



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

TITULACION DE ANTICUERPOS CONTRA
BRUCELOSIS EN SUEROS DE CERDOS
PROCEDENTES DE GRANJAS EN DIFERENTES
ESTADOS DE LA REPUBLICA MEXICANA

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA
P R E S E N T A
ESTELA MAGDALENA GILES GOMEZ

ASESORES: MVZ. MOISES FRAIRE CACHON
MVZ GRACIELA TAPIA PEREZ
MVZ ELDA A JIMENEZ GUERRA



MEXICO, D. F.

1993

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



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

	Página
Resumen.....	1
Introducción.....	2
Material y Métodos.....	12
Resultados.....	16
Discusión.....	25
Conclusiones.....	29
Literatura citada.....	31

RESUMEN

GILES GOMEZ ESTELA MAGDALENA. Titulación de anticuerpos contra brucelosis en sueros de cerdos procedentes de granjas en diferentes estados de la República Mexicana. (Bajo la dirección de los M.M.V.V.Z. Moisés Fraire C., Graciela Tapia P. y Elda A. Jiménez G.).

Con la finalidad de detectar anticuerpos contra brucelosis se sometieron 1265 sueros de cerdo a 3 pruebas serológicas: placa, tarjeta y Coombs, los sueros procedían de granjas de 25 estados de la República Mexicana. Las técnicas serológicas utilizadas se realizaron por el método de Alton (1976). Los estados fueron agrupados por zonas de producción tecnificada (noroeste, noreste, del bajo, del centro, sureste y península de Yucatán) y poco tecnificadas (Baja California Norte, Campeche, Colima, Chiapas, Chihuahua, Durango, Guerrero y Zacatecas). Las zonas del bajo y centro fueron las que obtuvieron los más altos porcentajes de ocurrencia de sueros positivos tanto en placa y en Coombs, lo que indicó que estas zonas son las que pudieran haber pasado por la manifestación subclínica de la enfermedad. Las zonas noroeste, península de Yucatán y de producción poco tecnificada, aunque presentaron porcentaje de sueros positivos en placa y en tarjeta, no fueron cantidades representativas, además de haber sido negativas en la prueba de Coombs. Así mismo se efectuó la prueba de sensibilidad y especificidad de las pruebas de placa y tarjeta con respecto a Coombs para determinar los sueros falsos positivos y falsos negativos encontrando bajo porcentaje de ocurrencia en cada prueba. Los resultados obtenidos se sometieron a la prueba de χ^2 para detectar el estado y la zona con mayor proporción de sueros positivos, para los estados no se encontraron diferencias significativas, sin embargo para la agrupación por zonas los resultados de χ^2 fueron más significativos, 10.16 y 10.12 para las pruebas de placa y Coombs respectivamente. Los resultados demuestran que la Brucelosis Porcina pudo haberse manifestado de manera subclínica en las zonas del bajo y del centro y que las pruebas de placa y tarjeta son útiles como diagnóstico primario para la Brucelosis Porcina.

INTRODUCCION

La brucelosis es una enfermedad bacteriana, infecciosa y contagiosa, de curso agudo o crónico (17) que afecta a varias especies de animales domésticos, silvestres y al hombre (20). Aunque se menciona desde el tiempo de Hipócrates (466-377 A.C.), la enfermedad se conoce como tal desde 1886, cuando D. Bruce demostró la existencia de la bacteria en el bazo de soldados muertos en la isla de Malta (17) y en 1914 Traum aisló *Brucella suis* de fetos de cerdos abortados (14,15,28) .

Las brucelas son cocobacilos que generalmente se presentan aislados y a veces agrupados, son gram negativos, inmóviles, aerobios, no poseen cápsula, no forman endospora y carecen de tinción bipolar (11,14,22). La mayoría de las especies son catalasa y oxidasa positivas, teniendo efecto hidrolizante sobre la urea (11,14).

Todas las cepas lisas de brucela muestran una gran reactividad cruzada, que se pone de manifiesto cuando se realizan pruebas de aglutinación, lo anterior se debe al comportamiento de un lipopolisacárido (LPS), principal antígeno de superficie de la brucela. La presencia de una o varias moléculas de perosamina en el LPS de cepas lisas de bacterias como *E. coli* 0:157, 0:116 y 0:117, salmonela del grupo N de Kauffman y White, *P. maltophilia*, *V. cholerae*, *Y.*

enterocolitica 0:9 (2,31), *B. bronchiseptica* (7) son la razón de reacciones cruzadas con brucela (22,28).

El género brucela consta de seis especies : *Brucella melitensis* , *Brucella abortus*, *Brucella suis*, *Brucella neotomae*, *Brucella ovis* y *Brucella canis* (1,2).

Brucella melitensis, con 3 biotipos, es el agente etiológico característico de la brucelosis ovina y caprina (1,19,23) .

Brucella abortus, con 9 biotipos, es el agente etiológico del aborto infeccioso en vacas (1,2) .

Brucella neotomae, se aisló en la rata selvática del desierto que habita en las regiones occidentales de Estados Unidos (1,19,23) .

Brucella ovis, es el agente etiológico de la epididimitis del carnero, afectando principalmente a machos que a hembras (1,19,23) .

Brucella canis, produce en los perros de ambos sexos una forma muy infecciosa de brucelosis (2).

