

01674
13



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

MAESTRIA EN CIENCIAS DE LA PRODUCCION
Y DE LA SALUD ANIMAL

COMPORTAMIENTO DE LA VACUNA RUGOSA
RB51 (*Brucella abortus*) EN HATOS BOVINOS CON
DIFERENTE PREVALENCIA DE BRUCELOSIS

T E S I S

PARA OBTENER EL GRADO DE

MAESTRO EN CIENCIAS

P R E S E N T A

ENRIQUE HERRERA LOPEZ

TUTOR: FRANCISCO SUAREZ GUEMES

COMITE TUTORAL: EFREN DIAZ APARICIO

FELICIANO MILIAN SUAZO

CIUDAD UNIVERSITARIA

2002

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 esta 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.

El presente estudio es parte del Proyecto aprobado y financiado por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) con número 31642-B "Comportamiento de vacunas de nueva generación contra la brucelosis bovina" El estudio contó con el apoyo del Laboratorio de Bacteriología del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales y Agropecuarias (INIFAP) CENID-Microbiología

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

DEDICATORIAS

A mis padres, Leticia y Enrique; por todo el apoyo y cariño que me han brindado toda la vida

A mis hermanos, Mariana y Carlos; por existir y ser parte de mí. por poder contar con ustedes y quererme a pesar de lo diferente que somos

A mis abuelas, Carmen y Margarita; por su inmenso amor y que Dios me las conserve mucho tiempo más

A Gabi, por todo tu apoyo, tu amor y compañía en todo este tiempo

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

AGRADECIMIENTOS

- A los Drs Efrén Díaz Aparicio y Francisco Suárez Güemes, por darme la oportunidad y el apoyo para poder realizar este trabajo
- A la Dra. Laura Hernández Andrade, por su apoyo durante todo este tiempo; así como también la colaboración de los Drs Feliciano Milián Suazo y Dionisio Córdoba López
- A los Drs Ricardo Flores Castro, J. Francisco Monroy Lopez y Víctor Tenorio Gutiérrez, por el tiempo en la revisión de la tesis
- Al MVZ Armando Barba y a todo su equipo, por el apoyo brindado para la realización del trabajo de campo
- A todo el personal de Bacteriología del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias (INIFAP)
- A todas aquellas personas que colaboraron en la realización de esta tesis

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

ÍNDICE

Resumen	V
Summary	VII
Introducción	1
♦ Antecedentes Históricos	1
♦ Campaña nacional de control de brucelosis bovina	2
♦ Vacunación contra la brucelosis bovina	2
♦ Composición antigénica del género <i>Brucella</i>	6
♦ Patogenia de la brucelosis bovina	9
♦ Inmunología de la brucelosis	10
♦ Diagnóstico de la brucelosis	13
♦ Prevención y control	16
Justificación	21
Hipótesis	21
Objetivo General	21
Objetivos Específicos	21
Material y Métodos	22
♦ Sitio del estudio	22
♦ Animales	22
♦ Criterios de inclusión	22
♦ Criterios de exclusión	22
♦ Vacunación	23



◆ Toma de muestras	23
◆ Prueba de tarjeta	23
◆ Prueba de rivanol	23
◆ Factores de riesgo	24
◆ Ranchos de bovinos con diferentes prevalencias de brucelosis vacunados con RB51 después de un año	24
◆ Análisis estadístico	25
Resultados	
◆ Descripción de la población de estudio	26
◆ Prevalencia e incidencia mensual	28
◆ Factores asociados con la seropositividad a <i>Brucella</i> en hatos de baja y alta prevalencia	29
◆ Modelo de regresión logística múltiple	29
Discusión	31
Conclusiones	37
Literatura citada	38
Cuadros	
Cuadro 1 Número de partos de las vacas en los dos hatos	48
Cuadro 2 Periodo de gestación de las vacas de los dos hatos al momento de aplicar el cuestionario	48
Cuadro 3 Aspecto de los fetos abortados por las vacas en ambos hatos	48



Cuadro 4. Prevalencia e incidencia mensual del hato bovino con baja prevalencia de brucelosis, posterior a la vacunación con RB51	49
Cuadro 5. Prevalencia e incidencia mensual del hato bovino con alta prevalencia de brucelosis, posterior a la vacunación con RB51	50
Cuadro 6 Resultados a la prueba de rivanol de los sueros positivos a tarjeta en el hato de baja prevalencia de brucelosis, en los muestreos posteriores a la vacunación con RB51	51
Cuadro 7 Resultados a la prueba de rivanol de los sueros positivos a tarjeta en el hato de alta prevalencia de brucelosis, en los muestreos posteriores a la vacunación con RB51	52
Cuadro 8 Razón de momios e intervalos de confianza al 95% de los factores de riesgo de brucelosis considerados en el estudio de los dos hatos lecheros	53
Cuadro 9 Razón de momios e intervalos de confianza al 95% de los factores de riesgo de brucelosis considerados en el estudio multivariado de los dos hatos lecheros	54
Figuras	
Figura 1. Prevalencia e incidencia mensual del hato bovino con baja prevalencia de brucelosis, posterior a la vacunación con RB51	55
Figura 2 Comportamiento de la vacunación con RB51 en un hato bovino lechero con baja prevalencia de <i>Brucella</i> , en Tizayuca, Hgo	56

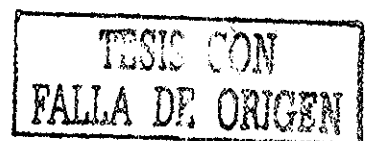


Figura 3 Prevalencia e incidencia mensual del hato bovino con baja prevalencia de brucelosis, posterior a la vacunación con RB51	57
Figura 4. Comportamiento de la vacunación con RB51 en un hato bovino lechero con alta prevalencia de <i>Brucella</i> , en Tizayuca, Hgo	58
Figura 5. Resultado de la prueba de rivanol en los sueros positivos a tarjeta al 8% en el hato de baja prevalencia a brucelosis	59
Figura 6 Resultado de la prueba de rivanol en los sueros positivos a tarjeta al 8% en el hato de alta prevalencia a brucelosis	60
Figura 7 Rancho A Vacunación con RB51 en Enero de 1999 Muestreo en Marzo de 2001	61
Figura 8. Rancho B Vacunación con RB51 en Agosto de 1999 Muestreo en Agosto de 2000	62
Figura 9 Rancho C Vacunación con RB51 en Diciembre de 1999 Muestreo en Marzo de 2001	63
Anexos	64
Anexo 1 Cédula de información individual para determinar factores de riesgo	64
Anexo 2 Variables independientes del cuestionario de factores de riesgo de ambos hatos	66
Anexo 3 Significado de las variables en estudio	68

RESUMEN

Enrique Herrera López. Comportamiento de la Vacuna Rugosa RB51 (*Brucella abortus*) en Hatos Bovinos con Diferente Prevalencia de Brucelosis. Asesorado por: Dr. Francisco Suárez Güemes, Dr. Efrén Díaz Aparicio y Dr. Feliciano Milián Suazo

El objetivo fue evaluar el comportamiento de la vacuna de *B. abortus* RB51 mediante un estudio longitudinal prospectivo en dos hatos bovinos lecheros con diferente prevalencia de brucelosis situados en el Complejo Agropecuario Industrial de Tizayuca, Hgo. Se trabajó con un hato de baja prevalencia (8.8%) y un hato de alta prevalencia (15.3%). La prevalencia se determinó antes de iniciar el estudio. Se vacunaron con una vacuna comercial dosis vaca (Litton de México) a la totalidad de animales al día cero, y se revacunaron al día 90, por vía subcutánea. En ambos hatos se realizaron muestreos de la totalidad de animales cada 30 días hasta 660 días. Se realizó la prueba de tarjeta y a los sueros positivos la prueba de rivanol, con lo que se determinó la incidencia y prevalencia mensual. La población estudiada durante los 660 días de muestreo fue de 1150 vacas para los dos hatos, 538 vacas para el hato de baja prevalencia y 612 vacas para el hato de alta prevalencia. En el hato de baja incidencia se eliminaron los animales positivos al principio del estudio, así como todos aquellos nuevos casos que se fueron detectando; posterior a la vacunación se observó un incremento en el número de nuevos casos, pero a partir del día 120 comenzó a decrecer hasta lograr incidencias menores de 1% al final del estudio. Para el hato de alta prevalencia, durante el primer año de seguimiento no se eliminaron vacas seropositivas incrementándose el número de animales de 37 que existían al inicio del estudio a 120 para el término del primer año. A partir del día 360 se empezó a eliminar animales seropositivos, por lo que las incidencias también disminuyeron, llegando a menos del 1% para el día 540. Se analizó la información de los cuestionarios individuales de las vacas en ambos hatos, con el fin de encontrar variables que pudieran estar involucradas con la presencia de brucelosis. Las variables que se consideraron fueron: Número de partos, tiempo de gestación, tercio de gestación del aborto, etapa de producción en que abortó la vaca y aspecto del producto abortado. Se encontró asociación estadísticamente significativa



entre la variable de “vacas con antecedentes de aborto” con la seropositividad a *Brucella*; el hato de baja prevalencia tuvo un OR de 4.5 con un intervalo de confianza al 95% de (1.2 ; 16.6). En el hato de alta prevalencia, el grupo de vacas con antecedentes de aborto, presentó una OR de 3.6 con un intervalo de confianza al 95% de (1.5 ; 8.5) siendo estadísticamente significativo en ambos casos. Por lo que se concluye que la presencia de animales seropositivos en los dos hatos, representan un factor de riesgo debido al contagio hacia animales negativos, la transmisión a través del aborto de vacas positivas, continua siendo un problema importante. En el hato de baja prevalencia, la vacunación con RB51 en conjunto con la eliminación del animal seropositivo es más efectiva para controlar la transmisión de la brucelosis. La efectividad de la vacunación con RB51 en el hato de alta prevalencia es menor en comparación con el hato de baja prevalencia.

Palabras Clave: *Brucella abortus* RB51, vacunación, Bovinos

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

SUMMARY

Enrique Herrera López. Performance of *Brucella abortus* vaccine strain RB51, in two cattle herds with different of prevalence brucellosis (Supervised by Francisco Suárez Güemes, Efrén Díaz Aparicio and Feliciano Milián Suazo).

The objective of this study was to evaluate the *B. abortus* vaccine strain RB51, in cattle with different brucellosis prevalence by a prospective longitudinal study. Two herds located in the Complejo Agropecuario Industrial Tizayuca Hgo. it were used. The herd 1 was considered as a low (8.8%) serologic prevalence of brucellosis and herd 2 was considered as a high (15.3%) prevalence one, these values were determined at day zero of the study. The vaccine (RB51) was administered at day zero and a second dose was given after 90 days. The vaccinations were done using the subcutaneous route in a 2ml volume, containing 3×10^9 colony forming units (CFU) commercial vaccine was used. Serum samples were obtained every 30 days for 660 days. Sera were assayed using the card test for screening and rivanol agglutination test for confirmation (Riv). The incidence and prevalence were determined every month. A total of 1150 female cattle were followed during 660 days. 538 cows from herd 1 and 612 cows from herd 2. The information obtained from the record of each cow in both herds was analyzed, with the purpose of identify the variables that could be involved in the presence of brucellosis. The variables considered were: calving number, pregnancy length, stage of gestation when the cow aborted, production stage when the abortion occurred and the appearance of the aborted product. There was only statistically significant association between the variables cows aborted with seropositivity to *Brucella*, in contrast with cows that did not aborted. In herd 1 (low prevalence), it was found an OR of 4.5 with a confidence interval of 95% (1.2 - 16.6). In the herd 2 (high prevalence), it was found an OR of 3.6 with a confidence interval of the 95% (1.5 ; 8.5) been statistically significant in both cases. In conclusion the presence of seropositive animals in both herds represented a risk factor for infection, specially if positive cows aborted. In the low prevalence herd, beside vaccination the biosecurity

measures were fundamental for the control of the disease. In the high prevalence herd, the effectiveness of the vaccine was diminished due to the presence of *Brucella* infected animals, that remain in the same herd with negative cows. The use of the vaccine by itself, without elimination of positive animals and establishment of other biosecurity measures, is not enough for the control of brucellosis.

Key words: *Brucella abortus* RB51, vaccine, bovine

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Comportamiento de la Vacuna Rugosa RB51 (*Brucella abortus*) en Hatos Bovinos con Diferente Prevalencia de Brucelosis

Introducción

La brucelosis, también conocida como enfermedad de Bang, fiebre ondulante y aborto contagioso, es una enfermedad infectocontagiosa producida por bacterias del género *Brucella*, que afectan tanto al humano como a diferentes especies de animales domésticos (Acha y Syfres, 1986) Esta enfermedad tiene distribución mundial y es considerada enzoótica en México, diagnosticada en todos los estados de la República y se considera una de las principales zoonosis (Velázquez *et al.*, 1998) Los animales domésticos más afectados son los bovinos, los caprinos, los porcinos, los ovinos y los caninos (Estrada, 1998)

Esta enfermedad es de curso crónico, ocasionando grandes pérdidas económicas a la ganadería nacional por causar abortos, incrementar el periodo entre partos, pérdida de las líneas genéticas, infertilidad y esterilidad (Brown y Hernández, 1998; Gurria, 1998) Se ha encontrado que en bovinos la producción láctea disminuye (Suárez, 2000)

En el humano la transmisión de esta enfermedad puede realizarse a través de la ingestión de leche o sus derivados, procedentes de animales positivos, cuando la leche no ha sido pasteurizada en forma adecuada. También puede transmitirse por contacto directo con animales infectados en las prácticas rutinarias del campo. Ocasionando gastos por enfermedad y asistencia médica, disminución de la capacidad laboral y defunciones (Velázquez *et al.*, 1998)

Antecedentes Históricos

En el año de 1886 David Bruce aisló el agente causal de la brucelosis, del bazo de personas muertas por la infección; nombrándolo *Micrococcus melitensis*. Veinte años después se descubrió que las cabras eran el reservorio de la enfermedad y por lo tanto

fuentè de infecci3n para el humano al consumir leche y queso de cabra sin pasteurizar (Suárez, 2000).

Según los registros de la Secretaría de Salud la fluctuaci3n de la brucelosis en México no ha variado mucho desde los años 40. De 1984 a 1993 se tuvo un promedio anual de 5,332 casos reportados. Para el periodo de 1994 a 1997 se han registrado 3,202 casos; sin embargo, las autoridades sanitarias han reconocido que existe un subregistro importante debido a lo indefinido del cuadro clínico y a la falta de experiencia en el diagnóstico en algunas zonas del país, tradicionalmente consideradas como endémicas. Pero en encuestas seroepidemiológicas o en investigaciones específicas se ha encontrado que en todas las entidades está presente la brucelosis, y lo más importante, se encuentran afectados grupos de poblaci3n que no tienen vinculaci3n con actividades pecuarias o de crianza de animales: mujeres y jóvenes con un registro más alto de casos confirmados (Velázquez *et al.*, 1998; López, 1998).

Aunque en las 32 entidades federativas se presentaron casos de brucelosis humana de 1992 a 1996, diez estados, presentaron el 77% de la notificaci3n nacional: Guanajuato (23.9%), Nuevo León (10%), Sonora (9.7%), Coahuila (7%), Michoacán (5.9%), Sinaloa (5%), Tamaulipas (4.6%), Puebla (3.7%), Querétaro (3.4%) y Durango (3.2%) (Meljem y Flores, 1998). En cuanto a mortalidad se registra un promedio de 30 defunciones anuales por brucelosis. Pero es sabido que puede causar complicaciones cuyo desenlace frecuentemente es fatal como: endocarditis, meningitis, trombos sépticos, donde la brucelosis no queda registrada como la causa primaria (Estrada, 1998).

El impacto de la enfermedad en la poblaci3n humana puede ser analizado desde diferentes vertientes: por un lado el impacto social, considerando que se trata de una enfermedad incapacitante de curso crónico que implica la necesidad de atenci3n médica supervisada, y eventualmente hospitalizaci3n. Esta situaci3n se hace más evidente cuando el paciente es un menor o cuando es la cabeza de la familia quien enferma, pues implica limitaciones en el aporte del sustento familiar. Obvio es decir que el impacto familiar y

social es mayor cuando el desenlace de la enfermedad es la muerte del afectado (López, 1998)

Campaña Nacional de Control de Brucelosis Bovina

En 1942 se publicó en el Diario Oficial de la Federación el reglamento para la profilaxis de brucelosis, pero no es hasta 1970 cuando se instituyó oficialmente la campaña nacional para el control de la enfermedad. El 28 de abril de 1981 el Diario Oficial de la Federación publicó el acuerdo por medio del cual se establece la campaña en todo el territorio nacional con carácter obligatorio general y permanente. Siendo difícil su operación, no tuvo avances significativos en el control de la brucelosis animal. Luego en el año de 1993 se instala la Comisión Nacional para la Erradicación de la Tuberculosis y Brucelosis Bovina (CONETB), la cual propuso una estrategia diferente acorde con las necesidades actuales a nivel internacional. La norma de la Campaña Nacional Contra la brucelosis en los animales NOM-041-ZOO-1995, publicada el 8 de noviembre de 1995 en el Diario Oficial de la Federación, tiene por objeto establecer los procedimientos, actividades, criterios, estrategias y técnicas para el control y eventual erradicación de la brucelosis en las especies susceptibles en todo el territorio nacional (Suárez, 2000). La Campaña Nacional contra la brucelosis de los animales tiene dos vertientes: el muestreo serológico y la determinación de la prevalencia en la zona de bajo riesgo, con vacunación masiva de hembras susceptibles en zonas de riesgo (Gurria, 1998).

En el año 1998 se realizaron en el país 3.195.460 pruebas serológicas en bovinos, con 20.554 reactores, y se constataron 7.344 hatos negativos. En lo que se refiere a los hatos libres, se constataron 2.160. En ese mismo año se vacunaron contra brucelosis 394.502 bovinos, de los cuales 51.285 se vacunaron con la cepa 19 y 343.217 con cepa RB51 (CONASA, 1999).

Vacunación contra la brucelosis

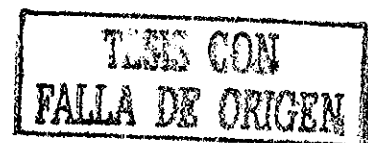
Para inmunizar al ganado bovino se empleaba tradicionalmente la vacuna viva atenuada de *B. abortus* cepa 19, cepa lisa de baja patogenicidad, estable, de



inmunogenicidad relativamente alta, y que no se propaga de animal a animal (Zambrano *et al.*, 1995) Esta vacuna en su presentación de dosis clásica se ha elaborado en México desde 1951, pero tiene como desventaja el manifestar reacciones positivas a las pruebas diagnósticas oficiales hasta en 12-18 meses posteriores a su aplicación (Blasco, 1998; Rodríguez, 1998). En México, a partir de 1998 la vacuna RB51 se empezó a utilizar en los programas de control dentro de la campaña oficial (Castell, 1998)

La importancia de utilizar vacunas vivas en fase rugosa radica en que este tipo de cepas carecen de uno de los antígenos de superficie, característica de la *Brucella* en fase lisa (Schurig *et al.*, 1991) La vacuna de *B. abortus* RB51 tiene incompleto la cadena "O" del lipopolisacárido (LPS), compuesto homopolímero lineal de N-formil-perosamina, que es un antígeno inmunodominante responsable de inducir anticuerpos en los bovinos expuestos a *Brucellas* lisas. Las técnicas comúnmente empleadas en el diagnóstico serológico se basan en la detección de anticuerpos de la cadena O, y la vacuna de *B. abortus* RB51 no induce reacciones serológicas cruzadas en las pruebas diagnósticas, que utilizan antígenos en la fase lisa; es decir, no estimula la producción de anticuerpos aglutinantes y puede diferenciarse a los animales vacunados de los que presentan la infección en el diagnóstico serológico (Schuring *et al.*, 1991; Cheville *et al.*, 1996; Olsen *et al.*, 1999; Palmer *et al.*, 1997)

La vacuna de *B. abortus* RB51 fue desarrollada por el Dr. Gerhardt G. Schurig, en 1991, es una mutante rugosa y avirulenta derivada de la cepa lisa virulenta de *B. abortus* S2308. La cepa se obtuvo por pases repetidos en soya tripticaasa adicionada con 1.5% de agar y diferentes concentraciones de rifampicina o penicilina. Después de tres pases en el medio adicionado con 50, 200 y 400 µg/ml de rifampicina crecieron colonias con morfología rugosa, lo que se constató por la tinción con cristal violeta y floculación en acriflavina. Una de estas colonias identificada como RB fue sometida a varios pases en diversas concentraciones de rifampicina (125 µg/ml) y penicilina (20 µg/ml) hasta obtener la cepa que carecía de la habilidad para reaccionar con un anticuerpo monoclonal específico (BRU38) para la perosamina de la cadena O. La cepa así obtenida se sometió a más pases



en medio TSBA sin suplementar para estabilizar la mutación hasta llegar finalmente a la cepa RB51. Las características bioquímicas de la cepa RB51 son que en las pruebas de ureasa, oxidasa y crecimiento con 0.5% de eritrol son positivas, a reducción de nitrato y susceptibilidad a rifampicina es negativa (Schurig *et al.*, 1991). La cepa RB51 ha demostrado ser estable *in vitro* e *in vivo* en varias especies de animales, y que no revierte al fenotipo liso (Schuring *et al.*, 1995; Elzer *et al.*, 1998; Hornsby *et al.*, 2000).

