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



CLAUDIA MARÍA VALENZUELA ORTIZ

GUATEMALA, MARZO DE 2011

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

"DETERMINACIÓN DE ANTICUERPOS CONTRA Brucella abortus EN PERSONAL DE LECHERÍAS ADSCRITAS A LA CÁMARA

DE PRODUCTORES DE LECHE"

TESIS:

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

POR

CLAUDIA MARÍA VALENZUELA ORTIZ

Previo a conferírsele el Grado Académico de **MÉDICA VETERINARIA**

Guatemala, Marzo de 2011

JUNTA DIRECTIVA

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

DECANO M.V. Leonidas Ávila Palma

SECRETARIO M.V. Marco Vinicio García Urbina

VOCAL I M.V. Yeri Edgardo Véliz Porras

VOCAL II M.V. M.Sc. Fredy Rolando González Guerrero

VOCAL III M.V.Z. Mario Antonio Motta González

VOCAL IV Br. Set Levi Samayoa López

VOCAL V Br. Luis Alberto Villeda Lanuza

ASESORES

M.V. Blanca Zelaya de Romillo

M.V. Carlos Enrique Camey Rodas

M.V. Virginia Bolaños de Corzo

HONORABLE TRIBUNAL EXAMINADOR

En cumplimiento a lo establecido por los estatutos de la Universidad de San Carlos de Guatemala, presento a su consideración el trabajo de Tesis titulado:

DETERMINACIÓN DE ANTICUERPOS CONTRA *Brucella abortus* EN PERSONAL DE LECHERÍAS ADSCRITAS A LA CÁMARA DE PRODUCTORES DE LECHE

Como requisito previo a optar el título profesional de

MÉDICA VETERINARIA

ACTO QUE DEDICO

A Dios Por estar presente en cada momento de mi vida, por bendecirme

cada día y permitirme alcanzar una más de mis metas.

A mi madre Judith Ortiz que con su amor y fortaleza me ha llevado a ser la

persona que soy.

A mi padre Eduardo Valenzuela por su amor, esfuerzo y apoyo incondicional.

A mis abuelas Eugenia Gámez y Olivia Pérez, por haber hecho de mis padres las

maravillosas personas que son.

A mi novio Miguel Zúñiga por convertirse en algo tan especial en mi vida.

A mi familia Por todas las muestras de cariño y apoyo.

A mis amigos Por hacer de ésta experiencia algo inolvidable, por su apoyo y

sobre todo su amistad.

AGRADECIMIENTOS

A Dios Por prestarme una vida tan bella.

A mi madre Por preocuparte, consentirme, amarme y luchar por mí

desde el principio.

A mi padre Por tus sabios consejos, por tu ayuda no importando qué o

dónde, gracias por estar siempre presente.

A mi novio Por tu apoyo y ayuda constante, por tu amor y por todos los

momentos de felicidad que hemos vivido juntos.

A mis amigos En especial a María José Cruz, Viviana Álvarez, Glenda

Vides, Wendy Burgos y Luis Choc por su compañía, amistad

y sabiduría.

A mis catedráticos En especial a Dr. Heliodoro García, Dra. Blanca de Romillo,

Dr. Carlos Camey, Dra. Virginia de Corzo y Dr. Yeri Véliz por

compartir sus conocimientos, por su paciencia,

comprensión y cariño.

A la CPLG Por permitirme seguir aprendiendo y especialmente a los

socios que participaron en este estudio que me recibieron

tan amablemente en sus instalaciones.

ÍNDICE GENERAL

l.	INTRODUCCIÓN	1
II.	HIPÓTESIS	3
III.	OBJETIVOS	4
IV.	REVISIÓN DE LITERATURA	5
4.1	Brucella	5
4.1.1	Historia	5
4.1.2	Etiología	6
4.1.3	Morfología y Tinción	6
4.1.4	Características de Crecimiento	7
4.1.5	Resistencia y Supervivencia	8
4.1.6	Reservorios zoológicos y geográficos de Br. abortus	9
4.1.7	Transmisión	10
4.1.8	Patogenicidad	11
4.1.9	Patología	13
4.1.10	Aspectos inmunológicos	14
4.1.9.1	Inmunización artificial	14
4.1.11	Diagnóstico de Laboratorio	16
4.1.11.1	Recogida de muestras	16
4.1.11.2	Examen directo	16
4.1.11.3	Métodos de aislamiento	17
4.1.11.4	Identificación	18
4.1.11.5	Morfología colonial	18
4.1.11.6	Pruebas bioquímicas	19
4.1.11.7	Diagnóstico inmunológico	20
4.1.12	Tratamiento	21
4.1.13	Control y Profilaxis	22
4.1.13.1	Control mediante la inmunización de los animalessensibles	22
4.1.13.2	Inmunización seguida de pruebas diagnósticas y sacrificio	22
4.1.14	Epidemiología de la Brucelosis humana	22
4.2	Brucelosis en el Humano	25
4.2.1	Brucelosis en Grupos de Alto Riesgo	28
4.2.2	Tratamiento	29
4.2.3	Diagnóstico de la Brucelosis humana	29
4.3	Investigaciones sobre Brucelosis realizadas en Guatemala	34
4.4	Cámara de Productores de Leche de Guatemala	35
V.	MATERIALES Y MÉTODOS	37
5.1	Materiales	37
5.1.1	Recursos Humanos	37
5.1.2	Recursos de Campo	37
5.1.3	Recursos de Laboratorio	37

5.1.4	Recursos Biológicos	38
5.1.5	Centros de Referencia	38
5.2	Metodología	39
5.2.1	Diseño del Estudio	39
5.2.1.1	Muestra	39
5.2.2	Metodología de recolección de muestras a nivel de campo	39
5.2.1.1	Extracción de Muestra Sanguínea	39
5.2.1.2	Identificación y Almacenamiento de la Sangre	40
5.2.3	Métodos de Diagnóstico en Laboratorio	40
5.2.3.1	Prueba de Rosa de Bengala	40
5.2.4	Análisis Estadístico	41
VI.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	42
VII.	CONCLUSIONES	43
VIII.	RECOMENDACIONES	44
IX.	RESUMEN	45
Χ.	BIBLIOGRAFÍA	46
XI.	ANEXOS	48
11.1	Consentimiento Informado	49
11.2	Ficha de Toma de Muestras	51
11.3	Ficha de Resultados de la Prueba Card Test	52

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA 1	Distribución por Sexo de individuos muestreados para la determinación de anticuerpos contra <i>Brucella abortus</i> por medio de Card Test durante el período de Octubre a Diciembre de 2010	63
TABLA 2	Distribución por Edad de individuos muestreados para la determinación de anticuerpos contra <i>Brucella abortus</i> por medio de Card Test durante el período de Octubre a Diciembre de 2010	64
TABLA 3	Distribución por Procedencia de individuos muestreados para la determinación de anticuerpos contra <i>Brucella abortus</i> por medio de Card Test durante el período de Octubre a Diciembre de 2010	65
TABLA 4	Distribución por Sexo de casos positivos y negativos de individuos muestreados para la determinación de anticuerpos contra <i>Brucella abortus</i> por medio de Card Test durante el período de Octubre a Diciembre de 2010	66
TABLA 5	Distribución por Edad de casos positivos y negativos de individuos muestreados para la determinación de anticuerpos contra <i>Brucella abortus</i> por medio de Card Test durante el período de Octubre a Diciembre de 2010	67
TABLA 6	Distribución por Procedencia de casos positivos y negativos de individuos muestreados para la determinación de anticuerpos contra <i>Brucella abortus</i> por medio de Card Test durante el período de Octubre a Diciembre de 2010	68

ÍNDICE DE GRÁFICAS

GRÁFICA 1	Distribución por Sexo de individuos muestreados para la determinación de anticuerpos contra <i>Brucella abortus</i> por medio de Card Test durante el período de Octubre a Diciembre de 2010	63
GRÁFICA 2	Distribución por Edad de individuos muestreados para la determinación de anticuerpos contra <i>Brucella abortus</i> por medio de Card Test durante el período de Octubre a Diciembre de 2010	64
GRÁFICA 3	Distribución por Procedencia de individuos muestreados para la determinación de anticuerpos contra <i>Brucella abortus</i> por medio de Card Test durante el período de Octubre a Diciembre de 2010	65
GRÁFICA 4	Distribución por Sexo de casos positivos y negativos de individuos muestreados para la determinación de anticuerpos contra <i>Brucella abortus</i> por medio de Card Test durante el período de Octubre a Diciembre de 2010	66
GRÁFICA 5	Distribución por Edad de casos positivos y negativos de individuos muestreados para la determinación de anticuerpos contra <i>Brucella abortus</i> por medio de Card Test durante el período de Octubre a Diciembre de 2010	67
GRÁFICA 6	Distribución por Procedencia de casos positivos y negativos de individuos muestreados para la determinación de anticuerpos contra <i>Brucella abortus</i> por medio de Card Test durante el período de Octubre a Diciembre de 2010	68

I. INTRODUCCIÓN

La Brucelosis es una antropozoonosis de distribución mundial, producida por bacterias del género *Brucella*. Su alto grado de morbilidad y mortalidad, tanto en animales como en humanos, es una causa importante de pérdidas económicas y representa un serio problema de salud pública en muchos países. Representa un gran riesgo ocupacional para las personas que trabajan con ganado, para las que elaboran subproductos pecuarios o para aquellas que consumen productos sin pasteurizar provenientes de animales infectados. Provoca una pérdida muy importante a la industria pecuaria, debido a que reduce la producción, disminuye la fertilidad, produce abortos, altera el valor comercial de los derivados y puede generar barreras en la comercialización de los animales y sus subproductos.

Las bacterias del género *Brucella* son pequeñas, gram-negativas y pueden sobrevivir y multiplicarse en las células del sistema fagocitario (por lo que es común encontrar casos de enfermedad de larga evolución tanto en animales como humanos), cuentan con una tendencia a la focalización en determinados órganos, curso recidivante y la dificultad que el tratamiento antibiótico tiene para erradicar completamente la infección.

La aparición de esta enfermedad en humanos siempre se asocia a la enfermedad en el ganado, por lo que para lograr un adecuado control de la enfermedad en el hombre, es fundamental el desarrollo de programas de vacunación del ganado y de vigilancia epidemiológica del mismo. En Guatemala únicamente se ha registrado la existencia de *Brucella abortus* y ésta es de gran importancia por sus daños tanto en la economía como en la salud pública, debido a la gran difusión de la misma en hatos de todo el país.

