

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



**DETERMINACIÓN DE LA PRESENCIA DE ANTICUERPOS
CONTRA *Brucella abortus* EN LECHE DE VACA
UTILIZADA EN PROCESADORAS, DEL MUNICIPIO DE
ASUNCIÓN MITA, JUTIAPA.**

LILIANA MARÍA BARRIOS AJCUC

Médica Veterinaria

GUATEMALA, FEBRERO DE 2016

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



**DETERMINACIÓN DE LA PRESENCIA DE ANTICUERPOS
CONTRA *Brucella abortus* EN LECHE DE VACA UTILIZADA EN
PROCESADORAS, DEL MUNICIPIO DE ASUNCIÓN MITA,
JUTIAPA.**

TRABAJO DE GRADUACIÓN

PRESENTADO A LA HONORABLE JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD

POR

LILIANA MARÍA BARRIOS AJCUC

Al conferírsele el título profesional de

Médica Veterinaria

En el grado de Licenciada

GUATEMALA, FEBRERO DE 2016

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 de Romillo
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. Marylin Elisa Reyes Valenzuela
VOCAL V:	Br. Javier Augusto Castro Vásquez

ASESORES

DRA. JACQUELINE ESCOBAR MUÑOZ

M.SC. FREDY ROLANDO GONZÁLEZ GUERRERO

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 PRESENCIA DE ANTICUERPOS CONTRA *Brucella abortus* EN LECHE DE VACA UTILIZADA EN PROCESADORAS, DEL MUNICIPIO DE ASUNCIÓN MITA, JUTIAPA.

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

Como requisito previo a optar al título de:

MÉDICA VETERINARIA

ACTO QUE DEDICO

- A DIOS:** Gracias por la vida y las bendiciones que me permitieron llegar hasta este momento.
- A MI MADRE:** Liliana Matías de Barrios por ser la mejor guía durante toda mi vida, por siempre cuidarme y dedicarme su tiempo y amor.
- A MI PADRE:** Adolfo Barrios por una vida de sacrificios y esfuerzo para permitirme alcanzar este triunfo, por su amor y apoyo siempre.
- A MI HERMANA:** Gaby por ser tan especial conmigo, por regalarme tanto cariño y estar siempre a mi lado.
- A MIS HERMANOS:** Luis y Gustavo por su cariño y por esos momentos alegres.
- A MIS ABUELAS:** Tomasa Zuñiga y Victoria Matías, por tenerme en sus oraciones y por todas sus muestras de cariño.
- A:** German Ajualip por todos los momentos que hemos compartido, por su cariño, por ayudarme y apoyarme no solo en la carrera sino en todo aspecto de mi vida.
- A MIS AMIGOS DE TODA LA VIDA:** Laura, Oty, Guille, Hildita, Jorge, Vilma, Lucrecia Cadenas, Dorita y Kevin por todas sus muestras de cariño y por esta larga y linda amistad.
- A MIS AMIGOS DE LA FACULTAD:** José Paniagua, Wendy Hernández, Jessica López, Dione Méndez, Luisa Álvarez, Melanie Fernández, Herlindo Sol, Johana Reyna, Estefany De León y Laura Martínez por su cariño y apoyo en la carrera y en mi vida.
- A MIS AMIGOS DE ASUNCIÓN MITA:** Pavel Vásquez, Eduardo Valenzuela, Yohana Padilla, Silvia de Leiva, Juan Leiva, Doña Fita de Leiva, Elmer Torres y Dr. Marcello Melini por su apoyo incondicional durante mi estadía en Mita, por esos buenos momentos y por su valiosa amistad.

AGRADECIMIENTOS

A LA TRICENTENARIA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA: Especialmente a la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia por haberme formado profesionalmente y prepararme para servir y ayudar al pueblo de Guatemala.

A MIS CATEDRÁTICOS: Por haberme ofrecido sus conocimientos y algunos su amistad.

A MIS ASESORES: Dra. Jacqueline Escobar por su tiempo, dedicación, amabilidad y paciencia invertida en este estudio, al Dr. Fredy González por su apoyo y tiempo. A los dos gracias por ayudarme en esta etapa de mi carrera.

AI DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGÍA DE LA FMVZ: Por su colaboración y amabilidad para realizar este estudio.

A LA FÁBRICA DE ALIMENTOS BALANCEADOS LOS AMATES: Por su apoyo incondicional, por su disposición y amabilidad de colaborar en todo lo que necesite durante mi estadía en Asunción Mita, además agradezco a cada una de las personas que me brindaron su ayuda en este lindo municipio.

AL MAGA: Especialmente a la brigada central del Programa de PPC y al Programa de Brucelosis y Tuberculosis, por su colaboración durante mi pasantía y EPS, por su apoyo y amistad.

A LA VETERINARIA TOTAL EXPRESS: Por permitirme formar parte de su equipo y crecer en conocimiento para mi vida profesional.

A LA VETERINARIA P&G: Por la ayuda para llegar a esta meta, por permitirme ser parte de su equipo y por la amistad brindada.

A LOS DOCTORES: Dr. Juan José Chávez y Dra. Maritza Yaquián por compartir sus conocimientos conmigo desde que empecé con este sueño y por regalarme su amistad.

ÍNDICE

I.	INTRODUCCIÓN	1
II.	OBJETIVOS	3
	2.1 Objetivo General	3
	2.2 Objetivos Específicos	3
III.	REVISIÓN DE LITERATURA	4
	3.1 Sinonimia	4
	3.2 Definición	4
	3.3 Etiología.....	4
	3.3.1 Etiología en bovinos	4
	3.3.2 Etiología en humanos.....	5
	3.3.3 Características del agente etiológico.....	5
	3.3.4 Resistencia al ambiente	6
	3.3.5 Supervivencia en los alimentos	7
	3.4 Distribución geográfica	7
	3.5 Transmisión	8
	3.5.1 Transmisión en bovinos.....	8
	3.5.2 Transmisión en humanos	9
	3.6 Patogenia en bovinos	10
	3.7 Periodo de incubación	11
	3.7.1 Periodo de incubación en bovinos.....	11
	3.7.2 Periodo de incubación en humanos	12
	3.8 Periodo de eliminación	12
	3.9 Signos clínicos	13

3.9.1	Signos clínicos en los bovinos.....	13
3.9.2	Signos clínicos en el humano: formas de presentación	13
3.10	Respuesta Inmune.....	14
3.10.1	Respuesta inmune humoral.....	14
3.11	Diagnóstico	15
3.11.1	Pruebas en la leche.....	16
3.11.2	Métodos indirectos	19
3.11.3	Métodos directos: Identificación del agente.....	21
3.12	Tratamiento.....	22
3.13	Control y prevención	22
3.13.1	Prevención	23
3.13.2	Control.....	23
3.13.3	Prevención de la brucelosis humana transmitida por los alimentos.....	25
IV.	MATERIALES Y MÉTODOS	27
4.1	Materiales	27
4.2	Área de estudio.....	28
4.3	Muestreo.....	28
4.4	Métodos de campo	29
4.5	Procedimiento de la prueba	29
4.6	Interpretación de la prueba	30
4.7	Análisis estadístico	30
4.7.1	Diseño de estudio.....	30
4.7.2	Análisis estadístico.....	31

4.7.3 Variables a analizar	31
V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	32
VI. CONCLUSIONES.....	35
VII. RECOMENDACIONES	36
VIII. RESUMEN.....	37
SUMMARY.....	38
IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	39
X. ANEXOS.....	43

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro No. 1

Periodos de supervivencia de *B. abortus* en varios substratos.....6

Cuadro No. 2

Periodos de supervivencia de *B. melitensis* en varios substratos.....7

Cuadro No. 3

Actividad de los anticuerpos según isotipo en distintas pruebas serológicas para brucelosis.....15

Cuadro No. 4

Registro de resultados a la prueba de anillo en leche (PAL) en el Laboratorio del Departamento de Microbiología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia (FMVZ) de la Universidad de San Carlos de Guatemala (USAC).....44

Cuadro No. 5

Cantidad de muestras obtenidas por procesadora y resultados obtenidos con la prueba de anillo en leche (PAL)..... 45

Cuadro No. 6

Cantidad de muestras obtenidas por procesadora según su lugar de procedencia.....46

Cuadro No. 7

Litros de leche producidos y cantidad de vacas ordeñadas (tamaño del hato) por proveedor.....47

Cuadro No. 8

Resultados obtenidos de la prueba de anillo en leche de acuerdo a la cantidad de litros producidos por hato.....48

Cuadro No. 9

Cantidad de muestras analizadas por aldea y resultados obtenidos con la prueba de anillo en leche..... 49

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura No. 1

Hoja de campo: Boleta de recopilación de información de los hatos bovinos proveedores de leche a las procesadoras de lácteos.....43

Figura No. 2

Hoja de campo: Boleta para el registro de resultados a la prueba de anillo en leche en el laboratorio.....43