De las especies anteriores se han efectuado aislamientos de una especie de brucela en hospedadores distintos al hospedador específico (4,5,8,17,30).

Brucella suis, tiene cuatro biotipos, el biotipo 2 se encuentra en Europa donde los huéspedes son la liebre

(1,2,11,12,) y el cerdo (2,11), el biotipo 4 es enzoótico en el reno (2,6,11,19), y en el caribou de Siberia, Alaska y Canadá (11,13,32,34). En México se localiza el biotipo 1 de *B. suis* y a nivel mundial además del biotipo 1, el biotipo 3 (10,11,22,31).

En los cerdos las vías más importantes de infección son:

A) La oral afectando cerdos de todas las edades que consumen agua y alimento contaminados con secreciones de animales enfermos.

B) Genital: por monta natural o inseminación artificial con verracos o semen contaminado (1,12,14,31).

C) Es posible la infección a través de escoriaciones en piel (11,12,14).

Los estudios efectuados indican que la patogenia de los biotipos 1,2,3 de *B. suis* son similares, observándose que además se produce brucelosis miliar en el útero de las cerdas infectadas con el biotipo 2. Después de penetrar al organismo a través de las vías de infección la brucela se multiplica en sistema linfático produciéndose posteriormente bacteremia y la localización de los gérmenes en los órganos blanco: genitales, ubre y articulaciones además de nódulos linfáticos (12).

Las manifestaciones de la Brucelosis Porcina en hembras incluyen aborto e infertilidad, cerdas repetidoras y a veces mortinatos y lechones débiles.

En las lesiones ocasionalmente la placenta puede estar hiperémica y edematosa con fluidos rojo grisáceos, se pueden encontrar abscesos en la mucosa del útero; los fetos presentan hemorragias subcutáneas y fluidos peritoneales además de otros cambios autolíticos. El aborto se puede producir en cualquier momento de la gestación y las excreciones contienen gran cantidad de bacterias que contaminan el medio ambiente (1,11,12,14 21,26,31).

En machos las lesiones son variables encontrándose epididimitis, abscesos en vesículas seminales, en próstata y en glándulas bulbouretrales, orquitis, necrosis de discos intervertebrales , espondilitis y laminitis (11,14,31).

En el tratamiento para la brucelosis, se utilizan tetraciclinas, estreptomicina o sulfonamidas a dosis elevadas y por periodos prolongados, aunque el agente etiológico no se elimina completamente del huésped permaneciendo en médula ósea o secuestrado en los abscesos (11). El tratamiento no es práctico ni económicamente rentable. Se desconoce el control de la Brucelosis Porcina mediante la vacunación en otros países, sin embargo China ha utilizado con buenos resultados la vacuna contra brucelosis producida por la cepa 2 de *B. suis* (37). Se dice que el control mediante la vacunación no es 100% efectivo en el

cerdo, por lo que países como Estados Unidos maneja otro tipo de control de la enfermedad, realizando principalmente sacrificio de reactivos positivos al aislamiento, pruebas serológicas además de las medidas generales de higiene para limitar la propagación (14, 18).

En el programa de erradicación de Brucelosis Porcina en los Estados Unidos se emplean 3 estrategias:

- 1.- Sacrificio de toda la piara.
- 2.- Sacrificio de animales adultos y conservación de cerdos destetados como pie de cría, con el fin de salvar estirpes valiosas.
- 3.- Sacrificio de animales con reacciones positivas, realizando monitoreos serológicos e introduciendo animales centinelas para vigilar las piaras en las que se efectúa la erradicación (11,16,21).

En México la Campaña Nacional contra Brucelosis de la Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos (S.A.R.H.), informó en 1975 pérdidas económicas por brucelosis en cerdos, que ascendieron a \$11,497,680.00 (24). Actualmente no se han determinado las pérdidas por esta enfermedad en la S.A.R.H.

En 1984 la prevalencia estimada de la Brucelosis Porcina fue de 3.6% (no se menciona la población) (18). En la actualidad poco se conoce sobre la distribución de esta

enfermedad a nivel nacional, la Dirección General de Sanidad Animal de la S.A.R.H., informó que durante 1992 no se presentaron casos, de acuerdo a los reportes que les envían los laboratorios de todo el país.

El mejor método de diagnóstico para la Brucelosis Porcina es el aislamiento del germen a partir de sangre, tejidos de fetos abortados, placenta, leche y semen; aunque esto no siempre es posible, pues se necesita de personal calificado que maneje muestras representativas y medios de aislamiento (11,28). La detección de anticuerpos contra brucela en sueros de cerdos infectados es en general el método más práctico y común de diagnóstico, los cerdos infectados producen inmunoglobulinas IgM inicialmente, seguidos por el incremento de IgG (11,14,31).

El diagnóstico serológico plantea algunos problemas especiales en el caso de cerdos, ya que algunos animales no infectados presentan anticuerpos aglutinantes, generalmente atribuidos a IgM heteroespecíficas; en animales infectados pueden obtenerse resultados serológicos negativos debido a la etapa inicial de la infección, a la presencia de anticuerpos defectivos (12) o a que los anticuerpos séricos tienden a desaparecer rápidamente, por esto es que el diagnóstico de la Brucelosis Porcina debe efectuarse a nivel de piara y no en forma individual (1,14). Para clasificar una piara como

positiva con pruebas de aglutinación debe haber uno o varios animales con 100 U.I. o más (1).

