovinos de pelo, lo que implica una promesa de mayor resistencia a esta enfermedad mediante el uso de razas compuestas de ovejas.

BIBLIOGRAFÍA

- Acosta-Gonzalez, R., Infante, F., Flores-Gutiérrez, G. 2009. Epidemiological patterns of caprine brucellosis in an unvaccinated area, Mexico. *Rev. Med. Vet.* 160: 145-148.
- Adams, G. 1997. Brucellosis: an overview. 1st International Conference on Emerging Zoonoses. *Emerg. Infect. Dis.* 3: 1-12.
- Adams, L.G. 2002. The pathology of brucellosis reflects the outcome of the battle between the host genome and *Brucella* genome. *Vet. Microbiol.* 90: 553-561.
- Adone, R., Pasquali, P. 2013. Epidemiosurveillance of brucellosis. *Rev. Sci. Tech. off Int. Epiz.* 32: 199-205.
- Aguilar, R.F., Cantú, C.A., Díaz, A.E., Favila, H.L., Herrera, L., Morales, A. Palomares, R.E. Santillan, F.M. 2011. Prevención de Brucelosis en Rumiantes. Primera edición. México D.F. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en microbiología animal. p. 43.
- Al-Majali, A.A. 2005. Seroepidemiology of caprine brucellosis in Jordan. *Small Rumin. Res.* 58: 13-18.
- Alton, G.G. 1987. Control of *Brucella melitensis* infection in sheep and goats – A review. *Trop. Anim. Health Prod.* 19: 65-74.
- Alton, G.G. 1995. The epidemiology of *Brucella melitensis* in sheep and goats. In: Verger, J.M., Plommet, M. (Eds.). *Brucella melitensis*. Martinus Nijoff, Publishers Group for CEC. pp. 187-196.
- Alton, G.G., Forsyth, J.R.L. *Brucella*. <http://gsbs.utmb.edu/microbook/ch028.htm>. (27-09-2002).
- Alton, G.G., Jones, L.M., Pietz, D.E. 1975. Laboratory techniques in brucellosis. *Monogr. Ser. World Health Org.* pp. 1-163.

- Aragón, V., Díaz, R., Moreno, E., Moriyó, I. 1996. Characterization of *Brucella abortus* and *Brucella melitensis* native haptens as outer membrane O-type polysaccharides independent from the smooth lipopolysaccharide. J. Bacteriol. 178: 1070-1079.
- Ardoino, S., Baruta, D., Toso, R., 2006. Brucelosis canina UNLPam Ciencia Veterinaria Volumen 8 Nro 1 Argentina <http://www.biblioteca.unlpam.edu.ar/pubpdf/revet/n08a05ardoino.pdf>
- Aréstegui, M.B., Gualtieri, C.S., Domínguez, J., Scharovsky, G. 2001. El género *Brucella* y su interacción con el sistema mononuclear fagocítico. Vet. Mex. 32: 131-139.
- Ariza Cardenal, J. 1995. Brucelosis. En: Farreras-Rozman, Medicina Interna. 13ra Edición. Barcelona: Mosby- Doyma libros S.A. pp. 2312-2317.
- Arriaga, O.A. 2002. Seguridad sanitaria en granjas de rumiantes. De partamento de Agricultura, Ganadería y Alimentación. Navarra Agraria, España. p. 54-58.
- Baldi, P.C., Wanke, M.M., Loza, M.E., Fossati, C.A. 1994. *Brucella abortus* cytoplasmic proteins used as antigens in an ELISA potentially useful for the diagnosis of canine brucellosis. Vet. Microbiol. 41: 127-134.
- Banai, M. 2007. Control of *Brucella melitensis*. Memorias del IV Foro Nacional de Brucelosis, FMVZ, Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), 26-27 de noviembre, México D.F.
- Barberán, M., Blasco, J.M. 2002. Epidemiología, patogenia y cuadro clínico y lesional. Ovis 82: 39-53.
- Bathke, W. 1981. Brucelosis. In: Beer, J. (Ed.) Enfermedades infecciosas de los animales domésticos. Editorial Acribia, Zaragoza, pp. 142-165.
- Benkirane, A. 2006. Ovine and caprine brucellosis: world distribution and control/eradication strategies in West Asia/ North Africa region. Small Rumin. Res. 62: 19-25.