Figura No. 3

Porcentaje de muestras de leche positivas y negativas a la prueba de anillo en leche.....49

Figura No. 4

Porcentaje de procesadoras positivas y negativas a la prueba de anillo en leche.....50

Figura No. 5

Análisis de resultados de las procesadoras positivas a la presencia de anticuerpos contra *B. abortus*.....50

Figura No. 6

Resultados obtenidos con la prueba de anillo en leche de acuerdo a la cantidad de litros producidos por hato.....51

Figura No. 7

Muestras positivas a la prueba de anillo en leche por aldea (lugar de procedencia).....51

Figura No. 8	
Análisis de resultados de las aldeas con muestras positivas a la prueba de anillo en leche.....	52
Figura No. 9	
Recopilación de datos de los hatos bovinos proveedores de leche.....	52
Figura No. 10 y 11	
Toma de muestras de leche por hato bovino.....	53
Figura No. 12	
Preservación de muestras de leche con formol al 1%.....	53
Figura No. 13	
Identificación de muestras con números correlativos del 1 al 57.....	54
Figura No. 14	
Procedimiento de la prueba de anillo en leche en el Laboratorio del Departamento de Microbiología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia (USAC).....	54
Figura No. 15	
Procedimiento de la prueba de anillo en leche (Agregando el antígeno de <i>Brucella abortus</i> a las muestras de leche).....	55
Figura No. 16	
Lectura de la prueba de anillo en leche (3 muestras positivas en la fotografía).....	55

I. INTRODUCCIÓN

La brucelosis es una enfermedad infectocontagiosa, causada por bacterias pertenecientes al género *Brucella*, con especies terrestres y marinas. Esta es una zoonosis transmitida al ser humano por diversos animales, especialmente de producción como los bovinos (López, 2014). En Centro América se ha identificado brucelosis en bovinos causada por la especie *Brucella abortus* (USC, 2011).

Para la población en general que no tiene contacto directo con animales, la fuente potencial de brucelosis es mediante el consumo de leche no pasteurizada y sus derivados (Corbel, 2006).

En Guatemala para el año 2009, la región suroriente del país fue la mayor productora de litros de leche de vaca, siendo Jutiapa el departamento que encabeza esta región (Villagrán, 2013). En el año 2011 Jutiapa produjo 124,616 litros de leche (INE, 2011).

En Asunción Mita el último dato de la producción láctea es del año 2003 donde se reporta una producción de 16,591 litros (INE, 2003). En este municipio no existe evidencia que los productores utilicen programas de vacunación o realicen pruebas serológicas rutinarias para controlar esta enfermedad en sus hatos.

Antes del 2014 no existían datos por parte del Ministerio de Agricultura, Ganadería y Alimentación (MAGA) sobre la prevalencia de esta enfermedad en el municipio. Sin embargo en los meses de noviembre y diciembre de 2014 se

muestrearon 673 bovinos, para realizar la prueba de la tarjeta, obteniendo una prevalencia del 2.08% de brucelosis bovina (MAGA, 2014)¹.

Se identifican 12 procesadora de lácteos en la Cabecera Municipal de Asunción Mita, que procesan desde 65 a 2,000 litros de leche diarios sin pasteurizar. Estas procesadoras proveen productos y subproductos al municipio y a otros departamentos como Zacapa, Jalapa, Chiquimula y Guatemala.

Siendo la brucelosis bovina un problema en salud pública, el presente estudio busca determinar la presencia de anticuerpos contra *Brucella abortus* en leche de vaca utilizada en las procesadoras de lácteos de Asunción Mita para generar información sobre la situación de esta zoonosis mediante la prueba de anillo en leche (PAL) que se caracteriza por ser una prueba de bajo costo, fácil de realizar, no es invasiva y puede cubrir una gran población en poco tiempo, siendo ideal para la detección de hatos infectados.

¹ M.V. Carlos Quiñónez. 2015. Prevalencia de Brucelosis Bovina en Asunción Mita, 2014. Guatemala, Ministerio de Agricultura Ganadería y Alimentación (MAGA)/Programa para el control de la tuberculosis y brucelosis bovina. (Comunicación personal).

II. OBJETIVOS

2.1 Objetivo General

- Generar información sobre la situación de la brucelosis bovina en el municipio de Asunción Mita, Jutiapa.

2.2 Objetivos Específicos

- Determinar la presencia de anticuerpos contra *Brucella abortus* en leche de vaca utilizada en las procesadoras, mediante la prueba de anillo en leche en el municipio de Asunción Mita, Jutiapa.
- Establecer si existe asociación entre el resultado obtenido en la prueba con los litros de leche producidos por hatos.
- Establecer si existe asociación entre el resultado obtenido en la prueba con la procedencia de la leche analizada.
- Establecer si existe asociación entre el resultado obtenido en la prueba con la vacunación o no de brucelosis bovina.

III. REVISIÓN DE LITERATURA

3.1 Sinonimia

En humanos se denomina melitococcosis, fiebre ondulante, fiebre de malta y fiebre del mediterráneo. En los animales se le denomina aborto contagioso, aborto infeccioso y aborto epizootico (PAHO, 2001). En el ganado bovino se le denomina enfermedad de Bang (Merchant & Packer, 1980).

3.2 Definición

La brucelosis es una enfermedad bacteriana infectocontagiosa, aguda o crónica, que afecta tanto a los animales como al hombre, causada por bacterias del género *Brucella*. (Vergara, 2008). La brucelosis se encuentra en la lista única de enfermedades de notificación obligatoria por parte de la Organización Internacional de Sanidad Animal (OIE) (OIE, 2012).

3.3 Etiología

3.3.1 Etiología en bovinos

En el ganado bovino, la brucelosis suele estar causada por biovariedades de *Brucella abortus* (OIE, 2012). El biovar 1 es universal y predominante entre los siete que se producen en el mundo. La distribución de las biovariedades varía geográficamente. En América Latina, se han confirmado los biotipos 1, 2, 3, 4 y 6 (PAHO, 2001). En Centro América se ha identificado brucelosis en bovino por *B. abortus* (USC, 2011).

En algunos países, en concreto en el sur de Europa y en el oeste de Asia, donde el ganado bovino se cría junto a ovejas o cabras, la infección también puede estar causada por *B. melitensis*. En ocasiones, *B. suis* puede causar una infección crónica de la glándula mamaria en el ganado bovino, pero no se ha descrito que origine abortos ni se transmita a otros animales (OIE, 2012).

3.3.2 Etiología en humanos

Del género *Brucella* se reconocen 10 especies: *B. melitensis*, *B. abortus*, *B. suis*, *B. canis*, *B. ovis*, *B. neotomae*, *B. ceti*, *B. pinnipedialis* y las más recientes *Brucella microti*, hallada en un ratón de campo y *Brucella inopinata* aislada de un implante de seno de una mujer con sintomatología de brucelosis (Méndez et al. 2013). Según López (2014), el humano es susceptible a la infección producida por *B. mellitensis*, la más patógena, seguida por *B. suis*, *B. abortus* y *B. canis*.

3.3.3 Características del agente etiológico

Las brucelas son bacterias gram negativas, de forma cocobacilar y un tamaño de 0.5-0.7 μm x 0.6-1.5 μm . En general aparecen aisladas, pero pueden presentarse en pares o pequeños grupos, solo son pleomórficas en cultivos viejos (Stanchi, 2007). Son aerobios, no móviles. Las colonias son pequeñas, convexas y lisas (Brooks, Carroll, Butel, Morse & Mietzner, 2011).

Las muestras de fuentes animales o humanas suelen inocularse en agar de tripticasa-soya y medios para hemocultivo. *B. abortus* necesita CO₂ entre 5 a 10% para multiplicarse. Las brucelas utilizan hidratos de carbono pero no

producen ácido ni gas en cantidades suficientes para la clasificación. Las cuatro especies que generalmente afectan al humano son catalasa y oxidasa positivas. El sulfuro de hidrógeno es producido por muchas cepas y los nitratos se reducen a nitritos (Brooks et al., 2011).

3.3.4 Resistencia al ambiente

En las regiones húmedas y frías con poca radiación solar las brucelas pueden permanecer viables por 40 a 100 días. Por el contrario la acción directa de los rayos del sol destruye rápidamente las brucelas en unas 4 a 5 horas. En el agua estas pueden sobrevivir por 10 días a 25°C y 57 días a 8°C (Figueroa, 1984). En el suelo húmedo y el estiércol usado como abono se registran tiempos de sobrevivencia de las brucelas de hasta 80 días. En el polvo, según la humedad ambiente, entre 15 y 40 días (Stanchi, 2007).

Cuadro No. 1 Periodos de supervivencia de *B. abortus* en varios substratos.

