

277

2ej



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

**AISLAMIENTO Y TIPIFICACION DE
Brucella spp A PARTIR DE
MUESTRAS DE LECHE DE BOVINOS
EN EL TROPICO SUBHUMEDO DEL
EDO. DE GUERRERO.**

**Tesis presentada para la obtención
del título de
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA
ante la División de Estudios Profesionales
de la
Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia
de la
Universidad Nacional Autónoma de México**

Por

Eurídice Amalia Salgado García

**ASESORES: MVZ. M.S.P. Carlos J. Jaratillo A.
MVZ. Hugo Fragoso Sánchez
G.S.P. Jaime García Romero
Q.F.B. Luz Sandra Sánchez D.**

MEXICO, D. F.

1991



**TESIS CON
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.

CONTENIDO

	<u>Página</u>
RESUMEN	1
ANTECEDENTES	3
MATERIAL Y MÉTODOS	9
RESULTADOS	15
LITERATURA CITADA	21
ANEXO 1	26
CUADROS	27
FIGURAS	30

SALGADO GARCIA EURIDICE AMALIA. Aislamiento y tipificación de Bruceella spp a partir de muestras de leche de bovinos en el trópico subhúmedo del Edo. de Guerrero. Asesores: M.V.Z. M.S.P. Carlos J. Jaramillo A., M.V.Z Hugo Fragoso S. E.S.P. Jaime García R., Q.F.B. Luz Sandra Sanchez D. México, 1991.

R E S U M E N

El propósito del presente estudio fue determinar la prevalencia de la brucelosis por hato y por animal, y aislar e identificar Bruceella spp de la leche de los animales identificados como positivos. Se analizaron muestras de leche (n=323) y sangre (n=323) de bovinos dedicados a la producción láctea de 63 conglomerados pertenecientes a 5 municipios de la región de Tierra Caliente del Edo. de Guerrero. Mediante la detección de anticuerpos contra Bruceella spp se estableció con la prueba de anillo en leche una prevalencia por hato de 52.38% con un rango de 42.84-75% siendo los extremos Cutzamala y Arcelia respectivamente. Se observa que aun cuando el mayor número de hatos positivos se encontró en Coyuca (11 hatos), la mayor tasa se presentó en Cutzamala (75%) y Tlalchapa (66.67%). La prevalencia de la enfermedad por animal mediante la prueba de Rosa de Bengala fue de 16.72% con rangos de 5.32-24.79% correspondientes a Cutzamala y Coyuca respectivamente y

con la prueba de Aglutinación Lenta en Tubo una prevalencia de 17.03% con rangos de 30.30% para Altamirano y 7.45% para Cutzamala. Las prevalencias encontradas son muy superiores a lo reportado para la misma región por otros investigadores. Todas las muestras de leche analizadas resultaron negativas al aislamiento del microorganismo. Se sugiere la implementación de programas de vigilancia y control a fin de reducir las probabilidades de infección para la población consumidora.

ANTECEDENTES

La brucelosis es una infección del grupo de las zoonosis que afecta a los animales domésticos, particularmente bovinos, cabras y cerdos, y que en determinadas circunstancias puede transmitirse al hombre(1,4). Los agentes etiológicos de la brucelosis son bacterias del género Brucella spp y son 6 las especies conocidas; B. abortus (9 biotipos), B. suis (4 biotipos), B. melitensis (3 biotipos), B. ovis, B. neotomae y B. canis. (6,23,24,25,29,30) En el bovino, la principal especie aislada es la B. abortus pero también se han aislado de otros huéspedes menos comunes como la oveja, cabra, cerdo, perro, caballo y hombre(19,29,30,32). En México se ha comunicado el aislamiento en tejidos y leche de 5 de las especies de Brucella spt B. melitensis, B. abortus, B. suis, B. ovis y B. canis(17,37,40,41). En 1981 en un estudio realizado por el Centro Nacional de Salud Animal de Santa Ana Tecámac, México, se encontró que los biotipos de B. abortus que prevalecían en muestras de leche eran el biotipo 1(57.5%), biotipo 4(35%), biotipo 2(2.5%) y biotipo 9(2.5%). Para el período 1981-1982, el biotipo aislado con mayor frecuencia de muestras de leche fué el 4(53.6%) y en ningún caso se aisló cepa vacunal. La incidencia de aislamiento de Brucella spp fué del 35.8% en 1981 y del 31.8% en 1982 también en muestras de leche. En 1981 se aisló el biotipo 4 en un 35% de las cepas obtenidas observándose un incremento para 1984 con una incidencia del 50%.(3)