El propósito de la presente investigación es determinar si existen anticuerpos circulantes contra Brucella abortus en el personal de lecherías, dando a conocer si éstos han estado en algún momento en contacto con dicha bacteria.

II. HIPÓTESIS

El personal de lecherías adscritas a la Cámara de Productores de Leche presenta anticuerpos contra *Brucella abortus*

III. OBJETIVOS

3.1 GENERAL

• Contribuir al estudio de Brucelosis humana en grupos de personas de alto riesgo.

3.2 ESPECÍFICOS

• Determinar la presencia de anticuerpos contra *Brucella abortus* en personal de lecherías de fincas adscritas a la Cámara de Productores de Leche.

IV. REVISIÓN DE LITERATURA

4.1 BRUCELLA

4.1.1 Historia

El descubrimiento del género Brucella se realizó a finales del siglo XIX, a partir de casos de fiebre de Malta en la isla del mismo nombre. Dicho descubrimiento fue realizado por un grupo de investigadores encabezados por David Bruce que con base en las características coloniales y microscópicas la denominaron Micrococcus melitensis. En 1905 el médico maltés Themistokles Zammit pudo comprobar que muchas de las cabras estaban infectadas y que el hombre contraía la enfermedad principalmente por el consumo de leche y subproductos de cabra infectante. En 1897, Bang, en Dinamarca, descubrió Brucella abortus (Br. abortus) en vacas abortadas y demostró que era la causa de la enfermedad conocida como Enfermedad de Bang, Brucelosis o aborto epizoótico del ganado bovino. En 1914, Traum descubrió Br. suis en cerdas abortadas. En 1918 la microbióloga Alice Evans logró establecer una relación entre Br. melitensis y Br. abortus, comprobando las estrechas relaciones morfológicas, fisiológicas y serológicas existentes entre ambos microorganismos y en 1920, Meyer propuso el nombre de Brucella para el género, en honor a su descubridor. El primer caso de fiebre ondulante humana producida por Brucella abortus fue estudiado por Keefer en 1924, éste descubrimiento estimuló las investigaciones dando por resultado el descubrimiento de muchos otros casos alrededor del mundo. 8,13

4.1.2 ETIOLOGÍA

El género *Brucella*, está formado por cocobacilos gramnegativos pequeños, intracelulares facultativos, inmóviles, aerobios, no formadores de esporas y muy resistentes a la desecación, lo que contribuye a que puedan permanecer viables durante largo tiempo en la paja y polvo de los establos o en los alimentos como leche, mantequilla y queso.⁸

El género incluye seis especies, cada una de ellas muestra una preferencia por un huésped determinado, aunque una especie puede infectar varias especies animales, así se tiene que *Br. abortus* infecta normalmente al ganado bovino, *Br. melitensis* afecta cabras y ovejas, *Br. suis* a cerdos, *Br. canis* infecta perros, *Br. ovis* causa infección específicamente a ovejas y *Br. neotomae* a roedores. El hombre es susceptible a cualquiera de las cuatro primeras especies, ya que se considera que *Br. ovis* y *Br. neotomae* poseen una baja virulencia que las restringe solo a ciertos huéspedes. En años recientes, el espectro de huéspedes de *Brucella* se ha ampliado al incluir a los mamíferos marinos. Se han realizado aislamientos de *Brucella* a partir de una gran variedad de focas, leones marinos, delfines y ballenas, en las costas de diferentes continentes. Estas cepas, claramente forman un grupo separado al que, de modo no oficial, han denominado *Br. maris*. ^{8,13}

4.1.3 Morfología y Tinción

Los microorganismos del género *Brucella* son cocobacilos pequeños, gramnegativos que tienen un tamaño de 0.6 a 1.5 de largo por 0.5 a 0.7 µm de ancho. Muchas veces parece que son cocos más que bacilos, cortos con extremos redondeados. Son inmóviles, no forman esporas y carecen de cápsula. La pared celular de las brucelas se halla compuesta de tres capas que son bastante

rígidas y que cuando se rompen aparecen como delgadas membranas colapsadas. Las brucelas se tiñen de rojo con el método de Macchiavello y con el método de Ziehl-Neelsen modificado; excepto *Br. ovis*, se tiñen de color rojo cereza con el método de tinción de Köster. ^{1,8}

4.1.4 Características de crecimiento

Los microorganismos de éste género crecen en aerobiosis y en atmósferas con bajas concentraciones de oxígeno. En el primer aislamiento las brucelas crecen lentamente. Algunas necesitan de 5 a 7 días y algunas hasta 14 o más. Los cultivos no se deben de considerar negativos hasta que no hayan transcurrido 21 días de incubación. Su temperatura óptima de crecimiento es de 37 °C y el intervalo de temperaturas de crecimiento está comprendido entre 20 y 40 °C. El pH óptimo de crecimiento está comprendido entre los valores de 6.8 y 7.2 y el intervalo de crecimiento está comprendido entre los valores de 6.8 y 7.2 y el intervalo de

La morfología colonial de *Brucella* oscila entre lisa y no lisa (mucosa). Las colonias lisas tienen una superficie húmeda y brillante, son traslúcidas con un tono ligeramente azulado y son circulares con bordes lisos. Son cremosas y de consistencia blanda. Las colonias mucosas tienen un aspecto y una consistencia de moco espeso. Tienen el mismo tamaño que las colonias lisas pero son más aplanadas y su superficie es mate. Son viscosas y se adhieren a la superficie de los medios de cultivo. Las colonias rugosas son de color amarillo mate y más opacas que las lisas o que las mucosas. Cuando se exploran con asa de cultivo son friables e incluso desmenuzables. En el primer aislamiento rara vez se encuentran colonias rugosas.¹

Las colonias de las cepas correspondientes a *Br. abortus, Br. suis, Br. melitensis* y *Br. neotomae*, generalmente son lisas cuando se aíslan. Cuando se cultivan en el laboratorio, las colonias de estas especies son rugosas y, cuando se hacen pases seriados, las colonias rugosas son capaces de predominar sobre las lisas. Rara vez se presentan variaciones de los antígenos de superficie y de la sensibilidad a los bacteriófagos, aunque se ha señalado que existen cepas de *Br. abortus* resistentes a los bacteriófagos.¹

4.1.5 Resistencia y supervivencia

Brucella a diferencia de otras bacterias patógenas posee una gran capacidad para sobrevivir y persistir en el ambiente bajo condiciones apropiadas, comparable a la resistencia de bacterias esporuladas. Bajo condiciones de baja temperatura, humedad moderada, pH cercano a la neutralidad y protección contra el sol, las brucelas pueden sobrevivir por largos períodos aunque no existe evidencia de que los organismos se repliquen significativamente bajo estas condiciones en el suelo, agua o estiércol. En los restos de animales congelados, las bacterias sobreviven por muchos años. En materiales desecados que contengan materias orgánicas y protegidas de la luz solar, pueden retener su infectividad por muchos años. ¹¹

En contraste, son bastante sensibles al calor, así una suspensión diluida de brucelas, se destruye rápidamente al ser sometida a la pasteurización o al exponerla a temperaturas de 60°C por 30 minutos. Sin embargo, una suspensión densa es más difícil de inactivar y se debe de prolongar el tiempo de exposición al calor o someterla a temperaturas más elevadas. *Brucella* es muy sensible a

la radiación ionizante y se muere con rapidez al exponerla a la luz ultravioleta (5 minutos). También son sensibles, a la mayoría de los desinfectantes de uso común, con excepción de las sales cuaternarias de amonio. Como sucede en otras bacterias, la susceptibilidad se reduce en presencia de materia orgánica o a bajas temperaturas. El etanol, formol, isopropanol, iodóforos, hipoclorito diluido y el fenol al 1% son eficaces para desinfectar la piel expuesta a *Brucella*. ¹¹

En general, *Brucella* es susceptible a la mayoría de los antibióticos, como lo muestran los trabajos publicados en los que se realizaron ensayos *in vitro* empleando diferentes métodos. Las sulfonamidas, los aminoglicósidos como la estreptomicina, gentamicina, kanamicina, amikacina, tobramicina; las tetraciclinas, cloranfenicol, eritromicina, novobiocina, rifampicina y quinolonas como norfloxacina, ciprofloxacina, esparfloxacina y moxifloxacina, todos ellos son activos contra Brucella *in vitro* a concentraciones mínimas inhibitorias bajas. Los antibióticos beta-lactámicos son los menos efectivos. Las cepas muestran alguna variación en la susceptibilidad a los antibióticos en función de su origen geográfico. ⁸

4.1.6 Reservorios zoológicos y geográficos de Br. abortus

Las especies de *Brucella* son parásitos obligados, cada una de sus especies tiene un hospedador preferente que sirve de reservorio natural de la infección. Los hospedadores preferentes de *Br. abortus* son los bóvidos y animales con ellos emparentados. La biovariedad 1 se encuentra en todas las zonas del mundo productoras de bóvidos, también afecta a los yaks, al búfalo doméstico de la India, al bisonte, alce, ratón, caballos y a animales salvajes tales como los zorros, antílopes, antílopes del África del Este y coyotes. La biovariedad 2 ha sido aislada con menor frecuencia,

aunque está ampliamente distribuida. La biovariedad 3 ha sido encontrada en los búfalos y en los bóvidos de la India, de Egipto y del Este de África. La biovariedad 5 únicamente ha sido encontrada en el Reino Unido y en Alemania. Las demás biovariedades han sido aisladas tan pocas veces que no ha sido determinada su distribución geográfica.⁸

4.1.7 Transmisión

La forma principal de contagio es por vía digestiva, esta se produce cuando los animales lamen fetos abortados, terneros recién nacidos o genitales de otros animales, y si estos están brucelosos se produce una ingestión masiva de bacterias. También es importante la ingestión de alimentos y bebidas contaminadas con secreciones vaginales y leche de hembras enfermas. La vía genital puede ser importante solo si se realiza inseminación artificial con semen infectado de lo contrario, la Brucelosis bovina no es una enfermedad venérea. El semen de un toro infectado puede contener grandes cantidades de brucelas, más sin embargo, no contagia a la vaca. La razón es que la acidez de la vagina contribuye a destruir las brucelas.¹²

