



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES  
"CUAUTITLAN"**

**"ESTUDIO SEROLOGICO COMPARATIVO ENTRE BECERRAS  
DE MAS DE 6 MESES DE EDAD, VACUNADAS CON  
BRUCELLA ABORTUS CEPA 19 CON DOSIS REDUCIDA  
Y BECERRAS ENTRE EDADES DE 3 A 6 MESES  
CON DOSIS NORMAL"**

**T E S I S**  
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE  
**MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA**

**P R E S E N T A**

**MARIA DEL REFUGIO MARMOLEJO SANDOVAL**

**A S E S O R**

**M. V. Z. JUAN RAMON CONTRERAS PEREZ**

**CUAUTITLAN IZCALLI, EDO. DE MEXICO**

**1 9 8 5**

**U. N. A. M.  
FACULTAD DE ESTUDIOS  
SUPERIORES-CUAUTITLAN**



**SECCION DE EXAMENES  
PROFESIONALES Y DE GRADO**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



## **UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso**

### **DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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

## CONTENIDO

	<b>Págs.</b>
<b>I RESUMEN</b>	<b>1</b>
<b>II INTRODUCCION</b>	<b>2</b>
1. Definición de la Enfermedad.	5
2. Antecedentes Históricos.	6
3. Importancia Económica.	9
4. Importancia de la Vacunación.	10
a) La Vacunación en Bovinos Adultos, con Dosis Reducida de <u>Brucella Abortus</u> Cepa 19.	12
5. Importancia en Salud Pública.	15
6. Características del Agente Etiológico.	17
7. Especies Susceptibles.	18
8. Epidemiología y Patogénesis.	19
a) Ganado Vacuno.	19
b) El Hombre.	21

	<b>Págs.</b>
<b>9. Importancia del Diagnóstico Serológico.</b>	<b>24</b>
<b>a) Pruebas Rutinarias.</b>	<b>26</b>
● <b>Aglutinación Rápida en Placa.</b>	<b>26</b>
● <b>Aglutinación en Tubo.</b>	<b>27</b>
<b>b) Pruebas Complementarias.</b>	<b>27</b>
● <b>Aglutinación con 2-Mercaptoetanol.</b>	<b>28</b>
● <b>Prueba de Rivanol.</b>	<b>28</b>
● <b>Prueba de Tarjeta.</b>	<b>29</b>
● <b>Prueba de Fijación de Complemento.</b>	<b>29</b>
<b>c) Técnicas de Reciente Desarrollo.</b>	<b>30</b>
● <b>Prueba de ELISA-ELA.</b>	<b>30</b>
● <b>Prueba de Hemólisis Indirecta.</b>	<b>30</b>
● <b>Prueba de Inmunodifusión Radial con Antígeno -             Polisacáridos B.</b>	<b>31</b>
<b>10. Mecanismo de Inmunidad.</b>	<b>31</b>
<b>III OBJETIVOS</b>	<b>35</b>
<b>IV MATERIAL Y METODOS</b>	<b>36</b>
<b>V RESULTADOS</b>	<b>43</b>

	<b>Págs.</b>
<b>VI DISCUSION</b>	46
<b>VII CONCLUSION</b>	48
<b>VIII RECOMENDACIONES</b>	49
<b>IX REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS</b>	50

## **I RESUMEN**

Fueron vacunadas dieciocho becerras Friesan Holstein con Cepa 19 de Br. abortus. Doce de ellas de más de 6 meses de edad a 1 año, con dosis reducida ( $3 \times 10^9$ ) en el Lote de Prueba; y seis de 3 a 6 meses de edad con dosis completa ( $5 \times 10^9$ ) en el Lote Testigo.

Se realizó un estudio serológico mediante la prueba de Aglutinación Rápida en Placa, a los 18 días y posteriormente cada 14 días hasta los 6 meses y medio pos-vacunales. Para la verificación de los resultados se aplicó a todos los sueros, en los dos últimos muestreos, la Prueba de Fijación de Complemento.

Los resultados obtenidos mediante las dos pruebas serológicas indicaron la gran utilidad de la vacunación con dosis reducida; ya que en el Lote de Prueba se observó reducción de títulos de anticuerpos a partir de los 84 días pos-vacunales, los cuales tienden a desaparecer.

## II INTRODUCCION

La brucelosis es una enfermedad ampliamente distribuída en todo el mundo. Algunos países están libres de ella, ya sea porque han tomado medidas preventivas para evitar su entrada o porque han logrado erradicarla.

Uno de los principales problemas que ofrece la eliminación de esta infección en especies domésticas, es la dificultad de establecer un diagnóstico oportuno y adecuado en animales recientemente infectados.

Por otra parte, debido al carácter sumamente infeccioso de la brucelosis y pese a las más rigurosas precauciones de higiene, a veces resulta difícil detener por completo la propagación de bacterias; pues se ha demostrado ampliamente que numerosas especies de animales silvestres son susceptibles a la infección por diferentes microorganismos del género Brucella, lo que abre la posibilidad de que algunos de ellos funcionen como focos para infectar nuevos hatos de animales domésticos susceptibles.

Los métodos de control, en las enfermedades de los animales se basan por lo general en dos principios :  
1) la aplicación de medidas adecuadas de higiene como factor fundamental, y 2) la aplicación de la vacunación des

tinada a aumentar la resistencia de los animales.

En México existe una institución federal encargada de vigilar esta zoonosis, denominada "Campaña Nacional para el Control de la Brucelosis" (CNB), con ésta colaboran la Subdirección de Epizootiología y el Departamento de Divulgación que dependen de la Dirección General de Sanidad Animal (SARH); también colaboran el Instituto Nacional de Investigaciones Pecuarias y la Productora Nacional de Biológicos Veterinarios.

Dentro del plan de trabajo de la CNB, se ofrecen tres opciones al ganadero :

- 1) Identificación permanente de todos los animales del hato, sacrificio inmediato del ganado reactor, establecimiento de un programa de vacunación de becerras de 3 a 6 meses de edad como máximo y cumplir con las pruebas periódicas de diagnóstico.
- 2) Identificación permanente de todos los animales del hato, retención temporal del ganado reactor por un período no mayor de 3 años, manteniendo al ganado reactor aislado de los animales libres de la enfermedad, estableciendo un programa de vacunación de becerras de 3 a 6 meses de edad como máximo y cumplir con la prueba periódica de diagnóstico.

- 3) Y establecimiento de un programa de vacunación de todas las beceras de 3 a 6 meses de edad como máximo, sin previa prueba de diagnóstico del resto del hato, e identificación permanente de todos los animales vacunados (Dirección de Sanidad Animal; México, 1975).

Como en México no se indemniza al ganadero que elimina a los animales brucelosos, es difícil convencerlos de eliminar a los reactores positivos, con lo que se retrasará la erradicación de la enfermedad. Y en ninguno de los planes anteriores se contempla la vacunación en ganado adulto, por lo que los animales libres de la infección quedan expuestos a ésta si no han sido vacunados entre los 3 y 6 meses de edad, o bien en los casos en que la inmunidad producida por la vacunación no es permanente. Además de que en beceras vacunadas a la edad indicada la protección es de apenas 60 a 70% (Nicoletti, P., 1978a; Zemjanis, R., 1974). Por lo que se hace necesario tomar medidas que ayuden a la erradicación de la enfermedad en nuestro país, sugiriendo como posible solución la vacunación en animales adultos no reactores, considerando los estudios que se han llevado a cabo en los Estados Unidos de Norteamérica, en donde los resultados obtenidos indican una disminución considerable en la incidencia de la infección del ganado adulto (Nicoletti, P., 1981a).

## **I. Definición de la Enfermedad**

La brucelosis es una enfermedad infectocontagiosa, de curso crónico, cuyo agente causal es una bacteria perteneciente al género Brucella. Son agentes parasitarios tanto en los animales como en el hombre, siendo característica su localización intracelular (Jawetz et al, 1979). Todas las brucelas son capaces de originar procesos agudos y crónicos, así como también una infección inaparente. La cronicidad depende de su capacidad para multiplicarse en el interior de las células fagocíticas, en las que actúan como un sistema de inmunosupresión.