PÉRDIDAS ECONÓMICAS

Las pérdidas de productividad causadas por este mal pueden tener gran importancia, en parte debido a baja en la producción de leche a causa de abortos de las vacas(1,4). La infertilidad como secuela frecuente aumenta el período entre partos hasta varios meses y como consecuencia un aumento entre los períodos de lactancia; existe también pérdida de becerros y obstáculos en los planes de crianza de los ganaderos por los problemas de infertilidad, además de complicaciones como retención placentaria y metritis que llegan hasta provocar muertes de animales valiosos(1,4,10,19). La infertilidad puede ocasionar pérdidas del 10 al 25% en la producción de leche, por la interrupción del período de lactancia debido al aborto y concepción demorada(1,4,10). Oficialmente se estima una pérdida anual cuantificada para América Latina de aproximadamente 600 millones de dolares por esta enfermedad(1). Para el país según estimaciones de la Dirección General de Sanidad y Protección Agropecuaria y Forestal de la S.A.R.H. para el año 1987, la brucelosis ocasionó pérdidas anuales en el ganado bovino lechero de 1,015.8 millones de pesos(18).

IMPORTANCIA EN SALUD PÚBLICA

La brucelosis humana es una consecuencia de la brucelosis animal puesto que el animal enfermo o infectado es la principal fuente de infección para el hombre(8); éste se infecta de los animales por contacto directo o indirectamente por la ingestión de productos de origen animal principalmente leche y quesillos frescos crudos o mal procesados, como también por la inhalación de aerosoles infectantes(1,8,13). La brucelosis es pues, ante todo, una zoonosis del tipo de las antropozoonosis. En áreas enzoóticas de brucelosis bovina y porcina predomina el modo de transmisión por contacto. La brucelosis humana es en gran parte una enfermedad ocupacional de obreros pecuarios, personal de mataderos, carniceros y Médicos Veterinarios(18,33,36). No obstante actualmente no sólo afecta a esta población sino también a la considerada de bajo riesgo, esto debido a falta de control sanitario de la calidad de los productos lácteos de consumo ordinario en la población(1). Desde el punto de vista médico, económico y de salud pública, la frecuencia de la enfermedad en los humanos, su duración y sus secuelas, el diagnóstico y tratamiento, suponen elevados costos directos e indirectos. Por ello, la lucha frente a la enfermedad humana se basa esencialmente en las medidas de sanidad tendientes a la prevención, control o erradicación de la enfermedad en los animales(8). Durante el período 1974-1983 el I.M.S.S.

reportó un total de 30,703 casos de brucelosis humana, con una tasa promedio de 15 por cada 100,000 habitantes, en tanto que para el periodo 1960-1985, la S.S.A. reportó tasas de infección humana que fluctuaban entre 0.8 y 5.7 por cada 100,000 habitantes(18). En ganado bovino las tasas oscilaban entre 0.3 y 15.9% durante el periodo 1971-1977. Durante 1981-1987 se identificó en ganado productor de leche, un total de 38,872 casos, con un promedio anual de 82,328 animales muestreados. En este periodo las tasas de la enfermedad observadas fluctuaron entre 4.7 y 11%(18).

DIAGNÓSTICO

La brucelosis es una de las enfermedades que cuenta con mayor número de pruebas diagnósticas, éstas se clasifican en 3 grupos: las bacteriológicas, orientadas al aislamiento y tipificación del organismo, las serológicas dirigidas a la detección de inmunoglobulinas específicas y las intradérmicas con base en la respuesta celular(11,27,35). El aislamiento y tipificación es el más seguro e indiscutible de los métodos para el diagnóstico de la brucelosis, ya que el crecimiento de la bacteria es la confirmación de los demás diagnósticos, que en un momento dado pasan a ser sujeto de comprobación por medio del aislamiento(32). Para ello se usan medios sólidos, líquidos y bifásicos. Las secreciones de la ubre son fuentes adecuadas para el aislamiento de Brucella spp.(2,13) Las colonias sospechosas

de esta bacteria se identifican por sus requerimientos de CO₂, sensibilidad a la fucsina, tionina, penicilina, eritritol, lisis por fago tbilisi y aglutinación con suero mono-específico A y M, además de las pruebas bioquímicas convencionales (7,32). De las pruebas serológicas la rápida en tarjeta con antígeno Rosa de Bengala tiene validez cualitativa y es utilizada ampliamente como prueba de tamiz para estudios en masa (2,7,11,12,13,). La prueba de aglutinación estándar en tubo detecta las inmunoglobulinas específicas totales (IgM e IgG) del suero, y la aglutinación en tubo en presencia de 2-mercapto-etanol se emplea para revelar anticuerpos de la clase IgG, ya que los de la clase IgM se inactivan por el tratamiento con 2-mercapto-etanol (7,11,12,13). La prueba del anillo en leche se utiliza para detectar la presencia de anticuerpos en la leche de animales infectados. (3,11,13,30,39) Esta prueba es un método colectivo para el diagnóstico de la brucelosis, que puede brindar información general sobre la enfermedad de una determinada área. (13,39) También nos puede conducir a falsos negativos pues no todos los animales infectados con Brucella spp tienen infectada la ubre. Así, tenemos que animales que dan reacciones negativas a la prueba del anillo en leche, pueden ser también reactores positivos a la seroaglutinación. Esto puede suceder de manera inversa. Lo anterior está demostrado, ya que los anticuerpos de la leche y del torrente sanguíneo funcionan en forma independiente,

de esta manera dependiendo de la localización de las brucelas se podrán detectar los anticuerpos(7,13).