La transmisión es menos frecuente por vía respiratoria, mediante la inhalación de polvo y partículas que transportan brucelas, puede tener importancia durante el verano cuando se reúnen los animales en los corrales y mangas para realizar vacunaciones, desparasitaciones, etc. Esta enfermedad tiene un período de incubación variable pues la bacteria luego de ingresar al organismo se multiplica en nódulos linfáticos y órganos del sistema retículo-endotelial y el tiempo del mismo varía de acuerdo al estado fisiológico del animal. El período de incubación siempre es más corto en el animal preñado. El signo principal de la enfermedad es el aborto al final del tercio

medio de la preñez (5 a 7 meses). Es frecuente la presencia de mortinatos debido a esta enfermedad. La principal fuente de contagio son las secreciones vaginales que se producen desde aproximadamente 15 días antes del aborto o parto, hasta 4 semanas siguientes al mismo. Algunos experimentos demostraron que se pueden eliminar hasta 1×10^{14} brucelas por gramo de placenta, lo que nos indica la gravedad de un aborto y más aún el parto de un animal bruceloso que nos confunde pues creemos que está sano, sin embargo elimina tantas brucelas como aquel que no pare. El calostro y la leche también son portadores de brucelas, aunque la eliminación es intermitente. 12

Los rumiantes salvajes pueden adquirir infecciones por Brucella y constituyen un riesgo para los animales domésticos de la zona. Los carnívoros, de igual manera, pueden ser portadores del microorganismo, en unos se produce la infección mientras que en otros la bacteria se deposita en la materia fecal, contaminando de tal manera el pasto.⁷

La primera causa de infección en una explotación es introducir animales infectados procedentes de compras de ferias u otros establecimientos. Por ello es recomendable que se conozca el estado sanitario del hato del que proviene el animal y realizarle sus respectivas pruebas para asegurarse de que se encuentre negativo a la enfermedad. ¹²

4.1.8 Patogenicidad

Poco después de haber penetrado en el organismo por cualquier vía, los microorganismos son englobados por las células fagocitarias en cuyo interior sobreviven, se multiplican y son

transportados a los nódulos linfáticos regionales; allí los microorganismos siguen multiplicándose y si logran vencer la barrera del sistema inmunitario, se propaga por vía linfática o sanguínea, en el hígado, bazo y genitales. Se aloja en las células fagocitarias. Si resiste el ataque del sistema inmunitario, la bacteria empieza a multiplicarse en diferentes órganos. La localización final de *Brucella* en los tejidos de los animales preñados es la placenta, donde alcanza concentraciones muy altas de aproximadamente 1010 bacterias por cm³, esto produce finalmente una placentitis severa con infección del feto y aborto.^{1, 13}

Las especies de *Brucella* son patógenas intracelulares facultativas y su virulencia está relacionada con la capacidad que poseen para resistir el efecto bactericida de los componentes del suero normal y para adherirse, penetrar y multiplicarse en una gran variedad de células, tanto fagocitarias como no fagocitarias. La localización intracelular las mantiene protegidas de los antibióticos y de factores bactericidas del plasma como complemento y anticuerpos, lo que determina la naturaleza crónica de la infección. Los mecanismos que emplea *Brucella spp* para producir daño al huésped, aún no se conocen con detalle, aunque se acepta, que están muy relacionados con la permanencia intracelular de las bacterias, en donde se multiplican libremente sin causarle aparente daño a la célula. ¹²

La Brucelosis es principalmente una enfermedad propia de los animales sexualmente maduros.

Los abortos tienen lugar a mitad del período de gestación. Evidentemente, algo ocurre a mitad de la gestación que induce al microorganismo a multiplicarse abundantemente en los cotiledones y

en sus proximidades. Los abortos pueden presentarse como consecuencia de la acción de las endotoxinas. 1

4.1.9 Patología

La lesión básica de la Brucelosis es el piogranuloma, mientras que el órgano que experimenta los mayores cambios patológicos es la placenta. Generalmente, la placenta se encuentra engrosada y recubierta con un exudado purulento de color amarillo-pardo y de consistencia gelatinosa que le confiere un aspecto resistente y coriáceo. Los cotiledones afectados son blandos, necróticos y también están recubiertos con el exudado. ¹

Las lesiones no se limitan al tracto reproductor, también se pueden encontrar en el tejido reticuloendotelial y en otras zonas en las que se localizan. Cuando el hospedador no tiene las suficientes defensas o cuando el microorganismo invasor es especialmente virulento, puede tener lugar la supuración o la caseificación de las lesiones. Los higromas son comunes en bóvidos adultos con infección crónica. 1

En las hembras la principal manifestación clínica de la Brucelosis es el aborto, que con frecuencia va acompañado de retención placentaria. En los machos las principales manifestaciones clínicas son la orquitis y epididimitis. También puede ocasionar infertilidad o esterilidad, no importando el sexo. ¹

4.1.10 Aspectos inmunológicos

Una de las características de la infección por *Brucella* es la aparición de una hipersensibilidad de tipo retardado a la endotoxina del microorganismo. Esta hipersensibilidad aparece a los varios días siguientes a la infección y puede intensificar la respuesta inflamatoria. ¹

En esta enfermedad, todavía queda mucho por conocer acerca de la inmunidad. Por ejemplo, la vacunación de las vacas con la cepa B-19 de *Br. abortus* previene el aborto, pero no la infección. Asimismo, en los perros infectados con *Br. abortus* es posible que exista bacteriemia durante meses y años sin pruebas de curación o de que se desarrolle un estado de inmunidad. ¹

4.1.10.1 Inmunización artificial

Para la inmunización de los bovinos frente a la Brucelosis existen tres productos: la vacuna a base de la cepa 19 de *Brucella abortus*, la vacuna de la cepa 45/20 de *Brucella abortus* y la vacuna de la cepa RB-51. Durante la edad adulta, las vacas inmunizadas con cualquiera de estos tres agentes son algo menos sensibles a las cepas de campo virulentas que aquellas que no han sido inmunizadas. La inmunidad que inducen protege frente al aborto pero no frente a la infección. Las cepas virulentas de *Br. abortus* se pueden localizar en los nódulos linfáticos, sobre todo los supramamarios, y ser eliminadas a través de las glándulas mamarias durante toda la vida del animal inmunizado. La inmunización es parte integral de los programas de control y erradicación

de la Brucelosis bovina. Estos programas están avanzando con éxito no sólo porque la vacunación aumenta el grado de inmunidad del rebaño, sino quizá incluso porque realmente reduce la diseminación de los microorganismos a partir de la principal puerta de salida. ¹

La cepa 19 de *Brucella abortus* es una cepa atenuada naturalmente y se ha empleado en los últimos 40 años para prevenir la Brucelosis. La inmunidad celular otorgada es relativa y oscila según distintos autores alrededor del 70%.¹²

El inmunógeno denominado RB-51 consiste en una cepa de *Brucella abortus* modificada en el laboratorio para que adquiera suficientes propiedades inmunogénicas y se atenuara su virulencia natural. La RB-51 tiene una ventaja muy importante pues a diferencia de la cepa 19 no induce la producción de anticuerpos que confundan el diagnóstico. Esto obedece a que la cepa RB-51 carece de la cadena 0, propia del lipopolisacárido de las especies de *Brucella* en fase lisa, por lo tanto, luego de vacunar con RB-51 todas las pruebas convencionales arrojan un resultado negativo. Con respecto a la protección contra la infección, los estudios efectuados en USA demostraron que la protección contra el aborto y la infección es similar que el otorgado por la cepa 19. Es recomendable que de utilizarse esta vacuna, hacerlo previo al servicio, pues de este modo la vacuna tendrá el suficiente tiempo de lograr inducir mayor inmunidad y prevenir el aborto.¹²

Vacunar animales serológicamente positivos o aquellos que abortan no tiene ningún sentido ya que ninguna vacuna modifica el curso de la enfermedad. ¹²

4.1.11 Diagnóstico de Laboratorio

4.1.11.1 Recogida de muestras

Los líquidos a recoger en los animales vivos son: sangre, leche, semen y exudado vaginal de las hembras que han abortado recientemente. En los animales muertos, los tejidos más apropiados para son los del sistema de los macrófagos: nódulos linfáticos supramamarios, retrofaríngeos, ilíacos internos, lumbares y mesentéricos. El bazo, el hígado y el útero también deben ser sembrados, lo mismo que el líquido articular de las articulaciones que presentan aumento de tamaño y cualquier otro tejido u órgano con una lesión evidente.¹

Los productos del aborto son las fuentes de microorganismos más ricas y por lo mismo los aislamientos se pueden llevar a cabo a partir de la placenta, de las membranas y líquidos fetales, y del contenido estomacal del feto.¹

Todos los tejidos y líquidos deben de ser introducidos en bolsas de plástico impermeables, o en recipientes de plástico o metálicos, que deben ser manipulados con gran cuidado.¹

4.1.11.2 Examen directo

Se puede realizar el examen directo en frotis de contenido estomacal del feto, de líquido de los cotiledones, de moco vaginal y de semen. También se puede teñir y examinar directamente improntas de la superficie de cortes recién obtenidos de cualquier tejido. Las tinciones de elección son la de Gram, la de Köster, la de Macchiavello, y la de Ziehl-Neelsen modificada, y también tanto

la técnica directa como la indirecta de los anticuerpos fluorescentes (FA), las cuales diferenciarán los microorganismos del género *Brucella* de los pertenecientes a los géneros *Coxiella* y *Chlamydia*.¹

4.1.11.3 Métodos de aislamiento

En general, los medios que se emplean para el cultivo de *Brucella* contienen peptonas o triptonas a las que se adiciona extracto de levaduras, suero o sangre para favorecer el crecimiento de estas bacterias. Existen medios comerciales, cuya formulación reúne estos requisitos. Las muestras de sangre, médula ósea y de líquido cefalorraquídeo de preferencia se inoculan en recipientes con medio doble. Cuando aparece crecimiento visible, en la superficie del agar a las 24 h de incubación, se descarta el recipiente y se toma otro cultivo. *Brucella* se desarrolla al cabo de 4-5 días. En algunos casos, la aparición de crecimiento es tardía (6 semanas). Las resiembras se realizan con ayuda de una jeringa, que evita el abrir el recipiente. Se siembran por duplicado en placas de agar sangre al 10%, en agar soya tripticasa (TSA) con extracto de levaduras al 0.5% y en agar Mac Conkey. Una serie se incuba en atmósfera de CO₂ y la otra en atmósfera normal a 36 °C. Al cabo de cuatro días, debe de observarse crecimiento visible en alguna de las series si existen brucelas viables.⁶

En algunos casos de Brucelosis crónica se ha reportado el aislamiento de colonias en forma L que están formadas por bacterias con pared celular modificada inducida entre otros factores por antibióticos como la penicilina. Estas colonias sólo son visibles al microscopio esteroscópico, son muy frágiles por lo que pueden pasar inadvertidas si no se emplean los medios de cultivo

adecuados y se realiza una búsqueda de ellas en los medios de cultivo. Preferentemente crecen en el menisco que se forma entre la fase líquida y sólida del hemocultivo.⁶

