

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
ESCUELA DE MEDICINA VETERINARIA**

**PREVALENCIA DE REACTORES POSITIVOS A BRUCELOSIS
EN CERDOS DE TRASPATIO EN EL
DEPARTAMENTO DE EL PETÉN**

TESIS

Presentada a la Honorable Junta Directiva de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad de San Carlos de Guatemala

POR

GIULIO ALESSANDRO MARCUCCI GARCÍA

Al conferírsele el grado académico de

Médico Veterinario

Guatemala, Noviembre 2,003

JUNTA DIRECTIVA

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

DECANO: Dr. MARIO ESTUARDO LLERENA QUAN

SECRETARIA: Dra. BEATRIZ SANTIZO CIFUENTES

VOCAL PRIMERO: Lic. Zoot. CARLOS SAAVEDRA VELEZ

VOCAL SEGUNDO: Dr. FREDY GONZÁLEZ

VOCAL TERCERO: Dr. EDGAR BAILEY

VOCAL CUARTO: Br. JUAN PABLO NÁJERA

VOCAL QUINTO: Br. LUZ FRANCISCA GARCÍA

ASESORES: Dra. PATRICIA AZURDIA DE CIRAIZ
Dra. BLANCA ZELAYA DE ROMILLO
Dr. JAIME MÉNDEZ
Dr. DAVID ORELLANA

HONORABLE TRIBUNAL EXAMINADOR

En Cumplimiento a lo establecido por los estatutos de la Universidad de San Carlos de Guatemala presento a consideración de ustedes el trabajo de Tesis titulado.

**PREVALENCIA DE REACTORES POSITIVOS A BRUCELOSIS
EN CERDOS DE TRASPATIO EN EL
DEPARTAMENTO DE EL PETÉN**

Como requisito previo a optar el Título Profesional de

MEDICO VETERINARIO

ACTO QUE DEDICO

- A DIOS: Por hacerme sentir bendécido y amado.
- A MIS PADRES: En memoria de Olimpia García de Marcucci (Q.E.P.D.), José Estanislao Marcucci Recinos
- A MI ESPOSA: Patricia Giron de Marcucci por su apoyo incondicional.
- A MIS HIJAS: Andrea, Cinthya y Cristina Marcucci Girón, fueron mi inspiración para terminar algo que aún tenía pendiente.
- A MIS HERMANOS: En especial con cariño.
- A MIS COMPAÑEROS: Rosmunda Pierri de Avendaño, Patricia Azurdia de Ciraiz, Hugo Avendaño, Dora Maritza González de Bustamante.

AGRADECIMIENTO

- A la universidad de San Carlos de Guatemala
- A la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia
- A mis catedráticos
- Al personal del Laboratorio MAGA en Escuintla
- A mis asesores: Dra. Patricia Azurdia de Ciraiz

Dra. Blanca Zelaya de Romillo

Dr. Jaime Méndez

Dr. David Orellana

INDICE

I.	INTRODUCCION	01
II.	HIPOTESIS	02
III.	OBJETIVOS	
	3.1 General	03
	3.2 Específicos	03
IV.	REVISION DE LITERATURA	
	4.1 Definición	04
	4.2 Sinonimia.....	04
	4.3 Historia	04
	4.3.1 Antecedentes en Guatemala	05
	4.4 Etiología	06
	4.4.1Caracterísitcas Bioquímicas de <u>Brucella suis</u>	07
	4.4.2 Resistencia	08
	4.5 Epidemiología	08
	4.6 Morbilidad y Mortalidad	09
	4.7 Vías de Transmisión	10
	4.7.1 Vía Oral	10
	4.7.2 Vía Genital	10
	4.7.3 Vía Nasal	10
	4.7.4 Vía Fomites	10
	4.7.5 Vía Experimentales	11
	4.7.6 Vía de Transmisión en el Hombre	11
	4.8 Vías de Eliminación	11

4.9 Patogenia	12
4.10 Signos Clínicos	13
4.11 Lesiones	14
4.12 Diagnostico	14
4.12.1 Pruebas Bacteriológicas	14
4.12.1.1 Cultivo	15
4.12.1.2 Aislamiento o Inoculación	15
4.12.2 Pruebas Serológicas	15
4.12.2.1 Prueba de Aglutinación Lenta en Tubo (SAT-A). ..	16
4.12.2.2 Prueba de Seroaglutinación Rápida en Placa o de Huddleson	16
4.12.2.3 Prueba de Fijación de complemento	18
4.12.2.4 Prueba de Rivanol	19
4.12.2.5 Prueba de Coombs Modificado	20
4.12.2.6 Prueba de la Tarjeta o Rosa de Bengala	21
4.12.2.7 Prueba de Aglutinación con 2 Mercaptoetanol ...	21
4.12.2.8 Prueba de Inactivación por Calor	22
4.12.3 Diagnostico Diferencial	22
4.13 Tratamiento	23
4.14 Prevención y Control	23
4.14.1 Medidas de Manejo	24
4.14.1.1 Higiene	24
4.14.1.2 Pasteurización	24
4.14.1.3 Monitoreo y Eliminación de Reactores Positivos	24

V. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 Area de Estudio	26
5.2 Materiales	26
5.2.1 Recursos Humanos	26
5.2.2 Recursos Biológicos	26
5.2.3 Recursos de Campo	26

5.2.4 Recursos de Oficina	26
5.2.5 Recursos de Laboratorio	27
5.2.6 Centros de Referencia	28
5.3 Metodología	28
5.4 Métodos de laboratorio	29
5.4.1 Prueba de la Tarjeta ó Card Test, Brucella	29
5.4.2 Prueba de Rivanol	29
VI. RESULTADOS Y DISCUSION	31
VII. CONCLUSIONES	32
VIII. RECOMENDACIONES	33
IX. RESUMEN	34
X. BIBLIOGRAFIA	35
XI. ANEXOS	39

Giulio Alessandro Marcucci García
Bachiller

M. V. Patricia Azurdia de Ciraiz
Asesora Principal

.M.V. Blanca Zelaya de Romillo
Asesora

M. V. Jaime Méndez
Asesor

M. V. David Orellana
Asesor

IMPRIMASE: _____
Dr. Mario Estuardo Llerena Quan
Decano

5.5 ANALISIS DE DATOS

Utilizando la información de datos de los protocolos del laboratorio del Ministerio de Agricultura, Ganadería y Alimentación (MAGA), se procedió a establecer la proporción de reactores positivos a Brucelosis así como si existía asociación entre el resultado a la prueba diagnóstica y; la edad y sexo de los cerdos muestreados en el departamento de El Petén, para lo cual se realizó la prueba de independencia del Chi².

$$\text{La fórmula del Chi}^2 : X^2 = \frac{\sum (O-E)^2}{E}$$

I. INTRODUCCION

La Brucelosis es una Zoonosis de importancia en salud pública, que además causa pérdidas económicas considerables en la producción animal.

La Brucelosis afecta a ganado bovino, caprino y ovino la cual se presenta con una prevalencia alta dentro de la población de animales. Sin embargo también se ve afectada la población porcina. Existe un alto porcentaje de personas que se dedican a la explotación porcina, quienes en su mayoría no lo hacen en forma tecnificada y debido a esto se les considera de alto riesgo para diseminar y contraer dicha enfermedad.

Se ha determinado en estudios recientes que esta enfermedad existe en todo el mundo y de mucho interés en la mayoría de países americanos, teniendo una alta prevalencia en Cuba, Venezuela y Honduras. Se hace necesario conocer sus formas de contagio, por esta razón existen países que tienen planes de control y erradicación, pero que particularmente están enfocados al ganado bovino, sin tomar en cuenta la ocurrencia en ganado porcino. En Guatemala se conoce la prevalencia de Brucelosis bovina a nivel nacional no así en las explotaciones porcinas de las cuales solo se tiene de algunas áreas del país.

Con este estudio se pretende determinar la prevalencia de reactores positivos de Brucelosis en cerdos de traspatio en El Peten, implementar controles para evitar su contagio y propagación, ya que en este departamento no existe ningún estudio ni control a la fecha; con ello contribuiremos a su control y erradicación para proporcionarle a la población productos cárnicos y sus derivados de calidad y así evitar pérdidas económicas a los productores.