En el hombre la enfermedad llamada Fiebre de Malta o Fiebre Ondulante, se caracteriza por una fase septicémica aguda, seguida por un estadio crónico que puede prolongarse muchos años. En los reservorios animales domésticos y silvestres, las brucelas muestran gran tendencia a localizarse en el útero grávido dando lugar a abortos, así como en la glándula mamaria.

El género Brucella comprende seis especies patógenas para los animales y el hombre Br. abortus, Br. melitensis, Br. suis, Br. ovis, Br. canis, Br. neotomae (Buxton et al, 1977; FAO/OMS, 1976).

## 2. Antecedentes Históricos

Las brucelas fueron aisladas por primera vez en 1887, por D. Bruce a partir de bazo de humanos afectados. Pero fue hasta 1896 en que B. Bang estableció la etiología del aborto infeccioso del ganado vacuno, al aislar una pequeña bacteria Gram-negativa la cual fue designada Bacillus abortus. El tercer microorganismo de este grupo fue cultivado en 1914 en EUA por J. Traum, a partir de un feto de una hembra de cerdo. En 1953, 1957 y 1966 fueron descubiertas otras especies de brucelas (Sutherland, S.S. 1981; Piatkin et al, 1981).

A partir de que se estableció el aborto infeccioso del ganado vacuno por Bang en 1896, se han incrementado las investigaciones de la inmunización contra esta enfermedad, por parte de veterinarios e investigadores calificados; y con sus estudios y observaciones en animales vacunados y no vacunados, se han sentado los fundamentos para los métodos de vacunación hoy en uso.

### - Vacunas Vivas.

Los primeros intentos para elaborar una vacuna utilizable fueron realizados por Bang en los años de 1903 hasta 1907; siendo ésto una práctica segura en ovejas y ca

bras, no así en vacas. Las vacunas muertas sólo se utilizaban en forma aislada, mientras que, cada vez se tendía más a la aplicación de cultivos vivos. Estas vacunas se preparaban con cultivos virulentos; este método no tuvo aceptación pues originaba la infección en animales sanos. Si bien hasta entonces se habían utilizado cepas virulentas, hacia el final de los años veinte, se iniciaron experimentos con cultivos atenuados. Se trataba de encontrar cepas que junto con su inocuidad mostraran una buena capacidad inmunológica.

Buck (1915) aisló en EUA, a partir de leche, una cepa lisa poco virulenta, la cual recibió la designación de Buck 19 o B<sub>19</sub>. Estuvo sometida a partir de 1930 a estudios experimentales y aplicaciones masivas en la práctica, en comparación con otros tipos; hasta que fue adoptada como cepa vacunal. Desde el punto de vista de su inocuidad y efectividad es considerada como la más manejable de todas las utilizables hasta la fecha (Fechner et al, 1966; Nicoletti, P., 1978a).

- Vacunas Muertas.

Bang (1907) había preparado vacunas a base del cultivo de brucelas muertas en toluol en cabras, ovejas y novillas comprobándose que no eran capaces de inmunizar en

la misma forma que los cultivos vivos que él empleaba (Sutherland, S.S. 1981).

Traub (1948) se apoyó en sus experiencias en la vacuna de "del mal rojo" y preparó cultivos brucelares de crecimiento intenso, a los que mataba con formalina, con lo que se conseguía originar un claro título de anticuerpos en novillas. Este autor pudo comprobar que tenía particular importancia la utilización de cepas con estructura antigénica adecuada, así como sólo podían emplearse cultivos en la fase lisa (Fechner et al, 1966).

La vacuna antibrucella no-aglutinógena Cepa 45/20 coadyuvante, es una suspensión de gérmenes muertos con un adyuvante de tipo agua en aceite. Se considera satisfactoria la protección que presta a vacas durante la primera gestación que sigue a la vacunación, las cuales han sido sometidas a una inoculación de prueba a  $15 \times 10^6$  gérmenes virulentos de Br. abortus Cepa 544. No obstante a causa de la duración incierta en la protección conferida en los bovinos, se recomienda la revacunación anual del animal (Roerink, G. 1966; Chung, et al, 1980).

La vacuna Pilet-Bormean se prepara con gérmenes muertos de Br. abortus Cepa 19, con suero antibrucella de forma que se sature la totalidad de los lugares intigénicos

cos de superficie (García, Ch., 1981).

**3. Importancia Económica**

Debido a que la brucelosis es una enfermedad que tiende a la cronicidad, nos encontramos que la mayoría de los ganaderos no le dan la importancia económica que se merece, ya que están acostumbrados a convivir con ella; sin embargo son evidentes las graves pérdidas en los hatos en que esta enfermedad se introduce por primera vez.

En vista de que la enfermedad no ha podido ser controlada, las pérdidas globales anuales registradas por la Dirección General de Sanidad Animal, son de aproximadamente mil millones de pesos. Si a ésto le sumamos que nuestro país es uno de los de más alta tasa de crecimiento poblacional, tendremos una visión más real del problema alimenticio.

Algunos investigadores han clasificado las pérdidas que causa la brucelosis de la siguiente manera :

- Pérdidas directas aparentes :

Pérdida del becerro ocasionada por el aborto 15%

problemas reproductivos (retención placentaria, esterilidad temporal o permanente), disminución de la producción láctea en un 20% causada por el aborto o efecto indirecto de la infertilidad, incremento de las crías muertas de los animales de reemplazo en los hatos infectados.

- Pérdidas directas no aparentes :

Reducción del valor comercial del ganado infectado, retardo en el crecimiento, decremento en el peso, rompimiento o pérdida de las líneas genéticas en los hatos infectados.

- Pérdidas indirectas consecutivas :

Repercuten sobre la salud humana, ausentismo, gastos médicos, disminución de la capacidad laboral y hasta mortalidad (FAO/CMS, 1975; García, L. 1979).

#### 4. Importancia de la Vacunación

El control de las enfermedades en los animales debe realizarse con dos objetivos fundamentales; obtener mayor eficiencia en la producción de alimentos de origen

animal y prevenir las enfermedades transmisibles al hombre. Los métodos de control se basan por lo general en la aplicación de uno o más puntos que se mencionan a continuación: vacunación, eliminación de los animales enfermos y la aplicación de prácticas de manejo orientadas a reducir los riesgos de infección (Nicoletti, P., 1978a).

Desde hace tiempo se han venido elaborando diferentes vacunas viables para prevenir la brucelosis, en la actualidad los métodos de inmunización recomendados con mayor frecuencia son : la vacuna Cepa 19 y la bacterina 45/20 de Br. abortus.

La Cepa 19 es ahora usada extensivamente como vacuna viva, pues se ha comprobado que es una cepa estable y no revierte a la virulencia. Se ha confirmado que la aplicación intradérmica de 0.2 ml. (1/25 de la dosis normal) dan buena protección; comparables a los producidos con la dosis completa (5.0 ml.) de la Cepa 19. Así como la mínima dosis de protección, vía subcutánea, en becerras de 3 a 6 meses de edad es de 0.04 ml. de la dosis. Se debe tomar en cuenta que la vacunación en machos no es recomendable debido a que se corre el riesgo de producir la persistencia de anticuerpos residuales, o a la presencia de la infección clínica. A pesar de ello es ampliamente aceptado el hecho de que la vacunación reduce la incidencia de la

enfermedad dentro de los hatos; sin importar los métodos de vacunación usados (Brinley, W., 1978; Davis et al, 1980; Zúñiga, J., 1980).

a) La Vacunación en Bovinos Adultos, con Dosis Reducida de Brucella Abortus Cepa 19.

En cuanto a vacunar animales adultos y terneras, existen ventajas y desventajas :

Vacunación de Animales Adultos

- Inmunidad rápida del hato.
- Relativamente barata.
- Mayores problemas de diagnóstico pos-vacunal.
- Posibles problemas de aborto pos-vacunal.
- Posibles efectos fisiológicos (baja en la lactación y consumo de alimento).
- Puede causar reacciones temporalmente positivas en la prueba de anillo en leche.

