

27
2ej.



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLAN**

**“DETERMINACION DE BRUCELOSIS EN CABRAS,
EMPLEANDO LA PRUEBA DE INMUNODIFUSION
RADIAL Y EL ANTIGENO POLI - B”**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA**

P R E S E N T A

EDUARDO GONZALEZ SUAREZ



CUAUTITLAN IZCALLI, EDO. DE MEXICO, 1989

FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

INDICE

INDICE	1
RESUMEN	2
INTRODUCCION	3
OBJETIVOS	38
MATERIAL Y METODOS	39
RESULTADOS	44
DISCUSION	45
CONCLUSIONES	47
BIBLIOGRAFIA	48

RESUMEN

En el presente trabajo se trató de determinar la presencia de Brucelosis caprina (*Brucella melitensis*), en cien animales muestreados en el rastro de Ferrería, en la ciudad de México D.F.. Esto se realizó empleando dos pruebas que se utilizan en el diagnóstico de la Brucelosis bovina, que son: La Prueba de Inmunodifusión Radial, empleando el antígeno polisacárido B, que se obtuvo de la cepa Rev. 1, proveniente del Instituto Nacional de Investigaciones Pecuarias (I.N.I.P.), y la Prueba Rápida en Placa.

Al finalizar las pruebas los resultados encontrados son: En la prueba Rápida en Placa, obtuvimos un 2% de reactores positivos en la dilución de 1:25, y un 4% de sospechosos en la misma lectura. Hay que tomar en cuenta que los caprinos presentan anticuerpos que duran poco tiempo en la circulación sanguínea y poseen bajo nivel aglutinante.

En la prueba de Inmunodifusión Radial y el antígeno Polisacárido B, los resultados obtenidos son negativos, por lo que confirmamos, que esta prueba es más útil en el diagnóstico de la Brucelosis bovina.

I N T R O D U C C I O N

La Brucelosis se define como una enfermedad infectocontagiosa, que generalmente es de curso crónico, y que según la especie afectada, se caracteriza por presentar una fiebre ondulante prolongada, abortos en el último tercio de la gestación ó por procesos localizados en hembras y machos, particularmente sobre órganos genitales y sus anexos, sinoviales y bolsas serosas. Esta enfermedad es producida por microorganismos del género Brucella, encuadrados taxonómicamente en el orden Eubacteriales, suborden Eubacterianaeas, familia Parvobacteriaceas, tribu Brucelas, género Brucella. (55)

Las Brucellas provocan la enfermedad llamada Brucelosis, afectando a diversas especies de animales, particularmente a los bovinos, caprinos, ovinos y porcinos, cuyo signo principal es el aborto. Esta enfermedad es transmisible de unos a otros animales y puede padecerla el hombre, de ahí que se diga que es una enfermedad zoonótica (47) ocupando el segundo lugar en importancia en el país. (55)

ANTECEDENTES HISTORICOS DE LA BRUCELOSIS:

Las observaciones realizadas en los años de 1854-1856, durante la guerra de Crimea, en donde se observaron numerosos casos de fiebre prolongada que no podían compararse con las enfermedades ya existentes en aquella época, por lo tanto, se pensó en una enfermedad nueva. Esta sospecha se confirmó cuando se presentaron casos cada vez más frecuentes en los países mediterráneos y principalmente en la isla de Malta.

Algunas autoridades en la materia de medicina, mencionan que la enfermedad se conocía desde la época de Hipócrates (400 años A. de C.). (50)

El nombre de Brucelosis se dió en honor a Bruce, que fué en 1887, cuando él descubrió que se trataba de un microorganismo el causante de la enfermedad, denominándolo Micrococcus melitensis. (2-9-10-46-47-59)

Se han dado varias sinonimias a la enfermedad, por ejemplo, el Dr. Videal nos señala: (59)

Fiebre Mediterránea (Burnet)

Fiebre Gástrica Mediterránea Reminente (Marston)

Fiebre de Malta (Osfald-Wold)

Fiebre Ondulante (Huges)

Enfermedad de las cien formas clínicas

Río Grande (53)

Fiebre de Texas (53)
Fiebre de las Cabras (53)
Etc.

Pero las sinonimias, también estan dadas según a la especie a la que afecten, en el humano se le llama "Fiebre de Malta ó Fiebre Ondulante ", y en los animales Aborto contagioso, Aborto epizootico, Enfermedad de Bang, Mal de la cruz, Epididimitis del carnero o simplemente Brucelosis.

Transcurrieron casi veinte años, desde que se descubrió la Brucelosis, hasta que se encontró la manera en que se adquiría en el ser humano (1905), que era a consecuencia de la ingestión de alimentos contaminados por el microorganismo. (1-46-57)

En 1857, Bang (10) aisló el microorganismo responsable del aborto contagioso del ganado, llamandolo Bacillus abortus.

Anteriormente éstas dos enfermedades se estudiaron por separado durante mucho tiempo, y no fué hasta 1918, con los trabajos del Dr. Evans, cuando se estableció una relación entre ambas. (7-33-35)

El tercer miembro del género Brucella, fué aislado por Traum en 1914, que fué cultivado a partir de órganos de fetos abortados por cerdas. En 1924 Feefer demostró el primer caso de Brucelosis humana producida por un germen distinto a los ya conocidos anteriormente y se le nombró Brucella suis. (60)

DISTRIBUCION GEOGRAFICA:

A principios de éste siglo, la incidencia de brucelosis humana ha ido aumentando gradualmente en zonas Mediterráneas. (80) De ahí la infección fué creciendo y presentandose con mayor frecuencia en los países Europeos y, posteriormente en todos los rincones del mundo. Localizandose la Brucelosis en los países con mayor producción de caprinos, en éste caso *Brucella melitensis*, como Africa del Norte, en Estados Unidos y en México. (1-7-47-57)

Se menciona que desde el año de 1910, ya se sospechaba de ésta enfermedad en México (18), ésto relacionado con la importación de cabras Murcinas.

En México se ha presentado la Brucelosis en una región territorial muy extensa, que coincide con los estados de mayor producción de caprinos, que son: Chihuahua, Coahuila, Nuevo León, Tamaulipas, Guanajuato, Querétaro, Michoacán, San Luis Potosí y el Estado de México. (57)

En los trabajos de Pérez (59) encontramos que se ha observado más casos de Brucelosis caprina en los estados de Guanajuato, Chihuahua, Coahuila y Nuevo León.

ETIOLOGIA:

Este organismo es una bacteria perteneciente al género de *Brucella*, que está clasificado, según por su tinción, como

un gram negativo, es aerobio o microaerofílico, es inmóvil, no esporula y con relativa actividad metabólica. Son parásitos obligados del animal y del hombre, siendo característica su localización intramacrofágica. (43)

Cada especie de *Brucella* tiene afinidad hacia su homólogo, pero puede haber infección cruzada entre ellas.

(1-17-30)

<u><i>Brucella abortus</i></u>	bovinos
<u><i>Brucella melitensis</i></u>	caprinos
<u><i>Brucella ovis</i></u>	ovinos
<u><i>Brucella suis</i></u>	cerdos
<u><i>Brucella canis</i></u>	caninos

La especie de *brucella* que se considera más dañina hacia el humano es la *Brucella melitensis*, por cuestión de que esta bacteria se elimina por leche de cabras infectadas, ocasionando severos trastornos a los humanos. (80)

MORFOLOGIA:

Existen ciertas diferencias entre las especies de *Brucellas*, y esto nos ayuda a la identificación de cada una de ellas (80). Estos son microorganismos con dimensiones escasas de 0.5 a 0.7 micras, de forma cocobacilar. (15-30)

CULTIVO:

Son gérmenes de crecimiento lento, especialmente al inicio del cultivo, por lo que las colonias son visibles a las 48 hrs. o más, incubadas a 37°C. a un pH de 6.8.
(S-10-30-48)

Las Brucellas se pueden cultivar bien en: (1-11-15-48)

Agar suero dextrosa

Agar e infusión con soya

Agar tripticasa con soya

Agar Triptosa

Agar Brucella (albimi) que contiene suero

Medios líquidos:

Caldo tripticasa con soya

Caldo de Brucella

Caldo triptosa

Medios selectivos:

Con la adición de antibióticos, bacitracina, polimixina, cicloheximida.