Medio	Temperatura o ambiente	Supervivencia
Superficies sólidas	<31°C, bajo el sol.	4-5 horas.
Agua potable	-4°C	114 días
Agua del lago	37°C, pH 7.5	< 1 día.
Agua del lago	8°C, pH 6.5	>57 días.
Suelo-seco	20°C	< 4 días.
Estiércol	Verano	1 día.
Estiércol	Invierno	53 días.
Estiércol líquido.	En tanque a temperatura ambiente	7 semanas.
Estiércol líquido.	En tanque a 12 °C	>8 meses.

Fuente: Corbel, 2006.

3.3.5 Supervivencia en los alimentos

Las brucelas son moderadamente sensibles al calor y a la acidez, son destruidas mediante pasteurización (Brooks et al., 2011). La desecación o la fermentación provocan la muerte de *Brucella*, pero los plazos son variables y difíciles de determinar (en algunos quesos, *Brucella* puede sobrevivir unos 6 meses) (Stanchi, 2007). *B. abortus*, *B. melitensis* y *B. suis* mueren por la pasteurización de la leche durante 10-15 minutos (Merchant & Packer, 1980).

Cuadro No. 2 Periodos de supervivencia de *B. melitensis* en varios substratos

Medio	Temperatura o ambiente	Supervivencia
Queso fresco	37°C	48-72 horas.
Yogur	37°C	48-72 horas.
Leche	37°C	7-24 horas.

Fuente: Corbel, 2006.

3.4 Distribución geográfica

La distribución de las diferentes especies de *Brucella* y sus biotipos varía según las áreas geográficas. *B. abortus* es la más extendida; *B. melitensis* y *B. suis* se distribuyen de forma irregular. La infección por *B. canis* se ha confirmado en muchos países de varios continentes. *B. ovis* parece encontrarse en todos los países donde la cría de ovejas es una actividad importante (PAHO, 2001).

En humanos, los países con el mayor número de casos registrados de América Latina son Argentina, México y Perú. El mismo patrón se mantiene para los países mediterráneos (PAHO, 2001).

En animales, esta enfermedad esta difundida ampliamente en América Latina, siendo la brucelosis bovina y porcina enzoótica. La infección por *B. melitensis* en cabras es alta en Argentina, México y Perú. *B. ovis*, está distribuida en todos los países de América donde se crían ovejas a gran escala (Argentina, Brasil, Chile, Perú, Uruguay y Estados Unidos) (PAHO, 2001). En Centro América la brucelosis es de carácter enzoótico, siendo los bovinos la especie más afectada, sin embargo también se ha reportado en equinos, suinos y el humano (Figueroa, 1984). Algunos países del norte y del centro de Europa, Canadá, Japón, Australia y Nueva Zelanda se consideran libres (OIE, 2012). En 2008, 12 países de la Unión Europea fueron declarados oficialmente libres de brucelosis en el ganado bovino, así como en el ovino y el caprino (Díaz, 2013).

3.5 Transmisión

3.5.1 Transmisión en bovinos

La vía principal de entrada de *Brucella* es oral, por la ingestión de alimento o agua contaminados por secreciones o restos de abortos de vacas infectadas, o bien por el lamido de las secreciones vaginales, los genitales, los fetos abortados y los becerros recién nacidos de vacas infectadas. La vía venérea no se acepta en epidemiología, ya que no tiene importancia en la transmisión de la enfermedad, pero sí el semen infectado y utilizado en la inseminación artificial (Díaz, 2013).

En establos lecheros se debe tomar en cuenta que el ordeño es otra forma de contagio, ya que como la bacteria se elimina por la leche si se utilizan las mismas pezoneras para ordeño de varias vacas es muy probable que la bacteria se transmita entre estos animales, por lo que se recomienda ordeñar

primero a las vacas sanas y dejar para el final las vacas infectadas (Díaz, 2013).

La transmisión vertical fue demostrada por Plommet, quien menciona que un 60% a 70% de los fetos nacidos de madres infectadas nacen con la infección. Las becerras también pueden resultar infectadas durante el nacimiento al atravesar el canal de parto o bien al mamar calostro o leche de vacas infectadas (Díaz, 2013).

Cuando hay lesiones en las tetillas, en los extremos de los miembros o en el espacio interdigital que faciliten la penetración del agente patógeno en capas profundas de la piel, se puede dar el contagio por vía cutánea cuando tales lesiones se encuentren en contacto con superficies contaminadas (Vergara, 2008).

3.5.2 Transmisión en humanos

Contacto directo: Contacto de la piel o mucosas con tejidos o secreciones de animales como sangre, orina, semen, secreciones vaginales, fetos abortados y en especial placentas. Según Moral (2013) esta forma de contagio es la más frecuente en el medio rural y puede llegar a ser el responsable del 60-70% de los casos registrados, afectando a veterinarios, trabajadores rurales, matarifes, ganaderos e incluso a trabajadores de laboratorio o trabajadores de servicios de salud.

Inhalación: Mediante polvo contaminado en lugares donde hay animales infectados, como establos, mataderos, salas de recepción de leche, camiones para transporte de ganado, etc. (Moral, 2013).

Ingestión: Al ingerir alimentos no pasteurizados, leche y sus derivados (queso, crema, mantequilla, helados) y en menor medida carnes poco cocidas (Moral, 2013). El proceso de elaboración del queso en realidad concentra las brucelas, que pueden sobrevivir durante varios meses en este tipo de producto. Los quesos duros preparados por fermentación de ácido láctico y propiónico presentan un menor riesgo, al igual que el yogur y la leche agria. El tejido muscular contiene bajas concentraciones de *Brucella*, sin embargo hígado, riñón, bazo, ubre y testículos, pueden contener concentraciones mucho más altas (Corbel, 2006).

Inoculación: De material contaminado por *Brucella spp.* Este tipo de transmisión afecta principalmente a veterinarios, matarifes y personal de laboratorio. Se ha descrito que se puede dar la enfermedad por autoinoculación accidental de la vacuna de *B. abortus* cepa 19 (Moral, 2013).

Perinatal: Por vía transplacentaria, por ingestión de leche materna o por la exposición a sangre, orina o heces de la madre infectada durante el parto (Moral, 2013).

Interhumana: Esta transmisión es rara o excepcional, sin embargo se ha informado contagio posterior a una transfusión de sangre, trasplante de médula ósea y se han descrito casos ocasionales en los que se sospecha transmisión sexual (Moral, 2013).

3.6 Patogenia en bovinos

La infección se adquiere principalmente por vía oral, nasal o conjuntival. Después de haber atravesado las mucosas (o la piel lesionada), la bacteria se localiza en los ganglios linfáticos regionales (retrofaríngeos, parotídeos y submaxilares entre los más frecuentes) para luego diseminarse hacia otros

órganos linfoides, el bazo, los ganglios ilíacos y los retromamarios. El periodo de incubación está relacionado con el estado fisiológico de la hembra. En la hembra no gestante, la infección permanece localizada en los ganglios retromamarios. Durante la gestación, *Brucella* invade el útero en donde se multiplica masivamente. Allí provoca una endometritis con ulceración de los espacios intercotiledonarios y compromiso del alantocorion, de los cotiledones placentarios y de los líquidos fetales. Los fetos desarrollan hiperplasia linfoide, depleción tímica y neumonía hematógena. En caso de una primoinfección, el proceso culmina de modo característico con el aborto en el último tercio de la gestación. El aborto es menos observado en gestaciones subsiguientes, aunque las hembras quedan infectadas y eliminan brucelas con cada parto. Los neonatos pueden infectarse vía intrauterina, origen de brucelosis “latentes” (Stanchi, 2007).

La obstaculización del aporte de sangre al feto, los efectos endotóxicos sobre este y la infección hacen que haya una pérdida de viabilidad del feto y se dé el aborto. Los fetos abortados que han estado muertos durante días, con frecuencia albergan organismos viables de *B. abortus* en el pulmón y en el cuajar (Rebhun, 1999).

3.7 Periodo de incubación

3.7.1 Periodo de incubación en bovinos

El período de incubación es difícil de calcular porque no se puede establecer el momento de la infección. Puede ser variable y es inversamente proporcional al desarrollo del feto. Cuando más adelantada está la preñez, más corto será el período de incubación que puede fluctuar entre los 200 días si la

hembra se infecta por vía digestiva en la época del servicio y unos 60 días si se infecta seis meses después de la monta.

3.7.2 Periodo de incubación en humanos

Corbel (2006), menciona que en los casos de enfermedad aguda, el periodo de incubación es de dos a tres semanas, sin embargo cuando el inicio de la enfermedad es gradual o lenta, los signos se pueden manifestar durante un periodo de semanas a meses después de la infección. Por otro lado Brooks, et al (2011) menciona un periodo de incubación de unas seis semanas.