La importancia de efectuar el aislamiento es de carácter epidemiológico, ya que permite conocer los diferentes biotipos que prevalecen en nuestro medio, y cuando existen programas de vacunación se puede, por medio de la serología o el aislamiento, detectar en un momento determinado algún animal que esté eliminando la cepa vacunal a través de la leche(3). En la región de Tierra Caliente del Edo. de Guerrero se sabe que existe una prevalencia de brucelosis del 15% entre los bovinos, sean estos de carne o leche (38), es conocido además que no se llevan a cabo programas de vacunación ni de control para esta enfermedad. Por ello se ha considerado necesario realizar estudios en los bovinos productores de leche con miras a aislar el microorganismo e identificar su biotipo, tendiente esto a proponer medidas de control sobre la enfermedad en la región.

MATERIAL Y MÉTODOS

POBLACIÓN BAJO ESTUDIO.

La población bajo estudio estuvo constituida por las hembras en producción de explotaciones bovinas de doble propósito ubicadas en la región de Tierra Caliente del Edo de Guerrero (Figuras 1 y 2).

UBICACIÓN ESPACIAL

El trabajo de campo se realizó en las explotaciones seleccionadas que se hallaban en 5 de los 9 municipios que constituyen la citada región: Altamirano, Arcelia, Coyuca, Cutzamala y Tlalchapa. Todos ellos con condiciones ecológicas y de productividad animal homogéneas. El municipio de Tlalchapa fue incluido en reemplazo de Tlapehuala debido a que los propietarios de las explotaciones en este municipio no accedieron al muestreo (Figura 2).

DISEÑO MUESTRAL

TAMAÑO DE LA MUESTRA

Considerando que la población lechera en Tierra Caliente es de aproximadamente 4,605* animales que integran unos 307 ranchos con 15 animales en promedio; el número de hatos a muestrear se determinó por el método propuesto por Levy y Lemeshow(16,31), aplicando la siguiente fórmula:

$$n = \frac{(Z)^2 (N) (P_y) (1-P_y)}{(Z)^2 (P_y) (1-P_y) + (N-1) E^2}$$

en donde: P_y : prevalencia observada

Z: valor en tablas de la distribución normal estandarizada

E: error de estimación aceptable en el muestreo.

N: tamaño de la población bajo estudio.

De esta manera con valores de $P_y=0.15(38)$, una confiabilidad igual al 95% por lo tanto $Z= 1.96$, $E=.1$ el número de conglomerados a muestrear fue de 42, seleccionados en forma proporcional en los 5 municipios señalados.

El muestreo se diseñó en dos etapas. En la primera se seleccionaron aleatoriamente los conglomerados a muestrear y de cada uno de ellos se tomó una muestra de leche para la prueba de Bang. En la segunda etapa en todos aquellos hatos que resultaron positivos se obtuvieron de todas las vacas en

*El número de animales destinados a la producción lechera se determinó a partir de información proporcionada por el Distrito de Desarrollo Rural para tierra caliente con cabecera en Cd. Altamirano.

producción muestras de leche para bacteriología y de sangre para las pruebas serológicas(7). El diseño se esquematiza en el anexo 1.

TOMA DE MUESTRAS

Para prueba de anillo en leche.

Se utilizaron 63 conglomerados, excediendo el número establecido de 42 conglomerados.

La leche para esta prueba se obtuvo de los botes colectores al final del ordeño, llevándose a cabo según la técnica descrita por Alton (2).

Para aislamiento .

Las muestras de leche se obtuvieron directamente de la ubre de los animales al momento del ordeño previa limpieza de la glándula y eliminación de los primeros chorros del despunte.

Se tomaron aproximadamente 10 ml de leche por cuarto de ubre muestreada y se depositaron en frascos con tapaderas, previamente esterilizados.

A fin de tener un margen de seguridad, dada la intermitencia de la eliminación de la brucela por leche (3,4,27,28), se hicieron hasta 2 muestreos con un intervalo de hasta 15 días en los hatos cuyos propietarios lo permitieron.

Para serología

Las muestras de sangre se obtuvieron por venopunción, previa desinfección de la zona y se depositaron en viales estériles obteniéndose igual número de muestras de sangre que de leche.

Una vez obtenidas las muestras de leche como de sangre, se identificaron con claves específicas del rancho, población y número de animal, a efectos de tener un control sobre la procedencia de las muestras.

Transporte y conservación de muestras

Tanto las muestras de leche como de sangre fueron transportadas a temperatura de refrigeración (4C aprox.) en cajas isotérmicas hasta el laboratorio donde se realizaron las pruebas.

La leche para la prueba de Bang se transportó en refrigeración y así se conservó durante 24 a 48 horas antes de realizar la prueba .