REQUERIMIENTOS ATMOSFERICOS:

Estos organismos requieren como fuente de energía a el oxígeno. (80)

Encontramos que otros géneros de Brucella requieren de

tensiones bajas de oxígeno para poder desarrollarse, a estas se les ha llamado microaerófilas, requiriendo de tensiones de un 5 a 10% de CO_2 en su atmósfera, estas son: Brucella abortus y Brucella ovis; mientras que la Brucella melitensis crece en medios normales. (1-8-23-30-34-48-57)

PRODUCCION DE AZUFRE:

Las tres Brucellas producen azufre (Brucella abortus, melitensis y suis) siendo que la mayoría de los autores indican que la Brucella melitensis es practicamente inactiva. (80)

Para diferenciar a las diversas especies de Brucella es necesario saber la producción de H_2S . (1-15)

ESTRUCTURA:

Estas bacterias están constituidas por un grupo de sustancias de composición más o menos complejas y dotadas de funciones que regulan su metabolismo y multiplicación.

La composición química de las Brucellas, dada por Huddleson es: Contienen residuos insolubles, que son del 60% de su cuerpo bacteriano desecado, proteína del 13-15%, sustancias solubles en solventes orgánicos en un 15-25% y polisacáridos en 1.5-3.5%. (80)

Así como muchas otras bacterias, éstas se encuentran expuestas a cambios de morfología en sus colonias, así como

CARACTERISTICAS DE LA BRUCELLA MELITENSIS, EN COMPARACION CON
OTRAS ESPECIES DEL GENERO

ESPECIE	NO. DE BIOTIPO	REQUERIMIENTO DE CO2	PROD. DE H2S	AGLUTINACION POR SUEROS MONOSPECIFICOS		
				A	M	R
<i>Br. melitensis</i>	3	-	-	+	+	-
<i>Br. abortus</i>	8	+ (-) ^b	+ (-)	+ (-)	+ (-)	-
<i>Br. suis</i>	8	-	+ (-)	+ (+)	- (+)	- (+)
<i>Br. ovis</i>	1	+	-	-	-	+

- A) Suero monovalente antiabortus.
M) Suero monovalente antimelitensis.
R) Suero monovalente antibrucelas.

El parentesis indica la existencia de algunos biotipos negativos u otros positivos.

* Meyer M.E. (1970) Brucellosis (Nonzoonotic infections): CRC, Handbook Series in Zoonosis. J.H. Steele, Ed. Its Edition CRC Press.

en sus características bioquímicas y fisiológicas. El Dr. Henry descubrió algunos cambios. Encontró que existían cepas en forma "S" (smooth-lisas) y "R" (roug-rugosas). (10-30)

El género de Brucella se disocia facilmente dando origen a la forma "R". la transformación de "S" a "R", se acompaña con la formación de colonias rugosas, hay disminución de la virulencia y hay cambios de especificidad inmunogénica. (10-30)

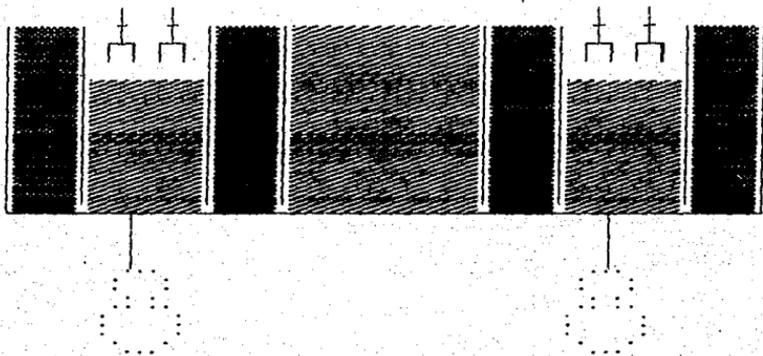
Las Brucellas conservan la capacidad de infectar por algunos meses en la tierra, agua o alimentos contaminados. Merchan nos indica (48) que las Brucellas aguantan en el suelo hasta por 70 días y 45 en el agua, resisten la fermentación láctica, conservando su actividad por lo menos tres semanas, en la mantequilla resisten hasta cinco meses y en los quesos dos meses. (26)

Son sensibles a la luz directa del Sol (48), y también al calor, son sensibles a temperaturas mayores de 55°C, bastando 20 min. a 60°C para destruirlas, pero se menciona que a 70°C por una hora con calor seco no se mueren (48), pero se destruyen fácilmente con la pasteurización. (48-50)

PROPIEDADES ANTIGENICAS:

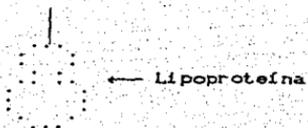
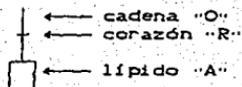
La pared de las bacterias gram negativas, como es en el caso de las Brucellas, son fracciones complicadas que

MODELO DE CUBIERTA DE CELULA BACTERIANA "GRAM NEGATIVO"



 Fosfolípido

 Proteína, parecen que son de tipo enzimático y regulan la entrada de nutrientes.



* Cadena "O".- Es de polisacáridos, le da la especificidad y lo que hace variarla. También llamado antígeno somático.

comprenden complejos de polisacáridos, lípidos y proteínas; estos complejos llamados endotoxinas, poseen varias actividades biológicas importantes. (67)

La estructura antigénica de las diferentes especies de *Brucella*, han sido investigadas por numerosos autores, quienes señalan el empleo de una amplia gama de técnicas para la extracción e identificación de fracciones antigénicas.

Wilson y Miles (50-71), demostraron la presencia de dos antígenos principales en la superficie de las *Brucellas* lisas, las cuales fueron identificadas como "A" y "M". Estos son lipopolisacáridos asociados con cantidades variables de polipéptidos, que poseen características endotóxicas a las endotoxinas de las enterobacterias. (8-40-41)

El fragmento lípido A, es responsable de la toxicidad, el polipéptido parece esencial a la introducción de hipersensibilidad retardada en animales sensibles, mientras que el componente polisacárido, posee la mayor actividad antigénica, siendo responsable de la especificidad serológica. (36) La producción de antígeno A:M en *Brucella abortus* es de 20:1 respectivamente, mientras que en *Brucella melitensis* es de 1A : 20M. (10)

Las endotoxinas poseen una amplia gama de actividades biológicas, independientemente de su origen. Cuando se inyectan a los animales producen malestar y letargo, cambios de temperatura, además de otros efectos desagradables que pueden agravar el cuadro patológico. Uno de los cuadros patológicos más importantes es la activación del complemento

en su fracción C3b, y ésto da una agresión de plaquetas con liberación de procoagulantes. Estos últimos activan la serie de la coagulación y desencadenan la formación de trombos, en cambio la propia endotoxina activa directamente la fracción o el factor Hageman. (67)

En estudios iniciales sobre la relación antigénica entre especie rugosa y lisa de *Brucella*, se confirmó que las cepas rugosas poseen la endotoxina de tipo lipopolisacárida asociada con la actividad aglutinogénica de las colonias lisas (20). Se demostró además que las colonias rugosas de *Brucella* poseen características antigénicas similares entre sí, pero distintas a las cepas lisas. (20-49)

CARACTERISTICAS DEL ANTIGENO POLI B.

Díaz y colaboradores, en 1968 (21), demostraron que por inmunelectroforesis, que extractos obtenidos de cepas lisas de *Brucella abortus* y *Brucella melitensis*, con el ácido tricloroacético, eter-agua y fenol-agua, tienen dos componentes de actividad catódica. Uno de ellos ha sido identificado como un complejo lipopolisacárido, con actividad endotóxica, con capacidad para aglutinógenos de superficie para cepas de *Brucella*. El otro componente se distingue por su facilidad para difundir en las pruebas de Inmunodifusión Radial e Inmunelectroforesis. Carece de actividad endotóxica teniendo gran cantidad de carbohidratos y ha sido llamado "Componente 1. Segundo polisacárido, Polisacárido B o Poli

B". (4-6-11-23-25-36)

Este componente no juega un papel importante en las pruebas de aglutinación, ya que los anticuerpos dirigidos contra éste polisacárido, presente en el suero de animales infectados, puede ser removido por adsorción con el antígeno, sin que se vean afectados los títulos de aglutininas en el suero. (21-23)

El antígeno polisacárido B se encuentra presente en la superficie de cepas lisas de *Brucella*, pero únicamente se ha podido obtener a partir de la fracción soluble del citoplasma de la cepa B-115. Los trabajos de Cortes (18) nos demuestra que también se puede obtener el antígeno Poli B a partir de cepas lisas de *Brucella melitensis* Rev 1 y la 18-M, obteniendo un mayor rendimiento en cantidad de antígeno. Además que las fracciones solubles del citoplasma quizá incluya productos liberados después de la ruptura de las células. (6-24) Es posible que el Poli B, sea un componente del espacio periplasmático. (6-24)

En general las diferentes investigaciones que han analizado al Poli B, revelan que éste se encuentra constituido por 83% de carbohidratos, 5% de ácidos nucleicos y 5% de proteínas, sin embargo no contiene lípidos 2-keto 3-deoxioctano, ni heptosa, como previamente había sido determinado. (8-13)

Las investigaciones realizadas por Lacave y colaboradores (39), muestran los resultados de un importante

estudio comparativo entre las fracciones del complejo lipopolisacárido proteína y polisacárido de Brucella melitensis, demostrando que la mayor diferencia entre ambas fracciones es la presencia de pequeñas cantidades de Lípido A (1%), en el lipopolisacárido y polisacárido sobre columnas DEAE-celulosa, es muy similar, y las pequeñas diferencias observadas, pueden ser explicadas por cambios debidos a la solubilidad del lípido A, presente en el lipopolisacárido.