4.1.11.4 Identificación

Morfología microscópica

Bacilos cortos pequeños Gram negativos. Al emplear la tinción de Zielh-Neelsen modificada, las brucelas se tiñen de color rojo y se observa la misma morfología. Otras bacterias se verán verdes.⁶

4.1.11.5 Morfología colonial

En medio TSA, las cepas lisas producen colonias circulares, convexas con bordes regulares, translúcidas y coloración ámbar. A la luz reflejada son brillantes, ligeramente opalescentes y de color gris azulado. En agar sangre no produce hemólisis, en agar Mac Conkey crecen poco y no fermentan la lactosa. Las cepas rugosas, en TSA, producen colonias semejantes en la forma pero varían considerablemente en tamaño, color, consistencia y textura. En las cajas de TSA, se aconseja determinar la producción de catalasa y oxidasa, para las cuales las brucelas son positivas. Enseguida, se procede a aglutinar a las colonias sospechosas con suero polivalente anti *Brucella*. Se recomienda realizar la suspensión de brucelas en solución salina fenolada al 1.0% extremando las precauciones. Si hay aglutinación, muy probablemente se trate de bacterias del género *Brucella*. ⁶

4.1.11.6 Pruebas bioquímicas

Para identificar la especie y el biovar se procede a efectuar las siguientes pruebas bioquímicas especiales:

- Requerimientos de CO₂: Inmediatamente después del primer aislamiento, la cepa en estudio se siembra por triplicado en tubos con agar soya tripticasa y extracto de levaduras inclinados. Se incuban dos tubos en atmósfera de CO₂ y el otro en atmósfera normal, a 36°C por 48 horas antes de que se desarrollen mutantes independientes de CO₂. Con el crecimiento de uno de los tubos, se prepara una suspensión de bacterias para inocular el resto de medios de cultivo.
- Medio de TSI: ausencia de ácido y gas.
- Citrato de Simmons: No emplea este substrato como fuente de carbono, por lo que no se modifica el color verde.
- Medio de SIM: Observar la inmovilidad de las brucelas y la ausencia de indol y H₂S en este medio.
- Medio de urea de Christensen: Medir el tiempo en que vira el medio a rojo, debido a la producción de ureasa. Brucella suis produce la mayor cantidad de ureasa y un tiempo muy corto comparada con las demás especies que producen menor cantidad.
- Tubo inclinado con agar soya tripticasa, con una tira de papel filtro impregnado con acetato de plomo sujetado por la contratapa o el tapón de algodón para observar la aparición de H₂S por el ennegrecimiento de la tira de papel filtro.

 Crecimiento en presencia de colorantes. Se siembra en dos colorantes: tionina y fucsina básica.⁶

Existen otras pruebas consideradas como especiales, debido a que sólo se realizan en laboratorios de referencia especializados en estas bacterias.

- Susceptibilidad a bacteriófagos: Sobre una capa de Brucella sembrada en forma masiva, se
 coloca una gota pequeña de cada uno de los bacteriófagos siguientes: Tbilisi (Tb),
 Weybridge (Wy) y Berkeley (Bk), se observa la existencia de lisis en los sitios en donde se
 colocaron las gotas.
- Aglutinación con sueros monoespecíficos: Se emplean el suero monovalente A y en monovalente M. Al realizar esta prueba es muy importante tomar en consideración lo siguiente:
 - ✓ B. abortus puede contener antígeno A (biovar 1,2,3 y 6) o antígeno M (biovares 4,5 y 9) en forma de antígenos dominantes o ambos antígenos A y M (biotipo 7) en forma igualmente dominante.

Las características antigénicas particulares de los biovares de *Brucella* hacen que esta prueba deba ser efectuada e interpretada en laboratorios especializados por personal con experiencia.⁶

4.1.11.7 Diagnóstico inmunológico

Las pruebas de inmunodiagnóstico más corrientemente utilizadas se realizan utilizando suero sanguíneo o leche y con menor frecuencia semen y moco vaginal.¹

Las pruebas serodiagnósticas utilizadas con mayor frecuencia para descubrir la infección por las especies de *Brucella* son las pruebas estándar de la aglutinación en placa y la prueba estándar de aglutinación en tubo. La interpretación de los resultados depende de si se trata de un animal que ha sido vacunado oficialmente o de un animal no vacunado.¹

Otras pruebas incluyen la prueba de la tarjeta (Rosa de Bengala), la prueba modificada de la tarjeta, la prueba manual de la fijación de complemento, la prueba Technicon automatizada de la fijación de complemento y la prueba de Rivanol. La prueba del anillo pone de manifiesto la presencia de anticuerpos en la leche, y se utiliza en la leche a granel para identificar los hatos infectados. Emplea un antígeno coloreado con hematoxilina, que se mezcla con 2 ml de leche y se deja reposar, las bacterias teñidas suben a la superficie con la grasa, formando una capa de color púrpura, porque las bacterias permanecen en suspensión.^{1,8}

En nuestro país, se utiliza la prueba de Rosa de Bengala (Card Test) como prueba tamiz y los sueros reaccionantes deben ser procesados con la prueba de Rivanol.

4.1.12 Tratamiento

Para los animales enfermos de Brucelosis no existe tratamiento alguno.¹

4.1.13 Control y Profilaxis

4.1.13.1 Control mediante la inmunización de los animales sensibles

En las zonas de elevada incidencia, la Brucelosis se puede mantener bajo control mediante la inmunización de las hembras. Mediante este sistema de control se reduce de forma considerable el número de abortos, y tiene lugar la consiguiente reducción de la posibilidad de exposición al agente. La inmunización sola contribuirá a controlar la enfermedad, pero no la erradicará. 1

4.1.13.2 Inmunización seguida de pruebas diagnósticas y sacrificio

El método habitual en los programas de control de la Brucelosis que utilizan estos tres componentes, consiste en vacunar a las hembras del hato a una edad temprana, someterlas a pruebas diagnósticas cuando han alcanzado la madurez sexual, generalmente durante la primera fase de la gestación o próxima a terminar ésta, y eliminar los animales infectados mediante sacrificio de los mismos. Luego los hatos que contienen animales infectados deben someterse a un plan de pruebas diagnósticas hasta que todos los animales den resultado negativo a las mismas.¹

4.1.14 Epidemiología de la Brucelosis humana

La Brucelosis una antropozoonosis, la principal fuente de infección la constituyen los animales infectados, que en su mayoría, son aquellas especies productoras de alimento. *Br. abortus* es la más extendida en el mundo, sin embargo, se aísla poco de casos humanos. La infección en el hombre es a menudo subclínica, y cuando presenta alguna sintomatología es, en general, menos severa que la causada por *Br. melitensis* o *Br. suis*. Las vacas y sus productos son la fuente de

infección más común, aunque los perros también pueden jugar un papel importante en la epizootiología de la enfermedad en nuestro medio rural. Con base en los estudios bacteriológicos realizados, se conoce que el biovar 1 es el más frecuente y el biovar 4 el más virulento para el hombre. *Br. melitensis* es la que más se notifica como causa de enfermedad, se aísla con mayor frecuencia de los casos humanos, casi en un 90%. Es la especie más virulenta y está asociada a una enfermedad aguda severa. La bacteria infecta principalmente a cabras y borregos, pero otras especies no quedan exentas. En forma particular, la infección en vacas, se ha visto como un problema de gran trascendencia epizootiológica en algunos países del sur de Europa, del Medio Oriente y en México. La presencia de *Br. melitensis* en bovinos es un problema potencialmente grave, por el gran volumen de leche infectada que se produciría por animal y por la contaminación que se vertería al medio ambiente con un solo aborto (de 109-1013 bacterias / ml). ⁶

Los huéspedes animales, excretan gran cantidad de bacterias junto con los tejidos y otros productos del aborto; en menor cantidad por excreciones genitales, semen, orina que contaminan los sitios donde habitualmente se encuentran, en especial donde pernoctan o alimentan. En consecuencia, las especies mencionadas contribuyen en diferente medida a la contaminación del suelo, los traspatios, corrales, la paja de las camas, el agua de arroyos, canales y pozos. También *Brucella* se excreta en la leche y el calostro. En repercusión, el hombre puede adquirir la bacteria por exposición ocupacional, contacto con medios ambientes contaminados, consumo de agua y alimentos contaminados, y menos frecuente por transmisión de persona a persona. ⁶

El predominio de un mecanismo de infección u otro dependerá de las condiciones socioeconómicas y de los hábitos del individuo así como de las características del medio social que se considere. En los países que tienen un mejor nivel sanitario, la enfermedad es de carácter casi exclusivamente profesional, mientras que en los menos desarrollados, una parte importante de los casos corresponde a la población general, que adquiere la infección a través de la ingesta de productos lácteos no controlados, principalmente leche y queso fresco. Las personas se infectan al inhalar polvo o pelo contaminado, por salpicaduras en la conjuntiva, por ingestión accidental, a través de abrasiones o cortaduras de piel o por auto inoculación accidental de sangre del animal infectado o de vacunas vivas.⁶

Es difícil determinar hasta qué grado el paso de los animales por ciertos caminos o rutas pobladas puede producir contaminación de calles, patios mercados, etc. El género *Brucella* puede sobrevivir por períodos prolongados en el polvo, estiércol, agua, fetos, suelo, vísceras y productos lácteos.⁶

En otro contexto, al ser éstos microorganismos eliminados en forma intermitente con la leche, el alimento se vuelve una fuente de infección para la población que la consume sin ningún tratamiento térmico preliminar. Tanto la población rural como la urbana se verán afectadas, la urbana con mayor capacidad de compra tendrá un riesgo al adquirir productos lácteos sin control sanitario. La manufactura de quesos concentra en buena medida a las bacterias que pueden sobrevivir en esas condiciones algunos meses. Lo mismo sucede en el caso de la mantequilla, crema o helados preparados con leche contaminada. El consumo de carne cruda o mal cocida,

proveniente de animales infectados, representa un riesgo menor, ya que el músculo contiene baja cantidad de brucelas. En cambio las vísceras, la ubre y los testículos contienen cantidades importantes de bacterias. La sangre fresca es potencialmente peligrosa para aquellos individuos que acostumbra consumirla natural o mezclada. ⁶

