

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



**DETERMINACIÓN DE LA PREVALENCIA DE
BRUCELOSIS, LEPTOSPIROSIS Y TUBERCULOSIS EN
BÚFALOS DE AGUA (*Bubalus bubalis*), UBICADOS EN EL
MUNICIPIO DE COLOMBA COSTA CUCA,
QUETZALTENANGO, EN EL AÑO 2014**

ADRÍAN ROSENDO GONZÁLEZ MENESES

Médico Veterinario

GUATEMALA, JULIO DE 2015

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



**DETERMINACIÓN DE LA PREVALENCIA DE
BRUCELOSIS, LEPTOSPIROSIS Y TUBERCULOSIS EN
BÚFALOS DE AGUA (*Bubalus bubalis*), UBICADOS EN EL
MUNICIPIO DE COLOMBA COSTA CUCA,
QUETZALTENANGO, EN EL AÑO 2014**

TRABAJO DE GRADUACIÓN

PRESENTADO A LA HONORABLE JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD

POR

ADRÍAN ROSENDO GONZÁLEZ MENESES

Al conferírsele el título profesional de

Médico Veterinario

En el grado de Licenciado

GUATEMALA, JULIO DE 2015

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

| | |
|--------------------|---|
| DECANO: | M.Sc. Carlos Enrique Saavedra Vélez |
| SECRETARIA: | M.V. Blanca Josefina Zelaya Pineda |
| VOCAL I: | M.Sc. Juan José Prem González |
| VOCAL II: | Lic. Zoot. Edgar Amílcar García Pimentel |
| VOCAL III: | M.V. Carlos Alberto Sánchez Flamenco |
| VOCAL IV: | Br. Javier Augusto Castro Vásquez |
| VOCAL V: | Br. Andrea Analy López García |

ASESORES

M.Sc. FREDY ROLANDO GONZÁLEZ G.

M.V. BLANCA JOSEFINA ZELAYA PINEDA

HONORABLE TRIBUNAL EXAMINADOR

En cumplimiento con lo establecido por los reglamentos y normas de la Universidad de San Carlos de Guatemala, presento a su consideración el trabajo de graduación titulado

DETERMINACIÓN DE LA PREVALENCIA DE BRUCELOSIS, LEPTOSPIROSIS Y TUBERCULOSIS EN BÚFALOS DE AGUA (*Bubalus bubalis*), UBICADOS EN EL MUNICIPIO DE COLOMBA COSTA CUCA, QUETZALTENANGO, EN EL AÑO 2014

Que fuere aprobado por la Honorable Junta Directiva de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

Como requisito previo a optar al título profesional de:

MÉDICO VETERINARIO

ACTO QUE DEDICO

- A:** Dios, concebido como mi Ser Supremo, y a la Virgen de los Ángeles por estar presente a largo de mi vida brindándome la fortaleza, la sabiduría y el discernimiento para culminar esta meta.
- A mi abuelo:** Hugo Meneses, por enseñarme los valores de la honestidad, honradez, y justicia.
- A mis padres:** Rosendo González, Anabelle Meneses, humilde reconocimiento a todo el esfuerzo y sacrificio brindado con amor para lograr este sueño.
- A mis hermanos:** Quien a través del esfuerzo conoce el valor del triunfo.
- A mi hijo:** Adriano González Ulloa por ser el mayor regalo y mi mayor orgullo, a quien siempre soñé como regalo de graduación, para ti mi amor eres mi mayor inspiración, a quien comparto este logro. Te amo.
- A mis mentores:** Fernando Rivera, Héctor González, Estuardo Ordoñez, Juan Carlos Ochoa.

AGRADECIMIENTOS

- A:** La Universidad de San Carlos de Guatemala.
- A:** La Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia.
- A:** La Escuela de Medicina Veterinaria.
- A:** Todos mis maestros en especial al doctor Carlos Alfaro.
- A:** Doña paty con cariño por su aporte nutricional.
- A:** Mis asesores: M.Sc. Fredy Rolando González G., M.V. Blanca Zelaya Pineda y Dr. Sergio Veliz.
- A:** Mis amigos y compañeros de estudio y futuros colegas, en especial a Set Samayoa, por extenderme la mano cuando más lo necesite.

ÍNDICE

| | |
|--|----------|
| I. INTRODUCCIÓN..... | 1 |
| II. OBJETIVOS..... | 3 |
| 3.1 Objetivo General..... | 3 |
| 3.2 Objetivos Específicos..... | 3 |
| III. REVISIÓN DE LITERATURA..... | 4 |
| 3.1 Generalidades del búfalo de agua (<i>Bubalus bubalis</i>)..... | 4 |
| 3.1.1 Historia..... | 4 |
| 3.1.2 Origen y taxonomía..... | 5 |
| 3.1.3 Taxonomía..... | 5 |
| 3.1.4 Situación actual en Guatemala..... | 6 |
| 3.2 Brucelosis en búfalos..... | 7 |
| 3.2.1 Sinonimia..... | 7 |
| 3.2.2 Definición..... | 7 |
| 3.2.3 Agente etiológico..... | 7 |
| 3.2.4 Transmisión en humanos..... | 9 |
| 3.2.5 Transmisión en los búfalos..... | 10 |
| 3.2.5.1 Horizontal..... | 10 |
| 3.2.5.2 Vertical..... | 10 |
| 3.2.6 Patogenia..... | 11 |
| 3.2.7 Signos clínicos..... | 13 |
| 3.2.8 Diagnóstico clínico..... | 13 |
| 3.2.9 Diagnóstico de laboratorio..... | 13 |
| 3.2.9.1 Prueba Rosa de Bengala o de la Tarjeta..... | 14 |
| 3.2.9.2 Prueba de precipitación de Rivanol (PPR)..... | 14 |
| 3.2.10 Diagnóstico diferencial..... | 14 |
| 3.2.11 Tratamiento..... | 15 |
| 3.2.12 Control y prevención..... | 15 |

| | | |
|---------|---|----|
| 3.2.13 | Vacunación..... | 15 |
| 3.2.14 | Estrategia de control..... | 16 |
| 3.3 | Leptospira en búfalos..... | 16 |
| 3.3.1 | Sinonimia..... | 16 |
| 3.3.2 | Definición de la enfermedad..... | 16 |
| 3.3.3 | Agente etiológico..... | 17 |
| 3.3.4 | Transmisión..... | 17 |
| 3.3.4.1 | Horizontal directa..... | 18 |
| 3.3.4.2 | Horizontal indirecta..... | 19 |
| 3.3.4.3 | Vertical..... | 20 |
| 3.3.5 | Patogenia..... | 21 |
| 3.3.6 | Signos clínicos..... | 22 |
| 3.3.7 | Diagnóstico..... | 24 |
| 3.3.7.1 | Fases de la enfermedad..... | 24 |
| 3.3.7.2 | Observación directa de leptospiras..... | 25 |
| 3.3.7.3 | Aislamiento..... | 25 |
| 3.3.7.4 | Diagnóstico serológico..... | 26 |
| 3.3.7.5 | Pruebas serológicas..... | 26 |
| 3.3.8 | Tratamiento..... | 28 |
| 3.3.9 | Control y prevención..... | 28 |
| 3.3.9.1 | Estrategias de control..... | 29 |
| 3.4 | Tuberculosis en búfalo..... | 29 |
| 3.4.1 | Sinonimia..... | 29 |
| 3.4.2 | Definición..... | 29 |
| 3.4.3 | Agente etiológico..... | 30 |
| 3.4.4 | Transmisión a humanos..... | 30 |
| 3.4.5 | Transmisión a bovinos..... | 31 |
| 3.4.6 | Patogenia..... | 31 |
| 3.4.7 | Signos clínicos..... | 32 |
| 3.4.8 | Diagnóstico clínico en búfalos..... | 32 |

| | | |
|------------|--|-----------|
| 3.4.8.1 | Prueba de tuberculina o de hipersensibilidad retardada..... | 33 |
| 3.4.8.2 | Prueba de interferón gamma..... | 34 |
| 3.4.9 | Tratamiento, control y prevención..... | 35 |
| 3.4.9.1 | Estrategia de control..... | 35 |
| IV. | MATERIALES Y MÉTODOS..... | 36 |
| 4.1 | Materiales..... | 36 |
| 4.1.1 | Área de estudio..... | 36 |
| 4.1.2 | Recursos humanos..... | 36 |
| 4.1.3 | Recursos biológicos..... | 36 |
| 4.1.3.1 | Prueba de brucelosis..... | 36 |
| 4.1.3.2 | Prueba de leptospirosis..... | 36 |
| 4.1.3.3 | Prueba de tuberculosis..... | 37 |
| 4.1.4 | Recursos de campo..... | 37 |
| 4.1.5 | Recursos de laboratorio..... | 37 |
| 4.1.5.1 | Prueba de brucelosis..... | 37 |
| 4.1.5.2 | Prueba de leptospirosis..... | 38 |
| 4.1.6 | Recursos físicos..... | 39 |
| 4.2 | Metología..... | 39 |
| 4.2.1 | Diseño de estudio..... | 39 |
| 4.2.2 | Determinación de la muestra..... | 39 |
| 4.2.3 | Metodología de campo..... | 40 |
| 4.2.3.1 | Procedimiento para toma de muestra para diagnóstico de brucelosis y leptospirosis..... | 40 |
| 4.2.3.2 | Procedimiento para realización de prueba tuberculínica en el pliegue ano caudal..... | 40 |
| 4.2.3.3 | Procedimiento para realización de prueba tuberculínica comparativa..... | 41 |
| 4.3 | Metodología de laboratorio..... | 41 |
| 4.3.1 | Procedimiento para realizar la prueba Rosa de Bengala..... | 41 |

| | | |
|--------------|--|-----------|
| 4.3.2 | Procedimiento para realizar la prueba Rivanol..... | 42 |
| 4.3.3 | Procedimiento para realizar la prueba MAT..... | 42 |
| 4.4 | Variables a medir..... | 43 |
| 4.5 | Análisis estadístico..... | 44 |
| V. | RESULTADOS Y DISCUSIÓN..... | 45 |
| VI. | CONCLUSIONES..... | 48 |
| VII. | RECOMENDACIONES..... | 49 |
| VIII. | RESUMEN..... | 50 |
| | SUMMARY..... | 51 |
| IX. | REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... | 53 |

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro No. 1

Resultados de la prevalencia de las enfermedades en estudio.....45

I. INTRODUCCIÓN

El búfalo de agua (*Bubalus bubalis*), en Guatemala tiene un gran potencial para las producciones ganaderas en zonas inundables del país, de acuerdo a sus cualidades productivas, son áreas marginales con baja fertilidad de suelos, mal drenaje y marcada estacionalidad de las precipitaciones, donde difícilmente el vacuno puede sobrevivir. Debido a las características anatómicas y fisiológicas de los búfalos, estos tienen muchas ventajas que lo hacen valioso para la producción de carne y leche, como una solución ganadera alternativa para aprovechar las hectáreas de zonas inundables del país, (Almaguer Pérez, 2014).

La brucelosis, leptospirosis y tuberculosis son enfermedades zoonóticas importantes a nivel mundial, éstas enfermedades se encuentran en la lista de la Organización Mundial de la Salud Animal (OIE) de enfermedades de notificación obligatoria, ya que éstas ponen en riesgo la salud pública y tienen un impacto en el comercio internacional. (Szyfres, Brucelosis, 2001) (OIE, 2014). Para el caso de brucelosis y tuberculosis a nivel centroamericano están en constante monitoreo por el Programa de Brucelosis y Tuberculosis llevado a cabo por los ministerios correspondientes de cada país (OIE, 2014). En el caso de leptospirosis los datos a nivel centroamericano y mundial son muy escasos, ya que no se monitorea frecuentemente o son casos muy aislados. Tomando en cuenta, que la zona dónde se encuentra la unidad de producción (UP) en estudio no hay datos actualizados de la prevalencia de este tipo de enfermedades enzoóticas en los bovinos ni en los búfalos, según estudios previos del Programa de Brucelosis y Tuberculosis del Ministerio de Agricultura Ganadería y Alimentos (MAGA), así como tampoco existen datos de Leptospirosis. Es imperativo considerar la interacción de los búfalos de agua con la población bovina y otras especies de rumiantes domésticos y silvestres, los cuales comparten un hábitat, cuyos entornos cumplen con las condiciones ecológicas, necesarias para que se desarrolle el ciclo evolutivo y epidemiológico de las enfermedades bacterianas

enzoóticas que afectan a los rumiantes en general, o bien, pueden constituir un reservorio potencial de las mismas o de otras enfermedades que pueden resultar exóticas para el país (Jacobo, 2014). Para el diagnóstico de brucelosis se empleará la Prueba de Rosa de Bengala y Rivanol como prueba confirmatoria, en el caso de leptospirosis se utilizará la Prueba de Microaglutinación en campo oscuro y para el tuberculosis se aplicará la Prueba de Tuberculina ano – caudal y la cervical comparativa.

