

69
Res.



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MEXICO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

**PRESENCIA DE ANTICUERPOS CONTRA
BRUCELLA EN LOS ANIMALES DEL ZOOLOGICO
DE CHAPULTEPEC DE LA CIUDAD DE MEXICO.**

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

por:

ELSA DIEGUEZ BELTRAN

**ASESORES: MVZ: EDGAR ALFONSECA SILVA
MVZ: EFREN DIAZ APARICO
MVZ: FRANCISCO SUAREZ GUEMES
MVZ: FERNANDO GUAL SILL.**



FALLA DE OBIOS

MEXICO, D. F.

1995



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.

DEDICATORIA

A mis padres:

Sr.Dr. Carlos M. Dieguez Jimenez

Sra. Elsa Beltrán de Diéguez

A mis amados abuelos:

Jesus Beltrán Cocucelli y Elisa Espino de Beltrán.

Luis Lucas Dieguéz Ramos Y Maria Antonia Jimenez de Diéguez.

In Memoriam a:

Cande, Alia, Tlalpan, Sheila, Minuet.

**A todos ellos que estan y a los que se fueron pero
están aqui, conmigo. Gracias**

AGRADECIMIENTOS

A mis hermanos Maria Antonieta y Mauricio por existir.

A mis tias Elisa Beltrán y Ma Luisa Diéguez por su amor y abnegación.

A Isaac: por apoyarme y obligarme a crecer.

A la UNAM y a la FMVZ

por el compromiso que para mí representa.

Al personal del departamento de Microbiología, principalmente al Doctor Francisco Suárez Guemez y al M.V.Z. Edgar Afonseca por sus enseñanzas, paciencia, mesura y barreras.

Al personal del CENID-Microbiología en especial al Doctor Efrén Díaz Aparicio, Al Q.F.B. Francisco Velazquez y a la Doctora Laura Hernández por su paciencia, enseñanzas, consejos y amistad.

A mis maestros

A mis amigos:

Juan Pablo Espinoza
Carlos Gutierrez
Iliana Agudelo
Adriana Saharrea
Esther Bolaños
Citlali Salinas
Adriana Garcia
Eduardo Samaniego
Alejandra Meza
Maritza Salgado

C O N T E N I D O

pagina

RESUMEN.....	1
INTRODUCCION.....	4
MATERIAL Y METODO.....	13
RESULTADOS.....	18
DISCUSION.....	21
LITERATURA CITADA.....	30

C O N T E N I D O

pagina

RESUMEN.....	1
INTRODUCCION.....	4
MATERIAL Y METODO.....	13
RESULTADOS.....	18
DISCUSION.....	21
LITERATURA CITADA.....	30

RESUMEN

DIEGUEZ BELTRAN ELSA Presencia de anticuerpos contra *Brucella* en los animales silvestres del Zoológico de Chapultepec de la Ciudad de México. Asesores: MVZ Edgar Alfonseca Silva, MVZ Efrén Díaz Aparicio, MVZ Francisco Suárez Guemes, MVZ Fernando Gual Sill.

La brucelosis es una de las enfermedades zoonóticas más importantes en México, por lo que esta sujeta a campaña de control oficial, contemplada por la ley de Sanidad Fitopecuaria. Sin embargo, la Campaña no contempla a los animales silvestres que son susceptibles de infectarse, ni especifica las pruebas diagnósticas a usar, y la frecuencia de éstas. El objetivo de este trabajo, fue determinar la presencia de anticuerpos contra *Brucella* spp en la población de animales del Zoológico de Chapultepec de la ciudad de México, para lo cual se utilizaron muestras séricas de 155 animales, los cuales se agruparon en herbívoros y carnívoros, incluyendo 16 especies de los primeros y 13 de los segundos. La toma de muestras se realizó, dependiendo de la especie, con anestésicos o por contención física según lo especificado en los manuales de manejo para animales de zoológico. Las pruebas diagnósticas utilizadas para brucelas lisas fueron: Prueba de tarjeta a concentración celular del 30 y

8 %, fijación del complemento y ELISA competitiva. Para brucelas rugosas se utilizó un antígeno para prueba de aglutinación. A la prueba de fijación del complemento dieron reacción positiva 10 herbívoros: 3 antílopes (*Antilope cervicapra*), 3 muflones (*Ovis ammon musimon*), 2 venados (*Cervus nipon*), 1 cebra (*Equus quagga boehmi*), y 1 dromedario (*Camelus dromedarius*), (10.64 %) del total de los herbívoros y solo 1 carnívoro: lobo (*Canis lupus*), (1.64 %), del total de los carnívoros. Sin embargo, se presentó reacción anticomplementaria en 27.65 % de los herbívoros y en carnívoros 6.55 %, lo que dificulta la interpretación de la prueba. La prueba de tarjeta usada a concentración celular del 8 % en herbívoros, dió resultado positivo solo en 1 suero de antílope (*Antilope cervicapra*), (1 %) y 3 de carnívoros: león (*Panthera leo*), lobo (*Canis lupus*) y lince (*Lynx rufus*), (5 %), cuando la concentración celular fue del 3 % se encontraron 5 herbívoros positivos: 1 venado (*Cervus nipon*), 1 rinoceronte (*Diceros bicornis*), 2 antílopes (*Antilope cervicapra*) y 1 Antílope ñu (*Connochaetus taurinus*), (5.3 %), y 2 carnívoros: jaguar (*Panthera onca*), y oso (*Ursus americanus*), (3.2 %). Estos resultados concuerdan con lo reportado para pequeños ruminantes aumentando la sensibilidad cuando la concentración celular de la prueba de tarjeta se usa al 3 %. En cuanto a la ELISA competitiva, no se presentó ninguna reacción positiva en la

totalidad de los sueros, esta prueba fue diseñada para bovinos, no teniendo referencia de su uso en otras especies animales, pudiendo atribuirse la nula respuesta a la incapacidad de las diferentes especies probadas de producir anticuerpos capaces de reconocer al epítoto seleccionado para la fabricación del anticuerpo monoclonal. Del total de los 61 animales carnívoros solo 3: lobo (*Canis lupus*), león (*Panthera leo*), y lince (*Lynx rufus*), (5 %) dieron reacción positiva al antígeno de Brucella canis. Cabe hacer notar que estos 3 sueros corresponden a los 3 carnívoros positivos a la prueba de tarjeta al 8 % lo que nos indica una posible reacción cruzada. Por lo anteriormente descrito, podemos suponer que la brucelosis es una enfermedad que está presente en el zoológico de Chapultepec, sin embargo esto debe de ser constatado por aislamiento del agente, considerando la importancia que ésto tiene para la salud, y establecer un criterio de interpretación para el uso de estas pruebas en animales silvestres.

INTRODUCCION:

La brucelosis es una enfermedad infecciosa, de curso crónico, producida por bacterias del género Brucella, que afecta a varias especies de animales domésticos (1, 3, 29, 33), particularmente bovinos, ovinos, caprinos y porcinos (23, 29) así como a los perros, animales silvestres y al hombre (1, 6, 23,) . En nuestro país se considera una de las principales zoonosis que se puede transmitir directa o indirectamente (33). En los animales se caracteriza por producir aborto en la hembra y, en menor grado, orquitis e infección de las glándulas sexuales accesorias en el macho así como infertilidad en ambos sexos (1, 3) .