En los últimos años se han utilizado experimentalmente diferentes pruebas para el diagnóstico de la Brucelosis Porcina :

Antiglobulina (Argentina, 1971; México, 1978; Cuba, 1979; E.U.A., 1982; India, 1986; Gran Bretaña, 1987) (10,19,21,28,30).

ELISA (Canadá, 1980; Francia, 1987; Gran Bretaña, 1987) (30,33,36).

Prueba de MIF (México, 1980) (35).

Rivanol (Argentina, 1971; México, 1978; Estados Unidos, 1982; India, 1986) (10,19,21,38).

Seroaglutinación rápida (Brasil, 1984) (29).

Las pruebas oficiales que se emplean mundialmente son:

Aglutinación en tubo (Argentina, 1971; México, 1978; Cuba, 1979; E.U.A., 1982; India, 1980,1983,1986; Australia, 1989) (9,10,19,26,27,28,38).

Mercaptoetanol (Argentina, 1971; Cuba, 1979,1980; India, 1986; Canadá, 1987) (3,10,19).

Placa, tarjeta y fijación del complemento (Argentina, 1971; México, 1978; E.U.A., 1982; Canadá, 1987; Gran Bretaña, 1987; Australia, 1984,1989) (5,13,19,27,30,38).

Inmunofluorescencia indirecta (México, 1978) (21).

Rosa de bengala (México, 1978; India, 1986; Australia, 1989) (10,21,27).

Para la tipificación se emplea:

FAGO FIRENZE (Inglaterra, 1962) (12,34).

La prueba de aglutinación en placa es rápida y de uso ampliamente difundido, continúa siendo el método más utilizado para el diagnóstico de la brucelosis en humanos y bovinos; sin embargo una reacción negativa en esta prueba no es concluyente de ausencia de la infección (21).

La prueba de tarjeta es práctica y sensible, se dice que es el método más adecuado para detectar la Brucelosis Porcina; desgraciadamente también es positiva en algunos animales sanos y en infectados recientemente (12,14,21).

Todas estas pruebas son eficaces para detectar la presencia de brucelosis en una piara, pero para el diagnóstico individual su valor es limitado (20,21).

Ciertos sueros contienen anticuerpos específicos que se combinan con el antígeno, pero que son incapaces de provocar aglutinación (anticuerpos defectivos), estos anticuerpos al saturar los puntos de combinación en el antígeno, impiden la aglutinación; en la prueba de Coombs se utiliza la antigamaglobulina para producir la aglutinación en presencia de los anticuerpos llamados incompletos que son de tipo IgG. El reactivo de Coombs es un antisuero específico contra

la globulina o el suero completo de las especies animales cuyos sueros se analizan (2,21).

Como se observa, la Brucelosis Porcina es un problema que puede afectar seriamente a las explotaciones porcinas, además de causar perdidas económicas, la enfermedad es una zoonosis de importancia, ya que se sabe que *B.suis* biotipo 1 es más patógeno que *B. abortus* en el hombre.

En un estudio realizado por García C. y col. en Argentina, se aislaron 148 cepas de brucela del hombre, de las cuales, 47 fueron *B. suis* biotipo 1, el 50% de las cepas tipificadas procedían de trabajadores de mataderos (20).

Por lo anterior es importante conocer la situación de este padecimiento en la República Mexicana y realizar medidas preventivas adecuadas.

HIPOTESIS

La utilización de pruebas de detección primaria de anticuerpos contra brucelosis, como placa y tarjeta, conducen (en bajas diluciones) a falsos positivos o falsos negativos, por lo que el uso de una prueba complementaria como Coombs permitirá diagnosticar con mayor certeza la manifestación subclínica de la enfermedad en diferentes zonas porcícolas del país.

OBJETIVOS

General:

Detectar por medio de las pruebas de placa, tarjeta y Coombs anticuerpos contra brucelosis.

Específicos:

Determinar la presencia subclínica de la enfermedad dentro de granjas porcinas de diferentes zonas de la República Mexicana.

MATERIAL Y METODOS

La presente investigación se llevó a cabo en los Departamentos de Producción Animal: Cerdos y en el Departamento de Virología e Inmunología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la U.N.A.M.

I.- MATERIAL BIOLOGICO

1.- 1265 sueros de cerdos, procedentes de granjas de 25 estados de la República Mexicana, guardados a -20°C hasta su uso.

2.- Antígenos para las pruebas de aglutinación en placa y tarjeta, proporcionados por la Productora Nacional de Biológicos Veterinarios (PRONABIVE).

3.- Antígeno para la prueba lenta en tubo, proporcionado por el Departamento de Virología e Inmunología.

4.- Reactivo de Coombs específico de especie (antiglobulina porcina) proporcionado por el Departamento de Virología e Inmunología.

II.- EQUIPO Y METODOS

Tanto el equipo utilizado como las 3 pruebas serológicas realizadas, se desarrollaron como lo indica el Manual de Técnicas de Laboratorios en la Brucelosis de la F.A.O. de la

Organización Mundial de la Salud, 1976, a excepción del uso de pipetas de Bang, en lugar de éstas se utilizaron pipetas automáticas calibradas y puntillas para cada suero y una para el antígeno .