En Guatemala la explotación porcina de traspatio es importante. En esta investigación, el estudio se realizó en el departamento de El Petén, ya que éste por su extensión cuenta con una población porcina de traspatio considerable.

En El Petén por su tamaño en área y en población, la producción y consumo de carne de origen porcino es de traspatio no habiendo migración de ganado porcino de otras áreas hacia El Petén esto hace más fácil implementar un mecanismo de control para que en un futuro poder ser declarada zona libre de Brucelosis porcina.

II. HIPOTESIS

La población de Cerdos de traspatio del departamento de El Petén tiene una prevalencia mayor al 0% de reactores positivos a Brucelosis.

III. OBJETIVOS

3.1 GENERAL

Contribuir al estudio de la Brucelosis porcina en Guatemala, especialmente en la región del departamento de El Petén;

3.2 ESPECIFICOS

- Comprobar de la existencia de reactores positivos a Brucelosis en cerdos de traspatio en el departamento de El Petén.
- Cuantificar mediante la prueba de la Tarjeta o Rosa de Bengala y prueba de Rivanol la prevalencia de reactores positivos a Brucelosis en cerdos de traspatio en el departamento de El Petén.

IV. REVISION DE LITERATURA

4.1 DEFINICION

La Brucelosis es una enfermedad infectocontagiosa crónica que afecta principalmente al ganado bovino, porcino, ovino y caprino, así como a los perros, causada por la bacteria Brucella suis y se caracteriza por aborto en la hembra y, en menor grado orquitis e infección de las glándulas sexuales accesorias en el macho e infertilidad en ambos sexos. Esta enfermedad afecta al hombre y se manifiesta como fiebre ondulante o fiebre Malta(4, 9, 18, 23,40).

4.2 SINONIMIA

- Enfermedad de Bang (Bovinos)
- Aborto Contagioso
- Aborto Infeccioso
- Aborto Epizoótico(9,15,18,23,34,40)

4.3 HISTORIA

En 1856, Martson precisa información relativa a Brucelosis, con la descripción de signos clínicos. Desde 1887 el término Brucella fue aislada por primera vez por David Bruce (al que se debe su nombre) a partir de casos que padecían de fiebre de Malta. A este germen se le llamo Micrococcus Mellitensis, el cual estaba relacionado con cabras y con el hombre al consumir derivados de esta especie, más tarde este germen fue llamado Brucella mellitensis(2,18).

Bang en 1896-1897 junto con Stribolt, logró el aislamiento de la Brucella abortus, a partir del feto y membranas de un bovino abortado; demostrando que era la causa del padecimiento conocido como enfermedad de Bang, Brucelosis aborto Epizoótico bovino(18,40).

En 1910, Mac Neil, de Agricultural Experiment Station Illinois, Estados Unidos, descubrió un tipo de Brucella que afectaba a los cerdos; este descubrimiento fue seguido, después de fallecer a

mitad de su investigación, por Jacob Traum, del Bureau Animal Industry, Estados Unidos, convirtiéndose en el primero en describir el agente en el año de 1914. Esto lo hizo por medio del aislamiento del germen a partir del hígado, riñón y estómago de fetos abortados por cerdas gestantes, estos microorganismos se parecían serológicamente al de la enfermedad Bang(2).

Thomsen (1931-1934) descubrió un agente ligeramente distinto a la cepa de Bacillus abortus suis descubierta por Traum en 1914, que provocaba un tipo de aborto en cerdas gestantes, este tipo americano fue identificado por Thomsen en Europa (Dinamarca), en América del Sur y Austria fue descubierto por King en 1934(9,12,13).

Desde 1945 se empezaron a producir una serie de brotes de Brucelosis porcina en Alemania Oriental y Occidental, la cual después de muchos esfuerzos fue controlada gracias a estrictas medidas sanitarias para extinguir el foco epidémico(09,23).

En los Estados Unidos desde 1961 la enfermedad alcanzó una enorme difusión que provocó grandes daños económicos al país(27,40).

En 1994, a través de la Conferencia Internacional de Zoonosis en los Estados Unidos, se realizó una recopilación de datos y se determinó la incidencia de Brucelosis porcina en la mayoría de países a nivel mundial(40).

4.3.1 ANTECEDENTES EN GUATEMALA

En 1967 Gálvez, trabajando con 6564 cerdos de abasto de la ciudad de Guatemala encontró el 8.42% de reactores positivos(2,40).

En 1972 Rosales y Col. mediante la prueba de seroaglutinación rápida en placa, obtuvieron el 12.90% de reactores positivos y comprueban la existencia de Brucelosis en una piara del departamento de Chimaltenango(2,18,40).

En 1977 Luna, trabajando con 200 cerdos de la ciudad de Tecpán, Guatemala en los que practicó la prueba rápida en placa encontró el 0% de reactores(2,40).

En 1984 Canales determinó una prevalencia de 13.95% de reactores positivos a un total de 2,000 cerdos de abasto en Guatemala(7,40).

En 1991 C. Reyes encontró el 4.1% de reactores positivos a Brucelosis por medio de la prueba de la tarjeta, haciendo un estudio asociativo con Brucelosis bovina en el departamento de Santa Rosa, municipio de Chiquimulilla(34).

En el año de 1998 en Masagua, municipio de Escuintla, en donde Sandoval encuentra una prevalencia del 0% de reactores positivos a Brucelosis, utilizando la prueba de Rosa de Bengala y Rivanol, asociándola con Brucelosis bovina(23,35).

En marzo de 1999 E. Hernández encuentra en el municipio de Palin, departamento de Escuintla una prevalencia del 0% de reactores positivos a Brucelosis porcina por medio de la prueba de SAT-A a reactores heteroespecíficos se utilizó la prueba de la Tarjeta para reconfirmar el resultado(23).

En abril de 1999 J. Zea encuentro en el municipio de Villa Canales, departamento de Guatemala una prevalencia de 0% de reactores positivos a Brucelosis porcina por medio de la prueba SAT-A(40).

4.4 ETIOLOGIA

La Brucelosis porcina es producida por una bacteria del género *Brucella* conocida como *Brucella suis*.

Existen seis especies de *Brucella* que afectan a los animales y al hombre y son:

- *Brucella abortus*,
- *Brucella melitensis*
- *Brucella ovis*
- *Brucella canis*
- *Brucella neotomae*
- *Brucella maris* (afecta a mamíferos marinos)(13,15,18,23,40).

El género *Brucella* está incluido dentro de la familia Brucellaceae del orden Eubacteriales y se define como “Pequeños cocobacilos gramnegativos, no esporógenos y sin motilidad”. Se desarrollan bastante mal en los medios de cultivo ordinarios y pueden incluso requerir medios especiales. Son aerobios y no prosperan en condiciones estrictamente anaerobias. El signo

característico fundamental de las especies del género *Brucella*, es la estructura nucleótida del ácido desoxirribonucleico (ADN): de 55 a 58% de guanina-citosina.

La causa natural de Brucelosis en cerdos se debe a la presencia de *Brucella suis* como *Brucella abortus*(9,13,18,27,40).

La Brucelosis en cerdos se clasifica en:

Brucella suis Biotipo I:

Afecta específicamente a cerdos, y es la que con mayor frecuencia ha sido aislada en cerdos a nivel mundial, y es la que posee las características más típicas de la especie.

Brucella suis Biotipo II: Conocida antiguamente como tipo Danés, por causar la enfermedad en Dinamarca, y afecta tanto a cerdos como a liebres en Europa.

Brucella suis Biotipo III: Conocida como el tipo americano de *Brucella melitensis* por Huddleson, y es la que produce la enfermedad en forma natural en Estados Unidos(13,23).

Brucella suis Biotipo IV: Puede estar presente en cerdos, en los cuales no es patógena, aún siendo zootica en venados, caribú, liebres, roedores, perros y el hombre(9,14,23).

Por lo general solo el biotipo 4 es patógeno para renos específicamente, aunque puede infectar a otras especies.

Brucella suis es la única de las especies de Brucellas que causan infección sistémica y generalizada(4,9,23).

4.4.1 Características Bioquímicas de *Brucella suis*

- Según el biotipo involucrado, produce o no grandes cantidades de H₂S
- Bióxido de Carbono independiente.
- Hidroliza la urea rápidamente.