Cualquier reacción positiva en las pruebas diagnósticas para esta enfermedad permite distinguir un animal infectado naturalmente de uno vacunado con RB51, sin importar la edad, dosis o frecuencia de vacunaciones. En estudios realizados en el ganado bovino, la bacteria es eliminada en un tiempo relativamente corto y ha demostrado su escasa capacidad para localizarse en glándula mamaria, placentarias y tiene muy pocas o ninguna característica abortiva. Cuando se usa una sola vacunación, su efecto protector es similar al que es inducido por la cepa 19. La vacunación se lleva a cabo una vez en la vida entre la edad de 3-6 meses con la dosis becerro o después de los ocho meses la dosis para vaca, sólo es recomendable una revacunación (Schuring *et al.*, 1991; Cheville *et al.*, 1996).

Cheville *et al.*, (1993) evaluaron la respuesta inmune, la protección a la infección y el aborto en 24 novillas Polled Hereford de 10 meses de edad utilizando la cepa 19 y la RB51. Los animales vacunados fueron desafiados con la cepa de *B. abortus* S2308 por vía conjuntival al quinto mes de gestación. Se observó que todas las novillas vacunadas con RB51 fueron negativas al diagnóstico serológico convencional y que su parto fue normal con crías sanas y no se aisló la cepa de desafío.

Existen reportes de que la vacunación con RB51 no provoca el aborto en hembras gestantes, además de estimular respuestas inmunológicas de tipo celular y humoral (Palmer *et al.*, 1995; Palmer *et al.*, 1996; Palmer *et al.*, 1997). Al usar la vacuna RB51 a una dosis de 3×10^{10} ufc/ml, becerras de entre tres y diez meses de edad quedan protegidas contra la brucelosis y no infecta a becerras no vacunadas (Olsen *et al.*, 1995).



La vacunación con RB51 no causa seroconversión posvacunal en las pruebas diagnósticas y por lo tanto no interfiere con la vigilancia epidemiológica (Olsen *et al.*, 1996; Olsen *et al.*, 1997; Uzal *et al.*, 2000). Pero en cambio sí produce anticuerpos, pero éstos no son detectados por las pruebas convencionales y provoca la respuesta mediada por células (Olsen *et al.*, 1998; Schuring *et al.*, 1995). La dosis reducida de RB51 1×10^9 ufc protege al ganado adulto contra la infección y el aborto causados por la exposición a una cepa virulenta (Olsen, 2000; Uzal *et al.*, 2000; Zambrano *et al.*, 1995). En cuanto a la eliminación de la cepa RB51 en leche, diversos autores mencionan la eliminación hasta a los 69 días después de la vacunación (Uzal *et al.*, 2000), sin embargo existen reportes de que no se elimina en la leche (Samartino *et al.*, 1999).

Composición antigénica de la *Brucella*

Los miembros del género *Brucella* son cocobacilos con un tamaño de 0.6 a 1.5 μm de largo por 0.5 a 0.7 μm de ancho. Por lo general aparecen aislados o en pares, a veces se ven en cadenas cortas o en grupos; son gram negativas, no tienen cápsula y son inmóviles. Son patógenos intracelulares facultativos capaces de sobrevivir y multiplicarse dentro de los fagocitos. Son microorganismos que crecen en medios enriquecidos y selectivos en el primoaislamiento como el agar Farrel; sin embargo, su crecimiento es lento ya que requiere de un periodo de incubación de tres días o más. La temperatura de crecimiento varía de 20 °C a 40 °C, con un óptimo de 37 °C y un pH entre 7.0 y 7.2 (Estrada, 1998; Hornsby *et al.*, 2000; Moriyón, 1998).

La *Brucella* puede permanecer viable en la orina, leche, agua y en tierra húmeda hasta por cuatro meses. Resisten la congelación y descongelación a -70 °C cuando está en presencia de una sustancia de soporte, pero son destruidas por las temperaturas de pasteurización y calentamiento a 60 °C durante 10 minutos; así como por desinfectantes como el fenol, formol y cloro. In vitro puede variar su sensibilidad a los antibióticos, pero generalmente la afectan la estreptomycin, eritromicina y tetraciclina (López, 1998).

Existen seis especies de *Brucella* que tienen preferencia por un tipo de hospedero: *B. abortus* en bovinos, *B. suis* en cerdos, *B. melitensis* en caprinos, *B. ovis* en ovinos, *B. canis* en perros, *B. neotomae* en rata del desierto, y *B. maris* en mamíferos marinos esta última no oficial. Sin embargo, se sabe que no son específicos de estas especies y que otras especies se pueden contagiar si llegan a entrar en contacto con tejidos o material contaminado de animales infectados (Estrada, 1998; López, 1998)

Las bacterias del género *Brucella* poseen una envoltura celular compleja formada por una membrana citoplasmática, una membrana externa y un espacio periplasmático intermedio. Este último contiene enzimas, entre ellas muchas que detoxifican los agentes nocivos procedentes del medio, proteínas relacionadas con el transporte de nutrientes, varias de las enzimas actúan sobre los antibióticos β -lactámicos y, como componente estructuralmente más importante, un glucopeptídico (mureína o peptidoglicano) responsable de la forma e integridad osmótica de la bacteria (Moriyón, 1998)

La membrana externa contiene distribuidos asimétricamente fosfolípidos, proteínas y un lipopolisacárido, considerado el principal antígeno. Este consta de una parte glicolípida (Lípido A) insertada en la membrana externa, y por tanto no expuesta a la superficie; y otra exclusivamente polisacáridica dirigida hacia el exterior (Cherwonogrodzky y Ninno, 1995; Moriyón, 1998; Forestier *et al.*: 1999)

En una infección por bacterias gram negativas las células del huésped son expuestas a antígenos, esto ocurre en dos categorías estructurales diferentes: proteínas y LPS, los cuales ejercen distintas funciones activadoras en el sistema inmune (Forestier *et al.*, 1999; Moriyón, 1998). Por su localización en la superficie de la célula y su inmunogenicidad, el LPS es el primer antígeno frente al que aparecen anticuerpos (IgM e IgG), tanto en la infección como en la vacunación. Este puede comprobarse en todas las pruebas que emplean como antígenos células completas (en las que el LPS interviene como antígeno principal) o empleando el LPS purificado (Moriyón, 1998; McQuiston *et al.*, 1999)

Los organismos de *Brucella* que exhiben un fenotipo liso son generalmente más virulentos que las de fenotipo rugoso. El fenotipo liso es debido a la presencia de un LPS completo en la membrana externa celular, la cual está compuesta de lípido A, un núcleo de oligosacáridos y un polisacárido con una cadena O (Alonso *et al*, 1995). El LPS de cepas de *Brucella* rugosas no contienen la cadena O. En *B. abortus* el LPS ha sido involucrado en neutralizar algunas actividades bactericidas de los fagocitos y demuestra que es esencial para la supervivencia intracelular (Gómez *et al*, 1995; McQuiston *et al*, 1999; Tibor *et al*, 1999).

El LPS y las proteínas de la membrana externa de cepas lisas contribuyen a la activación de la respuesta inmune. Una vez que la bacteria penetra al organismo, llega primero a los nódulos linfáticos regionales; una vez que ha vencido esta barrera se disemina por la vía linfática o por la vía hemática al hígado, bazo y genitales. Durante la infección *B. abortus* se aloja primariamente en las células fagocíticas, estimulando a más fagocitos a migrar debido a que sus componentes, sus productos y su interacción con componentes séricos que son quimiotácticos, la bacteria por lo general resiste el ataque del sistema inmunitario, dando paso al establecimiento de la infección crónica, diseminándose a los diferentes órganos, pero en particular, en esta especie se ha demostrado que la cepa virulenta lisa evita la fusión fago-lisosoma y que se replica intracelularmente más eficientemente que las cepas atenuadas (Lord y Cherwonogrodzky, 1992; Moriyón, 1998).

Estudios de los componentes de la cubierta celular de las cepas virulentas de *Brucella* sugieren que algunas fracciones como los ésteres tipo cera, los lípidos neutros, el lípido A y el alto contenido de fosfatidilcolina, interfieren con la función fagosoma-lisosoma y con ciertas actividades oxidantes subcelulares de los leucocitos polimorfonucleares (Moriyón, 1998).

B. abortus expresa componentes nucleótidos y es probable que inhiba la fusión fago-lisosoma por la liberación de purinas (extractos de la 5'guanósina monofosfato y adeninas). Diversos autores relacionan la liberación de purinas y la presencia de la cadena

O del lipopolisacárido a la supervivencia; ya que se ha observado que las cepas lisas de *B. abortus* son más resistentes a la destrucción intracelular en células fagocíticas (por ejemplo la cepa 2308), y más resistentes a la acción de sustancias bactericidas contenidas en el lisosoma. *Brucella* resiste a los intermediarios del oxígeno (peróxido de hidrógeno y radicales hidroxilos), formados en los fagocitos durante la explosión respiratoria que acompaña a la fagocitosis para la destrucción de las bacterias ingeridas. Se sabe que la superóxido dismutasa (SOD) y la catalasa, que son enzimas que se han encontrado en *Brucella*, se integran en el mecanismo de defensa que desarrollan algunos microorganismos frente a la toxicidad oxidativa (Moriyón, 1998). Un hallazgo importante es que la suplementación con hierro en cultivos de macrófagos, aumentan la actividad anti *Brucella* en ellos, pero *B. abortus* tiene un sideróforo el 2-3- ácido dihidroxibenzóico, por medio del cual capta el hierro requerido por el macrófago para la generación de radicales hidroxilos anti-*Brucella*, y es utilizado para la depuración de reactivos intermedios del oxígeno, lo cual le permite sobrevivir en el macrófago (Forestier *et al* , 1999; Suárez, 2000)

Patogenia de la brucelosis bovina

La manera más común de entrada de *Brucella* al animal es por la ingestión de alimento, agua, y leche contaminados por secreciones del aparato reproductivo posteriores al parto o aborto de una vaca infectada (López, 1998). Más del 95% de los casos ocurre de esta manera, las membranas fetales, líquido amniótico, el feto y las heces de animales recién nacidos son una vía importante de transmisión, además de la vía conjuntival. la inhalación, a través de heridas y también por vía venérea (Edmonds *et al* , 1999). Es importante considerar que la transmisión se puede dar al realizar la inseminación artificial con el semen de un toro infectado (Luna y Mejía, 1998)

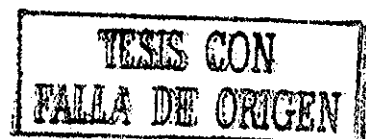
Los animales infectados eliminan a la *Brucella* en grandes cantidades vía glándula mamaria, por lo que la leche excretada juega un papel fundamental en la transmisión de la enfermedad, tanto en animales lactantes como en la población humana (Velázquez. *et al* ; 1998; López, 1998). Existe confusión con respecto al periodo de incubación. Se mencionan

de 53 a 250 días o entre los 10 días a los siete meses. El periodo de incubación es variable e inversamente proporcional al desarrollo del feto (Meljem y Flores, 1998)

La enfermedad se caracteriza por el aborto durante el último tercio de la gestación. El aborto es inducido por una colonización de microorganismos en la zona fetal de la placenta, donde produce placentitis (Palmer *et al*, 1995; Stevens^b *et al*, 1994). Las bacterias penetran los vasos sanguíneos fetales, por lo que la circulación de la madre hacia el feto es interrumpida, las lesiones se originan en la pared del útero provocando una endometritis ulcerosa en los espacios intercotiledoneos y la destrucción de las vellosidades, causando la muerte y la expulsión del feto (Samartino y Enright, 1992). El acentuado tropismo de *Brucella* por el útero gestante se debe a la presencia de eritritol, azúcar que se encuentra en altas concentraciones durante la gestación, y que posee la capacidad de estimular su crecimiento (Alton *et al*, 1988; Cheville *et al*, 1996). Si el animal no está gestante, la localización usual es la ubre, donde se produce mastitis intersticial. En el caso de machos se produce una reacción inflamatoria local en testículos, epidídimo, tunica vaginal y escroto (Sánchez *et al*, 1998; Stevens *et al*, 1997; Velázquez *et al*, 1998)

Inmunología de la brucelosis

Poco después de haber entrado al organismo por cualquier vía (oral, conjuntiva, cutánea) en el punto de penetración se concentran células polimorfonucleares. Los neutrófilos son los primeros fagocitos que acuden al punto de infección atraídos por factores quimiotácticos tales como componentes C3 y C5a del complemento o por las propias estructuras bacterianas (Golding *et al*, 2001; Stevens^a *et al*, 1994). La adhesión a la bacteria se ve favorecida por la opsonización por anticuerpos IgG y factores del complemento C3b, lo que potencia la capacidad bactericida del fagocito, produciendo el incremento y activación de moléculas inmunomoduladoras. Encerrada la bacteria en el fagosoma se fusionan los lisosomas (vesículas de proteasa) y el fagolisosoma resultante es transportado e insertado en la membrana superficial del macrófago, pero la *Brucella* puede resistir todos estos eventos logrando sobrevivir y replicarse en el medio intracelular (Aréstegui *et al*, 2001; Eisenschenk *et al*, 1999). Posteriormente las bacterias son



transportadas a los linfonodos regionales, a este nivel las bacterias penetran a las células mononucleares y se multiplican en su interior (Golding *et al.*, 2001; Kurar y Splitter, 1997; Sánchez *et al.*, 1998; Stevens^c *et al.*, 1994).

Las bacterias que se encuentran en el interior de las células polimorfonucleares y mononucleares. Son transportadas al torrente sanguíneo, poco después pueden observarse numerosos leucocitos parasitados en los sinusoides hepáticos (Suman *et al.*, 2000). Las acumulaciones focales de células Kupffer contienen gran cantidad de microorganismos y a los pocos días se forman granulomas típicos, también aparecen lesiones parecidas en bazo, médula ósea y riñón. *Brucella* puede utilizar diferentes mecanismos de evasión como son: la resistencia a las enzimas lisosomales y los productos de oxígeno reactivo, impedir la unión del fagosoma con el lisosoma, por lo que evita la formación del fagolisosoma, y el escape del fagosoma dentro del citoplasma (Díaz y Blasco 1994; Folch *et al.*, 1995; Stevens *et al.*, 1996). Los fagocitos adquieren un papel importante en la iniciación de la respuesta celular por las células T, que son determinantes en la respuesta a la infección por la resistencia específica intracelular de la bacteria (Céspedes *et al.*, 2000; Cheville *et al.*, 1993; Smith *et al.*, 1990; Stevens^c *et al.*, 1994; Suman *et al.*, 2000).

Brucella es una bacteria intracelular facultativa que puede sobrevivir y replicarse en las células fagocíticas (Cheville *et al.*, 1992; Eisenschenk *et al.*, 1999). Los fagocitos adquieren un papel importante en la iniciación de la respuesta celular por las células T, que son determinantes en la respuesta a la infección por la resistencia específica intracelular de la bacteria (Cheville *et al.*, 1993; Golding *et al.*, 2001).

La protección inmune mediada por células está involucrada por linfocitos T CD4 (MHCII) y CD8 (células T citotóxicas, MHCI) (Zaitseva *et al.*, 1995). Los linfocitos T se encuentran agrupados en dos categorías, el primer tipo contiene CD4 en el que incluye los linfocitos cooperadores, subdivididos en Th1 y Th2 de acuerdo con las interleucinas que liberan tras su activación, el segundo grupo contiene los marcadores de superficie CD8, que

abarca los linfocitos citotóxicos Tcr2 (Agranovich *et al.*, 1999; Betts *et al.*, 1993; Golding *et al.*, 2001; Smith *et al.*, 1990; Stevens *et al.*, 1996; Vemulapalli *et al.*, 2000)

Los fagolisosomas procesan los antígenos bacterianos, presentándolos en la superficie junto con antígenos propios de histocompatibilidad de la clase II (MCHII). Este complejo antigénico es reconocido por los linfocitos T cooperadores (Th) activando e induciendo la liberación de interleucina 2 (IL-2) e interferón-gama, potente estimulador de la capacidad bactericida de la propia célula fagocítica. Los linfocitos Th activados actuarán sobre diferentes tipos celulares, linfocitos B, células T citotóxicas (CD8) y células asesinas (NK). Los macrófagos derivados de las citocinas IL-1 e IL-2 y del factor alfa de necrosis tumoral (TNF- α) contribuyen de una forma importante en el control de la infección por *Brucella*. (Cheville *et al.*, 1992; Forestier *et al.*, 1999; Kunkle *et al.*, 1995; McQuiston *et al.*, 1999; Oliveira *et al.*, 1994; Stevens^b *et al.*, 1994)

La interleucina IL-12 por estimulación de las células asesinas (NK) y las células T, producen interferón gama (INF- γ), probablemente por reclusión de fagocitos en el sitio de la infección, donde actúan y participan los macrófagos y se promueve la formación del granuloma (Zaitseva *et al.*, 1996). El INF- γ es un potente activador de los macrófagos monocitos y regula la actividad de metabolitos oxidativos. Otro elemento importante de este interferón en la eliminación intracelular de *B. abortus*, es por moléculas de hierro y el TNF- α (Palmer *et al.*, 1998). La producción de óxido nítrico, peróxido, superóxidos, perforinas, proteasa y granzimas juegan un papel importante en la destrucción de *Brucella*. Citocinas como IL-1, IL-6, TNF- α , e IL-4, no presentan un efecto en el crecimiento de *B. abortus*, en los macrófagos in vitro (Forestier *et al.*, 1999; Kunkle *et al.*, 1995)

La respuesta humoral está dada por linfocitos B al ser estimulados por el antígeno. La síntesis de anticuerpos se lleva a cabo en el retículo endoplasmático rugoso. La enorme producción de anticuerpos determina una vida corta para la célula plasmática de tres a cinco días, así mismo los linfocitos B se transforman en células de memoria para la protección del hospedero en reinfecciones por el mismo agente. La exposición al antígeno y la activación

de citocina permite a las células B de memoria cambiar a la clase de anticuerpos que producen, por su localización en la superficie de la célula y su alta inmunogenicidad. El LPS es el primer antígeno frente al que aparecen anticuerpos de tipo IgM, IgG₁, IgG₂. También intervienen las IgA en la infección tanto como en la inmunización, con vacunas vivas o muertas (Folch *et al* , 1995; Lord *et al* , 1998; Schuring *et al* , 1981).