HISTORIA DE LA BRUCELOSIS:

Bruce en 1886 aisla al germen del bazo de personas muertas por la enfermedad y le llama Micrococcus melitensis (31) . Bang y Striobolt en 1897 en Dinamarca aislan el germen causante de el aborto contagioso en las vacas. Smith, Fabyan, Mc Neal, y Kerr, Schoeder y Cotton en 1912 lo aislan de las vacas enfermas en los Estados Unidos de Norte America. Traum en 1914 aisla B. suis de cerdas que abortan en E.U.A. (15) ; Malvin y Eichhorn en 1918 en E.U.A. sugieren que se estudien las semejanzas entre Micrococcus melitensis y B. abortus. Hudleson en 1935 describe la prueba rápida para la aglutinación en placa que sirve para la campaña nacional contra la Buceelosis Bovina en Estados Unidos. Suárez (31) en su descripción y generalidades de brucelosis menciona que en 1953 Buddle en Australia y Boye en Nueva

Zelandia identifica a Brucella ovis como la causa de infección en los carneros (31), Ruiz Castañeda en 1956 en México propone un medio de cultivo bifásico para Brucella y una prueba diagnóstica de tarjeta (29) .

En México se tenía noticia que desde finales del siglo pasado la enfermedad estaba diseminada por varios estados; sin embargo el primer aislamiento del agente causal lo realizó Pláceres en 1921 en Puebla. Los primeros reportes de la incidencia de la infección humana aparecieron a finales de la década de los años treinta, como consecuencia de la inclusión de la brucelosis en la lista de padecimientos transmisibles de reporte obligatorio (19) .

CARACTERISTICAS GENERALES:

La Brucella es un cocobacilo, que mide 2 x 2 micras, es Gram negativa y se tiñe con Zielh-Neelsen modificado de color rojo, no tiene esporas, ni flagelos (13, 36) . La temperatura óptima para su crecimiento y desarrollo es de 37 ° C, el pH requerido varía de 6.6 a 7.4, en el aislamiento primario las colonias de Brucella tiene de 0.5 mm a 1.00 mm. de diámetro y son convexas, las bacterias son catalasa positiva, usualmente oxidasa positiva, no producen indol, no licuan la gelatina, utilizan diversos carbohidratos, pero no producen ácido ni gas en cantidades suficientes para usarlos en su identificación, son urea y nitratos positivos, la mayoría de las cepas requieren de

prolongados periodos de incubación (hasta de 7 días) (19, 30, 31). La Brucella es un microorganismo de necesidades nutricionales muy exigentes, por lo que para su cultivo se requieren medios especiales como: agar brucela, medio bifásico de Ruiz Castañeda, agar tripticosa soya y agar sangre (2, 13, 19, 29, 30). Son organismos fastidiosos en el primoaislamiento, algunas como B. abortus biovariedad 1, 2, 3, 4, y B. ovis requieren de dióxido de carbono (5-18 %) para su crecimiento, así como medios adicionados con antibiótico para evitar el crecimiento de otras bacterias (13, 19, 29, 30, 31). Se conocen seis especies del género Brucella, las cuales están clasificadas como: brucelas lisas: B. melitensis, (3 biotipos) (31), B. abortus, (9 biotipos), B. suis, (4 biotipos) B. neotomae ; y brucelas rugosas: B. ovis y B. canis . Las colonias de las cepas rugosas son de similar tamaño y forma a las colonias lisas, pero varían en color al ser observadas con luz indirecta, consistencia, textura y estructura antigénica. Se sabe que existen dos antígenos principales en las cepas lisas, los cuales se conocen como antígeno A y M, siendo estos residuos formados de polihidroxiamino, presente en el lipopolisacárido de B. abortus , así como de B. melitensis . La proporción de antígeno A:M en B. abortus es de 20:1 y en B. melitensis es de 1:20 (15). Es importante hacer notar que las cepas rugosas de B. canis y B. ovis tienen características antigénicas similares entre sí, pero diferentes a las cepas lisas (33) .

EPIDEMIOLOGIA:

La brucelosis se encuentra ampliamente distribuida en el mundo. En México según estimaciones de la Dirección General de Sanidad y Protección Agropecuaria y Forestal de la S.A.R.H. para el año de 1987, causó pérdidas anuales en el ganado bovino lechero por 1,015.8 millones de pesos (5). Durante los dos últimos años en México, se han confirmado 5,251 casos de brucelosis en animales domésticos, aunque estos números se consideran subestimados en un 30 % lo que indica claramente la gravedad del problema (12). Está más arraigada en los estados de Coahuila, Durango, Nuevo León, Zacatecas, San Luis Potosí, Hidalgo, Puebla, Tlaxcala, Guanajuato, Querétaro, México y Oaxaca. En los animales que se crían en la meseta central, la enfermedad se considera enzoótica. La enfermedad puede presentarse en cualquier época del año (19, 33).

Los animales silvestres en los que se ha reportado son: venado cola blanca (25), cobayos, búfalos, bisontes, wapiti (6), zorros de la región pampera de Argentina y de la región del norte de la Patagonia (32), ciervo, gamo, jabali, reno (35), zorra de San Joaquín (22), zorros (32), hiena moteada (6), perro salvaje, chacal negro (6), lobos de Alaska (6), oso grizzly (6), zorra roja (22), mapache de Florida (22), lobos siberianos (27), zorras del Artico (6), coyotes de Texas (8, 36), tejón, mofetas, lince (6), chacal dorso negro (6), zarigüeya (14, 28), y algunos animales domésticos como: perros de Alaska de tiro (16, 17, 22,

28) , gatos, conejos, liebres y roedores (6) .

La forma de infección es por contacto directo con animales infectados, por contaminación de los pastos cuando los pastos son a cielo abierto, por contacto sexual, por vía conjuntival y por heridas (1, 4, 6) ; se sabe que las hembras que abortan eliminan el germen por secreciones vaginales y por la glándula mamaria, las crías se enferman de sus madres o bien nacen infectadas. La introducción de animales procedentes de zonas infectadas es de alto riesgo para el hombre ya que el manejo constante de éstos suele ser peligroso (1, 5, 26, 33) .

El hombre es susceptible a todas las especies de brucela, exceptuando a B. neotomas y B. ovis (19, 33) y puede considerarse una enfermedad ocasional u ocupacional de médicos veterinarios, vaqueros, pastores, ordeñadores, matarifes carniceros y campesinos en general (10, 19, 20) .

La transmisión se realiza por vía oral a través de la leche cruda y quesillos frescos crudos o mal procesados, o por la inhalación de aerosoles infectantes (1, 3, 4, 5)

FORMAS DE PRESENTACION:

Existen diferencias fundamentales entre la infección de los animales domésticos y la infección humana (19, 33) . Tomemos como tipo la infección en los bovinos. Esta infección presenta dos fases esencialmente diferentes: una que resulta del primer contacto de la B. abortus con el animal susceptible, y

otra, cuya importancia económica hace parecer insignificante a la primera, la cual puede pasar inadvertida, pues al parecer provoca escasa o ninguna signología, y sólo se reconoce por pruebas inmunológicas, y como consecuencia de la infección hay una respuesta inmunológica deficiente ya que el germen infectante queda establecido permanentemente en la mayoría de los animales (1, 3, 19, 29, 33).