- Efectúa su crecimiento en presencia de tironina, aunque regularmente es inhibida por la fuscina básica, aunque algunas cepas se multiplican en ambos colorantes.
- Metaboliza los aminoácidos del ciclo de la urea.
- Oxida la D-ribosa, la D-glucosa, el 1-eritritol, la D-xilosa, la L-arginina, la DL-citrulina y la DL-ornitina.
- No puede oxidar la L-alanina ni la L-asparagina.
- Según el biotipo oxidarán la L-lisina de ácido, L-glutámico, de la L-arabinosa y de la D-galactosa(6,9,13,23,27,40).

4.4.2 RESISTENCIA

Es posible destruir Brucella suis a 62.7⁰C durante 10 minutos. La inactivación es parcial a 60-61⁰C por 20 minutos. Los cultivos de la bacteria aireados y estabilizados en presencia de dextrina y ácido ascórbico, después mantenerlo a 20-25⁰C durante dos meses, conservan su número de células viables y el 100% de virulencia.

La bacteria puede sobrevivir en la orina y heces por un mes durante el invierno, y en agua y suelo hasta 4 meses durante el verano. Puede ser destruida en 2 a 4 horas por el sol directo(9,27,40).

4.5 EPIDEMIOLOGIA

Cuando la Brucelosis entra por vez primera a una piara se presenta en forma aguda. En piaras pequeñas a veces disminuye en forma rápida ya que en ocasiones la enfermedad cura espontáneamente, debido al corto ciclo de reproducción del cerdo. Después de la fase aguda sigue la fase sub-aguda, pero con un carácter más benigno, debido a que disminuye el número y distribución del agente dentro del organismo, por lo que la enfermedad es más difícil diagnosticarla. Si se mantiene la enfermedad luego de 6 meses dentro de la piara solo en un pequeño porcentaje de machos y hembras la infección desaparece, pero en el resto de los animales se mantiene, siendo una fuente de infección(40).

En piaras numerosas la enfermedad se mantiene por la presencia de portadores crónicos y en las siguientes generaciones susceptibles se presenta en forma de brotes severos(12,40).

La Brucella suis es más resistente a las condiciones adversas del medio que Brucella abortus, sobreviviendo en heces, orina y agua durante cuatro a seis semanas. Aunque ambas pueden afectar al cerdo, Brucella abortus tiene menos virulencia para el cerdo aunque las contraiga de igual manera(5,23).

Brucella suis se transmite de cerdo a cerdo principalmente si existen animales susceptibles, aunque en casos por accidente se transmite al humano y a otras especies como bovinos, caninos, caprinos, felinos, aves, y animales domésticos (ratas, liebres, jabalíes) considerándose estos últimos como causantes de nuevos brotes de Brucelosis dentro de la población doméstica. Y de la enfermedad en Europa con el biotipo 2 de Brucella suis por contacto del cerdo con la misma, o por ingestión de órganos y carcasas de liebres infectadas(23).

La susceptibilidad a Brucella suis varía con la edad, siendo mayor la prevalencia en adultos que en lechones. Después del destete la susceptibilidad aumenta para ambos sexos. Una piara que ha padecido la enfermedad después de un tiempo puede volver a ser susceptible si aparece un brote posterior(4).

El biotipo 2 es altamente patógeno para los suinos, provocando abortos y altos brotes en las piaras. Las crías que se amamantan de cerdas infectadas pueden contraer la enfermedad entre las 8 y 12 semanas de edad, aunque a estos puede entrar también por heridas o piel.(1,4,9,12,13,23).

4.6 MORBILIDAD Y MORTALIDAD

En zonas enzoóticas la morbilidad suele estar entre el 30-60%, y en cuyos casos puede darse una mortalidad de hasta el 80% de los animales infectados sobre todo en el primer mes de vida de los lechones, por lo cual puede ser necesario sacrificar al varraco y cerdas infectadas para reducir así las pérdidas en número de lechones por camada(4,23).

4.7 VIAS DE TRANSMISION

4.7.1 VIA ORAL

Por lo general se infectan los animales por ingerir alimentos y agua contaminados con productos provenientes de la preñez, como fetos abortados, líquidos y membranas fetales, como las secreciones vaginales, también con heces y orina de esos mismo animales. Por productos cárnicos utilizados para la elaboración del pienso para cerdos. También por la ingestión de leche o calostro de cerdas portadoras(4,9,12,15,17,23,40).

4.7.2 VIA GENITAL

Es la más común porque constituye la vía de excreción y la transmisión de Brucella suis. Se transmite durante el servicio por el macho a las hembras, importante difusor, por medio de monta natural o inseminación artificial. La hembra puede eliminar grandes cantidades de Brucellas antes, durante y después del parto (2-3 meses posteriores), pueden llegar a ser portadoras y hasta un 100% de las crías pueden infectarse, ocurre a veces una infección lateral entre lechones después del destete. Los machos se infectan mas comúnmente por vía digestiva y genital. Puede excretar semen infectado por largos períodos, pudiendo ocurrir de por vida en algunos animales. No en todas las eyaculaciones se transmite la infección, teniendo un carácter intermitente(4,9,12,15,17,18,23,37,40).

4.7.3 VIA NASAL

A través de aerosoles y polvo contaminado que atraviesan las mucosas de las vías respiratorias altas y de los ojos(4,9,15,40).

4.7.4 VIA FOMITES

Por equipo e instrumental que se ponga en contacto con los abscesos o con secreciones de animales portadores(4,9,15,17,23,27).

4.7.5 VIA EXPERIMENTALES

A través de la vía intravenosa, oral, conjuntival, intramuscular y subcutánea(9).

4.7.6 VIAS DE TRANSMISION EN EL HOMBRE

Los grupos humanos con más alto riesgo de contraerla son los granjeros, porcicultores y peones de granjas porcinas, médicos veterinarios, trabajadores de rastros, carniceros y personal de laboratorio.

Las vías de transmisión más comunes son.

- Ingestión de carne cruda, poco cocida o vegetales y agua contaminada.
- A través de la piel (cutánea por escoriación) por contacto directo con fetos abortados, lechones recién nacidos, descargas uterinas, órganos internos fómites contaminados.
- Inhalación de aerosoles en ambientes contaminados de mataderos, pjaras infectadas, frigoríficos.
- Vía conjuntival.
- Ingestión de leche contaminada de bovinos infectados con Brucella suis ya que la bacteria se localiza en la glándula mamaria sin producir anomalías. El hombre puede llegar a padecer la enfermedad si consume leche o queso no pasteurizados(4,9,27,40).

4.8 VÍAS DE ELIMINACION

- Calostro
- Leche
- Semen (puede contaminar el suelo)
- Descargas útero-vaginales (10^6 bacteria/gramo).
- Fetos abortados
- Placenta
- Materia Fecal

- Lesiones en canal intestinal o por bilis
- Orina(9,17,27,40).

4.9 PATOGENIA

Todos los animales se consideran ser susceptibles, aún más cuando llegan a su madurez sexual, pero puede limitarse su presencia en animales prepúberes.

Las bacterias introducidas por vía digestiva, respiratoria, aparato genital, conjuntiva y piel, por donde llegan a la corriente sanguínea. Cuando la puerta de entrada es por vía digestiva, el agente etiológico ingresa al intestino por la mucosa faríngea o intestinal. En el punto de penetración, ya sea cutáneo o mucoso se encuentran células polimorfonucleares, que ingieren a los microorganismos, pero estos se multiplican en el interior de las células, y de esta forma son transportadas a los linfonodos de la región (retrofaringeos, mandibulares, mesentéricos). Después de 1-7 semanas de la exposición se produce una bacteremia ya que las Brucellas invaden la circulación expandiendo la infección. Esta bacteremia dura de 1 semana a 3 meses (promedio 6 semanas) y se establece por más tiempo en animales que presentan Brucelosis clínica (1-34 semanas) en cerdos que no presentan síntomas o lesiones la bacteremia es corta, en no más de 3 semanas.

Las Brucellas son atacadas por macrófagos activados por inmunidad mediada por células y son destruidas, pero muchas de ellas se dirigen a sitios donde la circulación sanguínea es lenta y por lo tanto el dióxido de carbono es más alto, permitiendo un medio adecuado para la existencia de la bacteria. Puede llegar a observarse leucocitos parasitados en los sinusoides hepáticos y las células de Kuffer que contienen gran cantidad de microorganismos se acumulan y forman granulomas.