Después de la primoinfección con la cepa de campo virulenta de *B. abortus* se producen anticuerpos de tipo IgM, permaneciendo constante su concentración de una a tres semanas, lo cual puede detectarse por pruebas de aglutinación y la de fijación de complemento (FC). Posteriormente la IgG se incrementa hasta ser dominante y generalmente es la de subclase IgG₁ la más abundante, persistiendo títulos aglutinantes hasta por diez meses. El nivel de IgM baja paulatinamente, en tanto que la IgG y la IgA persisten en concentraciones altas. Después de varias semanas cede el estado agudo. por diversos factores *B. abortus* puede permanecer en una fase crónica en el huésped e inducir un estado de tolerancia inmunológica (Golding *et al* , 2001; Sánchez *et al* . 1998; Suárez, 1994)

En la respuesta humoral a la vacunación los títulos de IgM persisten por más tiempo, mientras que los IgG descienden, haciéndose imperceptibles por los métodos serológicos convencionales alrededor de los ocho meses. Los animales pueden contraer la infección antes y después de nacer, sin que se produzcan anticuerpos detectables hasta el parto o el aborto (Folch *et al* , 1995; Sánchez *et al* , 1998; Villamil *et al* . 1995). La vacunación se basa en la producción de anticuerpos y la estimulación de la respuesta celular mediada por células T de las subclases CD4 y CD8, quienes tienen un importante papel en la protección (Suárez, 2000; Zaitseva *et al* , 1995)

Diagnóstico de la brucelosis

Se cuenta con el diagnóstico clínico, serológico, bacteriológico y molecular, para el control y prevención de la brucelosis bovina. En México el diagnóstico de brucelosis en bovinos se debe realizar en los laboratorios aprobados por la Secretaría de Agricultura,



Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA), con muestras de suero sanguíneo, leche, líquidos corporales y muestras de tejidos mediante pruebas inmunológicas, estudios bacteriológicos u otros que sean autorizados por la SAGARPA (Flores, 1994) Las pruebas inmunológicas son para brucelas lisas; la prueba de tarjeta, rivanol, fijación del complemento y prueba de anillo en leche (Dajer *et al*, 1999; Gürtürk *et al*, 1999; Stevens^a *et al*, 1994). Podrán ser realizadas por un Médico Veterinario oficial, o bien, por un laboratorio aprobado (Suárez, 1994). Los Médicos Veterinarios aprobados que apliquen la prueba de tarjeta en campo y los laboratorios aprobados deben pasar pruebas de aptitud, tener la infraestructura mínima necesaria que garantice la correcta realización de la prueba y llevar registro tanto de todas las pruebas que realicen, como de los reactivos utilizados (NOM-041-ZOO-1995)

La prueba de tarjeta se caracteriza por poseer una alta sensibilidad. lo que significa pocos o ningún animal falso negativo Además es sencilla económica y práctica La prueba de tarjeta o rosa de bengala se puede realizar en la totalidad del hato Con esta prueba se detecta la presencia de anticuerpos circulantes de tipo IgG e IgM, de origen vacunal o de infecciones naturales, y también pueden ocurrir reacciones cruzadas con otras bacterias dando falsos positivos Esta técnica es usada de rutina, tiene una sensibilidad muy próxima al 100%, sin embargo los sueros de los animales que resulten positivos, deben pasar a una segunda prueba confirmatoria, ya sea rivanol o fijación de complemento (Alton *et al*, 1988; Díaz, 1998)

La prueba de rivanol es complementaria cuando se tiene un resultado positivo a tarjeta. el suero problema se hace reaccionar con la solución de rivanol con el fin de precipitar las IgM. quedando exclusivamente las IgG Luego se procede a realizar la prueba en forma similar a la de aglutinación en placa utilizando antígeno específico. esta prueba es de tipo cuantitativa (Suárez, 1994; Díaz, 1994) Los resultados se clasificarán en sueros positivos y negativos. Se consideran positivos. todos aquellos sueros de animales no vacunados que presenten reacción de aglutinación completa en cualquiera de las diluciones desde 1/25 a

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

1/400. En el caso de ganado vacunado, la aglutinación completa en una dilución mayor o igual a 1/50 será una prueba positiva (Díaz, 1998)

La prueba de fijación del complemento presenta resultados más confiables con alta sensibilidad y especificidad, ya que las reacciones con antígenos heterólogos son menores y los anticuerpos posvacunales fijadores del complemento desaparecen más rápido que los anticuerpos aglutinantes. Para la prueba se emplea antígeno preparado con *B. abortus* cepa 1119-3, sin teñir y con las siguientes especificaciones: pH 6.8 a 7.0 y concentración celular de 4.5%. Los resultados clasificarán a los sueros como positivos y negativos. Los positivos serán aquellos en los que se obtengan títulos mayores a 1/16 en frío o mayores a 1/8 en caliente (Cobos, 2000; Díaz, 1998)

La prueba de anillo en leche se usa en vigilancia epidemiológica. Los resultados deben confirmarse con pruebas serológicas. Esta prueba se debe practicar en muestras de leche cruda, fluida y fresca con antígeno autorizado por la Secretaría, reuniendo las siguientes características: a) Teñido con hematoxilina b) pH entre 4.0 y 4.3 c) concentración celular de 4%. En el caso de bovinos los resultados se interpretarán como negativos en ausencia de anillo teñido, y positivos los que presenten anillo teñido en la superficie. En el caso de los caprinos las reacciones positivas se manifiestan por la formación de un botón coloreado en el fondo del tubo, o cuando se forman grumos coloreados en la columna de leche. Cuando la reacción es negativa no cambia el aspecto de la columna, tiñéndose totalmente (Suárez, 1994; Díaz, 1998)

El estudio bacteriológico se puede realizar a partir de muestras de leche, sangre, líquidos corporales o fragmentos de tejidos, que son colocados en recipientes estériles provistos de una tapa hermética y se remiten en congelación al laboratorio aprobado. La presencia de *Brucella spp* en cualquiera de las muestras significa que el animal es positivo, aun en ausencia de anticuerpos demostrables por los métodos serológicos (Suárez, 1994; Díaz, 1998)

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Prevención y Control

El realizar muestreos serológicos en las poblaciones afectadas facilita la toma de decisiones en cuanto a los animales a eliminar, de ahí que haya que considerar que se debe contar con acceso a un laboratorio confiable, a fin de tener un resultado oportuno, y el compromiso implícito de la aceptación del resultado. Una vez que se tienen los resultados es necesario identificar a los animales positivos de manera permanente a fin de facilitar la segregación o el sacrificio. Un animal positivo no marcado implica la diseminación de la enfermedad (Luna y Mejía, 1998). Los animales positivos a cualquiera de las pruebas diagnósticas no deben ser comercializados ni movilizados a otro destino que no sea sacrificio o unidades de producción controlada (NOM-041-ZOO-1995).

La calendarización de los muestreos dependerá del grado de afectación que presente la explotación, se puede tener un estimador a partir de la presencia de datos clínicos sugestivos de enfermedad reproductiva (aborto). De forma tal que a mayor sospecha de presencia de la enfermedad, mayor frecuencia en el muestreo serológico. Cada 15 días en hatos afectados con aborto. Cada 30 días en hatos afectados sin aborto. Cada 60 días en hatos limpios. Cuando se trate del muestreo de hato cuya población haga impráctico muestrear todos los animales, se recomienda realizar las pruebas serológicas de manera selectiva priorizando los grupos poblacionales en riesgo. Por ejemplo, hembras en el tercer trimestre de gestación, o con antecedente de aborto; al día siguiente vaquillas y machos, o bien reemplazos externos, a fin de que la totalidad del hato sea muestreado dependiendo de su nivel de riesgo. En los hatos negativos se debe establecer un muestreo periódico con el objeto de monitorear aun en ausencia de positivos (Luna y Mejía, 1998).

Uno de los objetivos del manejo especial de hato infectado es incrementar la inmunidad del hato; sin embargo, este término resulta un poco ambiguo, pues se piensa que se refiere a vacunar a todos los animales, y esto no necesariamente es cierto, por lo que se puede definir como un nivel de inmunidad tal que limita la eliminación del agente, así como la extensión de la enfermedad, de tal manera que la infección no sea capaz de persistir en la población, aún en presencia de susceptibles; recordando que la vacuna contra

brucelosis se aplica solo a hembras Sin embargo, los niveles de cobertura y la intensidad de la vacunación debe de ser tal que garantice protección a los machos. Y esto sólo se logra cuando se establece un calendario de vacunación a becerras a partir de los tres meses de edad, con la dosis respectiva de *B. abortus*, así como el uso de la dosis para vacas adultas de la misma cepa para vaquillas y reemplazos (Luna y Mejía, 1998).

Si se sabe que la fuente más frecuente de infección es un animal externo, como reemplazos, es un hecho que una vez que el hato se ha “limpiado” o que está en fase de serlo, un punto de total importancia es el monitoreo de los reemplazos El riesgo de infección es totalmente proporcional al número de ingresos de nuevos animales, por lo tanto, el riesgo también está asociado a la fuente de reemplazos y a la historia de muestreo serológico y vacunaciones del hato de origen de los mismos Se recomienda la separación, aislamiento y prueba diagnóstica de todo animal nuevo, pues no es recomendable introducir animales que no estén vacunados En este sentido no debe salir ningún animal cuyo destino no sea rastro (Luna y Mejía, 1998)

Cuando los reemplazos tienen su origen en la recria propia de la explotación, se debe tomar en cuenta el fenómeno del “silencio inmunológico” y este se refiere al hecho de que durante el periodo de incubación de la enfermedad es muy difícil hacer el diagnóstico serológico; de hecho se sabe que alrededor del 20% de las hijas de madres rectoras pueden permanecer seronegativas desde el nacimiento hasta que están por parir, que es cuando manifiestan un aborto o algún otro problema reproductivo y se tornan seropositivas, independientemente de que hayan sido vacunadas cuando becerras De ahí que es prácticamente imposible identificar a ese 20% y sea necesario hacer el seguimiento de hijas de rectoras durante 24 meses En general se tiene mayor control de los partos cuando existe una calendarización de partos, esto permite tener fechas probables de parto, lo que a su vez facilita la separación y, en su caso, segregación en parideros individuales, de las madres a parir, ya que es el momento crítico para la transmisión de la infección aun en ausencia de aborto (Luna y Mejía, 1998)

Se recomienda también que todas aquellas hembras que tengan antecedentes de aborto o de problemas reproductivos sean sometidas a muestreo serológico, a fin de obtener un resultado negativo antes de inseminarla, en caso contrario no incluirlas. Una vez que la hembra ha parido, hay que considerar un periodo de restricción de recién paridas antes de reingresarlas al hato, pues se sabe que la eliminación crítica de *Brucella spp.* dura 30 días posteriores al parto (Luna y Mejía, 1998).

El control de la brucelosis y de muchas otras infecciones persistentes en un hato se facilita aún más, si existe la práctica frecuente de lotificar al hato en grupos, sea por número de gestación, nivel de productividad, o cualquier forma de división natural entre los animales. Con ello, además de tener un mejor control de la información del hato en general, se reduce la exposición al agente causal de la brucelosis. Es un hecho que al dividir al hato en dos lotes iguales significa la reducción de la exposición relativa a la infección en un 50%. De ahí que una recomendación obvia, pero no siempre presente es la de separar vacas secas y vacas en producción. Asimismo observar algunas prácticas básicas de saneamiento como lo es el ordeñar a las positivas al final de la línea, lo que necesariamente implica el lavar y desinfectar las mamas y el equipo después de cada ordeño. Un punto especial, es la desinfección. Mientras no se establezca un programa riguroso de desinfección, después de la eliminación de la totalidad de los reactores, no se puede tener la certeza de que la infección realmente ha desaparecido y se considere eliminada. Es sabido que *Brucella* bajo determinadas condiciones de humedad y temperatura, puede persistir en el ambiente hasta por varios meses, tanto en las instalaciones, como en los bebederos (López, 1998).

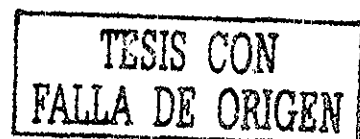
La práctica de la desinfección debe considerarse después de cada parto normal y más aún después de un evento abortivo, independientemente del status zoonosario o serológico de la madre. Otra recomendación frecuente es la de alimentar a las crías con leche pasteurizada o con sustitutos lácteos. Al respecto existen datos contradictorios en el uso de estos productos para evitar que las crías tengan acceso a la leche de las madres infectadas (Meljem y Flores, 1998).

Los animales en los que se haya diagnosticado brucelosis propiciarán el inicio de una investigación epidemiológica exhaustiva, debiéndose en forma inmediata muestrear a todos los hatos colindantes, así como a aquellos animales y hatos que entraron en contacto con el o los animales positivos. Los animales expuestos deben permanecer en el rancho en donde fueron encontrados, a menos que se obtenga el certificado zoosanitario para su movilización, en cuyo caso debe realizarse directamente a un rastro para sacrificio inmediato o en el caso de zona en control, a una unidad de producción controlada (NOM-041-ZOO-1995)

El manejo de vacunas y antígenos debe realizarse bajo estrictas medidas de bioseguridad y de conservación de los biológicos, a través de una eficiente operación de la cadena fría; siendo ésta una responsabilidad compartida entre productores y Médicos Veterinarios aprobados, empresas productoras y comercializadoras de productos biológicos (Campomanes, 1998)

En cuanto a la importación de ganado bovino destinado para reproducción debe estar amparado con un certificado zoosanitario oficial, en el cual se indique que los animales resultaron negativos a la prueba de brucelosis por *Brucellas* lisas, en un plazo no mayor de 30 días anteriores a la fecha de importación o, en su caso, certificado de hato libre. El semen y embriones que se pretendan importar deben estar amparados con un certificado zoosanitario oficial, en el que se indique que proceden de animales sanos y de regiones libres de brucelosis. Lo anterior implica que si no se tiene cultura de diagnóstico veterinario, se implementen estrategias preventivas por parte de los encargados del cuidado de los animales de los ranchos afectados, ya que se sabe también que en términos prácticos no existe curación efectiva para la brucelosis animal (Flores, 1994)

Por ser una enfermedad donde la bacteria causante se desarrolla en forma intracelular y los antibióticos no llegan a eliminar a la bacteria, es que la enfermedad no tiene curación, ya que el tratamiento para un animal se llevaría un periodo prolongado de tiempo y con un costo muy alto que no garantiza la cura definitiva (Cherwonogrodzky,



1995) El problema de esta enfermedad es que un animal infectado es un diseminador y transmite la enfermedad, agravando así la situación en el rancho. Por lo que todo animal infectado (positivo) debe de ser sacrificado independientemente de su condición o valor genético. La permanencia de esta enfermedad limita las posibilidades del sector pecuario y la comercialización internacional, influyendo negativamente en la rentabilidad de las explotaciones, en la calidad de los productos, en el consumo y en la salud humana (Velázquez *et al* , 1998)



Justificación

La vacunación con la cepa rugosa de *B. abortus* RB51 presenta ventajas sobre la vacunación con cepa 19, al no interferir con el diagnóstico realizado con las pruebas oficiales (tarjeta, rivanol, anillo en leche, fijación de complemento), sin embargo, se desconoce la capacidad protectora de estas vacunas bajo altas presiones de infección, como sucede en nuestro país, donde la brucelosis es endémica, a diferencia de los Estados Unidos en donde está en proceso de erradicación

Hipótesis

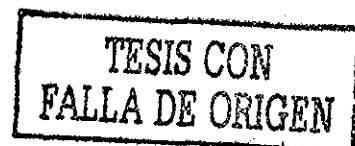
La vacuna rugosa de *B. abortus* RB51 protege contra la infección natural en hatos bovinos con diferente prevalencia de brucelosis

Objetivo General

Analizar y evaluar el comportamiento de la vacuna rugosa de *B. abortus* RB51 en hatos bovinos con diferentes prevalencias de brucelosis

Objetivos Específicos

- 1 Determinar el comportamiento de la vacunación con RB51 en un hato bovino con baja prevalencia de brucelosis (8.8%), mediante un estudio prospectivo
- 2 Determinar el comportamiento de la vacunación con RB51 en un hato bovino con Alta prevalencia de brucelosis (15.3%), mediante un estudio prospectivo
- 3 Determinar mediante un estudio epidemiológico transversal los factores de riesgo asociados en ambos estudios
- 4 Determinar el comportamiento de la vacunación con RB51 en tres ranchos bovinos con diferentes prevalencias de brucelosis, después de más de un año de haberse vacunado



Justificación

La vacunación con la cepa rugosa de *B. abortus* RB51 presenta ventajas sobre la vacunación con cepa 19, al no interferir con el diagnóstico realizado con las pruebas oficiales (tarjeta, rivanol, anillo en leche, fijación de complemento), sin embargo, se desconoce la capacidad protectora de estas vacunas bajo altas presiones de infección, como sucede en nuestro país, donde la brucelosis es endémica, a diferencia de los Estados Unidos en donde está en proceso de erradicación

Hipótesis

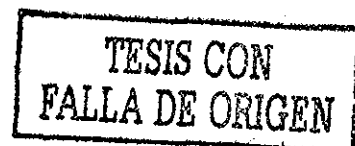
La vacuna rugosa de *B. abortus* RB51 protege contra la infección natural en hatos bovinos con diferente prevalencia de brucelosis

Objetivo General

Analizar y evaluar el comportamiento de la vacuna rugosa de *B. abortus* RB51 en hatos bovinos con diferentes prevalencias de brucelosis

Objetivos Específicos

- 1 Determinar el comportamiento de la vacunación con RB51 en un hato bovino con baja prevalencia de brucelosis (8.8%), mediante un estudio prospectivo
- 2 Determinar el comportamiento de la vacunación con RB51 en un hato bovino con Alta prevalencia de brucelosis (15.3%), mediante un estudio prospectivo
- 3 Determinar mediante un estudio epidemiológico transversal los factores de riesgo asociados en ambos estudios
- 4 Determinar el comportamiento de la vacunación con RB51 en tres ranchos bovinos con diferentes prevalencias de brucelosis, después de más de un año de haberse vacunado



Justificación

La vacunación con la cepa rugosa de *B. abortus* RB51 presenta ventajas sobre la vacunación con cepa 19, al no interferir con el diagnóstico realizado con las pruebas oficiales (tarjeta, rivanol, anillo en leche, fijación de complemento), sin embargo, se desconoce la capacidad protectora de estas vacunas bajo altas presiones de infección, como sucede en nuestro país, donde la brucelosis es endémica, a diferencia de los Estados Unidos en donde está en proceso de erradicación

Hipótesis

La vacuna rugosa de *B. abortus* RB51 protege contra la infección natural en hatos bovinos con diferente prevalencia de brucelosis

Objetivo General

Analizar y evaluar el comportamiento de la vacuna rugosa de *B. abortus* RB51 en hatos bovinos con diferentes prevalencias de brucelosis

Objetivos Específicos

- 1 Determinar el comportamiento de la vacunación con RB51 en un hato bovino con baja prevalencia de brucelosis (8.8%), mediante un estudio prospectivo
- 2 Determinar el comportamiento de la vacunación con RB51 en un hato bovino con Alta prevalencia de brucelosis (15.3%), mediante un estudio prospectivo
- 3 Determinar mediante un estudio epidemiológico transversal los factores de riesgo asociados en ambos estudios
- 4 Determinar el comportamiento de la vacunación con RB51 en tres ranchos bovinos con diferentes prevalencias de brucelosis, después de más de un año de haberse vacunado

Justificación

La vacunación con la cepa rugosa de *B. abortus* RB51 presenta ventajas sobre la vacunación con cepa 19, al no interferir con el diagnóstico realizado con las pruebas oficiales (tarjeta, rivanol, anillo en leche, fijación de complemento), sin embargo, se desconoce la capacidad protectora de estas vacunas bajo altas presiones de infección, como sucede en nuestro país, donde la brucelosis es endémica, a diferencia de los Estados Unidos en donde está en proceso de erradicación

Hipótesis

La vacuna rugosa de *B. abortus* RB51 protege contra la infección natural en hatos bovinos con diferente prevalencia de brucelosis

Objetivo General

Analizar y evaluar el comportamiento de la vacuna rugosa de *B. abortus* RB51 en hatos bovinos con diferentes prevalencias de brucelosis

Objetivos Específicos

- 1 Determinar el comportamiento de la vacunación con RB51 en un hato bovino con baja prevalencia de brucelosis (8.8%), mediante un estudio prospectivo
- 2 Determinar el comportamiento de la vacunación con RB51 en un hato bovino con Alta prevalencia de brucelosis (15.3%), mediante un estudio prospectivo
- 3 Determinar mediante un estudio epidemiológico transversal los factores de riesgo asociados en ambos estudios
- 4 Determinar el comportamiento de la vacunación con RB51 en tres ranchos bovinos con diferentes prevalencias de brucelosis, después de más de un año de haberse vacunado

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Material y Métodos

Se determinó el comportamiento de la vacunación con *B abortus* RB51 en hatos bovinos con diferentes prevalencias de brucelosis, dos hatos se siguieron mensualmente por 22 meses y tres ranchos se evaluaron con un solo muestreo después de un año de haber sido vacunados

I. Seguimiento mensual de dos Hatos Bovinos lecheros durante 660 días con diferente prevalencia de brucelosis vacunados con RB51.