III.- ANALISIS ESTADISTICO

La prueba estadística efectuada fué χ^2 (25) para determinar el estado con mayor proporción de sueros positivos; posteriormente se agruparon estos estados por zonas de producción porcina tecnificadas y poco tecnificadas a las que igualmente se les efectuó la prueba de χ^2 .

Se realizaron las pruebas de sensibilidad y especificidad para determinar la probabilidad de falsos positivos y falsos negativos de las pruebas de placa y tarjeta con respecto a la prueba de Coombs. (25).

Los estados que componen cada zona, así como el porcentaje de sueros correspondientes a cada una de ellas se presentan el cuadro No. 1.

En México, la Campaña Nacional contra la Brucelosis de la Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos (S.A.R.H.), maneja dos criterios para dictaminar si una granja porcina es positiva o negativa, para utilizar alguno de estos criterios, se requieren datos como:

- monitoreos serológicos sobre brucelosis
- antecedentes de brucelosis en las granjas

en esta investigación al no contar con los datos anteriores además del tipo de granja, edades de los animales, sexo, manejo, entre otros, se tomaron como positivos los sueros cuyos títulos se presentaron desde 1:25 en la prueba en placa y 1:50 para la prueba de Coombs, pues esta prueba da títulos más altos que la prueba en placa, cuando ésta última presentó títulos positivos.

CUADRO No. 1
PORCENTAJE DE SUEROS POR ZONAS, ESTADOS
QUE COMPONEN CADA ZONA

ZONA PRODUCTORA PORCINA	ESTADOS	%
NORDESTE	SONORA Y SINALOA	4.66
MORESTE	SAN LUIS POTOSI	1.11
DEL BAJIO	GUANAJUATO, QUERETARO MICHOACAN Y JALISCO	43.7
DEL CENTRO	ESTADO DE MEXICO, HIDALGO, MORELOS DISTRITO FEDERAL, PUEBLA Y TLAXCALA	20.3
SURESTE	TABASCO Y VERACRUZ	3.08
PENINSULA DE YUCATAN	YUCATAN Y QUINTANA ROO	9.27
BAJAS PRODUCTORAS	BAJA CALIFORNIA NORTE, CHIAPAS, CAMPECHE, COAHUILA, CHIHUAHUA, DURANGO, GUERRERO Y ZACATECAS	17.87
TOTAL	25 ESTADOS	100

RESULTADOS

Los resultados obtenidos fueron los siguientes:

Las zonas noroeste, de producción poco tecnificada y de la península de Yucatán obtuvieron en la prueba en placa 10.16%, 14.1% y 8.5% de sueros positivos respectivamente; pero en la prueba de Coombs estas zonas fueron negativas (Cuadros 2 al 8).

Los cuadros 4 y 5 presentan a las zonas del bajo y del centro, que obtuvieron bajos porcentajes de sueros positivos en las pruebas de placa y Coombs.

La zona del bajo obtuvo 0.36% de sueros positivos en la prueba en tarjeta y la zona de producción poco tecnificada 0.88% en la misma prueba, siendo ambas las únicas zonas que obtuvieron sueros positivos en esta prueba, aunque en bajo porcentaje (Cuadros 4 y 8).

Las probabilidades de falsos positivos de las pruebas de placa y tarjeta comparadas con la prueba de Coombs, fueron de 7% y 0.1% respectivamente.

Las probabilidades de falsos negativos de las pruebas de placa y tarjeta comparándolas con la prueba de Coombs fueron de 14% y 3.6% (Cuadros 11 y 12).

Los datos de los cuadros 9 y 10 muestran los resultados de la prueba de χ^2 calculada ($P > \chi^2_c$). Por estados, fué poca la diferencia entre las pruebas trabajadas, sin embargo en Coombs fué estadísticamente significativa.

Al agrupar los estados por zonas, la prueba de χ^2 manifestó diferencias significativas entre los grupos trabajados (placa y Coombs), pero en la prueba de tarjeta no se observaron diferencias significativas.

CUADRO No. 2
RESULTADOS EN LAS PRUEBAS DE PLACA,
TARJETA Y COOMBS EN LA ZONA
PRODUCTORA NOROESTE

PRUEBA	A (+) No. DE SUEROS / %	B (-) No. DE SUEROS / %	TOTAL
PLACA	6 / 10.16	53 / 89.8	59
TARJETA	0 / 0	59 / 100	59
COOMBS	0 / 0	59 / 100	59

A.- No. DE SUEROS POSITIVOS Y SU PORCENTAJE

B.- No. DE SUEROS NEGATIVOS Y SU PORCENTAJE

CUADRO No. 3
RESULTADOS EN LAS PRUEBAS
DE PLACA, TARJETA Y COOMBS EN LA
ZONA PRODUCTORA NORESTE

PRUEBA	A (+) No. DE SUEROS / %	B (-) No. DE SUEROS / %	TOTAL
PLACA	0 / 0	14 / 100	14
TARJETA	0 / 0	14 / 100	14
COOMBS	0 / 0	14 / 100	14