Durante y después de la bacteremia que ocurre en todo el organismo, las Brucellas se diseminan a varios tejidos y órganos: ubicándose en los ganglios linfáticos, órganos genitales, glándula mamaria (de donde son excretados por la leche), articulaciones, huesos, bazo, hígado, vejiga, riñones, a veces cerebro; en ocasiones forma abscesos en varias partes del organismo(1,4,9,17,18,23,40).

4.10 SIGNOS CLINICOS

Entre los síntomas clínicos el 90% de los animales infectados son estrictamente silenciosos; y las formas sintomatológicas se determinan mediante la serología.

Generalmente al entrar la Brucella en una piara no se observan los síntomas inmediatamente. Muchas veces estos pasan desapercibidos, ya que es necesario que el agente etiológico se multiplique y afecte a los animales reproductores, para que provoque abortos frecuentes(12).

Los signos clínicos más comunes en la cerda son infertilidad (puede ser la única manifestación de Brucelosis), estros irregulares (retorno del celo 5-8 semanas luego del servicio debido a reabsorción de fetos de abortos tempranos), abortos principalmente en el tercer mes de gestación pero muchas de las hembras se recuperan y generalmente abortan una sola vez quedando como portadoras o diseminadoras de la infección(9,40). También se observan secreciones vulvares sanguinolentas en abundancia, deformación de la vulva en algunos casos, camadas de lechones momificados, nacidos muertos o muy debilitados debido a inflamaciones leves del útero y de envolturas fetales, también nacimiento de camadas pequeñas(4,12,15,17,18,37,40).

En el macho, los signos clínicos más comunes son esterilidad, puede presentar simultáneamente falta de libido, orquitis unilateral o bilateral con tumefacción y necrosis testicular, epididimitis y adherencias de membranas al escroto(4,12,17,26,40).

En casos de incoordinación y parálisis en miembros posteriores en ambos sexos que se van presentando en forma gradual para concluir en artritis y osteomielitis por tener afinidad por lugares de baja presencia de oxígeno.

En los lechones la única manifestación serológica la constituye la aglutinación a títulos bajos y bacteremia temporal. Si es una infección persistente puede mostrar artritis, orquitis y cojera(9,15,18,23).

4.11 LESIONES

Muchos órganos se encuentran dañados en el cerdo, pero específicamente se orientan las lesiones en el útero y sus contenidos, produciendo una granulomatosis e inflamación en la pared del endometrio en las hembras. En el macho presenta lesiones en testículos y epidídimo de consistencia firme; en huesos y articulaciones que en unos casos conduce a artritis y necrosis de los cuerpos vertebrales a nivel lumbar(4,9,23,36,37).

4.12 DIAGNOSTICO

Para el diagnóstico de Brucelosis porcina el método más seguro es el aislamiento del microorganismo mediante pruebas bacteriológicas(40).

La mayoría de pruebas serológicas que se conocen para el diagnóstico de la enfermedad fueron enfocadas en su momento para la detección de Brucelosis en bovinos, pero se han ido adaptando para establecer el diagnóstico en cerdo, en cuyas pruebas se utiliza el antígeno de Brucella abortus que posee un lipopolisacárido idéntico al de Brucella suis, que se clasifica como Brucella lisa por poseer una cadena “O” la cual es un componente del lipopolisacárido (LPS) de membrana externa. Aunque dichas pruebas serológicas tienen algunas limitaciones, estas le son adjudicadas mas al animal, que a la prueba en sí (4,11,14,15,17,23,40).

4.12.1 PRUEBAS BACTERIOLOGICAS

El tipo de muestra para aislamiento bacteriológico debe ser sangre con anticoagulante, pudiéndose utilizar el Citrato de Sodio al 3.8%. Las muestras obtenidas de muchos órganos, fetos (deben ser refrigerados, no congelados), envolturas fetales y especialmente de ganglios linfáticos se tiñen en el laboratorio con colorantes especiales, como la coloración en Ziehl-Neelsen modificada por Stam, donde las Brucellas se colorean de rojo, debido a que estas bacterias ofrecen cierta resistencia a la decoloración de ácidos(3,9,12,15,18,27,40).

4.12.1.1 Cultivo

El aislamiento de Brucella suis se logra a partir de ganglios linfáticos cefálicos (mandibular, suprafaríngeo), gastrohepático, ilíaco interno o parotideo. El ganglio hepático es el que proporciona mayor porcentaje de recuperaciones. Se obtiene una buena recuperación de calostro, mamas, bazo, hígado; a veces de los riñones, orina, ganglios supramamarios y mesentéricos, grasa perirrenal (cuando existen abscesos)(9).

Los medios para el cultivo de las bacterias más utilizados son el agar albimi, agar papa, agar sangre, tripticasa soya, Thayer-martin modificado y Ruiz Castañeda para hemocultivo. En biotipos muy exigentes muchas veces es necesarios agregarles un 5% de suero normal estéril. Cuando la muestra está contaminada se utiliza medios selectivos, que contienen además del medio comercial antibióticos y colorantes bacteriostáticos(4,8,18,24,40).

4.12.1.2 Aislamiento e Inoculación

La *Brucella* es aislada a partir del material contaminado (fetos abortados, envolturas expulsadas, testículos con previa castración, abscesos y sangre) y luego se inoculan en animales sensibles como el cobayo, en los cuales se investiga la presencia de aglutininas en la sangre después de 24 a 36 días de inoculación. Cuando la muestra está libre de contaminantes se inocula por vía intraperitoneal y cuando se aísla de muestras de leche o material en descomposición se prefiere la inoculación vía subcutánea o intramuscular(4,18,24,40).

4.12.2 PRUEBAS SEROLOGICAS

En la actualidad las pruebas de seroaglutinación son los métodos más prácticos para diagnosticar la Brucelosis en el cerdo(15,23).

Es indispensable que para las pruebas que se describen a continuación se usen solamente antígenos estandarizados; solo así los resultados de las pruebas tendrán valor. Por otra

parte, debe observarse una adherencia completa a todo detalle en el desarrollo de las pruebas(18,23).

El antígeno para estas pruebas se prepara a partir de la misma suspensión madre de la cepa Brucella abortus y contiene 10-12% de células bacterianas por volumen.

Para obtener el colorante para antígeno de placa se trituran en un mortero 10 gramos de verde brillante y 5 gramos de cristal violeta, se agrega agua destilada hasta completar 1,500

ml. y se utiliza 6 meses después de haberlo dejado reposar(16,23).

4.12.2.1 Prueba de Aglutinación Lenta en Tubo (SAT-A)

Esta prueba detecta de igual manera las inmunoglobulinas de tipo IgG como IgM, por lo que el fundamento de la prueba es igual a la aglutinación en placa y los resultados están dados en Unidades Internacionales.

Los resultados obtenidos pueden darnos reacciones positivas (+), negativas (-), o incompletas (I), ésta última es causa de limitación para la prueba por dar reacciones heteroespecíficas.

Esta prueba también puede dar reacciones falso-positivas relacionadas con anticuerpos residuales debido a la vacunación. Existen también reacciones cruzadas, las cuales se presentan por similitud de los Lipopolisacáridos superficiales de algunas bacterias.

En ocasiones puede producirse un fenómeno de prozona que se presenta en algunos sueros que aglutinan en diluciones alta (1:100 y 1:200) y no se detecta aglutinación en las diluciones bajas (1:25 y 1:50); esto es debido a la presencia de anticuerpos incompletos(18,23,29,38).

4.12.2.2 Prueba de Seroaglutinación Rápida en Placa o de Huddleson

Esta prueba es fácil y rápida. Detecta inmunoglobulinas IgM e IgG. Se emplea la técnica standard, la prueba en placa proporciona resultados comparables a la de tubo. Ocasionalmente se puede encontrar un suero que no reacciona en el mismo

grado en la prueba en tubos o viceversa. La razón de esta variación no es bien conocida. Como el antígeno para la prueba en placa se ha ajustado a una técnica definida, cualquier desviación en el montaje de la prueba dará, naturalmente, resultados inexactos(10,23).