Sitio del estudio

Se realizó el seguimiento en dos hatos bovinos lecheros con diferente prevalencia de brucelosis en el Complejo Agropecuario Industrial de Tizayuca, Hgo S A (CAITSA)

Animales

Durante los 660 días del estudio, se trabajó con 1150 vacas de raza Holstein, procedentes de dos establos con diferente prevalencia. En el hato de baja prevalencia de brucelosis se trabajó con 538 vacas y el hato de alta prevalencia con 612 vacas. Estas prevalencias se obtuvieron antes de iniciar el estudio con el muestreo de la totalidad de animales de cada hato.

Criterios de inclusión para la vacunación

- Animales negativos a *Brucella* por medio de la prueba de tarjeta y rivanol
- Que los animales fueran hembras
- Que tuvieran más de un año de edad

Criterios de exclusión para la vacunación

- Animales que se encontraron en mal estado físico
- Animales machos
- Animales que tuvieran menos de 12 meses de edad



- Animales positivos a *Brucella* por pruebas diagnósticas.

Vacunación

Se vacunó a la totalidad de animales negativos por hatos al día cero y se revacunó al día 90 con una dosis de 2ml a una concentración de 3×10^9 unidades formadoras de colonias (ufc/ml) por vía subcutánea en la zona axilar izquierda. Se empleó la vacuna comercial “RB51 brucelosis vacas” (Litton de México).

Toma de Muestras

Una vez vacunado el ganado, en ambos hatos se realizaron muestreos de la totalidad de animales cada 30 días por un periodo de 660 días (22 meses). Las muestras de sangre se obtuvieron de la vena coccígea ventral. Se separó el suero y se almacenó en viales identificados que se congelaron a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ hasta la realización de las pruebas serológicas.

Prueba de tarjeta (PT).

Se realizó con antígeno comercial (PRONABIVE México) elaborado con la cepa 1119-3 de *B. abortus*, teñido con rosa de bengala en ácido láctico a un pH de $3.65 (\pm 0.05)$, y con una concentración celular del 8%. La prueba se llevó a cabo como se describe en la literatura (Alton *et al* 1988). Los resultados de la prueba de tarjeta se interpretan de acuerdo a la presencia o ausencia de aglutinación (Díaz, 1998).

Prueba de rivanol (PR).

En la prueba de rivanol se evaluaron los sueros positivos a la PT. Se usó un antígeno comercial (PRONABIVE, México) elaborado con la cepa 1119-3 de *B. abortus*, a un pH de 5.8 a 6.2 y con una concentración celular del 4% y con reactivo de rivanol (lactato de 2-etoxi-6,9-diamino-acridina). Los sueros fueron considerados positivos cuando presentaron reacción de aglutinación completa en cualquiera de las diluciones: 1:25-1:400 (Cobos, 2000).

Factores de Riesgo

Se realizó un estudio transversal, el cual constó de un estudio serológico de la totalidad de los animales de los dos hatos a partir de los resultados del diagnóstico del laboratorio (variable dependiente) y se determinaron los posibles factores de riesgos asociados con respecto a las distintas variables de manejo (variables independientes) Las variables consideradas fueron: Número de partos, tiempo de gestación, antecedente de aborto, tercio de gestación del aborto, etapa de producción en que abortó la vaca y aspecto del producto abortado, condición corporal. Para determinar las distintas variables de manejo se utilizó un cuestionario (Anexo 1). La información fue capturada en una base de datos para posteriormente ser analizada mediante la elaboración de frecuencias, tablas de contingencia y regresión logística para el cálculo de riesgos, utilizando como un estimador del riesgo relativo la razón de momios (OR) (Hamilton, 1993)

Dentro de las variables del cuestionario se encuentra la calificación de la condición corporal (CCC), ésta representa una herramienta útil en la evaluación del tejido de reserva de la vaca y su medición se realiza a través de una escala cuya puntuación va del 1 al 5, con incrementos de 0.50 (1= vaca demacrada; 2= vaca flaca; 3= vaca promedio; 3.5= condición optima; 4= vaca gorda y 5= vaca obesa) La evaluación asignada a cada vaca es estimada vía palpación, inspección visual o ambas de las regiones del lomo y de la pelvis, dicha medición se toma como una variable dinámica, ya que es relativa al ciclo fisiológico de la vaca lechera (Grummer, 1997)

II. Ranchos bovinos con diferentes prevalencias de brucelosis vacunados con RB51 después de más de un año

Con la finalidad de observar el comportamiento de la vacuna RB51 después de un año de aplicada la vacunación, se trabajó en tres ranchos con baja (6%), mediana (8%) y elevada (15%) prevalencia inicial de brucelosis, localizados en tres municipios del estado de Tamaulipas

Criterios de inclusión

- Ranchos donde se tenían los datos del muestreo serológico basal previo a la vacunación del rancho
- Animales que fueron vacunados contra *Brucella* con la vacuna RB51.
- Se utilizaron ranchos con vacas, que fueron vacunadas después de un año de la fecha de vacunación

Criterios de exclusión.

- Ranchos donde no se tenían los resultados del muestreo basal previo a la vacunación
- Ranchos donde no se vacunó contra *Brucella* con la vacuna RB51

En los tres ranchos los animales que se encontraban en ellos, estaban en pastoreo. Una vez muestreados los tres ranchos después de más de un año de haber sido vacunados con RB51, a los sueros se les realizó la prueba de tarjeta al 8% y a los sueros positivos a esta prueba, se les realizó la prueba de rivanol. Esto con la finalidad de determinar el comportamiento de la vacunación de acuerdo con la prevalencia.

Análisis Estadístico

Con la información obtenida se creó una base de datos en Excel 2000. Se realizó primero un análisis exploratorio de cada una de las variables de estudio donde se determinó promedio, frecuencias y porcentajes según el tipo de variable. Se estimó la prevalencia y la incidencia aparente de brucelosis para cada hato durante el estudio, de acuerdo a la presencia de anticuerpos contra *B. abortus* (Incidence and prevalence, 1978). Una vez capturada toda la información se transfirió la base de datos a un formato estadístico para realizar el análisis. La evaluación estadística consistió en un análisis univariado, bivariado y multivariado de cada una de las variables estimando la razón de momios (OR) con su intervalo de confianza al 95%. El análisis estadístico se efectuó en el programa STATA 7.0 para Windows.

RESULTADOS

I. Descripción de la población de estudio de dos hatos bovinos lecheros con diferentes prevalencias de brucelosis vacunados con RB51.

La aplicación del cuestionario, al día 330, sirvió para evaluar los posibles factores de riesgo que inciden en la presentación de la brucelosis. En el hato de baja prevalencia se usaron los datos de 328 vacas (61% de la población estudiada) En el hato de alta prevalencia se trabajó con datos de 239 vacas (39% de la población estudiada), obteniéndose los siguientes resultados:

El número de vacas positivas a PT y rivanol en el hato de baja prevalencia fue de 45 vacas (13.7%), mientras que en el hato de alta prevalencia fue de 144 vacas (60%). Las vacas seropositivas de ambos hatos se separaron en corrales destinados para animales positivos. La eliminación en el hato de baja prevalencia dependía del título de anticuerpos del suero en la prueba de rivanol, las vacas con títulos de 1:100, 1:200 y 1:400 se eliminaban inmediatamente; sin embargo, vacas con títulos de 1:25 y 1:50 se dejaban en el corral designado en el establo, y solo si en el siguiente muestreo aumentaban los títulos eran eliminadas. En el hato de alta prevalencia no se eliminaron animales positivos durante el primer año de estudio. A partir del día 360 se empezaron a sacar paulatinamente de acuerdo con su título de anticuerpos a rivanol y con su etapa productiva.

En el hato de baja prevalencia, se encontró que el 97.87% eran reemplazos procedentes del mismo establo, y el 2.1% fueron animales adquiridos. En el hato de alta prevalencia casi la totalidad de los animales, el 99.6% eran reemplazos propios. En relación a la distribución de la calificación de condición corporal (CCC), para el hato de baja prevalencia, el 12.8% de vacas tienen una CCC de 3.0 y el 87.2% con 3.5. En el hato de alta prevalencia el 55% de vacas tuvo una CCC de 3.0 y el 44.77% de 3.5, esta evaluación corresponde a la última evaluación realizada, la que no difiere de las otras mediciones realizadas.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

En cuanto a la proporción de vacas y vaquillas en los dos hatos, en el de baja prevalencia había 306 vacas y 22 vaquillas a primer parto; en el de alta prevalencia se encontraban 225 vacas y 14 vaquillas a primer parto

La cuantificación del número de partos de las vacas en el hato de baja prevalencia, correspondieron en mayor porcentaje a vacas de dos partos con 52% y 37.2% para el hato de baja y alta prevalencia respectivamente (Cuadro 1)

El tiempo de gestación de las vacas en el momento de la aplicación del cuestionario, correspondieron en mayor porcentaje a vacas con seis y ocho meses para el hato de baja y alta prevalencia respectivamente (Cuadro 2)

El número de vacas que tenían antecedentes de aborto, fue en el hato de baja prevalencia de 3% vacas y en el hato de alta prevalencia se encontró el 16.3% de vacas con este antecedente. En ambos hatos el producto abortado y la placenta se recogen y se eliminan en cuanto son observadas. Los resultados encontrados sobre el tiempo de gestación en que se presentaron estos abortos, en el hato de baja prevalencia el 1.8% lo hizo en el segundo tercio de la gestación en periodo de lactación y el 1.2% de las vacas abortaron en el último tercio de gestación en periodo seco. En el hato de alta prevalencia el 12.1% de vacas lo hicieron en el segundo tercio de la gestación en periodo de lactación y 4.2% en el último tercio de gestación en periodo seco. El aspecto de los fetos abortados tuvieron un aspecto normal, momificado y en la mayoría de los casos no se determinó el aspecto (Cuadro 3)

El 100% de las vacas de los dos hatos se inseminan al momento del celo. El parto se realiza en los corrales donde se alojan las vacas durante el periodo seco. En ambos hatos se lleva a cabo la desinfección de los corrales después de ocurrir el parto o el aborto. Se cuentan con registros productivos y reproductivos. También existe la convivencia de las vacas con perros dentro de los dos hatos

Prevalencia e incidencia mensual

En el hato de baja prevalencia, antes de empezar el seguimiento se tenía una prevalencia inicial de 8.8% (Cuadro 4) Se vacunó con dosis vaca a toda la población negativa con RB51 al día 0 y se revacunó a los 90 días. Se eliminaron los animales positivos al principio del estudio como todos aquellos nuevos casos que se fueron detectando. Posterior a la vacunación se observó un incremento en el número de nuevos casos, pero a partir del día 120 comenzó a decrecer hasta lograr incidencias menores de 1% al final del seguimiento (Figura 1 y 2).

Para el hato de alta prevalencia, existía una prevalencia inicial de 15.3% (Cuadro 5) Se vacunaron con dosis reducida todas las vacas negativas a *Brucella* con RB51 al día 0 y se revacunarón a los 90 días. Durante el primer año de seguimiento no se eliminaron vacas seropositivas a *Brucella*, incrementándose el número de animales de 37 que existían al inicio del estudio a 120 para término del primer año. A partir del primer año se empezó a eliminar animales seropositivos, por lo que las incidencias disminuyeron llegando a menos del 1% para el día 540 (Figura 3 y 4)

Los valores de prevalencia e incidencia mensual se basan en la prueba serológica de tarjeta (Figura 1 y 2), así como en los cuadros 4 y 5. A los sueros positivos a tarjeta se les realizó la prueba de rivanol, con la finalidad de observar los títulos que se presentaban. Durante los primeros 120 días en el hato de baja prevalencia el mayor número de animales positivos a tarjeta presentaban títulos de 1:200 a rivanol (Figura 5). Para el hato de alta prevalencia, la mayoría de los sueros positivos a tarjeta se observaron títulos de 1:200 y 1:400 durante los 420 días de seguimiento (Figura 6). El número de animales probados en cada muestreo y los resultados de la prueba, se observan para el hato de baja prevalencia en el cuadro 6 y para el de alta prevalencia en el cuadro 7.



Posibles factores asociados a la seropositividad a *Brucella* en vacas de hatos de baja y alta prevalencia de brucelosis

Se analizaron todas las variables de los cuestionarios individuales de las vacas en ambos hatos con el fin de detectar variables que pudieran estar involucradas con la presencia de brucelosis; sin embargo, debido a deficiencias en la captura de información para algunas variables, y debido también al bajo tamaño de muestra no se pudo realizar un análisis bivariado apropiado, no obstante se determinó la razón de momios (OR) para las siguientes variables: Número de partos, tiempo de gestación, tercio de gestación en que se presentó el aborto, etapa de producción en que abortó la vaca y aspecto del producto abortado (Cuadro 8). Se encontró asociación significativa entre la variable de vacas con antecedentes de aborto con la seropositividad a *Brucella*, en comparación con vacas que no presentaban antecedentes de aborto, en el hato de baja prevalencia, tuvo una razón de momios (OR) de 4.5 con un intervalo de confianza (IC) al 95% de (1.2 : 16.6). En el hato de alta prevalencia, el grupo de vacas con antecedentes de aborto, presentaron un OR de 3.6 con un IC 95% de (1.5 : 8.5) siendo estadísticamente significativo en ambos casos (Cuadro 8).

Modelo de Regresión logística Múltiple

Por último se obtuvo un modelo de regresión logística múltiple, en el cual se usaron aquellas variables con una ($p < 0.20$), para una evaluación en conjunto e identificar los OR principales asociados con la seropositividad a *Brucella* en cada uno de los hatos evaluados.

Se consideraron como variable de respuesta la seropositividad de los animales y como variables independientes: número de partos, la gestación, la condición corporal y los antecedentes de aborto. Se encontró asociación estadísticamente significativa entre la variable de vacas con antecedentes de aborto con la seropositividad a *Brucella*, en comparación con vacas que no presentaban antecedentes de aborto, en el hato de baja prevalencia, tuvo una razón de momios (OR) de 15.69 con un intervalo de confianza al 95% de (3.3 : 73.7). En el hato de alta prevalencia, el grupo de vacas con antecedentes de

aborto, presentaron un OR de 3.82 con un intervalo de confianza al 95% de (1.6 ; 9.1) siendo estadísticamente significativo en ambos casos (Cuadro 9).

II. Resultados de los ranchos bovinos con diferentes prevalencias de brucelosis vacunados con RB51 después de un año.

En lo referente a los ranchos bovinos vacunados con RB51 después de un año, son explotaciones extensivas localizados en el estado de Tamaulipas en cuanto al rancho A se dedica a la engorda y comercialización con un alto movimiento de animales. el rancho B y C su principal actividad es la producción de pie de cría donde la movilización es menor y con mayor medidas de bioseguridad. En estas tres explotaciones se realizó un muestreo inicial donde se determinaron las prevalencias, se vacunó a la totalidad de las hembras negativas y se eliminaron todos los animales seropositivos a *Brucella*. Las prevalencias iniciales fueron para el rancho A de 6% (Figura 7), para el rancho B de 8% (Figura 8), y para el rancho C de 15% (Figura 9), las mismas al año de iniciado el estudio fueron de 0%, 14.4% y 0% respectivamente.

DISCUSIÓN

La vacunación tiene que ser considerada como una herramienta importante para evitar la transmisión de la brucelosis entre los animales. En los últimos años, ha adquirido interés la selección de mutantes rugosas derivadas de la cepa virulenta de *B abortus* S2308, ya que no presentan interferencia para las pruebas de diagnóstico, estimulan una respuesta inmune protectora, sobreviven poco tiempo dentro del animal y no existe reversión de su virulencia (Stevens *et al* , 1997; Olsen *et al* , 1998)

En la actualidad en México, tanto RB51 como la cepa 19, son consideradas en la norma para su uso en bovinos (NOM, 1995) La RB51 es utilizada preferentemente, presentándose de hecho una sustitución de la cepa 19. En México es importante poder conocer el comportamiento de la vacunación con *B abortus* RB51, bajo diversas prevalencias. En otros países se ha determinado la adecuada protección al ganado contra la infección y el aborto en condiciones experimentales o de baja prevalencia de la enfermedad (Lord *et al* , 1998, Palmer *et al* , 1995; Cheville *et al* , 1996; Olsen, *et al* , 1997) Este trabajo se realizó en dos hatos bovinos lecheros, que previamente a este estudio no llevaban un programa de control de brucelosis y se intentó determinar el comportamiento de la vacunación con RB51, bajo condiciones de alta y baja prevalencia de la enfermedad.

Stevens *et al* . en 1995, mencionan que ganado vacunado con RB51 y S19 tienen respuestas inmunes similares al desafío con la cepa 2308, pero la vacunación con RB51 tiene la ventaja, de que no produce confusión en los resultados posvacunales en el diagnóstico serológico convencional. La no interferencia con el diagnóstico al emplear esta vacuna ha sido bien documentada por otros autores (Schuring *et al* . 1991; Palmer *et al* . 1996; Cheville *et al* . 1996; Stevens *et al* . 1997)

Se reporta que la vacuna RB51 no reacciona a PT y PR, sin embargo, en el presente estudio se observaron algunas reacciones positivas a dichas pruebas posteriores a la vacunación en ambos hatos. La PT tiene una sensibilidad de 94.2% y una especificidad de

100% (Rojas y Alonso, 1995; Reyes, 1996), sobre esto Nielsen en 1995, menciona que la prueba de tarjeta tiene una alta sensibilidad, sin embargo necesita de una prueba confirmatoria para determinar si el animal es positivo por una cepa de campo. A los sueros positivos a la PT, se les realizó la prueba confirmatoria de rivanol, aunque los resultados en los sueros que presentaron anticuerpos aglutinantes a la PT y no presentaron aglutinación en las diferentes diluciones a la prueba de rivanol, se pueden atribuir a que existen bacterias como *Yersinia enterocolitica*, *Salmonella sp*, *Vibrio cholerae*, *Escherichia hermannii*, *E. coli*, cuyos LPS dan reacción cruzada con el LPS del género *Brucella* (Estrada, 1998; Moriyón *et al*, 1998). Otra posible causa de que existan resultados positivos a la PT y negativos a la PR, es una respuesta de tipo secundario, ya que existen vacas que estuvieron alguna vez en su vida en contacto con una *Brucella*, por encontrarse en una zona endémica como es la cuenca lechera de Tizayuca, ya sea de campo o cepa 19 y desarrollaron una memoria inmunológica contra ese antígeno y después al ser vacunadas se da una respuesta secundaria (Leal *et al*, 1999).

En la prueba de rivanol existen reportes de que en animales no vacunados se considera infectado a partir de la aglutinación en la dilución 1:25 y en vacunados la seroaglutinación en 1:25 se interpreta como sospechoso y a partir de 1:50 como positivo; pero para fines de este estudio se consideró como positivos a partir de la seroaglutinación en la dilución 1:25, partiendo de la premisa de que la vacuna rugosa de *B. abortus* RB51 no produce anticuerpos posvacunales (Cobos, 2000; Díaz, 1998).