PATOGENIA:

Aprovechando cualquier vía de entrada, ya sea la digestiva, la conjuntival o la genital, produce bacteremia y se establece en bazo, hígado, médula ósea, células del sistema retículo endotelial, vesículas seminales, placenta, útero, glándula mamaria, nódulos linfáticos supramamarios, retrofaríngeos y submaxilares. Si se trata de una hembra gestante la bacteria tendrá predilección por el útero, el feto y sus envolturas ya que tiene un marcado tropismo atribuido al eritritol que produce la placenta y en los machos adultos el epididimo, este azúcar alcohol actúa como estimulante de su crecimiento.

Las brucelas son parásitos intracelulares facultativos por lo que se establecen en alguna célula del epitelio o del corion placentario reproduciéndose en grandes cantidades, produciendo destrucción de las células, causando necrosis e inflamación de los órganos afectados además de exudado predominantemente fibrinoso. El embrión no es inmune, sufre una infección de menor o mayor intensidad, y de acuerdo con ésta, el producto podrá ser o

no puesto en peligro (1, 3). Al presentarse inflamación en las envolturas fetales, se producen transtornos en la respiración y en la nutrición del feto así como anoxia y muerte, por lo cual es expulsado.

La característica clínica de la infección bovina, el aborto, resulta de una recrudescencia de la infección primaria por movilización de los gérmenes a partir de los órganos donde se encuentra localizada (1, 3, 19, 33).

La hembra que aborta queda con un proceso de metritis y muchas veces con retención placentaria, debido a la inflamación de los cotiledones, lo cual llega a producir la muerte. Algunas veces se produce infertilidad, lo que aumenta el periodo entre partos hasta varios meses, y por consecuencia hay aumento en los periodos de lactancia lo que conlleva a la pérdida de becerros y obstaculiza los planes de crianza del ganadero (1, 3). La infertilidad puede causar pérdidas del 10 al 25% en la producción de leche, por la interrupción del periodo de lactancia, por el aborto, y por la concepción demorada (1, 3, 5).

DIAGNOSTICO:

La brucelosis es una de las enfermedades que cuenta con mayor número de pruebas diagnósticas, éstas se clasifican en 3 grupos:

1.- Pruebas Bacteriológicas: están orientadas al aislamiento y tipificación del organismo (18). Las muestras recomendadas para el aislamiento de *Brucella* spp son : sangre, semen, feto,

placenta, exudado vaginal, leche, médula ósea, nódulos linfáticos supramamarios, retrofaringeos y submaxilares

2.- Pruebas Serológicas: están dirigidas a la detección de inmunoglobulinas. Las pruebas serológicas de aglutinación son las más comunmente empleadas y se basan en una reacción antígeno-anticuerpo. La prueba serológica de fijación del complemento ofrece una buena sensibilidad y especificidad para el diagnóstico de la brucelosis en bovinos, caprinos, ovinos, equinos, suinos y humanos (19, 21, 34) .

3.- Pruebas intradérmicas: que estan basadas en la respuesta celular, sin embargo, no es frecuente su uso (7, 18.)

La Comisión Nacional para la Erradicación de la Brucelosis acepta como pruebas oficiales la prueba de tarjeta , la prueba de rivanol y la prueba de fijación del complemento. Estas pruebas están descritas para su uso en bovinos, ovinos, caprinos, equinos y suinos; sin embargo, no existe una prueba de diagnóstico descrita para uso en animales silvestres. Se ha considerado que la prueba de fijación del complemento sea una prueba adecuada para usarse en estas especies animales. En épocas recientes, diferentes investigadores han trabajado en el establecimiento de técnicas inmunoenzimáticas para el diagnóstico de brucelosis, dentro de éstas tenemos los inmunoensayos de tipo competitivo con anticuerpos monoclonales, dirigidos a un epitope - O - del lipopolisacarido (9, 34) .

CONTROL Y PROFILAXIS:

Existe en nuestro país la Norma Oficial Mexicana para la Campaña Nacional contra la brucelosis animal, la cual tiene por objeto unificar los procedimientos, actividades, criterios, estrategias y técnicas para el control y erradicación de la brucelosis en el ganado bovino, caprino, ovino y porcino en todo el territorio nacional, así como la prevención y control de la enfermedad en el humano (24) .

JUSTIFICACION:

La importancia del diagnóstico de la brucelosis en los animales domésticos, radica en evitar las cuantiosas pérdidas económicas por: infertilidad, pérdida de becerros, repetición de calores, muerte de animales, acortamiento del periodo de lactación, diseminación de la enfermedad, así como evitar la zoonosis. Con respecto a los animales silvestres, es de suma importancia controlar la enfermedad en éstos, ya sean de vida libre o de zoológico, debido al peligro que representan en la transmisión de la enfermedad entre las poblaciones silvestres a animales domésticos y al hombre; además de la importancia que merecen las especies en peligro de extinción. Por todos los motivos anteriormente expuestos, se considera necesario hacer un estudio de las técnicas diagnósticas serológicas para conocer su comportamiento en las diferentes especies animales y la situación que presenta esta enfermedad en los animales del Zoológico de Chapultepec de la Ciudad de México. La Campaña

Nacional contra la brucelosis contempla la erradicación de esta enfermedad en los animales domésticos, pero no especifica el control que deberá aplicarse a los animales silvestres, en vida libre o en zoológicos.

OBJETIVOS:

- 1) Detectar la presencia de anticuerpos contra *Brucella* spp en herbívoros y carnívoros alojados en el Zoológico de Chapultepec.
- 2) Conocer la utilidad de un inmunoensayo enzimático competitivo diseñado para bovinos en el diagnóstico de brucelosis en animales silvestres y comparar los resultados con la prueba de Fijación del Complemento y la prueba de Tarjeta.

MATERIAL Y METODO:

I.- Toma de muestras:

De la población animal del Zoológico de Chapultepec de la Ciudad de México, se tomaron muestras de sangre de vena yugular de 94 herbívoros y de vena femoral de 61 carnívoros, las cuales se centrifugaron para lograr la obtención del suero que se colectó en tubos *spendorf* y después se congeló a -70°C para su posterior uso. Las muestras fueron trabajadas en el Departamento de Microbiología e Inmunología de la FMVZ-UNAM y en el CENID Microbiología - SARH.

II.-Anestesia:

Los anestésicos y/o tranquilizantes que se aplicaron se seleccionaron según la especie y edad de los animales.

III.-Método:

Los anestésicos y/o tranquilizantes se aplicaron por medio de equipo de inyección remota. Una vez anestesiados el Veterinario les revisó y tomó muestras de sangre en tubos vacutainer** sin anticoagulante.

IV.- Animales muestreados:

CARNIVOROS					
ANIMAL	HEMBRAS	MACHOS	TOTAL	NOMBRE CIENTIFICO	ANESTESICO USADO
Leones	4	4	8	Panthera leo	Ketamina-xilacina
Tigres	5	4	9	Panthera tigris tigris	Ketamina-xilacina
Leopos	1	2	3	Canis lupus	Ketamina-xilacina
Pantera	4	3	7	Panthera pardus	Ketamina-xilacina
Pumas	3	2	5	Felis concolor	Ketamina-xilacina
Leopardo	6	5	11	Panthera pardus	Ketamina-xilacina
Linco rojo	2	0	2	Lynx rufus	Ketamina-xilacina
Jaguar	4	2	6	Panthera onca	Ketamina-xilacina
Jaguarundi	0	1	1	Felis jaguarundi	Ketamina-xilacina
Skelote	0	1	1	Felis pardalis	Ketamina-xilacina
Panda gigante	3	3	6	Ailuropus melanoleucus	Ketamina-xilacina
Jaos	1	1	2	Ursus americanus	Teletamina-rolacora

* Ependorf (Safe - Lock) Microcentrifuge tube 1.5 ml.