- Bercovich, Z., Güler, L., Baysal, T., Schreuder, B.E.C., van Zijderveld, F.G. 1998. Evaluation of the currently used diagnostic procedures for the detection of *Brucella melitensis* in sheep. *Small Rumin. Res.* 31, 1-6.
- Blaha, T. 1989. *Applied Veterinary Epidemiology*. Elsevier, Amsterdam, pp. 157-161.
- Blasco, J.M. 2001b. Control and eradication programmes of brucellosis in small ruminants and cattle. *Implementation of Control and Eradication Programs in Animals*, Zaragoza, España. Curso de Epidemiología.
- Blasco, J.M. Brucellosis animal: la enfermedad y medidas para su control y erradicación. In: *Manual de Brucellosis*, Junta de Castilla León, 2001a, pp. 31-43.
- Blasco, J.M., Garin-Bastuji, B., Marín, C.M., Gerbier, G., Fanlo, J., Jiménez De Bagués, M.P., Cau, C. Efficacy of different Rose-Bengal and Complement Fixation antigens for the diagnosis of *B. melitensis* infection in sheep and goats. *Vet Rec* 1994a, 134, 415-420.
- Blasco, J.M., Marín, M. 1990. Brucellosis. *Epidemiología y cuadro clínico*. *Ovis* 8: 51-64.
- Blasco, J.M., Molina-Flores, B. 2011. Control and eradication of *Brucella melitensis* infection in sheep and goats. *Vet. Clin. N. Am. Food Anim. Pract.* 27: 95–104.
- Blasco, J.M., Molina-Flores, B. 2011. Control and eradication of *Brucella melitensis* infection in sheep and goats. *Vet. Clin. N. Am. Food Anim. Pract.* 27: 95–104.
- Blood, D.C., 2002. *Manual de medicina veterinaria*. Interamericana McGraw Hill. 9 ed. Madrid, España. pp. 368-375.
- Bruce D. 1889. Observations on Malta Fever. *British Med. J.* pp. 1101-1105.

- Capasso, L. 2002. Bacteria in two-millennia-old cheese, and related epizoonoses in Roman populations. *J. Infect.* 45: 122–127.
- Castro, H.A. González, S.R., Prat, M.I. 2005. Brucelosis: una revisión práctica. *Acta Bioqu. Clín. Latinoam.* 39: 203-216.
- Castro, H.A., González, S.R. Prat, M.I. 2005. Brucelosis: una revisión práctica. *Acta Bioq. Clín. Latinoam.* 39: 203-216.
- Castro, H.A., González, S.R., Parat, M.I. 2005. Brucelosis: una revisión práctica. *Acta Bioquím Clín Latinoam.* 39: 203-216.
- Cepeda, P.R., Ramírez, J.M., Ramírez, O.R., Ávila, J.M., Macareno, R., contreras, J.L. 1992. Actividad reproductiva de un rebaño caprino comercial de sistema de empadre en primavera (sin tratamiento hormonal) en Baja California Sur. *Memorias VIII Reuní. Nac. Capr. La Paz, BCS* pp. 148-154.
- Cloekaert, A., Jacques, I., Limet, J.N., Dubray, G. 1995. Immunogenic properties of *Brucella melitensis* cell-wall fractions in BALB/c mice. *J. Med. Microbiol.* 42: 200-208.
- Cloekaert, A., Verger, J.M., Grayon, M., Paquet, J.Y., Garin- Bastuji, B., Foster, G. 2001. Classification of *Brucella spp.* isolated from marine mammals by DNA polymorphism at the omp2 locus. *Microb. Infect.* 3: 729-738.
- Cloekaert, A., Verger, J.M., Grayon, M., Paquet, J.Y., Garin-Bastuji, B., Foster, G., Godfroid, J. 2001. Classification of *Brucella spp.* isolated from marine mammals by DNA polymorphism at the omp2 locus. *Microb. Infect.* 3: 729-738.
- Coakley, D. 1992. *Irish Masters of Medicine (Dublin: Town House)*
- Coakley, D. 2014. *Medicine in Trinity College Dublin: An Illustrated History, Dublin: Trinity College Dublin.*
- Corbel, M. 2006. *Brucellosis in humans and animals. World Health Organization. Geneva, Switzerland.*