Para la prueba en placa se necesitan de una caja de lectura de unos 45 cms. de largo por 35 cms. de ancho y 15 cms. de profundidad, provista de una placa de vidrio marcada con 60 cuadrados de 3.5 cm^2 en cinco filas de 12, que se sostiene cerca de la parte superior de la caja de manera que pueda quitarse y ponerse fácilmente. La caja debe estar iluminada de modo que la luz incida oblicuamente y por debajo, en la mezcla de suero y antígeno. Esto se consigue utilizando un tubo de luz fluorescente o en su defecto dos bombillas eléctricas comunes cubiertas parcialmente. El interior de la caja debe pintarse de negro opaco. La caja estará provista de una tapa de vidrio para evitar que la mezcla se evapore con demasiada rapidez(10,23).

En la técnica a utilizar se enciende la luz en caja de lectura para calentar ligeramente la placa de vidrio antes de empezar a hacer las reacciones. Tanto el suero como el antígeno deben llevarse aproximadamente a temperatura ambiente, por lo que conviene sacar de la refrigeradora el reactivo y las muestras de suero una media hora antes de iniciar las pruebas. Con una pipeta para serología, sostenida en posición oblicua de 45 grados y 0.01 ml. de la primera muestra de suero en cuatro casilleros de una misma hilera de la placa. Se agita suavemente el frasco de antígeno para asegurar una suspensión homogénea y con gotero sostenido en posición vertical, se deja caer una gota de antígeno (0.03 ml.) en cada cuadrado con suero.

Empezando por el cuadrado con 0.01 ml. de suero, se mezclan bien el suero y el antígeno con un palillo o con el mezclador de alambre por medio de movimientos circulares, abarcando las áreas siguientes.

1/25 27mm. de diámetro

1/50 24mm. de diámetro

1/100 21mm. de diámetro

1/200 18mm. de diámetro

La placa de vidrio se retira de la caja y se mueve suavemente en forma rotativa para homogenizar bien las mezclas. Se vuelve a colocar la placa en la caja, se cubre ésta con la tapa de vidrio y se apagan las luces para impedir la evaporación excesiva. Cuando no se utilice el antígeno se debe guardar en la refrigeradora, Para la lectura las reacciones así montadas deben incubarse durante 8 minutos, antes de proceder a su lectura. La mayoría de las muestras llegan a su punto más elevado de aglutinación en este tiempo.

En raras ocasiones se puede encontrar un suero bovino que aglutina aparentemente en diluciones de 1/25 o 1/50 antes de la rotación de la placa para la lectura de las pruebas; al hacerse la rotación de la placa, los grumos se dispersan completamente para dar una lectura negativa y después de 1 minuto o 2, los grumos pueden volver a aparecer. Este fenómeno debe interpretarse como una falsa aglutinación(10,23,40).

Entre las pruebas serológicas complementarias tenemos:

4.12.2.3 Prueba de Fijación de Complemento

Es una de las pruebas más exactas, ya que es de alta sensibilidad y especificidad. Es una prueba más específica de casos crónicos. La aparición de anticuerpos fijadores de complemento disminuye después de la convalecencia, debido a que el anticuerpo IgM es el activador más efectivo del complemento. Sin estimulación inmunógena cesa la síntesis del IgM. Esta prueba se puede utilizar para aclarar los resultados dudosos de las pruebas de aglutinación. Las limitaciones de esta prueba son que es difícil realizarla en el campo, además se necesita de equipo y personal capacitado(18,23,27,29,33,40).

4.12.2.4 Prueba de Rivanol

Esta prueba posee una alta especificidad, debido a que el Rivanol produce la precipitación de las inmunoglobulinas IgM, determinado solamente las IgG. Esta prueba consiste en colocar 0.4 ml. de suero más 0.4 ml. de Rivanol, agitando posteriormente el tubo para dejarlo reposar durante 5 minutos a 22°C. Luego se centrifuga a 1,500 revoluciones por 5 minutos. El sobrenadante del tubo posee únicamente inmunoglobulinas IgG. Posteriormente se hacen las mismas diluciones que la prueba en placa(18,22,23,39,40).

Técnica:

- a) El suero problema, el antígeno y la solución de Rivanol deben estar a temperatura ambiente por lo menos una hora antes de realizar la prueba.
- b) En un tubo pequeño (13 x 100 mm.), depositar 0.4 ml. del suero problema. Agregar 0.4 ml. de solución Rivanol y mezclar bien agitando el tubo y dejar a temperatura ambiente no menos de 10 minutos y no más de una hora.
- c) Centrifugar las mezclas a 1000 xg (aproximadamente 2000 r.p.m. en un cabezal de 23 cm de radio total hasta el extremo del portatubo), durante 5 a 10 minutos.
- d) Con pipeta serológica Bang, aspirar el líquido sobrenadante y hacer una prueba de aglutinación similar al método de Huddleson. En una placa de vidrio clara y limpia, depositar cantidades de 0.08, 0.04, 0.02 y 0.01 ml.
- e) Agregar una gota (0.03 ml.) de antígeno Rivanol a cada cantidad de líquido sobrenadante, mezclar con un palillo mondadientes o agitador múltiple, comenzando con la cantidad más pequeña (0.01 ml.). Cada dilución debe ser extendida de forma que cubra la superficie indicada para la prueba estándar de aglutinación en placa (18, 21, 24 y 27 mm, respectivamente).
- f) Si se usa agitador metálico, enjuagarlo y secarlo bien antes de pasar a la muestra siguiente.

- g) Inclinar la placa imprimiéndole movimiento circular y haciéndola girar 4 veces. Preparar el reloj para que suene a los 12 minutos.
- h) Transcurridos 6 minutos, girar 4 veces la placa en la forma indicada en el punto anterior. A los 12 minutos rotar nuevamente la placa y efectuar la lectura con luz indirecta sobre fondo negro.

Interpretación:

Para facilitar las lecturas y la comparación con los resultados, en otras pruebas se acepta denominar a las diluciones obtenidas como de 1:25, 1:50, 1:100 y 1:200, respectivamente.

El resultado se expresa en función de la dilución más alta en la que se observa aglutinación.

Cualquiera sea el título de reacción, se interpreta como infectado, ya que la prueba solamente detecta anticuerpos del grupo IgG en la misma forma que en la prueba del 2-mercaptoetanol.

El Rivanol puede causar cierta precipitación de inmunoglobulina IgG, por lo cual el título final puede ser inferior al obtenido con la prueba de 2-mercaptoetanol(21).

4.12.2.5 Prueba de Coombs Modificado

Esta prueba se basa en la presencia de moléculas de inmunoglobulinas sobre las células que se descubren mediante una extensión de la reacción de aglutinación.

Si las células que han absorbido los anticuerpos no aglutinantes se lavan y se vuelven a suspender, después en solución salina que contenga antiglobulina, estos aglutinarán debido a que la antiglobulina es capaz de reunir las moléculas de anticuerpo anti-Brucella que se hallan adheridos a las células bacterianas.

Para esta prueba se utiliza el reactivo de Coombs, el cual produce aglutinación de anticuerpos incompletos o no aglutinantes. Este reactivo es un antisuero específico contra la globulina o el suero completo a analizar de las distintas especies animales.

Cuando se hallan presentes anticuerpos incapaces de realizar una aglutinación directa de células se produce el fenómeno de prozonas(5,18,30,38,40).

4.12.2.6 Prueba de la Tarjeta o Rosa de Bengala

También es conocida como antígeno tamponado de la tarjeta. Es una prueba rápida de aglutinación macroscópica y que solo detecta IgG.

Se basa en la inhibición de algunas aglutininas inespecíficas a pH bajo. El antígeno utilizado en la prueba de la tarjeta se colorea con Rosa de Bengala, tamponada a Ph=3.65, con un antígeno corpuscular (Brucella abortus), en una concentración de 8%, y a temperatura de 4 a 8 grados centígrados, evitando la congelación.

Esta prueba no presenta resultados sospechosos.

Metodología:

- Sobre la lámina de vidrio esmerilada colocar 0.03 ml. De suero problema.
- Colocar cerca de ésta, 0.03 ml. De antígeno Rosa de Bengala (de card-test).
- Mezclar con mondadientes diferente para cada muestra, haciendo un diámetro de 23-24 milímetros.
- Girar la lámina por 4 minutos (10-12 movimientos por minuto)
- A los cuatro minutos leer el resultado sobre un fondo blanco. Las positivas presentan grumos de aglutinación grandes o pequeños.
- Por ser cualitativa la prueba se toma como positivo o negativo.