Por lo anterior, siendo el objetivo principal de este estudio, generar información sobre la situación zoonositaria de la especie en la UP y en Guatemala, y debido a su objetivo, estos animales están destinados al consumo humano (carne y leche); la información sobre los hatos búfalinos es escasa en el país, es necesario realizar un adecuado control sanitario. Ya que estas enfermedades se presentan año con año, debido a los cambios climáticos que alteran la ecología de la enfermedad, razón por la cual es de suma importancia aportar información sobre la prevalencia, el correcto diagnóstico, tratamiento y prevención de las mismas en esta especie, las cuales tienen un gran impacto económico en las explotaciones ganaderas.

II. OBJETIVOS

2.1 Objetivo General

- Generar información sobre la situación sanitaria de Brucelosis, Leptospirosis y Tuberculosis en una unidad de producción (UP) de búfalos de agua (*Bubalus bubalis*), ubicada en el municipio de Colomba Costa Cuca, Quetzaltenango.

2.2 Objetivos Específicos

- Determinar la seroprevalencia de la *Brucella abortus*, utilizando las pruebas; Rosa de Bengala y Rivanol.
- Determinar la seroprevalencia de *Leptospira interrogans*, utilizando la prueba de Microaglutinación (MAT).
- Determinar la prevalencia de Tuberculosis, identificando a los reactores positivos *Mycobacterium sp.* mediante la prueba tuberculina ano-caudal y la prueba comparativa cervical a los reactores positivos como prueba confirmatoria.

III. REVISIÓN DE LITERATURA

3.1 Generalidades del búfalo de agua (*Bubalus bubalis*)

3.1.1 Historia

El búfalo de agua se define como un bovino, doméstico, gregario, semiacuático, curioso, dócil, de temperamento delicado y sensitivo, gentil, inteligente, reservado y tranquilo; rústico, y resistente a diversas enfermedades, longevo; con una gran tolerancia a los climas calientes y húmedos de los trópicos y subtropicos, es considerado cosmopolita excepto en las regiones áridas y árticas; tiene notable conversión alimenticia con habilidad para utilizar eficientemente los recursos disponibles, digerir celulosa y nitrógeno no proteico como materia prima para la síntesis proteica, debido a sus ventajas anatomo-fisiológicas del tracto gastrointestinal, lo que le permite una notable precocidad comparado con el vacuno. (Benítez, 2006) (López Álvarez, 2005) (Almaguer Pérez, 2014)

Debido a su condición natural es un animal multipropósito, capaz de subsistir en una gran diversidad de ambientes y transformar plantas de bajo valor nutritivo en carne y leche de primera calidad (López Álvarez, 2005); esta eficiencia le confiere ventajas para desenvolverse en zonas inundables con pastos de poco valor nutritivo (Benítez, 2006), tales como las que se encuentran frecuentemente en Guatemala.

A pesar de su rusticidad, este tipo de ganado requiere mayor presencia del hombre que el vacuno. La no presencia o la ausencia prolongada de recogidas y manejo en los rebaños extensivos, puede hacer que algunos animales se vuelvan difíciles de manejar: la docilidad depende del trabajo que realicen los criadores. Son por naturaleza tímidos y se asustan fácilmente, por lo que deben ser tratados

con tranquilidad y calma: un trato brusco y gritos hace que su control sea más difícil y su adiestramiento más arduo. (S.A, 2014)

3.1.2 Origen y taxonomía

En cuanto a sus orígenes, hay antecedentes de la India de hallazgos arqueológicos que demuestran la presencia de los búfalos desde hace 60,000 años a.c, pero se cree que fueron domesticados hace 3,000 a.c, en la India, Irak y China. El búfalo de agua es nativo de Asia, la especie *Bubalus bubalis sp*, incluye 19 razas considerando también al búfalo de pantano (Swamp buffalo), mundialmente las cuatro más conocidas son: Carabao, Mediterránea, Murrah y Jafarabadi. Actualmente la población bufalina mundial ronda los 170 millones de cabezas, siendo Asia el continente que concentra la mayor cantidad de búfalos; dentro de Asia, el país que es representativo es la India, seguido por Pakistán y China. (Almaguer Pérez, 2014)

Desde Asia el búfalo fue llevado a Europa, donde en la actualidad se le utiliza mayormente para la producción láctea, en países como Italia, Bulgaria, Rumania y Hungría. Posteriormente, el búfalo fue introducido en Sudamérica por los europeos para ser utilizados como animal de tracción, dada su gran rusticidad, longevidad y fuerza tuvo una rápida difusión en los países del norte de Sudamérica – especialmente en Venezuela, Colombia y Brasil. (Benítez, 2006) (López Álvarez, 2005)

3.1.3 Taxonomía

Clasificación zoológica del búfalo

Orden: Artiodactyla

Suborden: Rumiantes

Familia: Bovideos.

Sub – familia: *Bubalinae*

Subespecie: *Bubalus bubalis limneticus*

Bubalus bubalis fluviatilis.

(Almaguer Pérez, 2014)

3.1.4 Situación actual en Guatemala

Los primeros búfalos fueron traídos por el gobierno del Presidente Romeo Lucas García para su reproducción en una finca nacional de Alta Verapaz, después, varios ganaderos obtuvieron ejemplares para llevarlos a haciendas del suroccidente del país. (SACTIC, 2014)

Tres de las más importantes razas de búfalos, desde el punto de vista económico, tienen presencia en nuestro país, tales como Mediterránea (70%), Murrah y Jafarabadi, las tres son de doble propósito (leche y carne) y a veces triple (trabajo). (Martinez, 2007) (Morales, 2011)

Para el último censo agropecuario, realizado por el Instituto Nacional de Estadística (INE) en el 2003 se muestrearon un total de 95 fincas que registraron un total de 1948 cabezas de búfalos. (INE, 2014). Según la Asobúfalo, el hato para el 2014 es de tres mil cabezas bufalinas.

3.2 Brucelosis en búfalos

3.2.1 Sinonimia

Fiebre ondulante, fiebre de Malta, aborto contagioso, aborto infeccioso, aborto epizootico (en animales), enfermedad de Bang (en bovinos) y en el humano fiebre del Mediterráneo. (Szyfres, Brucelosis, 2001)

3.2.2 Definición

La brucelosis bovina es una enfermedad infecciosa bacteriana endémica, causada por *Brucella abortus*, Gram negativa, principalmente provoca abortos, metritis, infertilidad o subfertilidad en el ganado bovino, con pérdidas económicas considerables por disminución en la producción lechera y de crianza. *B. abortus* también afecta a otras especies, entre ellas el bisonte, el búfalo. Las infecciones en los animales silvestres pueden dificultar los esfuerzos de erradicación en el ganado bovino (Estein, 2006) (Biologics, Brucelosis Bovina, 2014).

Además, *B. abortus* es un patógeno que afecta al humano por lo que se considera una enfermedad zoonótica, presentándose como una enfermedad grave, debilitante y, algunas veces, crónica que afecta diversos órganos. Aunque la mayoría de los casos se deben a la exposición ocupacional por animales infectados, debido a que la infección también se da por vía conjuntival, cutánea o en membranas mucosas a través de heridas, así también pueden ocurrir al ingerir productos lácteos contaminados. Por otra parte, se podría utilizar *B. abortus* en una ataque bioterrorista (Biologics, Brucelosis Bovina, 2014) (Estein, 2006) (Szyfres, Brucelosis, 2001).

3.2.3 Agente etiológico

En el género *Brucella* se reconocen actualmente seis especies: *B. melitensis*,

abortus, *B. suis*, *B. neotomae*, *B. ovis* y *B. canis*. Las tres primeras especies denominadas “brucelas clásicas” se han subdividido a su vez en biovares, que se distinguen por diferentes características bioquímicas, de comportamiento, o ambas, frente a los sueros monoespecíficos *A. (abortus)* y *M. (melitensis)*. De esta manera, *B. melitensis* se subdivide en tres biovares (1–3); *B. abortus*, en siete (1–7); ya que se suprimieron los biovares 7 y 8, y el actual biovar 7 corresponde al 9 de la clasificación anterior (Szyfres, Brucelosis, 2001).

La estructura antigénica del género *Brucella* son cocobacilos Gram negativos, no esporulados, acapsulados, carentes de pilis o flagelos. Poseen una envoltura celular característica: la membrana externa (ME), la membrana interna y un espacio periplásmico intermedio. En el periplasma hay proteínas y un gel glucopeptídico denominado peptidoglicano (PG) responsable de la forma e integridad osmótica de la bacteria. El citoplasma es rico en ADN, ARN, y proteínas citosólicas, algunas de ellas importantes desde el punto de vista del diagnóstico (Estein, 2006) (Stanchi, Brucelosis, 2007) (Biologics, Brucelosis Bovina, 2014). La Brúcela puede propagarse en fómites, como los alimentos y el agua. En condiciones de humedad alta, temperaturas bajas y de poca luz solar, estos organismos pueden permanecer viables durante varios meses en el agua, fetos abortados, estiércol, lana, heno, materiales de trabajo y la ropa. La brúcela puede resistir la desecación, en particular cuando existe material orgánico y puede sobrevivir en el polvo y el suelo. La supervivencia es más prolongada cuando la temperatura es baja, especialmente cuando está por debajo del punto de congelación (Biologics, Brucelosis Bovina, 2014).

Cuando la brúcela penetra al organismo, la diseminación inicia, las bacterias se localizan extracelularmente en el sistema mononuclear fagocítico y se localizan inicialmente en linfonodos regionales donde produce hiperplasia linfoide y respuesta inflamatoria aguda, en el cual se dan los mecanismos normales de defensa antibacterianos del hospedero adonde quedan atrapados y mueren dentro

del sistema retículo-endotelial. Después se propaga a otros tejidos linfoides, hígado y pulmones, y en animales gestantes a útero y glándula mamaria. La infección congénita en terneros recién nacidos se da como resultado de la infección *in útero* debido a la presencia de eritrol (un hidrato de carbono) en la placenta que estimula la multiplicación de brúcelas, lo que explicaría la gran susceptibilidad de los tejidos fetales del bovino (Szyfres, Brucelosis, 2001) (Saldarriaga, 2014) (Celada, 2014).

3.2.4 Transmisión en humanos

El hombre se infecta de los animales por contacto directo o indirecto, por ingestión de productos de origen animal, principalmente de leche sin pasteurizar que es utilizada para subproductos lácteos, aunque algunos investigadores proponen la infección por vía aerógena.

La importancia relativa del modo de transmisión y de las puertas de entrada del agente etiológico varía con el área epidemiológica, los reservorios animales y los grupos ocupacionales expuestos al riesgo. Dado que la infección se puede adquirir por la contaminación de membranas mucosas y piel lastimada al estar en contacto con fetos abortados, restos de placenta y secreciones vaginales de animales enfermos.

En el laboratorio, se puede adquirir la infección por contacto con muestras de tejido y cultivos manipulados incorrectamente. La transmisión interhumana es muy poco común, pero, se han descrito casos por transmisión sexual en EEUU; por leche materna en Kuwait; transmisión durante el parto en Israel, y por transferencia y trasplantes de médula ósea (Szyfres, Brucelosis, 2001) (OIE, 2014).

3.2.5 Transmisión en los búfalos

3.2.5.1 Horizontal

Al igual que en los bovinos, la principal vía de penetración de la brúcela en los búfalos, es la vía oral, por contacto directo o indirecto, por descargas o membranas fetales contaminadas, ya sea por aborto o por el parto. Esto se debe a los hábitos de comportamiento de ingerir los restos placentarios, lamer fetos abortados o búfalos recién nacidos. Debemos tomar en cuenta, que las hembras cuando entran en celo producen descargas vaginales, sumándole a esto los hábitos sociales del búfalo de lamerse los órganos genitales, los cuales pueden contener gran número de bacterias. También existe eliminación de la bacteria en secreciones como leche, semen, orina y heces. Esto contribuye a la vía más frecuente de transmisión por el tracto gastrointestinal, ya que se contaminan los forrajes y/o el agua. Aunque la glándula mamaria es colonizada durante el transcurso de la infección, también se puede infectar por contacto directo (manos o pezoneras contaminadas) y posteriormente se excreta la bacteria en la leche.