- Corbel, M.J. 1997. Brucellosis: an overview. *Emerg. Infect. Dis.* 3: 213-221.
- Corbel, M.J. 2006. Brucellosis in humans and animals. Geneva, Switzerland: World Health Organization p. 89.
- Corbel, M.J., Brinley-Morgan, W.J. 1994. Genus *Brucella*. In: Krieg, N.R., Holt, J.G.
- Corbel, M.J., Stuart, F.A., Brewer, R.A. 1983. Observations of serological cross reactions between smooth *Brucella* species and organisms of other genera. *Dev. Biol. Stand.* 56: 341-348.
- Crespo-León, F. 1994. Brucellosis ovina y caprina. Paris, 1994, France: O.I.E, pp. 451
- Crespo-León, F. 1994. Brucellosis ovina y caprina. Paris, 1994, France: O.I.E, pp. 451.
- Cutler, S.J., Whatmore, A.M. 2005. Commander, N.J. Brucellosis – new aspects of an old disease. *J. Appl. Microbiol.* 98: 1270-1281.
- Díaz-Aparicio, E. 2013. Epidemiología de la brucelosis causada por *Brucella melitensis*, *Brucella suis* y *Brucella abortus* en animales domésticos. *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.* 32: 43-51.
- Díaz-Aparicio, E. 2013. Epidemiología de la brucelosis causada por *Brucella melitensis*, *Brucella suis* y *Brucella abortus* en animales domésticos. *Rev. Sci. Tech. off Int. Epiz.* 32: 43-51.
- Dokuzoguz, B., Ergonul, O., Baykama, N., Esenera, H., Kılıcb, S., Celikbasa, A., Rena, S., Esen, B. 2005. Characteristics of *B. melitensis* versus *B. abortus*
- Douglas, J.T., Rosenberg, E.Y., Nikaido, H., Verstrete, D.R., Winter, A.J. 1984: Porins of *Brucella* species. *Infect. Immun.* 44: 16-21.
- El-Tras, W.F., Tayel, A.A., Eltholth, M.M. Guitian, J. 2010. *Brucella* infection in fresh water fish: evidence for natural infection of Nile catfish, *Clarias gariepinus*, with *Brucella melitensis*. *Vet. Microbiol.* 141: 321–325.

- Elzer, P.H., Hagius, S.D., Davis, D.S., DelVecchio, V.G., Enright, F.M. 2002. Characterization of the caprine model for ruminant brucellosis. *Vet. Microbiol.* 90: 425–431.
- Entry No: 7220. Johnston W. Roll of Commissioned Officers in the Medical Service of the British Army. Vol 1 (20 June 1727-23 June 1898. Aberdeen (1917).
- Estein, S.M., Cassataro, J., Vizcaíno, N., Zygmunt, M., Cloeckert, A., Bowden, R.A. 2003. The recombinant Omp31 from *Brucella melitensis* alone or associated with rough lipopolysaccharide induces protection against *Brucella ovis* infection in BALB/c mice. *Microbes Infect.* 5: 85-93.
- Eyre, J.W.H. 1912. The incidence of Mediterranean Fever in Malta and its relationship to the size of the goat population. *Lancet I*, 88-89.
- Falcón, R.J.A., Salinas, G.H., Avila, A.T.L., Flores, R.R.T. 1990. Los sistemas de producción caprina en Zacatecas. II. La presencia de abortos. *Memorias VI Reun. Nac. Capr. San Luis Potosí, S.L.P.* pp. 152-155.
- Ferreira, A., Ferreira, C. 1990. Doenças infecto-contagiosas dos animais domésticos. *Fundação Calouste Gulbenkian, Lisboa*, pp. 125-142.
- Foster, G., Osterman, B.S., Godfroid, J., Jacques, I., Cloeckert, A. 2007. *Brucella ceti* sp. nov. and *Brucella pinnipedialis* sp. nov. for *Brucella* strains with cetaceans and seals as their preferred hosts. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 57: 2688-2693.
- Foster, J.T., Beckstrom-Sternberg, S.M., Pearson, T., Beckstrom-Sternberg, J.S., Chain, P.S. 2009. Whole-genome-based phylogeny and divergence of the genus *Brucella*. *J. Bacteriol.* 191: 2864–2870.
- Franco, M.P., Mulder, M., Gilman, R.H., Smits, H.L. 2007. Human brucellosis. *Lancet Infect. Dis.* 7: 775-786.

- Freer, E., Rojas N., Weintraub, A., Lindberg A., Moreno, E. 1995. Heterogeneity of *Brucella abortus* lipopolysaccharides. Res. Microbiol. 146: 569-578.
- Gamazo, C., Moriyón, I. 1987. Release of outer membrane fragments by exponentially growing *Brucella melitensis* cells. Infect. Immun. 55: 609-615.
- Garín-Bastuji, B. 1993a. Brucelloses bovine, ovine et caprine: contrôle et prevention. Point Vet. 25: 15-22.
- Garín-Bastuji, B. 1993b. Le dépistage de la brucellose des ruminants et ses difficultés. Les cas des sérologies atypiques en brucellose bovine. Point Vet. 25: 23-32.
- Garín-Bastuji, B., Blasco, J.M., Marín, C., Albert, D. 2006. The diagnosis of brucellosis in sheep and goats, old and new tools. Small Rumin. Res. 62: 63-70.
- Gee, J.E., De, B.K., Levett, P.N., Whitney, A.M., Novak, R.T., Popovic, T. 2004. Use of 16S rRNA gene sequencing for rapid confirmatory identification of *Brucella* isolates. J. Clin. Microbiol. 42: 3649-3654.
- Gill, C.J., Gill, G.C. 2005. Nightingale in Scutari: her legacy reexamined. Clin. Infect. Dis. 40, 1799-1805.
- Godfroid, J., Cloeckert, A., Liautard, J.P., Kohler, S., Fretin, D., Walravens, K. 2005. From the discovery of the Malta fever's agent to the discovery of a marine mammal reservoir, brucellosis has continuously been a re-emerging zoonosis. Vet. Res. 36: 313-326.
- Godfroid, J., Scholz, H.C., Barbier, T., Nicolas, C., Wattiau, P., Fretin, D., Whatmore, A.M., Cloeckert, A., Blasco, J.M., Moriyon, I., Saegerman, C., Muma, J.B., Al Dahouk, S., Neubauer, H., Letesson, J. 2011. Brucellosis at the animal/ecosystem/human interface at the beginning of the 21st Century. Prev. Vet. Med. 102: 118-131