Se dan reacciones de animales negativos, que son reacciones heteroespecíficas por mostrar títulos bajos a la prueba en tubo y placa.

Los positivos se confirman con la prueba de Rivanol(18,21,23,25,38,40).

4.12.2.7 Prueba de Aglutinación con 2 Mercaptoetanol

Es la prueba de aglutinación practicada en presencia de 2 mercaptoetanol que inactiva las moléculas IgM presentes en el suero analizado(39); la prueba está

considerada como indicador de la cantidad de aglutininas IgG anti-Brucella presentes en el suero. Evaluaciones realizadas sobre el uso de esta prueba nos indica que detecta el 96% de los animales infectados(18).

4.12.2.8 Prueba de Inactivación por Calor

En esta prueba se eliminan las macroglobulinas (IgM) para poder determinar las microglobulinas (IgG) que son termoresistentes, debido a que la prueba se basa en tiempo y temperatura (65°C por 15 minutos). Las aglutinaciones a partir de las diluciones 1/25 son positivas(18,39,40).

4.12.3 DIAGNOSTICO DIFERENCIAL

La Brucelosis porcina debe ser diferenciada sobre todo de otras especies de Brucella, como Br. melitensis y Br. abortus (transitoria)

Por la parálisis posterior que produce la enfermedad debe diferenciarse de:

- Hipovitaminosis A.
- Carencia de factores del complejo B.
- Osteomalacia con fractura de vértebras lumbares.
- Intoxicación con arsenicales orgánicos, magnesio, insecticidad a base de fosfatos orgánicos.
- Enfermedades de médula espinal.

Por la tormenta de abortos que produce debe diferenciarse de Leptospirosis, Síndrome Reproductivo Respiratorio Porcino (PRRS), Erisipela Porcina, Parvovirus Porcina, Enfermedad de Aujeszky, Toxoplasmosis, bacterias oportunistas y otros virus como el de la Peste Porcina Africana y Enfermedad Vesicular Porcina.

Debido a la mortalidad de lechones lactantes que se produce deben considerarse también las enfermedades del recién nacido. Otras causas que pueden influenciar para la

diferenciación de la enfermedad son la sobrealimentación e hipoalimentación, toxinas, presencia de hongos, complicaciones en el parto, etc.(4,12,40).

4.13 TRATAMIENTO

No se han encontrado medicamentos eficaces en un 100% para curar la Brucelosis porcina, aunque se dice que puede ayudar en un 50%, un régimen de combinación de 2 o 3 drogas en forma efectiva como la doxiciclina plus + rifampicina y/o streptomycin, ésta en dosis por 21 días. Cursos largos de terapia podrían ser utilizados en los casos de osteomielitis o meningitis(4,40).

En casos de Brucelosis Crónica no se obtienen efectos benéficos con antibioterapia. Y algunos antibióticos se comportan eficaces In vitro, no se garantiza una buena actividad en vivo y estos son: Cotrimoxazole, Fluoroquinolonas y Alfernicol.

4.14 PREVENCIÓN Y CONTROL

Ya que no existe una vacuna adecuada para proteger a los cerdos contra esta enfermedad el mejor método de prevención son medidas de bioseguridad en cuanto a estricto lavado y desinfectado de instalaciones y equipo, y cercamiento de la granja para evitar contacto con animales silvestres. También se debe investigar serológicamente a los sementales, adquirir reproductores libres de la enfermedad, colocar en cuarentena de tres meses a los animales comprados y realizarles pruebas serológicas antes de ingresar a la pira.

La Brucelosis porcina es una enfermedad de reporte obligatorio. El control más adecuado se realiza por medio del aislamiento y sacrificio de animales infectados. Pueden seguirse tres planes de control:

- Para rebaños comerciales se usa un método radical, en el cual se vende la pira completa para el sacrificio con su posterior limpieza y desinfección del equipo y porquerizas.

- En casos de piaras donde se debe conservar las líneas genéticas se realizan pruebas serológicas constantes a los reproductores y seleccionando y apartando a los negativos. Si la piara completa pasa dos pruebas negativas con intervalo de 90 días se califica como libre de la enfermedad.
- En piaras donde son pocos los reactores positivos y no hay síntomas clínicos pueden hacerse pruebas cada 30 días para ir separando a los positivos hasta que todo el grupo sea negativo, aunque es un método que no es recomendado(4,9,12,15,17,40).

4.14.1 MEDIDAS DE MANEJO

4.14.1.1 Higiene

Se debe iniciar con un buen lavado de las superficies expuestas como pocilgas, plataformas de alimentación, equipo de transporte y ropa de hule, con gran cantidad de agua para así diluir al agente infeccioso; seguido esto de una desinfección con ácido crecílico, solución de cresoles compuesta, cuaternario de amonio y clorinados.

También es recomendable quemar y enterrar todos los productos provenientes de la gestación(15,19,23).

4.14.1.2 Pasteurización

Esto se practica únicamente en el caso la leche bovina para consumo humano(23).

4.14.1.3 Monitoreo y Eliminación de Reactores Positivos

Se recomienda hacer muestreos periódicos, aunque la prueba de aglutinación negativa no es del todo concluyente, porque se ha aislado Brucella en casos de seroaglutinación negativa. De manera que en tanto no exista una vacuna adecuada, el control deberá basarse en la realización de pruebas serológicas para detectar a los animales reactores positivos, y notificarlos al igual que a los

sospechosos por ser de notificación obligatoria y la eliminación y sacrificio de los mismo(18,23).

Sin embargo como método de control se recomienda comprar animales libres de la enfermedad así como vender piaras completas para el matadero, así como muestrear y cuarentenar todo animal de nuevo ingreso a la explotación.

Exigir certificados de animales que tengan ya 6 meses de edad antes de ser adquiridos, de que se encuentran libres de la enfermedad y hacer dos pruebas consecutivas dentro de 90 días para poder ser certificados(15,19,23).

V. MATERIALES Y METODOS

5.1 AREA DE ESTUDIO

Banco de sueros sanguíneos de porcinos de la campaña de Control y Erradicación de Peste Porcina Clásica del departamento de El Petén, proporcionado por el Ministerio de Agricultura, Ganadería y Alimentación (MAGA).

5.2 MATERIALES

5.2.1 Recursos Humanos:

- Investigador interesado personal técnico del Ministerio de Agricultura, Ganadería y Alimentación (MAGA) de Escuintla.
- M. V. Del sector oficial y privado
- Catedráticos asesores

5.2.2 Recursos Biológicos:

- 4,914 sueros sanguíneos porcinos
- Antígeno de Rosa de Bengala con un pH 3.65 en una concentración del 8%
- Solución de Rivanol
- Antígeno de Rivanol

5.2.3 Recursos de Campo.

Se trabajó los sueros en el laboratorio de diagnóstico del Ministerio de Agricultura, Ganadería y Alimentación (MAGA) del departamento de Escuintla.

5.2.4 Recursos de Oficina:

- Computadora
- Impresora

- Cinta
- Protocolos de diagnóstico de Brucelosis
- Hojas de papel bond.
- Escritorio
- Vehículo y gasolina

5.2.5 Recursos de Laboratorio:

- Placas de vidrio cuadrículada
- Gradillas
- Tubos de ensayo
- Pipetas serológicas de 1 ml.
- Pipetas serológicas de Bang
- Cámara de fondo oscuro
- Puntas para micropipetas
- Micropipetas
- Palillos
- Guantes
- Crayon graso
- Agua desmineralizada
- Jabón extran
- Mayordomo
- Bandeja de metal
- Cronómetro
- Centrífuga
- Propipeta
- Lavador para pipetas nalgene
- Batas
- Reloj de laboratorio

5.2.6 Centro de Referencia

- Biblioteca de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia
- Archivos del Ministerio de Agricultura, Ganadería y Alimentación (MAGA)
- Departamento de Microbiología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia.
- Biblioteca Central de la Universidad de San Carlos de Guatemala
- Biblioteca del INCAP
- Biblioteca del IICA
- Internet
- Biblioteca Nacional de Guatemala
- Laboratorio de APOGUA

5.3 METODOLOGIA

Un banco de 4,914 sueros proporcionado por el laboratorio de diagnóstico del Ministerio de Agricultura, Ganadería y Alimentación (MAGA) a través de la campaña Control y Erradicación de Peste Porcina Clásica en el departamento de El Petén con apoyo de la Asociación de Porcicultores de Guatemala (APOGUA); ambas instituciones procedieron a la recolección de muestras de los 12 municipios de el departamento, cubriendo una extensión aproximadamente de 35,854 Kms; dio inició en el mes de septiembre del 2,000 a mayo 2,002 (Anexo 1). Desde el punto de recolección las muestras fueron transportadas en condiciones adecuadas y han sido conducidas al laboratorio de diagnóstico del departamento de Escuintla donde se encuentran actualmente; a las cuales se les realizó la prueba de la Tarjeta o Rosa de Bengala y a los reactores positivos se les hizo una segunda prueba complementaria de Rivanol para reconfirmar el diagnóstico o descartar alguna reacción heteroespecífica que diera un falso resultado. Los datos se consignaron en las boletas elaboradas para el efecto(Anexo 2 y 3).