La transmisión de persona a persona es muy rara, en los casos reportados solo existe evidencia circunstancial que sugiere que la transmisión se produjo por vía sexual. De mayor importancia es la infección como resultado de una transfusión de sangre o de un trasplante de tejido, la médula ósea es la de mayor riesgo. Otra forma de transmisión es de la madre con Brucelosis aguda al hijo a través de la leche materna o de la placenta produciendo aborto o Brucelosis en el recién nacido. 6

4.2 Brucelosis en el humano

La mayoría de los casos de Brucelosis humana están relacionados al consumo de leche, queso fresco, crema y otros derivados sin pasteurizar. Otras formas de adquirir la enfermedad son la manipulación de fetos abortados, placentas y líquidos fetales, accidentes vacunales, manejo de carnes y vísceras de animales con Brucelosis (matarifes, expendedores de carne, médicos veterinarios). El periodo de incubación suele ser variable, en general, de 2 a 3 semanas, aunque puede prolongarse hasta algunos meses. De algún modo, éste depende de la virulencia de la cepa de *Brucella*, la dosis y del estado nutricional e inmune del individuo.⁶

La Brucelosis humana ha sido clasificada en forma arbitraria en varias categorías: subclínica, subaguda, bacterémica, aguda, recurrente, crónica, etc. Dichos términos reflejan el espectro de las manifestaciones clínicas pero complican el diagnóstico. La mayoría de los autores coinciden en considerar solo las fases aguda y crónica. ⁶

Por otro lado, la Brucelosis típica en la etapa aguda, no siempre se identifica con facilidad, ya que los signos y síntomas podrían ser la expresión de otras enfermedades febriles comunes en nuestro medio. En consecuencia, se tienen que descartar enfermedades como: salmonelosis, tifoidea, dengue, paludismo, tuberculosis, leptospirosis y otras que sean prevalentes en las zonas donde se presenten los casos. ⁶

Con base en la experiencia clínica de muchos años en nuestro medio, la Brucelosis se clasifica como, aguda, subaguda, con recaídas y crónica cuando tiene más de un año. El cuadro clínico no es característico, ya que se manifiesta como una cascada de signos y síntomas de naturaleza proteiforme. En la etapa aguda, la fiebre se presenta en el 95 a 98% de los casos, escalofríos (69-85%), diaforesis nocturna (85-88%) y en menor porcentaje: cefalea, anorexia, fatiga, mialgias, artralgias, y pérdida de peso. En algunos casos se presenta hepatomegalia (20-40%). Los leucocitos rara vez exceden los 10,000/mm³, pero la leucopenia y linfocitosis son características en pacientes bacterémicos. ⁶

En la fase subaguda por lo general se realiza el diagnóstico de fiebre de origen desconocido, aunque la disociación del pulso temperatura puede orientar al diagnóstico de Brucelosis. En

ocasiones el único hallazgo clínico es la hepatoesplenomegalia, que hace sospechar de malignidad linfoide. La recaída o recidiva, se presenta entre los 2 a 3 meses después de haber concluido el tratamiento instituido en un porcentaje de alrededor del 15% de los casos. ⁶

En la fase aguda, se pueden presentar complicaciones en 1-30% de los casos y menos del 1% se diagnostica. En consecuencia, no se administra tratamiento oportuno. Cuando la infección tiene más de dos meses puede afectar cualquier órgano o sistema. La complicación esquelética se presenta con mayor frecuencia, en la forma de sacroileítis, artritis periférica y espondilitis. En otros casos se puede encontrar neurobrucelosis, que se manifiesta en ocasiones, con cefalea persistente e intensa, así como meningoencefalitis, mielitis, paresia depresión y psicosis. Se presentan además, otras complicaciones a nivel genitourinario, siendo la más frecuente la epidídimo-orquitis lateral y luego la prostatitis y cistitis. En el riñón se pueden desarrollar granulomas caseosos similares a los de la tuberculosis. ⁶

La endocarditis es poco frecuente (< 2%), sin embargo, es la causa del 85% de fallecimientos, es el resultado de un cuadro clínico subagudo, en el que se presentan anormalidades valvulares. En hígado, hasta el 90% de los casos se diagnostica como hepatitis, con elevación de fosfatasas y transferasas. También puede haber abscesos esplénicos y calcificaciones que ameritan cirugía. Existen muchas otras complicaciones como las hematológicas, oftálmicas y cutáneas.

La Brucelosis crónica es una entidad mal definida, se diagnostica al conjuntar resultados del laboratorio con manifestaciones clínicas que se prolongan un mínimo de un año, con comienzo insidioso y predominio de formas viscerales, osteoarticulares y neurológicas, entre otras.

Existe también la forma subclínica, producida por cepas de baja virulencia, cursa con síntomas poco aparentes o muy leves acompañados de fatiga, en general se resuelven sin ningún tratamiento. ⁶

4.2.1 Brucelosis en Grupos de Alto Riesgo

Se designa de alto riesgo a un grupo de personas que están más expuestas a contraer una enfermedad. En nuestro medio los grupos de alto riesgo de contraer Brucelosis los constituyen personas que realizan trabajos en centros de producción de alimentos (lecheros, queseros, mataderos, carniceros), trabajos en los que existe contacto con animales, con sus secreciones o con productos de origen animal (veterinarios, zootecnistas, técnicos pecuarios, vaqueros, manipuladores de estiércol), trabajos agrarios (ganaderos, agricultores), trabajos en laboratorios clínicos de diagnóstico e investigación y trabajos en unidades de eliminación de residuos (instalaciones depuradoras de aguas residuales).⁴

Desde el punto de vista laboral, interesan las siguientes vías de contagio:

 Vía Cutáneo-Mucosa: la bacteria atraviesa la barrera cutáneo-mucosa aún en ausencia de pérdida de solución de continuidad de la misma; la manipulación de productos fetales, contacto con polvo contaminado o el cuidado habitual del ganado pueden producir el contagio en el ser humano.

- Vía Respiratoria: el contagio por esta vía se produce por inhalación de aerosoles en operaciones de limpieza de establos, movimiento de ganado y en general todas las operaciones que puedan movilizar el polvo infectado.
- Vía Digestiva: ocurre al ingerir productos lácteos no pasteurizados, toma importancia ya que ingerir leche recién ordeñada es un hábito muy visto en las salas de ordeño. También puede darse por ingestión de alimentos que contengan deyecciones de animales infectados o regados con aguas infectadas.
- Inoculación Accidental: en actividades de vacunación, trabajos de laboratorio, tomas de muestras, etc.⁴

4.2.2 Tratamiento

Brucella en una bacteria intracelular facultativa, por lo que se recomienda seleccionar aquellos antibióticos, que tengan la propiedad de penetrar dentro de las células blanco y que la dosis y duración del tratamiento sean las más adecuadas. De acuerdo a la Organización Mundial de la Salud se debe establecer un tratamiento con doxicilina 200 mg/día más rifampicina 600/900 mg/día por un periodo de seis semanas para lograr la eliminación de Brucella. Otro protocolo utilizado es Tetraciclina 2g/día más estreptomicina 1g/24hs por 21 días. Un segundo esquema es rifampicina 600mg/día y trimetoprim 320mg con sulfametoxazol 1600mg/día, durante 6 semanas. En caso de Brucelosis ósea el tratamiento debe prolongarse por 6-8 meses. Otros tratamientos incluyen quinolonas combinadas con rifampicina o trimetoprim-sulfametoxazol. ⁶

4.2.3 Diagnóstico de la Brucelosis humana

El diagnóstico de la Brucelosis en el humano debe de considerar aspectos clínicos, y contar con una historia clínica detallada que incluya alguna información de tipo epidemiológico. Es muy recomendable practicar un estudio bacteriológico, complementado con la búsqueda de anticuerpos en el suero. ⁶

El cultivo de la bacteria es la única evidencia contundente de que se trata de una infección por *Brucella*. Aunque se puede aislar de varias fuentes, la sangre es el material que se emplea con mayor frecuencia para realizar el cultivo bacteriológico. Existen algunas recomendaciones que deben de tomarse en cuenta para lograr el cultivo con éxito, en primer lugar el paciente no debe encontrarse bajo terapia antibiótica al momento de tomar la muestra y de preferencia se debe de practicar durante la fase aguda de la enfermedad, por la tarde, antes de que se alcance el pico febril. Una vez que se tenga el crecimiento de colonias sospechosas, se recomienda realizar una identificación presuntiva. ⁶

En la actualidad existen otros sistemas de aislamiento y se cuenta también con métodos moleculares como el de PCR, que es otra forma para poner de manifiesto a *Brucella* en sangre, LCR y otras muestras. La ventaja que presenta es su rapidez, sensibilidad y especificidad, además que permite identificar el DNA libre y procedente de bacterias muertas o dañadas por el sistema inmune o los antibióticos, que son incapaces de crecer. ²

La prueba de Rosa de Bengala (RB) El antígeno es una suspensión celular teñida con Rosa de Bengala y estandarizada a una concentración celular del 9 -10% para humanos. Es una prueba de escrutinio, rápida y sensible, cualquier resultado positivo deberá ser confirmado con el cultivo o en su defecto, con las pruebas serológicas complementarias que determinen el tipo de anticuerpo presente así como el título. Determina anticuerpos de las clases IgM, IgG e IgA aglutinantes en pacientes con Brucelosis aguda y crónica, pero no cuantifica los anticuerpos. Permanece positiva, aún después del tratamiento y la recuperación del enfermo, en algunos casos hasta por años, por lo que en forma aislada, no es de valor diagnóstico. ⁶

Prueba de aglutinación estándar (SAT): Algunos autores consideran que es la prueba más confiable por su simpleza y porque presenta un alto grado de correlación con RB, permite determinar la cantidad de aglutininas totales (IgM, IgG e IgA) anti-brucella en suero, líquido cefalorraquídeo y otros fluidos, sobre todo si se emplea el micrométodo, que solo requiere de 10 µl de muestra. La norma señala un título igual o > 1/160 junto con una prueba RB positiva, para considerarse de valor diagnóstico².