- Goldbaum, F.A., Velikosky, C.A., Baldi, P.C., Mörtl, S., Bacher, A., Fossati, C.A. 1999. The 18 kDa cytoplasmic protein of *Brucella spp.*, an antigen useful for diagnosis, is a lumazine synthase. *J. Med. Microbiol.* 48: 833-839.
- Halliday, J.E., Allan, K.J, Ekwem, D., Cleaveland, S., Kazwala, R.R., Crump, J.A. 2015. Endemic zoonoses in the tropics: a public health problem hiding in plain sight. *Vet. Rec.* 176: 220-225.
- Herrera, E., Rivera, A., Palomares, E.G., Hernández-Castro, R. Díaz-Aparicio, E. 2011. Isolation of *Brucella melitensis* from a RB51-vaccinated seronegative goat. *Trop. Anim. Hlth Prod.* 46: 1069–1070.
- Herrera, E., Rivera, A., Palomares, E.G., Hernandez-Castro, R. Diaz-Aparicio, E. 2011. Isolation of *Brucella melitensis* from a RB51-vaccinated seronegative goat. *Trop. Anim. Health Prod.* 43: 1069-1070.
- Holt, J.G, Krieg, N., Sneath, P.H.A., Williams, S.T. 1994. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. Williams e Wilkins, London, pp. 137-138.
- Holt, J.G., Krieg, N.R., Sneath, P.H.A., Staley, J.T. Williams, S.T. 1994. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, 9th Ed, Baltimore: Williams & Wilkins, p. 79.
- Hoover, D.L., Friedlander, A.M. 1997. Brucellosis. In: *Medical aspects of chemical and biological warfare* (Zajtchuk R., Bellamy R.F. Eds). Office of the Surgeon General; Borden Institute., 513-521. Washington D.C.
- Hoover, D.L., Friedlander, A.M. 2002. Brucellosis. Virtual Naval Hospital, Iowa: The University of Iowa.
- Horrocks, W.H. Reports of the commission appointed by the Admiralty, the War Office and the Civil Government of Malta for the investigation of Mediterranean Fever under the supervision of an advisory committee of the Royal Society.

- Hoyer, B.H., McCullough, N.B. 1968. Homologies of deoxyribonucleic acids from *Brucella ovis*, canine abortion organisms, and other *Brucella* species. J. Bacteriol. 96: 1783-1790.
- Hughes, M.L. 1893. Notes on Mediterranean or Malta Fever (Its behaviour in Malta). Br. Med. J. 1136: 61-62.
- INIFAP, SAGARPA. 2011. Prevencion de Brucelosis en Rumiantes. Manual de capacitación. Folleto Tecnico No. 2. Pp. 35-36.
- INIFAP, SAGARPA. 2011. Prevencion de Brucelosis en Rumiantes. Manual de capacitación. Folleto Tecnico No. 2. Pp 17-26.
- James, H.S. 1974. "Karl Friedrich Meyer. Biographical Notes". J. Infec. Dis. 129: Supplement 404-411.
- Kabagambe, E.K., Elzer, P.H., Geaghan, J.P., Opuda-Asibo, J., Scholl, D.T. Mille, J.E. 2001. Risk factors for *Brucella* seropositivity in goat flocks in eastern and western Uganda. Prev. Vet. Med. 52: 91-108.
- Kara, R., Akkaya, L. 2013. Investigation of *Brucella abortus* and *Brucella melitensis* at cheeses in Afyonkarahisar, Turkey. British J. Dairy Sci. 3: 5-8.
- Karl, F.M. "Medical Research and Public Health." An Interview conducted by Edna Tartaul Daniel in 1961 and 1962, with recollections by Sanford S. Elberg, Julius Schachter, Lucile E. Foster, James H. Steele. Sponsored by the University of California and The National Library of Medicine.
- Kirovski, M., Ruzica, A., Lako, B. 2005. Comparison of sensitivity and specificity of Rose Bengal tests prepared from different *Brucella* strains in the diagnosis of ovine and caprine brucellosis. International Research Conference for Brucellosis in Small Ruminants. Skopje. Macedonia. pp. 51.
- Kittelberger, R., Bundesen, P.G., Cloeckert, A, Greiser-Wilke, I., Letesson, J.J. 1995. Serological cross-reactivity between *Brucella abortus* and *Yersinia enterocolitica* O:9 – IV Evaluation of the M- and C-epitope antibody response for the specific detection of *B. abortus* infections. Vet. Microbiol. 60: 45-57.