5.4 MÉTODOS DE LABORATORIO

5.4.1 PRUEBA DE LA TARJETA Ó CARD TEST, BRUCELLA

METODOLOGIA:

- SOBRE LA PLACA DE VIDRIO COLOCAMOS 0.03 ML. DE SUERO PROBLEMA
- COLOCAMOS 0.03 ML. DE ANTÍGENO ROSA DE BENGALA
- SE MEZCLARON CON UN PALILLO DE DIENTES EN FORMA CIRCULAR DE APROXIMADAMENTE DE 23 A 24 MILÍMETROS.
- ROTAMOS LA PLACA POR 4 MINUTOS CON INTERVALOS DE 20 SEGUNDOS POR CADA MOVIMIENTO ONDULAR.
- A LOS 4 MINUTOS SE OBSERVÓ EN LA CÁMARA DE FONDO OSCURO
- PARA SU INTERPRETACIÓN SE ENCONTRÓ AGLUTINACIÓN EN LAS MUESTRAS POR LO QUE SE DIO POR POSITIVA A LA PRIMERA PRUEBA, TENIENDO QUE RECURRIR A UNA SEGUNDA PRUEBA CONFIRMÁTIVA.

5.4.2 PRUEBA DE RIVANOL

METODOLOGIA

- TANTO EL SUERO PROBLEMA COMO EL ANTIGENO Y LA SOLUCIÓN DE RIVANOL SE DEJARON LLEGAR A TEMPERATURA AMBIENTE ANTES DE REALIZAR LA PRUEBA.
- EN UN TUBO DE ENSAYO SE DEPOSITARON 0.4 ML. DEL SUERO PROBLEMA AGREGAMOS 0.4 ML. DE SOLUCIÓN RIVANOL, MEZCLAMOS Y AGITAMOS EL TUBO DEJÁNDOLO POR UN ESPACIO DE 10 MINUTOS A TEMPERATURA AMBIENTE.
- DESPUÉS SE PROCEDIÓ A CENTRIFUGAR LAS MUESTRAS A 2000 RPM. DURANTE 5 A 10 MINUTOS.
- CON PIPETAS SEROLOGICAS BANG SE ASPIRO EL LÍQUIDO SOBRENADANTE, Y SE DEPOSITÓ EN UNA PLACA DE VIDRIO CLARO CANTIDADES DE 0.08, 0.04, 0.02 , 0.01 Y 0.005 ML.

- AGREGAMOS 0.03 ML. DE ANTIGENO RIVANOL A CADA SOBRENADANTE, MEZCLAMOS CON UN PALILLO INICIANDO CON LA DILUCIÓN MÁS PEQUEÑA.
- INICIAMOS CON MOVIMIENTOS ROTATORIOS HACIENDO GIRAR CADA 4 VECES PARA CADA LADO.
- A LOS 6 MINUTOS NUEVAMENTE VOLVEMOS A GIRAR LA PLACA DE IGUAL MANERA.
- Y A LOS 12 MINUTOS ROTAMOS POR ÚLTIMA VEZ; Y EFECTUAMOS LA LECTURA CON LUZ INDIRECTA SOBRE FONDO NEGRO.
- INTERPRETAMOS QUE SI OBSERVAMOS AGLUTINACIÓN EN LA DILUCIÓN MÁS ALTA, CUALQUIERA QUE SEA EL TÍTULO DE REACCIÓN, SE INTERPRETA COMO INFECTADO.

VI. RESULTADOS Y DISCUSION

El total del banco de sueros trabajados fue de 4914 muestras, obtenidos en los doce municipios de el departamento de El Petén encontrándose una mayor proporción de sueros procedentes de el municipio de Sayaxche (22.91%) (Anexo 4 y 8)

A los sueros obtenidos se les practicó la prueba de Card Test encontrándose 29 sueros reactores positivos lo cual dio una prevalencia de 0.59% para el departamento de El Petén según esta prueba (anexo 4).

De acuerdo con el protocolo a los sueros positivos a la prueba de Card Test, se debió correr una segunda prueba complementaria, en este caso se practicó la prueba de Rivanol , no encontrándose ningún suero positivo (Ver anexo 5).

Con relación al sexo, la población de hembras muestreadas (54.64%) fue mayor que la población de machos (Anexo 6 y 9).

Con relación a edad, la población mayoritaria fue la comprendida de 6-12 meses con un 44.94% (ver anexo 7 y 10).

La incongruencia entre los resultados obtenidos con ambas pruebas a pesar de que ambas detectan inmunoglobulinas IgG puede haberse debido entre otras causas a:

1. Interpretación de resultado al momento de la lectura.
2. Proceso de centrifugado de la muestra.
3. Al momento de conjugar o mezclar el suero con el antígeno de Rosa de Bengala.

4. Al momento de succionar con la pipeta el suero o sobrenadante de la muestra de sangre.
5. Manipulación y traslado de los sueros.

VII. CONCLUSIONES

1. El 0.59% de las muestras del banco de sueros del departamento de El Petén reaccionará positivamente a la prueba de Card Test.
2. De éstos ninguno reaccionó positivamente a la prueba complementaria de Rivanol.
3. No existen retores positivos a Brucella en la población porcina de traspatio en el departamento de El Petén.

VIII. RECOMENDACIONES

1. Los resultados obtenidos confirman la necesidad de realizar dos pruebas complementarias a aquellos sueros que resulten positivos a la primera prueba, tal como lo establece la normativa internacional correspondiente.
2. Mantener e implementar programas de vigilancia epidemiológica para el control de la migración de porcinos hacia el departamento, y control de los pasos fronterizos hacia México y Belice siendo ya mercados potenciales para el departamento y también para intercambios de ejemplares tanto machos como hembras para hacer conciencia en la población de la importancia de las medidas cuarentenarias a las que hay que someter a los animales para evitar la introducción no solo de esta enfermedad sino de otras más que en un momento dado pueden causar serias pérdidas económicas.
3. Continuar con el programa de recolección de muestras en forma periódica para determinar el estatus de la enfermedad o enfermedades que se pueden analizar y darle continuidad al programa, y si se detectara alguna variación se deben tomar las medidas pertinentes para su control.
4. En base a lo anterior debe exhortarse al Ministerio de Agricultura, Ganadería y Alimentación (MAGA), a la Asociación de Porcicultores de Guatemala (APOGUA), a continuar con sus programas en forma conjunta para el mejor desempeño en sus actividades y conciencia en la población para lograr el éxito de los programas que se llevan a cabo.

IX. RESUMEN

El presente trabajo de investigación se llevó a cabo en los 12 municipios incluyendo aldeas, caseríos del departamento de El Petén. Se realizó con un banco de sueros proporcionados por el Ministerio de Agricultura, Ganadería y Alimentación (MAGA) y la Asociación de Porcicultores de Guatemala (APOGUA) conservados en condiciones adecuadas de congelación en los laboratorios del Ministerio. A las 4914 muestras se les realizó la prueba de rutina Card Test dando 29 muestras positivas, teniendo que recurrir a la prueba complementaria confirmativa de Rivanol dando un resultado negativo de la totalidad de las muestras.