A.- No. DE SUEROS POSITIVOS Y SU PORCENTAJE

B.- No. DE SUEROS NEGATIVOS Y SU PORCENTAJE

CUADRO No. 4
RESULTADOS EN LAS PRUEBAS
DE PLACA, TARJETA Y COOMBS EN LA
ZONA PRODUCTORA DEL BAJIO

PRUEBA	A (+)	B (-)	TOTAL
	No. DE SUEROS / %	No. DE SUEROS / %	
PLACA	31 / 5.6	522 / 94.3	553
TARJETA	2 / 0.36	551 / 99.6	553
COOMBS	39 / 7	514 / 92.9	553

A = No. DE SUEROS POSITIVOS Y SU PORCENTAJE

B = No. DE SUEROS NEGATIVOS Y SU PORCENTAJE

CUADRO No. 5
RESULTADOS EN LAS PRUEBAS
DE PLACA, TARJETA Y COOMBS EN LA
ZONA PRODUCTORA DEL CENTRO

PRUEBA	A (+)	B (-)	TOTAL
	No. DE SUEROS / %	No. DE SUEROS / %	
PLACA	17 / 6.6	240 / 93.30	257
TARJETA	0 / 0	257 / 100	257
COOMBS	14 / 5.4	243 / 94.5	257

A = No. DE SUEROS POSITIVOS Y SU PORCENTAJE

B = No. DE SUEROS NEGATIVOS Y SU PORCENTAJE

CUADRO No. 6
RESULTADOS EN LAS PRUEBAS
DE PLACA, TARJETA Y COOMBS EN LA
ZONA PRODUCTORA DEL SURESTE

PRUEBA	A (+) No. DE SUEROS / %	B (-) No. DE SUEROS / %	TOTAL
PLACA	0 / 0	39 / 100	39
TARJETA	0 / 0	39 / 100	39
COOMBS	0 / 0	39 / 100	39

A = No. DE SUEROS POSITIVOS Y SU PORCENTAJE

B = No. DE SUEROS NEGATIVOS Y SU PORCENTAJE

CUADRO No. 7
RESULTADOS EN LAS PRUEBAS
DE PLACA, TARJETA Y COOMBS EN
LA ZONA DE LA PENINSULA DE YUCATAN

PRUEBA	A (+) No. DE SUEROS / %	B (-) No. DE SUEROS / %	TOTAL
PLACA	10 / 8.5	107 / 91.4	117
TARJETA	0 / 0	117 / 100	117
COOMBS	0 / 0	117 / 100	117

A = No. DE SUEROS POSITIVOS Y SU PORCENTAJE

B = No. DE SUEROS NEGATIVOS Y SU PORCENTAJE

CUADRO No. 8
RESULTADOS EN LAS PRUEBAS
DE PLACA, TARJETA Y COOMBS EN
ZONA DE PRODUCCION POCO TECNIFICADA

PRUEBA	A (+) No. DE SUEROS / %	B (-) No. DE SUEROS / %	TOTAL
PLACA	32 / 14.1	194 / 85.8	226
TARJETA	2 / 0.88	224 / 99.1	226
COOMBS	4 / 1.76	222 / 98.2	226

A = No. DE SUEROS POSITIVOS Y SU PORCENTAJE

B = No. DE SUEROS NEGATIVOS Y SU PORCENTAJE

CUADRO No. 9
RESULTADOS DE LA PRUEBA DE χ^2 POR ESTADOS
EN LAS PRUEBAS SEROLOGICAS UTILIZADAS

PRUEBA SEROLOGICA	χ^2 CALCULADA	P>X ² C
PLACA	0.960	0.372
TARJETA	0.960	0.320
COOMBS	3.916	0.048

CUADRO No. 10
RESULTADOS DE LA PRUEBA DE χ^2 POR ZONAS EN
LAS PRUEBAS SEROLOGICAS UTILIZADAS

PRUEBA SEROLOGICA	χ^2 CALCULADA	P>X ² C
PLACA	10.695	0.0001
TARJETA	1.665	0.194
COOMBS	10.288	0.0001

CUADRO No. 11
RESULTADOS DE LA PRUEBA DE SENSIBILIDAD-ESPECIFICIDAD
DE LA PRUEBA DE PLACA CON RESPECTO A COOMBS

P L A C A NUMERO DE SUEROS PORCENTAJE TOTAL	C O O M B S		
	POSITIVO	NEGATIVO	T O T A L
POSITIVO	8 ^A 0.63	88 ^B 6.95	96 7.58
NEGATIVO	47 ^C 3.71	1122 ^D 88.69	1169 92.41
TOTAL	55 4.34	1210 95.65	1265 100

$$P(+/E) = \frac{B}{B+D} = \frac{88}{1210} = 0.072 \text{ 7\% FALSOS POSITIVOS}$$

$$P(-/E) = \frac{A}{A+C} = \frac{8}{55} = 0.145 \text{ 14\% FALSOS NEGATIVOS}$$

A= No. DE SUEROS VERDADEROS POSITIVOS

B= No. DE SUEROS FALSOS POSITIVOS

C= No. DE SUEROS FALSOS NEGATIVOS

D= No. DE SUEROS VERDADEROS NEGATIVOS

CUADRO No. 12
RESULTADOS DE LA PRUEBA DE SENSIBILIDAD-ESPECIFICIDAD
DE LA PRUEBA DE TARJETA CON RESPECTO A COOMBS

TARJETA NUMERO DE SUEROS PORCENTAJE TOTAL	C O O M B S		
	POSITIVO	NEGATIVO	TOTAL
POSITIVO	2 ^A 0.15	2 ^B 0.15	4 0.31
NEGATIVO	53 ^C 4.10	1208 ^D 95.49	1261 99.60
TOTAL	55 4.34	1210 95.65	1265 100

$$P(+/E) = \frac{B}{B+D} = \frac{2}{1210} = 0.0016 \quad 0.1\% \text{ FALSOS POSITIVOS}$$

$$P(-/E) = \frac{A}{A+C} = \frac{2}{55} = 0.036 \quad 3.6\% \text{ FALSOS NEGATIVOS}$$