Las muestras de sangre se centrifugaron al llegar al laboratorio y los sueros obtenidos se conservaron a temperatura de congelación, al igual que las muestras de leche para aislamiento, hasta el momento de ser procesadas.

Procesamiento de muestras

Las pruebas de anillo en leche (Bang), aglutinación con antígeno Rosa de Bengala (A.R.B.) y aglutinación lenta en tubo (A.L.T.) se realizaron según la técnica descrita por Alton (2)

La mitad de los sueros se trabajaron con la prueba de A.L.T., y la otra mitad con microaglutinación lenta en tubo (M.L.T.) en razón a que esta última requería una cantidad 10 veces menor de antígeno, lo que proporcionaba un ahorro considerable en el material y costo.

Aislamiento.

Se sembraron 4 placas por muestra de leche, 2 en medio Agar Soya Tripticasa más suero de caballo al 5% (AST) y 2 en medio Farell (MF) (2,32), destinando una placa de cada medio a crecimiento en presencia de 5-10% de CO₂ y otro juego igual de placas a un crecimiento en atmósfera normal. Esto debido a que hay cepas de las diferentes biovariedades de la bacteria que tienen distintos requerimientos de crecimiento (2,32).

Las siembras fueron revisadas durante por lo menos 15 días consecutivos para encontrar colonias sospechosas o bien para determinar las placas que serían desechadas por ausencia de crecimiento.

Las colonias que se identificaban como sospechosas por su morfología, se procedía a realizar su resiembra, frotis con

coloración de Gram y aglutinación con suero polivalente antibrucella , a fin de determinar las características microscópicas y antigénicas del microorganismo.

Si el motivo del desecho era el crecimiento exagerado de microorganismos competidores se procedía a la resiembra de la muestra. La técnica de aislamiento se realizó según lo propuesto por López M. (32).

RESULTADOS.**A) Prevalencia de Rebaños infectados.**

Se realizó la prueba de Bang en 63 hatos, encontrándose 33 hatos positivos, que representan una prevalencia de 52.86%, con un rango del 75 al 42.84% en los 5 municipios, siendo los extremos Cutzamala y Arcelia respectivamente. (ver cuadro 1).

B) Prevalencia de Brucelosis por Animal.

1) Prueba de Aglutinación con antígeno Rosa de Bengala (A.R.B.).

La prevalencia observada fue de 16.72% con porcentajes que van de 24.79 a 5.32 correspondientes a Coyuca y Cutzamala (ver cuadro 2)

2) Prueba de Aglutinación Lenta en Tubo (A.L.T.).

La prevalencia observada fue de 17.03% con el porcentajes que van de 30.30 para Altamirano y de 7.45 para Cutzamala (ver cuadro 2).

C) Aislamiento Bacteriológico.

Todas las muestras analizadas resultaron negativas. Aun cuando se llegaron a detectar algunas colonias sospechosas, en ninguna de ellas fue posible identificar la brucela.

DISCUSIÓN

La prevalencia encontrada por hato (52.86%) fue muy superior a lo reportado por Reyes en 1986 (15.4%) para la misma región(38), aun cuando el tiempo transcurrido entre los estudios es poco para explicar dicha diferencia, se considera que la mayor prevalencia encontrada se debe a que el presente estudio abarcó solamente los bovinos productores de leche. Es importante hacer notar que el mayor número de hatos positivos se encontró en Coyuca (11 hatos), no obstante que la mayor tasa se presentó en Cutzamala (75%) y Tlalchapa (66.67%), lo que significa que la enfermedad se encuentra más difundida en estos dos municipios (ver cuadro 1).

En cuanto a las prevalencias por animal encontradas en las pruebas serológicas de Rosa de Bengala (A.R.B.) y Aglutinación Lenta en Tubo(A.L.T.), los porcentajes también superaron a lo reportado para la misma región en 1986(38). En cuanto a las pruebas de A.R.B. y A.L.T. se encontró que las tasas de infección por animal fueron mayores en los municipios de Coyuca (24.79 y 22.22%) y Altamirano (24.24 y 30.30%) (ver cuadro 2). Los resultados a estas dos pruebas son muy significativos, sobre todo si se tiene en cuenta que en la A.L.T. los títulos variaron de 1:25 hasta 1:100 encontrando que la mayoría fueron de 1:25 (65.22%) (Cuadro. 3), esto aunado al hecho de que en la region no se vacuna contra la brucelosis, es posible descartar la

posibilidad de títulos vacunales y concluir sobre la presencia de la enfermedad, coincidiendo con lo ya reportado por Reyes (38).

Dichas prevalencias se pueden considerar altas al igual que en otras zonas del país (8,9,20,26,33), esta situación puede tener una explicación en las condiciones socio-económicas predominantes en las explotaciones bovinas de la región.