X. BIBLIOGRAFIA

1. ACHA, P.N. SZYFRES, B. 1986. Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y los animales. 2 ed. Washington, D.C. Organización Panamericana de la Salud 708 P.
2. ACTUALIZACION DE Brucelosis en animales domésticos: Programa de control y/o erradicación de Brucelosis, s.f. Guatemala, Ministerio de agricultura, Ganadería y alimentación, Organización Internacional Regional de Sanidad animal, Pro-Salud Animal, Organización de las Naciones Unidas. 19 p.
3. ARCEYUZ MADRIZ, F. 1984. Estudio serológico de Brucelosis en bovinos machos para destace procedente de los departamentos de Retalhuleu e Izabal, Guatemala, Tesis Med. Vet. Guatemala, Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. 54 p.
4. BLOOD, D.C.; RADOSTITS, O.M.; HENDERSON, J.A. 1987. Medicina Veterinaria Trad. Por Fernando Colchero Aribarrena y Antonio Garst Thakheimer, 6 ed. México, interamericana p. 677-679
5. BRUNER, D.W.; GILLESPIE, J.H. 1970. Enfermedades infecciosas de los animales domésticos. 3 ed. México, centro Regional de ayuda Técnica 1040 p.
6. BURROW, W. MOULDER, J.W.; LEWERT, R.M. 963 Textbook of microbiology ed. Philadelphia, Saunders Company 1155 p.

7. CANALES PORTILLO, J.S. 1984. Prevalencia de Brucelosis porcina en cerdos de abasto de la ciudad de Guatemala. Tesis Med. Vet. Guatemala, Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. 46 p.
8. CARTER, G.R.; D.V.M.; M.S.; D.V.Sc. 1989. Fundamentos de Bacteriología y Micología Veterinaria. Trad. Por Manuel Ramis Verges Zaragoza, España Acribia. 305 p.
9. CASAS OLASCOAGA, R. 1989. Reseña de la Brucelosis porcina. Río de Janeiro Brasil, s.n. 28 p.
10. CENTRO Panamericano de Zoonosis. Brucelosis. Técnicas e Interpretación de Seroaglutinación para el Diagnostico de la Brucelosis bovina. Organización Panamericana de la Salud, Oficina Sanitaria Panamericana, Oficina Regional de la Organización Mundial de la Salud. P. 1-9
11. CERNA SANDOVAL, S.A. 1984. Situación de la Brucelosis porcina en el Municipio de San Francisco Menéndez, Departamento de Ahuachapan, El Salvador, C.A. Tesis Med. Vet. Guatemala, Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. 72 p.
12. DANNENBERG, H.D. RICHTER, W.; WESTCHE, W.D. 1970. Enfermedades del cerdo. Trad. Por Jaime Esain Escobar. Zaragoza, España, Acribia p. 199-203.
13. DAVIS, B.D. et al 1979. Tratado de microbiología. 2 ed. España, Salvat. P. 838-843.
14. DEYOE, B.L. 1986. Brucellosis, In Diseases of Swine. 6 ed. U.S.A., s.n. v. 2. P. 599-606
15. DUNNE, H.W. 1967. Enfermedades del cerdo. Trad. Por José Pérez Lías y Alfredo Beltran. 2 ed. México, Unión Tipográfica p. 362-380
16. ELABORACION y normalización de antígenos para las pruebas de seroaglutinación de la Brucelosis. 1969. Argentina, Organización Panamericana de la Salud 22 p. (Nota Técnica No. 3)
17. EL MANUAL merck de veterinaria: Un manual de diagnóstico, tratamiento, prevención y control de las enfermedades para el veterinario. 1988. Trad. Por Clarence M. Frazer. 3 ed. España, Centrum. P. 739, 743-745.

18. FIGUEROA, M. 1984. Enfermedades Infecciosas de los animales Domésticos en Centroamérica. San José, C.R., Universidad Estatal a Distancia. P. 68-97
19. FLORES MENENDEZ, J.; AGRAZ GARCIA, A. 1965. Ganado porcino, cría, explotación e industrialización. México Agrícolas Turcco. 691 p.
20. GALL F. 1981. Diccionario Geográfico de Guatemala. Guatemala Tipografía Nacional t. 2 p. 836-840
21. GARCIA CARRILLO, C. 1982. Pruebas suplementarias para el diagnóstico de Brucelosis. Argentina. Organización Panamericana de la Salud. P. 13-14. (Nota Técnica No. 25)
22. GINEBRA COMITÉ mixto FAO/OMS de expertos en Brucelosis. 1986. Argentina, Organización Mundial de la Salud. 25 p.
23. HERNANDEZ ZOTO, E.G. 1999. Prevalencia en Brucelosis en cerdos de traspatio en el Municipio de Palín, Departamento de Escuintla, Guatemala, Tesis Med. Vet. Guatemala. Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. 38 p.
24. JAWETZ, E.; MELNICK, J.L.; ADELBERG, E.A. 1977. Manual de microbiología médica. Trad. Por Armando Soto R. 7 ed. México, El Manual Moderno. 658 p.
25. KELLY, W.R. 1967. Veterinary Clinical Diagnosis. Baltimore, The Williams & Wilkins Co. 294 p.
26. K.V.F. JUBB PETER C.; KENNEDY NIGEL PALMER. Patología de los Animales Domésticos. Tomo 3. 3 ed. Editorial Agropecuaria Hemisferio Sur S.R.L. Montevideo, Uruguay. 571 p.
27. MERCHAT, I.A.; PACKER, R.A. 1980. Bacteriología y Virología Veterinarias. 3 ed. Zaragoza, Esp.Acribia. 768 p.
28. MONOGRAFIA DEL Departamento de Guatemala. 1990. Guatemala, Oscar De león Gamboa. 35 p. (Colección Claudia).
29. OLSEN, R.G.; KRAKOWKA, S.A. 1983. Inmunología e inmunopatología de los animales domésticos. Trad. Por Germán González. México, El Manual Moderno. 227p.

30. OPPENHEIM, I.A. 1973. Manual para técnicos de laboratorio. México, Centro Regional de Ayuda Técnica 188 p.
31. PRADO E. 1985. Comunidades de Guatemala, recopilación. Guatemala Hermes. P.47-49.
32. PROYECTO CONTROL DE LA FIEBRE POCINA CLASICA. 1997. Ed. Por David René Orellana. Guatemala, Ministerio de Agricultura, Ganadería y Alimentación. 64 p.
33. PRUEBA DE Fijación del complemento para el diagnóstico de la Brucelosis. 1981. Argentina, Organización Panamericana de la Salud. 30 p. (Nota técnica No. 24)
34. REYES GONZALEZ, C.D. 1991. Determinación serológica de Brucelosis en cerdos y su asociación con Brucelosis en bovinos en dos áreas con diferente prevalencia, en el municipio de Chiquimulilla, departamento de Santa Ros, Guatemala. Tesis Med. Vet. Guatemala, Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. 56 p.
35. SANDOVAL ALARCON N.O. 1998. Determinación serológica de Brucelosis en equinos, suinos y caninos asociada con Brucelosis bovina, en el parcelamiento Cuyuta del municipio de Masagua, departamento de Escuintla, Tesis Med. Vet. Guatemala, Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. 46 p.
36. SMITH H.A.; JONES, T.C.; HUNT, R.D. 1972. Veterinary pathology. 4 ed. U.S.A., Lea & Febiger. P. 594-598
37. TAYLOR, D.J. 1987. Enfermedades del cerdo. Trad. Por Michael Carroll. 3 ed. México, El Manual Moderno. P. 75-76
38. TÉCNICAS E Interpretación de las pruebas de sero-aglutinación para el diagnóstico de la Brucelosis bovina. 1968. Argentina, Organización Panamericana de la Salud. 9 p. (Nota Técnica No. 2)
39. TIZARD, I. 1987. Inmunología Veterinaria. Trad. Por Carlos Eduardo Casacuberta Zaffaroni. 3 ed. México D.F., Interamericana. 414 p.
40. ZEA MUÑOZ, J.S.A. 1999. Prevalencia de Reactores Positivos a Brucelosis en

Cerdos de Traspatio en el Municipio de Villa Canales, Departamento de Guatemala.
Tesis Med. Vet. Guatemala, Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de
Medicina Veterinaria y Zootecnia. 36 p.

XI. ANEXOS