Vacunación de Terneras

- Inmunidad lenta del hato.
- Relativamente cara.
- Un mínimo de problemas de diagnóstico pos-vacunal.
- La inmunización no induce al aborto.
- Los efectos fisiológicos son mínimos.
- No interfiere con la prueba de anillo en leche.

De tal manera que tomando en cuenta que existen diferentes ventajas con la vacunación de todo el hato en un

mismo día, se hace necesario una conciente elección del producto y método a emplear. Sin embargo es evidente que en hatos con numerosos animales, donde la prevalencia de la infección es alta, sería recomendable vacunar adultos; previa identificación y eliminación de los reactores positivos (Nicoletti, P., 1978a).

En 1975 se iniciaron estudios en Florida para determinar si vacunando bovinos adultos con Cepa 19 de Br. abortus y evaluando diferentes vías de aplicación y diferentes dosis resultaban útiles para eliminar la brucelosis en hatos seleccionados. Los efectos de la vacunación fueron evaluados por cinco métodos serológicos, además se hicieron estudios bacteriológicos. Las observaciones estaban dirigidas a establecer si había persistencia de Cepa 19, posibles pérdidas en la producción de leche, así como problemas abortivos. Los resultados revelaron una gran reducción en los porcentajes de infección de los hatos, independientemente de la dosis vacunal o vía de vacunación empleada.

Se observó que en menos del 1% de los animales vacunados se presentaron abortos o infecciones persistentes en ubres, a consecuencia de la vacunación. Así mismo se observó que los problemas de interferencia en el diagnóstico, disminuyeron mediante el uso de dosis reducida y de

la aplicación de pruebas complementarias. Además revelaron que no es recomendable vacunar al final de la lactación ya que hay menos protección y ésta es menos efectiva (Nicoletti, P., 1976). Las investigaciones posteriores trataron de evaluar más profundamente la experiencia anterior.

Los estudios de Nicoletti (1978b), comparando la vía subcutánea y conjuntival con dosis estandar y reducida además probando los bovinos por serología y bacteriología, revelaron su confiabilidad pero deberán hacerse evaluaciones bajo condiciones de campo.

En el estudio realizado por Alton, Corner y Plackett (1980), fueron usados dos niveles de dosis reducida de vacuna Cepa 19 y evaluaron la respuesta serológica después de la vacunación y la resistencia del ganado a la exposición con Br. abortus virulenta. Y de acuerdo a los resultados obtenidos se llegó a la conclusión de que las vacas gestantes pueden ser efectivamente vacunadas por vía subcutánea con una dosis de Cepa 19 conteniendo aproximadamente  $3 \times 10^8$  organismos, sin que ésto interfiera con las subsecuentes pruebas serológicas como resultado de la persistencia de Cepa 19 o infección.

Otro trabajo de investigación similar se realizó

en México por Flores Castro (1980), en el cual se evaluaron diferentes aspectos de inmunización en ciento sesenta y nueve vacas adultas con dosis reducida de Br. abortus Cepa 19 ( $3 \times 10^9$  bacterias vivas). Siendo los resultados similares, la vacuna no produjo aborto en hembras gestantes, el mayor nivel de anticuerpos se dió entre los 15 y 20 días pos-vacunales y a partir del segundo mes se notó una reducción de títulos de anticuerpos, los cuales tienden a desaparecer.

### 5. Importancia en Salud Pública

La brucelosis plantea en todo el mundo un doble problema : sanitario y económico. Desde el punto de vista de Salud Pública, la brucelosis, que puede ser transmitida directa o indirectamente del animal al hombre; debe considerarse no sólo como causa de la enfermedad, sino de problemas de incapacidad para el trabajo y reducción del rendimiento. Así como factores nocivos para la producción de alimentos, sobre todo de proteínas animales.

Como no se transmite habitualmente de un ser humano a otro, la profilaxis en el hombre se reduce a la lucha y eliminación de la enfermedad en los animales.

Los gérmenes se transmiten al hombre por ingestión, contacto (piel intacta o lesionada), inhalación o inoculación accidental. Penetran por la piel y las mucosas, entre ellas la conjuntiva. Una fuerte proporción de casos en el hombre se debe al contacto con materias infectadas como : secreciones vaginales, canales o animales descuartizados. La infección por contacto es especialmente frecuente entre veterinarios, agricultores, personal de mataderos y fábricas de embutidos o todo aquel que se ocupe de los animales, así como el personal de laboratorio. La transmisión por ingestión en el hombre y su prevalencia dependen de los hábitos alimenticios, de los métodos de tratamiento de la leche, la fabricación de la nata, mantequilla y quesos. Así como también de las costumbres sociales, métodos de cría de los animales, las condiciones climatológicas y del grado de higiene personal y del saneamiento del medio ambiente. En verano, una menor higiene personal debida a posibles restricciones de agua, aumenta las posibilidades de que se transmita la infección al hombre.

La infección por inoculación accidental no es rara entre veterinarios y personal de laboratorio, como también a aquellos que participan en la producción en masa de las vacunas anti-Brucella están particularmente expuestos a la infección y a las reacciones de sensibilización (FAO/OMS, 1976).

## 6. Características del Agente Etiológico

Los miembros del género Brucella son organismos pequeños, cocobacilares, los cuales muestran variaciones en su tamaño que oscila entre 0.6 y 1.5 micras de largo y cerca de 0.5 y 0.7 micras de grosor. Son gramnegativas, no forman esporas y poseen una cápsula que suele condicionar a variantes lisas y mucoides. En los tejidos, los organismos frecuentemente se encuentran agrupados o solos, y en el laboratorio generalmente se desarrollan como cortas cadenas. Estos organismos son aerobios estrictos aunque, cultivos primarios de Br. abortus y Br. ovis, crecen particularmente pobres y requieren una atmósfera conteniendo 5 - 10% de CO<sub>2</sub>.

Las brucelas se caracterizan por su elevada viabilidad y gran resistencia; sobreviven por largo tiempo a bajas temperaturas en el suelo, orina, heces fecales de animales, estiércol, polvo del heno viven hasta 5 meses; en el hielo, nieve, mantequilla y requesón hasta 4 meses; en el polvo 30 días y en la carne 20.

Son sensibles a altas temperaturas y sustancias desinfectantes, así como a la luz del sol directa. Bajo la acción del calentamiento hasta 60°C mueren a los 30 min., y en la leche mediante el proceso de pasteurización.

Son sumamente susceptibles al fenol, creolina, formalina, cal, cloramina y otros desinfectantes. Los mejores resultados se obtienen con el empleo de la solución de ácido clorhídrico al 1% en combinación con la solución de cloruro sódico al 8% (Buxton et al, 1977; Piatkin et al, 1981).

### 7. Especies Susceptibles

Una de las características más importantes del género Brucella es su extensa gama de huéspedes, aunque algunos biotipos tengan una variedad muy limitada de huéspedes naturales. Se han señalado casos de infección natural en gran número de especies de vertebrados, mamíferos y aves (FAO/CMS, 1976).

Las especies de animales más frecuentemente afectadas son : ganado menor (cabras y ovejas), ganado vacuno, cerdos. La enfermedad causada por las cepas lisas de Br. abortus, Br. melitensis y Br. suis producen manifestaciones clínicas muy similares, en las diferentes especies de animales afectados. Las tres especies principales de Brucella, son patógenas para una amplia variedad de mamíferos, aunque cada una de ellas tienen un huésped de elección (Buxton et al, 1977; Piatkin et al, 1981).

Esta enfermedad también ocurre en una amplia gama de animales silvestres, los cuales pueden actuar como reservorios, representados en la transmisión de la enfermedad, como : renos, llamas, caballos, camellos, perros ovejeros que comen placentas y fetos abortados; así como diversos roedores (ratas, ratones, hámsteres, conejos, visones, citilos, chigüires) entre otros (Rodríguez, L., 1981, FAO/OMS, 1976).