- Lettsom, J.C., *Memoirs of John Fothergill*, 4th edn., (London, Printed for C. Dilly, 1786).
- López, M.A., Migranas, O.R., Pérez, M.A., Magos, C., Salvatierra, I.B., Tapia, C.R., Valdespino, J.L., Sepúlveda, J. 1992. Seroepidemiología de la brucelosis en México. *Salud Públ. México* 34: 230-240.
- López-Merino, A. 1989. Brucellosis in Latin America. Young, E.J., Corbel, M.H., editors. *Brucellosis: clinical and laboratory aspects*. Boca Ratón. CRC Press Inc., pp. 151-161.
- Louzã, A.C. 1993. Brucelose - Modelo de zoonose de impacto sócio-económico – Parte I. *Vet. Técn.* 43: 21-28.
- Luna-Martínez, J.E., Mejia-Teran, C. 2002. Brucellosis in Mexico, current status and trends. *Vet. Microbiol.* 90: 19-30.
- Marianelli, C., Ciuchini, F., Tarantino, M., Pasquali, P., Adone, R. 2006. Molecular characterization of the *rpoB* gene in *Brucella* species: new potential molecular markers for genotyping. *Microb. Infect.* 8: 860-865.
- Marín, V., Mellado, J., García, J.E., Gaytán, L., Mellado, M. 2016. Seroprevalence and risk factors for brucellosis in free-range goats. *Israel J. Vet. Med.* 71: 14-30.
- Marston, J.A. 'Report on fever (Malta)', *Medical Report for 1861*. Army Medical Department, London, pp. 486-521.
- Martin, R.H. 1999. «Walcheren 1809: a medical catastrophe». *British Med. J.* 319: 1642-1645.
- Maurície, R., Cost, P. 1998. A brucelose animal. *Revisão bibliográfica. Vet. Técn.* 8: 46-52.
- McDermott, J., Grace, D., Zinsstag, J. 2013. Economics of brucellosis impact and control in low-income countries. *Rev. Sci. Tech.* 32: 249-261.

- McDonald, L., Nigthingale, F. 2001. The early origins of evidence-based nursing. *Evid. Based Nurs.* 4: 68-69.
- Mellado, M., Gonzalez, H., García, J.E. 2001. Body traits, parity and number of fetuses as risk factors for abortion in range goats. *Agrociencia* 35: 124- 128.
- Mellado, M., Olivares, L., López, R., Mellado, M. 2005b. Influence of lactation, liveweight, and lipid reserves at matting on reproductive performance of grazing goats. *J. Anim. Vet. Adv.* 4: 420-423.
- Memish, Z. 2001. Brucellosis control in Saudi Arabia: prospects and challenges. *J. Chemot.* 13: 11-17.
- Michaux-Charachon, S., Bourg, G., Jumas-Bilak, E., Guigue-Talet, P., Allardet-Servent, A., O'Callaghan, D. 1997. Genome structure and phylogeny in the genus *Brucella*. *J. Bacteriol.* 179: 3244-3249.
- Minas, A. 2006. Control and eradication of brucellosis in small ruminants. *Small Rum. Res.* 62: 101–107.
- Moore, N., 'Cleghorn, G. 1716-1789', rev. Claire E. J. Herrick, in *Oxford Dictionary of National Biography*, (Oxford: Oxford University Press, 2004)
- Moreno, E. 2002. Brucellosis in Central America. *Vet Microbiol.* 90:31-38.
- Moreno, E., Speth, S.L., Jones, L.M., Berman, D.T. 1981. Immunochemical characterization of *Brucella* lipopolysaccharides and polysaccharides. *Infect. Immun.* 31: 214-222.
- Moreno, E., Stackebrandt, E., Dorsch, M., Wolters, J., Busch, M., Mayer, H. 1990. *Brucella abortus* 16S rRNA and lipid A reveal a phylogenetic relationship with members of the alpha-2 subdivision of the class *Proteobacteria*. *J. Bacteriol.* 172: 3569- 3576.
- Nielsen, K. 2002. Diagnosis of brucellosis by serology. *Vet. Microbiol.* 90: 447-459.