En el hato de baja prevalencia durante los 660 días de estudio, se puede manifestar que la vacunación aunada a las medidas de control disminuyó la prevalencia de brucelosis, ya que al inicio se encontró una prevalencia inicial de 8.8% y se redujo a 0.3% al final del estudio. Los factores importantes fueron la vacunación con RB51, la detección oportuna de animales seropositivos por medio de los muestreos mensuales de la totalidad de la población y al destino de animales diagnosticados como seropositivos, ya que estos animales al detectarse positivos por medio de la prueba de tarjeta y rivanol con dilución mayor a 1:100, eran eliminados de la explotación. Las vacas con sueros positivos a rivanol

a diluciones 1:25, o 1:50 permanecían en el establo para seguirlas al próximo muestreo y si aumentaban los títulos se eliminaban del hato. En este hato, al día 60 posterior a la vacunación, se elevó el número de animales nuevos positivos. Este aumento se puede atribuir a que existían animales en periodo de incubación. Se menciona que en el caso de vacas vacunadas con RB51, que presentan serología positiva a las pruebas de diagnóstico con antígenos lisos, puede ser indicativo de que hay una infección temprana con cepas de campo de *B. abortus*, puesto que el periodo de incubación puede durar hasta de 253 días (Cheville *et al.*, 1993). También existen animales vacunados y revacunados con RB51 negativos a *Brucella*, que al introducirlos a un hato con un brote activo de brucelosis, desencadenan una respuesta y al diagnóstico resultan como positivas, pero al paso del tiempo se estabilizan y de nuevo se vuelven negativas (Leal *et al.*, 1999). El hecho de que el establo de baja prevalencia cuenta con medidas adecuadas de bioseguridad: tapetes sanitarios, desinfección de botas, higiene en la sala de ordeño, ayudó a combatir el contagio hacia animales sanos (Luna y Mejía, 1998). Por otra parte cuenta con una adecuada alimentación balanceada del animal, respecto a su etapa productiva, como lo demuestra su calificación de condición corporal.

En el hato de alta prevalencia, el número de animales y de nuevos casos positivos mensuales posteriores a la vacunación durante los primeros 360 días, fue mayor en comparación con el hato de baja prevalencia. Esto se puede atribuir a que en este hato los animales seropositivos no se eliminaban si no que eran colocados en corrales de separados. Durante los muestreo de los días 60 y 90 se elevó el número de animales seropositivos, pero a diferencia del hato de baja prevalencia donde eran eliminados, estos animales permanecieron en la explotación. Durante los siguientes 360 días de estudio, el número de animales positivos que se encontraban en el hato era considerable, ya que llegó la prevalencia hasta un 52%. A partir del día 360 se empezaron a eliminar paulatinamente animales seropositivos a *Brucella*, de acuerdo a su etapa productiva y reproductiva, por lo que el número de nuevos casos fue disminuyendo en los muestreos subsecuentes. Por otra parte al disminuir la incidencia al final del estudio se empezaron a introducir vaquillas negativas a *Brucella* al parto, por lo que aumento la población de animales, en este hato no

se aplicaban medidas de bioseguridad. El estado físico de las vacas en general era inferior en comparación con el hato de baja prevalencia. Todo esto puede haber influido en el bajo nivel de protección en este hato

Los resultados de este trabajo en el hato de baja prevalencia se asemejan a los encontrados por Lord *et al.*, 1998, no así para el hato de alta prevalencia, donde determinó el efecto de la vacunación en ganado bovino tipo Cebú con RB51 bajo condiciones de campo con alta (39%) y baja (2%) prevalencia de la enfermedad durante 240 días posteriores a la vacunación. Lord *et al.*, 1998 menciona que en los resultados serológicos el ganado vacunado con la cepa RB51 fue protegido contra una infección inducida por una cepa de campo durante el estudio, además de proteger al ganado contra el aborto sin importar la prevalencia de la enfermedad bajo condiciones de campo involucrando hatos con baja y alta prevalencia de brucelosis

La presencia de animales seropositivos en los dos hatos representa un factor de riesgo debido a la eliminación y transmisión del agente, lo que hace que los esfuerzos dedicados al control y la erradicación de la brucelosis se vean limitados. De acuerdo a la información obtenida a través del cuestionario aplicado, se puede inferir que la transmisión a través del aborto de vacas seropositivas sigue siendo un factor de riesgo importante, coincidiendo con lo reportado por otros autores (Cheville *et al.*, 1996; Olsen, *et al.*, 1997) donde mencionan que la transmisión de *Brucella* hacia vacas negativas, pueden ser procedentes del contagio por abortos de vacas positivas

Al momento de realizar el cuestionario al día 330 se encontró que en el hato de baja prevalencia existían 3% de animales con antecedentes de aborto, y en el hato de alta prevalencia 16%; sin embargo nunca se confirmó que los abortos hayan sido debidos a *Brucella*, ya que pueden deberse a diversas causas, de origen infeccioso, de manejo, ambientales, de la vacunación, etc. Estudios realizados por Cheville *et al.*, 1996; Palmer *et al.*, 1995; Samartino *et al.*, 2000; Shuring, 1998; Olsen, *et al.*, 1997 mencionan que la vacuna RB51 no provoca el aborto en hembras gestantes. Palmer, *et al.*, 1995 concluyen

que la cepa RB51 en una concentración celular de 1×10^9 UFC, como dosis única vacunal por vía subcutánea no provocó el aborto en 350 vacas gestantes y la inoculación por vía intravenosa causa ligera placentitis.

En este trabajo los dos hatos estudiados, se encontraron animales que se diagnosticaron como seronegativos durante los 660 días de seguimiento y que al igual que toda la población, estuvieron expuestos al contagio por *Brucella*, mediante la convivencia en el hato con animales seropositivos, pero nunca enfermaron. La resistencia genética natural hacia enfermedades, esta determinada por la capacidad que tiene un animal a resistir la enfermedad, cuando es desafiado por un patógeno (Adams y Templeton, 1995; Gwakisa y Minga, 1992)). En la resistencia natural se ha encontrado que se puede heredar y que se transmite del padre al descendiente (Campbell *et al.*, 1994; Qureshi *et al.*, 1995; Adams *et al.*, 1999) Se ha encontrado que en hembras bovinas no vacunadas, más de 20% de los animales son naturalmente resistentes a la infección por *Brucella*. Se han utilizado bovinos naturalmente resistentes a *B. abortus*, para estudiar la herencia de los genes que regulan el control de la infección (Adams *et al.*, 1999) Ensayos genéticos preliminares indican que dos genes controlan los fenotipos. Estos dos genes se denominan Nramp-1 bovino (Bov Nramp1) y BoLA (Adams *et al.*, 1999) Mediante técnicas de biología molecular se ha encontrado que este gen se expresa en macrófagos, linfocitos T y B (Aréstegui *et al.*, 2001) Aunque su función aún no está totalmente aclarada, estudios recientes sugieren que Nramp1 tiene un papel potencial en el transporte de iones, regulando la concentración intrafagosomal de Fe^{++} y otros cationes (Aréstegui *et al.*, 2001) Estos datos apoyan la hipótesis de que Nramp1 afecta la replicación de las bacterias intracelulares modulando el pH del fagosoma (Adams *et al.*, 1999; Aréstegui *et al.*, 2001)

Con respecto a los tres ranchos evaluados en Tamaulipas (A,B,C), los animales estaban en pastoreo, a diferencia de los dos hatos evaluados, que se encontraban en confinamiento. Después de más de un año de haber sido vacunados con *B. abortus* RB51, los ranchos A y C no presentaron ningún animal positivo a *Brucella*, esto se puede deber que al estar en pastoreo el contacto directo con un animal seropositivo es menor que en

confinamiento, además de que estos dos hatos su fin zootécnico era producir pie de cría, por lo que el movimiento de ganado era menor. El rancho B, tuvo un incremento de casos nuevos al muestrearlo después de un año, debido quizá al constante movimiento de ganado que se comercializa, y que al momento del muestreo anual se encontrara un lote de animales positivos, además de que este rancho su fin zootécnico es la venta de animales para engorda y tiene mayor número de lotes de animales que ingresan al rancho durante todo el año. El confinamiento de animales juega un papel importante en la transmisión de la brucelosis hacia animales sanos, ya que el mayor contagio ocurre al momento del parto o aborto de un animal seropositivo por una cepa de campo (Edmonds *et al.* 1999)

Algunas limitantes del estudio deben de ser consideradas: Primero, los resultados obtenidos sólo son aplicables a la población de estudio. Hasta el momento no existe alguna técnica que diferencie con certeza del cien por ciento si un animal es seropositivo a *Brucella*. Además, existe la limitante de detectar en las etapas iniciales de la enfermedad y en los casos crónicos, debido a que los niveles de anticuerpos son bajos. En cuanto a el análisis mediante la estratificación, presenta la limitante de datos esparcidos debido al tamaño de muestra pequeño y la existencia del bajo poder estadístico para poder detectar interacciones de algunas de las variables estudiadas.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

CONCLUSIONES

En el hato de baja prevalencia, la vacunación con RB51 en conjunto con la eliminación del animal seropositivo, así como las medidas de bioseguridad, es más efectiva en controlar la transmisión de la brucelosis

Durante los primeros 360 días, la efectividad de la vacunación con RB51 en el hato de alta prevalencia es menor en comparación con el hato de baja prevalencia. Después del primer año con la eliminación de animales seropositivos, se disminuyeron el número de casos nuevos

La presencia de animales seropositivos representa un factor de riesgo debido al contagio hacia animales negativos. La transmisión a través del aborto de vacas positivas, continua siendo un problema importante

De los tres ranchos evaluados después de un año de haber sido vacunados con RB51, el tipo de producción en que se encuentran favorece el no contagio de animales, ya que al estar en pastoreo, se reduce el riesgo de contraer la enfermedad

El uso de vacunas solamente, no es suficiente para la erradicación de la enfermedad ya que el efecto neto de las vacunas es disminuir la susceptibilidad de los animales a la infección pero no protege a todos los animales del hato con la misma efectividad

El diseño de un programa de control y eventual eliminación de la brucelosis en una explotación, depende en gran medida de los recursos humanos y económicos que se pueden poner a disposición del programa. Los programas deben considerar el uso de cuarentenas para prevenir la transmisión del hato, monitoreo serológico continuo, con la eliminación de animales positivos, especialmente hembras antes del parto. Vacunación para prevenir infecciones, programa de manejo de animales individuales, para disminuir el contacto entre animales susceptibles e infectados y educación y entrenamiento de todos los individuos participantes para fomentar el entendimiento del problema



LITERARURA CITADA

1. Acha N; Szyfres B 1986 Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. 2 ed Pub Cientif No 503, OPS. Washington
2. Adams GL; Templeton JW 1995. Identifying candidate genes for natural resistance to brucellosis. Proceeding of the United States Animal Health Association 99:1111-1116
3. Adams GL; Barthel R; Gutiérrez JA; Templeton JW 1999 Bovine natural resistance macrophage protein 1 (NRAMP1) gene Arch Tierz Dummerstorf Vol 42, p 42-54
4. Agranovich I; Scott DE; Terle D; Lee K; Golding B 1999 Down-regulation of Th2 responses by *Brucella abortus*, a strong Th1 stimulus, correlates with alterations in the b7.2- CD28 pathway. Infection and immunity 67:4418-4426
5. Alonso TM; Rojas X; Cherwonogrodzky J 1995 Comparación de dos métodos de la extracción del polisacárido cadena O de *Brucella abortus* 119-3 Arch Med Vet XXVII, N^o Extraordinario p139-141
6. Alton GG; Jones LM; Angus RD; Verger JM 1988 Techniques for the brucellosis laboratory. París INRA
7. Aréstegui BM; Gualtieri SC; Domínguez J; Scharovsky G 2001 El género *Brucella* y su interacción con el sistema mononuclear fagocítico Vet Méx. 32(2):131-139
8. Betts M; Beining P; Brunswick M; Inman J; Angus D; Hoffman T; Golding B 1993 Lipopolysaccharide from *Brucella abortus* behaves as a T-cell- independent type 1 carrier in murine antigen-specific antibody responses Infection and Immunity May,p 1722-1729
9. Blasco JM 1998 Profilaxis vacunal de la brucelosis en los rumiantes. las vacunas tradicionales y las nuevas vacunas Memorias del III Foro Nacional de Brucelosis 1998 julio 20-21; Acapulco (Guerrero) México Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia UNAM :205-226
10. Brown WH; Hernández de Anda J 1998. Brucellosis in adult beef cattle of Mexican origin shipped direct-to-slaughter into Texas JAVMA, Vol 212(5) .705-707



- 11 Campbell GA; Adams GL; Sowa BA. 1994. Mechanisms of binding of *Brucella abortus* to mononuclear phagocytes from cows naturally resistant or susceptible to brucellosis. *Veterinary immunology and immunopathology* 41: 295-306.
- 12 Campomanes CA. 1998. Control de calidad de los biológicos empleados en la campaña nacional contra la brucelosis. *Memorias del III Foro Nacional de Brucelosis* 1998 julio 20-21; Acapulco (Guerrero) México Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia UNAM :91-107.
- 13 Castell BH 1998. Experiencias en México con la vacuna RB51. *Memorias del III Foro Nacional de Brucelosis* 1998 julio 20-21; Acapulco (Guerrero) México Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia UNAM :175-180.
- 14 Céspedes S; Andrews E; Folch H; Oñate A 2000. Identification and partial characterization of a new protective antigen of *Brucella abortus*. *J Med Microbiol* Vol 49, 165-170
- 15 Cherwonogrodzky JW 1995 Therapies for bovine brucellosis *Arch Med Vet* XXVII, N°Extraordinario pp23-28
- 16 Cherwonogrodzky JW; Ninno Di 1995 A polysaccharide vaccine to enhance immunity against brucellosis *Arch Med Vet* XXVII, N°Extraordinario. pp 29-33
- 17 Cheville NF; Jensen AE; Halling SM; Tatum FM; Morfitt DC; Hennager SG; Frerichs WM; Schurig G 1992 Bacterial survival, lymph node changes, and immunologic responses of cattle vaccinated with standard and mutant strains of *Brucella abortus*. *Am J Vet Res* 53:10:1881-1888
- 18 Cheville NF; Stevens GM; Jensen AE; Tatum FM; Halling SM 1993 Immune responses and protection against infection and abortion in cattle experimentally vaccinated with mutant strains of *B. abortus*. *Am J Vet Res* 54:10:1591-1597
- 19 Cheville NF; Stevens CO; Jensen EA; Stevens GM; Palmer VM; Florance MA 1996. Effects of age at vaccination on efficacy of *Brucella abortus* strain RB51 to protect cattle against brucellosis. *AJVR*, Vol 57, No 8
- 20 Cobos ML. 2000 Prueba de Rivanol. En: Díaz E; Hernández L; Valero G; Arellano B. Diagnóstico de brucelosis animal. INIFAP-SAGAR, IICA. OPS-OMS. 48-70



- 21 Comisión Nacional de Sanidad Agropecuaria 1999 Dirección de Tuberculosis y Brucelosis Programa de actividades de las campañas de tuberculosis bovina y brucelosis para 1999 pp 2-8
- 22 Dajer A; Luna-Martínez E; Zapata D; Villegas S; Gutiérrez E; Peña G; Gurría F; Nielsen K; Gall D. 1999 Evaluation of a fluorescence-polarization assay for the diagnosis of bovine brucellosis in Mexico Preventive Veterinary Medicine Vol 40. p 67-73
- 23 Díaz AE 1994 Prueba de IDR con hapteno nativo y prueba de rivanol para diagnóstico de brucelosis Manual de procedimientos para el diagnóstico bacteriológico y serológico de brucelosis animal México CENID-Microbiología INIFAP
- 24 Díaz AE. 1998 Pruebas de diagnóstico en población animal Memorias del III Foro Nacional de Brucelosis 1998 julio 20-21; Acapulco (Guerrero) México Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia UNAM :63-77
- 25 Edmonds MD; Gerhardt BS; Samartino L; Walker JV; Hagius SD; Elzer PH 1999 Biosafety of *Brucella abortus* strain RB51 for vaccination of mature bulls and pregnant heifers AJVR Vol 60. p 722-725
- 26 Eisenschenk CF; Houle JJ; Hoffmann ME 1999 Mechanism of serum resistance among *Brucella abortus* isolates Veterinary Microbiology Vol 68, p 235-244
- 27 Elzer HP; Enright MF; Colby L; Hagius DS; Walker VJ; Fatemi BM; Kopec DJ; Beal CV 1998 Protection against infection and abortion induced by virulent challenge exposure after oral vaccination of cattle with *Brucella abortus* strain RB51. AJVR. Vol 59, p 1575-1578
- 28 Estrada AA 1998 Aspectos clínicos de la brucelosis humana Memorias del III Foro Nacional de Brucelosis 1998 julio 20-21; Acapulco (Guerrero) México Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia UNAM :47-52
- 29 Flores CR 1994 Brucelosis: prevención y control. Memorias del "Curso de Capacitación de Coordinadores Estatales y Supervisores Distritales en Tuberculosis Bovina y Brucelosis". Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos, México (DF): SARH, 15-18 agosto



- 30 Folch H; Rojas X; Oñate A; Alonso O; Leían V; Jara U 1995. Humoral and celular response in calves vaccinated with *Brucella abortus* RB51. Arch Med Vet XXVII: 125-130
- 31 Forestier C; Moreno E; Méresse S; Phalipon A; Olive D; Sansonetti P; Gorvel JP 1999 Interaction of *Brucella abortus* lipopolysaccharide with major histocompatibility complex class II molecules in B lymphocytes Infect. Immun 67(8):4048-4054
- 32 Golding B; Scott D; Scharf O; Huang YL; Zaitseva M; Lapham C; Eller N; Golding H 2001 Immunity and protection against *Brucella abortus*. Microbes and infection. P 43-48
- 33 Gómez PH; Rueda E; Gallego I; Villamil M; Moriño OC 1995 Mecanismos de protección inducidos por proteínas de membrana externa de *Brucella abortus* cepa RB51 Arch Med Vet XXVII, No Extraordinario P65-75
- 34 Grummer R. 1997 La condición corporal en relación a la producción y reproducción en el ganado lechero. 13 marzo; Querétaro, Qro México Asociación Ganadera pp14
- 35 Gurría TF 1998 Importancia de la Erradicación de la brucelosis en México Memorias del III Foro Nacional de Brucelosis julio 20-21; Acapulco (Guerrero) México Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia UNAM :5-12
- 36 Gürtürk K; Boynukara B; Ilhan Z; Hakki I; Gülhan I 1999 Comparison of the Dot-immunobinding assay with the serum agglutination test, the rose bengal plate test and the milk ring test for the detection of *Brucella* antibodies in bovine sera and milk J Vet Med B 46,279-285
- 37 Gwakisa PS; Mínga UM 1992. Humoral factors of natural resistance of *Bos indicus* cattle selected for antibody titre to *Brucella abortus*. Scand. J Immunol Vol 36, Suppl 11, p 99-102
- 38 Hamilton CL. Statistics with stata Duxbury Press Belmont, California EUA 1993
- 39 Hornsby LR; Jensen EA; Olsen CS; Thoen OC 2000 Selective media for isolation of *Brucella abortus* strain RB51 Veterinary Microbiology 73, 51-60
- 40 Incidence and prevalence defined 1978 Australian Veterinary Journal. Vol 54. p 405-406