INMUNIDAD CONTRA BRUCELLA:

La inmunidad contra la infección por Brucella spp. en los animales domésticos tienen algunas características que la respuesta inmune contra otras infecciones bacterianas. (47)

El organismo presenta tres sistemas de defensa, que actúan de manera coordinada ayudándose entre ellos para combatir una infección. Dichos sistemas son:

a) SISTEMAS INESPECIFICOS

b) SISTEMAS ESPECIFICOS

Inmunidad Humoral

Inmunidad Celular

a) SISTEMAS INESPECIFICOS.- Mejor conocido como "Resistencia". Esta comprende una gran cantidad de barreras anatomofisiológicas, bioquímicas y celulares, que comparten el hecho de ser inespecíficas y no inducidas, esto es, que estos sistemas son independientes de la existencia de un contacto previo con el antígeno. Además se debe mencionar que dichos sistemas trabajan en colaboración estrecha con los sistemas inmunes propiamente dichos, y no de manera separada. (56)

Barreras Anatomofisiológicas.- Las Brucellas ganan acceso al huésped, principalmente a través de la vía oral y de heridas. En estos casos la vía oral carece de importancia ya que es raro una herida en ella, y la piel pierde su defensa mecánica al perder su integridad morfológica (en caso de heridas). (56)

Barreras Bioquímicas.- La vía oral tiene una serie de enzimas y sustancias químicas que atacan a los microorganismos, la amilasa salival, el HCl estomacal, enzimas digestivas intestinales y las sales biliares. De éstas, las más importantes parecen ser el HCl y las sales biliares; estas últimas tienen acción detergente, son poderosas inhibidoras de ciertas bacterias, así como de virus envueltos. (56)

Sin embargo las Brucellas son capaces de establecer una

infección entrando por vía oral. Esto sugiere que son bastante resistentes a los mecanismos de defensa, o lo que es más probable, que la vía oral permita el paso directo a través de tonsilas, neutralizando de esta manera el efecto de las defensas estomacales e intestinales.

Una vez que la sangre, ya sea a través del intestino o de una herida, las Brucellas se encuentran con una bacteria bioquímica, en la que destacan la lisozima y las sustancias oxidantes (peróxidos, ion superóxido y sistema mielo peroxidasa).

Es probable que en el caso de las Brucellas, estas sustancias oxidantes sean más importantes que la lisozima, ya que esta actúa preferentemente sobre gram positivos. De cualquier manera, estas enzimas pueden ser eficaces en combinación con el complemento. Se han descrito muchas otras sustancias séricas bactericidas, tales como los polipéptidos básicos, el factor Tillet, las proteínas transportadoras de hierro, etc., pero parecen ser de menor importancia. (56)

Una sustancia bioquímica que se debe de mencionar en relación a Brucella, es el eritritol, sustancia producida por el aparato genital maduro de los animales, en la cual estimula el crecimiento de dichas bacterias. (56)

Barrera celular. - La barrera inespecífica más importante es la fagocitosis. La fagocitosis no inmune es medida fundamentalmente por los polimorfonucleares, y en especial los neutrófilos. Los mononucleares (macrófagos y monocitos)

también participan, pero en menor grado. La capacidad de fagocitar, sobre todo en la sangre en donde el fenómeno es libre, esto es, la bacteria está suspendida en un fluido, depende mucho de las características fisicoquímicas externas de las partículas que se va a fagocitar. En el caso de la mayoría de las Brucellas, la presencia externa de una cápsula, previene la fagocitosis al generar una unidad ionizada e hidrofílica a la cual el fagocito no se puede acercar con facilidad. Sin embargo, incluso con la cápsula presente, si se lleva a cabo una fagocitosis considerable, sobre todo por los polimorfonucleares. De cualquier manera estas células no son capaces de destruir a las bacterias ingeridas, ya que esta de alguna manera impide la fusión de la vacuola en donde está incluida y el lisosoma poseedora de las enzimas hidrolíticas. Lo que resulta paradójico, es que, en realidad, el neutrófilo actúa como diseminador de la infección debiendo ser destruido para poder controlarla. (56)

b) SISTEMAS ESPECIFICOS:

Inmunidad humoral. Las Brucellas estimulan una poderosa reacción, que se demuestra por los elevados títulos de anticuerpos que se producen. Estos anticuerpos son la clase IgG e IgM en infecciones naturales, pero en vacunaciones son las IgM las que aumentan, por ejemplo, la vacunación con la cepa Rev. 1. Las razones de esto no son bien conocidas. Aparentemente, después de la vacunación aparecen títulos.

tanto de IgM como de IgG. (56)

Sin embargo, las IgG son de bajo nivel y desaparecen con rapidez, contrario a lo que sucede normalmente, donde es la IgM la que desaparece. Además esto sucede en animales adultos, pues los animales pequeños, no púberes, desarrollan títulos que en ambas inmunoglobulinas son transitorias y desaparecen. Esto parece estar relacionado con la falta de eritritol en estos animales, lo que puede limitar la reproducción de la cepa vacunal, y explicar el carácter transitorio de dichas inmunoglobulinas. Esto sin embargo no explica la desaparición de la IgG en animales adultos. (56)

Independientemente de lo ocurrido con las inmunoglobulinas en los animales inmunizados con la cepa Rev. 1, hay que tener presente que la vacunación genera linfocitos B y T de memoria, los que en un segundo contacto con la Brucella desarrollan, en un lapso de 3 a 5 días, una respuesta secundaria. Este hecho representa una gran ventaja con respecto a los animales no vacunados. (56)

Aún así, el efecto de los anticuerpos es poco claro, y aparentemente no juegan un papel relevante en la inmunidad o en la recuperación de animales infectados. Una de las actividades de los anticuerpos que si deben ayudar, es la capacidad de adherirse a macrófagos (opsonización) a través de su fragmento Fc. (concretamente el denominado CH3 de las cadenas pesadas), una vez que ha sido activado por la unión

con el antígeno. (55)

INMUNIDAD CELULAR

La habilidad que tienen las Brucellas de penetrar a las células, especialmente a los polimorfonucleares, las protege tanto de las sustancias bioquímicas como de los anticuerpos. En casos como éste, el cuerpo reacciona desarrollando una defensa a base de inmunidad celular. Dicha defensa está centrada en la actividad de los linfocitos T y los macrófagos. (56)

Los linfocitos T, al contacto con el antígeno (en respuesta secundaria) se dividen formando por lo menos 5 diferentes tipos celulares: las células T represoras, T ayudantes, T de memoria, T secretoras (linfoblastos) y las células T citotóxicas. De estas, las que tienen una acción directa son las citotóxicas y las secretoras. Las T citotóxicas en conjunción con un tipo especial de linfocito denominado K, llevan a cabo la destrucción de las células Blanco, esto es la célula que está infectada con la Brucella. Es importante señalar, que en el caso del linfocito K, existe una colaboración estrecha entre anticuerpos y este tipo de células. Las células Blanco modificada, por la infección bacteriana, estimula la formación de anticuerpos contra la superficie; posteriormente el linfocito K establecerá contacto con ella a través de fragmento Fc del anticuerpo específico (67). La Brucella liberada puede ser atacada por

anticuerpos y quizá destruida por el complemento (a través de las fosfolipasas C'8 y C'9). Sin embargo, es probable que sea más importante la actividad citoadherente del fragmento Fc del anticuerpo y las actividades de conglutinación y adherencia a monocitos (macrófagos) de las fracciones C'3a y C'5a.