- Norma Oficial Mexicana NOM-041-ZOO-1995. Campaña Nacional contra la Brucelosis en los Animales. Diario Oficial de la Federación, 20 de agosto de 1996. p.7, 16
- Norma Oficial Mexicana NOM-041-ZOO-1995. Campaña Nacional contra la Brucelosis en los Animales. Diario Oficial de la Federación, 20 de agosto de 1996. pp 6-7.
- Norma Oficial Mexicana NOM-041-ZOO-1995. Campaña Nacional contra la Brucelosis en los Animales. Diario Oficial de la Federación, 20 de agosto de 1996. pp 9-10.
- Ocampo-Sosa, A.A., Agüero-Balbin, J., García-Lobo, J.M. 2005. Development of a new PCR assay to identify *Brucella abortus* biovars 5, 6 and 9 and the new subgroup 3b of biovar 3. Vet. Microbiol. 110: 41-51.
- Ocholi, R.A., Kwaga, J.K., Ajogi, I., Bale, J.O. 2004. Phenotypic characterization of *Brucella* strains isolated from livestock in Nigeria. Vet. Microbiol. 103, 47-53.
- OIE World Organisation for Animal Health. 2008. Caprine and ovine brucellosis. In Manual of diagnostic test and vaccines for terrestrial animals, pp. 974-982.
- OIE World Organisation for Animal Health. Caprine and Ovine brucellosis. In Manual of diagnostic test and vaccines for terrestrial animals, 2008, pp. 974-982
- OIE World Organisation for Animal Health. Caprine and ovine brucellosis. 2008. In: Manual of diagnostic test and vaccines for terrestrial animals. pp. 974-982.
- Orduña-Domingo, A., López-Urrutia, L., Miguel-Gómez, M.A., Gutiérrez-Rodríguez, P., Fernández-Fernández, J.M., Rodríguez-Torres, A. 2001. Patogenia de la brucelosis humana. In: Manual de Brucellosis. Junta de Castilla y León, pp. 99-112.

<https://www.sema.gob.mx/SIIAEC/INF%20SILVIA/UBICACION/UBICACION%20DE%20MUNICIPIOS.pdf>

- Ortega-Sánchez, J., Martínez Romero, A., García Luján, C., Rodríguez Martínez, R. 2009. Seroprevalencia de brucelosis caprina en el municipio de Tlahualilo, Durango. REDVET. 10(4).
- Padrón, T.O., Martínez, H.D., Peniche, C.A., López De Buen, L. 2011. Revista De Divulgación Científica Y Tecnológica De La Universidad Veracruzana. 24 (2).
- Paolicchi, F.A., Terzolo, H.R., Campero, C.M. 1993. Isolation of *Brucella suis* from the semen of a ram. Vet. Rec. 132: 67.
- Pappas, G., Panagopoulou, P., Christou, L., Akritidis, N. 2006. Brucella as a biological weapon. Cell Mol. Life Sci. 63: 2229–2236.
- Pappas, G., Papadimitriou, P., Akritidis, N., Christou, L., Tsianos, E.V. 2006. The new global map of human brucellosis. Lancet Infect. Dis. 6: 91–99.
- Pizarro-Cerda, J., Meresse, S., Parton, R.G., van der Goot, G., Sola-Landa, A., Lopez-Goni, I. 1998. *Brucella abortus* transits through the autophagic pathway and replicates in the endoplasmic reticulum of nonprofessional phagocytes. Infect. Immun. 66: 5711-5724.
- Ponce de León-Rosales, S., Lazcano-Ponce, E., Rangel-Frausto, M., Sosa Lazcano, L.A., Huerta-Jiménez, M.A. 2001. Bioterrorist: notes for an agenda in case of the unexpected. Salud Publica Mex. 43: 589-603.
- Pontow, S., Kery, V., Stahl, D. 1992. Mannose receptor. Int. Rev. Cytol. 137: 221-241.
- Reunión Interamericana de la Brucelosis.1948. México, D.F.: Hospital General de México, Reviriego, F.J., Moreno, M.A., Domínguez, L. 2000. Risk factors for brucellosis seroprevalence of sheep and goat flocks in Spain. Prev. Vet. Med. 44: 167- 173.