3.2.5.2 Vertical

Se producen infecciones *in útero*, debido a la producción del azúcar eritritol que está presente en órganos como el útero en la placenta, el epidídimo y la glándula mamaria (Torres, 2014). La transmisión venérea parece ser poco frecuente debido al pH ácido de la vagina que destruye la *B. abortus*. Se han informado casos de transmisión por inseminación artificial cuando se deposita el semen contaminado en el útero, pero no en el cuello uterino. Situación que constituye uno de los principales problemas en los planes de erradicación de esta enfermedad, esto porque si el feto se infecta dentro del primer tercio de gestación y no es abortado, los epítomos de la bacteria serán reconocidos como propios por el sistema inmune, provocando que las pruebas diagnósticas convencionales sean incapaces de identificarlos, por lo que este individuo jugará el papel de portador

asintomático (latente) (Szyfres, Brucelosis, 2001) (Samartino, 2014) (Biologics, Brucelosis Bovina, 2014) (Celada, 2014) (Y. Rodríguez Valera, 2014).

3.2.6 Patogenia

En los rumiantes, la infección por *B. abortus* se adquiere sobre todo por vía oral, nasal o conjuntival. Luego de haber atravesado las mucosas, cuando estas bacterias ingresan al organismo pueden ser fagocitadas por los neutrófilos polimorfonucleares (PMN) y macrófagos los cuales son sus células diana, como parte de la inmunidad innata. Si no son eliminadas llegan por vía linfática a los ganglios linfáticos regionales (retrofaringeos, parotídeos y submaxilares siendo estos los más frecuentes) y otros órganos linfoides como el bazo, pudiendo desde allí invadir el torrente sanguíneo, donde son fagocitadas por los PMN y macrófagos circulantes y transportadas a los diversos órganos. De esta manera, se establece la infección en el tracto reproductor (útero grávido), testículos, glándula mamaria, epidídimo y sistema retículo-endotelial, donde pueden sobrevivir y multiplicarse dentro de las vacuolas de los fagocitos circulantes y tisulares. Las especies de *Brucella* son patógenas intracelulares facultativas, lo anterior porque son capaces de adherirse, penetrar y multiplicarse en una gran variedad de células eucariotas, tanto fagocíticas como no fagocíticas, propiedad que las mantiene protegidas de la acción de los antibióticos, y de los mecanismos efectores dependientes de anticuerpos, esto justifica la naturaleza crónica de la infección (Castro, 2014) (Stanchi, Brucelosis, 2007).

Las células fagocíticas profesionales como los macrófagos y los PMN poseen mecanismos microbicidas intracelulares, oxígeno dependiente y oxígeno independiente capaces de destruir patógenos intracelulares. Estos mecanismos incluyen funciones como la acidificación de los lisosomas, proteínas quelantes de hierro, hidrolasas lisosomales, producción de arginasa, lisosima y péptidos

catiónicas. Pero, *Brucella* es capaz de evadir o resistir estos mecanismos porque ha demostrado ser muy eficiente en su vida intracelular y tiene gran capacidad de diseminarse y de producir bacteriemias frecuentes, las cuales se asocian a los cuadros febriles (Freer, 2014).

El *eritritol*, sustancia producida por el feto y capaz de estimular el crecimiento de esta bacteria, está presente de forma natural en sus máximas concentraciones en placenta y líquidos fetales, siendo posiblemente la mayor responsable de que la infección por *B. abortus* se localice en estos tejidos. (Delgado, 2014)

Si las vacas se encuentran gestantes, posteriormente se produce una bacteriemia periódica que produce una infección en útero y placenta, la mayoría de las vacas abortan una vez en el caso de la primoinfección y de forma excepcional dos o tres veces. En las hembras no gestantes, la infección permanece localizada en los ganglios retromamarios. (Stanchi, Brucelosis, 2007)

Al producirse la invasión del útero grávido, las lesiones comienzan a manifestarse en la pared del órgano, pero como la luz del órgano es prontamente ocupada, se produce una endometritis ulcerosa grave de los espacios intercotiledonarios. Posteriormente, son infectados tanto líquidos fetales como cotiledones placentarios provocando la destrucción de las uniones carúncula-cotiledón.

Al provocarse la necrosis de estas uniones se produce la muerte del feto, debido a la multiplicación acelerada de la bacteria en placenta y útero, esto interfiere con el suministro de oxígeno y nutrientes de la madre al feto, lo que provoca agonía fetal, y desprendiendo de su desarrollo, el feto puede llegar a término o finalmente morir. El feto puede permanecer muerto en el útero alrededor de 24 a 72 horas, iniciando un proceso de autólisis que producirá endotoxinas secundariamente a la muerte del feto. Los neonatos pueden infectarse vía intrauterina, dando origen a la "brucelosis latente" (Celada, 2014).

3.2.7 Signos clínicos

En los rumiantes, la enfermedad pasa desapercibida, siendo el único signo clínico el aborto, pero poco frecuente en los búfalos (Zimmer, 2014), el cual se produce en el último término de la gestación. Como signos asociados a la enfermedad se presentan retenciones placentarias, y metritis. En los toros se presenta orquitis, epididimitis, vesiculitis seminal y absceso testiculares. Siendo los principales factores de infertilidad tanto en machos como en hembras, así como también una disminución del periodo de lactancia de las vacas infectadas (Biologics, Brucelosis Bovina, 2014) (Szyfres, Brucelosis, 2001) (Stanchi, Brucelosis, 2007).

3.2.8 Diagnóstico clínico

Se deben considerar las infecciones por brucelosis en todos los casos de aborto, especialmente cuando ocurren abortos múltiples en ganaderías, en la última fase de la gestación. (Biologics, Brucelosis Bovina, 2014)

3.2.9 Diagnóstico de laboratorio

En Guatemala, existe el programa de control y erradicación de Brucelosis bovina del Ministerio de Agricultura Ganadería y Alimentos (MAGA), el diagnóstico de Brucelosis se realiza principalmente con métodos serológicos, utilizando dos técnicas. Se llevan a cabo pruebas serológicas que permitan identificar los búfalos afectados, tales como lo son la prueba de la tarjeta con rosa de bengala (RB) la cual posee una alta sensibilidad, es rápida, de fácil ejecución y que permite el procesamiento de gran número de muestras por día como prueba tamiz. Esta prueba permite clasificar los animales en positivos y negativos, para después realizar a las muestras positivas o sospechosas la prueba de Rivanol, que funciona como complementaria y confirmatoria, ya que tiene mayor especificidad

pero menor sensibilidad, lo cual permite diferenciar los animales infectados de aquellos que han sido vacunados (falsos positivos) (Vargas, 1984) (OIE, Normas internacionales, 2014) (Figueroa, 2014). (OIE, Brucelosis Bovina, 2014)

3.2.9.1 Prueba Rosa de Bengala o de la Tarjeta

Es una prueba cualitativa que clasifica los animales en positivos y negativos, rápida, de aglutinación en placa, considerada para el diagnóstico inicial de la brucelosis por su rapidez y bajo costo. Se basa en la inhibición-inactivación de algunas aglutininas inespecíficas a pH bajo. Para esta prueba se utiliza antígeno de *B. abortus* cepa 1119-3 inactivada teñida y concentrada al 8% con rosa bengala con pH de 3.6 (Szyfres, Brucelosis, 2001) (Fensterbank, 2014).

3.2.9.2 Prueba de Precipitación de Rivanol (PPR)

Esta prueba diagnóstica tiene el mismo principio de la prueba de tarjeta, sólo que, se le adiciona una sustancia (lactato) Rivanol, además del antígeno en concentración del 4% de *B. abortus* cepa 1119-3 inactivada teñida con una mezcla de verde brillante y cristal violeta, con pH de 5.8 a 6.2. Para que precipiten los anticuerpos IgM y el sobrenadante de esto contendrá los anticuerpos IgG que serán aglutinados con los antígenos en la prueba, reaccionando sólo aquellos sueros con anticuerpos de infección.

3.2.10 Diagnóstico diferencial

En caso de que sólo se presente aborto como signo clínico se puede sospechar de Campilobacteriosis, Listeriosis, Leptospirosis, Ureaplasmosis, Tricomoni-asis, Neospora, Haemophilosis, Rinotraqueitis infecciosa bovina (IBR) o Diarrea viral bovina (DVB). (Szyfres, Brucelosis, 2001) (Biologics, Brucelosis Bovina, 2014)

3.2.11 Tratamiento

No existe tratamiento indicado para bovinos y la mayoría de los casos enviados al rastro. En humanos el tratamiento de elección es Rifampicina.

3.2.12 Control y prevención

Parte de la población puede ser protegida mediante la obligación de pasteurizar la leche. La prevención de la infección en grupos ocupacionales (ganaderos, obreros de mataderos, veterinarios y otros en contacto con animales o sus canales) es más difícil, y debe basarse en la educación para la salud, el uso de ropa protectora cuando sea posible, y la supervisión médica.

3.2.13 Vacunación

Para el control de brucelosis bovina se recomienda la vacunación, la vacuna de elección es la *B.abortus* cepa 19, de uso universal por la protección que confiere durante toda la vida útil del animal y su bajo costo. Se debe vacunar animales de corta edad de 3 a 8 meses, para que pierdan rápidamente los anticuerpos vacunales. El efecto antiabortivo de la vacuna es muy prolongado, reduciéndose de esta manera una de las fuentes principales de infección.

En un programa de vacunación sistemática, los mejores resultados se obtienen cuando se logra una cobertura anual de 70 a 90% de las terneras en edad de ser vacunadas. No deben vacunarse los machos, ni tampoco las hembras de más de 8 meses e incluso, cuando fuera posible, de más de 6 meses de edad. Tampoco se recomienda la revacunación (Szyfres, Brucelosis, 2001) (OIE, Brucelosis Bovina, 2014).

3.2.14 Estrategias de control

- Mejoramiento de las condiciones higiénico-sanitarias y de manejo poblacional para minimizar la diseminación de la enfermedad.
- Programa de vacunaciones sobre la base de un diagnóstico de laboratorio eficiente y oportuno.
- Vigilancia epidemiológica, monitoreo serológico periódico en las explotaciones animales identificadas.
- Eliminación de animales positivos y persistentemente infectados a la enfermedad.

3.3 Leptospira en búfalos

3.3.1 Sinonimia

Fiebre de los arrozales, Fiebre de los cañaverales

3.3.2 Definición de la enfermedad

La leptospirosis es una antropozoonosis de distribución mundial, producida por una espiroqueta de las cepas patógenas del género *Leptospira*, que afecta tanto a los animales silvestres y domésticos así como al hombre. En los animales domésticos produce grandes pérdidas económicas por abortos, agalactia y muerte perinatal. La infección es transmitida, principalmente, por las grandes cantidades de microorganismos en la orina denominada leptospinuria. (Stanchi, Leptospiras, 2007)

Varios serovares de *Leptospira* pueden infectar al bovino aunque el serovar Hardjo y Pomona son ampliamente descritos como los serovares más endémicos (Rivera, 2014)

3.3.3 Agente etiológico

El agente etiológico de Leptospirosis pertenece al orden *Spirochaetales*, familia *Leptospiraceae*, género *Leptospira*, que comprende 2 especies: *L. interrogans*, patógena para animales y hombre y *L. biflexia* apatógenas de vida libre (Ramírez, 2014).

La especie que interesa como agente zoonótico es *L. interrogans*, que contiene más de 223 variantes serológicas, denominadas serovares y que constituyen el taxón básico. A su vez, los serovares están agrupados por conveniencia en 25 serogrupos, sobre la base de los componentes aglutinogénicos predominantes que comparten antigénicamente (Szyfres, Leptospirosis, 2001) (Córdova, 2014).

Leptospira interrogans es un microorganismo de forma helicoidal, son flexibles, miden 0.1µm de diámetro y 6 a 20 µm de longitud. Tiene una capa glucopeptida en la membrana citoplasmática, no se tiñe con colorantes de anilina. Se destruyen con facilidad por el calor, los desinfectantes, la desecación y la acidez. Es móvil, aerobia estricta, que se cultiva en medios complejos como el EMJH (Ellinghausen-McCullough-Johnson-Harris) y el Tween 80/40 con lactoalbúmina hidrolizada. Puede sobrevivir largo tiempo en el agua, ambiente húmedo o templado, con pH neutro o ligeramente alcalino. Siendo el agua su vehículo más importante para su transmisión (Stanchi, Leptospiras, 2007).