La destrucción final de las Brucellas es aparentemente llevadas a cabo por los macrófagos, y en especial (o exclusivamente) por los macrófagos activados, en los que se ha observado un aumento en el contenido de enzimas hidrolíticas. (57)

Dicha activación es el resultado de la acción de una linfocina, el SMAF (Factor de activación de macrófagos) liberado por la células T secretoras. Estas células producen una serie de linfocinas, y la inmunidad celular gira alrededor de éstas substancias. Mencionamos algunas de ellas:

a) Que actúan sobre macrófagos

MFI- Inhibe la migración de macrófagos.

MAF- Factor de agresión de macrófagos.

SMAF- Factor de activación del macrófago.

b) Que actúan sobre otros linfocitos.

MF- Estimula la mitosis del linfocito.

PF- Estimula la respuesta de linfocitos.

c) Que actúa sobre las células blanco

LT- Mata células blanco.

PIF- Inhibe la proliferación de células blanco.

CIF- Inhibe la donación de células blanco.

d) Diversos.

SRF- Factor que estimula la inflamación de la piel.

Interferon- Inhibe la reproducción viral.

En conjunto todas estas sustancias hacen la atracción del macrófago al sitio en donde está el antígeno. ahí es inmovilizado, se demanda una respuesta para estimular una mayor fagocitosis y digestión del antígeno. se estimula la división de linfocitos no comprometidos y estimula la activación de dichos linfocitos. matar a las células blanco. producir inflamación e inhibir la reproducción viral.

También se menciona que los anticuerpos ayudan a este efecto celular, ya que está unido el anticuerpo y el antígeno, este se adhiere al macrófago, facilitando así la fagocitosis. se fija también el complemento, el cual produce una anafilotoxina (fracciones C'3a y C'5a) que estimula la inflamación. (55)

El complemento también ayuda en la adherencia a macrófagos, el anticuerpo y el complemento aglutinan a la bacteria facilitando su fagocitosis y promueven la unión de linfocitos K. células blanco. (56)

Es evidente que para que toda esta barrera inmunológica se manifieste, es necesario estimular en el animal una

poderosa inmunidad celular. Esto se consigue mediante vacunas vivas, que al tener una fase limitada de reproducción intracelular, son capaces de estimular dicha inmunidad.

Las bacterianas parece ser menos efectivas, ya que estimulan únicamente la inmunidad humoral, y ésta es importante contra las Brucellas que están alojadas en los polimorfonucleares. La adición de adyuvantes puede resultar en una estimulación celular, pero ésta será siempre de menor intensidad que la producida por vacunas. (47)

EPIZOOTIOLOGIA:

Las Brucellas han sido observadas en bovinos, caprinos, ovinos, porcinos, equinos y caninos; siendo también susceptibles el búfalo, bisonte, camello, aves de corral, gato e igualmente los animales de laboratorio.

La enfermedad es transmisible con cierta frecuencia al humano.

Por lo que concierne a México, el mayor interés epizootológico corre a cargo de la *Brucella melitensis* y *Brucella abortus*, y los hospederos habituales de estos microorganismos son los ruminantes domésticos, por tal razón, se han dirigido los planes de control y erradicación hacia ellos. (57)

La *Brucella* tiene la facilidad de penetrar al organismo humano por medio de la ingestión, contacto, inhalación e

inoculación accidental, siendo ésta más frecuente entre los médicos veterinarios. (3-15-35-51-59-60). Puede penetrar por piel intacta o escarificada. (58) En observaciones experimentales puede pasar por conjuntiva, mucosa, incluyendo la nasofaríngea. (61)

Las fuentes de contagio más frecuente para el humano son:

- a) Ingestión por consumo de leche o lacticinios que no han sido sometidos a ebullición ó psteurización.
- b) Consumo de carne no bien cocida.
- c) Contaminación de aguas potables, por membranas o fetos que caigan a estas.
- d) Contacto con animales contaminados, ya sea en la ayuda al parto, en el rastro o empacadoras. De aquí que se diga que es una enfermedad de tipo profesional.
- e) Los menos frecuentes: Inhalación de polvos contaminados, accidentes de laboratorio, contagio interhumano y otros insectos.

La morbilidad es alta en el humano, llegando a 2.2 por 100.000 habitantes en 1980. (44)

En la actualidad, la mayoría de los autores están de acuerdo en que la Brucelosis se transmite principalmente por la vía oral. Por tal razón los alimentos y el agua de bebida contaminada, juegan el papel principal en la infección

natural en los animales.

Las vías de eliminación de microorganismos son las siguientes: (47)

- a) Las cubiertas fetales, líquido amniótico y feto, que contengan grandes cantidades de Brucellas.
- b) Los excrementos de animales recién nacidos, en donde se eliminan grandes cantidades de bacterias, y ésta es por varias semanas.
- c) Las secreciones vaginales que fluyen en el aborto, pueden infectar durante una o dos semanas.
- d) La leche es un material muy virulento, en la cabra la eliminación de Brucellas por ésta vía puede durar hasta 140 días.
- e) La orina es fuente de eliminación de Brucellas en la cabra. (Informes de la FAO/OMS) (15)
- f) La eliminación a través del esperma es rara y sólo ocurre en casos muy severos.
- g) Las heces y secreciones nasales son pobres en la eliminación de ésta bacteria.

La evolución de esta enfermedad y su establecimiento, depende de la edad y estado físico del animal. También hay que tomar en cuenta lo que se refiere a la reproducción, resistencia heredable y así como dosis infectante. (38)

Se menciona que la Brucelosis es más frecuente en los climas templados y fríos, con predisposición a ambientes con mala sanidad, hacinamiento y mal manejo. (7)

PATOGENIA:

Desde la puerta de entrada, que suele ser la vía digestiva, las Brucellas ingresan en el organismo a través del intestino o de la cavidad faríngea, quedando al parecer, retenidas por algún tiempo en los ganglios linfáticos vecinos (retrofaringeos, mesentéricos), de los que pasan a la sangre desarrollando un efímero estado septicémico, tan discreto en sus manifestaciones clínicas que suele pasar inadvertido. (57)

Los gérmenes son destruidos en gran cantidad en la sangre, pero otros van a encontrarse en aquellos órganos en los que existe baja circulación sanguínea, elevando el nivel carbónico y creándose con ello una atmósfera adecuada para su crecimiento. Estos lugares son las vainas sinoviales, algunos ganglios linfáticos, tejido mamario, testículo, el epidídimo, vesículas seminales y la próstata.

En el caso de la gestación, el espacio interplacentario, así como el intestino y el estómago del feto, son lugares de especial predilección para las Brucellas; en las hembras vacías, los gérmenes esperan en los territorios orgánicos antes señalados, esperando la gestación para poder invadir placenta y feto. (57)

La reacción inflamatoria es el principal mecanismo de acción de las Brucellas en el tejido placentario.

MANIFESTACIONES CLINICAS EN CAPRINOS

Al introducirse la infección en un rebaño susceptible se producen un número considerable de abortos, dependiendo del número de hembras restantes en el rebaño y lo avanzado de la gestación. Los porcentajes de fertilidad sufren una notoria disminución. Es raro que un animal aborte más de una ocasión, a pesar de estar crónicamente afectado; sin embargo hay casos de tres a más abortos en un mismo animal a consecuencia de la infección. (31)

Es común la ocurrencia de mastitis con los abortos. En ocasiones, cuando la infección ocurre durante los primeros días de la gestación los embriones mueren y se reabsorben, sin que se pueda observar otro signo de la enfermedad. Por el contrario, cuando la infección se produce en hembras en fase avanzada de gestación, es probable que el cabrito nazca al término, pero la mayoría de los casos se trata de corderos muy débiles; muchos de ellos mueren a la semana siguiente.

Los animales que sobreviven después de la infección in utero, así como los que infectan en la lactancia, suelen recuperarse en forma espontánea, antes de alcanzar la madurez sexual. Se sabe que los animales jóvenes resisten más a la enfermedad que los animales adultos. (31)

Además de estos signos clínicos, también se puede presentar artritis, pérdida de peso, laminitis y bronquitis

asociada con los seca.

LESIONES EN CAPRINOS:

En las cubiertas fetales engrosadas se presentan, en puntos aislados o en forma difusa, infiltrados de aspecto gelatinoso con copos de pus y fibrina con estrías hemorrágicas.