Prueba de aglutinación con 2-mercaptoetanol (2-ME): Es una variante de la anterior, que emplea un agente reductor para inactivar los anticuerpos IgM presentes en el suero u otros fluidos, pone de manifiesto aglutininas de los isotipos IgG e IgA. Títulos > 1/20 se consideran indicativos de Brucelosis. Es una prueba que correlaciona bien con la evolución clínica de la enfermedad, de tal modo que, una vez concluida la terapia y en ausencia de síntomas se esperaría

que se torne negativa. En cambio, los pacientes con recaídas presentan incremento en el título, por lo que se considera un marcador de Brucelosis activa. En la Brucelosis crónica su utilidad es más limitada, por el tipo de anticuerpos que se inducen. ⁶

Prueba de Coombs indirecto: Se empleaba para detectar anticuerpos no aglutinantes de los isotipos IgG e IgA, sobre todo en los casos de Brucelosis crónica. En la actualidad ha sido sustituida por el método de ELISA, que brinda mayores ventajas.⁶

Prueba de inmunoensayo enzimático (ELISA): Algunos autores han empleado el mismo antígeno de la prueba de SAT, para detectar los isotipos de anticuerpos característicos de una Brucelosis aguda y crónica. Se ha encontrado una buena correlación entre ELISA-IgM y SAT y en menor grado entre ELISA-IgG y 2-ME, debido a que el 2ME detecta tanto aglutininas IgG como IgA. ⁶

La respuesta inmune inducida por *Brucella* en el hombre, se caracteriza por una producción inicial de anticuerpos del isotipo IgM, seguida de la secreción de anticuerpos del isotipo IgG e IgA sérica. La evolución de las inmunoglobulinas se puede medir empleando ELISA-IgM (con células enteras o LPS) o la prueba de aglutinación estándar, ya que se ha observado entre ellas una buena correlación. Igual se puede evaluar IgG, empleando la prueba de aglutinación con 2-ME o ELISA para IgG, entre estas dos pruebas no existe correlación. La diferencia se debe en gran medida a que la prueba ELISA IgG, cuantifica anticuerpos no aglutinantes, que no son cuantificados por la prueba del 2-ME, por lo tanto los títulos obtenidos con ELISA-G son de mayor magnitud, que los obtenidos en la prueba de 2-ME. Esto en parte se debe al antígeno empleado para cada prueba,

usualmente para ELISA IgG, se emplea LPS crudo o purificado, cadena O, extractos proteicos o proteína purificada. Una vez concluida la antibioterapia, el título de IgM disminuye más rápido que el de anticuerpos IgG, sin embargo, un porcentaje importante de individuos (alrededor del 40 %) que cursaron una Brucelosis aguda, y fueron dados de alta clínica, continúan presentando anticuerpos IgM, meses después de la terapia. Los pacientes que sufren recaídas o infecciones recurrentes, en forma característica, presentan un incremento de anticuerpos IgG, medidos por ELISA o por la prueba de 2-ME.⁶

Existen casos en los que no se observa una disminución en el título de anticuerpos IgG, una vez concluido el tratamiento. Por lo que se recomienda realizar una evaluación del paciente, en la que se incluyan estudios serológicos y bacteriológicos, ya que el paciente, puede presentar una recaída debida a la focalización de la bacteria en algún órgano. Ésta situación puede desencadenar una Brucelosis crónica. Algunos pacientes, además desarrollan anticuerpos del isotipo IgA sérico e IgE, cuya función aún es desconocida, hasta ahora se les ha relacionado con algunos episodios alérgicos o de dermatitis por *Brucella*. ⁵

El método de ELISA a pesar de ser una prueba de gran utilidad para evaluar la evolución del paciente, tiene el inconveniente del costo y del antígeno, ya que cada laboratorio usa uno diferente y a la fecha no existe ningún consenso en cuanto a que antígeno es el más adecuado para ELISA, en consecuencia, no se pueden comparar los resultados obtenidos en un laboratorio con los de otro. ⁵

4.3 Investigaciones sobre Brucelosis realizadas en Guatemala

La Lic. Silvia Torres, en 1984, elaboró su tesis de grado denominada "Brucelosis Humana y prevalencia en poblaciones susceptibles en Guatemala". La investigación fue llevada a cabo en base a 4 grupos ocupacionales: Médicos Veterinarios, Estudiantes de los 2 últimos años de la carrera de Medicina Veterinaria, Trabajadores de un matadero de bovinos y Otras personas en contacto con animales (auxiliares de laboratorio y trabajadores de granjas). El total de muestras ascendía a 265, a las cuales se les realizó la prueba de aglutinación lenta en tubo como tamizaje y a las muestras que saliesen positivas se les corrió las pruebas complementarias de card test y 2-Mercapto-etanol. Los resultados de la investigación revelaban un 8.3% de prevalencia de Brucelosis, siendo los trabajadores de matadero de bovinos el segundo grupo más afectado. 14

En el año de 1986 la Dra. Cynthia Burski de Braaton realizó su tesis de grado con el título "Prevalencia de Brucelosis humana en grupos de personas de alto riesgo". La investigación fue realizada en base a 5 grupos considerados de alto riesgo de contraer Brucelosis: Trabajadores de un rastro de cerdos del municipio de Santa Catarina Pinula, Médicos Veterinarios guatemaltecos, Médicos Veterinarios y auxiliares de El Salvador, Otras personas que tienen contacto estrecho con animales domésticos, Individuos que fueron reactores seropositivos a Brucelosis en un estudio anterior. En total se tomaron 301 muestras sanguíneas y fueron realizadas 3 pruebas diagnósticas diferentes: la prueba estándar de aglutinación en tubo (SAT), card test y la prueba de 2-Mercaptoetanol. Cabe mencionar que de las 301 muestras, 67 evidenciaron reacción positiva y únicamente

2 de éstas provenían de trabajadores de rastros bovinos. Es de interés hacer notar que el mayor número de reactores positivos en este estudio pertenecen al grupo de personas que trabajaban en un matadero de suinos.²

El Dr. Hugo Morales, en 1987, realizó su tesis de grado denominada "Brucelosis Humana (Estudio serológico prospectivo para *Brucella* en trabajadores de rastros bovinos registrados del departamento de Sacatepéquez, durante los meses de Junio y Julio de 1987)". Esta investigación se realizó en un total de 50 individuos provenientes de 8 rastros bovinos y fueron realizadas 4 pruebas diagnósticas diferentes: card test, aglutinación en placa, aglutinación lenta en tubo y 2-Mercapto-etanol. Los resultados fueron negativos a todas las pruebas para el total de la población.¹⁰

4.4 Cámara de Productores de Leche de Guatemala

La sede de La Cámara de Productores de Leche de Guatemala (CPLG) se encuentra ubicada en el municipio de Guatemala, cabecera departamental del Departamento de Guatemala, en la 24 calle 15-26 de la Zona 13. ³

La CPLG fue creada en 1,996 según el Acuerdo Ministerial 214 – 96, por el M.V. Carlos Tejada Valenzuela. Es una asociación civil, privada, no lucrativa, apolítica y no religiosa, que busca promover por cualquier medio lícito el mejoramiento social, económico y educativo de sus productores asociados. Busca ser un factor multiplicador y facilitador del desarrollo firme y constante de la producción lechera, considerando al cooperativismo una herramienta

imprescindible para asegurar y sustentar la misma. Desde que fue creada, han sido socios más de 350 productores a nivel nacional, más sin embargo una cifra de aproximadamente 170 productores se mantienen activos cada año. A la CPLG puede asociarse todo aquel que se dedique a la producción primaria de leche, no hay restricción de tamaño de explotación, posición económica, género, religión u origen.³

La CPLG tiene como misión Consolidar el desarrollo del sector lácteo guatemalteco a través del impulso del marco legal. Respeto a la normativa y el desarrollo de acciones encaminadas a mejorar la productividad y calidad de la leche cruda y el desarrollo del consumo de lácteos mejorados.³

V. Materiales y Métodos

5.1 Materiales

5.1.1 Recursos Humanos

- 3 Médicos Veterinarios Asesores
- 1 Estudiante Investigador
- Productores Lecheros
- Colaboradores

5.1.2 Recursos de Campo

- Boletas de Identificación
- 1 Paquete de Algodón
- 1 Frasco de Acohol
- 50 jeringas y agujas
- 50 tubos vacutainer sin anticoagulante
- 1 Marcador
- 100 guantes de Latex
- 1 Banda elástica
- Vehículo
- Cámara Digital

5.1.3 Recursos de Laboratorio

• Refrigeradora

- Placas de vidrio con cuadrícula
- 1 gradilla
- 1 micropipeta con 30 μl de graduación
- 100 puntas desechables para micropipeta
- 1 caja de mondadientes
- 1 cronómetro
- 1 Hoja de protocolo para muestras serológicas
- 1 cámara de Huddleson
- Tubos de ensayo
- Solución salina fisiológica
- Reactivo de 2-Mercapto-etanol

5.1.4 Recursos Biológicos

- Muestras de sangre
- Antígeno de Brucella abortus
- Antígeno de Brucella abortus coloreado con Rosa de Bengala

5.1.5 Centros de referencia

- Biblioteca de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia,
 USAC
- Biblioteca Central USAC
- Cámara de Productores de Leche de Guatemala

5.2 Metodología

El estudio se realizó en individuos que laboran en lecherías adscritas a la Cámara de Productores de Leche localizadas en diferentes áreas del país, especialmente aquellas donde haya mayor actividad lechera. La Cámara de Productores de Leche cuenta con 170 productores asociados que se encuentran activos en la actualidad, se toma en cuenta que las explotaciones que serán visitadas cuentan con una cantidad de personal entre un rango de 5 a 10 personas por lugar.

5.2.1 Diseño del Estudio

5.2.1.1 Muestra

Por conveniencia se visitaron 10 Lecherías diferentes, muestreando a 5 individuos en cada una para tener un total de 50 individuos como muestra.

5.2.2 Metodología de recolección de muestras a nivel de campo

5.2.2.1 Extracción de Muestra Sanguínea

Las muestras de sangre fueron obtenidas por un paramédico capacitado y previo a la toma de cada muestra se les mostró un consentimiento informado y únicamente se obtuvo la sangre si la persona estuvo de acuerdo a participar de forma voluntaria. Las muestras de sangre fueron obtenidas por punción de la vena cefálica, o en su efecto, por punción de las venas metacarpianas dorsales. En cada caso el sitio de punción se desinfectó con un algodón con alcohol y luego se colocó una banda elástica alrededor del antebrazo con el fin de realizar hemostasis y por consiguiente detener el flujo sanguíneo a través de la vena, consiguiendo así la dilatación de la

misma. Inmediatamente después se introdujo una aguja dentro de la vena dilatada y se extrajo de 3 a 5 ml de sangre y se depositó en un vial estéril el cual se colocó en un superficie en un ángulo de 45° para facilitar la formación del coágulo y de esta forma obtener el suero. Luego de ser obtenida la sangre requerida se retiró la banda elástica para dejar de hacer hemostasis y se retiró la aguja cubriendo el sitio de punción con un algodón seco para evitar una hemorragia. Se tuvo especial cuidado al utilizar guantes en este procedimiento, debido a la susceptibilidad de adquirir enfermedades transmitidas por contacto con sangre contaminada.