** Vacutainer: (Terumo)

HERBIVOROS						
	ANIMAL	HEBRAS	MACHOS	TOTAL	NOMBRE CIENTIFICO	ANESTESICO USADO
A) CERVIDOS						
	Gama	8	10	18	Gama gama	Ketamina-xilacina
	Venado silva	5	1	6	Cervus nipon	Ketamina-xilacina
	Jirafa	1	0	1	Jirafa camelopardalis	Contención física
	Cebra	2	1	3	Equus quagga boehmi	Etorfina
	Mopiti	3	4	7	Cervus canadensis	Etorfina
B) BOVIDOS						
	Antilope Eland	3	2	5	Taurotragus orix	Carfentanil
	Antilope blackbuck	2	5	7	Antilope cervicapra	Carfentanil
	Antilope nilgo	0	2	2	Boselaphus tragocamelus	Carfentanil
	Antilope acuático	0	2	2	Kobus ellipsiprimus defassa	Carfentanil
	Muliones	4	8	12	Ovis ammon musimon	Carfentanil
	Antilope gu	2	1	3	Connochaetus taurinus	Carfentanil
	Antilope sable	6	2	8	Hippotragus niger	Carfentanil
	Bisontes	3	4	7	Bison bison	Carfentanil
	Yac	1	0	1	Bos mutus grunniens	Carfentanil
C) CAMELIDOS						
	Dromedarios	4	3	7	Camelus dromedarius	Detomidina
	Llaca	1	0	1	Llama glama	Detomidina
	Guanaco	2	0	2	Lama guanicoe	Contención física
D) PERISODACTILOS						
	Rinoceronte negro	1	1	2	Diceros bicornis	Etorfina

V. _ Pruebas de diagnóstico:

Las pruebas de diagnóstico que se realizaron para brucelas lisas fueron:

A).- Prueba de Fijación del Complemento (FC') con antígeno de Brucella abortus:

Esta prueba se realizó según la técnica descrita por Alton (2).

Interpretación de los resultados:

- Una positividad de 1:4 se considera sospechoso.
- La positividad a partir de la dilución 1 : 8 se considera como muestra positiva.

Los sueros que presentaron actividad anticomplementaria se trataron utilizando uno de los siguientes métodos :

- a) centrifugando los sueros a 6000 rpm, durante 5 minutos, a una temperatura de 4 ° C y se utiliza el sobrenadante del suero.
- b) haciendo la dilución inicial de los sueros anticomplementarios con solución al 5% de albúmina sérica bovina fracción 5^a con solución al 5% de complemento en dilución de Kolmer (34) con incubación a 37 ° C en baño María, e inactivación posterior durante 30 minutos a 58-60 ° C en baño María. La inactivación a temperatura de 60 ° C influye también para la eliminación de anticomplementariedad. Después continuar la prueba según la técnica de Alton (2).

B).- Prueba de Tarjeta con antígeno bufferado de B. abortus al 3% y 8% de concentración celular:

Esta prueba se realizó con el antígeno a concentración celular del 3 % según la técnica descrita por Diaz (9) y al 8 % según Alton (2) .

C).- ELISA competitiva *: (ELISA c)

Diseñada para uso en bovinos, sirve para detectar anticuerpos específicos de B. abortus en suero o en plasma, además de que puede diferenciar animales infectados, de animales vacunados con la cepa 19.

TECNICA: Se realizó según el instructivo anexo del fabricante.

D).- Prueba de Tarjeta con antígeno suferado de B. canis.

Los sueros de los carnívoros además fueron analizados con las pruebas para brucelas rugosas.

Las pruebas diagnósticas que se utilizaron para brucelas rugosas son: aglutinación en placa con antígeno de B. canis amortiguado, teñido con rosa de bengala con y sin mercaptoetanol

(33) .

Brucella abortus antibody Test-kit BD-tec. Brucella abortus
Synbiotics Corporation.

Esta prueba se realizó con el antígeno a concentración celular del 3 % según la técnica descrita por Diaz (9) y al 8 % según Alton (2) .

C).- ELISA competitiva *: (ELISA c)

Diseñada para uso en bovinos, sirve para detectar anticuerpos específicos de B. abortus en suero o en plasma, además de que puede diferenciar animales infectados, de animales vacunados con la cepa 19.

TECNICA: Se realizó según el instructivo anexo del fabricante.

D).- Prueba de Tarjeta con antígeno buferado de B. canis.

Los sueros de los carnívoros además fueron analizados con las pruebas para brucelas rugosas.

Las pruebas diagnósticas que se utilizaron para brucelas rugosas son: aglutinación en placa con antígeno de B. canis amortiguado, teñido con rosa de bengala con y sin mercaptoetanol

(33) *

Brucella abortus antibody Test-kit BD-tec. Brucella abortus
Synbiotics Corporation.

RESULTADOS:

Los resultados obtenidos en cada una de las pruebas serológicas realizadas : Fijación del Complemento, Tarjeta y ELISA en los animales herbívoros, se presentan en el cuadro número 1; el número de positivos y porcentaje para herbívoros, a la prueba de FC' resultaron positivos : 1 cebra, 1 dromedario, 2 venados, 3 antílopes blackbuck y 3 muflones que corresponden al 10.63 % del total de los animales herbívoros. Se presentó anticomplementariedad en los siguientes animales: 7 muflones, 6 gamos, 4 dromedarios, 2 cebras, 2 antílopes, 2 yack y 1 bisonte, que da como resultado el 27.65 % de los herbívoros. A la prueba de tarjeta al 3 % resultaron positivos: 1 venado sika, 1 rinoceronte y 1 antilope fu y 2 antílopes black buck que corresponden al 5.31 %. Cuando se utilizó esta prueba con antígeno al 8 %, resultó positivo 1 antilope que da el 1.063 %. No se presentó ningún reactor positivo a la prueba de ELISA.

Los resultados obtenidos en cada una de las pruebas serológicas realizadas a los carnívoros, que se muestran en el cuadro 2 , indican que a la prueba de FC' , resultó positivo: 1 lobo canadiense macho a la dilución de 1:4 que corresponde al 1.64 % del total de los carnívoros. A la prueba de tarjeta al 3 % resultaron positivos: 1 jaguar y 1 oso que corresponden al 3.12 % y cuando se usó al 8% resultaron positivos: 1 león, 1 lobo y 1 lince que dió el 4.69 %, sin embargo a la prueba de ELISA no se presentó ningún animal positivo. Cuando se utilizó el antígeno para brucelas rugosas, resultaron positivos: 1 león, 1 lobo y 1 lince que corresponden al 4.69 %, cabe

señalar que estos últimos animales son los mismos que resultaron positivos a la prueba de tarjeta al 8 % .