Esta corriente de investigación, en los animales silvestres, ha ido en aumento los últimos años; del posible e importante papel reservorio que pudieran jugar y por lo tanto diseminar la brucelosis, particularmente a aquellas especies que conviven de alguna forma con animales de importancia económica.

### 3. Epidemiología y Patogénesis

#### - Epidemiología.

##### a) Ganado Vacuno.

Bajo condiciones naturales y experimentales se ha observado que el ganado puede infectarse por varias rutas : particularmente por ingestión, vía conjuntiva, piel (intac

ta o lesionada). Aunque algunos autores mencionan que también puede ocurrir vía vaginal, mediante el uso de semen contaminado, en la inseminación artificial o durante el coito con toros enfermos (Buxton et al, 1977). Y posiblemente infecciones por aerosoles (FAO/OMS, 1976; Rodríguez, 1981).

Se ha demostrado que la infección puede ser transmitida por intermedio de artrópodos hematófagos (insectos, garrapatas y otros ácaros). Siendo en la garrapata que los gérmenes proliferan más tiempo y que conservan su virulencia para los mamíferos. Esta los transmite con sus picaduras o con las secreciones de sus glándulas coxales. Sin embargo, las brucelas se encuentran en una escasa proporción de garrapatas recogidas en un determinado foco, por lo que este mecanismo de transmisión tal vez no desempeñe una función epidemiológica importante (FAO/OMS, 1976).

Un hato libre puede infectarse usualmente, por la introducción de ganado enfermo y subsecuentemente difundir la enfermedad mediante sus secreciones (orina, heces fecales, fetos abortados, placentas, líquido amniótico y descargas vaginales).

Las terneras nacidas de madres infectadas, generalmente tienen al inicio altos títulos serológicos contra

Br. abortus, los cuales provienen de la transferencia calostrada de anticuerpos. Estos títulos caen a nada dentro de las 4 - 6 semanas después de nacer. Sin embargo, se ha aislado Br. abortus de tejidos de terneras nacidas de madres infectadas aún cuando los títulos serológicos habían caído a nada en forma habitual; presentando el cuadro clínico cuando maduran y llegan a estar preñadas. A partir de esas observaciones es probable que la infección de las terneras pueda ocurrir en o antes del nacimiento, permaneciendo como "portador latente", hasta que el animal maduro llegue a la preñez (Morgan et al, 1971; Promett et al, 1973; Sutherland, 1981).

b) El Hombre.

El agente se transmite al hombre por ingestión, contacto, inoculación accidental e inhalación. La infección por ingestión se produce a través del aparato gastrointestinal, o por penetración de las mucosas naso-bucales. Siendo los vehículos de infección más comunes :

- Productos alimenticios no tratados, preparados con leche cruda de animales infectados (quesos frescos, nata, crema y mantequilla).
- Las legumbres crudas contaminada por excrementos de animales infectados.

- Las víceras, la médula espinal y ganglios de canales infectados en los que la Brucella puede permanecer con vida más de 1 mes después del sacrificio.
- El agua de cisternas y pozos que han sido contaminados por excrementos de animales infectados.

Sin embargo, una fuerte proporción de casos de enfermedad en el hombre se debe al contacto con materias infectadas como : secreciones vaginales, restos de abortos, placentas, orina, excrementos animales, canales o animales descuartizados. Penetrando los agentes por la piel intacta o lesionada, así como las mucosas entre ellas la conjuntiva (FAO/OMS, 1976; Moreno, S., 1978).

#### - Patogénesis.

En el punto de penetración cutánea o mucosa, se concentran células polimorfonucleares, que ingieren a los microorganismos los cuales se multiplican en su interior. Las bacterias intracelulares serán transportadas por los linfáticos a los ganglios regionales. A este nivel las bacterias penetran en las células mononucleares y se multiplican en su interior. Algunas de estas células son destruidas liberando bacterias y restos celulares que van a

estimular la activación local de las células mononucleares, así como su proliferación. El resultado de tal enfrentamiento es el que determina si la infección invasora va a ser reprimida o no. En caso de no ser detenida, las bacterias que se encuentran en el interior de las células polimorfonucleares y mononucleares, serán transportadas al torrente sanguíneo.

Posteriormente pueden encontrarse acumulaciones bacterianas en glándulas mamarias y en útero gestante provocando abortos. Las bacterias se concentran en la zona placentofetal, líquido amniótico y el corión. Este viciotropismo se debe a la presencia del Eritritol, el cual constituye un factor de gran importancia en la patogenia del aborto infeccioso. Este alcohol polihídrico tiene la capacidad de estimular el crecimiento de Br abortus, encontrándose en cantidades apreciables tan sólo a nivel de corión, cotiledones y de los líquidos fetales de especies animales predispuestos al aborto infeccioso.

Aunque también se especula con la posible acción de la progesterona en el desarrollo bacteriano, al facilitar su multiplicación en elevadas proporciones (Buxton et al, 1977; Moreno, L., 1978).

## 9. Importancia del Diagnóstico Serológico

Entre las bases generales para el control y prevención de la brucelosis bovina se encuentran la identificación y eliminación de animales infectados, aunado a programas de vacunación. Así que existe una urgente necesidad de contar con una prueba diagnóstica sencilla, sensible y específica; esta necesidad se hace más aguda en zonas donde la prevalencia de la infección es alta y la vacunación de animales adultos es permitida (Nocoletti, P., et al, 1978b).

Existen una serie de problemas involucrados en el diagnóstico de la brucelosis como son : períodos de incubación, existencia de infecciones latentes, reacciones falsas positivas causadas por la vacunación, así como antígenos heteroespecíficos, reacciones falsas negativas y procedimientos complejos de laboratorio (Alton et al, 1975).

Las dificultades técnicas que ofrece el diagnóstico de esta enfermedad, han creado la necesidad de desarrollar investigaciones con el fin de incrementar la eficiencia de las pruebas de laboratorio. En estudios sobre la respuesta inmunitaria del ganado vacuno, se ha establecido ahora, que la respuesta primaria de anticuerpos es de la clase IgM e IgG simultáneamente en becerras vacunadas

con Br. abortus Cepa 19. Donde las IgM se pueden detectar entre los 5 y 7 días pos-vacunales y alcanzan su pico entre los 13 y 21 días. Después su concentración disminuye, pero sin que desaparezcan totalmente durante varios meses. Las IgG se forman simultáneamente o algo más tarde, entre los 14 y 21 días después de la vacunación alcanzando su máxima concentración entre los 28 y 42 días. En el animal vacunado, las IgG declinan rápidamente y desaparecen antes que los anticuerpos IgM (Casas, 1976; FAO/OMS, 1976; Sutherland, 1981).

Pero la secuencia de producción y persistencia de las inmunoglobulinas, en la infección natural por Br. abortus, estimula la aparición simultánea o ligeramente diferida de la IgM e IgG. Pero mientras que las IgM declinan y tienden a desaparecer, las IgG se estabilizan y persisten por largo tiempo. En los casos crónicos de brucelosis animal, la clase principal de inmunoglobulina presente y muchas veces la única es la IgG (Casas, 1976). Por lo que se deberán tomar en cuenta los estudios realizados por Chung et al., (1980); Alton et al., (1980) y Sutherland et al., (1982a). Ya que para un correcto diagnóstico serológico, deberá analizarse la secuencia de la especie animal, estado inmunitario, cepa infectante, dosis y vía de inoculación. Ya que las IgG están ligadas estrechamente a un estímulo antigénico fuerte, su presencia permanente está relaciona-

da con un estado infeccioso progresivo, activo o con una reinfección, así como por una revacunación especialmente con vacunas oleosas.

Aunque se cuenta con una variedad de pruebas, éstas presentan ventajas y desventajas; incrementándose aún más cuando se hace uso de la vacunación Cepa 19 (en dosis normal) o Cepa 45/20 en animales de más de 1 año de edad. Ya que las pruebas cualitativas de identificación de anticuerpos son superiores, mientras que las pruebas cuantitativas son menos sensibles y específicas (Alton et al, 1975; Sutherland et al, 1978 y Abeledo, 1982).