3.8 Periodo de eliminación

Una masiva excreción de *Brucella* comienza después del aborto y puede continuar por 15 días. Una vez que las membranas fetales son expulsadas, la descarga uterina disminuye y el número de microorganismos excretados desciende rápidamente. Aunque la descarga del tracto genital usualmente se libera de microorganismos después de 2-3 meses de la infección, algunas vacas pueden quedar como portadoras y excretar bacterias de manera intermitente y por muchos años, contaminando el agua y los pastos que los animales consumen (Vergara, 2008).

Durante el aborto o los partos infecciosos, se han reportado cifras tan altas como 10^{14} UFC (Unidades Formadoras de Colonias) de *Brucella* por gramo de tejido cotiledonario de vacas. En estos casos los loquios, la orina, la leche y los fetos están infectados (Stanchi, 2007).

3.9 Signos clínicos

3.9.1 Signos clínicos en los bovinos

En los rumiantes, la enfermedad pasa desapercibida, siendo el único signo clínico el aborto. El cual se produce durante el último trimestre de la gestación, las crías pueden nacer muertas o débiles. En general hay retención de secundinas, con los signos asociados a una metritis. En los machos, suelen estar afectado el tracto reproductor, con orquitis uni o bilateral, y frecuente compromiso de próstata y vesículas seminales. Puede observarse sinovitis y artritis, en especial de los miembros posteriores (Stanchi, 2007).

3.9.2 Signos clínicos en el humano: formas de presentación

Forma aguda: Después de la incubación se expresan síntomas generales inespecíficos como malestar, debilidad física, pérdida de apetito, sudoración abundante y fiebre alta en casos de infección por *B. melitensis* (Vergara, 2008).

Forma localizada: Se puede localizar en cualquier parte del organismo, principalmente en el sistema esquelético (columna vertebral) y en menor proporción y con mayor frecuencia afecta rodillas, cadera, artritis y/o bursitis, infecciones del tracto genitourinario y endocarditis, siendo esta última la mayor causa de muertes de los pacientes que la padecen (Vergara, 2008). Las focalizaciones son muy variadas y para algunos autores guardan relación con la vía de entrada. Las localizaciones más frecuentes son: osteoarticular (20-85% de los casos), hepática (30-60%) y neurológica (2-5%) (Stanchi, 2007).

Forma crónica: Resulta cuando la enfermedad permanece por un tiempo prolongado desde una forma asintomática, presencia de síntomas leves, recaídas hasta signos de infección activa (Vergara, 2008).

3.10 Respuesta Inmune

La respuesta inmunitaria anti *Brucella* ha sido estudiada desde hace largo tiempo, con una orientación definida hacia el diagnóstico. Es por ello que su conocimiento ha seguido principalmente la evolución de las técnicas serológicas. Solo recientemente, la relación entre la respuesta inmune y los mecanismos de resistencia natural y adquirida comienzan a ser explorados.

La respuesta del hospedador a la infección por *Brucella* es variable, dependiendo de varios factores, a saber: del hospedador (idiosincrasia, edad, sexo, estado reproductivo, gestación, vacunación, estado inmunológico, exposición previa del agente, dosis infectante y virulencia de la cepa) (Stanchi, 2007).

3.10.1 Respuesta inmune humoral

Tras un primer contacto con *Brucella* por vacunación, la serología se vuelve positiva a la primera o segunda semana, con un predominio de anticuerpos IgM durante las primeras 2 semanas. La respuesta a IgG comienza también tempranamente, antes que la IgM llegue a su pico, y puede alcanzar su máximo entre la tercera semana y el mes. En general, tras la vacunación de las hembras pre púberes sanas, los niveles de anticuerpos declinan hasta niveles no significativos en el término de 3 a 6 meses, es decir al momento de su entrada en servicio. Esto ha permitido establecer programas de control médico-sanitario con vacunación y descarte de reactores serológicos. Tras una exposición a cepas virulentas, la respuesta serológica se manifiesta luego de 4-10 semanas e incluso más.

Aún en condiciones experimentales, se observa variaciones importantes entre los animales. La infección crónica se caracteriza en el bovino por la síntesis prolongada de IgG1. Los niveles de anticuerpos IgG2 pueden variar de acuerdo con el individuo, en tanto que los de IgG1 sufren una disminución en el periodo próximo al parto, debido a la derivación suero-calostro propia de esta Ig en el vacuno. En la leche de los animales infectados pueden aparecer Ac (anticuerpos) de origen sérico (IgG1), así como de origen local (IgM e IgA) (Stanchi, 2007).

Cuadro No. 3 Actividad de los Anticuerpos según isotipo en distintas pruebas serológicas para brucelosis.

PRUEBA	ISOTIPOS			
	M	G1	G2	A
SAL	+	+/-	+	-
2-Me	-	+/-	+	-
RB(a)	+(b)	+	-	-
FC	-	+	-	-
ELISA	+(c)	+(c)	+(c)	+(c)
Antiglobulina	+(c)	+(c)	+(c)	+(c)
PAL	+	+/-	-	+

(+) activa, (+/-) poco activa, (-) inactiva.

SAL: Seroaglutinación lenta en tubo, 2-Me: 2 mercaptoetanol, RB: prueba de rosa de Bengala, FC: Fijación de complemento, ELISA: Ensayo de inmunoabsorción ligado a enzimas, PAL: prueba del anillo en leche.

Fuente: Stanchi, 2007.

3.11 Diagnóstico

Todos los abortos del ganado vacuno deben considerarse como casos sospechosos de brucelosis y deberían investigarse. El cuadro clínico no es

patognomónico, aunque el historial del rebaño puede servir de ayuda. El diagnóstico inequívoco de las infecciones por *Brucella* solo puede hacerse mediante el aislamiento y la identificación de *Brucella*, pero en situaciones en las que no es posible el análisis bacteriológico, el diagnóstico puede basarse en los métodos serológicos. No existe una prueba única que permita la identificación de *Brucella*. Normalmente se necesita una combinación de las características de crecimiento y métodos serológicos, bacteriológicos y/o moleculares.

3.11.1 Pruebas en la leche

Un medio eficaz de examinar a las vacas lecheras es recurrir a la leche de los tanques de recogida. De estos tanques se puede obtener leche de forma más barata y frecuente que las muestras de sangre, y habitualmente están disponibles en las centrales lecheras. Cuando se obtiene un resultado positivo, todas las vacas que aportan leche deben comprobarse individualmente analizando sus muestras de sangre.

3.11.1.1 Prueba del anillo en leche

En los animales lactantes, la prueba del anillo de leche (PAL) puede utilizarse para el diagnóstico de la brucelosis en rebaños. En poblaciones grandes (>100 terneros lactantes) la sensibilidad de la prueba tiene menos fiabilidad (OIE, 2012). Bercovich (1998), reporta una sensibilidad de 56% y una especificidad del 99% para MRT, sin embargo, Salman, A.M. y Nasri, H.A. (2012) reportan una sensibilidad del 85% y una especificidad del 95% para PAL.

La PAL puede ajustarse para compensar el factor de dilución de las muestras de leche entera procedente de rebaños grandes. Las muestras se ajustan de acuerdo con la siguiente fórmula: tamaño del rebaño <150 animales usan 1 ml de leche. 150–450 usan una muestra de leche entera de 2 ml. 451–700 usan una muestra de leche de 3 ml (OIE, 2012).

Pueden presentarse reacciones falsas positivas en animales vacunados 4 meses antes de la prueba, en muestras de leche anormal (como el calostro) o en casos de mastitis. Por tanto, no se recomienda la utilización de esta prueba en granjas muy pequeñas, donde estos problemas presentan un mayor impacto en los resultados de la prueba (OIE, 2012). Sin embargo en muchos países es utilizada esta prueba para la vigilancia epidemiológica, ya que es rentable, fácil de realizar, no es invasiva y puede cubrir una gran población en poco tiempo, siendo ideal para la detección de rebaños infectados y para el diagnóstico de brucelosis en animales individuales (Mohamand et al, 2014).

Procedimiento de la prueba: La prueba se lleva a cabo sobre las muestras del tanque de leche entera. Si es necesario, las muestras se pueden pre tratar con un conservante (formalina al 0,1% o bronopol al 0,02%) durante 2–3 días a 4°C antes de su utilización.

- Se debe procurar que las muestras de leche y el antígeno se mantengan a temperatura ambiente ($20 \pm 3^{\circ}\text{C}$).
- Debe retirarse de la refrigeradora solo el antígeno necesario para las pruebas del día. Se agita suavemente la botella de antígeno.
- La prueba se lleva a cabo añadiendo 30µl de antígeno a 1–2 ml de leche completa (el volumen de leche puede aumentarse para muestras de poblaciones grandes).
- La altura de la columna de leche en el tubo debe ser como mínimo de 25 mm. Las muestras de leche no deben haber sido congeladas,

calentadas, sometidas a agitaciones violentas o almacenadas durante más de 72 horas.