Uno de los factores que se debe resaltar es la permanente entrada de animales, principalmente como pie de cría, procedentes de regiones con prevalencias altas en brucelosis bovina como son los Estados de México, Queretaro y Veracruz (8,9,20,26,33,42). Aunado a esto predominan prácticas de manejo muy rudimentarias tales como: la ordeña manual, ausencia de lavado y desinfección de ubres y manos del ordeñador, ausencia de medidas de prevención y control específicas para la enfermedad, intercambio y préstamo de animales, entre otros; todo lo cual puede estar propiciando la entrada y posterior diseminación de la enfermedad entre los hatos de la región.

Todo esto coincide con lo mencionado por diversos autores como algunas de las principales formas de transmisión de la enfermedad (1,30,41,43,44); no obstante que se señala que el medio ambiente debería contribuir para una baja prevalencia debido a las altas temperaturas, la intensidad de la

radiación solar y el pH fluctuante de los suelos de la región (38).

Teniendo en cuenta que algunas de las alteraciones en la ubre, como el caso de la mastitis, pueden dar falsos positivos a la prueba de anillo en leche (7,12,13,21,22,28,45) y que se han comprobado reacciones cruzadas entre *Brucella* y otras bacterias como *Yersinia enterocolitica*, *E.coli* y *Pasteurella multocida*(5,14,15,34), entre otras; todo lo cual podría originar falsos positivos que llevarían a cifras artificialmente altas, además de la prueba de anillo en leche por hato, se realizaron las pruebas serológicas ya señaladas (A.R.B.,A.L.T.) según técnicas estandarizadas (2,32) y como lo propone el Comité Mixto FAO-OMS de Expertos en Brucelosis (13), todo lo cual permitió tener un margen de confiabilidad suficientemente amplio respecto a los resultados de las pruebas serológicas. Si bien es cierto que el aislamiento bacteriológico es la prueba fehaciente de la presencia de *Brucella* y es por ende la prueba confirmatoria de todas las demás, no fue posible aislar el microorganismo. Al respecto pudiera pensarse que como la brucela se elimina de manera intermitente a través de la leche, dependiendo de la etapa de la enfermedad, quizá la toma de las muestras de leche coincidió con una etapa de baja o nula eliminación del microorganismo. Otro factor a considerar, el cual no se constató, es la aplicación de algún tratamiento antimicrobiano reciente o durante el

muestreo que pudiera haber inhibido el desarrollo de la *Brucella*.

No obstante, si el aislamiento del microorganismo asegura la presencia de la enfermedad, la ausencia de este no asegura lo contrario.

Por otra parte, hay que resaltar la importancia de la detección de la brucelosis bovina especialmente en la región, dado que no existe ninguna planta pasteurizadora que permita la industrialización y envasado adecuado para una posterior comercialización, luego entonces el consumo de leche y sus derivados es en forma cruda. Aún cuando en los hogares se someta la leche al proceso de hervido, es sabido que esto puede no ser suficiente para eliminar todas las bacterias viables; todo lo cual incrementa el riesgo de infección para la población consumidora.

Lo anterior permite sugerir que es necesaria la difusión de medidas zootécnicas y sanitarias generales entre los propietarios y encargados de los establos destinados a la producción de leche fresca, dado que las condiciones de producción existentes en la región no garantizan la calidad del producto.

La prevalencia y la distribución de la enfermedad encontradas en la población animal, tanto la reportada por otros estudios como la encontrada en el presente, es una clara evidencia de la presencia de los factores de riesgo para la población humana tanto de bajo, como de alto riesgo

y justifica el llevar a cabo un diagnóstico situacional de la brucelosis en dicha población de la región, para la posterior aplicación de un programa de vigilancia y control, a fin de reducir al máximo las probabilidades de infección para la población consumidora.

LITERATURA CITADA.