5.2.2.2 Identificación y Almacenamiento de la Sangre

Previo a obtener las muestras se identificaron debidamente los tubos a utilizar. Luego de haber obtenido la sangre, se vació la misma cuidadosamente sobre las paredes de los tubos vacutainer sin anticoagulante y se procedió a dejarla reposar en un ángulo de 45° durante 15 a 20 minutos a temperatura ambiente esperando que se formara el coágulo, en cuanto se obtuvo el suero las muestras fueron puestas en refrigeración (2 - 8°C). Se evitó la hemólisis y la lipemia ya que esto pudo haber interferido con los resultados.

5.2.3 Métodos de Diagnóstico en Laboratorio

5.2.3.1 Prueba de Rosa de Bengala

- 1. Se llevó a temperatura ambiente el reactivo y las muestras de suero.
- Utilizando la micropipeta automática y una punta desechable nueva, se adicionó 30 μl del antígeno en el centro de un cuadro de la placa. Para colocar el antígeno en varios cuadros se utilizó la misma punta desechable.

- 3. Nuevamente utilizando la micropipeta y una punta desechable nueva, se colocaron 30 μl de la muestra en el mismo cuadro de la placa, a la par de donde se puso el antígeno previamente. En este caso se utilizó una punta desechable diferente con cada muestra.
- 4. Se mezclaron ambas gotas con un aplicador (palillo de dientes) posicionándolo lo más horizontal posible, dándole forma de una moneda a la mezcla. Se utilizó un aplicador diferente por cada muestra.
- 5. Se agitó la placa con movimientos rotatorios por 4 minutos.
- 6. Con la ayuda de una cámara de Huddleson se leyeron los resultado:
 - Suero Negativo: cuando no existió aglutinación.
 - Suero Positivo: cuando existió aglutinación por presencia de anticuerpos específicos.⁴

Esta es una prueba cualitativa de screening por lo que si alguna muestra resultaba positiva debía ser confirmada mediante otra prueba cuantitativa para Brucelosis, en dicho caso se utilizaría la prueba de 2-Mercapto-etanol pero según los resultados de la investigación no fue necesario realizarla.

5.2.4 Análisis Estadístico

Se realizó a partir de los resultados por positividad o negatividad y en base a los caracteres epidemiológicos importantes (edad, sexo y procedencia).

VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Durante el desarrollo de esta investigación se determinó la presencia de anticuerpos contra *Brucella abortus* en personal de 10 lecherías adscritas a la Cámara de Productores de Leche en los departamentos de Escuintla, Suchitepéquez y Sololá. En cada una de las fincas fueron muestreadas 5 personas que laboraban para las mismas, siendo un total de 50 personas estudiadas, de las cuales 7 (14%) eran de sexo femenino y 43 (86%) de sexo masculino (ver Anexos Tabla 1, Gráfica 1), el rango de edad que presentó mayor cantidad de individuos muestreados fue de 30-45 años con 20 individuos (40%), siguiendo con los mayores de 45 años con 15 individuos (30%), luego de 15 a 29 años con 14 individuos (28%) y por último los menores de 15 años con 1 individuo (2%) (ver Anexos Tabla 2, Gráfica 2). Los individuos muestreados fueron provenientes de los departamentos de Escuintla (52%), Suchitepéquez (32%), Sololá (14%) y Guatemala (2%) (ver Anexos Tabla 3, Gráfica 3).

De las 50 personas muestreadas ninguna presentó reacción positiva a la presencia de anticuerpos contra *Brucella abortus* por medio de la prueba de Card Test, por lo que se concluye que el personal de las fincas estudiadas se encuentran libres de Brucelosis.

En la actualidad el personal de lecherías se encuentra capacitado sobre el adecuado manejo del ganado bovino, sus secreciones y sus productos fetales; esto ha traído como consecuencia que se reduzcan las posibilidades de contagio con las diferentes enfermedades zoonóticas existentes en nuestro medio.

VII. CONCLUSIÓN

 No hay presencia de anticuerpos contra *Brucella abortus* en el personal muestreado de las 10 lecherías de fincas adscritas a la Cámara de Productores de Leche.

VIII. RECOMENDACIONES

- Que en cada finca se cuente con un programa de capacitación para el personal sobre Brucelosis y las medidas necesarias para evitar su aparecimiento, tanto en bovinos como en humanos, así como las principales zoonosis presentes en nuestro país.
- 2. Que los propietarios de lecherías provean a sus trabajadores las medidas de bioseguridad necesarias para reducir los riesgos de contagio.
- 3. Que se realicen muestreos rutinarios para la detección de *Brucella abortus* en bovinos para mantener los hatos libres de la enfermedad.
- 4. Fomentar los programas de vacunación contra Brucelosis, sobre todo en aquellas fincas que se encuentran en áreas con alta prevalencia de la enfermedad.
- 5. Que se realicen estudios para la detección de anticuerpos en personal de lecherías con una alta prevalencia de Brucelosis bovina.
- 6. Que se realicen estudios para la detección de anticuerpos contra *Brucella abortus* en otros grupos de alto riesgo como Médicos Veterinarios, personal de rastros bovinos, carniceros y personal de laboratorios, entre otros.

IX. RESUMEN

La Brucelosis es una enfermedad antropozoonótica con gran incidencia en los hatos guatemaltecos. Representa un problema importante para la salud pública, debido a que las personas que trabajan directamente con ganado bovino, sus secreciones y productos fetales pueden ser contagiadas fácilmente y por diferentes vías por *Brucella abortus*, por lo que se les cataloga como grupo de alto riesgo. La Brucelosis es causa de una diversidad de signos y síntomas, puede observarse desde fiebres, dolores de cabeza y escalofríos, hasta signos muy complejos de diferentes órganos como hepatoesplenomegalia, meningoencefalitis y endocarditis, siendo esta última, causa de fallecimiento en humanos.

El estudio se realizó con 50 muestras sanguíneas obtenidas del personal de 10 fincas adscritas a la Cámara de Productores de Leche, ubicadas en los departamentos de Escuintla, Suchitepéquez y Sololá. El rango de edad de los sujetos de estudio varió de 13 a 72 años, siendo el 14% de sexo femenino y el 86% masculino.

A las 50 muestras se les corrió la Prueba de la Tarjeta o Card Test, de las cuales ninguna presentó reacción positiva a la presencia de anticuerpos contra *Brucella abortus*, por lo que se concluye que el personal muestreado de las fincas estudiadas se encuentran libres de Brucelosis.

X. BIBLIOGRAFÍA

- Biberstein, E. 1994. Tratado de microbiología veterinaria. Trad. Manuel Ramis Vergés.
 Zaragoza, ES. Acribia. p. 283-291.
- Burski, C. 1986. Prevalencia de brucelosis humana en grupos de personas de alto riesgo. Tesis
 Med. Vet. Veterinario. GT, USAC/FMVZ. 95 p.
- Cámara de Productores de Leche de Guatemala. 2008. Objetvos. Consultado 10 mar. 2010.
 Disponible en http://www.lecheros.org/info.html
- Departamento de Salud Laboral de UGT Castila-La Mancha. 2004. Enfermedades infecciosas o parasitarias: brucelosis. (en línea). Consultado 10 mar. 2010. Disponible en http://clmancha. ugt.org/slaboral/GUIA%20BRUCELOSIS.pdf
- García, C. 1982. Pruebas complementarias para el diagnóstico de brucelosis. Nota técnica 25.
 Centro Panamericano de Zoonosis. AR, 30 p.
- 6. López, A. 2008. Brucella (en línea). Consultado 9 jun. 2009. Disponible en http://biblioweb. unam .mx/libros/microbios/Cap7/
- MERCK VETERINARY MANUAL. 2008. Brucellosis in cattle (en línea). Consultado 15 nov. 2009.
 Disponible en http://www.merckvetmanual.com/mvm/index.jsp?cfile=htm/bc/110502.htm
 &word=brucella
- 8. Merchant, IA; Packer, RA. 1978. Bacteriología y virología veterinarias. 3 ed. Zaragoza, ES. Acribia. p. 328-340.
- Montes, I. 2007. Diagnóstico de la brucelosis (en línea). Consultado 24 feb. 2009. Disponible en http://www.seimc.org/control/revi_Sero/diagbruce.htm

- 10. Morales, H. 1987. Brucelosis humana (Estudio serológico prospectivo para *Brucella* en trabajadores de rastros bovinos registrados del departamento de Sacatepequez durante los meses de junio y julio de 1987). Tesis Médico y Cirujano. GT, USAC/FCM. 50 p.
- 11. Rodriguez, M. et al. 2006. Brucelosis. Aspectos patogénicos. Clínica, diagnóstico y tratamiento. Formas específicas de enfermedad. (en línea). Consultado 23 feb. 2009. Disponible en http://www.sepeap.es/libros/MEDICINE98/Artikulu/m7903.pdf
- Samartino, L. 2003. Conceptos generales sobre brucelosis bovina (en línea). Consultado 24 feb.
 Disponible en http://www.mgap.gub.uy/DGSG/Capacitaci%C3%B3n/JornadasBrucelosis/ConceptosGeneralesDrSamartino.pdf
- 13. Sbriglio, JL. et al. 2007. Brucelosis: Una patología generalmente subdiagnosticada en humanos y que impacta negativamente en la producción pecuaria y desarrollo de nuestros países (en línea). Consultado 17 ene. 2010. Disponible en http://www.revistabioanalisis.com/arxius/notas/Nota3 13.pdf
- 14. Torres, S. 1984. Brucelosis humana y prevalencia en poblaciones susceptibles en Guatemala.

 Tesis Químico Biólogo. GT, USAC/FCQF. 140 p.

XI. ANEXOS

11.1 CONSENTIMIENTO INFORMADO

Soy una estudiante de la carrera de Medicina Veterinaria de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad de San Carlos de Guatemala y estoy realizando mi tesis que se titula "Determinación de Anticuerpos contra *Brucella abortus* en personal de lecherías adscritas a la Cámara de Productores de Leche". Estoy investigando sobre una enfermedad que se llama Brucelosis y su presencia en personas que trabajan con ganado bovino. A continuación encontrará información y le invitaré a participar en mi estudio. No es necesario que decida hoy si quiere participar, antes de decidirse puede platicar sobre la investigación con alguien con quien se sienta cómodo. Si tiene alguna duda, por favor no dude en preguntarme cuando usted lo crea conveniente, estaré encantada de responderle.