En el cuadro número 3 se comparan los resultados positivos de las pruebas serológicas utilizadas con la prueba de Fijación de Complemento, es importante hacer notar que el venado sika número 14 , el antilope blackbuck número 57 , y el antilope blackbuck número 59, son los únicos animales de los herbívoros que dieron resultados positivo en dos pruebas: la de FC' y la de tarjeta al 3% . Cuando se utilizó la prueba de tarjeta al 8% solamente el antilope blackbuck número 51 dio positivo, sin embargo en ninguna de las otras pruebas resultó positivo.

A la prueba de ELISA, no se presentó ningún reactor positivo. En el cuadro 3A, se muestra que en cuanto a los carnívoros, a la prueba de FC' dio resultado positivo el lobo canadiense número 150, pero en las demás pruebas obtuvo resultados negativos, cuando se utilizo la prueba de tarjeta al 3% resultaron positivos la loba del Ártico número 128 y el lince rojo número 149, sin embargo a la prueba de tarjeta al 8%, a la prueba de FC', y a la prueba de ELISA resultaron negativos, empero cuando se les realizó la prueba para brucelas rugosas dieron resultado positivo.

El cuadro número 4 nos muestra los porcentajes de los animales positivos a la prueba de FC', correspondiendo a 10 animales herbívoros, lo que da el 10.64 % del total de los herbívoros y 1 animal positivo de los correspondientes a los carívoros, lo que da el 1.64% del total de éstos.

El número y porcentaje de animales positivos a la prueba de tarjeta con antígeno de B. abortus al 3% y 0% y el antígeno rugoso de B. canis utilizado en carnívoros se muestran en el cuadro 5.

El total de los herbívoros (94) y de los carnívoros (61) dieron resultados negativos al ser probados por el ELISA competitivo.

Los animales que presentaron fenómeno de prozona fueron 2 herbívoros (2.13 %) y 4 carnívoros (6.56%) y estos se muestran en el cuadro número 6.

Como se puede observar en el cuadro 7 del total de 94 animales herbívoros, integrados por 18 especies diferentes, 26 animales presentaron el problema de anticomplementariedad, lo que da como resultado el 27.65% de anticomplementarios para los herbívoros, y que de 61 animales carnívoros integrados por 13 especies diferentes 8.19% del total de estos presentaron la misma reacción.

DISCUSION:

En el campo del estudio de la brucelosis en animales silvestres libres ó en cautiverio, no se cuenta con los suficientes datos bibliográficos que proporcionen información sobre técnicas de diagnóstico y prevalencia de esta enfermedad y además, son pocos los países que realizan investigación sobre este tema, dentro de estos destacan, E.U, Argentina y algunos países europeos como España, Rusia, Bulgaria e Irlanda; en estos países las investigaciones se han realizado en animales que se encuentran en vida salvaje y recientemente en México se ha realizado investigación con animales que viven en cautiverio (8, 25, 32, 35) .

La escasa existencia de bibliografía en este tema puede deberse a la poca importancia que se le da a la fauna silvestre como probable fuente de infección de brucelosis para los animales domésticos y el hombre. México cuenta con la Campaña Nacional para la erradicación de la brucelosis en los animales domésticos, sin especificar el tratamiento adecuado para los animales silvestres, por lo que se decidió trabajar con las pruebas ya establecidas para el diagnóstico de las brucelas lisas, dichas pruebas son: 'FC', que es la prueba confirmatoria para el diagnóstico de brucelosis, prueba de tarjeta con antígeno de Brucella abortus en concentración celular del 3% y 8% , además, se utilizó un inmunoensayo enzimático de tipo competitivo diseñada específicamente para el diagnóstico de brucelosis en bovinos (9, 24, 34) . Otro problema importante es la obtención de las muestras de suero de animales silvestres por el manejo de éstos, es posible que ésta sea una de las causas de la ausencia de estudios en este tema.

La literatura menciona las pruebas que han sido utilizadas en el diagnóstico de brucelosis en fauna silvestre y éstas son: FC', prueba de tarjeta, ELISA, rivanol, aglutinación en tubo (8, 28, 31, 32, 36).

El problema en el diagnóstico serológico incluye reacciones de falsos positivos y de falsos negativos, los cuales, en el caso de los animales domésticos, pueden aparecer como resultado de la vacunación o por haber estado expuesto el animal a un antígeno de una cepa virulenta de *Brucella* spp, como puede ser el caso de los animales silvestres. El aislamiento de la brucela a partir del animal, es el único método definitivo de diagnóstico (31) .

Los animales silvestres pueden estar involucrados en una transmisión mecánica de la brucelosis y contaminar el material alrededor de los centros de producción, convirtiéndose en foco de infección de esta enfermedad.

El rol de las diferentes especies de animales silvestres no ha sido determinado en la transmisión del agente, Cheryl (6), menciona que algunas ratas son capaces de contraer la enfermedad y eliminar el agente en orina y heces.

Para este trabajo, se utilizaron sueros de carnívoros y herbívoros alojados en el Zoológico de Chapultepec de la Ciudad de México, y aprovechando la remodelación de este, se manejó a los animales para la obtención de muestras sanguíneas y así los problemas que se enfrentaron fueron: manejo de anestésicos y contención física, lo que posiblemente influyó en una mala toma, además de no poder continuar con la red fría en el envío de las muestras al laboratorio; es factible que esto contribuyera a la contaminación de los sueros, lo

cual afecta un buen diagnóstico, como en el caso de la presencia de resultados anticomplementarios en la prueba de FC'.

En este estudio, los resultados para los herbívoros fueron de 10 animales positivos a la prueba de FC' , lo que coincide con lo reportado por Viscaíno (35) quien encontró 2 ciervos positivos de un total de 85 animales con la prueba de FC' y Cheryl (6) menciona que de un total de 1165 wapitis fueron positivos 307 a la prueba de FC' ; Se encontraron 2 venados sika en este estudio, positivos a la prueba de FC', Parás (25) menciona que de 74 venados cola blanca del Zoológico de Chapultepec de la ciudad de México, el 100% resultó negativo en el año de 1991 .

En este trabajo también se obtuvieron resultados positivos en 1 cebra y 1 dromedario, siendo el Doctor Paul Nicoletti de la universidad de Florida quien por comunicación personal nos informó que él ha trabajado con estos animales, obteniendo resultados similares.

De los resultados obtenidos destaca que de 61 carnívoros, solo 1 loba canadiense resultó positiva a FC' con antígeno de Brucella - abortus .

Randal (27) en sus estudios con lobos de Alaska encontró, positivos con la prueba de tarjeta con antígeno buferado y acidificado de B. canis (BAPA), 1 lobo positivo de 67 a Brucella canis. Davis et al (8) obtuvieron una prevalencia de 18 % de B. abortus, biotipo 1 en sueros de coyotes de Texas, Williams, (36) también reporta un alta prevalencia de en suero de coyotes (94 de 423) y aunque en el zoológico de Chapultepec, no se obtuvieron sueros de coyote, estos

datos nos hacen pensar en la alta incidencia de esta enfermedad en cánidos salvajes.

Kenneth (17) experimentalmente, inoculó 2 lobos con Brucella suis biotipo 4 y obtuvo infección en ambos animales, lo que demuestra la susceptibilidad de dichos animales a esta infección .