- 1.- Acha, P.N.: Zoonosis y Enfermedades Transmisibles comunes al hombre y los animales domésticos. OPS-OMS. Washington. 1986.
- 2.- Alton, G.G., Jones, M.L.: Laboratory techniques in brucellosis, 2nd. Ed. FAO-WHO. Geneva. 1975.
- 3.- Angulo, B.G., García, Z.S.: Estudio retrospectivo sobre los diferentes biotipos de Brucella abortus aislados en el Centro Nacional de Salud Animal de Santa Ana Tecamac, México (SARH). Memorias del II Foro Nacional de Brucelosis. México, D.F. 1988. Fac. Med. Vet. y Zoot., U.N.A.M., CANIFARMA, México, D.F. (1988).
- 4.- Blood D.C. et. al.: Medicina Veterinaria 6a. Ed. Interamericana. México, D.F. 1986.
- 5.- Bundle, D., Gidney, M.A., Ferry, M.B., Duncan, J.R. and Cherwonogrodzky, J.W.: Serological confirmation of Brucella abortus and Yersinia enterocolitica O:9 D- antigens by monoclonal antibodies. Infection and immunity. 16 (12):389-393 (1984).
- 6.- Carpenter, P.L.: Microbiología 4a. Ed. Interamericana. México, D.F. 1982.
- 7.- Casa-Olascoaga, R. Diagnostico serológico de la brucelosis. CEPANZO. OPS-OMS. Buenos Aires. Argentina.
- 8.- Casillas F.M.: Impacto de la Brucelosis en la salud pública en México. México D.F. 1988. Fac. Med. Vet. y Zoot., U.N.A.M., S.A.R.H., CANIFARMA, México. D.F. (1988)
- 9.- Castro, B.C.O.M.: Prevalencia de brucelosis bovina en el municipio de Cosamaloapan, Ver. Tesis de Licenciatura. Fac. Med. Vet. y Zoot. Universidad Veracruzana. Veracruz, Ver. 1979.
- 10.- Castro R.J.: Pérdidas económicas que provoca Brucella abortus en el ganado bovino de la sindicatura de El Dorado, Sinaloa. Tesis de Licenciatura. Esc. Med. Vet. y Zoot. Universidad Juárez del Edo. de Durango.
- 11.- CEPANZO. Pruebas suplementarias para el diagnóstico de brucelosis. Nota técnica No. 25 OPS-OMS. 1982
- 12.- Ciprián, C.A. Rodríguez, V.M.: Diagnóstico serológico de brucelosis y su interpretación. Memorias del II Foro Nacional de Brucelosis. México D.F. 1988. Fac. Med. Vet. y Zoot., U.N.A.M., S.A.R.H., CANIFARMA, México, D.F. (1988).

13.- Comité mixto FAO/OMS de expertos en brucelosis.: Sexto Informe OMS, Ginebra Suiza, 1986.

14.- Corbel, M.J.: Serological cross reactions between Brucella species and organisms of other genera. WHO-BRUC, 82-372, 1-12

15.- Corbel M.J. and Cullin, G.A.: Diferentiation of the serological response to Yersinia enterocolitica and Brucella abortus in cattle. J. Hyg. Camb. 68: 519-531 (1970).

16.- Daniel, W.: Biestadística. Base para el análisis de las ciencias de la salud. LIMUSA, México D.F. 1983.

17.- De La Peña, M.A., Fraire, C.M., Feldman, S.D.: Informe de un brote de epididimitis en carneros asociado a Brucella ovis: Estudio bacteriológico y serológico. Vet. Mex. 18: 151-152, 1987.

18.- Del Río V.J. Importancia de la brucelosis en México. Memorias del II Foro Nacional de Brucelosis. México D.F. 1988. Fac. Med. Vet. y Zoot. U.N.A.M., S.A.R.H., CANIFARMA, Mexico, D.F. (1988).

19.- Diaz S.L.: Contribucion al estudio de la incidencia de brucelosis en el ganado bovino del agostadero en los municipios de Cuecama y Durango. Tesis de Licenciatura. Esc. Med. Vet. y Zoot. U.J.E.D. Durango, Dgo. 1971.

20.- Duarte, F.R.: Contribución al estudio de la incidencia de la brucelosis en el municipio de Jesús Carranza, Ver. Tesis de Licenciatura. Fac. Med. Vet. y Zoot. Universidad Veracruzana, Veracruz, Ver. 1970.

21.- Flores, C.R. Características de la brucelosis en los bovinos. Memorias del II Foro Nacional de Brucelosis. México, D.F. 1988. Fac. Med. Vet. y Zoot. U.N.A.M., S.A.R.H., CANIFARMA, Mexico, D.F. (1988)

22.- Fragoso, S.H.: Modelo epidemiológico, estudio de prevalencia y pérdidas económicas de la mastitis en la región de Tierra Caliente del Edo. de Guerrero. Tesis de Licenciatura. Fac. Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F. 1985.

23.- Gonzalez, S.N.: Infectología clínica pediátrica. 3a. Ed. Trillas. México, D.F. 1987.

24.- Hagan, W.A., Bruner, W.D., Gillespie, H.J., Timoney, F.J.: Enfermedades infecciosas de los animales domesticos. 4a. Ed. La Prensa Medica Mexicana. Mexico, D.F. 1983.

25.- Hawler, L.E. et.al.: Elementos de Microbiología general. Acribia. Zaragoza España. 1964.

26.- Hernández, M.G.: Contribución al estudio de prevalencia y control de la brucelosis en el ganado bovino productor de leche en el municipio de Durango, en el año de 1978. Tesis de Licenciatura. Esc. Med. Vet. y Zoot. U.J.E.D., Durango, Dgo. 1980.

27.- Hitos, F., et.al.: Aislamiento de Brucella abortus biotipos 1,2,4,7 y 9 a partir de muestras de leche procedentes de bovinos holstein adultos revacunados con dosis reducida de la cepa 19 y su relación con la prueba de Fijación del Complemento. Rev. Vet. Mex.; 14(1):35-38 (1983).