3.3.4 Transmisión

Las diferentes cepas patógenas de *Leptospira* pueden afectar, potencialmente, a un gran número de especies animales, que actuarán como hospederos de mantenimiento o accidentales en función del serovar considerado. Se considera como hospedero de mantenimiento aquel que, asegura la perpetuación de una población determinada de agentes infecciosos, sin la intervención de ningún hospedero accidental. Los cuales se consideran como la fuente de infección que

mantiene para otros mamíferos. Se caracterizan por gran receptividad a la infección por el serovar que mantienen, baja patogenicidad del microorganismo al hospedador, presencia de infección renal con presencia de leptospinuria prolongada, mantenimiento de leptospira en el tracto genital y transmisión eficaz de la infección a los animales de la misma especie. La transmisión de la infección entre hospederos de mantenimiento se realiza independientemente de las condiciones climáticas y ambientales. Sin embargo, la transmisión a un hospedero accidental será necesario que las condiciones ambientales sean las adecuadas para la supervivencia de la *Leptospira* fuera del hospedador (Alonso-Andicoberry, 2014).

La infección del hombre y de los animales se produce por vía horizontal o vertical, pudiendo ser de forma directa o indirecta a través de abrasiones en la piel y de las mucosas bucal, nasal y conjuntival. La vía más común es la indirecta, a través de aguas, suelo y alimentos contaminados por orina de animales infectados (Szyfres, Leptospirosis, 2001). (Alonso-Andicoberry, 2014).

3.3.4.1 Horizontal directa

Esta forma de transmisión es la más frecuente en los casos de serovares adoptados como Hardjo que es la más común en bovinos.

- **Contacto directo**

Esta vía es la más estudiada, además de tener diversas formas. La forma venérea fue tomada en consideración después que fue demostrada la presencia de *Leptospira* en el semen de un toro. En humanos se diagnosticó la infección de una mujer luego de contacto sexual con su pareja durante la fase de leptospiruria. Además de la venérea, la costumbre de los bovinos y perros de lamer los

genitales y/o otras áreas corporales, puede permitir también la transmisión de la infección. (Szyfres, Leptospirosis, 2001)

- **Aerosoles-núcleos goticulares**

Tienen importancia, ya que las gotas de orina dispersan a varios metros del animal que orina, pudiendo penetrar las Leptospiras procedentes de animales con leptospirosis, tanto por inhalación como por vía conjuntival (Ramírez, 2014) (Alonso-Andicoberry, 2014).

3.3.4.2 Horizontal indirecta

Esta desempeña un papel fundamental en las infecciones accidentales, ya que se produce tras la exposición al ambiente contaminado con material infectante.

- **Fómites**

El agua, alimentos, pastos y suelos contaminados pueden facilitar el contacto entre el animal- humano y el agente. La forma importante y más frecuente para la infección humana y animal, es el contacto de la piel o las mucosas con aguas o barro contaminados con orina y el contacto con órganos de animales enfermos en el matadero. Los pastos contaminados juegan un papel importante para la transmisión intra e interespecie.

- **Vectores**

Diversos autores han evaluado la hipótesis de que los artrópodos podrían jugar un papel relevante en la transmisión mecánica del agente.

3.3.4.3 Vertical

- **Transplacentaria**

El agente puede atravesar la placenta durante el período de leptospiremia, tal y como se ha demostrado tanto en el ganado bovino, el cerdo y en el ser humano. Un caso especial sería la posibilidad de la infección del feto en el momento del parto, si esto no ha ocurrido anteriormente durante la gestación.

- **Galactófora**

Puesto que la infección por *L. hardjo* y *L. pomona* pueden producir una mastitis clínica, los microorganismos presentes en la glándula mamaria podrían ser excretados con la leche e infectar al ternero por vía oral. En caso de ser humano, estas dos formas de transmisión es poco estudiado, pero sí hay informes al respecto.

- **Vía oral**

En humano, por la ingestión de alimentos contaminados con la orina de animales enfermos o de reservorios. Antes se consideraba como una vía importante, pero hoy se le da poco valor como modo de transmisión (CONAVE, 2014) (Alonso-Andicoberry, 2014) (Ramírez, 2014) (Szyfres, Leptospirosis, 2001).

3.3.5 Patogenia

La *L. interrogans*, luego de haber atravesado las membranas mucosas del hospedador, por vía oral, nasal o conjuntival, pasan rápidamente al torrente sanguíneo distribuyéndose de 24 a 48 horas la infección, provocando la diseminación en órganos como riñón, corazón, músculos esqueléticos y pulmones,

provocando una multiplicación en el parénquima hepático durante un período de incubación entre 2-30 días según sea el caso, provocando leptospiremia por al menos 7 días produciendo pirexia, eliminación de leptospiras en la leche, anorexia. Estos microorganismos son resistentes a la actividad bactericida de los neutrófilos y los macrófagos y en ausencia de anticuerpos específicos no son fagocitados ni destruidos por los polimorfonucleares o macrófagos. Lo que provoca una enfermedad sistémica. La aparición de anticuerpos específicos detectables aproximadamente a los 10 días de la infección junto a la acción leptospiricida de las beta-macroglobulinas del suero y la acción del complemento y la lisozima, hacen que desaparezcan las leptospiras en torrente sanguíneo, pero se localizan en diferentes órganos, tales como la cámara interior del ojo, las meninges y el riñón donde los anticuerpos tienen poco acceso y en el útero grávido.

Los signos de la enfermedad aguda generalmente, coinciden con la fase de leptospiremia, donde estos pueden atribuirse a la existencia de determinados factores de patogenicidad bacteriana, como las hemolisinas y las lipasas siendo la primera causa de la anemia. Más tarde, se le suma la acción de los anticuerpos situados en la superficie eritrocitaria que sensibilizan al eritrocito, causando su rotura y posteriormente anemia. Durante esta fase (leptospiremia) ocurre una reacción inflamatoria en la mama (mastitis). La hemólisis producida por la hemolisina y por el daño hepatocelular se le atribuye a las causas isquémicas y tóxicas lo que da como resultado la ictericia. Tras esta fase, las leptospiras se acantonan en el riñón, lugar de difícil acceso para los anticuerpos, la ubicación en los túbulos renales se ve facilitada por la producción de ureasa por parte de las Leptospiras. Posteriormente, se multiplican en la luz de los túbulos contorneados renales, principalmente en las proximidades de las microvillosidades donde la nefritis está provocada por el daño capilar y la producción de determinadas endotoxinas y hemolisinas, que terminan por producir anoxia, nefrosis y hemoglobinuria, por la posible isquemia debida a la agregación intravascular de

hemoglobina que obstruiría los capilares y también por la presencia de mononucleares infiltrados por una reacción autoinmune, lo que da lugar a la tercera fase (leptospirosis) que puede tener carácter continuo o intermitente y de duración variable, según la especie afectada. El bovino puede tener una leptospiruria hasta 7 meses; equino de 2-3 meses, el cerdo hasta un año; perro hasta 6 meses o más; roedores toda la vida.

La localización de agentes patógenos en el hígado y humor acuoso complica el cuadro y el desenvolvimiento clínico, también el aborto es causa de la fiebre y la reacción sistémica general, por el paso de hemolisina y otras toxinas a través de la placenta destruyendo los eritrocitos fetales y los cambios degenerativos microscópicos en la placenta interfieren en el intercambio fisiológico entre la madre y el feto, pudiendo originar la muerte fetal. Siempre hay que tener en cuenta que, en algunos casos, la aparición del aborto es muy posterior al momento de la infección.

Por último, la uveítis recurrente en equinos parece involucrar la producción de anticuerpos contra el antígeno leptospiral en reacción cruzada con tejidos oculares. El daño de la retina con uveítis tiene una relación con la presencia de linfocito B en la retina. (Szyfres, Leptospirosis, 2001) (Stanchi, Leptospiras, 2007) (Ramírez, 2014) (Fernandez, 2014) (E.Craig, 2000).

3.3.6 Signos clínicos

Los signos clínicos dependen del serovar involucrado y de la susceptibilidad del animal. Los serovares más endémicos en la población son Hardjo y Pomona, ambos tipos la bacteria puede ocasionar.

- **Infertilidad**

En vaquillonas de primer servicio puede esperarse una caída en el índice de preñez de hasta un 30%.

- **Aborto**

La mayoría de los abortos se presentan en el último tercio de la gestación y alrededor de las 6-12 semanas posteriores a la leptospiremia inicial.

Con la entrada de la infección en un rodeo sin experiencia inmunitaria previa, podría esperarse hasta un 30 % de abortos, mientras que en un rodeo donde la infección ha estado ya presente los abortos pueden afectar al 5 % de las vacas.

- **Nacimiento de terneros débiles o prematuros**

Cuando la infección se produce al final de la gestación, en situaciones endémicas se puede esperar hasta un 5% de animales afectados. Los terneros infectados en el útero y que sobreviven a la infección, pueden desarrollar inmunidad y nacer con una infección preestablecida o se hacen inmunotolerantes en el útero, es decir, son negativos e incapaces de responder a la infección.

- **Caída en la producción láctea**

Si la *Leptospira* entra por primera vez en un hato, por encima del 50% de los animales pueden sufrir una caída aguda en la producción, ésta puede recuperarse a valores normales o permanecer deprimida por el resto de la lactancia.

Cuando la infección ocurre hacia el final de la lactación puede producirse el secado prematuro. Los animales afectados pueden tener agalactia por 2 a 3 días, de éstos el 50 % va a retornar a la producción previa y el 50% restante recuperará hasta el 90% de la producción original. Además, puede esperarse hasta un 15 % de animales afectados con mastitis.

- **Muerte de terneros**

La Leptospirosis aguda se presenta mayormente en terneros, pero animales de todas las edades resultan afectados. Dentro de los 3 a 5 días de iniciada la infección los animales presentan alta temperatura, depresión, caída en el consumo de alimento, hemoglobinuria, ictericia y anemia (Odrizola, 2014) (Rivera, 2014).

3.3.7 Diagnóstico

El diagnóstico de los casos de Leptospirosis humana y animal puede ser complicado o difícil, debido principalmente, a las características intrínsecas de las leptospiras y la epidemiología de las mismas (Rivera, 2014).

El diagnóstico veterinario de la leptospirosis se realiza por dos métodos, el método directo mediante el aislamiento del agente etiológico en medios de cultivo a partir de las muestras de sangre, líquido cefalorraquídeo, orina y de otros fluidos y tejidos del animal, según la fase de la enfermedad en la que se tomen las mismas y el método indirecto revelando la seroconversión o aumento del título de anticuerpos, utilizando para ello la Técnica de Microaglutinación, ambas de referencia internacional y que han demostrado tener alta sensibilidad y especificidad (Fernandez, 2014).

3.3.7.1 Fases de la enfermedad

- **Fase de leptospiremia "a"**

Es la fase sistémica en la cual, la bacteria se encuentra circulando en el torrente sanguíneo, aproximadamente dura 7 días, se puede aislar en sangre y órganos como hígado y bazo, por cultivos directos por inoculación (Odrizola, 2014).

- **Fase de inmunitaria “b”**

Fase en la cual se da la reacción serológica, ya que existen anticuerpos específicos a partir de la segunda semana del inicio de la enfermedad, los cuales ya pueden ser detectados por pruebas serológicas (Odrizola, 2014).

- **Fase de leptospirúrica “c”**

Se caracteriza por la excreción de leptospiras por la orina, siendo posible su aislamiento en esta muestra, a partir de los 15 días del inicio de los síntomas (Odrizola, 2014).

3.3.7.2 Observación directa de leptospiras

La observación directa en fondo oscuro no se recomienda, debido a que se confunden fácilmente con artefactos, como filamentos de fibrina (Stanchi, Leptospiras, 2007).

3.3.7.3 Aislamiento

Las leptospiras son bacterias de metabolismo respiratorio aeróbicos estrictos que requieren para su crecimiento condiciones aeróbicas de 28°C a 30°C, medios semisólidos ricos en proteína, en los cuales su tiempo de generación varían entre 7 y 12 horas. Las leptospiras obtienen su energía de la oxidación de los ácidos grasos y no pueden utilizar aminoácidos o carbohidratos como fuentes energéticas importantes. Los medios más utilizados para el aislamiento y cultivo de leptospiras están enriquecidos con suero de conejo o con albumina sérica de bovino. El medio de cultivo más utilizado es el Fletcher, Ellinghausen-McCullough-Johnson-Harris (EMJH), que puede enriquecerse con 1 a 2 % de suero normal estéril de conejo.