- Normalmente, las mezclas de leche y antígeno se incuban a 37°C durante 1 hora junto con los estándares de trabajo positivos y negativos. Sin embargo, la incubación durante la noche a 4°C aumenta la sensibilidad de la prueba y permite una interpretación más fácil.
- Una reacción fuertemente positiva se indica por la formación de un anillo azul oscuro por encima de la columna blanca de leche. Cualquier anillo azul en la interfase de leche y de crema debe considerarse como positivo y podría ser significativo, especialmente en el caso de grandes poblaciones.
- La prueba es negativa si el color de la leche supera al de la capa cremosa.

3.11.1.2 I-ELISA (ELISA indirecto) en leche

La prueba de I-ELISA en leche es sensible y específica, y resulta particularmente útil para analizar grandes rebaños. Se han comercializado varios I-ELISA que se han validado en grandes ensayos de campo y se utilizan mucho. Las muestras de leche de tanque colectivo se analizan generalmente a diluciones mucho más bajas que en el I-ELISA para suero (OIE, 2012). Los formatos de I-ELISA, muestran una gran sensibilidad (98.1%) y gran especificidad (88.1%). Por otro lado como las lecturas de color son medidas en espectrofotómetros, se disminuye el error de apreciación humano (Maldonado, 2010).

3.11.2 Métodos indirectos

3.11.2.1 Pruebas serológicas

La serología es el recurso diagnóstico más utilizado. Las pruebas serológicas dan una evidencia de la infección brucelar, pero cuando son efectuadas en forma uniforme y se las interpreta con criterio epidemiológico, tomando en consideración todo el rodeo, constituyen el instrumento más práctico para el diagnóstico (Stanchi, 2007).

La semejanza antigénica sobre todo a nivel del LPS-S, entre las vacunas y las cepas salvajes explica en parte las respuestas séricas similares provocadas en el animal por la vacunación o por una infección. Esto hace difícil diferenciar por serología entre los animales infectados y los sanos vacunados. Por lo anterior, los parámetros a considerar respecto del desempeño de una prueba serológica son la detección del mayor número posible de animales infectados (sensibilidad) y la diferenciación entre infectados y vacunados sanos (especificidad) (Stanchi, 2007).

Los métodos serológicos que se describen a continuación son métodos estandarizados y validados, con características de realización adecuadas para ser consideradas pruebas obligadas o alternativas para el comercio internacional.

Prueba de rosa de bengala (RBT): Esta prueba es una prueba sencilla de aglutinación puntual que utiliza antígeno coloreado con rosa de bengala y tamponado a pH bajo, normalmente $3,65 \pm 0,05$. La RBT es muy sensible, sin embargo, como toda prueba serológica, a veces origina una reacción positiva debido a vacunación con S19 o a reacciones serológicas falsas positivas. Las reacciones falsas negativas se producen muy raramente. Sin embargo, la RBT

parece adecuada como una prueba para detectar hatos infectados o para garantizar la ausencia de infección en hatos libres de brucelosis (OIE, 2012).

Prueba de la fijación del complemento (FC): La FC es una prueba confirmativa ampliamente aplicada y aceptada. La prueba de FC es muy específica, ya que es la prueba menos afectada por los Ac residuales posvacunales; ha demostrado una alta sensibilidad y especificidad ya que detecta IgG1 a niveles muy bajos (Stanchi, 2007). Sin embargo, como todas las pruebas serológicas, a veces da resultados positivos debido a vacunación con S19 o a consecuencia de reacciones serológicas falsas positivas. Las hembras que se han vacunado con *B. abortus* S19 entre los 3 y 6 meses se consideran generalmente positivas si los sueros dan una fijación positiva con un título de 30 o más Unidades Internacionales de la Prueba de Fijación de Complemento (UIFC)/ml cuando los animales se diagnostican con una edad de 18 meses o superior (OIE, 2012).

ELISA indirecto (I-ELISA): La prueba I-ELISA es muy sensible, pero a veces no es capaz de distinguir entre los anticuerpos debidos a vacunación por S19 u otros problemas de reacciones serológicas falsas positivas y los inducidos por las cepas patógenas de *Brucella* (OIE, 2012).

ELISA competitivo (C-ELISA): El C-ELISA parece tener mayor especificidad que el I-ELISA. El C-ELISA es también capaz de eliminar la mayoría de las reacciones debidas a los anticuerpos residuales que se producen en respuesta a la vacunación con S19 (OIE, 2012).

Prueba de polarización de fluorescencia (FPA): La FPA es una técnica sencilla para determinar la interacción antígeno/anticuerpo y puede realizarse en instalaciones de laboratorio o en el campo. La sensibilidad y la especificidad diagnóstica de la FPA en la brucelosis bovina son casi idénticas a las de C-

ELISA. La especificidad diagnóstica en ganado recientemente vacunado con la cepa S19 supera el 99% (OIE, 2012).

3.11.3 Métodos directos: Identificación del agente

3.11.3.1 Bacteriológico

El aislamiento de *Brucella*, es el único diagnóstico de certeza. Al realizar un cultivo se tienen los siguientes objetivos: aislamiento e identificación, mantenimiento de cepas en laboratorio (con fines de investigación), o bien preparación en masa de células para vacunas o para antígenos de diagnóstico. En ocasiones se puede realizar el aislamiento por inoculación en animales de laboratorio, es decir se hace cuando hay muestras sumamente contaminadas, cuando no hay disponibilidad de medios selectivos o cuando las muestras cuentan con pequeños números de *Brucella* (Stanchi, 2007).

Para el diagnóstico de la brucelosis animal mediante cultivo, la elección de las muestras depende en general de los síntomas clínicos observados. Las muestras más adecuadas incluyen fetos abortados (contenido estomacal, bazo y pulmones), membranas fetales, exudados vaginales (frotis), leche, semen y líquidos de las artritis o de los higromas. Los tejidos preferidos para cultivo de las canales animales son los del sistema retículo-endotelial (ganglios linfáticos de la cabeza, mamarios, genitales y el bazo), el útero inmediatamente antes o después del parto, y las ubres. El crecimiento aparece generalmente después de 3–4 días, pero no se deben desechar los cultivos como negativos hasta después de 8–10 días (OIE, 2012).

Cualquier colonia con una morfología similar a la de *Brucella* debe analizarse por la tinción de Gram (o por la coloración de Stamp) (OIE, 2012).

3.11.3.2 Métodos de reconocimiento de ácidos nucleicos

La reacción en cadena de la polimerasa (PCR) se ha empezado a estudiar pese al alto grado de homología del ADN dentro del género *Brucella*, se han desarrollado varios métodos que permiten, hasta cierto punto, la diferenciación entre especies y algunos de sus biovariedades, y se ha llegado a una sensibilidad en la detección equivalente a unas 100 células de *Brucella* (Stanchi, 2007).

3.12 Tratamiento

En los rumiantes, el tratamiento antibiótico no se realiza, esto debido al costo y a la dificultad para diagnosticar con certeza la enfermedad. Sin embargo en el hombre se utilizan varios antibióticos, solos o en forma combinada, este tratamiento busca reducir la morbilidad, acortar la duración del proceso y disminuir la incidencia de complicaciones. En casos agudos se usa cloruro de tetraciclina o la doxiciclina, y se agrega la estreptomina. Otra prescripción combina la trimetoprima con el sulfametoxazol. Se recomienda un mínimo de 3 semanas de tratamiento (Stanchi, 2007).

3.13 Control y prevención

A medida que la fuente última de la brucelosis humana es la exposición directa o indirecta a animales o sus productos (infectados), la prevención se debe basar en la eliminación de tal contacto, es decir a la eliminación de la enfermedad en los animales, por lo tanto a continuación se mencionan las medidas de control y prevención de la brucelosis en bovinos. El objetivo de un programa de control y prevención animal es reducir el impacto de una enfermedad en la salud humana y las consecuencias económicas. Si bien las medidas de salud pública como la pasteurización y la educación tienen cierto

grado de éxito, sigue siendo principalmente una responsabilidad veterinaria el control de la brucelosis (Corbel, 2006).

3.13.1 Prevención

- Selección cuidadosa de animales de reemplazo, pueden ser animales de hatos libres de brucelosis o bien se debe realizar pruebas antes de la compra para conocer su estado sanitario.
- Aislamiento de reemplazos comprados por al menos 30 días y otra prueba serológica antes que se mezclen con el hato completo.
- De ser posible se deben analizar mediante pruebas de laboratorio, la causa de abortos, nacimientos prematuros, u otros signos clínicos y aislar a los animales sospechosos hasta tener un diagnóstico definitivo.
- Los hatos deben ser sometidos a pruebas de vigilancia epidemiológica, realizando pruebas periódicas de anillo en leche (por lo menos 4 veces al año), y realizar pruebas simples de detección serológica como la prueba de rosa de bengala, con animales destinados a sacrificio.
- Se debe realizar la eliminación adecuada (incineración o entierro) de placentas y fetos no viables, y realizar desinfección de áreas contaminadas.
- Cooperar con las autoridades de salud pública para investigar casos de brucelosis en humanos (Corbel, 2006).