En cuanto a los cotiledones de éstas envolturas, también aparecen con pus y fibrina. (38-47-57-64)

En el feto puede haber lesiones, especialmente en el cuajar con masas de moco amarillento o blanco, y en las paredes del estómago, intestino, vejiga, etc.; se ven puntos hemorrágicos. En la cavidad torácica y abdominal suele haber un líquido rojizo o menor cantidad de coágulos de fibrina, serosidad sanguinolenta en el tejido conjuntivo subcutáneo, los ganglios linfáticos y el bazo se encuentran aumentados de tamaño con foco hemorrágicos. Pueden observarse lesiones de neumonía y también serosidad. Algunos animales nacen envueltos casi totalmente en un exudado purulento. Estas lesiones son muy distintas a las ocasionadas por el aborto Tricomoniásico, en el que el feto aparece atrasado en su desarrollo y caquexico.

En el interior de las cabras abortadas aparece un líquido espeso de color pardo sucio, mezclado con grumos más o menos grandes de pus. Las mamas aparentemente están normales, pero presentan alteraciones inflatorias

microscópicas.

En el macho aparecen hemorragias y focos necróticos en las vesículas seminales. en los testículos hay focos de pus o toda su estructura se encuentra transformada en una masa de color amarillento pálido. (38-57-84)

DIAGNOSTICO:

El diagnóstico de la Brucelosis caprina lo podemos esquematizar en: (57)

a) *Diagnóstico Clínico.* - El enjuiciamiento del aborto es de muy escaso valor de diagnóstico. siendo más bien un método orientado. Abortos tardíos o partos prematuros, con retención placentaria, puede inducir a una sospecha de ésta enfermedad.

b) *Diagnóstico Anatomopatológico.* - La necrosis fetal apunta datos más valiosos. ya que las lesiones se localizan en las cubiertas fetales y en los cotiledones donde se acusa la existencia de un exudado gelatinoso amarillento, que contiene copos de fibrina y pus. En el cuajar de los fetos hay un depósito de moco amarillento, así como petequias y hemorragias mayores en la mucosa gastrointestinal.

c) *Diagnóstico Bacteriológico.* - El aislamiento de la bacteria en los tejidos y exudados, confirman el diagnóstico. El comité de expertos en Brucelosis (FAO/OMS), nos indica.

que dado al avance alcanzado últimamente en los medios de cultivo para Brucelosis, estos métodos deberán emplearse en todos los casos posibles, y son indispensables para establecer la situación exacta de los animales frente a la infección cuando se evalúan en las pruebas de diagnóstico. (57)

El aislamiento se puede realizar a partir de exudados vaginales, y/o leche de hembras que han abortado. Se recomienda también el cultivo tomado de la placenta y tejido fetal, especialmente del contenido estomacal. (15-33-42)

D) Diagnóstico Serológico. - Las pruebas que se emplean en el diagnóstico de la Brucelosis bovina, también se pueden realizar en las cabras, utilizando inclusive los mismos antígenos preparados generalmente con la cepa 19 de *Brucella abortus* y en ocasiones con *Brucella melitensis*. (47)

Las pruebas que más se ocupan en el diagnóstico de Brucelosis caprina son:

1) PRUEBA DE FIJACION DE COMPLEMENTO. - (19-31) Esta es una de las pruebas más recomendadas para el diagnóstico de *Brucella melitensis*. Es una técnica altamente específica y de mayor sensibilidad que las aglutinaciones. Tiene la ventaja de poder identificar animales negativos a los seis meses después de que estos recibieron una dosis de vacunación con la cepa Rev 1. Los títulos de 1:10 en sueros caprinos,

probados mediante esta prueba se deben de registrar como sospechosos; los títulos 1:20 o superiores deben considerarse como positivos.

2) PRUEBA DE COOM'S. (Antiglobulina).- (15-31) De acuerdo con lo descrito en la literatura, esta prueba es muy eficiente en ovinos, más no se recomienda en caprinos, ya que en ellos, no ha sido valorada lo suficiente.

3) AGLUTINACION EN TUBO.-(15-31) Se utiliza mucho en caprinos no vacunados. Su eficiencia aumenta con solución de NaCl al 5%, en vez de 0.85%. Cuando da un resultado de 50 UI/ml se declara sospechoso y una lectura de 100 UI/ml es francamente positivo.

Se han dado casos de cabras vacunadas con la cepa Rev 1 o con la H28 con adyuvante, que dan resultados, por varios años, con reacciones dudosas o positivas con la prueba de aglutinación.

4) AGLUTINACION EN PLACA. - (15-31) Esta prueba puede ser practicada con sueros de cabras, con las mismas condiciones que en los bovinos. Hay que tener mucho cuidado en la lectura, ya que los caprinos presentan anticuerpos aglutinantes por poco tiempo, en la circulación sanguínea.

Se recomienda registrar como positivos a los que den una lectura de 1:50 o superior.

5) AGLUTINACION CON MERCAPTOETANOL. (15) Da resultados análogos a la prueba de fijación de complemento.

6) PRUEBA DE RIVANOL. (15) Esta prueba se funda en principios análogos a la prueba de aglutinación con mercaptoetanol, es más complicada y no parece ofrecer ninguna ventaja.

7) PRUEBA DEL ANTIGENO TAMPONADO (Rosa de Bengala). - (15) Puede servir en el diagnóstico de Brucelosis caprina.

8) PRUEBA DEL ANTIGENO COLOREADO EN LECHE. - (15) El comité de expertos en Brucelosis (FAO/OMS), opina que deberá de recurrirse con más frecuencia a estas pruebas para el diagnóstico de la Brucelosis caprina. Las muestras de leche presenta las ventajas de poder cultivar al microorganismo, con miras al aislamiento del agente.

Esta prueba indica que la aglutinación visible es positiva. Muestras de leche positivas pueden considerarse como revelador de la existencia de la enfermedad en el rebaño, pero un resultado negativo carece de significancia.

9) PRUEBA DE AGLUTINACION EN SUERO DE LECHE. - (15) Los resultados no son muy alentadores (no es muy sensible).

Se recomienda en repetir varias veces la prueba y no repetir diferentes pruebas a intervalos largos.

Se han empleado las pruebas de Seroaglutinación en tubo, inmunodifusión en agar gel, placa con rosa de Bengala y fijación de complemento con buenos resultados. [S. Waghela. (1980) Comparación de cuatro pruebas serológicas en Brucelosis caprina. Kenya. Res. Vet. Sci. 29.]

TRATAMIENTO:

El tratamiento en los animales no es muy recomendado, por tal motivo se sugiere el sacrificio. (7-47)

PREVENCIÓN Y CONTROL:

Una de las formas en que podemos prevenir esta enfermedad, en los animales, es por medio de un buen manejo de nuestro hato, conociendo el como se transmite la enfermedad, la eliminación de los animales portadores, que hallan sido identificados por las pruebas de laboratorio y la vacunación de nuestros animales. Las cabras se vacunan a los 3 o 6 meses de edad, empleando la cepa Rev 1 de Brucella melitensis o también podemos emplear una bacterina que se ocupa para ovinos y caprinos, que es la H38. La vacunación en los machos no se realiza, porque se produce la enfermedad. (7-32)

Tomemos en cuenta que las técnicas de vacunación también son importantes para nuestro propósito de prevenir la enfermedad. La vacuna liofilizada es superior a la vacuna

líquida, ya que posee mayor longevidad y estabilidad; pero debe de mantenerse en refrigeración entre dos y cuatro grados centígrados.

No debemos olvidar que el ser humano necesita también prevenir esta enfermedad, ya que es una enfermedad Zoonótica. Esto lo podemos lograr dando una educación a toda la población, respecto a la naturaleza de la enfermedad y el peligro que lleva el manipular alimentos y animales contaminados. Se recomienda también la pasteurización de la leche y sus derivados, así como el buen cocimiento de la carne, y el decomiso de carne y animales infectados.

IMPORTANCIA EN SALUD PUBLICA:

Investigaciones epidemiológicas nos sugieren que del 50 al 80% de los humanos son susceptibles a padecer la enfermedad por medio de la *Brucella melitensis* (12-70). La enfermedad es endémica en los lugares donde es elevado el índice de la enfermedad y la población humana consume alimentos contaminados. (60) Es muy difícil establecer el grado de peligrosidad de las diversas especies de *Brucella* que afectan al humano, pues cada una de ellas es capaz de producir, desde infecciones inaparentes hasta la muerte. (60)

La *Brucella melitensis*, es la que se considera de mayor peligrosidad para la especie humana en todos los climas y todas las razas; ya que provoca incapacidad física y pérdida

de mano de obra, esto repercute en la grave reducción de los alimentos, que en su mayoría son de origen animal y son necesarios para el buen desarrollo y preservación de la salud y bienestar del ser humano. (3-14-15-62-68)

Spink (65), en las investigaciones que realizó, nos indica que los cuadros clínicos que se observan en áreas geográficas limitadas, pueden resultar distintos a los que se observan en otras zonas, a pesar de que la infección sea producida por la misma bacteria y género.