El el cuadro No. 5 que corresponde a los resultados obtenidos a la prueba de tarjeta, se obtuvo un total de 7 animales positivos cuando el antígeno se usó al 3% y estos son 1 jaguar, 1 oso, 1 antilope flu, 2 antílopes black buck, 1 venado sika y 1 rinoceronte negro, cuando el antígeno se usó al 8 % resultaron positivos: 1 antilope blackbuck, 1 león, 1 loba del Ártico y 1 lince rojo. De estos animales positivos es importante hacer notar que el lobo número 149 resultó positivo a la prueba de tarjeta con antígeno al 3% y al 8%.

La prueba de tarjeta, es una prueba cualitativa y se usa rutinariamente a concentración del 8 %, sin embargo recientemente se ha encontrado que en ovinos y caprinos, la concentración del antígeno al 3 % aporta resultados más confiables al aumentar la sensibilidad, esto puede explicarse por el fenómeno de equivalencia entre el antígeno y el anticuerpo (9).

Williams (36) al realizar la prueba de tarjeta en 94 coyotes de Texas, obtuvo resultados positivos en 38 animales y Davis (8) en 1979, menciona que en un trabajo realizado por Randhawa (28), de un total de 198 coyotes atrapados en el sur de Texas, 11 animales (5.6 %) mostraron anticuerpos de brucela, esto es una consecuencia normal ya que los lobos y coyotes por sus hábitos alimenticios son susceptibles

de infección al consumir carne de animales enfermos.

Szyfcs (32) en su estudio de 728 zorros, solo 173 resultaron positivos a la prueba de aglutinación en placa a partir de la dilución 1 : 25.

Randall 27 obtuvo a la prueba de de placa con antígeno buferado y acidificado (BAPA), 1 lobo positivo de 82 animales esto es menor que el 30 % reportado para los lobos de Siberia y además estos datos son similares a los nuestros ya que 1 de 3 lobos es positivo.

Un total de 26 herbívoros y 5 carnívoros resultaron anticomplementarios por lo que se les trato con albúmina de bovino al 5% y se les centrifugó, sin embargo 31 sueros fueron anticomplementarios posiblemente debido a la contaminación de éstos. En la bibliografía revisada para este trabajo, no se encontró ningún reporte de animales anticomplementarios.

En cuanto a los herbívoros, en este estudio, resultaron positivos a la prueba de tarjeta al 3 %: 1 venado sika, 2 antílopes blackbuck, 1 antílope flu y 1 rinoceronte negro. Cheryl (6) reporta que a esta misma prueba de tarjeta: 1 wapiti y 1 venado sika resultaron positivos, y que 1 jirafa, 1 antílope eland, 1 antílope acuático fueron positivos a la prueba de tubo, estos resultados, coinciden con los nuestros, ya que aunque en este trabajo no se realizó la prueba de tubo, los porcentajes de los resultados son muy similares.

A pesar de que no se realizaron trabajos con mapaches ni con zariquíeyas, Randhawa (28) reporta que a la prueba de tarjeta, 7 zariquíeyas de 33, fueron positivas, ésto da el 21.2 % y que 1 mapache

de 11 que corresponde al 9.1% fueron positivos.

La ELISA competitiva utilizada en este trabajo, ha mostrado gran eficacia en el diagnóstico de brucelosis en bovinos y búfalos en E.U., por lo que se quiso conocer como trabajaba con otras especies animales y se obtuvieron resultados negativos, esto se puede explicar por el diseño de la prueba, en la cual se utilizó un epítoto " O " del lipopolisacarido de B. abortus para hacer un anticuerpo monoclonal que pudiera competir con los anticuerpos producidos por los bovinos y búfalos enfermos. La conclusión obtenida en la UNAM por el MVE Edgar Alfonseca en cuanto a la ELISA diseñada por el Doctor Gary Adams y colaboradores de la universidad de Texas A. M. es que no todas las especies animales son capaces de producir anticuerpos contra el epítoto " O " que es usado en el ensayo.

En pláticas recientes con el Doctor Adams se concluyó que usando el ensayo en bisonte, se obtuvieron resultados positivos, no siendo así en otros animales herbívoros silvestres en los que se han realizado estudios. Esta información coincide con los resultados obtenidos en este trabajo, ya que al probar con diferentes especies de animales silvestres estas no fueron capaces de detectar animales que resultaron positivos a la prueba de Fijación del complemento y tarjeta.

En la ELISA c, estos sueros se mostraron negativos, por lo que se puede deducir, que las demás especies animales no son capaces de producir anticuerpos contra este epítoto específico por lo que no los reconoce, esta información se obtuvo por comunicación personal del Doctor Gary Adams*.

Williams (36) ha utilizado otra ELISA para el diagnóstico de B. abortus , comparándolos con otros métodos serológicos y obtuvo baja sensibilidad en dicha prueba.

En la bibliografía consultada, la mayor parte de los animales que han sido estudiados y en los cuales se han encontrado títulos de anticuerpos contra brucela han sido herbívoros y dentro de éstos, destacan los ruminantes (6, 9, 14, 16, 25, 35).

En este trabajo se encontro, que la mayoría de los animales positivos también corresponden a ruminantes. En vida silvestre, los ruminantes salvajes como venado, bisón, wapiti y búfalo son una fuente potencial de brucelosis tanto para los animales silvestres como para los domésticos, y aunque se concluyó que la brucelosis se encuentra presente en algunas especies de herbívoros y carnívoros del Zoológico de Chapultepec, se desconoce el papel que juegan los animales silvestres en el contagio de la bruceleosis al ser humano y a otras especies.

La ingestión de productos provenientes del aborto de animales infectados, la contaminación de alimento o agua con exudados, placentas y fetos, puede ser probablemente el medio de diseminación para los animales silvestres, y más comunmente para los carnívoros como el coyote, que debido a sus hábitos alimenticios se infecta y a pesar de la contaminación de los pastos con sus heces no es capaz de producir infección; Existen algunas especies animales extemadamente susceptibles a la brucelosis como el alce, ya que 10 bacterias de Brucella le producen la muerte por septicemia y los lemmings que mueren al ser infectados por una sola bacteria * .

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES:

Realizar un número más extenso de pruebas además de la confirmatoria de FC y de tarjeta al 3 % y al 8 %, pruebas con antígeno para brucelas rugosas y ELISA; sería conveniente contar con una batería de pruebas estandarizadas para el diagnóstico de brucelosis en animales silvestres como las que se hacen en otros países como: BAPA (prueba con antígeno buferado y acidificado) , cultivo, rivanol, mercaptoetanol, PCR y absorbencia por espectrofotometría o proponer una serie de técnicas diagnósticas específicas para la fauna silvestre, con lo cual se podría unificar la información de los diferentes países y se obtendrían mejores resultados comparativos además de que se mejorarían las perspectivas de ataque.

También sería buena opción al realizar sondeos en los diferentes zoológicos, por lo menos una vez al año para detectar: portadores, enfermos subclínicos, y evitar así el contagio a otros animales y al hombre ya sea por vacunación o por eliminación de los animales en las especies que sea posible.

En lo que se refiere a los animales de nueva introducción realizar pruebas rigurosas para detectar además de brucelosis otras zoonosis o enfermedades infectocontagiosas de importancia tanto para los animales silvestres como para los animales domésticos y el hombre.