#### a) Pruebas Rutinarias

##### ● Aglutinación Rápida en Placa

A pesar de sus conocidas limitaciones, se usa en gran escala como método de rutina en toda América. Se utiliza en muestreos para establecer la prevalencia de la enfermedad, así también cuando se desea conocer el contenido de anticuerpos de Brucella en el suero, en términos de unidades internacionales U.I., como ocurre en casos de exportación o certificación oficial de bovinos. Cuando se aplica sola, los sueros positivos y sospechosos, se deben

someter a otras pruebas complementarias (Alton, 1975; Casas, 1976; Tablada y Abeledo, 1979).

• **Aglutinación en Tubo**

Esta prueba permite identificar las inmunoglobulinas IgM e IgG al igual que la de Placa. Se emplean las mismas diluciones pero un antígeno, con una concentración celular de 0.04%. En este caso las muestras se incuban a 37°C ó 4°C durante 48 horas (Casas, 1976).

b) Pruebas Complementarias

Tiene una especial aplicación para resolver los siguientes problemas :

- Eliminar o disminuir las reacciones heteroespecíficas.
- Detectar la presencia de anticuerpos "incompletos".
- Diagnosticar correctamente el mayor número de casos, especialmente crónicos, que permanecen muchas veces como diagnóstico incierto.
- Diferenciar, en ciertas ocasiones, los títulos serológicos residuales de vacunación de los resultados de la infección.

Estos problemas serán más de temer cuando los animales se hayan vacunado con Cepa 19, sobre todo después de las edades recomendadas.

Casi todas ellas, se fundamentan más o menos en los mismos principios :

- Tratamiento de los sueros con técnicas que reducen el valor del título significativo, sea por inactivación de las IgM (reducción por Mercapto-2-etanol o por el Clorhidrato de cisteína, disminución del pH o aumento de la temperatura de incubación) o por eliminación selectiva.
- Fijación de un valor menor para el título con significación diagnóstica (FAO/CMS, 1976).

#### ● **Aglutinación con 2-Mercaptoetanol**

Es una prueba selectiva y cuantitativa que detecta solamente la presencia de IgG. Se fundamenta en que los anticuerpos IgM se degradan en 5 unidades semejantes. Esta prueba es útil para detectar portadores crónicos (Casas, 1976).

#### ● **Prueba de Rivanol**

El uso del Rivanol, sirve para separar las globulinas de migración rápida como las IgM en animales vacuna-

dos; ya que al ser agragado a un suero el Rivanol, precipita las proteínas del mismo, excepto las globulinas de la clase IgG (Alton, 1975).

#### ● Prueba de Tarjeta

Llamada también técnica del Rosa de Bengala o del Antígeno Tamponado, es una prueba de aglutinación macroscópica rápida que se efectúa con una dilución de antígeno coloreado con Rosa de Bengala. Se considera una prueba selectiva ya que sólo detecta globulinas IgG, siendo de utilidad en hatos no vacunados, pues en aquellos vacunados con Cepa 19, que no presentan ningún síntoma de infección natural, se corre el riesgo de un número alto de reacciones falsas positivas (Alto, 1975; Sutherland, 1981).

#### ● Prueba de Fijación de Complemento

Excelente prueba de diagnóstico por ser un procedimiento sensible y específico para diferenciar las reacciones serológicas causadas por infecciones naturales de aquellas que resultan de la vacunación con Cepa 19. Así como para aclarar el significado de sueros con títulos sospechosos en la seroaglutinación y establecer el verdadero estado de animales infectados crónicamente. Siendo proba-

da su eficacia, en comparación con otras pruebas de diagnóstico, en los trabajos realizados por Plackett et al, (1982a) y Nicoletti, P. (1981).

### c) Técnicas de Reciente Desarrollo

#### ● Prueba de ELISA-ELA

Es un ensayo de inmunoadsorción ligado a enzimas. ELA son anticuerpos ligados a enzimas. Usualmente se conjuga una enzima (peroxidasa) con el anticuerpo dirigido contra el antígeno (Lang et al, 1979).

#### ● Prueba de Hemólisis Indirecta

La prueba Hemolítica Indirecta consiste en que un antígeno soluble (lipopolisacárido) se fija a eritrocitos, de manera que cuando se añade el complemento, éste lisisará los glóbulos rojos si hay anticuerpos específicos contra el antígeno soluble. Esta puede ser tan efectiva como la prueba de Fijación de Complemento (a 37°C) en el suero de ganado infectado en forma natural; pero puede ser menos sensible a los anticuerpos dentro de la respuesta a la vacunación de becerras con Cepa 19 (Plackett et al, 1976; 1980a).

• Prueba de Immunodifusión Radial con Antígeno Polisacáridos B

Es una prueba de inmunodifusión en gel, basada en el uso de agar impregnado de antígeno, en el cual cortan dos o más pozos redondos de un diámetro de 3 a 4 mm., que nos permitirá la medición de anticuerpos (Jones et al, 1980).

10. Mecanismo de Inmunidad

Durante mucho tiempo se han inculcado los conceptos de inmunidad humoral y celular como fenómenos independientes. Hoy no hay duda que todos los fenómenos inmunitarios, tienen en principio, un origen celular, con mecanismos distintos que condicionan su auténtico sentido inmunológico.

En la brucelosis juegan un papel muy importante tres sistemas de defensa, los cuales actúan coordinadamente, interactuando entre ellos a fin de combatir la infección, tales sistemas son :

- Sistema inespecífico no inducido, quiere decir que son independientes del previo contacto con el antígeno. También es denominado resistencia y comprende barreras anatómicas, fisiológicas, bioquímicas y celulares.

portante la que llevan a cabo los denominados fagocitos mononucleares y los linfocitos timodependientes "T" que generalmente actúan correlacionados. Los primeros pueden proceder de la sangre (monocitos) o de los tejidos (histiocitos), en donde se encuentran tapizando las grandes lagunas sanguíneas en los órganos del Sistema Retículo Endotelial, pudiendo adquirir formas de resistencia, transformándose en células epiteloides, gigantes, fibroblastos y varias más; que con frecuencia se ven en los granulomas.

Los fagocitos mononucleares y los linfocitos "T", mantienen correlaciones de interés inmunológico. Los primeros, al fagocitar las brucelas "procesan" los antígenos, que después han de servir para sensibilizar a la células "T"; y éstos a su vez, influyen sobre los macrófagos por intermedio de mediadores. La actividad fagocitaria la llevan a cabo en tres principales etapas: adhesión de las brucelas a su membrana plasmática; fagocitosis y descarga de enzimas lisosómicas, teniendo especial significado la que se asemeja a la lisozina. En algunos casos, las brucelas resisten la acción fagocitaria destruyendo la célula parasitada (Jones, 1978; Sutherland, 1981).

Dentro del sistema de inmunidad humoral, sus ingredientes esenciales en los mamíferos son los anticuerpos; inmunoglobulinas que están presentes en el suero y secre-

ciones. Aunque las brucelas están generalmente protegidas de los efectos de los anticuerpos humorales, se ha informado de factores humorales, el factor estimulante de los macrófagos y el factor inhibidor de la Brucella; los cuales aumentan la ingestión de esta última y deprimen su proporción de crecimiento. Sin embargo, la respuesta inmunitaria humoral en la infección natural por Br. abortus, las inmunoglobulinas producidas son del tipo IgG a IgM; su aparición es simultánea, pero mientras que las IgM declinan y tienden a desaparecer, las IgG se estabilizan y persisten por largo tiempo. Todas estas inmunoglobulinas son producidas por los linfocitos B, sensibilizados por antígenos brucelares de cubierta. Estos actúan básicamente sólo sobre las brucelas cuando éstas se encuentran fuera de la célula, por lo que se les concede interés como testigos de infección generalizada (Sutherland, 1981).

De estos conocimientos parten las bases generales de la profilaxis inmunológica, destacando que una vacuna es efectiva sólo cuando el antígeno entra en íntimo contacto con el sistema Inmuno Competente (Jones, 1978; Moreno, 1978; Sutherland, 1981).