En el ser humano, los primeros síntomas que se manifiestan es la fiebre, que varios autores la han clasificado como continua, ondulante, remitente, intermitente y mixta. (63) La temperatura alcanza un máximo de 39-40°C en los primeros días.

Los pacientes llegan a mostrar un gran cansancio físico, que se despiertan muy cansados, los miembros superiores e inferiores dan la sensación de pesados, particularmente las piernas. La debilidad repercute tanto, en el estado psíquico del paciente, que presenta pereza mental, irritabilidad, depresión y melancolismo. La sensación de debilidad y perturbación mental, puede prolongarse más allá de la fase de bacteremia. (27-28-29)

FACTORES ECONOMICOS:

Esta enfermedad causa grandes pérdidas en la industria

pecuaria (14), causando también grandes pérdidas en la población animal a consecuencia de los abortos que se presentan, afectando así a la crianza y a los reemplazos de animales adultos. (2)

Ciprian, nos da un dato de una campaña que se realizó en 1975, para controlar la Brucelosis, realizando un estudio de pérdidas económicas en los caprinos, los gastos ascendieron a \$21,155,286.⁰⁰ M/N. (14)

OBJETIVOS

A) Determinar la presencia de Brucelosis caprina empleando la prueba de Inmunodifusión Radial y antígeno Polisacárido "B", proveniente de la cepa Rev 1. de Brucella melitensis.

B) Comparar la efectividad, entre la prueba Rápida en Placa y la Inmunodifusión Radial con antígeno Poli "B", para el diagnóstico de Brucelosis caprina.

MATERIAL Y METODOS

MATERIAL BIOLÓGICO:

- A) Muestras de cien sueros de cabra, los que se obtuvieron del rastro de Ferrería. (México D.F.)
- B) Antígeno Polisacárido B [proveniente de la cepa Rev 1 de Brucella melitensis, del Instituto Nacional de Investigaciones Pecurias (I.N.I.P.)]

REACTIVOS:

- C) Medio para la prueba de Inmunodifusión Radial (I.D.R.)
- D) Azida de sodio 0.1 M.
- E) Antígeno para prueba Rápida en Placa (Brucella abortus cepa 19)

MATERIAL Y EQUIPO DE LABORATORIO:

- F) Placa para prueba de Inmunodifusión Radial.
- G) Cámara húmeda.
- H) Mechero.
- I) Material diverso.

METODO:

Una vez obtenido los sueros de las cabras, se procedió a realizar las pruebas correspondientes. I.D.R. con antígeno Pilo B y la prueba Rápida en placa.

Inmunodifusión Radial. - (52) Con el motivo de

cuantificar antígenos adecuadamente, en 1955, Mancini introdujo la prueba Inmunodifusión Radial (I.D.R), utilizando la difusión simple.

Este método consiste en incorporar anticuerpos específico en agar y colocar el antígeno en pozos perforados en el agar. El antígeno difunde por todo el agar, y cuando se pone en contacto con el suero se forma un halo de precipitación, que sigue creciendo hasta alcanzar su equilibrio.

Existe una relación cuantitativa entre la concentración de antígeno y el resultante anillo de precipitación. El área circunscrita por el anillo de precipitación es proporcional a la concentración de antígeno, este método es de tiempo limitado, que permite la medición del halo antes de su desarrollo completo. En esta modificación el logaritmo de la concentración de antígeno es proporcional al diámetro del anillo.

Experimentalmente se demuestra una curva estándar, utilizando concentraciones conocidas de antígeno. La ecuación que describe la curva se puede utilizar para determinar la concentración de antígeno correspondiente a cualquier tamaño de diámetro. Cuando el anillo de precipitación alcanzado su máximo tamaño, se obtiene una línea recta cuyo punto de intercepción no es cero. Al graficar el cuadro del diámetro del halo contra concentraciones conocidas de antígeno. La ecuación lineal es:

$$S = S_0 + k c$$

donde:

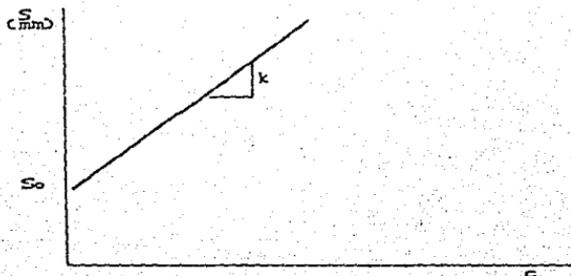
S = diámetro al cuadrado del halo en mm.

S₀ = intercepción en el eje de las ordenadas.

k = pendiente de la línea.

c = concentración de antígeno.

Línea de calibración para un sistema antígeno-anticuerpo.



Cuando el diámetro del anillo está aumentado y se grafica el logaritmo de la concentración contra el diámetro del anillo, se obtiene una línea aproximadamente recta que sigue la ecuación:

$$D = D_0 + k \log c$$

donde:

D = diámetro del anillo en mm.

D_0 = intersección en el eje de las ordenadas.

k = pendiente.

c = concentración de antígeno.

Si el halo de precipitación es perfectamente circular, el cuadrado del diámetro proporciona la medida adecuada, si no es perfectamente circular, se proyecta la imagen en un papel, trazando la imagen y se recorta. La curva de

calibración se obtiene graficando esta medición de antígeno.

La sensibilidad de este método es de 1 a 3 microgramos/ml de antígeno. Para obtener mayor sensibilidad, una vez obtenidos los anillos de precipitación, es posible efectuar autoradiografías que también pueden ser medidas.

Mediante esta técnica es posible cuantificar los anticuerpos incorporados en los pozos y el antígeno en el agar.

La prueba de Inmunodifusión Radial se utiliza en la cuantificación de antígenos solubles, anticuerpos insolubles e inmunoglobulinas en suero. Su desarrollo no requiere de equipo costoso, siendo en método fácil de implementar en el laboratorio. (52)

En nuestro experimento desarrollamos la prueba, disolviendo 1 gr de agar noble en 100 ml de solución salina fisiológicas (SSF), que fué ajustada a un pH de 7.4. Toda esta solución se mantuvo a una temperatura de 55°C. Ya estando homogénea la solución procedimos a agregar la azida de sodio (0.1 gr en 100 ml de solución) esta se ocupó como antibacteriano en el gel. En la solución se agregó el antígeno Poli B, que se donó por el Instituto Nacional de Investigaciones Pecuarias (I.N.I.P.) en la que se agregó 0.2 ml de antígeno en la solución.

Ya que se preparó toda la mezcla a una temperatura de 55°C. se procedió a vaciar la mezcla en las placas para la prueba I.D.R. Las placas quedaron de un grosor de 2mm x 10cm x 5cm.

La concentración de antígeno en el gel, no fué necesario saberla, por la cuestión de que solamente queríamos saber si reaccionaba o no.

Ya habiendo gelificado las laminillas del gel, se realizaron varios pozos, que se perforaron con un sacabocado de 2mm de diámetro, después se puso una gota de suero en estos pozos, luego se introdujeron las laminillas a una cámara húmeda que estaba a una temperatura ambiental. La

cámara húmeda que estaba a una temperatura ambiental. La lectura se realizó a las 48 y 72 hrs.

La Inmunodifusión se fundamenta en una reacción de precipitación en un medio semisólido.

En la segunda etapa del experimento, empleamos la prueba Rápida en placa, está la ocupamos para comparar los resultados obtenidos de la prueba de I.D.R. En dicha prueba ocupamos los cien sueros y un antígeno azul, el antígeno ocupado fué el de los laboratorios Pronavive, con fórmula: Paquete celular de Brucella abortus cepa 1119.3 concentrada e incubada por calor, conservando su especificidad para pruebas de aglutinación en placa.

Empleando diluciones de suero 1:25, 1:50, 1:100, 1:200 y 1:400, esto lo logramos con una pipeta para diluciones. Estas se pusieron en una placa de vidrio con una cuadrícula, y posteriormente se agregó el antígeno azul 0.03 ml en todos los cuadros.