En este trabajo se concluyó que existen anticuerpos contra Brucella spp en el 15.15 % de los 165 animales muestreados en el Zoológico de Chapultepec por lo que el establecimiento de una prueba de ELISA específica para el diagnóstico de brucelosis en animales silvestres

sería de gran utilidad, ya que es una prueba rápida y precisa y una vez ya establecida y aunada a la prueba confirmatoria de FC' se lograría ahorro de tiempo lo que repercute en el tratamiento y desecho de animales infectados cuando esto sea posible, ya que en fauna silvestres no siempre es factible por el valor de los animales debido al alto costo, al valor estimativo o para la preservación de la especie.

**ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA**

BIBLIOGRAFIA

- 1.- Acha, P. N.: Zoonosis y Enfermedades Transmisibles Comunes al Hombre y a los Animales. 2a. ed OPS-OMS, Washington, 1968.
- 2.- Alton, G. G. and Jones, L. M.: Laboratory Techniques in Brucellosis, 2nd ed. FAO-WHO. Geneva. 1975.
- 3.- Blood, D.C. et.al.: Medicina Veterinaria 6a ed. Interamericana . México, 1986.
- 4.- Carpenter, P. L.: Microbiología. 4a ed. Interamericana , México, 1982 .
- 5.- Casillas, F.M. Impacto de la Brucelosis en la Salud Pública en México. Memorias del II Foro Nacional de Brucelosis . México. Secretaría de Salud México . (1988) .
- 6.- Cheryl, G. M: and Schnurrenberger P. R.: A Review of natural occurring Brucella abortus infections in wild mammals. JAVMA 172: 1105-1112 (1981).
- 7.- Comité mixto FAO/OMS de Expertos en Brucelosis.: Sexto informe OMS . Ginebra Suiza 1986'.
- 8.- Davis, D. S:, Boer, W.J:, Minn, J. P: and Adams L.G: Brucella abortus in coyotes. A serologic survey in Eastern Texas. J. Wildl. Dis., 15: 367-372 (1979).
- 9.- Díaz A .Et, Velázquez Q. F: y Blasco M. J: Prueba de tarjeta modificada para el diagnóstico de la brucelosis caprina. Reunión Anual de Investigación Pecuaria. Guadalajara, México.

1993. pag. 56-61. SARH. Guadalajara, México. (1993)
- 10.- Del Rio, V. J.: Importancia de la brucelosis en México. Memorias del II Foro Nacional de Brucelosis. México, D.F. 1988. Secretaría de Salud México D.F. . (1988).
- 11.- González, S.N., Palacio, P.J. y Sánchez N. J: Infectología Clínica Pediátrica 3a ed. Ed. Trillas. México, 1987 .
- 12.- Gurria T. F.: Introducción General y Situación Actual de la Tuberculosis y Brucelosis en México.: Curso de Capacitación de coordinadores estatales. Ed: FMVZ-SARH pag 3-10. FMVZ-SARH México D. F. 1994.
- 13.- Hernández A. L.: Diagnóstico Bacteriológico de Brucelosis. Curso Teórico Práctico de Diagnóstico de Brucelosis Animal. México, D.F. 1994. pag 1-6 SARH. México D.F. (1994).
- 14.- Hoff, G. L., Bigler, W.J. and Debbie J.G.: Survey of selected carnivore and opossum serums for agglutinins Brucella canis. JAVMA , 165: 830-831 (1974).
- 15.- Jawetz, E., Melnick L. J. and Adelberg, A. E.: Microbiología Médica. 10a. ed. El Manual Moderno. México, D. F. 1983.
- 16.- Kenneth, A. N.: Further observations on rangeliferine brucellosis in Alaskan carnivores. J.Wildl.Dis., 11: 45-53 (1975).
- 17.- Kenneth, A. N.: and Lawrence, G. M.: Experimental Brucella suis type 4 infections in domestic and wild Alaskan carnivores. J. Wildl. Dis., 17: 183-189 (1981).

- 18.- López, M. A.: Manual de Técnicas y procedimientos para el estudio de brucelosis. Secretaría de Salud. Subsecretaría de Servicios de Salud. pag. 1-28 México D.F. 1989.
- 19.- López, M. A., López, S.R., Antonio, O. D., Hernández, M. I., y González, D.F.: Brucelosis: avances y perspectivas. Publicación Técnica del INDR. 6: 1-54. (1991).
- 20.- Luna, M. E.: Estudio de la brucelosis en hatos lecheros y su producción láctea en el municipio de Ciudad Netzahualcoyotl, Estado de México. Tesis de Licenciatura. Fac. Med. Vet y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México. México . 1989 .
- 21.- Mancera, M. A.: Prueba de antígeno brucelar amortiguado o de tarjeta. Curso teórico práctico de diagnóstico de brucelosis animal. México D.F. 1994 pag: 19-21. SARH México D. F. (1994).
- 22.- Mc Cue, P.M., y O'Farrell P.T.: Estudio serológico para selección de enfermedades en zorra de San Joaquín (Vulpes macrotis nutica). Escuela de Medicina Veterinaria. Universidad de California. 1987 .
- 23.- El Manual Merck de veterinaria 7a. ed. Merck and Co., Inc., New Jersey, USA. 1988.
- 24.- Norma Oficial Mexicana de la Campaña Nacional Contra la Brucelosis en Animales y su Prevención y Control en Humanos. 1994 Diario oficial de la Federación. 26 de Enero, México .
- 25.- Paras, G. A., Suárez, G.F. y de la Peña, M. A.: Serología de

Leptospira y Brucella en una población cautiva de venado cola blanca (Odocoileus virginianus) en el Zoológico de Chapultepec en la ciudad de México. Rev. Vet. Méx. 23 : 349-352 (1992).

26.- Paulín, B. E., López, E. J., Villamil, G. N., y Villamil, G. P.: Estudio comparativos de varios antígenos para el diagnóstico de brucelosis humana y diagnóstico de prevalencia de brucelosis en humanos en grupos de población general y población de alto riesgo. Tesis de Licenciatura. Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, UNAM . Cuautitlán Izcalli, Edo de México, 1984 .

27.- Randall, L. Z. y Warren B. B.: Serologic survey for selected microbial pathogens of wolves in Alaska, 1975-1982. J. Wildl. Dis., 23: 77 -85. (1987).

28.- Randhawa, A. S., Kelly, V.P., and Baker, E. F. : Agglutinins to Coxiella burnetii y Brucella spp with particular reference to Brucella canis, in wild animals of Southern Texas. JAVMA, 171 : 939-942. (1977).

29.- Ruiz, C. M.: Estudios sobre terapéutica de la brucelosis humana. Obra científica selecta. ed: Gómez, O.M., Alvarado, A.F. pag 177-186. INDRE México D. F. 1993.

30.- Ruiz, C. M.: Estudios sobre metabolismo de la Brucella. Su aplicación a la tipificación de las especies. Obra científica selecta. ed: Gómez, O.M., Alvarado, A. F. pag 253-260 INDRE México D. F. 1993.