También, son usados medios como Fletcher y Stuart, estos básicamente comprenden soluciones salinas bufferadas y suero normal estéril de conejo al 8 a 10%. El medio de Fletcher contiene además agar al 0.1 a 0.2 % que lo transforma en semi-sólido, pudiendo agregar al medio EMJH a la misma cantidad de agar (Stanchi, Leptospiras, 2007).

3.3.7.4 Diagnóstico serológico

La Organización Mundial de la Salud Animal (OIE, 2006, OMS, 2008; W.H.O, 2009) ha designado la técnica de microaglutinación, la cual utiliza antígenos vivos como la técnica de referencia para los estudios de diagnóstico de la leptospirosis. Esta se emplea para detectar anticuerpos contra *L. interrogans* en el suero, permite la identificación y clasificación de los aislamientos de leptospiras y también sirve de base para evaluar cualquier otro método serológico nuevo para el diagnóstico de la enfermedad. (Fernandez, 2014) (OIE, Leptospirosis, 2014) (OMS, 2014)

La prueba Microaglutinación (MAT) normalmente, permite confirmar la infección y el serogrupo infectante ser determinado por la MAT, aunque raramente será posible determinar el serovar. Además de ofrecer confirmación serológica y diagnóstica, también se puede realizar el cultivo de las leptospiras, ya que las instalaciones necesarias para este fin son las mismas que se requieren para mantener las cepas usadas para la MAT (OMS, 2014).

3.3.7.5 Pruebas serológicas

Son métodos sensibles que detecta el microorganismo en la sangre. Se ha descrito una amplia variedad de pruebas serológicas que muestran grados variables de especificidad de serogrupo y de serotipo. La prueba de MAT contribuye al diagnóstico veterinario.

- **Prueba de aglutinación microscópica**

Es conocida a nivel internacional por sus siglas en inglés MAT que significa Microscopic Agglutination Test. Es la prueba serológica más ampliamente utilizada. Constituye la prueba de referencia frente a las que evalúan todas las otras pruebas serológicas y se utilizan en las comprobaciones para la importación y exportación de animales. Dado que se obtiene una alta especificidad como ventaja, ya que deben emplearse antígenos representativos de todos los serogrupos conocidos.

La MAT es una prueba en la que se emplean antígenos vivos que determina los anticuerpos aglutinantes en el suero de un paciente, mediante la mezcla de varias diluciones de éste con leptospiras vivas. Los anticuerpos antileptospiras presentes en el suero hacen que las leptospiras se peguen unas a otras formando grumos. Este proceso de agrupamiento es llamado aglutinación y es observado usando microscopía de campo oscuro. Los anticuerpos aglutinantes pueden ser de las clases IgM e IgG. Normalmente, los anticuerpos frente a otras bacterias no dan reacción cruzada con *Leptospira* de manera significativa. Sin embargo, existen reacciones serológicas cruzadas significativas entre serotipos y serogrupos de *Leptospira* y es probable que un animal infectado con un serotipo tenga anticuerpos frente al serotipo infectante que dé una reacción cruzada con otros serotipos (normalmente a un nivel más bajo) en la MAT. Por tanto, la serología no puede utilizarse para identificar definitivamente la identidad del serotipo infectante en una infección individual o en un brote, y requiere el aislamiento del agente.

Además, los animales que han sido vacunados contra la leptospirosis pueden tener anticuerpos frente a los serotipos presentes en la vacuna utilizada. Por tanto, es especialmente importante considerar el historial de vacunación de los animales objeto de estudio.

Una desventaja importante, es la necesidad de facilidades para el cultivo y mantenimiento de paneles de leptospiras vivas. Además, la prueba es técnicamente exigente y consume mucho tiempo, especialmente cuando el panel es grande. Un obvio pero definitivo defecto, es que los anticuerpos no pueden ser detectados cuando la cepa causante no está representada en el panel o solamente un título bajo es encontrado con un serovar que antigénicamente se parece al serovar ausente, causante de la enfermedad. No encontrar títulos o un bajo título en la MAT no excluye la leptospirosis en estas circunstancias (OIE, Leptospirosis, 2014) (OMS, 2014).

3.3.8 Tratamiento

Antibióticoterapia: Los antibióticos indicados son penicilina, estreptomina y dihidroestreptomina. Este último antibiótico actúa sobre la leptospiremia y elimina los estados de portador. La doxiciclina es eficaz en la quimioprofilaxis y es probable que también lo sea en el tratamiento (Szyfres, Leptospirosis, 2001).

3.3.9 Control y prevención

La vacunación es la solución de los problemas de los hatos individuales, consiste en la identificación del o los serotipos específicos, ya que las vacunas protegen contra los serotipos que están incluidos en ellas. Las bacterinas previenen la enfermedad, pero no protegen contra la infección renal y la iniciación del estado de portador; aunque desde el punto de vista clínico permanecen asintomáticos. El efecto protector de la vacuna produce disminución de los abortos y mortandad de terneros. Las hembras deben ser vacunadas antes del período de la reproducción para protegerlas durante la preñez. Los animales jóvenes se pueden inmunizar a partir de los 3 ó 4 meses de edad. Con las bacterinas en uso, se necesita una revacunación anual. Para rebaños que introducen animales externos se aconseja repetir la vacunación cada seis meses. Una medida eficaz

es combinar la vacunación con tratamiento. Aunque los animales vacunados pueden infectarse sin mostrar signos clínicos (Szyfres, Leptospirosis, 2001).

3.3.9.1 Estrategias de control

- Mejoramiento de las condiciones higiénico-sanitarias y de manejo poblacional para minimizar la diseminación de la enfermedad.
- Programa de vacunaciones sobre la base de un diagnóstico de laboratorio eficiente y oportuno.
- Tratamientos estratégicos con antibióticos.
- Vigilancia epidemiológica, monitoreos serológicos periódicos en las explotaciones animales identificadas.

3.4 Tuberculosis en búfalo

3.4.1. Sinonimia

Micobacteriosis, Enfermedad Perlada.

3.4.2. Definición

La tuberculosis bovina es una enfermedad producida por la bacteria *Mycobacterium bovis*; puede afectar a muchas especies; los bovinos y los búfalos son los más comúnmente afectados. La tuberculosis bovina es una zoonosis importante, puede propagarse al humano por inhalación de aerosoles o ingestión de leche no pasteurizada, siendo común en países en vías de desarrollo, una fuente de pérdida económica y una amenaza seria para la salud humana. (Biologics, Tuberculosis Bovina, 2014). Se caracteriza por formar granulomas o tubérculos en los tejidos del huésped (Zea, 2010).

Lo que llama la atención es que esta enfermedad con gran impacto en la salud pública, no presenta signos clínicos específicos en los animales que la padecen (Szyfres, Tuberculosis, 2001). Las enfermedades crónicas adquieren relevancia frente a la gran longevidad de los búfalinos, que pueden llegar a veinte años de vida productiva, proporcionando mayor posibilidad de desarrollo y transmisión de esta enfermedad (Gimenez, 2014).

3.4.3 Agente etiológico

Las micobacterias son parte de la familia Mycobacteriaceae, orden Actinomycetales y género *Mycobacterium* (Kantor, 2007).

Los agentes etiológicos de esta enfermedad principalmente son *M. tuberculosis*, *M. avium* y *M. bovis*, siendo estos últimos los responsables de la tuberculosis zoonótica, pero, los tres tipos pueden afectar a huéspedes distintos (Szyfres, Tuberculosis, 2001). Las micobacterias tuberculosas son bacilos alcohol-acidoresistentes, Gram positivos, son microaerófilos y no esporulados. Debido a que tiene una pared celular con alto contenido de lipopolisacáridos y peptidoglicolipidos que la protege de la presión osmótica dentro de la célula, más otros compuestos de la pared como lo es el sulfolipidos que los hacen capaces de impedir la fusión del fagosoma y el lisosoma dentro del macrófago (Kantor, 2007). También le confiere mucha resistencia a muchos desinfectantes, a la desecación y a otros factores adversos del medio ambiente. *M. bovis* es positivo para ureasa y negativo para nicotaminidasa y pirazinaminidasa (OIE, Tuberculosis, 2014). Este agente etiológico es susceptible a la luz solar, altas temperaturas, desinfectantes como formaldehído al 3-8%, fenol al 5%, yodóforos (Zea, 2010).

3.4.4 Transmisión a humanos

La exposición del hombre a la tuberculosis bovina se puede dar modo directo

o indirecto y la transmisión se da por vía digestiva, por consumo de leche o lácteos crudos o por vía aerógena (Kleeberg, 2014).

3.4.5 Transmisión a bovinos

Se considera que la ruta más frecuente de infección del ganado es la exposición a aerosoles de *M. bovis*, aunque también se produce la infección por ingestión de material contaminado. En bovinos la vía de transmisión más importante es la vía aerógena, principalmente en ganado lechero, ya que su vida útil es más prolongada y que por cuestiones de manejo e infraestructura tienen mayor tasa de contacto. La tuberculosis por vía entérica es importante en terneros amamantados con leche que contiene bacilos tuberculosos (Szyfres, Tuberculosis, 2001).

En caso de infección congénita, la transmisión es por la vía de los vasos sanguíneos umbilicales hacia el feto desde el útero de la vaca. En casos raros, puede existir la transmisión por vía genital, si los órganos sexuales del macho o de la hembra presentan lesiones tuberculosas o sí existe la posibilidad que el orificio prepucial esté contaminado. Puede existir la transmisión iatrogénica a la glándula mamaria (Gimenez, 2014).

3.4.6 Patogenia

El microorganismo al ingresar por inhalación se instala en el parénquima pulmonar a nivel de la unión bronquioalveolar, donde se inicia el proceso y luego se extiende al alveolo. El *Mycobacterium bovis*, es un patógeno intracelular que infecta las células del sistema inmune del hospedador, principalmente macrófagos. Una vez que ocurre la fagocitosis, las micobacterias pueden multiplicarse en el macrófago y viajar dentro de este por el sistema circulatorio (Zea, 2010). Esto va a depender de de la interacción entre el huésped y la bacteria y las propiedades

intrínsecas de la micobacteria. El huésped posee macrófagos activos, que tienen la capacidad de inhibir al *Mycobacterium* y macrófagos inactivos que detienen el crecimiento de la bacteria, ya que al ser destruidos, producen una necrosis caseosa sólida inhibitoria. Por parte de la bacteria, uno de los factores intrínsecos de la virulencia pueden estar asociados con la complejidad de la pared celular, rica en lípidos, los cuales protegen a la mycobacterias de los efectos bactericidas de los productos intermediarios reactivos del oxígeno (ROI) dentro de los fagolisosomas y acción de enzimas lisosomiales, inhibiendo la fusión del fagosoma con el lisosoma evitando la destrucción (Gimenez, 2014).

Luego de 3 semanas se desarrolló una inmunidad específica producida por los linfocitos T citotóxicos, que destruyen la bacteria, pero también, destruyen a las células del huésped debido a la liberación de linfotoxinas y enzimas lisosómicas de macrófagos, haciendo que se necrose el tejido y forme una necrosis inicialmente de coagulación, que rápidamente se transforma en una necrosis de caseificación, lesión característica de la enfermedad (Zea, 2010).

3.4.7 Signos clínicos

Por el carácter crónico de la enfermedad no presenta signos clínicos específicos, por lo tanto, el diagnóstico clínico tiene escaso valor, ya que se pueden tardar meses e incluso años. Los signos clínicos que se manifiestan durante la enfermedad son inespecíficos, pudiendo observarse caída de la producción de leche, debilidad progresiva, pérdida de apetito, de peso, fiebre fluctuante, tos seca intermitente y dolorosa, taquipnea, disnea, diarrea, ganglios linfáticos prominentes; en ocasiones, la bacteria permanece en estado latente en el organismo hospedador sin desencadenar la enfermedad (Kantor, 2007).

3.4.8 Diagnóstico clínico en búfalos

Debido a carencia de signos clínicos de la enfermedad y la similitud de los

los pocos que se pueden presentar como emaciación diarrea intermitente y pelo áspero y seco se puede confundir fácilmente con Paratuberculosis, el diagnóstico más certero es el aislamiento y tipificación del agente etiológico.