3.13.2 Control

Los procedimientos para la gestión de hatos infectados pueden variar ampliamente de país en país. Sin embargo se pueden describir 2 principios básicos del control: la reducción de la exposición a *Brucella spp.* y el aumento de la resistencia a la infección (Corbel, 2006).

Prueba, aislamiento/sacrificio: Las pruebas serológicas son el método habitual para identificar posibles animales infectados. Los procedimientos bacteriológicos son útiles para confirmar resultados de estudios epidemiológicos. La decisión de sacrificar animales positivos a pruebas, se hace considerando factores económicos y la prevalencia. En la mayoría de los casos el sacrificio solo tiene éxito en la reducción de la incidencia si el hato tiene una prevalencia muy baja (ejemplo: 2%). Mantener animales positivos es menos peligroso si los restantes han sido vacunados pero esto solo se considera como último recurso. Aislar animales positivos es esencial especialmente en etapa de gestación y después del parto (Corbel, 2006).

Higiene: El objetivo de este método de control, es la reducción de la exposición de los animales susceptibles a los que están infectados o a sus descargas y tejidos, mediante la limpieza y desinfección de áreas principalmente (Corbel, 2006).

Control de movimiento de animales: Los animales deberían estar identificados por una marca, tatuaje o arete. La venta o movimiento de animales de zonas infectadas a otras áreas, sin autorización, debe ser prohibida. La importación de animales a áreas limpias debe limitarse a animales provenientes de zonas libres de brucelosis que además tengan pruebas recientes con resultados negativos (Corbel, 2006).

Vacunación: Existe un acuerdo general que el método más exitoso para la prevención y control de la brucelosis animal es mediante la vacunación, aunque la vacuna ideal no existe. La cepa 19 de *B. abortus* ha demostrado ser superior a las demás vacunas. La cepa RB51 de *B. abortus* se ha utilizado en Estados Unidos y algunos países de América Latina con resultados alentadores. La vacunación se recomienda cuando las demás medidas de control han fracasado. Al vacunar los animales deben ser identificados y

monitoreados continuamente para observar abortos a consecuencia de la vacuna. Los reactores serológicos positivos deben ser retirados del hato.

Se recomienda a menudo que la vacunación con cepa 19 se debe limitar a hembras sexualmente inmaduras, con el fin de minimizar la estimulación de anticuerpos posvacunales que pueden confundir la interpretación de las pruebas de diagnóstico y para evitar posibles abortos inducidos por la vacuna (Corbel, 2006). Algunos métodos ensayados para reducir la duración de las reacciones posvacunales son la administración por vía conjuntival y el uso de dosis menores (Stanchi, 2007).

3.13.3 Prevención de la brucelosis humana transmitida por los alimentos

Para la población en general que no tiene contacto directo con animales, la fuente potencial de brucelosis es mediante el consumo de leche no pasteurizada y sus derivados. La carne también puede ser una fuente importante de infección, principalmente donde consumen productos crudos o poco cocidos.

Leche y productos lácteos: La ebullición o pasteurización a temperatura elevada matarán la bacteria en la leche. Si no están disponibles instalaciones para pasteurización, la leche se debe calentar a una temperatura mínima de 80-85°C durante al menos varios minutos o bien ser hervida. Esto se debe aplicar a toda la leche para consumo humano ya sea para ser bebida sin transformar o para fabricar otros productos (Corbel, 2006).

Carne: Es poco probable que el tejido muscular contenga grandes concentraciones de *Brucella*, el número de organismos se reduce aún más si la carne se almacena correctamente antes de su consumo. Sin embargo si la

carne o vísceras son cocidas correctamente no presentan ningún peligro. Además se debe tener cuidados de higiene en la preparación y manipulación de carne o vísceras contaminadas para no contaminar otros alimentos (Corbel, 2006).

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1 Materiales

- **Recursos humanos:**
 - 1 Estudiante Investigadora.
 - 2 Asesores de tesis.
 - Personal de laboratorio.

- **Recursos de campo:**
 - Formol al 1%.
 - Recipientes para recolección de muestras de 100 ml.
 - 3 Hieleras de duroport.
 - 1 Hielera de plástico.
 - Gel refrigerante.
 - Libreta de notas.
 - Lapicero.
 - Masking tape.
 - Marcador permanente.
 - Beaker.
 - Jeringa de 5 ml.

- **Recursos de laboratorio:**
 - Micropipeta de 1000 μ l
 - Puntas de 1000 μ l
 - Gradilla
 - Tubos de ensayo de 12 x 75 mm.
 - Incubadora a 37°C.

- **Recursos biológicos:**
 - Antígeno para el diagnóstico de brucelosis animal (Método de aglutinación anillo en leche).
 - 57 muestras de leche de vaca.

4.2 Área de estudio

El estudio se llevó a cabo en las procesadoras de productos lácteos ubicadas en la Cabecera Municipal de Asunción Mita que reciben leche de las diferentes aldeas del municipio. La Cabecera Municipal está aproximadamente a 470 metros sobre el nivel del mar, con una latitud norte de 14°19'58" y una longitud oeste de 89°42'34". Asunción Mita se encuentra a 146 km de la Ciudad Capital y a 31 km de la cabecera departamental de Jutiapa por la carretera CA-1 (SEGEPLAN, 2011).

La Cabecera Municipal de Asunción Mita colinda al norte con Santa Catarina Mita y Agua Blanca; al este con Agua Blanca y la República de El Salvador; al sur con Atescatempa, Yupiltepeque y la República de El Salvador y al Oeste con Jutiapa y Yupiltepeque (SEGEPLAN, 2011).

4.3 Muestreo

- Para realizar el siguiente estudio se identificaron 11 procesadoras en la Cabecera Municipal de Asunción Mita.
- Se tomó una muestra de leche de cada proveedor (57 proveedores).

4.4 Métodos de campo

- Se visitó a las unidades productoras durante el proceso de ordeño para realizar una encuesta y obtener información sobre la producción de leche y el estatus sanitario de las mismas, así también se llevó a cabo la toma de muestras de leche.
- Se tomó una muestra por unidad productora, antes de enviar la leche a la procesadora.
- Se recolectaron 60 ml de leche en un recipiente estéril y se agregó formol al 1% (1ml de formol por cada 10 ml de leche).
- Las muestras se identificaron con un número correlativo del 1 al 57.
- La toma de muestras se realizó durante un mes, los días martes, miércoles y jueves de cada semana, para procesar las muestras los días viernes.
- Las muestras se almacenaron y fueron transportadas en refrigeración hasta el laboratorio (Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, USAC) siendo analizadas mediante la Prueba de Anillo en Leche (PAL).

4.5 Procedimiento de la prueba

Las muestras de leche permanecieron en refrigeración a una temperatura de 4-6 °C entre 24 y un máximo de 72 horas antes de su análisis. Una hora antes de realizar la prueba, las muestras y el antígeno para el diagnóstico de brucelosis animal se colocaron a temperatura ambiente. Para la prueba se realizaron los siguientes pasos:

- Se homogenizó cada muestra, invirtiendo varias veces el recipiente.
- Se colocó 1 ml de la muestra en un tubo de ensayo.

- Se agregó 30µl de antígeno a cada tubo. Se mezcló bien, invirtiendo el tubo varias veces, sin que formara espuma, evitando dejar antígeno sobre las paredes.
- Se llevó a incubación a 37°C durante una hora, para luego realizar la interpretación.

4.6 Interpretación de la prueba

- *Negativo (-)*: Anillo de crema blanco y columna de leche azul.
- *Una cruz (+)*: Anillo de crema y columna de crema del mismo color o casi igual.
- *Dos cruces (++)*: Anillo de crema de color más pronunciado que la columna de leche.
- *Tres cruces (+++)*: Anillo de crema azul oscuro; la columna de leche tiene aún un poco de color.
- *Cuatro cruces (++++)*: Anillo de crema azul oscuro y la columna de leche es blanca. (García, 1982).

Nota: Para fines de análisis estadístico, se interpretaron los resultados como negativos o positivos (Se tomaron como positivas todas las muestras que dieron como resultado de una a cuatro cruces).

4.7 Análisis estadístico

4.7.1 Diseño de estudio

Investigación de tipo exploratorio, con diseño transversal descriptivo.

4.7.2 Análisis estadístico

Se utilizó estadística descriptiva, con porcentajes. Para establecer las posibles asociaciones se utilizó la prueba Chi cuadrado.

4.7.3 Variables a analizar

- Presencia o ausencia de anticuerpos contra *Brucella abortus*.
- Asociación entre el resultado de la prueba y:
 - Los litros producidos por hato.
 - La procedencia de la muestra.
 - La vacunación o no contra brucelosis bovina.