### III OBJETIVOS

"Estudiar la titulación de anticuerpos, como respuesta serológica en becerras de más de 6 meses de edad vacunadas con Br abortus Cepa 19 viable en dosis reducida ( $3 \times 10^9$ ). Y, verificar si los anticuerpos producidos llegan a desaparecer y en cuanto tiempo, en comparación con becerras de 3 a 6 meses de edad vacunadas con dosis normal ( $5 \times 10^9$ )".

#### IV MATERIAL Y METODOS

##### Material :

- Dieciocho becerras hembras, raza Friesan Holstein, nacidas de los animales que integran el hato de producción de la Facultad de Estudios Superiores (Cuautitlán), las cuales se dividieron en dos lotes :

Lote Nº 1 Testigo. Seis becerras de 3 a 4 meses de edad.

Lote Nº 2 Prueba. Doce becerras de 8 meses a 1 año de edad.

- Vacuna Abortus Bang, elaborada con la Cepa Buck 19 Bru-cella abortus, Laboratorios Pronabive.
- Antígeno Cepa 19, para el diagnóstico de brucelosis en ovinos, caprinos y bovinos. Laboratorios Pronabive.
- Solución Salina Fisiológica.
- Aguja para sangrar Nº 15.
- Tubos de ensaye.
- Placa de vidrio.
- Pipeta de Bang.

### Metodología :

Por principio se procedió a tomar una muestra sanguínea, a cada una de las beceras, de la vena yugular, para verificar que se encuentran libres de Brucella mediante las pruebas serológicas Rápida en Placa y Rosa de Bengala, en el Centro de Salud Animal de Tepetzotlán de la DGSA, SARH. Obteniéndose resultados negativos a Brucella.

A continuación se aplicó la vacunación en el Lote Nº 1 Testigo, con dosis normal ( $5 \times 10^9$ ), reconstituyendo la vacuna en forma normal e inculando por vía subcutánea en la tabla del cuello 5 ml.

En el Lote Nº 2 Prueba, se vacunaron a las doce beceras con dosis reducida ( $3 \times 10^9$ ) = .2 ml. El procedimiento para obtener la dosis antes mencionada fue la siguiente : la vacuna se constituyó en forma normal (5.0 ml. pro dosis normal), se toma a continuación 1 ml. de la vacuna reconstituída y se pasa a depositar a un frasco con 9 ml. de solución salina fisiológica estéril; después se tomaron 2.0 ml. de la dosis normal diluída en 1.8 ml. de S.S.F. con lo que se reducirá el margen de error al aplicar dosis pequeñas.

Para el estudio serológico, todas las beceras se

sangraron vía yugular el día 18 y posteriormente cada 14 días hasta los 6 meses y medio pos-vacunales.

Con cada suero obtenido se realizó la prueba de Aglutinación Rápida en Placa, siendo una prueba poco influenciada por la presencia de anticuerpos incompletos o hemólisis de los sueros; el procedimiento fue el siguiente :

- Con la pipeta de Bang se colocaron sobre una placa de cristal, 0.08, 0.94, 0.02, 0.01 ml. del suero. Lo cual corresponde respectivamente a las siguientes diluciones 1:25, 1:50, 1:100 y 1:200.
- Se agregó con un gotero 0.3 ml. de antígeno, a un lado de la gota del suero.
- Se mezclaron las gotas con una paleta, comenzando por la dilución más alta 0.08 terminando en la más baja.

Se aplica un ligero vaivén y se deja reposar la placa, posteriormente se mueve a intervalos de 4 minutos durante 15 segundos, procediendo de inmediato a efectuar la lectura. La interpretación de esta prueba se hizo en base al método propuesto por Alton (1975); Casas (1976) y Abeledo (1980) (Cuadro Nº 1).

Para verificar la veracidad de los resultados, se realizaron en los dos últimos muestreos 158 y 193 días pos-vacunales y con todos los sueros la prueba de Fijación de

CUADRO Nº 1

INTERPRETACION DE LAS REACCIONES EN LA PRUEBA DE AGLUTINACION ESTANDAR \*

REACCION A LA DILUCION DE ,				DIAGNOSTICO BOVINO	
1:25	1:50	1:100	1:200	NO VACUNADO	VACUNADO
-	-	-	-	negativo	negativo
	-	-	-	negativo	negativo
x	-	-	-	negativo	negativo
x		-	-	sospechoso	negativo
x	x	-	-	sospechoso	negativo
x	x		-	sospechoso	sospechoso
x	x	x	-	positivo	sospechoso
x	x	x		positivo	sospechoso
x	x	x	x	positivo	positivo

\* NOTA : Actualmente estos estándares no son aceptados por la comunidad Económica Europea que exige que los animales con más de 30 U.I. sean clasificados como reaccionantes.

ALTON, G., 1975; CASAS, O., 1976.

Complemento, en el Departamento de Bacteriología del Instituto Nacional de Investigaciones Pecuarias de la SARH. Esta prueba se aplicó sólo en estos dos últimos muestreos, debido a que se presentaron limitaciones técnicas para la realización de la misma; ya que se utilizan soluciones de alto costo como el Complemento de Cobayo que es de importación y los laboratorios con el material necesario y márgenes de seguridad son muy limitados. Sin que por ello se consideren de menor validez los resultados, tomando en cuenta los recientes estudios sobre la eficacia de la prueba complementaria en la diferenciación de títulos causados por vacunación de aquellos causados por la infección (Chung et al, 1980; Flores, C., 1980; Sutherland et al, 1978, 1981).

Para la realización de esta prueba, es muy importante que los sueros no estén bacteriológicamente ni químicamente contaminados, así como estar exentos de eritrocitos y hemólisis. Para ello se extrajeron asépticamente con agujas para sangrar y tubos de ensayos estériles y se transportaron a bajas temperaturas al laboratorio donde permanecieron en refrigeración a 4°C por un período de 15 días hasta el momento de la prueba.

Antes de efectuar la prueba se inactivaron los sueros sometiéndolos a una temperatura de 58°C durante 30 minutos para destruir el complemento.

Cada suero se distribuyó para la prueba, mediante las diluciones de rutina; 1/5, 1/10, 1/20, 1/40, 1/80, 1/160, 1/320, 1/640. 1/1280 en los tubos de ensaye, a continuación se les añadió 0.25 ml. del antígeno apropiado y 0.5 ml. de Complemento (2 unidades) colocándose en refrigeración durante toda una noche. A la mañana siguiente fueron retirados de la refrigeración y después de la adición de 0.5 ml. del Sistema de Hemólisis a cada dilución, se calentaron a baño maría a una temperatura de 37°C durante 10 minutos. La lectura correspondiente se hizo 30 minutos después de la incubación adicional en baño maría a 37°C.

La interpretación de esta prueba se hizo en base al método propuesto por FAO/OMS (1976) y Alton (1975) (Cuadro Nº 2).

## CUADRO Nº 2

### CRITERIOS DIAGNOSTICOS QUE SE APLICAN EN LA PRUEBA DE FIJACION DE COMPLEMENTO

A) El animal no vacunado o en estado de vacunación desconocido se considerará como :

a) **Positivo** : si su suero presenta durante la prueba de Fijación de Complemento una actividad igual o mayor que 1/30 de la PISAb\*.

b) **Dudoso** : (casos sospechosos o límite), cuando la actividad está comprendida entre 1/30 y 1/60 de la del PISAb.

c) **Negativo** : si la actividad es menor que 1/60 de la del PISAb.

B) El animal vacunado con la Cepa 19 podrá considerarse :

a) **Positivo** : cuando la actividad sea igual a 1/15 de la del PISAb.

b) **Dudoso** : cuando la actividad sea igual a 1/30 de la del PISAb.

Deberá tenerse presente que estos criterios son solamente aproximados, ya que las técnicas empleadas varían mucho según el país, e incluso dentro de un mismo país, según los laboratorios.

(\*) PISAb : Unidad estándar para el uso del antígeno integrado por células totales muertas.