A = No. DE SUEROS VERDADEROS POSITIVOS

B = No. DE SUEROS FALSOS POSITIVOS

C = No. DE SUEROS FALSOS NEGATIVOS

D = No. DE SUEROS VERDADEROS NEGATIVOS

DISCUSION

Al analizar los resultados, se observa que ningún estado obtuvo un alto porcentaje de sueros positivos en las pruebas serológicas utilizadas. Sin embargo, al agrupar los estados por zonas, se encontraron resultados que determinan la presencia de anticuerpos contra brucelosis en los cerdos.

Las zonas de producción poco tecnificada, noroeste y de la península de Yucatán obtuvieron bajos porcentajes de sueros positivos en la prueba en placa, y en la prueba de Coombs fueron negativos. Esto indica que en estas zonas se iniciaba la infección o eran el resultado de reacciones heteroespecíficas. Las reacciones heteroespecíficas se manifiestan cuando cerdos no infectados tienen aglutininas heteroespecíficas a brucela del tipo IgM; en una infección por brucela aparecen anticuerpos IgM e IgG, pero los primeros son más tempranos y persisten por más tiempo (19,31).

Lo anterior concuerda con los resultados de la probabilidad de falsos positivos y falsos negativos que fueron bajas en la prueba en placa (7% y 14%).

Algunos autores señalan que las reacciones heteroespecíficas se pueden encontrar en diluciones de 1:100 ó mayores (28), las encontradas en esta investigación en la prueba en placa van desde 1:25 hasta 1:200, pero estas

últimas fueron las menos, al compararse con la prueba de Coombs aumentan el título de sueros positivos.

En este trabajo la prueba de tarjeta no detectó los sueros positivos detectados por Coombs y placa, como se sabe las inmunoglobulinas IgM e IgG2 son las responsables de las reacciones aglutinantes (2,11,12,21), algunos cerdos no responden inmunológicamente y no producen una adecuada cantidad de estas inmunoglobulinas (2), además se ha comprobado que la prueba de tarjeta es negativa en cerdos infectados recientemente (14,30) debido a que los niveles bajos de aglutinación se inhiben por el incremento de la acidez del antígeno y la etapa de la infección.

Al efectuar la comparación de los resultados entre las pruebas de tarjeta y Coombs, se infiere que pudo haber sucedido lo antes mencionado.

La probabilidad de falsos positivos y falsos negativos de la prueba de tarjeta, indican que la prueba fué específica y poco sensible.

En 1971 García C. y col. corrieron 7 pruebas serológicas a 26 cerdas infectadas artificialmente con *B. suis* (aglutinación en placa, en tubo, mercaptoetanol, tarjeta y antiglobulina) de las cuales las más sensibles fueron la de antiglobulina y la de fijación del complemento, que mostraron

positividad en todos los casos menos en uno; los métodos de mercaptoetanol y tarjeta fueron poco sensibles detectando cada uno 10.

Por otro lado Rogers, R.J., Cook, D.R. y col. en 1989, evaluaron 3 pruebas serológicas (rosa de bengala, fijación del complemento y aglutinación en tubo) para detectar *B. suis* en cerdos. La prueba más sensible fué la de rosa de bengala, seguida por fijación del complemento y por último la de aglutinación en tubo. Estos resultados difieren de lo encontrado en la presente investigación y en la de García C., pues en ambas investigaciones, la prueba de tarjeta no detectó algunos sueros positivos, pudiéndose deber a la calidad del antígeno utilizado.

Las zonas del bajo y del centro, en la prueba en placa y en la prueba de Coombs (Cuadros No. 8 y 9), presentaron un porcentaje bajo de sueros positivos, lo cual muestra que la brucelosis pudo haber circulado subclínicamente en las granjas de esas zonas, caracterizadas por presentar hacinamiento, pocas medidas de bioseguridad y manejo inadecuado.

Los resultados de la prueba de X^2 (Cuadros No. 2 y 3), para las pruebas de placa y Coombs, fueron más significativos estadísticamente que en la prueba de tarjeta (principalmente por zonas), esto manifiesta que ambas pruebas coinciden al detectar los sueros positivos y los negativos, además del

bajo porcentaje de reacciones heteroespecificas , sin embargo algunos autores han encontrado diferentes resultados, en 1987 Stuart, A.F. y col. inocularon 66 cerdos con *B. abortus*, efectuando pruebas de aglutinación, fijación del complemento, antiglobulina y ELISA y encontraron que en algunos casos las pruebas fueron negativas en animales que excretaban *B. abortus*.