La Brucelosis es una enfermedad que la tiene gran cantidad del ganado bovino de nuestro país. Los humanos se pueden contagiar con esta enfermedad por tomar leche, comer queso, crema y otros derivados de la leche no pasteurizados, además se pueden infectar por estar en contacto con fetos abortados de vacas con Brucelosis, por tener contacto con placentas y los líquidos que la acompañan, manejo de carnes y vísceras de animales con Brucelosis y por accidentes en vacunaciones contra Brucelosis.

Estoy invitando para este estudio a personas que trabajen en fincas ganaderas relacionadas a la Cámara de Productores de Leche, no importando la edad ni el género. Su participación en esta investigación es totalmente voluntaria, usted puede elegir si participa o no. Usted puede cambiar de idea más tarde y puede dejar de participar aunque haya aceptado antes.

El procedimiento que se llevará a cabo será el siguiente:

- 1. Se extraerá una muestra de 5 ml de sangre, la cual se realizará con material completamente nuevo y desechable. Será levemente doloroso. La muestra de sangre la tomará un paramédico capacitado y únicamente se obtendrá la sangre si usted acepta participar.
- 2. Con ésta muestra se realizarán la prueba de Rosa de Bengala y si ésta sale positiva se realizará la prueba de 2-mercapto-etanol. Ambas pruebas se harán en el laboratorio de Microbiología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad de San Carlos de Guatemala, con el fin de determinar si usted ha estado en contacto con la bacteria Brucella abortus, causante de Brucelosis en el ganado bovino.
- 3. En caso de ser positivo su resultado de laboratorio, se le hará saber inmediatamente para que pueda ser tratado por un médico si esto fuera necesario.

He sido invitado (a) a participar en la investigación "Determinación de Anticuerpos contra *Brucella abortus* en personal de lecherías adscritas a la Cámara de Productores de Leche". Entiendo que se me extraerá 5 ml de sangre en una sola oportunidad. He sido informado (a) que puede incluir un poco de dolor en el sitio de punción. Se me ha proporcionado el nombre y dirección de la investigadora para ser fácilmente contactada.

He leído y comprendido la información o me ha sido leída. He tenido la oportunidad de aclarar mis dudas y se ha contestado satisfactoriamente las preguntas que he realizado. Consiento voluntariamente participar en esta investigación y entiendo que tengo el derecho de retirarme de la investigación en cualquier momento sin que esto me afecte de alguna manera.

Fecha
Nombre del participante
Firma o Huella
Nombre y Firma del Testigo (en caso de que el participante no sepa leer ni escribir)
Nombre del investigador
Firma del Investigador

Ha sido proporcionada al participante una copia de este documento de consentimiento informado.



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



TESIS: "Determinación de Anticuerpos contra *Brucella abortus* en personal de lecherías adscritas a la Cámara de Productores de Leche".

11.2 FICHA DE TOMA DE MUESTRAS

No.	Fecha	Nombre	Edad	Sexo	Procedencia	Observaciones



UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA : "Determinación de Anticuerpos contra *Brucella abortus* en personal d



TESIS: "Determinación de Anticuerpos contra *Brucella abortus* en personal de lecherías adscritas a la Cámara de Productores de Leche".

11.3 FICHA DE RESULTADOS DE LA PRUEBA CARD TEST

FECHA	No. DE MUESTRA	RESULTADO

Tabla 1

Distribución por Sexo de individuos muestreados para la determinación de anticuerpos contra Brucella abortus por medio de Card Test durante el período de Octubre a Diciembre de 2010

SEXO	NÚMERO DE INDIVIDUOS	PORCENTAJE
Femenino	7	14%
Masculino	43	86%
Total	50	100%

Gráfica 1

Distribución por Sexo de individuos muestreados para la determinación de anticuerpos contra Brucella abortus por medio de Card Test durante el período de Octubre a Diciembre de 2010

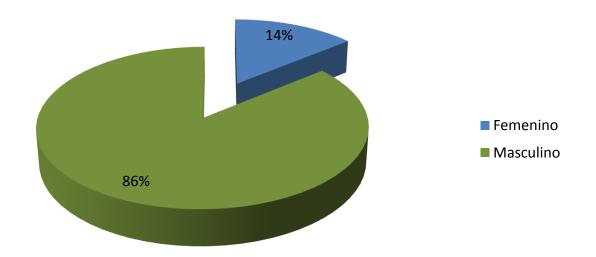


Tabla 2

Distribución por Edad de individuos muestreados para la determinación de anticuerpos contra Brucella abortus por medio de Card Test durante el período de Octubre a Diciembre de 2010

EDAD	NÚMERO DE INDIVIDUOS	PORCENTAJE
Menor de 15 años	1	2%
15 a 29 años	14	28%
30 a 45 años	20	40%
Mayor a 45 años	15	30%
Total	50	100%

Gráfica 2

Distribución por Edad de individuos muestreados para la determinación de anticuerpos contra Brucella abortus por medio de Card Test durante el período de Octubre a Diciembre de 2010

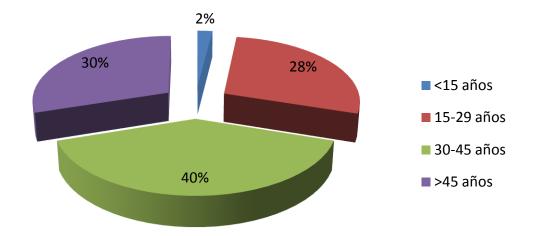


Tabla 3

Distribución por Procedencia de individuos muestreados para la determinación de anticuerpos contra *Brucella abortus* por medio de Card Test durante el período de Octubre a Diciembre de

2010

PROCEDENCIA	NÚMERO DE INDIVIDUOS	PORCENTAJE
Escuintla	23	52%
Guatemala	1	2%
Sololá	7	14%
Suchitepéquez	16	32%
Total	50	100%

Gráfica 3

Distribución por Procedencia de individuos muestreados para la determinación de anticuerpos contra *Brucella abortus* por medio de Card Test durante el período de Octubre a Diciembre de

2010

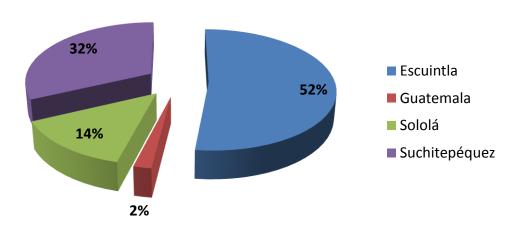


Tabla 4

Distribución por Sexo de casos positivos y negativos de individuos muestreados para la determinación de anticuerpos contra *Brucella abortus* por medio de Card Test durante el período de Octubre a Diciembre de 2010

SEXO	NÚMERO DE INDIVIDUOS (%)	CASOS POSITIVOS (%)	CASOS NEGATIVOS (%)
Femenino	7 (14%)	0 (0%)	7 (14%)
Masculino	43 (86%)	0 (0%)	43 (86%)
Total	50 (100%)	0 (0%)	50 (100%)

Gráfica 4

Distribución por Sexo de casos positivos y negativos de individuos muestreados para la determinación de anticuerpos contra *Brucella abortus* por medio de Card Test durante el período

de Octubre a Diciembre de 2010

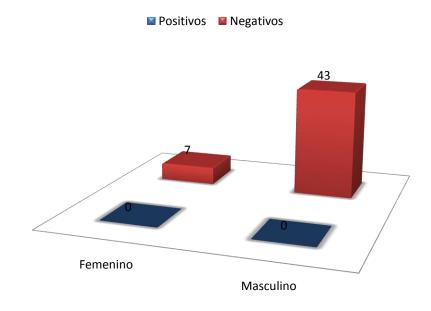


Tabla 5

Distribución por Edad de casos positivos y negativos de individuos muestreados para la determinación de anticuerpos contra *Brucella abortus* por medio de Card Test durante el período de Octubre a Diciembre de 2010

Edad	Número de Individuos (%)	Casos Positivos (%)	Casos Negativos (%)
Menores de 15 años	1 (2%)	0 (0%)	1 (2%)
15 a 29 años	14 (28%)	0 (0%)	14 (28%)
30 a 45 años	20 (40%)	0 (0%)	20 (40%)
Mayores de 45 años	15 (30%	0 (0%)	15 (30%
Total	50 (100%)	0 (0%)	50 (100%)

Gráfica 5

Distribución por Edad de casos positivos y negativos de individuos muestreados para la determinación de anticuerpos contra *Brucella abortus* por medio de Card Test durante el período

de Octubre a Diciembre de 2010

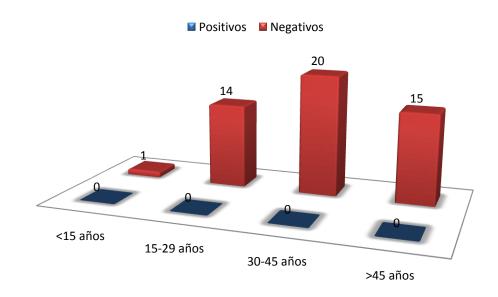


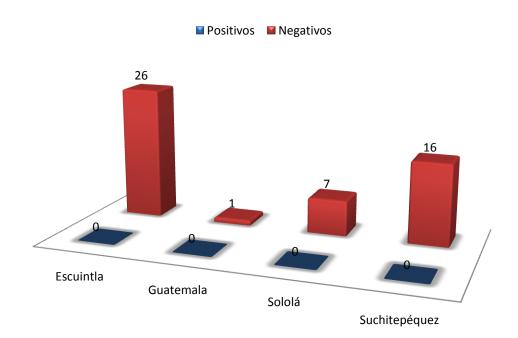
Tabla 6

Distribución por Procedencia de casos positivos y negativos de individuos muestreados para la determinación de anticuerpos contra *Brucella abortus* por medio de Card Test durante el período de Octubre a Diciembre de 2010

PROCEDENCIA	NÚMERO DE INDIVIDUOS (%)	CASOS POSITIVOS (%)	CASOS NEGATIVOS (%)
Escuintla	26 (52%)	0 (0%)	26 (52%)
Guatemala	1 (2%)	0 (0%)	1 (2%)
Sololá	7 (14%)	0 (0%)	7 (14%)
Suchitepéquez	16 (32%)	0 (0%)	16 (32%)
Total	50 (100%)	0 (0%)	50 (100%)

Gráfica 6

Distribución por Procedencia de casos positivos y negativos de individuos muestreados para la determinación de anticuerpos contra *Brucella abortus* por medio de Card Test durante el período de Octubre a Diciembre de 2010



Br. Claudia María Valenzuela Ortiz

IMPRÍMASE:



M.V. Leonidas Ávila Palma