Agitando con unos palillos la mezcla de antígeno y el suero, para obtener una homogeneidad. Realizamos la lectura, y si aparecen grumos en alguna de nuestras diluciones nos indica que es positiva; sino hay presencia de grumos es negativa. Hay que tomar en cuenta que ésta prueba no es muy recomendable para el diagnóstico de Brucelosis caprina, ya que estos animales presentan anticuerpos circulantes por muy poco tiempo y poseen bajo nivel aglutinante. (15)

RESULTADOS :

Los resultados se muestran a continuación:

No. de suero	I. D. R.	PRUEBA DE PLACA			
		1:25	1:50	1:100	1:200
1	-	-	-	-	-
2	-	+	-	-	-
3 al 9	-	-	-	-	-
10	-	+	-	-	-
11 al 20	-	-	-	-	-
21	-	+/-	-	-	-
22	-	-	-	-	-
23	-	-	-	-	-
24	-	+/-	-	-	-
25 al 45	-	-	-	-	-
46	-	+/-	-	-	-
47 al 93	-	-	-	-	-
94	-	+/-	-	-	-
95 al 100	-	-	-	-	-

Encontramos que los resultados de la Prueba de Inmunodifusión Radial (I.D.R.) fueron todos negativos.

Los resultados de la Prueba Rápida en Placa, encontramos que un 2% resultado positivo y un 4% sospechoso.

DISCUSION:

En los estudios realizados por Díaz y colaboradores en 1968, demostraron que los extractos obtenidos de cepas lisas de Brucella melitensis con el ácido tricloroacético, eter-agua y fenol-agua, obtuvieron dos componentes catódicos. Uno de ellos ha sido identificado como un componente lipopolisacárido proteína y otro llamado componente 1, segundo polisacárido, polisacárido B o Poli B. Este polisacárido se ha podido obtener (10) a partir de dos cepas lisas de Brucella melitensis, la cepa 16M y la Rev 1, y una cepa rugosa que es la B 115.

En 1980, Jones y colaboradores, encontraron que la prueba de Inmunodifusión Radial y el antígeno Poli B, obtenido de la cepa B-115, tuvo una especificidad alta (80%) en comparación con las pruebas de tarjeta, rivanol y fijación de complemento.

En las revisiones bibliográficas, encontramos que la prueba de I.D.R. y el antígeno Poli B, funcionan bien en la detección de Brucelosis bovina, y en caprinos no se han tenido esos resultados, lo confirmamos con nuestro experimento.

La prueba de placa (15-31) puede ser practicada con sueros de cabras, con las mismas condiciones que en los bovinos.

Pero hay que tener mucho cuidado en la lectura, ya que los caprinos presentan anticuerpos aglutinantes por muy poco tiempo en la circulación sanguínea. Y se recomienda registrar como positivos a los animales que presenten títulos de 1:250 superior.

En nuestros resultados encontramos un 2% como positivos en la lectura de 1:25, y como sospechosos un 4%. Por lo mencionado anteriormente, esta no es muy recomendable para el

diagnóstico de Brucelosis caprina.

Los estudios realizados por S. Weghela. (1980. Res. Vet. Sci.) compara cuatro pruebas que se emplearon para el diagnóstico de la Brucelosis caprina, y estas pruebas son: Inmunodifusión en agar gel, Placa con rosa de Bengala, Seroaglutinación y Fijación de complemento, siendo esta última la más indicada para el diagnóstico de ésta enfermedad.

CONCLUSIONES

1.- La prueba de Inmunodifusión Radial y el antígeno Polisacárido B, nos podrían ayudar a detectar animales que presentarían anticuerpos de origen infeccioso, pero esto sólo se ha visto en bovinos, mas no se ha confirmado en la detección de Brucelosis caprina.

2.- La prueba Rápida de Placa, es un buen elemento para realizar un diagnóstico rápido en bovinos, pero en caprinos no es muy recomendable, dado los bajos niveles de anticuerpos aglutinantes que presentan en la circulación sanguínea, ya que estos duran poco tiempo.

3.- Por los resultados encontrados en nuestra investigación, podemos concluir, que no hay una prueba de diagnóstico sencilla y confiable para la detección de Brucelosis caprina, por lo que queda abierto a la investigación científica el encontrar un método sencillo y eficaz para dar un buen diagnóstico a esta enfermedad.

BIBLIOGRAFIA

1. ALTON G. G., JONES L. M. and PIETZ D. E. (1975) *Laboratory techniques in Brucellosis*. World Health Organization, Monograph Series No. 55 2^a Ed.
2. ALTON G. G. (1973) *Brucellosis in goats and sheep*. Revista Mundial de Zootecnia. No. 5.
3. ANCHA N.P. and BORIS S. (1977) *Zoonosis y enfermedades transmisibles al hombre y a los animales*. O.P.S. - O.M.S.
4. ANDERSON R. K., JONES R., BRUNFIELD H. P. and GOUGH P. (1984) *Brucella agglutinating antibodies; relation of mercaptoethanol stability to complement fixation*. Science No. 143.
5. ANGULO B. y VILLA S. J. J. (1985) *Comparación entre las técnicas de extracción con fenol y ácido tricloroacético, para la obtención del antígeno Poli B, para el diagnóstico de Brucellosis bovina*. Memorias de la reunión de Investigación Pecuaría en México. México D.F.
6. BAKER P. J. and WILSON J. P. (1965) *Chemical composition and biological properties of endotoxin of Brucella abortus*. J. Bacteriol. No. 90.
7. BLOOD D. C. and HENDERSON J. A. (1985) *Medicina Veterinaria*. Ed. Interamericana. 5^a edición. México.
8. BRAUN W. and BONESTELL A.E. (1974) *Independent variation of characteristics in Brucella abortus variants and their detection*. Am. Jou. Vet. Res. No. 8.
9. BRUNER D. W. and GILLESPIE J. H. (1970) *Hagan. Enfermedades infecciosas de los animales domésticos*. 5^a Ed. La Prensa Médica Mexicana. México D.F.
10. BURROWS W. (1981) *Tratado de Microbiología* Ed. Interamericana 20^a ed. México D.F.
11. BRUXTON A. and FRASSER G (1977) *Animal Microbiology*. Vol

I Blackwell Scientific Publications 1st edition.

12. CASA OLASCOGA R. (1978) *Diagnóstico de la Brucelosis*. Zoonosis. O.P.S.-O.M.S. No 3-4 Vol. XVIII.
13. CARROLL J. A., MC. NAUGHT D. J., BOUKE A. A. and ALLA G. (1978) *The diagnostic efficiency of some serological test for bovine Brucellosis*. J. Hyg. No 80.
14. CIPRIAN G.A. (1978) *Repercusión económica de la Brucelosis en México*. Memorias sobre el fondo nacional de Brucelosis. I.N.I.P./E.N.E.P./U.N.A.M.
15. COMITE MIXTO F.A.O./O.M.S. *De expertos en Brucelosis* (1972) Sto. informe Ginebra, Suiza.
16. CORTES MEDINA LUZ MINERVA. (1978) *Comparación de los polisacáridos B, de tres cepas diferentes de Brucella melitensis, utilizados en el diagnóstico de Brucelosis bovina*. (Tesis de Licenciatura) México, D.F.
17. DAVIS B. DULVECO R., EINSEN N.H. (1978) *Tratado de Microbiología Salvat Editores*. Madrid, España.
18. DEL RIO AND BOSERRRAY N. (1973) *Campaña contra la Brucelosis en México: Antecedentes y estrategias*. Memorias sobre el foro nacional sobre Brucelosis.
19. DIAZ R. AND BOSERRRAY N. (1973) *Identificación d un composé antigénique spécifique de la phase rugosa (R) de Brucella*. Ann. Rech. Vet. 4:293-292.
20. DIAZ R. , JONES L.M., LEONG D., AND WILSON J.B. (1968) *Antigenic relation ship of the gram negative organisms causing canine abortion to smooth and rough Brucella*.
21. DIAZ R. , JONES L.M., LEONG D., AND WILSON J.B. (1968) *Surface antigens of smooth Brucella*. J. Bacteriol No. 98 (4)
22. DIAZ R. AND DORRONSORO T. (1971) *Contribución al diagnóstico serológico de Brucella y verminosis. I. Utilización de precipitación en gel*. Rev. Cli. Esp. No. 21
23. DIAZ R. AND LEVIEUX D. (1972) *Rôle respectif en serologie de la Brucellosis bovine des antigens et des immunoglobulins G et G₂ dans les test d agglutination, de*