## V RESULTADOS

En la prueba de Aglutinación Rápida en Placa, se observó que a partir de los 84 días y hasta los 193 días pos-vacunales, la mayoría de las becerras del Lote de Prueba presentaron títulos negativos. Mientras que en el Lote Testigo, a partir de los 123 días se presentaron títulos negativos (Cuadro Nº 3).

En la verificación de los resultados se aplicó la prueba de Fijación de Complemento, observándose que de las doce becerras del Lote de Prueba sólo ocho se confirmaron como negativas, dos sospechosas y dos positivas. Y del Lote Testigo sólo dos fueron negativas y el resto como sospechosas (Cuadro Nº 4).



CUADRO Nº 4

PRUEBA SEROLOGICA DE FIJACION DE COMPLEMENTO			
<u>Lote de Prueba</u>	Suero	158	Días Pos-Vacunales 193
	125	*	1/320
	124	1/60	1/5
	123	neg.	neg.
	122	1/180	1/120
	121	1/20	1/20
	120	1/640	1/40
	119	1/5	neg.
	118	1/40	1/20
	116	1/40	1/5
	115	1/320	1/5
	157	neg.	neg.
	156	1/5	neg.
<u>Lote Testigo</u>			
	133	1/640	1/5
	130	1/160	1/40
	129	1/10	1/5
	128	1/40	1/40
	127	1/40	1/40
	126	1/40	1/10

(Desde 1/10 se considera como positivo)

(\*) Suero hemolisado, por lo que no se le aplicó la prueba.

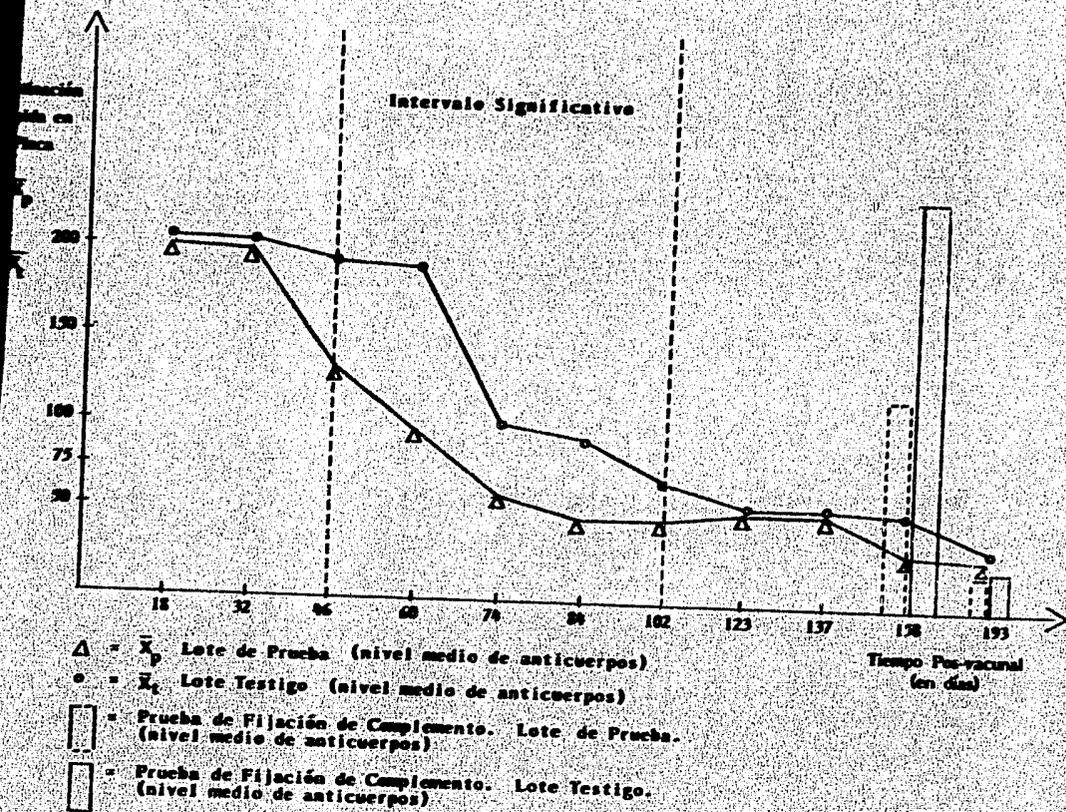
## VI DISCUSION

Los resultados obtenidos mediante las dos pruebas serológicas de diagnóstico, durante los diferentes tiempos de muestreo pos-vacunal, se analizaron estadísticamente utilizando la prueba de Hipótesis de Comparación de dos medios con muestras independientes (Snedecor, G., 1967).

A partir del análisis estadístico se elaboró la siguiente gráfica, en donde se puede apreciar que los valores medios de los niveles de titulación de anticuerpos, con la prueba de Aglutinación Rápida en Placa, son menores todo el tiempo de experimentación con respecto a los valores de anticuerpos en el Lote Testigo.

La diferencia de los valores obtenidos en el Lote de Prueba, respecto a los valores de Lote Testigo, son significativamente menores en el período de los 46 a los 102 días pos-vacunales. El decir que la diferencia es significativa, implica afirmar que con la aplicación de la vacuna Br. abortus Cepa 19 en dosis reducida en becerras de más de 6 meses de edad, se obtendrán valores de respuesta menores, no sólo para las unidades experimentales sino para todas las becerras que se deseen vacunar bajo las condiciones antes mencionadas.

### GRAFICA DE ANALISIS ESTADISTICO



## VII CONCLUSION

Se encontró que un 66% de las becerras vacunadas con dosis reducida fueron negativas, 16% sospechosas y 16% positivas, en ambas pruebas serológicas; lo que indica que los animales vacunados con esta dosis pueden ser efectivamente protegidos, tomando en cuenta la reducción de los títu<sup>l</sup>os de anticuerpos. Sin que ésto interfiera con un programa de control como resultado de la persistencia de inmunoglobulinas formadas por la Cepa 19.

Prácticamente, la vacunación elimina la enfermedad clínica y reduce la exposición a la infección en un 80% de las becerras, a los 6 meses de ser aplicada.

## VIII RECOMENDACIONES

Debido a los estudios realizados sobre la eficacia de la vacunación con Br. abortus Cepa 19 en dosis reducida, se señala la importancia de la utilización de pruebas serológicas complementarias; especialmente la de Fijación de Complemento, pues tiene la habilidad de diferenciar los títulos causados por la vacunación de aquellos por la infección natural.

Aunque a través de los resultados obtenidos, en este estudio, mediante la prueba de Fijación de Complemento, existe la prevalencia de Cepa 19 infectante en un índice bajo. Es importante tomar en cuenta el trabajo de Nicoletti, P. (1981b), el cual menciona que esta prevalencia frecuentemente no es permanente y que en aquellos casos de persistencia de Cepa 19 infectante, se recomienda el aislamiento de ésta mediante un cultivo bacteriano.

**IX REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS**

1. ABELEDO, MA. A. (1982). Eficacia comparativa entre diferentes métodos serológicos para el diagnóstico de la Brucelosis bovina, Rev. Salud Animal (Habana) 4:39.
2. ALTON, G.G., JONES, L.M. y PIETZ, D.F. (1975). Laboratory techniques in Brucellosis. World Health Organization, Geneva. Monograph series Nº 55 2nd. Ed. 175.
3. ALTON, G.G., CORNER, L.A., PLACKETT, P. (1980). Vaccination of pregnant cows low doses of Brucella abortus strain 19 vaccine. Aust. Vet. J. 56: 369-372.
4. BRINLEY, W.J. (1978). Vacunación frente a la Brucelosis; estado actual en: Recientes aportaciones veterinarias sobre Brucelosis. Ministerio de Agricultura (España) 13.
5. BUXTON, A. y FRASSER, G. (1977). Animal Microbiology I. 1ª Ed. Blackwell Scientific Publications (London), 133-139.
6. CASAS, OLASCOAGA, R. (1976). Diagnóstico serológico de la Brucelosis. Bol. del Centro Pan. de Zoonosis, (Buenos Aires). 18:107-141.