28.- Huber, J.D.; Nocoletti, P.: Comparison of the results of card, rivanol, complement-fixation, and milk ring test with the isolation rate of Brucella abortus from cattle. Am.J.Vet.Res. 47 (7): 1529-31. (1986)

29.- Jawetz, E., Melnick L.J., Adelberg, A.E.: Microbiología Medica. 10a. . El Manual Moderno. Mexico, D.F. 1983.

30.- Lagarda, B.B. y Calderon, T.R.: Brucelosis. Centro de Investigación Pecuaria del Estado. I.N.I.P. Bol. C.I.P. 001: pag: 1-4 (1975)

31.- Levy, S.P., Lemeshow, S.: Sampling for health professional. Lifetime learning pub. Belmont, California U.S.A. pp. 53-56. 1980.

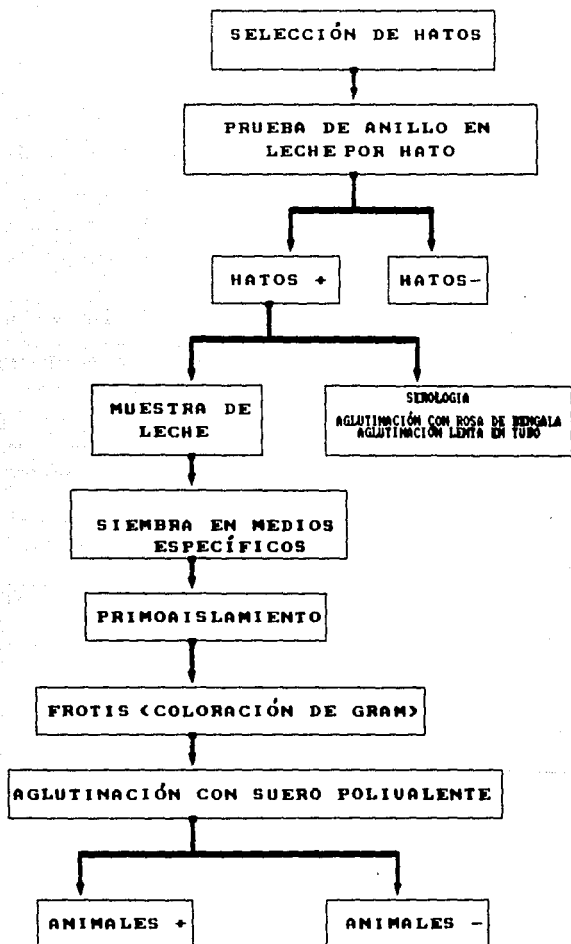
32.- López, M.A.: Manual de procedimientos de laboratorio para brucelosis. Secretaría de Salud. Subsecretaría de Servicios de Salud. Dirección General de Epidemiología. 1987

33.- Luna. M. E.: Estudio de la brucelosis en hatos lecheros y su producción lactea en el municipio de Ciudad Nezahualcoyotl, Estado de Mexico. Tesis de Licenciatura. Fac. Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autonoma de México, Mexico D.F. 1989.

- 34.- Mittal, K., Tizard, I. and Barnum, D.: Serological cross reactions between Brucella abortus and Yersinia enterocolitica O:9. Int. J. Zoon. 12: 219-227 (1985).
- 35.- Nicoletti, F. and Milward F.: Protection by oral administration of Brucella abortus strain 19 against and oral challenge exposure with a pathogenic strain of Brucella. Am.J.Vet.Res. 44: 1641-1643, 1983.
- 36.- Paulin, B.E., et.al.: Estudio comparativo de varios antígenos para el diagnóstico de brucelosis humana en grupos de alto riesgo. Tesis de Licenciatura. FES. Cuautitlán. Cuautitlán Izcalli, Edo. de Mexico. 1984.
- 37.- Pérez, E., Flores, C.R., De la Higuera, J.A. y Trigo, T.F.J.: Diagnóstico y descripción de un brote de epididimitis ovina en México originado por Brucella ovis. Vet.Mex. 10 : 221-226 (1979)
- 38.- Reyes, F.D.: Elaboración de un modelo epizootológico y estudio de prevalencia de brucelosis bovina en la región de Tierra Caliente, Gro.. Tesis de Licenciatura. Fac. Med. Vet. y Zoot. U.N.A.M. Mexico, 1984.
- 39.- Roepke, M.H. Stiles, F.C.: Potential efficiency of milk test for detection of brucellosis. Am.J.Vet.Res. 31: 2145-2149, (1983).
- 40.- Ruiz, C.M.: Brucelosis 3a. Ed. La Prensa Medica Mexicana. Mexico, D.F. 1986.
- 41.- Salman, M.: Epidemiología de la Brucelosis bovina en la región costera de Baja California Norte, Mexico. Prev.Vet. Med. 4: 485-502. (1987).
- 42.- Secretaria de Agricultura y Recursos Hidraulicos.: boletín epizootológico. Subsecretaria de Ganadería. Dir. Gral. de Sanidad Animal. S.A.R.H. No.81:1-2 (1981)
- 43.- Smith, H.A. and Jones, T.C.: Veterinary Pathology. 4th.Ed. LeaFebeger. Philadelphia. 1972.
- 44.- Shilf, E.:Epidemiología de la brucelosis. Ins. Nac. de Higiene. Vol. VII: 1-5 (1974).