- Reviriego, F.J., Moreno, M.A., Domínguez, L. 2000. Risk factors for brucellosis seroprevalence of sheep and goat flocks in Spain. *Prev. Vet. Med.* 44: 167–173.
- Rizzo, N.J. 2005. Brucellosis. The Malta Experience a celebration 1905-2005, Enterprises Group, Malta. pp. 59-69.
- Romero, C., López-Goñi, I. 1999. Improved method for purification DNA of bacterial from bovine milk for detection of *Brucella* spp. by PCR. *Appl. Environ. Microbiol.* 65: 3735-3737.
- Ruiz Castañeda, M. 1954. Brucelosis, un problema universal. México, D.F.: Prensa Médica Mexicana.
- Ruiz, M.C., Revuelta, H.A., Rodríguez, J.M., Alcalá, R.C., Meneses, G.F., Díaz, Q.A., Guzmán, B.C., Hernández, R.L. 2012. Manual de Procedimientos Estandarizados para la vigilancia Epidemiológica de la Brucelosis. Primera Edición. México, Distrito Federal. Secretaria de Salud, Subsecretaria de Prevención y Promoción de la Salud. Dirección General de Epidemiología p.27.
- Salinas, H., Echavarría, F.G., Flores-Nájera, M.A., Flores-Ortiz, M.A., Gutiérrez, R., Rumayor, A., Meza-Herrera, C.A. Pastor, F. 2011. Participatory evaluation of goat technologies in semiarid north Central Mexico. *Rev. Chapingo Cien. For. Amb.* 17: 225–234.
- Samartino, L.E. 2002. Brucellosis in Argentina. *Vet. Microbiol.* 90: 71-80.
- Scholz, H.C., Nockler, K., Gollner, C., Bahn, P., Vergnaud, G., Tomaso, H., Al-Dahouk, S., Kampfer, P., Cloeckert, A., Maquart, M., Zygmunt, M.S., Whatmore, A.M., Pfeffer, M., Huber, B., Busse, H.J., De, B.K. 2010. *Brucella inopinata* sp. nov., isolated from a breast implant infection. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 60: 801-808.
- Scholz, H.C., Pfeffer, M., Witte, A., Neubauer, H., Al, D.S., Wernery, U., Tomaso, H. 2008. Specific detection and differentiation of *Ochrobactrum anthropi*,

- Ochrobactrum intermedium* and *Brucella* spp. by a multi-primer PCR that targets the *recA* gene. J. Med. Microbiol. 57: 64-71.
- Scholz, H.C., Revilla-Fernández S., Al Dahouk S., Hammerl J.A., Zygmunt M.S., Cloeckaert A. 2016. *Brucella vulpis* sp. nov. a novel *Brucella* species isolated from mandibular lymph nodes of red foxes (*Vulpes vulpes*) in Austria. Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 66: 2090-2098.
- Seleem, M.N., Boyle S.M. Sriranganathan, N. 2010. Brucellosis: A re-emerging zoonosis. Vet. Microbiol. 140: 392-398.
- Seleem, M.N., Boyle, S.M., Sriranganathan, N. 2010. Brucellosis: a re-emerging zoonosis. Vet. Microbiol. 140: 392–398.
- Serra, J., Viñas, M. 2004. Laboratory diagnosis of brucellosis in a rural endemic area in Northeastern Spain. Int. Microbiol. 7: 53-58.
- Silva, R. 1948. Contribución al estudio de la bibliografía mexicana sobre la brucelosis. Primera Reunión Interamericana de la Brucelosis. México, D.F. Hospital General de México.
- Silva, T., Costa E., Paixão, T., Tsolis, R., Santos, R. 2011. Laboratory Animal Models for Brucellosis Research. J. Biomed. Biotechnol. Article ID 518323, <http://dx.doi.org/10.1155/2011/518323>
- Smith, H., Williams, A.E., Pearce, J.H., Keppie, J., Harris-Smith, P.W., Fitzgeorge, R.B., Witt, K. 1962. Foetal erythrol: a cause of the localization of *Brucella abortus* in bovine contagious abortion. Nature 193: 47-49.
- Solorio-Rivera, J.L. Segura-Correa, J.C., Sánchez-Gil, L.G. 2007. Seroprevalence of and risk factors for brucellosis of goats in flocks of Michoacan, Mexico. Prev. Vet. Med. 82: 282–290.
- Stemshorn, B., Nielsen, K. 1981. The bovine immune response to *Brucella abortus* IV. Studies with a double immunodiffusion test for antibody against A2. Can. J. Comp. Med. 45: 147-153.