CONCLUSIONES

La prueba de placa condujo a falsos positivos y falsos negativos en bajo porcentaje, esta prueba es útil para el diagnóstico primario de la Brucelosis Porcina. La prueba de tarjeta presentó falsos negativos posiblemente por un inicio de infección o por otros factores (material, medio ambiente, los mismos sueros, entre otros).

La prueba de Coombs corroboró los resultados de las pruebas de placa y tarjeta. Cada prueba detecta diferentes tipos de anticuerpos, además se considera que es importante realizar las pruebas en diferentes tiempos, ya que los niveles de anticuerpos son distintos en cada etapa de la enfermedad.

Es posible que la enfermedad haya circulado subclínicamente por las zonas del bajo y del centro, caracterizadas por tener mala bioseguridad, hacinamiento y presencia continua de enfermedades porcinas.

Las zonas noroeste, península de Yucatán y la zona de producción poco tecnificada pasaban por un inicio de infección o manifestaron reacciones heteroespecíficas, como lo muestran los resultados obtenidos por éstas.

Los resultados en esta investigación no son representativos de la magnitud del problema en el país, pues no son una muestra real de la población nacional porcina (que en 1992 fué de 16'502,253) y no reflejan prevalencia e incidencia de la enfermedad; sin embargo indica que la enfermedad puede encontrarse en el país, principalmente en las zonas del bajo y del centro y no se le ha dado la atención debida, además no se realizan monitoreos serológicos periódicos en algunas zonas, dado que existen enfermedades reproductivas que afectan con mayor frecuencia a los cerdos y por lo tanto se les da mayor atención.

La Campaña Nacional contra la Brucelosis de la S.A.R.H. da mayor importancia a la brucelosis en bovinos, cabras y borregos, restando importancia a la brucelosis en los cerdos, esto puede afectar los objetivos de la campaña, pues se sabe que hay infección de las diferentes especies de brucela en distintos hospedadores (11,17,30) y si existe relación directa entre diferentes especies domésticas, seguirá circulando la brucelosis entre ellas.

Es necesario realizar un estudio profundo sobre este padecimiento en los cerdos e implementar un adecuado programa de control y de una futura erradicación de la enfermedad en los cerdos, pues posiblemente en la actualidad existen fuertes pérdidas económicas en la porcicultura nacional, y sea un problema importante de salud pública en México.

LITERATURA CITADA

- 1.- ACHA, P. N.: Zoonosis y Enfermedades Transmisibles comunes al Hombre y a los Animales. O.P.S. O.M.S., Estados Unidos, 1977.
- 2.- ALTON, G.G., JONES, L.M. and PIETZ, D.E.: Las Técnicas de Laboratorios en la Brucelosis, 2a. ed. FAO. OMS., Ginebra, 1976.
- 3.- ARGOTE, E., HERRERA, F. y SERRA, A.: La prueba de mercaptoetanol en el diagnóstico de brucelosis porcina. Cienc. Tec. Agric., 2: 47-53 (1980).
- 4.- BARR, S.C., EILTS, B.E., ROY, A.F. and MILLER, R.: *Brucella suis* biotype 1 infection in a dog. JAVMA, 189: 686-687 (1986).
- 5.- COOK, D.R. and NOBLE, J.W.: Isolation of *Brucella suis* from cattle. Aust. Vet. J., 61: 263-264 (1984).
- 6.- CORBEL, M.J., THOMAS, E.L. and GARCIA, C.: Taxonomic studies on some atypical strains of *Brucella suis* British Vet. J., 140: 34-43 (1986).
- 7.- CORBEL, M.J.: Effect of atrophic rhinitis vaccines on the reaction of pigs to serological tests for brucellosis. Vet. Rec., 117: 150 (1985).
- 8.- CORREA, M., CORREA, C.N.M. y IAMAGUTI, P.: Brucelose canina por *Brucella suis*-1 atípica. Arq. Bras. Vet. Zoot., 36: 397-405 (1984).
- 9.- CHOUDRAY, S.P., SINGH, S.N., NARAYAN, K.G. and KALIMUDDIN, M.D.: Sero-prevalence of porcine brucellosis in Bihar Indian Vet. J., 60: 336-338 (1983).
- 10.- DAS, A.M. and MUKHERJEE, M.: Application of supplementary serological tests in the diagnosis of porcine brucellosis. Indian Vet. J., 63: 1054-1056 (1986).
- 11.- DEYOYE, B.L.: Brucellosis. In: Diseases of Swine. Edited by: LEMAN, A.D., 599-697. Iowa State Univ. Press., Ames, Iowa, U.S.A., 1986.
- 12.- FAO.OMS. Comité de Expertos en Brucelosis. 6to. Informe. Serie de Informes Técnicos, No. 740 Ginebra, 1986.
- 13.- FINLAY, R.C., ROE, R.T. and KELLAR, J.A.: National swine brucellosis survey. Can. Vet. J., 28: 714-716 (1987).