3.4.8.1 Prueba de tuberculina o de hipersensibilidad retardada

Esta prueba es el método estándar para la detección de la tuberculosis bovina. Se basa en medir el grosor de la piel antes la inyección intradérmica de la tuberculina bovina, de este modo posteriormente se vuelve a tomar la medida del área, y se compara la determinación de cualquier inflamación mediante una reacción inflamatoria celular *in situ* de la inyección, 3 días más tarde. La prueba cutánea con tuberculina derivada de *M. bovis* (PPD-B), la cual puede arrojar reactores falsos positivos por su reacción cruzada con otras micobacterias, por lo que se recomienda aplicar paralelamente la tuberculina derivada del *M. avium* (PPD-A) como prueba comparativa de la tuberculina intradérmica (Gimenez, 2014). Esta se utiliza para diferenciar entre animales infectados con *M. bovis* y los sensibilizados a la tuberculina por exposición a otras micobacterias o géneros relacionados. La elección de cuál de las dos pruebas debe utilizarse depende de la prevalencia de la infección de tuberculosis y del nivel de exposición ambiental a otros microorganismos sensibilizadores (OIE, Tuberculosis, 2014).

Los tests tuberculínicos presentan una sensibilidad entre 72 y 96% y una especificidad de 70 y 99% para los bovinos, estos mismos índices no parecen ser válidos para los bufalinos, dado que éstos reaccionan en forma más específica a las micobacterias. La reacción al test tiende a aumentar con la edad, por esto se cree de que el búfalo reacciona más pronunciadamente a la tuberculina. Los tests tuberculínicos probados en general muestran sensibilidad y especificidad pobres en búfalos de agua. Por lo que se recomienda, que para el caso de búfalos debería utilizarse la prueba cervical comparada (CC), puesto que animales sospechosos a la prueba ano caudal (AC), fueron negativos a la CC, confirmado

por histopatología y microbiología; los búfalos parecen ser más sensibles al test AC. Se recomienda en el test ano caudal del búfalo la lectura por medición, considerando reacción positiva cuando es mayor o igual a 10 mm, sospechosa cuando sus valores se sitúan entre 6.4 y 9.9 mm y negativa menor de 6.3 mm. También se sugiere que en el test cervical comparativo, la media aritmética de las reacciones específicas en búfalinos sea de 13.07 mm y en bovinos 7.81 mm. Así la relación entre las medias de las dos especies es igual a 1.69. En Brasil, aplicándose este valor como factor de corrección para bovinos, la interpretación de las reacciones de los búfalinos en el diagnóstico de tuberculosis pasan a ser positivos por encima de 5 mm, sospechosos entre 3 y 4.9 mm y negativos debajo de 3 mm. Agrega que, en búfalinos la reactividad cutánea en el pliegue ano-caudal fue 1.8 veces más intensa que la observada en la región cervical. Los tests caudal simple y cervical comparativo en búfalinos naturalmente expuestos a *M. bovis* no fueron capaces de detectar todos los animales infectados y también fueron positivos en animales no comprobadamente infectados. Guanzioli, utilizó la técnica de PCR para la identificación de micobacterias del complejo *M. tuberculosis* aisladas de linfonódulos de búfalinos naturalmente infectados, visto que, debido al crecimiento muy pobre en medios de cultivo, no fue posible la confirmación de la especie de microbacteria a través de pruebas bioquímicas (Guanzioli, 2014).

3.4.8.2 Prueba de interferón gamma

En esta prueba se mide la liberación de una linfoquina (interferón gamma) en un sistema de cultivo de sangre completa. El ensayo se basa en la liberación de interferón gamma por linfocitos sensibilizados durante un período de incubación de 16-24 horas con antígeno específico Derivado Proteico Purificado (tuberculina PPD). Esta prueba compara la producción de interferón gamma tras la estimulación con PPD bovina y aviar. La cuantificación del interferón gamma se realiza por un ELISA "en sandwich" que utiliza dos anticuerpos monoclonales

contra el interferón gamma bovino. La muestra se debe transportar al laboratorio y se debe realizar el ensayo entre 24-30 horas desde la recogida. Comparada con la prueba cutánea, la prueba posee una sensibilidad elevada pero parece menos específica en varios casos. No obstante, el uso de antígenos definidos de micobacterias promete mejorar la especificidad.

Para animales de manejo difícil o peligroso, como el ganado excitado u otros bóvidos, presenta la ventaja sobre la prueba cutánea de que sólo necesitan ser capturados una vez (OIE, Tuberculosis, 2014).

3.4.9 Tratamiento, control y prevención

En el hombre, el tratamiento ideal es Rifampicina, la prevención de la infección por *M. bovis* radica en la pasteurización de la leche, la vacunación con BCG y, principalmente en el control y la erradicación de la tuberculosis bovina.

En la unidad de producción pruebas de tuberculinas repetidas y sacrificio de animales reactivos (OIE, Tuberculosis, 2014).

3.4.9.1 Estrategias de control

Programa de control y erradicación de la tuberculosis bovina (Szyfres, Tuberculosis, 2001).

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1 Materiales

4.1.1 Área de estudio

El estudio se realizó en una unidad de producción (UP) de búfalos de agua en el municipio de Colomba, Costa Cuca, Quetzaltenango.

4.1.2 Recursos humanos

- Estudiante Investigador
- Asesores de la Investigación
- Personal de la Finca

4.1.3 Recursos biológicos

4.1.3.1 Prueba de brucelosis

- 25 sueros de búfalo para el diagnóstico de brucelosis
- Antígeno Rosa de Bengala para diagnóstico de Brucelosis
- Antígeno para la Prueba de Rivanol
- Solución Rivanol al 1%

4.1.3.2 Prueba de leptospirosis

- 25 sueros de búfalo para el diagnóstico de leptospirosis
- Medios de cultivo (Fletcher, Ellinghausen-McCullough-Johnson-Harris/EMJH)

- Serovarietades de *Leptospira interrogans* (Icterohaemorrhagiae, Grippotyphosa, Pomona, Serjoe, Canicola, Autumnales)

4.1.3.3 Prueba de tuberculosis

- 25 búfalos para diagnóstico de Tuberculosis
- PPD-B de *Mycobacterium bovis*
- PPD-A de *Mycobacterium avium*

4.1.4 Recursos de campo

- Boletas de campo
- Lapicero
- Tubos vacutainer sin anticoagulante
- Agujas Vacutainer ®
- Jeringas de 1cc
- Cutímetro
- Masking tape
- Rotulador permanente
- Hielera

4.1.5 Recursos de laboratorio

4.1.5.1 Prueba de brucelosis

- Placa esmerilada de vidrio
- Micropipeta unicanal de 10 a 100 µl
- Cámara de Huddleson
- Pipeta serológica

- Pipeta Bang
- Micropipeta multicanal de 50 μ l
- Puntas amarillas
- Tubos eppendorf
- Centrifuga
- Reloj de laboratorio
- Palillos mondadientes

4.1.5.2 Prueba de leptospirosis

- Tubos de ensayo
- Microplaca de fondo en U
- Láminas portaobjetos
- Incubadora
- Campana de flujo laminar
- Microscopio de campo oscuro
- Aceite de inmersión
- Micropipetas Unicanal y Multicanal de 10 a 100ul
- Puntas para micropipetas
- Bandejas con desinfectante para descartar material
- Recipientes para cargar micropipetas
- Soluciones amortiguadora (SAF)
- Incubadora a 30°C (para el cultivo de las cepas)
- Incubadora a 37°C (para la realización de la prueba)
- Guantes
- Antígenos (serovariedades)
- Pipetas de 1 y 5 ml.

4.1.6 Recursos físicos

- Equipo fotográfico
- Equipo de oficina (computadora, USB's, papel bond)
- Vehículo
- Laboratorio del MAGA
- Laboratorio de Microbiología, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, USAC

4.2 Metodología

4.2.1 Diseño del estudio

Estudio cualitativo, descriptivo de corte transversal.

4.2.2 Determinación de la muestra

Para determinar en el presente estudio el número de animales muestreados para la prueba de MAT, se utilizó el método por conveniencia (es un método de muestreo no probabilístico). Consiste en seleccionar el tamaño de la muestra que conviene al investigador (Universo Formulas, 2014), debido a cuestiones económicas.

Se utilizaron 25 búfalas de agua en edad reproductiva, esto quiere decir hembras mayores a 22 meses con un peso mayor a 800 lb, las cuales fueron seleccionadas al azar de un hato de 125 hembras en producción, tomando una muestra representativa del 21 % de los animales. Para la prueba de brucelosis y tuberculosis se utilizó el 100% de los animales de la unidad de producción en estudio, es decir, 125 búfalos, ubicados en el municipio de Colimba, Costa Cuca, Quetzaltenango.

4.2.3 Metodología de campo

4.2.3.1 Procedimiento para toma de muestra para el diagnóstico de brucelosis y leptospirosis

Se utilizó una boleta de campo para el registro de los animales que se sometieron a la prueba.

Luego se procedió a encerrar a los animales.

Se realizó la toma de muestra en la vena coccígea media, con tubo vacutainer sin anticoagulante.

La muestra fue almacenada a temperatura ambiente para formar el coágulo y así obtener el suero.

Las muestras se transportaron en hielera al Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, USAC para el análisis.

4.2.3.2 Procedimiento para realización de Prueba Tuberculínica en el pliegue ano caudal

Se utilizó una boleta de campo para el registro de los animales que se sometieron a la prueba.

Luego se procedió a sujetar al animal.

Se realizó un lavado con agua y secado con papel toliet del pliegue ano-caudal izquierdo.

Previo a la inoculación del PPD de tuberculina, se midió el pliegue ano-caudal izquierdo con un cutímetro.

Posteriormente, se inoculó 0.1cc de PPD de tuberculina, de forma intradérmica, en el pliegue ano-caudal izquierdo en las búfalas.

A las 72 horas se ejecutó la lectura de la prueba ano caudal, con la ayuda de un cutímetro.

Con una reacción de 0-3 milímetros, se identificó al animal como negativo. Si la reacción fuese de 4-5 milímetros, se identifica como sospechoso y si la reacción fuese mayor de 5 milímetros se identifica como un reactor positivo.

A los reactores y positivos se les desafiarán a la prueba cervical comparativa con PPD de *M. bovis* y PPD de *M. avium* inmediatamente después de la lectura ano caudal.

4.2.3.3 Procedimiento para realización de Prueba Tuberculínica Cervical Comparativa

Ya que se obtuvo un resultado negativo en la prueba de Tuberculina ano caudal, no fue necesario el uso de este otro procedimiento.

4.3 Metodología de laboratorio

4.3.1 Procedimiento para realizar la Prueba Rosa de Bengala

Las muestras de suero y de antígeno se dejaron a temperatura ambiente ($22 \pm 4^{\circ}\text{C}$).

Se colocaron 30 μ l de cada muestra de suero sobre cada cuadrante de la placa esmerilada.

Se agitó suavemente el frasco de antígeno y se colocó 30 μ l próximo a la gota de suero.

Inmediatamente después se mezcló cuidadosamente el suero y el antígeno utilizando un agitador para cada prueba, hasta producir una zona circular de aproximadamente 2 cm de diámetro.

Seguidamente, se tomó la placa y se movió suavemente de forma circular durante 4 minutos a temperatura ambiente.

Para la lectura se ubicó la placa esmerilada en la cámara de Huddleson, se comprobó la aglutinación, justo a los 4 minutos. Según el manual de la OIE de animales terrestres se consideran positivas cuando se forman grumos, aún siendo finos y cuando la mezcla suero-antígeno es de turbidez homogénea y sin grumos. Se debe asegurar que el suero control dé una reacción positiva mínima antes de comenzar las pruebas de cada día para comprobar la sensibilidad de las condiciones de la prueba (OIE, Brucelosis bovina, 2014).

4.3.2 Procedimiento para realizar la Prueba de Rivanol

Puesto que los resultados obtenidos en la prueba Rosa de Bengala dieron resultado negativo, no fue necesario el uso de esta prueba.

4.3.3 Procedimiento para realizar la prueba de MAT

Para realizar la prueba de MAT, en este estudio se usaron las siguientes serovariedades de *L. interrogans*: *Icterohaemorrhagiae*, *Pomona*, *Serjoe*, *Canicola*

4.5 Análisis estadístico

No se requirió del análisis estadístico en vista de que los resultados son negativos.

V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Para las condiciones del presente estudio los resultados fueron los siguientes:

La prevalencia de brucelosis fue 0% utilizando la prueba de Rosa de Bengala.

Para el caso de la leptospirosis, la prevalencia encontrada fue 0%, utilizando la prueba MAT.