45.- Sutra, L. Caffin, J.F.: Dubray, A.: Role of milk immunoglobulins in the Brucella milk ring test. Vet. Microbiol. 12 (4): 359-66 (1986).

Anexo 1. FLUJO DE PROCESAMIENTO



Cuadro 1. Hatos positivos a brucelosis bovina en ganado lechero en 5 municipios del trópico subhúmedo del Edo. de Guerrero, 1990. (*)

MUNICIPIO	#HATOS	+	%
ALTAMIRANO	12	6	50.00
ARCELIA	14	6	42.86
COYUCA	23	11	47.83
CUTZAMALA	8	6	75.00
TLALCHAPA	6	4	66.67
TOTAL	63	33	52.38

* Prueba de Bang

Cuadro 2. Frecuencia de brucelosis bovina en ganado lechero en 5 municipios del trópico subhúmedo del Edo. de Guerrero. 1990.

MUNICIPIO	# ANIMALES	+ ARB	%	+ALT	%
ALTAMIRANO	33	8	24.24	10	30.30
ARCELIA	27	4	14.81	3	11.11
COYUCA	117	29	24.79	26	22.22
CUTZAMALA	94	5	5.32	7	7.45
TLALCHAPA	52	8	15.38	9	17.31
TOTAL	323	54	16.72	55	17.03

ARB; AGLUTINACIÓN CON ROSA DE BENGALA
 ALT; AGLUTINACIÓN LENTA EN TUBO

Cuadro 3. Frecuencia de brucelosis bovina según el título de anticuerpos en ganado lechero en 5 municipios trópico subhúmedo del Edo. de Guerrero. 1990. (*)

TITULO	# REACTORES	%
1:25	45	65.22
1:50	18	26.09
1:100	6	8.70
TOTAL	69	100.00

*Agglutinación lenta en tubo

FIGURA 1
UBICACION GEOGRAFICA DE LA REGION DE TIERRA CALIENTE
(ESTADOS DE MEXICO, MICHOACAN Y GUERRERO)

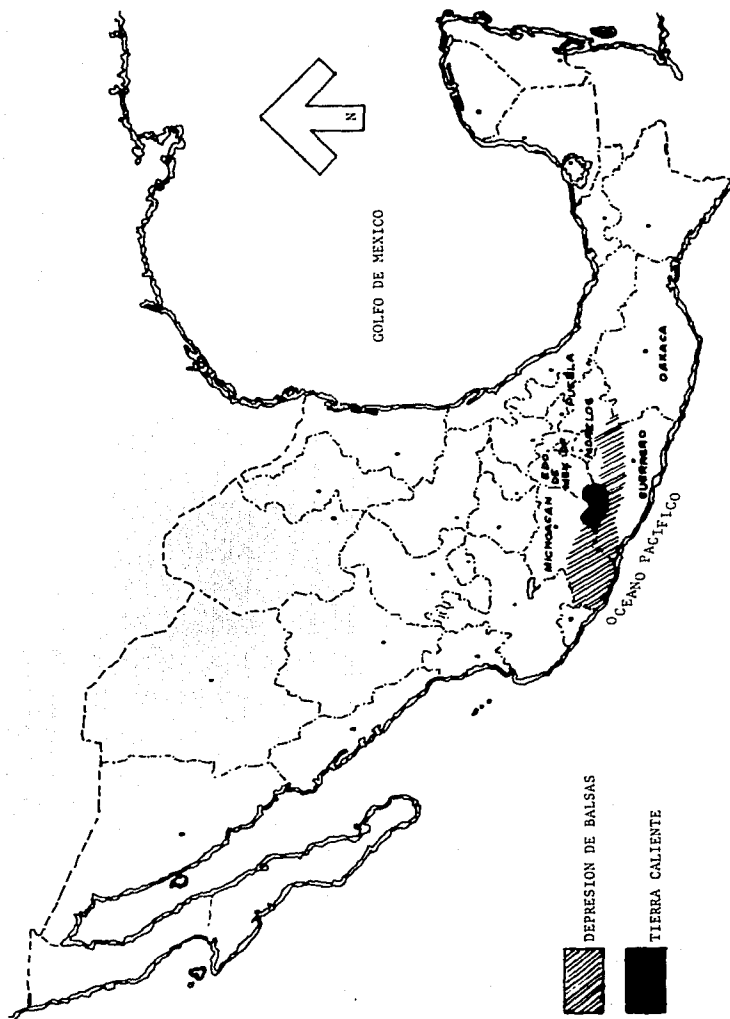


FIGURA 2
CONFORMACION POLITICA DE LA TIERRA CALIENTE DEL EDO. DE GUERRERO