- 14.- FLORES, C.R. y CIPRIAN, C.A.: Brucelosis. En: Diagnóstico de las Enfermedades del Cerdo. Editado por: RAMIREZ, N.R. y PIJOAN, A.C.: 539-543. Ramírez, México, 1982.
- 15.-FRYE, G.H. and HYATSVILLE, D.V.M.: Swine-brucellosis a vanishing disease. In Proceedings of the United States Animal Health., 87: 137-146 (1983).
- 16.- FRYE, G.H., PICKERILL, P. and RHODES, I.T.: A project to determine feasibility of utilizing cull breeding boars as sentinel animals for swine brucellosis surveillance. In Proceedings of the United States Animal Health, 80: 174-184 (1982).
- 17.- FUENTES, N.B. y VAZQUEZ, M.R.: Aislamiento de *B. abortus* biotipo 3 a partir de un cerdo para el abasto. Vet. Méx., 16: 273-274 (1985).
- 18.- GARCIA, C.C.: La Brucelosis de los animales en America y su relación con la infección humana. Editado por Office International des Epizooties, 207. O.I.E. Francia, 1987.
- 19.- GARCIA, C.C., CEDRO, V.C.F. y BENEDETTI, L.M.E.: Brucelosis experimental en porcinos. Evaluación de técnicas serológicas en cerdas con infección reciente de *Brucella suis*. Investigaciones Agropecuarias, 8: 99-107 (1971).
- 20.- GARCIA, C.C. y TUROVETZKY, A.: Especies y biotipos de brucella aislados del hombre en la Argentina: comprobación de la infección humana por *B. abortus* biotipo 4. Medicina, 45: 20-1 (1985).
- 21.- ITURBE, R.R.: Evaluación de las pruebas de Coombs e inmunofluorescencia indirecta como métodos de diagnóstico de la Brucelosis porcina. Tesis de licenciatura: Fac. de Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F. 1978.
- 22.- LOPEZ, M.A.: Brucelosis. Avances y perspectivas. Editado por LOPEZ, M. A. 50 pp. México, 1991.
- 23.- LUNA, M.E.: Estudio de la brucelosis en hatos lecheros y su producción láctea en el Municipio de Cdad. Nezahualcoyotl, Edo. de Méx. Tesis de licenciatura: Fac. de Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F. 1989.
- 24.- MARIN, C.M.T.: Sondeo serológico de brucelosis en 4 granjas porcinas mediante distintas pruebas diagnósticas. Tesis de licenciatura: Fac. de Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F. 1989.
- 25.- MENDEZ, R.I.; NAMIHIRA, G.P.; MORENO, A.L. y SOSA, M.C.: El Protocolo de Investigación. Lineamientos para su elaboración y análisis, 2a ed. Trillas, México, 1990.

- 26.- RAJENDRAN, M.P., KUMAR, R. and NARAYANA, R.C.: Studies on clinico-pathology of swine brucellosis. Indian Vet. J., 57: 102-104 (1980).
- 27.- ROGERS, R.J., COOK, D.R., KETTERER, P.J., BALDOCK, F.C., BLACKALL, P.J. and STEWART, R.W.: An evaluation of three serological tests for antibody to *Brucella suis* in pigs. Aust. Vet. J., 66: 77-80 (1989).
- 28.- SERRA, A., ARGOTE, E. y HERRERA, F.: Títulos inespecíficos a la brucelosis en porcinos. Cienc. Tec. Agric., 1: 1-2 (1979).
- 29.- SILVA, A.J., MODENA, M.C., VIANA, F.C., MOREIRA, E.C., FERREIRA, J.N. y FREIRE, A.Ñ.: Prevalencia de brucelose em suínos de granjas tecnificadas do Estado de Minas Gerais. Arg. Bras. Med. Vet. Zoot., 36: 433-442 (1984).
- 30.- STUART, F.A., CORBEL, M.J. and BREWER, R.A.: Experimental *Brucella abortus*. Infection in pigs. Vet. Microbiology, 14: 365-379 (1987).
- 31.- TAYLOR, D.J.: Enfermedades del Cerdo. 3a. ed. El Manual Moderno, México, D.F. 1987.
- 32.- TESSARO, S.V. and FORBES, L.B.: *Brucella suis* biotype 4: a case of granulomatous nephritis in barren graund caribou (*Rangifer tarandus groenlandicus* L.) with a review of the distribution of rangifirire brucellosis in Canada. Journal of wildlife diseases, 22: 479-483 (1986).
- 33.- THOEN, C.O. HOPKINS, M.P., AMBRUST, A.L., ANGUS, R.D. and PIETZ, D.E.: Development of an enzyme -linked immunosorbent assay for detecting antibodies in sera of *Brucella suis* infected swine. Can. J. comp. Med., 44: 294-298 (1980).
- 34.- THOMAS, E.L. and CORBEL, M.J.: Differentiation of *Brucella suis* biotype 4 from other biotypes by firenze phage. Br. Vet. J., 138: 11-17 (1982).
- 35.- TRON, F.M.J.: La prueba de MIF para el diagnóstico de brucelosis porcina. Tesis de licenciatura: Fac. de Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F. 1980.
- 36.- VALETTE, L.: La reaction ELISA dans le diagnostic de la brucellose animale. R. Elev. Med. Vet., 4: 341-345 (1987).
- 37.- XIE, X.: Orally administrable brucellosis vaccine: *Brucella suis* strain 2 vaccine. Vaccine, 4: 212-216 (1986).

38.- ZIGMONT, S.M., NETLES, V.F., SHOTTS, J., CARMEN, W.A. and BLACKBURN, B.L.O.: Brucellosis in wild swine: A serologic and bacteriologic survey in the southeastern United States and Hawaii. JAVMA, 181: 1285-1287 (1982).