- 41 Kunkle R; Steadham M; Cheville N 1995 Morphometric analysis of CD4+, CD8+, and γ/δ + T-lymphocytes in lymph nodes of cattle vaccinated with *Brucella abortus* strains RB51 and 19. Vet. Immunol Immunopathol 49:271-279
- 42 Kurar E; Splitter G 1997 Nucleic acid vaccination of *Brucella abortus* ribosomal L7/L12 gene elicits immune response Vaccine. Vol 15 No 17/18.
43. Leal HM; Díaz AE; Pérez GR; Hernández AL; Hosannilla GF; Suárez GF 1999 Vacunación y revacunación con *B abortus* RB51 en bovinos introducidos a un hato con un brote activo de brucelosis XXXV Reunión nacional de investigación pecuaria Yucatán 19-22 de Octubre pp 172.
- 44 López MA 1998 La brucelosis como zoonosis de interés en México Memorias del III Foro Nacional de Brucelosis 1998 julio 20-21; Acapulco (Guerrero) México Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia UNAM :53-62
- 45 Lord VR; Cherwonogrodzky WJ 1992 Evaluation of polysaccharide, lipopolysaccharide, and β - glucan antigens in gel immunodiffusion test for brucellosis in cattle. Am J Vet Res, Vol 53 p389-392
- 46 Lord VR; Schurig GG; Cherwonogrodzky JW 1998 Field study of vaccination of cattle with *Brucella abortus* strains RB51 and 19 under high and low disease prevalence Am. J Vet Res. 59: (8) 1016-1020
- 47 Luna ME; Mejía TC 1998 Manejo del hato infectado Memorias del III Foro Nacional de Brucelosis 1998 julio 20-21; Acapulco (Guerrero) México Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia UNAM .109-116
- 48 McQuiston J; Vemulapalli R; Inzana J; Schurig G; Sriranganathan N; Fritzing D; Hadfield L; Warren A; Snellings N; Hoover D; Halling M; Boyle M 1999 Genetic characterization of a Tn5-disrupted glycosyltransferase gene homolog in *Brucella abortus* and its effect on lipopolysaccharide composition and virulence Infect Immun 67(8):3830-3835
- 49 Meljem MJ; Flores LJ 1998 Control sanitario de productos lácteos como medida de prevención de brucelosis Memorias del III Foro Nacional de Brucelosis 1998 julio 20-21; Acapulco (Guerrero) México Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia UNAM :33-46

- 50 Moriyón UI. 1998. Características estructurales y antigénicas de *Brucella*. En: Diagnóstico de Brucelosis Díaz AE; Hernández AL; Valero EG; Velázquez QF INIFAP, SAGAR :10-22
- 51 Nielsen K 1995 A brief review of diagnosis of bovine brucellosis by detection of antibody Arch Med Vet. XXVII, No Extraordinario p 9-17.
- 52 Norma Oficial Mexicana, NOM-041-ZOO-1995, Campaña Nacional contra la Brucelosis en los animales Publicada el 20 de agosto de 1996 Diario Oficial de la Federación.
- 53 Oliveira C; Zhu Y; Splitter A 1994 Recombinant L7/L12 ribosomal protein and γ -irradiated *Brucella abortus* induce a T-helper subset response from murine CD4⁺ T cells Immunology 83:659-664
- 54 Olsen SC; Stevens M; Palmer M; Cheville N 1995 Efficacy of *Brucella abortus* strain RB51 to protect cattle against brucellosis Proceeding of the United States Animal Health Association Vol 99 108-110
- 55 Olsen SC; Evans S; Hennager S; Cheville N; Stevens M 1996 Serologic responses of *Brucella abortus* strain 19 calfhood-vaccinated cattle following adult vaccination with strain RB51 J vet diagn invest 8:451-454
- 56 Olsen SC; Cheville N; Stevens M; Shuring G 1997 Experimental use of a dot-blot assay to measure serologic responses of cattle vaccinated with *Brucella abortus* strain RB51 J Vet Diagn Invest 9:363-367
- 57 Olsen SC; Jensen A; Palmer M; Stevens M 1998 Evaluation of serologic responses, lymphocyte proliferative responses, and clearance from lymphatic organs after vaccination of bison with *Brucella abortus* strain RB51 Am J Vet Res 59 (4) 410-415
- 58 Olsen SC; Bricker B; Palmer M; Jensen A 1999 Responses of cattle to two dosages of *Brucella abortus* strain RB51: serology, clearance and efficacy Research in Veterinary Science, Vol 66, 101-105
- 59 Olsen SC 2000 Responses of adult cattle to vaccination with a reduced dose of *Brucella abortus* strain RB51 Res Vet Sci 69 135-140

- 60 Palmer MV; Olsen SC; Stevens MG; Cheville NF. 1995. Placentitis induced by *Brucella abortus* strain RB51 in pregnant cattle. Proceeding of the United States Animal Health Association Vol. 99. 104-107
- 61 Palmer MV; Cheville NF; Jensen AT. 1996. Experimental infection of pregnant cattle with the vaccine candidate *Brucella abortus* strain RB51: Pathologic, Bacteriologic, and serologic findings. Vet Pathol. 33:682-691
- 62 Palmer MV; Olsen SC; Cheville NF. 1997. Safety and immunogenicity of *Brucella abortus* strain RB51 vaccine in pregnant cattle. Am. J. Vet. Res. 58 (5) 472-477
- 63 Palmer MV; Elsasser HT; Cheville NF. 1998. Tumor necrosis factor- α in pregnant cattle after intravenous or subcutaneous vaccination with *Brucella abortus* strain RB51. Am. J. Vet. Res. 59 (2) 153-156
- 64 Qureshi T; Templeton JW; Adams LG. 1995. Intracellular survival of *Brucella abortus*, *Mycobacterium bovis* BCG, *Salmonella dublin*, and *Salmonella typhimurium* in macrophages from cattle genetically resistant to *Brucella abortus*. Veterinary immunology and immunopathology Vol. 50. 1-6
- 65 Reyes PR. 1996. Evaluación de la sensibilidad y especificidad de varias pruebas diagnósticas usadas en brucelosis bovina. (Tesis de Licenciatura) México: Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán UNAM
- 66 Rodríguez HG. 1998. Vacunación contra brucelosis. vacuna cepa 19. Memorias del III Foro Nacional de Brucelosis. 1998 julio 20-21; Acapulco (Guerrero) México Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia UNAM. :117-134
- 67 Rojas X; Alonso O. 1995. Elisás for the diagnosis and epidemiology of *Brucella abortus* infection in cattle in Chile. Arch. Med. Vet. XXVII. p45-49
- 68 Samartino LE; Enright MF. 1992. Interaction of bovine chorioallantoic membrane explants with three strains of *Brucella abortus*. Am. J. Vet. Res. Vol. 53. 359-363.
- 69 Samartino LE; Salustio; Gregoret R. 1999. Evaluación de la vacuna RB51 de *Brucella abortus* en hembras bovinas preñadas. Veterinaria Argentina Vol. 16 (152) 106-111
- 70 Samartino LE; Fort M; Gregoret R; Schurig GG. 2000. Use of *Brucella abortus* vaccine strain RB51 in pregnant cows after calfhood vaccination with strain 19 in Argentina. Preventive Veterinary Medicine. Vol. 45. p. 193-199

71. Sánchez CY; Piedra PL; González SM 1998. Inmunología de la *Brucella abortus*, UAM, Departamento de producción agrícola y animal, México, Internet [http:// www.intramed.uam.mx/brucc/content.htm](http://www.intramed.uam.mx/brucc/content.htm)
72. Schurig GG; Pringle TA; Breese SS. 1981 Localization of *Brucella* antigens that elicit a humoral immune response in *Brucella abortus* infected cattle Infection and Immunity, p 1000-1007
- 73 Schurig GG; Roop RM; Bagchi T; Boyle S; Buhram D; Sriranganathan N. 1991 Biological properties of RB51; a stable rough strain of *B. abortus* Vet Microbiol 28, pp 171-188
- 74 Schurig GG; Boyle S; Sriranganathan N 1995 *Brucella abortus* vaccine strain RB51 a brief review Arch. Med Vet XXVII, No Extraordinario p85-89
- 75 Schurig GG 1998 Brucellosis. vacuna RB51. Memorias del III Foro Nacional de Brucellosis 1998 julio 20-21; Acapulco (Guerrero) México Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia UNAM :135-140
- 76 Smith R; Kapatsa JC; Rosenbaum B; Adams G 1990 Bovine T-lymphocyte lines reactive with *Brucella abortus* Differential reactivity of bovine lymphocytes to species of *Brucella* Am J Vet Res, 51 (4) 512-523
- 77 Stevens^a GM; Tabatabai L; Olsen SC; Cheville NF. 1994 Immune responses to superoxide dismutase and synthetic peptides of superoxide dismutase in cattle vaccinated with *Brucella abortus* strain 19 or RB51 Veterinary Microbiology Vol 41, pp 383-389
- 78 Stevens^b GM; Hennager SG; Olsen SC; Cheville NF 1994 Serologic responses in diagnostic tests for brucellosis in cattle vaccinated with *Brucella abortus* 19 or RB51. J. Clin Microbiol 1065-1066
- 79 Stevens^c GM; Olsen SC; Cheville NF 1994 Lymphocyte proliferation in response to immunodominant Antigens of *Brucella abortus* 2308 and RB51 in strain 2308- infected cattle Infection and immunity 4646-4649
- 80 Stevens GM; Olsen SC; Cheville N 1995 Comparative analysis of immune responses in cattle vaccinated with *Brucella abortus* strain 19 or strain RB51. Vet Immunol Immunopathol 44:223-235

- 81 Stevens GM; Olsen SC; Cheville N 1996. Antibody responses to *Brucella abortus* 2308 in cattle vaccinated with *B. abortus* RB51. Lymphocyte Proliferation in response to *Brucella abortus* RB51 and 2308 proteins in RB51-vaccinated or 2308-infected cattle. *Infect. Immun.* 64(3):1007-1034.
- 82 Stevens GM; Olsen SC; Palmer M 1997 *Brucella abortus* strain RB51: A new brucellosis vaccine for cattle. *Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian.* 19 (6):766-774.
83. Suárez GF. 1994. Perspectivas en el diagnóstico y control de brucelosis. *Manual de procedimientos para el diagnóstico bacteriológico y serológico de brucelosis animal México.* CENID-Microbiología. INIFAP
- 84 Suárez GF 2000 Brucelosis. En: Díaz E, Hernández L, Valero G, y Arellano B. *Diagnóstico de brucelosis animal.* INIFAP-SAGAR, IICA. OPS-OMS .1-8
85. Suman D; Singh DK; Behera B; Goswami TK; Singh KP 2000. Cellular immune response of cattle to *Brucella abortus*. *Indian J Comp. Microbiol Immunol Infect Dis.* 21:140-143
- 86 Tibor A; Decelle B; Letesson J 1999. Outer membrane proteins Omp10, Omp16, and Omp19 of *Brucella* spp. Are lipoproteins. *Infection and Immunity* Vol 67 (9) 4960-4962
- 87 Uzal F; Samartino L; Schuring G; Carrasco A; Nielsen K; Cabrera R; Taddeo H 2000. Effect of vaccination with *Brucella abortus* strain RB51 on heifers and pregnant cattle. *Veterinary Research Communications.* Vol 24, p 143-151
- 88 Velázquez MO; Domínguez OJ; Lecuona OL. 1998. La brucelosis como problema de salud pública en México. *Memorias del III Foro Nacional de Brucelosis 1998 julio 20-21; Acapulco (Guerrero) México.* Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia UNAM :13-16
- 89 Vemulapalli R; He Yongqun; Boyle S; Srirangana N; Schurig G 2000. *Brucella abortus* strain RB51 as a vector for heterologous protein expression and induction of specific Th1 type immune responses. *Infection and Immunity* Vol 68 (6) 3290-3296

- 90 Villamil M; Gallego I; Mariño C; Gerardino G 1995 Respuesta inmune humoral y celulare en cobayos inmunizados con proteínas de membrana externa de *Brucella abortus* cepa RB51 Arch Med Vet XXVII, No Extraordinario. pp77-84
- 91 Zaitseva M; Golding H; Betts M; Yamauchi A 1995. Human peripheral blood CD4+ and CD8+ T cells express Th1-like cytokine mRNA and proteins following in vitro stimulation with heat-inactivated *Brucella abortus*. Infect Immun 63(7):2720-2728
- 92 Zaitseva M; Golding H; Manischewitz J; Webb D; Golding B 1996. *Brucella abortus* as a potential vaccine candidate: induction of interleukin-12 secretion and enhanced B7 1 and B7 2 and intracellular adhesion molecule 1 surface expression in elutriated human monocytes stimulated by heat-inactivated *B. abortus* Infect Immun 64 (8):3109-3117
- 93 Zambrano Aj; Villava FM; Schuring GG; Cherwonogrodzky JW 1995 Preliminary results for the vaccination of pregnant cattle with *Brucella abortus* strain 19 or *B. abortus* RB51 Arch Med Vet XXVII, No Extraordinario p 119-123

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Cuadros.

Cuadro 1. Número de partos de las vacas de los dos hatos.

Número de partos	Hato de baja prevalencia	Hato de alta prevalencia
1 parto	20 (6%)	46 (19%)
2 partos	171 (52%)	89 (38%)
3 partos	96 (29%)	70 (29%)
Mas de 4 partos	19 (6%)	20 (8%)
Ningún parto	22 (7%)	14 (6%)
Total	328 (100%)	239 (100%)

Cuadro 2 Tiempo de gestación de las vacas de los dos hatos, al momento de aplicar el cuestionario.

Tiempo de gestación en meses	Hato de baja prevalencia # de vacas	Hato de alta prevalencia # de vacas
4 meses	27 (8 23%)	34 (14 23%)
5 meses	53 (16 16%)	34 (14 23%)
6 meses	74 (22 56%)	33 (13 81%)
7 meses	52 (15 85%)	31 (12 97%)
8 meses	66 (20 12%)	51 (21 34%)
Vaca no gestante	56 (17 07%)	56 (23 43%)
TOTAL	328 (100%)	239 (100%)

Cuadro 3 Aspecto de los fetos abortados por las vacas en ambos hatos.

Aspecto del feto abortado	Hato de baja prevalencia Numero de fetos abortados	Hato de alta prevalencia Numero de fetos abortados
Momificado	0	2
Normal	2	8
Café oscuro	0	0
No se determino	8	29
Total	10	39

Cuadro 4 Prevalencia e incidencia mensual del hato con baja prevalencia de brucelosis, posterior a la vacunación con *B. abortus*. RB51.

Día	# Animales	#Positivos a PT 8%	# Nuevos positivos	% Prevalencia	% Incidencia
0	330	29		8.79%	
30	330	17	1	5.15%	0.32%
60	330	38	25	11.52%	7.89%
90	330	37	27	11.21%	8.44%
120	330	31	24	9.39%	7.43%
150	324	17	11	5.25%	3.46%
180	328	26	11	7.93%	3.51%
210	339	17	5	5.01%	1.53%
240	330	16	2	4.85%	0.63%
270	354	9	1	2.54%	0.29%
300	331	3	2	0.90%	0.60%
330	333	3	0	0.90%	0%
360	367	4	2	1.09%	0.55%
390	375	2	1	0.53%	0.27%
420	392	2	1	0.51%	0.26%
450	372	2	2	0.54%	0.54%
480	387	0	0	0%	0%
540	352	0	0	0%	0%
570	394	0	0	0%	0%
600	386	0	0	0%	0%
630	387	0	0	0%	0%
660	386	1	1	0.26%	0.26%

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Cuadro 5. Prevalencia e incidencia mensual del hato con alta prevalencia de brucelosis, posterior a la vacunación con *B. abortus*. RB51.

Día	# Animales	#Positivos a PT 8%	# Nuevos positivos	% Prevalencia	% Incidencia
0	241	37		15 35%	
30	253	28	1	11 07%	0 44%
60	254	38	16	14 96%	6 90%
90	255	93	56	36 47%	25 69%
120	255	100	30	39 22%	16 22%
150	248	105	30	42 34%	17 34%
180	253	112	12	44 27%	7 84%
210	266	125	15	46 99%	9 62%
240	270	131	8	48 52%	5 44%
270	254	132	9	51 97%	6 87%
300	267	132	10	49 44%	6 90%
330	250	127	2	50 80%	1 60%
360	254	120	2	47 24%	1 47%
390	250	91	3	36 40%	1 85%
420	243	87	3	35 80%	1 89%
450	245	70	0	28 57%	0%
480	240	41	5	17 08%	2 45%
540	284	35	1	12 32%	0 40%
570	380	30	0	7 89%	0%
600	372	24	0	6 45%	0%
630	387	16	0	4 13%	0%
660	383	16	1	4 19%	0 27%

Cuadro 6. Resultados a la prueba de rivanol de los sueros positivos a tarjeta, en el hato de baja prevalencia de brucelosis, en los muestreos posteriores a la vacunación con *B. abortus*. RB51.

Total de sueros	1:400	1:200	1:100	1:50	1:25	negativo	Día
29	5	22	2	0	0	0	0
17	0	17	0	0	0	0	30
38	6	31	1	0	0	0	60
37	6	30	1	0	0	0	90
31	3	28	0	0	0	0	120
17	2	5	4	3	1	2	150
26	4	5	7	5	5	0	180
17	3	1	7	4	1	1	210
16	0	7	3	5	1	0	240
9	0	4	1	2	2	0	270
3	0	0	3	0	0	0	300
3	0	1	1	0	1	0	330
4	0	0	1	0	2	1	360
2	0	1	0	0	1	0	390
2	0	1	1	0	0	0	420
2	0	0	0	1	1	0	450
0	0	0	0	0	0	0	480
0	0	0	0	0	0	0	540
0	0	0	0	0	0	0	570
0	0	0	0	0	0	0	600
0	0	0	0	0	0	0	630
1	0	0	1	0	0	0	660

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Cuadro 7 Resultados a la prueba de rivanol de los sueros positivos a tarjeta, en el hato con elevada prevalencia de brucelosis, en los muestreos posteriores a la vacunación con *B. abortus*. RB51.

Total de sueros	1:400	1:200	1:100	1:50	1:25	negativo	Día
37	8	28	0	1	0	0	0
28	2	17	8	1	0	0	30
38	9	23	5	1	0	0	60
93	2	87	2	2	0	0	90
100	9	80	7	2	0	2	120
105	36	16	21	14	5	13	150
112	45	23	16	23	3	2	180
125	47	30	23	22	3	0	210
131	48	33	30	18	2	0	240
132	44	51	16	16	3	2	270
132	33	54	17	18	4	6	300
127	34	48	18	8	5	14	330
120	43	36	19	11	6	5	360
91	19	43	11	14	3	1	390
87	13	50	9	10	4	1	420
70	8	37	9	10	5	1	450
41	3	8	8	7	2	13	480
35	4	4	5	13	8	1	540
30	5	3	7	10	4	1	570
24	5	0	7	10	2	0	600
16	3	5	5	1	2	0	630
16	2	2	1	1	3	7	660

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Cuadro 8 Razón de momios e intervalos de confianza al 95% de los factores de riesgo de brucelosis considerados en el estudio de los dos hatos lecheros.

SEROPOSITIVIDAD DE LA VACA CON	Razón de Momios (OR)		Intervalo de confianza al 95%	
	Hato de Baja	Hato de Alta	Hato de Baja	Hato de Alta
Aborto (vacas con antecedentes vs sin antecedentes de aborto)	4.50	3.59	(1.21 ; 16.64)	(1.51 ; 8.52)
Condición corporal (C C 3.5 vs C. C 3.0)	6.26	1.10	(3.02 ; 12.99)	(0.65 ; 1.86)
*Tercio de gestación en que se presento el aborto (3/3 vs 2/3 tercio)	2	2.34	(0.14 ; 26.73)	(0.24 ; 22.33)
*Etapa de producción en que aborto la vaca (Periodo seco vs Lactación)	2.0	2.34	(0.14 ; 26.73)	(0.24 ; 22.33)
*Aspecto del producto abortado (Normal vs momificado, no se sabe)	0.6	1.73	(0.02 ; 13.58)	(0.26 ; 11.18)
*Tiempo Gx de las vacas al momento del cuestionario (>7 vs <6 meses)	1.01	0.94	(0.48 ; 2.13)	(0.52 ; 1.70)
*Número de partos de la vaca (>4 partos vs <3partos)	0.43	1	(0.20 ; 0.92)	(0.58 ; 1.72)
*Tipo de animal (vaca vs vaquilla)	3.52	0.83	(0.46 ; 26.88)	(0.27 ; 2.56)
*Gestación (Gestante vs No Gestante)	0.44	0.52	(0.21 ; 0.90)	(0.27 ; 1.008)
*Partos (vacas con partos vs sin partos)	3.52	0.83	(0.46 ; 26.88)	(0.27 ; 2.56)

*Todas estas variables no estuvieron asociadas con la seropositividad de la vaca en ambos hatos, ya que no fueron estadísticamente significativos por incluir el intervalo de confianza el valor nulo.