En el caso de la tuberculosis la prevalencia fue 0% al utilizar la reacción al PPD bovino.

Los resultados se resumen en el Cuadro 1.

Cuadro 1. Resultados de la prevalencia de las enfermedades en estudio

| Prevalencia en <i>Bubalus bubalis</i> de: | | | |
|--|---------------------------|------------------------------|---------------------------------|
| Enfermedad | Numero de muestras | Tipo de prueba | Resultado de prevalencia |
| Brucelosis | 125 | Rosa de Bengala | 0% |
| Leptospirosis | 25 | MAT | 0% |
| Tuberculosis | 125 | Tuberculina PPD-B | 0% |

Fuente: Elaboración propia

Es importante señalar que esta unidad de producción no tiene presencia de bovinos, lo cual minimiza las ventanas de entrada de los agentes etiológicos.

Debido al manejo de dicha explotación, la finca es cerrada, además de eso,

se utiliza inseminación artificial lo que disminuye la tasa de contacto. A pesar del comportamiento social del búfalo y de los factores ambientales (clima, animales silvestres), se puede observar por las características de los resultados del estudio que no han tenido contacto con los distintos tipos de agentes etiológicos en estudio ya que las prevalencias son de 0% en esta unidad de producción.

A pesar del movimiento de ganado en el área, la finca ha tomado las medidas de bioseguridad necesarias, ya que genera una rotación de animales provenientes de distintas partes del país, siendo esta una actividad de riesgo para la transmisión de enfermedades, de un animal a otro, del animal al ambiente.

Sin embargo, no se logró tener acceso a la información de estas enfermedades por parte del MAGA, debido a la escasez de información en esta zona, razón por la cual no se puede saber con exactitud la prevalencia de las enfermedades en las fincas aledañas.

En un estudio anterior de esta unidad de producción se evaluaron 25 búfalos, determinando una prevalencia del 28% de Diarrea Viral Bovina y una prevalencia del 93% de Vulvovaginitis Infecciosa Bovina dentro del grupo de búfalas muestreadas. Se determinó una incidencia de problemas reproductivos menor al 1%, con un 2% de abortos y una tasa de preñez mayor al 70% (Gomez, 2015).

Por la naturaleza de los resultados en este estudio, no se encontró asociación entre la relación de la prevalencia de la enfermedad y la presencia de trastornos reproductivos por brucelosis.

Se sabe en el caso de brucelosis que el gen *Nramp1* con el alelo B muestra resistencia natural a *Brucella abortus*, en recientes estudio en búfalas de agua. Por lo tanto, la selección para el genotipo *Nramp1BB*, puede convertirse en una

valiosa herramienta para el control de la brucelosis de búfalo de agua en las zonas donde la enfermedad es endémica (Bolillero, Capparelli, & Bianco, 2006).

Sin embargo, Suazo 2011 en un estudio en México, detectó valores de seroprevalencia del 13% de *B. abortus*. En Colombia, se observó una seroprevalencia 12.03% de *B. abortus* (Calderón, Tique, Ensuncho, & Rodriguez, 2010), siendo los resultados del presente estudio, inferiores al obtenido en otras investigaciones.

En el caso de leptospirosis en los informes reportados de 13 países sobre la incidencia de leptospirosis en animales domésticos y silvestres enviados al Laboratorio de Referencia de *Leptospira* de la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE) se reflejó que la situación epidemiológica de *Leptospira sp.* en América Latina presenta dos problemas, el primero es no estar declarada como enfermedad de obligatoria denuncia y el segundo, es la multiplicidad de resultados, sin soporte científico ni periodicidad definida. Esta situación limita la identificación real de los serovares que circulan en cada país y la producción de biológicos eficaces para su control (Giraldo, Clavijo Hoyos, García, & Abeledo, 2014).

La prevalencia de pruebas de tuberculina de *M. bovis* fue del 0%. Estudios retrospectivos han mostrado que la tuberculosis bovina es frecuente en toda América Latina y el Caribe. (Silva, da Fonseca, & Barbos, 2014). La prevalencia encontrada en el presente estudio fue menor que la encontrada en otros búfalos de Brasil (13,54%) (Pereira, Pereira Santo, & Cutrim Bezerra, 2009).

En comparación a este estudio donde se revela un seroprevalencia del 0% con respecto a otros en distintas latitudes, se tiene que tomar en cuenta que por la ubicación de esta explotación la región no es inundable, y esto limita a que se pueda dar un factor que altere el ambiente en el cual se favorezca la aparición del agente etiológico.

VI. CONCLUSIONES

Bajo las condiciones en que se desarrollo la presente investigación se concluye que:

- La prevalencia de brucelosis fue 0% por medio de la prueba Rosa de Bengala dentro del grupo de búfalos muestreados.
- Se determinó una seroprevalencia del 0% de *Leptospira interrogans*, utilizando la prueba de Microaglutinación (MAT).
- Se determinó una prevalencia del 0% de Tuberculosis, mediante la prueba tuberculina ano-caudal.
- Tomando en cuenta que ninguno de los animales del hato ha sido vacunado anteriormente contra ninguna de las dos enfermedades (brucelosis y leptospirosis), se puede asegurar que los animales no han estado expuestos a las enfermedades o manifiestan resistencia.

VII. RECOMENDACIONES

- **Implementar un sistema de manejo inmunoprofilactico de la explotación con la correcta identificación y registro adecuado de cada uno de los animales.**
- **Continuar con los análisis serológicos anuales para brucelosis y leptospirosis así como también la prueba de tuberculina para evaluar el estado sanitario del hato.**
- **Continuar con el sistema de cuarentena.**
- **Monitorear constantemente el comportamiento de estas enfermedades en el área circundantes, municipio y producciones a nivel regional, ya que los estudios a nivel nacional sobre el búfalo de agua son escasos.**

VIII. RESUMEN

La importancia de realizar esta investigación, proviene de la falta de estudios previos de estas enfermedades zoonóticas en búfalos de agua en Guatemala con el objetivo de aportar información sobre el estatus sanitario del hato bufalino respecto a estas tres enfermedades bacterianas. Para la realización de este estudio se seleccionaron 25 búfalos de agua (*Bubalus bubalis*), hembras, al azar en etapa reproductiva para la prueba de brucelosis y leptospirosis, para tuberculosis se muestreo todo el hato (125 búfalos), ubicados en el municipio de Colomba Costa Cuca, Quetzaltenango.

Bajo las condiciones del presente estudio los resultados para la prevalencia de brucelosis fue 0%, utilizando la prueba de Rosa de Bengala, para el caso de la leptospirosis, la prevalencia encontrada fue 0%, utilizando la prueba MAT, para el caso de la tuberculosis la prevalencia fue 0% al utilizar la reacción al PPD bovino.

Por la naturaleza de los resultados en este estudio, no se encontró asociación entre la relación de la prevalencia de la enfermedad y la presencia de trastornos reproductivos por brucelosis o leptospirosis.

Tomando en cuenta que ninguno de los animales del hato ha sido vacunado anteriormente contra ninguna de las dos enfermedades (brucelosis y leptospirosis), se puede asegurar que los animales no han estado expuestos a las enfermedades o manifiestan resistencia. Por lo cual se recomienda Realizar estudios de prevalencia de enfermedades virales tales como lo son Diarrea Viral Bovina y Vulvovaginitis Infecciosa Bovina.

SUMMARY

The importance of this research comes from the lack of previous studies of these zoonotic diseases in water buffalo in Guatemala with the aim of providing information on the health status of the buffalo herd on these three bacterial diseases. For this study 25 water buffalo (*Bubalus bubalis*) females in reproductive stage random testing for brucellosis and leptospirosis, tuberculosis whole herd (125 buffaloes) was sampled, located in the municipality of Colomba selected Costa Cuca, Quetzaltenango.

Under the conditions of this study, the results for the prevalence of brucellosis was 0%, using the Rose Bengal test, in the case of leptospirosis, the prevalence found was 0%, using the MAT test, in the case of tuberculosis the prevalence was 0% using bovine PPD reaction.

By the nature of the results in this study, no association between the ratio of the prevalence of the disease and the presence of reproductive disorders brucellosis or leptospirosis was found.

Considering that none of the animals in the herd have been vaccinated previously against any of the two diseases (brucellosis and leptospirosis), you can ensure that the animals have not been exposed to diseases or develop resistance. Therefore it is recommended to conduct studies on the prevalence of such viral diseases such as bovine viral diarrhea and infectious bovine Vulvovaginitis.

IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Almaguer Pérez, Y. (20 de junio de 2014). *REDVET*. Obtenido de El búfalo, una opción de la ganadería: <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n080807.html>
2. Alonso-Andicoberry, C. (28 de junio de 2014). *Epidemiología, diagnóstico y control de la leptospirosis bovina*. Obtenida del IINIA: http://www.inia.es/gcontrec/pub/al_1161095843046.pdf
3. Aricapa, H. J. (2006). III Simposio de búfalos. *Brucelosis en Búfalos* (pág. 170). Medellín: Editores técnicos.
4. Benítez, D. (2006). Características productivas del búfalo en Argentina. *INTA*,
5. Biologics, I. f. (20 de junio de 2014). *Brucelosis Bovina*. Obtenido de <http://www.cfsph.iastate.edu/Factsheets/es/brucelosis.pdf>
6. Biologics, I. f. (10 de julio de 2014). *Tuberculosis Bovina*. Obtenido de http://www.cfsph.iastate.edu/FastFacts/spanish/S_tuberculosis.pdf
7. Bolillero, G., Capparelli, R., & Bianco, M. (ABRIL de 2006). *Resistencia genética a Brucella abortus en el búfalo de agua (Bubalus bubalis)*. Obtenido de NCBI: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1418909/>
8. Calderón, A., Tique, V., Ensuncho, C. F., & Rodríguez, V. (02 de 2010)-SERO PREVALENCIA DE *Brucella abortus* EN BÚFALOS DE AGUA (*Bubalus bubalis*) EN EL MUNICIPIO DE LORICA, CÓRDOBA. Obtenido de <http://www.scieo.org.co/pdf/rudca/v13n2/v13n2a15.pdf>



9. Castro, H. A. (21 de junio de 2014). *Acta bioquímica clínica latinoamericana*. Obtenido de Inmunología Brucelosis: http://www.scielo.org.ar/scielo.php?pid=S0325-29572005000200008&script=sci_arttext
10. Celada, L. A. (20 de junio de 2014). *Brucelosis Bovina*. Obtenido de <http://www.google.com.gt/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=1&ved=0CB8QFjAA&url=http%3A%2F%2F132.248.50.11%2Ffmvz%2Fdepartamentos%2Frumiantes%2Farchivos%2FBRUCELOSIS%2520BOVINA.doc&ei=EQurU7ffKdWuyASiolw&usg=AFQjCNH8zGEylxAvOJMpUXqPAXSTzWHegQ&sig2=n>
11. CONAVE. (30 de junio de 2014). *Manual procedimientos estandarizados Leptospiriosis*. Obtenido de Dirección General de Epidemiología: http://www.epidemiologia.salud.gob.mx/doctos/infoepid/vig_epid_manuales/14_2012_Manual_Leptospiriosis_vFinal_21nov12.pdf
12. Córdova, A. (22 de AGOSTO de 2014). *REDVET*. Obtenido de Diagnóstico de leptospirosis en ganado bovino productor de: <http://www.redalyc.org/pdf/636/63612652007.pdf>
13. Delgado, S. V. (23 de junio de 2014). *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*. Obtenido de Seroprevalencia de Brucella sp. en bovinos del distrito de Tarma, Junín: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S160991172009000200029&script=sci_arttext
14. E. Craig. (2000). Letospirosis. En C. Greene, *Enfermedades Infecciosas en Perros y Gatos* (pág. 303). Mexico D.F: McGraw-Hill Interamericana.
15. Estein, S. (2006). Brucelosis Bovina. *REDVET*, 1.