7. DIRECCION GENERAL DE SALUD ANIMAL. Campaña Nacional para el Control de la Brucelosis: Programa optativo para la certificación de hatos excentos y bajo control de la Brucelosis bovina. Departamento de Difusión Técnica de la D.G.S.A. México (1975).
8. CHUNG, S.Y., HALL, W.T.K., SIMONS, C.G. (1980). Immunoglobulina classes in serum antibody reactions in cattle following vaccination with Brucella abortus strain 19 and killed 45/20 vaccines. Aust. Vet. J. 56: 413-416.
9. DAVIES, G., COCKS, E., HERBERT, N. (1980). Brucella abortus (strain 19) vaccine: a) Determination of the minium protective dose in cattle; b) The effect of vaccinating calves previously inoculated with anti-Brucella abortus serum. J. of Biol. Standard. 8: 165-175.
10. DEYOE, L.B. (1981). Reduced dosage of Brucellosis vaccine. Agric. Res. U.S.A. 29:11.
11. FAO/OMS, 5º Informe OMS. Comité Mixto FAO/OMS Expertos en Brucelosis, Serie de informes técnicos Nº 464, Ginebra (1976).
12. FECHNER, J. et al (1966). Vacunación contra aborto

infeccioso (Brucelosis) de las vacas en: Vacunas y vacunación de los animales domésticos. 1ª Ed. Acribia 77-93.

13. FLORES CASTRO, R. (1980). Reduced dosage of Brucella abortus strain 19 vaccine for adult and pregnant cows. Rev. Lat. Microbiol. 1:41.
14. GARCIA LAGUNAS, F. (1979). Manual de prácticas de Medicina preventiva durante la etapa de desarrollo en un centro de recría de becerras holstein. Tesis. M.V.Z. ENEP-C, 65-68.
15. GARCIA CHAVEZ, J.E. (1981). Evaluación de la respuesta serológica a la vacunación con Cepa 19. Tesis. M.V.Z. UNAM.
16. JAWETZ, E., MELNICK, J.L. y ADELBERG, E.A. (1979). Manual de Microbiología Médica. Ed. El Manual Moderno. México. 650.
17. JONES, L.M. (1978). Hipersensibilidad celular en la Brucelosis en: Recientes aportaciones veterinarias sobre Brucelosis. Ministerio de Agricultura. (España). 23-27.

18. JONES, L.M., BERMAN, D.T., MORENO, E., DEYOE, B.L., GILSDORF, M.J., HUBER, J.D. y NOCOLETTI, P. (1980). Evaluation of radial immunodiffusion test with polysaccharide B antigen for diagnosis of Brucellosis. *J. Clin. Microbiol.* 12: 753-760.
19. LAMB, V.C., JONES, L.M., GERHARDT, G., SCHURIPO, G. y BERMAN, D.T. (1979). Enzyme linked immunoabsent assay for bovina immunoglobulin subclass specific response to lipopolysaccharide of Brucella abortus. *Infect. Immun.* 26: 240-247.
20. MORGAN, W.J.B. & MC. DIARMID, A. (1971). Excretion of Brucella in the milk of experimentally infected cattle. *Res. Vet. Sci.* 1: 53-56.
21. MORENO, S. (1978). Fundamentos biológicos condicionantes de la posible profilaxis inmunológica en la brucelosis en: Recientes aportaciones veterinarias sobre brucelosis. Ministerio de Agricultura (España). 139-142.
22. MOREIRA, S.W., BATISELA, I.M. (1980). Persistencia, en sangre de becerras de anticuerpos específicos IgG (microglobulinas) formadas después de la vacunación contra Brucella abortus Cepa 19. *Rev. do Rurais.* 10: 318-386.

23. NICOLETTI, P. (1976). A preliminary report on the efficacy of adult cattle vaccination using strain 19 in selected dairy herds in Florida. J. Am. Vet. Med. Assn. 91-106.
24. NICOLETTI, P. (1978a). Control de la Brucelosis con énfasis en la vacunación de ganado adulto en: Foro Nacional sobre Brucelosis. INIP-ENEP. Memorias. 106-109.
25. NICOLETTI, P., JONES, L.M. y BERMAN, D.T. (1978b). Comparison of the subcutaneous and conjuntival route of vaccination with Brucella abortus strain 19 vaccine in adult cattle. J. Am. Vet. Med. Assm. 178:143-145.
26. NICOLETTI, P. (1981a). The efficacy of strain 19 vaccination in reducing brucellosis in large dairy herds. Cal. Vet. 9:35-36.
27. NICOLETTI, P. (1981b). Prevalence and persistence of Brucella abortus strain 19 infections and prevalence of other biotypes in vaccinated adult dairy cattles. J. Am. Vet. Med. Assoc. 178:143-145.
28. PIATKIN, L., KRIVOSHEIN, YU. (1981). Microbiología. 2ª Ed. MIR (Moscú) 582.

29. PLACKETT, P., ALTON, G.G., CARTER, P.D., CORNER, L.A. (1980a). The indirect Haemolysis (IHLT) for bovine Brucellosis comparisons with the Complement Fixation test (CFT) in vaccinated and experimentally infected cattle. *Aust. Vet. J.* 56:405-408.
30. PLACKETT, P., ALTON, G.G., CARTER, P.D., CORNER, L.A. (1980b). Failure of a single dose of Brucella abortus strain 19 to protect cattle when given early in calfhood. *Aust. Vet. J.* 56:409-412.
31. PLOMMET, M., PEREIS, G.G. (1973). Presence and duration of maternal antibodies against Brucella infection in calves. *J. Immun.* 4:419-435.
32. ROERINK, J.G. (1966). Development of a non agglutinogenic killed Brucella abortus adjuvant vaccine and its applicability in the control of bovine brucellosis. Thesis, Utrecht, Rijksuniversiteit.
33. RODRIGUEZ DE LORD, S.V. (1981). Estudios sobre un antígeno polisacárido de Brucella y aspectos epizootológicos de brucelosis en el chigüire (Hydrochoerus hydrochaeris). Tesis. M. en C. M.V.Z. FES-Cuautitlán.
34. SCHURING, G.G., JONES, L.M. (1978). Antibody to antigen distinct, from smooth lipopolysaccharide complex

- in Brucella infection. Infect. and Immun. 21:994-1002.
35. SNEDECOR, G.W. and COCHRAN, W.C. (1967). Statistical Methods. 6th. Iowa State University Press, IOWA.
36. STEMSHORN, N., NIELSEN, K. (1981). The bovine response to Brucella abortus IV. Studies with a Double Immunodiffusion Test for antibody against antigen A<sub>2</sub>. Can. J. Comp. Med. 45:147-153.
37. SUTHERLAND, S.S. and LE CRAS, D.V. (1978). Evaluation of new and currently used diagnostic procedures for bovine brucellosis. Aut. Vet. J. 54:329-332.
38. SUTHERLAND, S.S. (1981). Immunología de la Brucelosis. Gaceta Vet. (Buenos Aires) 43:269-274.
39. SUTHERLAND, S.S., LE CRAS, D.V., ROBERTSON, A.G., JOHNSTON, J.M. y EVANS, R.J. (1982a). Serological response of cattle after vaccination y challenge with Brucella abortus. Vet. Microbiol. 7:165-175.
40. SUTHERLAND, S.S., LE CRAS, D.V. y ROBERTSON, A.G. (1982b). A study of cattle infected with Brucella abortus and which showed aberrant serological reactions. Aut. Vet. J. 59:132.

41. TABLADA, L. y ABELEDO, M.A. (1979). La seroaglutinación lenta en el diagnóstico de la brucelosis bovina. *Revista Cuba. Ciencias Vet.* 10:127-131.
42. TIZARD, I.R. (1979). *Immunología Veterinaria.* Interamericana. México. 404.
43. ZEMJANIS, R. (1974). Vaccination for reproductive efficacy in cattle. *J. A. V. M. A.* Vol. 5, 8:689-692.
44. ZUÑIGA JIMENES R. (1980). *Respuesta serológica a la vacunación con una dosis reducida de Cepa 19 viable en ganado libre de Brucella abortus.* Tesis M.V.Z. UNAM.