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

Cuadro 9. Razón de momios e intervalos de confianza al 95% de los factores de riesgo de brucelosis considerados en el estudio multivariado de los dos hatos lecheros.

hato==baja prevalencia
Logit estimates

Number of obs = 306
LR chi2(4) = 42.71
Prob > chi2 = 0.0000
Pseudo R2 = 0.1695

Log likelihood = -104.65373

status	Odds Ratio	Std. Err.	z	P> z	[95% Conf. Interval]
ccorporalc	8.167679	3.365457	5.10	0.000	3.642208 18.31608
numpar	2402449	.113324	-3.02	0.003	.0953105 .6055744
gesta	4187251	.1722359	-2.12	0.034	.1869824 .9376856
abortoc	15.6968	12.39355	3.49	0.000	3.339927 73.7709

hato==alta prevalencia

Logit estimates

Number of obs = 225
LR chi2(4) = 11.94
Prob > chi2 = 0.0178
Pseudo R2 = 0.0394

Log likelihood = -145.45763

status	Odds Ratio	Std. Err.	z	P> z	[95% Conf. Interval]
ccorporalc	1.054488	.295854	0.19	0.850	.6084477 1.827513
numpar	.8524876	.2471479	-0.55	0.582	.4829621 1.504746
gesta	.689019	.2417233	-1.06	0.288	.3464262 1.370414
abortoc	3.877147	1.743364	3.01	0.003	1.606084 9.359575

hato==alta prevalencia

Logit estimates

Number of obs = 239
LR chi2(2) = 14.94
Prob > chi2 = 0.0006
Pseudo R2 = 0.0465

Log likelihood = -153.13511

status	Odds Ratio	Std. Err.	z	P> z	[95% Conf. Interval]
gesta	.4865683	.1639994	-2.14	0.033	.2513296 .9419849
abortoc	3.822322	1.698402	3.02	0.003	1.599949 9.131628

hato==baja prevalencia

Logit estimates

Number of obs = 328
LR chi2(2) = 8.43
Prob > chi2 = 0.0147
Pseudo R2 = 0.0322

Log likelihood = -126.92999

status	Odds Ratio	Std. Err.	z	P> z	[95% Conf. Interval]
gesta	.4586883	.1711384	-2.09	0.037	.2207654 .9530248
abortoc	4.155932	2.816121	2.10	0.036	1.101239 15.68394

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Figuras.

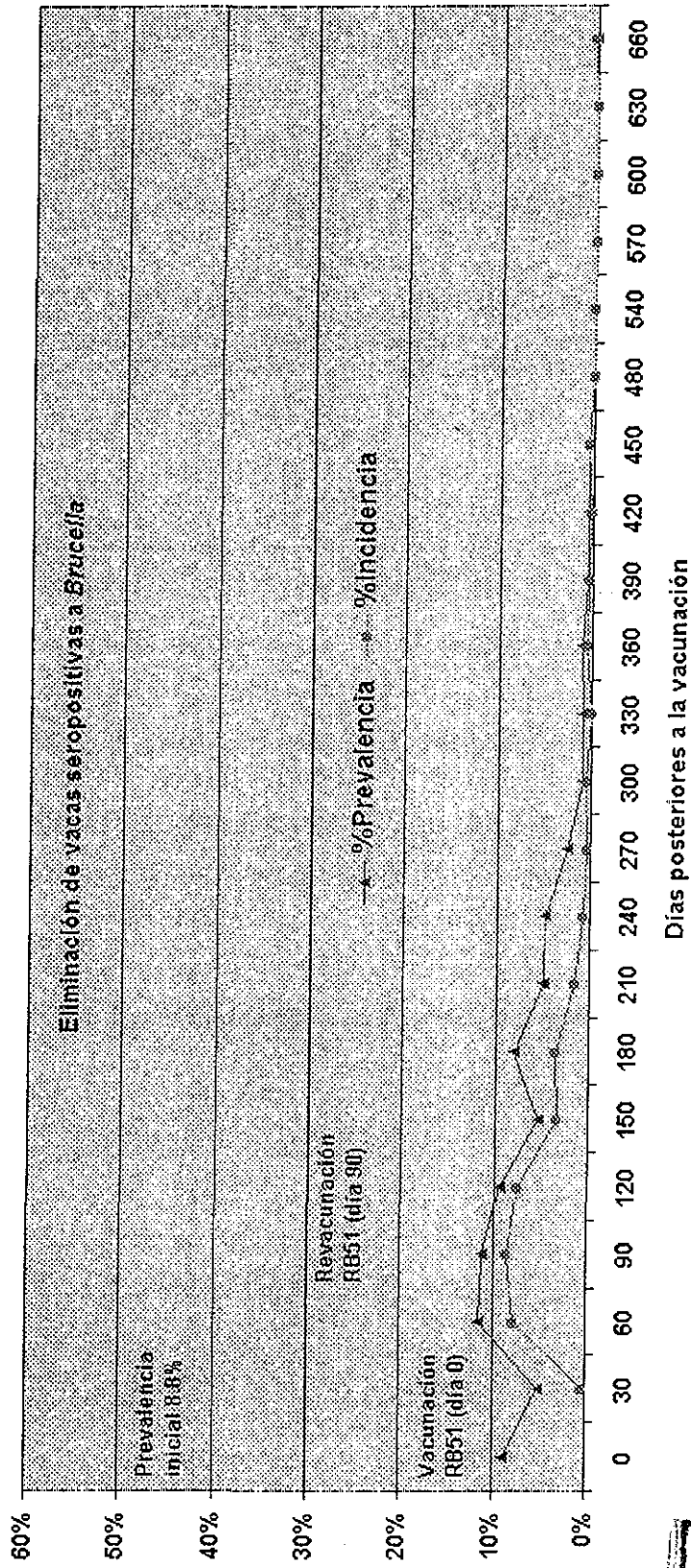


Figura 1. Prevalencia e incidencia mensual del hato bovino con baja prevalencia de brucelosis, posterior a la vacunación con *B. abortus* RB51

TESIS CON
FOLIA DE ORIGEN

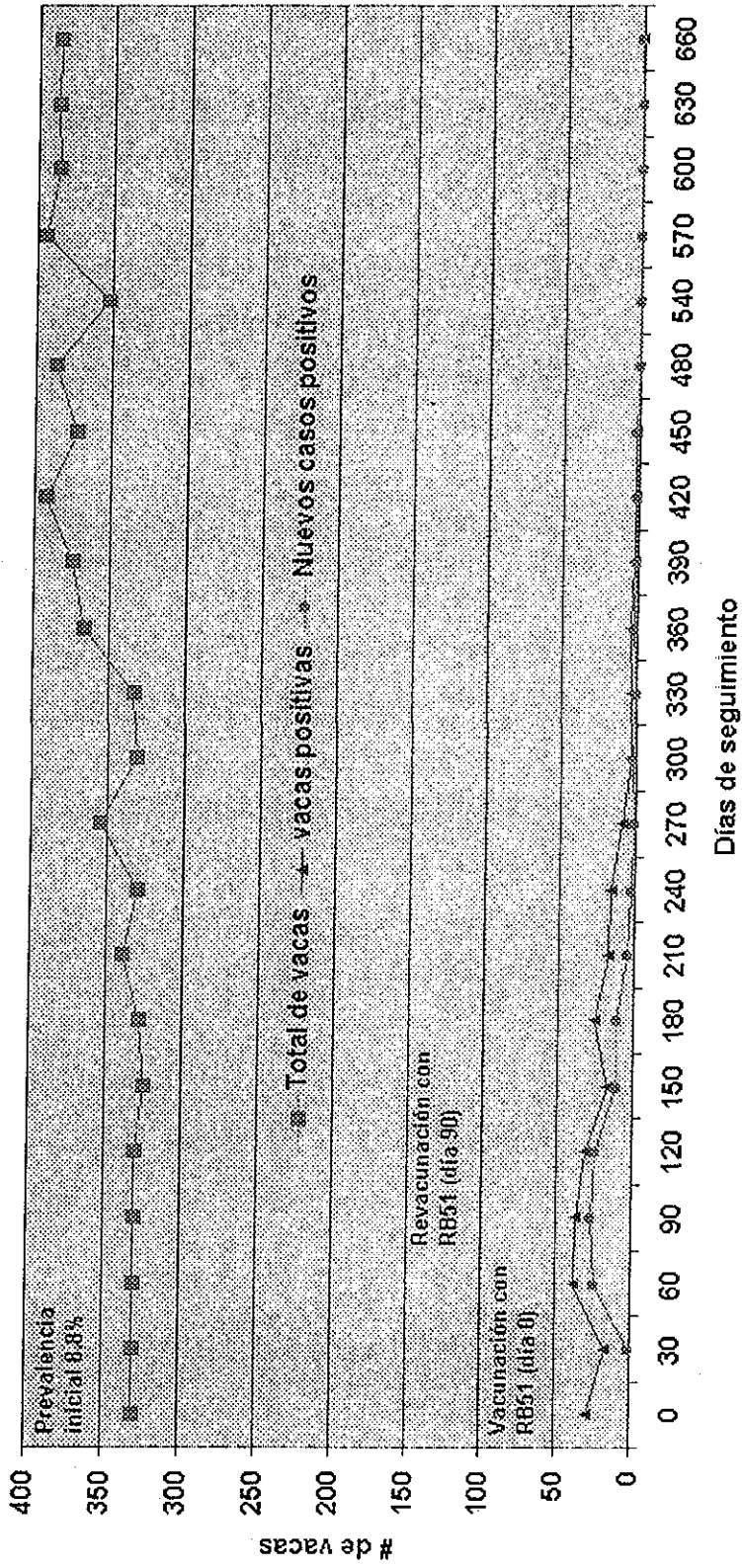


Figura 2. Comportamiento de la Vacunación con RB51 en un Hato Bovino Lechero con Baja Prevalencia de *Brucella*, en Tizayuca, Hgo.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

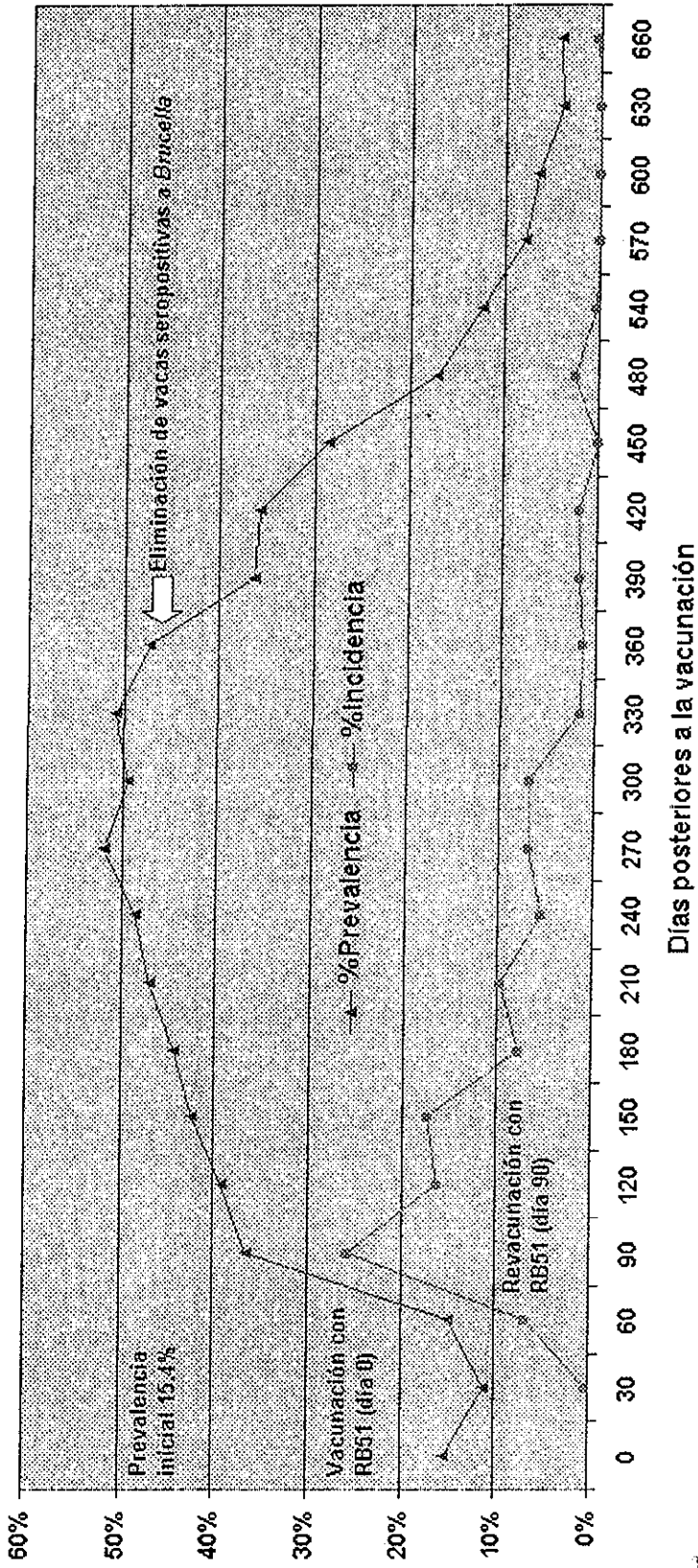


Figura 3. Prevalencia e incidencia mensual del hato bovino con alta prevalencia de brucelosis, posterior a la vacunación con *B. abortus* RB51

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

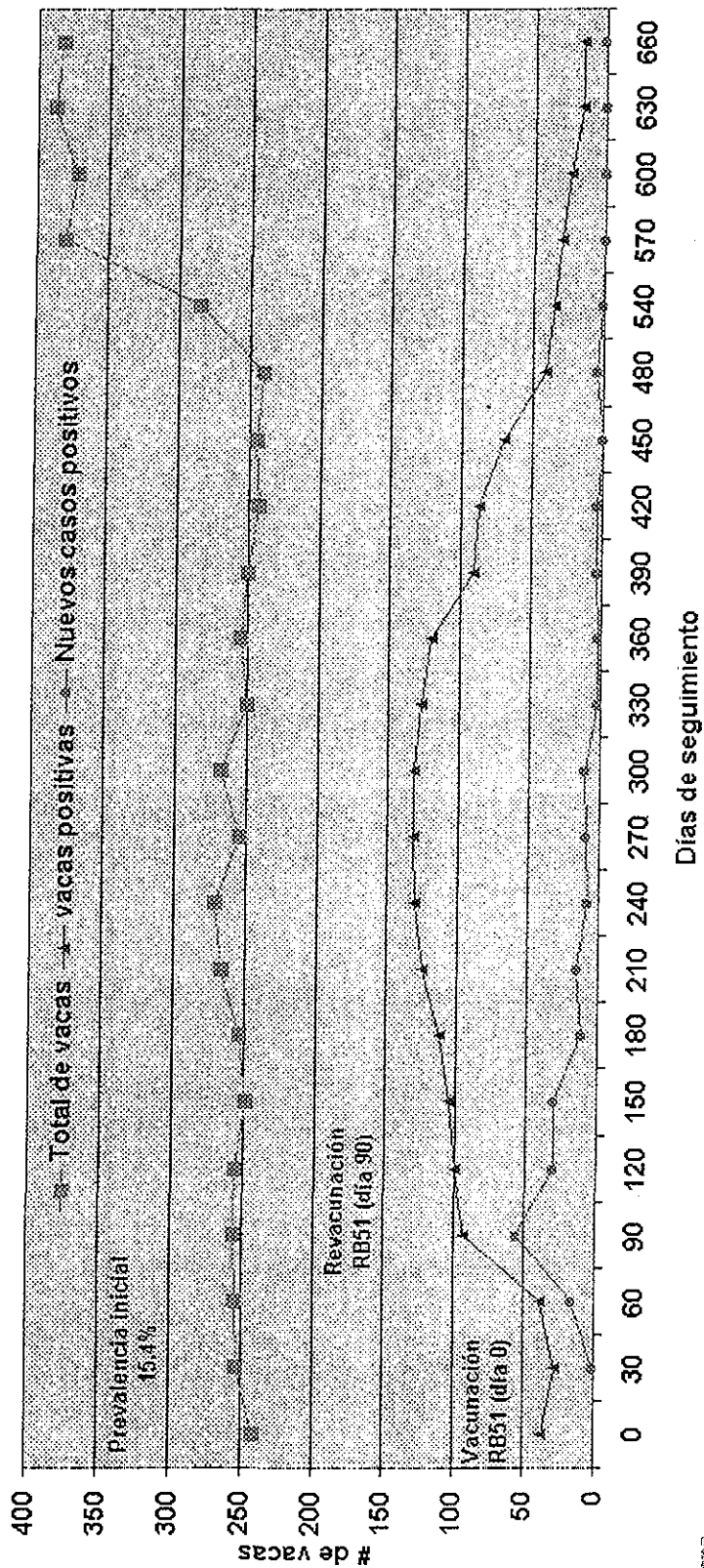


Figura 4. Comportamiento de la Vacunación con RB51 en un Hato Bovino Lechero con Alta Prevalencia de *Brucella*, en Tizayuca, Hgo.