V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se analizaron un total de 57 muestras de leche, las cuales representan los hatos bovinos (unidades productoras) que proveen leche a las 11 procesadoras de lácteos ubicadas en la cabecera municipal de Asunción Mita. En el presente estudio se utilizó la prueba de anillo en leche (PAL) para determinar la presencia de anticuerpos contra *Brucella abortus*.

De las 57 muestras, 9 (15.79%) resultaron positivas a la presencia de anticuerpos contra *B. abortus* y 48 (84.21%) negativas. 4 (36%) de las 11 procesadoras estudiadas fueron positivas. El porcentaje de muestras positivas por procesadora se distribuye de la siguiente manera: procesadora “A” n=15, 3 positivas (20%); “B” n=6, 2 positivas (33.33%); “C” n=9, 1 positiva (11.11%) y “E” n=4, 3 positivas (75%) (Ver anexo 2: cuadro No. 2).

Los anticuerpos que detecta la PAL en la leche, reaccionan con el antígeno coloreado de *Brucella abortus*, y forman un complejo que se adhiere a la superficie de los glóbulos de grasa de la leche y que ascienden con ellos para formar una capa de crema coloreada (García, C. 1982), por lo que en las muestras positivas se observó un anillo de crema azul oscuro y la columna de leche blanca. Por el contrario en las muestras negativas se observó un anillo de crema blanco y una columna de leche azul debido a que las células de brucelas teñidas se mantuvieron en suspensión y al haber ausencia de anticuerpos no se logró formar el complejo antígeno-anticuerpo para observar el anillo coloreado.

Según la PAHO (Organización Panamericana de la Salud) (2001), el periodo de “incubación serológico” dura de varias semanas a varios meses, este periodo va a variar de acuerdo a factores como la virulencia y dosis de la bacteria, la vía de infección y la susceptibilidad del animal. Los animales dentro de un hato manifiestan diferentes grados de susceptibilidad en función de su edad y sexo,

siendo el ganado vacuno sexualmente maduro el que se infecta con mayor facilidad y de forma persistente, por lo tanto todos los hatos muestreados en este estudio son susceptibles a la infección ya que están formados por animales sexualmente maduros.

La PAL detecta de forma activa las IgM y las IgA, y de forma poco activa las IgG1, detectando en este estudio vacas con infección reciente (al detectar IgM) y vacas con infección crónica (al detectar IgG1 e IgA), coincidiendo con los reportes de la PAHO (2001), que indica que mantienen títulos de aglutinación positivos durante muchos años o de por vida, y en infecciones recientes aparecen las aglutininas IgM. En infecciones crónicas las brucelas se albergan en ganglios linfáticos y en glándula mamaria, permaneciendo en la ubre por muchos años.

La prueba χ^2 determinó que no existe asociación entre el resultado de la prueba con los litros de leche producidos por hato, ya que se obtuvo como resultado un valor $P > 0.87$ (todo valor $P > 0.05$ acepta la hipótesis de independencia, demostrando que ambas variables son independientes una de la otra, por lo tanto no existe asociación entre ellas). Para el análisis de esta primera variable se realizaron 4 categorías representando la cantidad de litros producidos por hato y se clasificaron los proveedores en la categoría correspondiente según los litros que producen y venden a las procesadoras (Ver anexo 2: cuadro No. 5).

Los hatos muestreados tienen menos de 150 animales con diferentes cantidades de leche producida (Ver anexo No. 2: cuadro No. 4) por lo que se realizó la prueba de asociación para conocer si el factor dilución era influyente en los resultados obtenidos. Sin embargo la prueba χ^2 demostró que la PAL es confiable desde 4 litros (cantidad menor producida) hasta 519 litros (cantidad mayor producida), manifestando que tal factor no intervino en este caso, debido a esto se ajustó la fórmula siguiente: tamaño del hato <150 animales usar 1 ml de leche, según la OIE (2012).

Es importante mencionar que la PAL se ha reportado como una prueba de baja sensibilidad y alta especificidad, Bercovich en 1998, reportó una sensibilidad del 56% y una especificidad del 99%, por lo tanto podemos decir que entre las muestras que resultaron positivas puede haber algunos falsos positivos.

Los falsos positivos pueden presentarse en animales vacunados 4 meses antes de la prueba, en muestras de leche anormal (como el calostro) o en casos de mastitis (OIE, 2012), además pueden haber falsos positivos cuando la prueba se efectúa el mismo día en que se recolectó la leche o cuando las vacas están próximas a secarse (García, C. 1982). Debido a esto en este estudio, se tomó en cuenta que las muestras fueran procesadas luego de las 24 horas de su recolección y antes de las 72 horas. También se conoció que no hubo efecto de anticuerpos postvacunales en los resultados positivos ya que de acuerdo a la encuesta realizada (Ver anexo 1: boleta No. 1) el 100% de los proveedores no vacunan a su ganado, lo que hace más confiable el resultado de la prueba. Sin embargo no fue controlada la existencia de calostro en la leche, la existencia de vacas próximas a secarse y la presencia de mastitis en los hatos, siendo estos factores influyentes en los presentes resultados.

Por último, la prueba de Chi^2 dio un valor $P > 0.12$ indicando que la procedencia no es un factor que haya influido en los resultados de este estudio, probablemente porque todos los hatos proveedores son de aldeas del mismo municipio y mantienen un estatus sanitario y manejo similar de sus animales.

VI. CONCLUSIONES

- El 36% de las procesadoras de lácteos estudiadas con la Prueba de Anillo en Leche (PAL) resultaron positivas a la presencia de anticuerpos contra *Brucella abortus*.
- Se evidenció presencia de anticuerpos contra *B. abortus* en el 20% de las muestras de la procesadora “A”, 33.33% en las muestras de la procesadora “B”, 11.11% en las muestras de la procesadora “C” y 75% en las muestras de la procesadora “E”, el resto de las procesadoras dieron resultado negativo.
- La prueba Chi2 ($P > 0.87$) indicó que no existe asociación entre la cantidad de litros producidos por hato y los resultados obtenidos con la PAL, demostrando que el factor dilución no influyó en este estudio.
- No se encontró asociación estadísticamente representativa ($P > 0.12$) entre el lugar de procedencia de la leche y los resultados obtenidos con la PAL.
- No se realizó la prueba de asociación entre los resultados obtenidos en la prueba y la vacunación, ya que el 100% de las unidades productivas analizadas no vacuna contra la brucelosis, por lo tanto esto demuestra que no hubo interferencia de anticuerpos postvacunales en los resultados positivos obtenidos con la PAL.

VII. RECOMENDACIONES

- En los hatos con resultados positivos a la prueba de anillo en leche, realizar monitoreo mediante la prueba de rosa de bengala y tomar las medidas pertinentes al caso.
- Realizar monitoreos serológicos anuales para determinar el estatus sanitario de brucelosis en la población total de bovinos del municipio de Asunción Mita.
- Realizar estudios epidemiológicos para establecer la prevalencia de la brucelosis bovina en el municipio de Asunción Mita.
- Se recomienda a las procesadoras de lácteos del municipio de Asunción Mita, implementar la pasteurización de la leche utilizada para la fabricación de productos lácteos.
- A las autoridades de salud pública, para que implementen un programa de educación sanitaria en el municipio sobre las distintas zoonosis que pueden afectar al humano, incluyendo la brucelosis.

VIII. RESUMEN

Este estudio se llevó a cabo en las procesadoras de lácteos ubicadas en la cabecera municipal de Asunción Mita, Jutiapa, que reciben leche de distintas aldeas del municipio. Estas fabrican productos sin pasteurización previa y los comercializan a nivel local y en otros departamentos.

Se analizaron un total de 57 muestras de leche, las cuales representan el total de hatos bovinos que proveen leche a las 11 procesadoras identificadas. Las muestras fueron obtenidas en cada hato, identificadas, refrigeradas y transportadas al Laboratorio del Departamento de Microbiología de la FMVZ/USAC, donde fueron analizadas mediante la prueba de anillo en leche (PAL).

En 4 (36%) de las 11 procesadoras estudiadas se encontraron anticuerpos contra *B. abortus*. De las 57 muestras (15.79%), 9 resultaron positivas a la presencia de anticuerpos contra *B. abortus*. La cantidad de litros analizados por hato no influyeron en los resultados obtenidos por la PAL, demostrando que el factor de dilución no afectó, ya que con la prueba de Chi^2 se indicó que no hubo asociación entre ambas variables. La procedencia de la leche no fue un factor influyente en los resultados obtenidos, ya que no hubo diferencia significativa estadísticamente. Los anticuerpos postvacunales no influyeron en el resultado de la prueba ya que el 100% de los hatos muestreados no son vacunados contra la brucelosis bovina.

SUMMARY

This study was conducted in the dairy processing located in the down town of Asunción Mita, Jutiapa, which receive milk from different villages of the township. They manufacture products without previous pasteurization and sold them locally and in others departments.