- 31.- Suárez, G. F.: Descripción y Generalidades de Brucelosis. Curso de capacitación de coordinadores estatales y supervisores distritales en tuberculosis bovina y brucelosis. pag 165-171. SARN-FMVZ México D.F. 1994.
- 32.- Szyfres, B. y González, T. J.: Selección natural por Brucella en zorros silvestres de la Argentina. Bull. wild. Hith. org., 34 No. 6: 919-923. (1966).
- 33.- Vázquez, N. J.: Preparación de antígenos rugosos y diagnóstico de la brucelosis canina (B. canis). Curso teórico práctico de diagnóstico de brucelosis animal. México D. F. 1994. pag 41-45. SARN México D. F. (1994).
- 34.- Velázquez, Q. F., y Ontiveros C. M.: Práctica para la estandarización de la prueba de fijación del complemento para el diagnóstico de brucelosis. Curso teórico práctico de diagnóstico de brucelosis animal. México D. F. 1994. pag 7-13 . SARN México D. F. (1994).
- 35.- Vizcaino, L.L., Molera, A. A., y Miranda G. A.: Difusión de la brucelosis en artiodáctilos salvajes (Sua scrofa. Dama dama. Cervus elaphus). Recientes aportaciones veterinarias sobre brucelosis 29 : 65-71. (1978).
- 36.- Williams, J. D., and Heck, F.C.: Comparison of results from five serologic methods used for detecting Brucella abortus antibody activity in coyote sera. Vet. Immunol. Immunopathol. 29 : 79-87 (1991).

CUADRO No. 1 DESCRIBE LOS RESULTADOS DE LAS PRUEBAS SEROLOGICAS REALIZADAS A HERBIVOROS

NOMBRE COMUN	No. ANIMALES	FIJACION DE COMPLEMENTO				PBA. DE TARJETA				ELISA	
		* *	%	ANT	%	3%	%	8%	%	**	%
GAMOS	18	0	0	8	33.0	0	0	0	0	0	0
VENADO SIKA	6	2	33.33	0	0	1	16.67	0	0	0	0
JIRAFAS	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
CEBRA	3	1	33.33	2	66.67	0	0	0	0	0	0
ANTILOPE ELAND	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
ANTILOPE BLACKBUCK	7	3	42.86	1	14.29	2	28.56	1	1.08	0	0
ANTILOPE NILGO	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
ANTILOPE ACUATICO	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
MUFLONES	12	3	25.0	7	58.33	0	0	0	0	0	0
ANTILOPE NU	3	0	0	1	33.33	1	33.33	0	0	0	0
ANTILOPE SABLE	8	0	0	3	37.50	0	0	0	0	0	0
BISONTES	7	0	0	1	14.29	0	0	0	0	0	0
YAC	1	0	0	1	100.0	0	0	0	0	0	0
WAPITI	7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
GUANACOS	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
DROMEDARIOS	7	1	14.29	4	57.16	0	0	0	0	0	0
LLAMA	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
RINOCERONTE NEGRO	2	0	0	0	0	1	50.0	0	0	0	0

* * : Significa el número de animales positivos a la prueba de Fijación de Complemento.

ANT Significa el número de animales que a la prueba de FC dieron anticomplementarios

3% Significa la concentración celular del antígeno utilizado para la prueba de tarjeta.

8% Significa la concentración celular del antígeno utilizado para la prueba de tarjeta.

** Significa el número de animales positivos a la prueba.

O Significa animal negativo.

CUADRO No. 2		DESCRIBE LOS RESULTADOS DE LAS PRUEBAS SEROLOGICAS REALIZADAS A CARNIVOROS											
NOMBRE COMUN	No. ANIMALES	FIJACION DE COMPLEMENTO				PBA. DE TARJETA				ELISA	RUGOSAS		
		.*	%	ANT	%	3%	%	8%	%	.***	.***	%	
LEONES	8	0	0	0	0	0	0	1	12.50	0	1	12.5	
JAGUARES	4	0	0	0	0	1	25.0	0	0	0	0	0	
OSOS NEGROS	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
TIGRES	9	0	0	1	11.11	0	0	0	0	0	0	0	
PANTERAS	7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
PUMAS	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
LEOPARDOS	11	0	0	1	9.00	0	0	0	0	0	0	0	
PANDA GIGANTE	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
OSOS POLARES	2	0	0	1	50.0	1	50.0	0	0	0	0	0	
LOBOS	3	1	33.33	1	33.33	0	0	1	33.33	0	1	33.33	
LINCES ROJOS	2	0	0	0	0	0	0	1	50.0	0	1	50.0	
OCELOTE	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
JAGUARUNDI	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
.* Significa el número de animales positivos a la prueba de Fijación de Complemento. ANT Significa el número de animales que a la prueba de FC dieron anticorplementarios 3% Significa la concentración celular del antígeno utilizado para la prueba de tarjeta. 8% Significa la concentración celular del antígeno utilizado para la prueba de tarjeta .*** Significa el número de animales positivos a la prueba de BRUCELA RUGOSA. 0 Significa animal negativo													

CUADRO No. 3					
Comparación de los sueros positivos con las diferentes pruebas serológicas utilizadas para la detección de anticuerpos contra <i>Brucella abortus</i>					
HERBÍVOROS	No. de animal	FC	3%	8%	ELISA
Venado sika	14	+	+	-	-
Venado sika	25	+	-	-	-
Cebra	66	+	-	-	-
Antilope blackbuck	68	+	-	-	-
Antilope blackbuck	51	-	-	+	-
Antilope blackbuck	57	+	+	-	-
Antilope blackbuck	59	+	+	-	-
Muflón	55	+	-	-	-
Muflón	81	+	-	-	-
Muflón	94	+	-	-	-
Antilope flu	5	-	+	-	-
Dromedario	56	+	-	-	-
Rinoceronte negro	23	-	+	-	-

CUADRO No. 3 A

CARNÍVOROS	No. de animal	FC	3%	8%	ELISA	Br. Rugosas
León	97	-	-	+	-	+
Jaguar	96	-	+	-	-	-
Oso polar	151	-	+	-	-	-
Lobo canadiense	150	+	-	-	-	-
Loba del Ártico	128	-	-	+	-	+
Lince rojo	149	-	-	+	-	+

CUADRO NUM.- 4	Animales positivos a la prueba de FC*			
	TOTAL DE ANIMALES	NUMERO DE ESPECIES	POSITIVOS A FC* *	%
HERBIVOROS	94	18	10	10.64%
CARNIVOROS	61	13	1	1.64%
* Animales positivos a la dilución : 1:4 y 1:16				

CUADRO No. 5	Animales positivos a la prueba de tarjeta							
	TOTAL DE ANIMALES	NUMERO DE ESPECIES	Ag. para bruceles lisas				Ag. para bruceles rugosos	
			3%	%	8%	%		%
HERBIVOROS	94	18	5	5.31	1	1.06%	0	0%
CARNIVOROS	61	13	2	3.27%	3	4.91%	3	4.91%

CUADRO No. 6 Número y porcentaje de los animales que presentaron fenómeno de prozona.		
	PZ*	%
HERBIVOROS	2	2.13%
CARNIVOROS	4	6.56%

* PZ: Significa el número de animales que presentaron fenómeno de prozona.

CUADRO No. 7 Número y porcentaje de animales que presentaron anticomplementariedad.			
	TOTAL DE ANIMALES	NUMERO DE ANICOMPLEMENTARIOS ESPECIES	%
HERBIVOROS	94	18	27.65%
CARNIVOROS	61	13	8.19%