TESIS CON FALLA DE ORIGEN

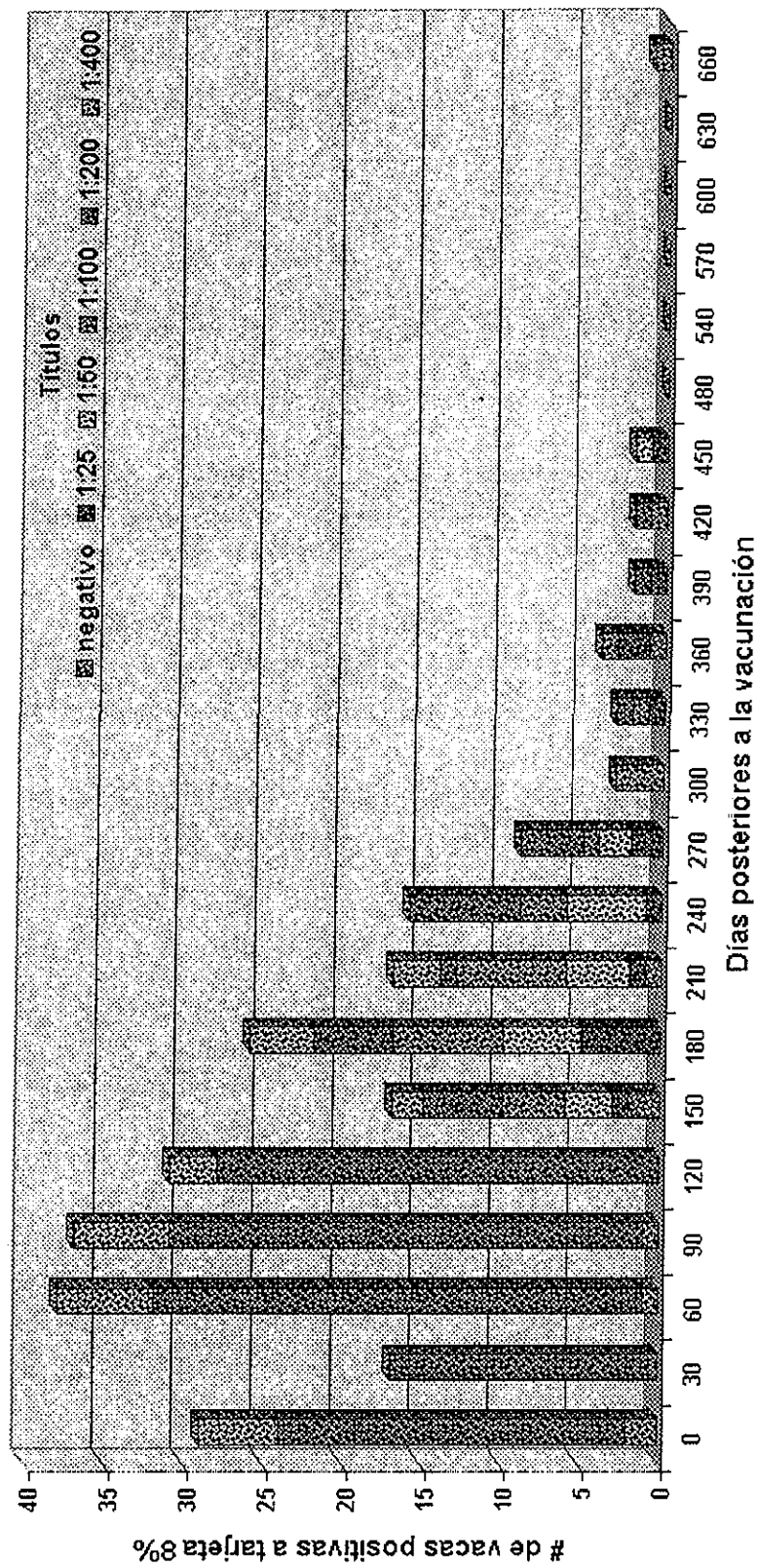


Figura 5. Resultados del diagnóstico de la prueba de rivanol de los sueros positivos a tarjeta 8% del hato de baja prevalencia a brucelosis

TESIS CON FALLA DE ORIGEN

ESTA TESIS NO SALE DE LA BIBLIOTECA

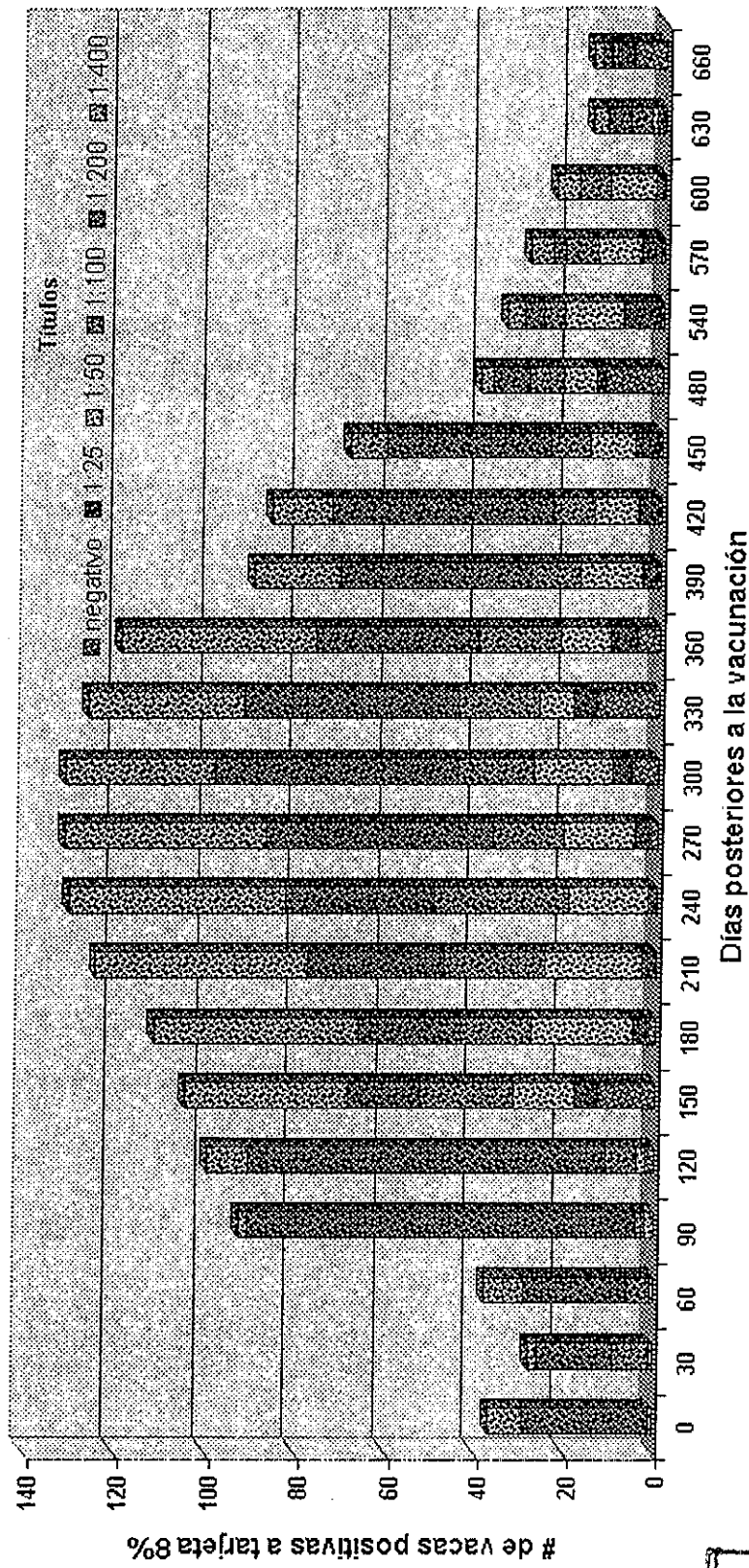


Figura 6. Resultado del diagnóstico de la prueba de rivanol de los sueros positivos a tarjeta 8% en el hato de alta prevalencia a brucelosis

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

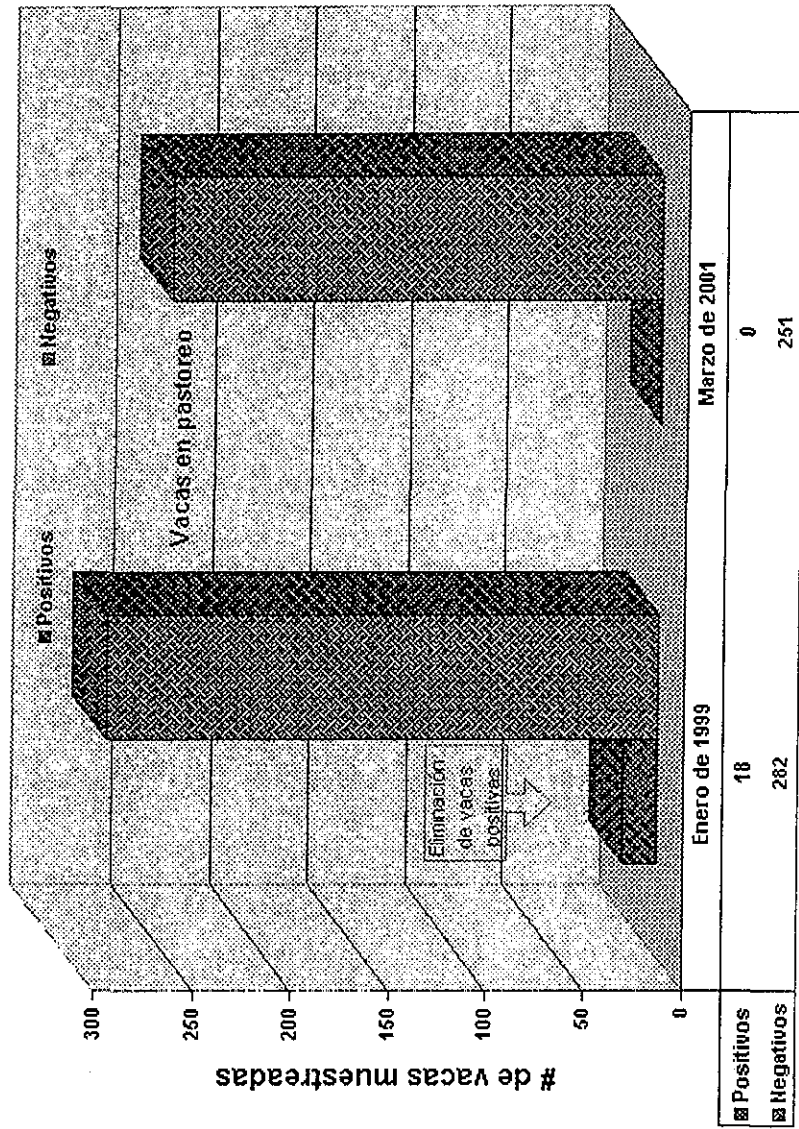


Figura 7. Rancho "A", Manuel, Tamaulipas.
 Vacunación con RB51 en Enero de 1999, prevalencia inicial 6%.
 Muestreo en Marzo de 2001, 0% de vacas positivas a tarjeta.

TESIS CON
 FALLA DE ORIGEN

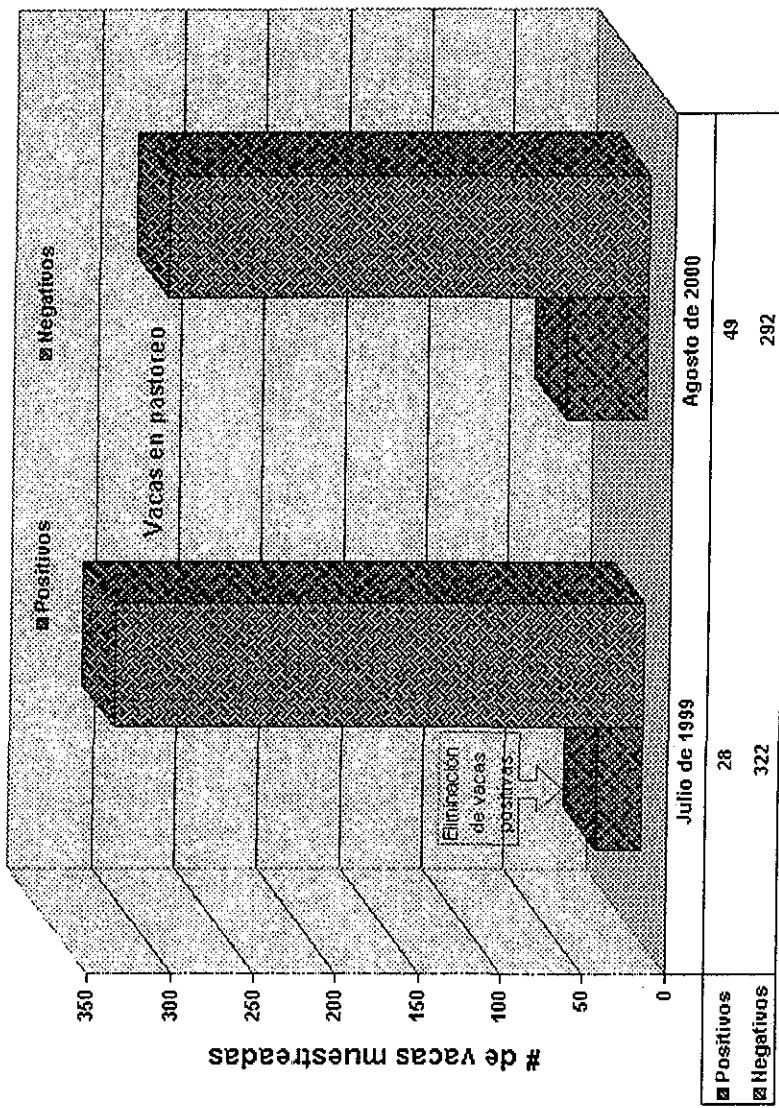


Figura 8. Rancho "B", Altamira, Tamaulipas. Vacunación con RB51 en Agosto de 1999, prevalencia inicial 8%. Muestreo en Agosto de 2000, 14% positivos a tarjeta y rivanol.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

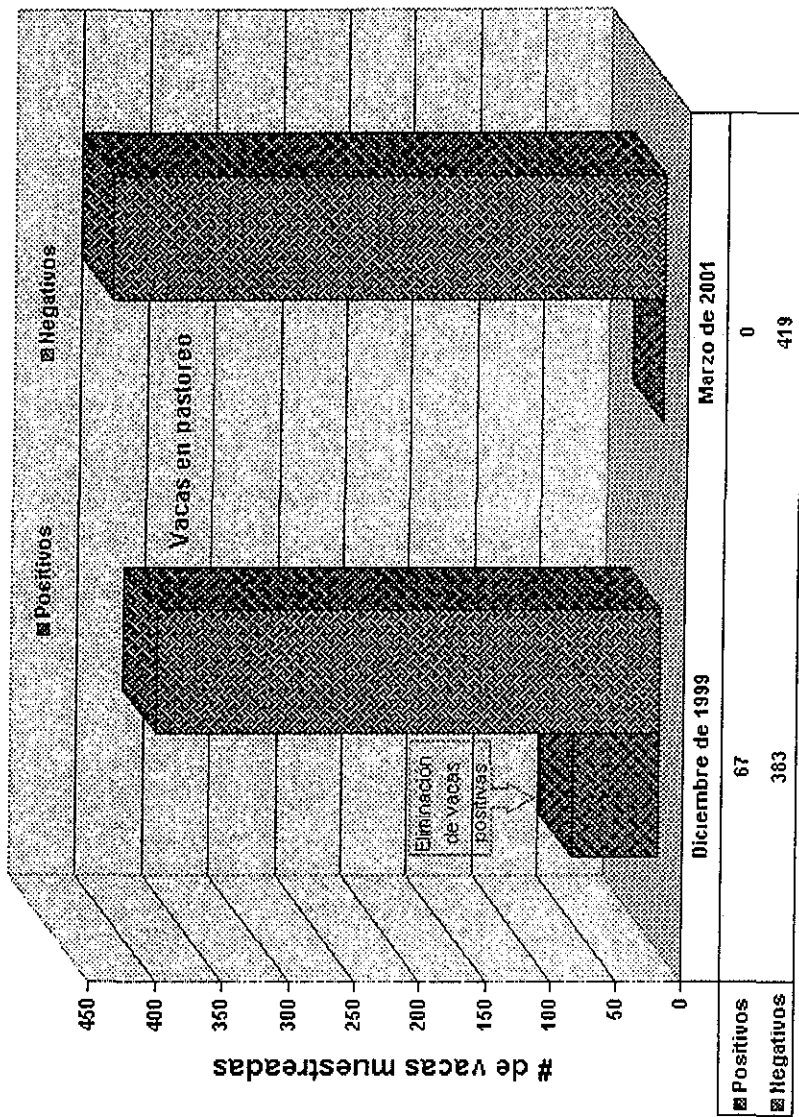


Figura 9. Rancho "C", Soto La Marina, Tamaulipas.
 Vacunación con RB51 en Diciembre de 1999, prevalencia inicial 15%.
 Muestreo en Marzo de 2001, 0% de vacas positivas a tarjeta.

TESIS CON
 FALLA DE ORIGEN

Anexo 1.

Proyecto de investigación: brucelosis en bovinos

Cédula de información individual para determinar factores de riesgo.

Nombre del propietario o estable

Dirección

Fecha

1 Número de identificación o nombre

2 Condición corporal 1 2 2.5 3 3.5 4 4.5 5

3 Edad del animal.

1-2 años 2-4 años 4-6 años más de seis años

4 Número de partos

primer parto segundo parto tercer parto más de 4 partos no sabe

5 Estado actual de la vaca

recién parida en producción seca vacía

6 Se encuentra gestante

sí no no sabe

7 Ha tenido abortos

sí no no sabe

Si la respuesta es NO pase a la pregunta No. 12.

8 En que etapa aborto la vaca

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

En producción Seca Vaquilla

9. Qué tamaño presentaba el producto abortado

Pequeño menor de 50cm Mediano sin pelo Grande sin pelo

10. Qué aspecto presentaba el producto abortado

Amarillo pálido Café oscuro Momificado Normal

11. A qué edad aborto

dos años 3-4 años 5-6 años más de seis años

12. La vaca cuando se encuentra en celo es cubierta por

Inseminación artificial Monta directa Ambos

13. La vaca es criada en el establo o comprada

Criada Comprada

14. Lleva control de registro individual reproductivo

Sí No

15. Lleva control de registro individual productivo

Sí No

Anexo 2.

Variables independientes del cuestionario de factores de riesgo de los establos de Tizayuca Hgo.

B- STATUS

- 1 vaca positiva a *Brucella*
- 2 vaca negativa a *Brucella*

C- TIPO

- 1 vaca
- 2 becerra

D- ORIGEN

- 1 criado
- 2 comprado

E- BRUCE (prueba de diagnostico a *Brucella*)

- 1 si
- 2 no

F- POSIBRU (reactores positivos en el diagnostico serológico)

- 1 se queda en el hato
- 2 se desecha al rastro

G- SEPBRU (separa los animales positivos en corrales especificos para ellos de los negativos)

- 1 si
- 2 no

H- C C (condición corporal)

- 1-)2 5 2-)3 0 3-)3.5 4-)4 0 5-)4 5 6-)5 0

I- PARTOS

- 1-) 1parto 2-) 2partos 3-) 3partos 4-) más de 4 partos 5-) ningún parto

J- IG (tiempo de gestación en meses)

- 1 a 9 meses de gestación
- 99 vaca no gestante

K- ANTEABO (antecedentes de abortos)

- 1 si
- 2 no

M- ELIABO (eliminación del producto abortado y placenta)

- 1 se deposita el producto y la placenta en el estiercol
- 2 se entierra el producto y la placenta
- 3 se lo comen los perros

N- TIGESABO (tiempo de gestación del aborto)

- 1 1/3 gestación
- 2 2/3 gestación
- 3 3/3 de la gestación

O- ETAPROABO (etapa de producción en que aborto la vaca)

- 1 lactación
- 2 periodo seco
- 3 becerras

P- ASABO (aspecto del aborto)

- 1 momificado
- 2 normal
- 3 café oscuro
- 4 no sabe

Q- CELO (de que forma se da servicio a las vacas en celo)

- 1 inseminación artificial
- 2 monta natural

R- LUPARTO (lugar donde se realiza el parto)

- 1 corral
- 2 paridero

S- DESLUPAR (desinfecta el lugar del parto o aborto)

- 1 si
- 2 no

T- VIVE (convivencia con otras especies domesticas en las instalaciones)

- 1 cerdos
- 2 perros
- 3 ovinos
- 4 caprinos

U- CRR (control de registros reproductivos)

- 1 si
- 2 no

V- CRP (control de registros productivos)

- 1 si
- 2 no

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Anexo 3.

Significado de las variables

- 1 **Número de identificación.** Es el número de arete individual de cada bovino por lote
- 2 **Status** (positivo o negativo a *Brucella*)
- 3 **Tipo** (Etapa fisiológica que presentan los bovinos en el estudio)
 - Vaca: bovino adulto con más de un parto y que se encuentra en diferente etapa reproductiva
 - Vaquilla: bovino que presenta su primera gestación y su edad fluctua entre 15 y 18 meses
- 4 **Tiempo de gestación** Bovino gestante en diferente etapa reproductiva
- 5 **Aborto** (Producto que no llegó al término de la gestación)
- 6 **Origen** (Los bovinos son criados, comprados o ambos)
 - Bovinos criados: son los bovinos criados en el establo
 - Bovinos comprados: son los bovinos en diferente etapa reproductiva, que no fueron criados en el hato y que ingresaron sin conocer su procedencia

Etapa reproductiva

- Vaca seca: bovino que presenta una gestación promedio de siete meses y que se encuentra en el periodo seco de 50 a 70 días antes del parto y sin producción láctea
- Vaca gestante en producción: bovino que se encuentra en cualquier etapa de lactación y se encuentra gestante
- Vaca vacía en producción: bovino que se encuentra en cualquier etapa de lactación y no se encuentra gestante