- Swai, E.S., Schoonman, L. 2009. Human brucellosis: seroprevalence and risk factors related to high risk occupational groups in Tanga Municipality, Tanzania. *Zoon. Public Health* 56: 183-187.
- Thapar, M.K., Young, E.J. 1986. Urban outbreak of goat cheese brucellosis. *Ped. Infect. Dis. J.* 5: 640-643.
- Thoen, C.O., Enright, F., Cheville, N.F. 1993. *Brucella*. In: Gyles, C.L., Thoen, C.O. (Eds). *Pathogenesis of Bacterial Infections in Animals*. Iowa. State University Press, pp. 236-247.
- Tibor, A., Saman, E., de Wergifosse, P., Cloeckaert, A., Limet, J.N., Letesson, J.J. 1996. Molecular characterization, occurrence, and immunogenicity in infected sheep and cattle of two minor outer membrane proteins of *Brucella abortus*, *Infect. Immun.* 64: 100-107.
- Tizard Ian, R. 2000. *Inmunologia Veterinaria*. Sexta edición. Mc Graw-Hill Interamericana. p. 485.
- Vassallo, D.J. 1992. The corps disease: brucellosis and its historical association with the Royal Army Medical Corps. *J R Army Med Corps* 138: 140-150.
- Veale, H. 1879. *The Notation Case-Book*. London. Smith, Elder and Co. 15 Waterloo Place.
- Velasco, J., Romero, C., Lopez-Goni, I., Leiva, J., Díaz, R., Moriyon, I. 1998. Evaluation of the relatedness of *Brucella spp.* and *Ochrobactrum anthropi* and description of *Ochrobactrum intermedium* sp. nov., a new species with a closer relationship to *Brucella spp.*, *Int. J. Syst. Bacteriol.* 48: 759-768
- Velasco, J., Romero, C., López-Goñi, I., Leiva, J., Díaz, R., Moriyón, I. 1998. Evaluation of the relatedness of *Brucella spp.* and *Ochrobactrum anthropi* and description of *Ochrobactrum intermedium* sp. nov., a new species with a closer relationship to *Brucella spp.* *Int. J. Syst. Bacteriol.* 48: 759-768.

- Verger, J.M., Grayon, M., Cloeckert, A., Lefevre, M., Ageron, E., Grimont, F. 2000. Classification of *Brucella* strains isolated from marine mammals using DNADNA hybridization and ribotyping. *Res. Microbiol.* 151: 797-799.
- Verger, J.M., Grimont, F., Grimont, P.A., Grayon, M. 1987. Taxonomy of the genus *Brucella*. *Ann. Inst. Pasteur Microbiol.* 138: 235-238.
- Villa, R., Perea, M., Díaz-Aparicio, E., Soberon-Mobarak, A., Hernandez-Andrade, L. Suarez-Güemes, F. 2008. Abortions and stillbirths in goats immunized against brucellosis using RB51, rfbK and Rev 1 vaccines. *Tec. Pec. Mex.* 46: 249-258.
- Whatmore, A.M., Davison, N., Cloeckert, A., Al Dahouk, S., Zygmunt, M.S., Brew, S.D. 2014. *Brucella papionis* sp. nov. isolated from baboons (*Papio spp.*) *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 64: 4120-4128.
- Whatmore, A.M., Perrett, L.L., Macmillan, A.P. 2007. Characterisation of the genetic diversity of *Brucella* by multilocus sequencing. *BMC Microbiol.* 7: 34.
- Whatmore, A.M., Shankster, S.J., Perrett, L.L., Murphy, T.J., Brew, S.D., Thirlwall, R.E., Cutler, S.J., MacMillan, A.P. 2006. Identification and characterization of variable-number tandem-repeat markers for typing of *Brucella* spp. *J. Clin. Microbiol.* 44:1982- 1993.
- Wilfert, C.M. 1986. *Brucella*. En: Zinsser, Microbiología. Joklik WK, Willet HP, Amos AB. 18 Edición. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana pp. 764-771.
- Wright, A.E., Smith, F. 1897. On the application of the serum test to the differential diagnosis of typhoid and Malta fever. *Lancet* 149: 656–659.
- Wyatt, H.V. 2000. Dr. G. Caruana Scicluna. The First Maltese Microbiologist. *J. Med. Biogr.* 2000. pp 191-193.
- Wyatt, H.V. 2009. Brucellosis and Maltese goats in the Mediterranean. *J. Maltese History* 1 (2), 2009.

Yu, J.C., Sang, H.P. Young, S.C., Soung, H.C. Hee, J.Y. 2009. Brucella endocarditis with splenic abscess: a report of the first case diagnosed in Korea. Yonsei Med. J. 50: 142–146.

Zammit, T. Lazzaretto Station Notes. Zammit's notebook now at the Ministry of Health, Valletta, Malta GC

Zarnke, R.L., Ver Hoef, J.M., DeLong, R.A. 2006. Geographic pattern of serum antibody prevalence for *Brucella* spp. in caribou, grizzly bears and wolves from Alaska, 1975-1998. J. Wild. Dis. 42, 570-577.