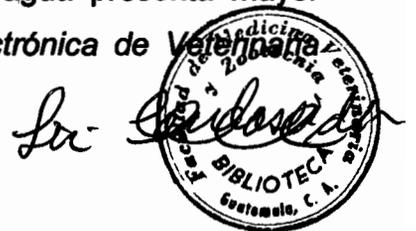


16. Fensterbank, R. (27 de junio de 2014). *Brucelosis bovina, ovina y caprina, diagnostico, control y vacunacion*. Obtenido de OIE: <http://www.oie.int/doc/ged/D8558.PDF>
17. Fernandez, R. (2 de julio de 2014). *Leptospirosis, una revision actualizada*. Obtenido de RevistaveterinariaArgentina: <http://www.veterinariargentina.com/revista/2012/07/25289/>
18. Figueroa, M. (27 de junio de 2014). Obtenido de Books. Google: http://books.google.com.gt/books?id=rftdNOg1dIC&pg=PA92&lpg=PA92&dq=prueba+derivanol+fundamento&source=bl&ots=s6dfi5G_bq&sig=1kS0WJ3Mt70ffaBWadX7qgfU1A4&hl=es&sa=X&ei=pdupU6CoNYOmyATqmYCoCw&ved=0CBwQ6AEwAA#v=onepage&q=prueba%20de%20rivanol%20fundamento&
19. Freer, E. (22 de junio de 2014). *Brucella: una bacteria virulenta carente de los factores de virulencia clasicos*. Obtenido de Revista Costarricense de ciencias medicas: http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?pid=S025329482001000100008&script=sci_arttext
20. FREITAS, J. d., GUERRA, J. L., & PANETTA, J. C. (22 de 01 de 2002). *Características da tuberculose observada em búfalos abatidos para consumo: aspectos patológicos e identificação de micobactérias*. Obtenido de Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science: http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S141395962001000400005&script=sci_arttext#back1
21. Gimenez, S. R. (12 de julio de 2014). *REDVET*. Obtenido de Tuberculosis Bovina en Venezuela: <http://www.redalyc.org/pdf/636/63615732006.pdf>
22. Giraldo, J. L., Clavijo Hoyos, J. A., García, I. W., & Abeledo, M. A. (05 de 05 de 2014). *Prevalencia de anticuerpos a Brucella abortus, Leptospira*



Neospora caninum en hatos bovinos y bubalinos en el Departamento de Caquetá, Colombia. Obtenido de Revista de Salud Animal: http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S0253570X2014000200002&script=sci_arttext

23. Gomez, A. (17 de marzo de 2015). *Determinación de la prevalencia de Diarrea Viral Bovina (DVB) y Vulvovaginitis Infecciosa Bovina (vib), en una explotación de búfalos (Bubalus bubalis) EN LA región de Flores, Costa Cuca, Quetzaltenango.*
24. Guanziroli, S. (28 de julio de 2014). *Tuberculinización en Bufalos.* Obtenido de Universidad Nacional del Nordeste: <http://www.unne.edu.ar/unnevieja/Web/cyt/com2005/4-Veterinaria/V-009.pdf>
25. INE. (20 de junio de 2014). *INE.* Obtenido de Instituto Nacional de Estadística: <http://www.ine.gob.gt/np/agropecuario/tomo%20IV.pdf>
26. Jacobo, R. (20 de junio de 2014). *Sitio Argentino de Producción Animal.* Obtenido de Identificación de serovares de *Leptospira sp.* en búfalos de Corrientes, Argentina: http://www.produccionanimal.com.ar/sanidad_intoxicaciones_metabolicos/enfermedades_bufalos/72-Identificacion-Jacobo.pdf
27. Kantor, I. N. (2007). Micobacterias. En N. O. Stanchi, *Microbiología Veterinaria* (pág. 300/306). Buenos Aires: Intermedica.
28. Kleeberg, H. (18 de julio de 2014). *OIE.* Obtenido de Tuberculosis Humana de origen bovino y salud pública: <http://www.oie.int/doc/ged/D12850.PDF>
29. López Álvarez, J. R. (2005). ¿Por qué el búfalo de agua presenta mayor eficiencia productiva que los vacunos? . *Revista Electrónica de Veterinaria REDVET*, 1-6.

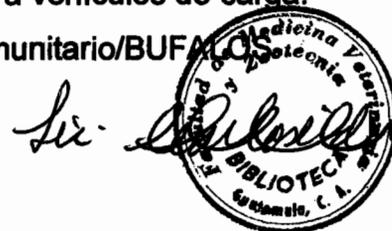


30. **Martinez, F.M. (2007). Animales Exóticos. DR Revista, <http://servicios.prensalibre.com/pl/domingo/archivo/revistad/2007/marzo07/110307/fondo.shtml>.**
31. **Morales, R. (9 de octubre de 2011). Viajan de la mano con la naturaleza. *Prensa Libre*, pág. 17.**
32. **Odrizola, E. (5 de julio de 2014). *Leptospirosis*. Obtenido de INTA: http://www.produccion-animal.com.ar/sanidad_intoxicaciones_metabolicos/enfermedades_reproduccion/62-leptospirosis.pdf**
33. **OIE. (20 de junio de 2014). Obtenido de http://www.oie.int/fileadmin/Home/esp/Media_Center/docs/pdf/Disease_cards/BCLS-ES.pdf**
34. **OIE. (21 de junio de 2014). Obtenido de *Brucelosis Bovina*: http://www.oie.int/fileadmin/Home/esp/Health_standards/tahm/2.04.03_BOVINE_BRUCELL.pdf**
35. **OIE. (24 de julio de 2014). Obtenido de Manual de la OIE sobre animales terrestres 2012: http://www.oie.int/fileadmin/Home/esp/Health_standards/tahm/2.04.03_BOVINE_BRUCELL.pdf**
36. **OIE. (24 de julio de 2014). *Brucelosis bovina*. Obtenido de manual de la OIE sobre animales terrestres 2012: http://www.oie.int/fileadmin/Home/esp/Health_standards/tahm/2.04.03_BOVINE_BRUCELL.pdf**
37. **OIE. (7 de julio de 2014). *Leptospirosis*. Obtenido de Manual de la OIE sobre animales terrestres 2008: http://web.oie.int/esp/normes/mmanual/pdf_es_2008/2.01.09.%20Leptospirosis.pdf**
38. **OIE. (25 de junio de 2014). *Normas internacionales*. Obtenido de Manual de Pruebas de diagnóstico y de las vacunas para los animales terrestres 2013:**

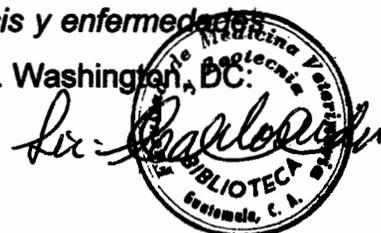


http://www.oie.int/fileadmin/Home/esp/Health_standards/tahm/2.04.03_BOVINE_BRUCELL.pdf

39. OIE. (15 de julio de 2014). *Tuberculosis*. Obtenido de Manual de la OIE sobre animales terrestres 2004: http://web.oie.int/esp/normes/mmanual/pdf_es/2.3.03_Tuberculosis_bovina.pdf
40. OMS. (7 de julio de 2014). OMS. Obtenido de Leptospirosis: <http://www.med.monash.edu.au/microbiology/staff/adler/guia-esp.pdf>
41. Pereira, H. d., Pereira Santo, H., & Cutrim Bezerra, D. (2009). *OCORRÊNCIA DE TUBERCULOSE EM REBANHO BUBALINO (Bubalus bubalis VAR. BUBALIS-LINNEUS, 1758) EM UMA PROPRIEDADE DO MUNICÍPIO DE ARARI, MARANHÃO, BRASIL*. Obtenido de Ciencia Animal Brasileña: <http://www.revistas.ufg.br/index.php/vet/article/viewArticle/7856/5669>
42. Ramírez, K. S. (28 de junio de 2014). *Leptospira*. Obtenido de REDVET: <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n060605/060501.pdf>
43. Rivera, H. (5 de julio de 2014). *Revistas de investigaciones veterinarias de Perú*. Obtenido de Causas frecuentes de aborto Bovino: http://www.scielo.org.pe/scielo.p/scielo.php?pid=S1609-91172001000200014&script=sci_arttext
44. S.A. (21 de julio de 2014). *CARACTERÍSTICAS Y BONDADES DEL BUFALO*. Obtenido de http://www.actaf.co.cu/index.php?option=com_mtree&task=att_download&link_id=541&cf_id=24
45. SACTIC, É. O. (20 de junio de 2014). *Búfalos desplazan a vehículos de carga*. *Prensalibre*, págs. http://www.prensalibre.com/noticias/comunitario/BUFALOS-desplazan-vehiculos-carga_0_304769581.html.



46. Saldarriaga, e. a. (20 de junio de 2014). *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*. Obtenido de Inmunobiología de la infección por *Brucella* spp: Fundamentos para una estrategia vacunal: <http://rccp.udea.edu.co/index.php/ojs/article/viewFile/86/85>
47. Samartino, L. (25 de junio de 2014). *INTA*. Obtenido de Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria: <http://www.mgap.gub.uy/dgsg/Capacitaci%C3%B3n/JornadasBrucelosis/ConceptosGeneralesDrSamartino.pdf>
48. Silva, J. B., da Fonseca, A. H., & Barbos, J. D. (04 de 2014). *Serological survey of Mycobacterium bovis, Brucella abortus and Borrelia burgdorferi in water buffaloes in the northern region of Brazil*. Obtenido de Revista de Salud Animal: http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S0253570X2014000100006&script=sci_arttext&lng=en
49. Stanchi, N. O. (2007). Brucelosis. En N. O. Stanchi, *Microbiología Veterinaria* (pág.281). Buenos Aires: Intermedica.
50. Stanchi, N. O. (2007). Leptospiras. En N. O. Stanchi, *Microbiología Veterinaria* (págs. 320-325). Buenos Aires: Intermedica.
51. SUAZO, R. (17 de JULIO de 2011). *SEROPREVALENCIA DE BRUCELOSIS EN BÚFALOS DE AGUA (Bubalus bubalis) EN TRES UNIDADES DE PRODUCCIÓN LOCALIZADAS EN LOS MUNICIPIOS DE ISLA Y JUAN RODRÍGUEZ CLARA, VERACRUZ, MÉXICO*. Obtenido de <http://www.uv.mx/personal/avilagomez/files/2012/12/Suazo-2011.Brucelosis-en-bufalos.pdf>
52. Szyfres, P. N. (2001). Brucelosis. En P. N. Szyfres, *Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales* (pág. 28). Washington, DC:



53. Szyfres, P. N. (2001). Leptospirosis. En P. N. Szyfres, *Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales* (págs. 175-184). Washington: ORGANIZACIÓN PANAMERICANA DE LA SALUD.
54. Szyfres, P. N. (2001). Tuberculosis. En *Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. Tercera edición. Volumen I. Bacteriosis y Micosis* (págs. 266- 283). Washington: Organización Panamericana de la Salud.
55. Torres, T. p.-A. (25 de junio de 2014). *Microbiología e inmunología on-line*. Obtenido de Zoonoses - University of South Carolina School of Medicine: <http://pathmicro.med.sc.edu/spanish/chapter17.htm>
56. *UniversoFormulas*.(24dejuliode2014).Obtenidode<http://www.universoformulas.com/estadistica/inferencia/muestreo-conveniencia/>
57. Vargas, M. F. (1984). Brucelosis. En M. Figueroa, *Enfermedades Infecciosas de los animales domesticos en Centroamerica* (pág. 92). San Jose: UNED.
58. Y. Rodríguez Valera, W. R. (25 de junio de 2014). *REDVET*. Obtenido de Brucelosis Bovina, Aspectos historicos y epidemiologicos:<http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n090905/090503.pdf>
59. Zea, H. G. (2010). Tuberculosis. En H. G. Zea, *Patologia Veterinaria* (pág. 81). Guatemala: et.
60. Zimmer, P. (24 de junio de 2014). *Bubaline Theriogenology*. Obtenido de Bubaline Brucellosis: www.ivis.com

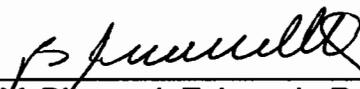


**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
ESCUELA DE MEDICINA VETERINARIA**

**DETERMINACIÓN DE LA PREVALENCIA DE BRUCELOSIS,
LEPTOSPIROSIS Y TUBERCULOSIS EN BÚFALOS DE AGUA
(*Bubalus bubalis*), UBICADOS EN EL MUNICIPIO DE COLOMBA
COSTA CUCA, QUETZALTENANGO, EN EL AÑO 2014**

f. 
Adrián Rosendo González Meneses

f. 
M.Sc. Fredy Rolando González Guerrero
ASESOR PRINCIPAL

f. 
M.V. Blanca J. Zelaya de Romillo
ASESORA

f. 
M.V. Sergio Fernando Véliz Lemus
EVALUADOR

IMPRÍMASE

f. 
M.Sc. Carlos Enrique Saavedra Véliz
DECANO