Comb et Rose de Bengale ains que dans le phenomene de zone. Acad. Sci. No. 274

24. DIAZ R., GARATEA P., DIAZ L.M. AND MORIYON I. (1979) *Radial Immunodiffusion test with a Brucella polysacchride antigen for differentiating infected from vaccinated cattle.* J. Clin. Microbiol. No. 10 (1) 37-41.
25. DIAZ R., TOYOS J., SALVO M.D. AND PARDO M.L. (1981) *A simple method for the extraction of polysaccharide B, from Brucella cell for use in the radial immunodiffusion test diagnosis of bovine Brucellosis.* Ann. Rech. Vet. 12.
26. ENCICLOPEDIA SALVAT.(1962) Diccionario. Salvat. Ed. México.
27. EVANS A. C. (1934) *Choronic Brucellosis.* Jou. Amer. M.A. No 103
28. EVANS A.C. (1937) *Studies in choronic Brucellosis. I Introduction.* Pub. Health Rep. 52
29. EVANS A.C.(1936) *The choronic Brucellosis patient.* Am. Jou. of Nursing No. 39
30. FLORES CASTRO RICARDO (1978) *Caracteristicas de las Brucelas. Memorias sobre el foro nacional de Brucelosis.* I.N.I.P/E. N.E.P./U.N.A.M. México.
31. FLORES CASTRO RICARDO (1979) *La infección por Brucella melitensis en caprinos.* E.N.E.P. Cuautitlan.-U.N.A.M. México.
32. GALINA M. (1980) *Apuntes sobre las enfermedades de los ovinos y caprinos.* F.E.S.C./U.N.A.M., México
33. GUILLESPIE H.J. AND TIMONEY F.J. (1981) *Enfermedades infecciosas de los animales domésticos.* Ed. La Prensa Médica Mexicana, México.
34. HUDDLESON I.F. () *The importance of an increased CO₂ tension in growing Bact. abortus (Bang).* Scientific Proc. of the Soc. of American Bacteriologists 22 and Annual Meeting Abstracts of Bact. No. 9
35. JAWETZ E., MELNICK J.L. AND ADELBERG (1970) *Manual de Microbiologia* Ed. El Manual Moderno. México.
36. JONES L.M. AND BERMAN D.T. (1970) *Studies of Brucella lipopolysaccharide.* In. Reagany R.H., Hulse E.C. and

Valette L. Ed. International Symposium on Brucellosis II
Kappel, Basel No. 31

37. JUAREZ P.M. (1982) Empleo de antígenos solubles de *Brucella melitensis* y *Brucella abortus*, para diferenciar bovinos infectados, utilizando la prueba de Inmunodifusión radial doble. (Tesis) F.M.V.Z./U.N.A.M. México
38. JUBB K.V.F. AND KENNEDY P.C. (1979) *Pathology of domestic animals*. 2nd. ed. Academic Press. Vol. I New York.
39. LACAVE C.J., ASSELINEAU A.S. AND ROUX J. (1969) Comparasion chimique d'une fraction lipopolysaccharide et d'une fraction polysaccharide que isolees de *Brucella melitensis*. Eur. J. Biochem. No. 9
40. LEONG D., DIAZ R., MILNER K. (1970) Same structural and biological properties of *Brucella endotoxina*. Infect. Immun. No. 1
41. LEONG D., DIAZ R., AND WILSON J.J. (1968) Identification of toxic componente of *Brucella abortus* endotoxin and its lambing with radioactive chromate. J. Bacteriol. No. 95.
42. LOPEZ M.A., HITOS O.F., PEREZ H.A. Y ANGULO G. (1982) Patología pulmonar en fetos abortados por *Brucella abortus*. Memorias de la reunión de Investigación Pecuarias en México. México.
43. LOPEZ MERINO AHIDE (1984) *Tendencias en Brucelosis*. Revista de Medicina. Universidad Autónoma de Querétaro. No. 1
44. LOPEZ MERINO AHIDE, HERNANDEZ DE C.J.C. (1984) Estudio sobre el nivel de anticuerpos contra *BRUCELLA* spp. en la población minera de Palo Grande, municipio de Pinal de Amoles Querétaro. Revista de Medicina. Universidad Autónoma de Querétaro. No 1.
45. MANCERA M.A., CIPRIAN C.A., FLORES C. Y RAMIREZ P. (1981) Pruebas de serodiagnóstico en Brucellosis. Manual de técnicas de laboratorio. Ed. Patronato de apoyo a la investigación y experimentación pecuaria en México.
46. MANNINGER R. Y NOCSY J. (1973) *Patología y terapéutica especial de los animales domésticos*. 1ra. Ed. Labor.
47. MEMORIAS SOBRE EL FORO NACIONAL DE BRUCELOSIS. (1979)

I. N. I. P. / U. N. A. M. / E. N. E. P. México.

48. MERCHANT A.I. AND PACKER R.E. (1975) *Bacteriología y Virología Veterinaria*. 1a. reimpresión Ed. Acriba. España.
49. MEYER D.M., JONES L.M. AND VARELA DIAZ V.M. (1972) *Studies of antigens for complement fixation and gel diffusion test in the diagnosis of infection caused by Brucella ovis and other Brucellas* Appl. Microbiol. No. 23
50. MILES A.A. (1939) *The antigenic surface of smooth Brucella abortus and Brucella melitensis*. Brit. J. Exp. Path. No. 20.
51. MILLER R.B. (1977) *A summary of pathogenic mechanisms involved in brucellosis*. Can. Vet. J. No. 18 (4)
52. MORILLA G.A. Y BAUTISTA G.C. (1968) *Manual de inmunología*. Ed Diana México.
53. MORRIS FISHEBEIN M.D. (1967) *Enciclopedia Familiar de la Medicina y la Salud*. Ed. H.S. Stuttman Co. New York. U.S.A.
54. ONTIVEROS C.L. Y TENORIO G.C. (1984) *Avances en la utilización de la prueba de Inmunodifusión Radial con el antígeno polisacrido B de Brucella melitensis cepa Rev 1, para el diagnóstico de Brucelosis bovina. Memorias de la reunión de investigación pecuaria en México*.
55. PEREZ NUNEZ MA. ELENA (1982) *Estudio comparativo de Brucelosis caprina y de brucelosis humana en su frecuencia y distribución en la República Mexicana. 1974-1979*. (Tesis)
56. PIJOAN A.C. Y J.A. MONTERAZ. (1978) *Inmunidad contra Brucella. Memorias del foro nacional sobre Brucelosis*. I. N. I. P. / U. N. A. M. México.
57. RODRIGUEZ H.G.A. (1978) *Epizootiología de Brucelosis. Memorias de foro nacional sobre Brucelosis*. I. N. I. P. / U. N. A. M. México.
58. ROLDAN DUNCAN C.) *Veterinary Pathology*. Ed. Lea and Febiger. FIFTY ed.
59. RUIZ C.M. (1954) *Brucelosis. Un problema Universal*. Ed. La

Prensa Medica Mexicana, México.

60. RUIZ CASTANEDA MA. (1980) *Brucelosis*. Ed. La Prensa Medica Mexicana, México.
61. SCHJOEDER E.C. () *Bureau of animal industry investigations of bovine infectious abortion*. Jour. Am. Vet. Assoc. 60
62. SCHURRENBERGER R.D. (1981) *An outline of the zoonoses*. The Iowa State University Press, Ames, Iowa, U.S.A.
63. SIMPSON W.N. (1940) *Brucelosis*. Tice, practice of medicine. Vol. IV Hagerston. Md. W.F. Prior Co.
64. SMITH H.A., JONES T.C. AND HUND R.D. (1972) *Veterinary Pathology*. Ed. Lea and Febiger. Fourth edition. U.S.A.
65. SPINK W.M. AND MAGOFFIN R.L. (1980) *Clinical cours of human Brucellosis*. III Interamerican Congress of Brucellosis.
66. STITES D.P., FUNDER H.H., CADWELL J.L. AND WELL J.B. (1980) *Basic and Clinical Immunology*. Lange Medical Publications.
67. TIZARD R.I. (1979) *Inmunologia Veterinaria*. Ed. Nueva Interamericana. México.
68. TORRE L.E. Y GOJON DE LA GARZA F. (1970) *Incidencia de la Brucelosis caprina en Tamaulipas*. Salud Pública de México. Epoca V. 12 (3)
69. VIDEAL C. (1948) *Monografías Médicas Argentinas*. Brucelosis. año 1 No. 8 Buenos Aires. Argentina.
70. WAYNE W.D. (1979) *Biostatística: Bases para el análisis de las ciencias de la salud*. Ed. Limusa. México.
71. WILSON G.S. AND MILES A.A. (1938) *The serological diferentiation of smooth strains of Brucella group*. Brit. J. Exp. Path. No. 13'.