Were analyzed a total of 57 samples of milk, which represent the total number of cattle herds that provide milk to the 11 processors that were identified. The samples were obtained in each herd, identified, refrigerated and transported to the Laboratory of the Department of Microbiology of the FMVZ/USAC, where they were analyzed using the milk ring test (MTR).

At 4 (36%) of the 11 processors studied, were found antibodies against *B. abortus*. Of 57 samples (15.79%), 9 were positive to the presence of antibodies against *B. abortus*. The amount of liters analyzed by herd did not influence the results obtained by the MTR, showing that the dilution factor did not affect, because with the Chi² test was indicated that was not association between the two variables. The origin of milk was not an influential factor on the results, because there was no statistically significant difference. Post-vaccination antibodies also did not influence the outcome of the test because 100% of sampled herds are not vaccinated against bovine brucellosis.

IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Bercovich, Z. (1998) Maintenance of *BrucellaAbortus*-free herds: A review with emphasis on the epidemiology and the problems in diagnosing brucellosis in areas of low prevalence. *Veterinary Quarterly, Volumen 20 (3), 81-88.*
2. Brooks, G.F., Carroll, K.C., Butel, J.S., Morse, S.A., Mietzner, T.A. (2011). *Microbiología Médica.* México, McGraw Hill Interamericana.
3. Corbel, M. J. (2006). *Brucellosis in humans and animals.* World Health Organization, Ginebra, Suiza.
4. Díaz Aparicio, E. (2013). Epidemiología de la brucelosis causada por *Brucella melitensis*, *Brucella suis* y *Brucella abortus* en animales domésticos. *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz., volumen 32 (1), 43-51.*
5. Figueroa, M. (1984). *Enfermedades infecciosas de los animales domésticos en Centroamérica.* San José, Costa Rica, EUNED.
6. García, C. (1982). *Pruebas suplementarias para el diagnóstico de la brucelosis Centro Panamericano de zoonosis.* Organización Panamericana de la Salud, Organización Mundial de la Salud.
7. INE. (2003). *Encuesta Nacional Agropecuaria. (Cuadro 3).* Guatemala, Jutiapa: INE.
8. INE. (2011). *Encuesta Nacional Agropecuaria. (Cuadro 1).* Guatemala, Jutiapa: INE.

9. López, P. (2014). Estudio descriptivo de la presentación de brucelosis humana en Colombia desde 2000 hasta 2012. *Revista de Medicina Veterinaria*, (28), 67-79.
10. Maldonado, J., Kowalski, A., Milla, M., Rodríguez, M. y Villasmil C. (2010). Implementación de la Prueba del Anillo en Leche y ELISA Indirecto para el Diagnóstico de Brucelosis en Rebaños Doble Propósito del Estado Lara Venezuela. *Revista Científica, FCV-LUZ, Volumen. 20* (3), 240-244.
11. Méndez R. IA, Trujillo C. DM, Duque S. CC, Acero M. EJ, Cabrera LA, Pachón B. DP. (2013). Seroprevalencia de *Brucella spp* en estudiantes de Medicina Veterinaria, Bogotá Colombia. *Rev. De la Universidad Industrial de Santander. Salud. Volumen 45* (2). 39-48.
12. Merchant, I.A., Packer, R.A. (1980). *Bacteriología y Virología Veterinarias*. Zaragoza, España, Editorial ACRIBIA.
13. Mohamand, N., Gunaseelan, L., Sukumar, B., y Porteen, K. (2014). Milk Ring Test for spot identification of *Brucella abortus* infection in single cow herds. *Journal of Advanced Veterinary and Animal Research, Volumen 1*(2), 70-72.
14. Moral, M. (2013). *Enfermedades infecciosas, brucelosis, guía para el equipo de salud*. Buenos Aires, Argentina, Dirección de Epidemiología- Ministerio de Salud de la Nación.
15. OIE (2012). *Brucelosis Bovina*. Manual de la OIE Sobre Animales Terrestres.

16. PAHO (2001). *Zoonoses and communicable diseases common to man and animals*. Washington, D.C., United States, Pan American Health Organization.
17. Rebhun, W.C. (1999). *Enfermedades del ganado vacuno lechero*. Zaragoza, ES., Editorial ACRIBIA.
18. Salman, A.M., Nasri, H.A. (2012). Evaluation of four serological test to detect prevalence of bovine brucellosis in Khartoum State. *Journal of Cell and Animal Biology, Volumen 6(9)*, 140-143.
19. SEGEPLAN. (2011), *Plan de desarrollo, Asunción Mita, Jutiapa, Guatemala*, SEGEPLAN/DPT.
20. Stanchi, N.O. (2007). *Microbiología Veterinaria*. Buenos Aires, Argentina, Editorial Inter-médica.
21. USC (2011). Contribución al estudio epidemiológico de la brucelosis bovina en la Comunidad Autónoma de Galicia: investigación y aplicabilidad de las nuevas técnicas diagnósticas. Santiago de Compostela, España, USC/FM. 228 p.
22. Vergara, D., Torres, M., González, F., Lasso, N. y Ortega, C. (2008). Prevalencia de Brucelosis en leche cruda de bovinos expendida en el municipio de Popoyán Cauca Septiembre-Diciembre 2006. *Facultad de Ciencias Agropecuarias, Volumen 6 (2)*. 78-85.
23. Villagrán Martínez, L.R. (2013). *Estudio documental de la situación sanitaria (Mastitis, brucelosis y tuberculosis bovinas) Productiva y reproductiva del ganado lechero en Guatemala, disponible en seis*

centros de referencia bibliográficos del país. Guatemala, GT., G
USAC/FMVZ. 118 p.

X.ANEXOS

Cuadro No. 4 Registro de resultados a la prueba de anillo en leche (PAL) en el Laboratorio del Departamento de Microbiología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia (FMVZ) de la Universidad de San Carlos de Guatemala (USAC).

PROCESADORA	NÚMERO DE MUESTRA	POSITIVAS (Cruces)	NEGATIVAS
A	1	++++	
	2		-
	3		-
	4		-
	5		-
	6		-
	7	++++	
	8		-
	9		-
	10		-
	11		-
	12		-
	13		-
	14	+++	
	15		-
B	16		-
	17	++++	
	18		-
	19	++++	
	20		-
	21		-
C	22	++++	
	23		-
	24		-
	25		-
	26		-
	27		-
	28		-
	29		-
	30		-
D	31		-
	32		-
	33		-
	34		-
	35		-

	36		-
	37		-
E	38		-
	39	+++	
	40	++++	
	41	++++	
F	42		-
	43		-
	44		-
G	45		-
	46		-
	47		-
	48		-
	49		-
H	50		-
I	51		-
J	52		-
K	53		-
	54		-
	55		-
	56		-
	57		-

Cuadro No. 5 Cantidad de muestras obtenidas por procesadora y resultados obtenidos con la prueba de anillo en leche (PAL).

No.	PROCESADORA	CANTIDAD DE MUESTRAS (Proveedores)	POSITIVAS A PAL	PORCENTAJE DE POSITIVAS
1	A	15	3	20.00
2	B	6	2	33.33
3	C	9	1	11.11
4	D	7	0	0.00
5	E	4	3	75.00
6	F	3	0	0.00
7	G	5	0	0.00
8	H	1	0	0.00
9	I	1	0	0.00
10	J	1	0	0.00
11	K	5	0	0.00
	TOTAL	57	9	15.79

Cuadro No. 6 Cantidad de muestras obtenidas por procesadora según su lugar de procedencia.

No.	PROCESADORA	ALDEA	MUESTRAS
1	A	Los Amates	3
		Sitio de las Flores	2
		San Joaquín	3
		El Jicaral	2
		El Tule	3
		Casco Urbano	1
		Las Moritas	1
2	B	Casco Urbano	2
		Los Amates	2
		Tiucal	2
3	C	Trapiche Vargas	4
		El Jicaral	1
		San Miguelito	1
		San Rafael el Rosario	2
		Casco Urbano	1
4	D	San Miguelito	1
		Los Amates	1
		Las Moritas	2
		Casco Urbano	1
		Los Llanitos	1
		El Tule	1
5	E	Casco Urbano	1
		Trapiche Vargas	1
		Las Moritas	1
		Trapiche Vargas	1
6	F	Hacienda Abajo	1
		San Rafael el Rosario	2
7	G	Los Llanitos	1
		El Jicaral	1
		Hacienda Abajo	1
		San Rafael El Rosario	1
		Los Amates	1
8	H	El Cerrón	1
9	I	Sitio de las Flores	1
10	J	Casco Urbano	1
11	K	Los Llanitos	4
		Hacienda Abajo	1
TOTAL			57

Cuadro No. 7 Litros de leche producidos y cantidad de vacas ordeñadas (tamaño del hato) por proveedor.

PROCESADORA	PROVEEDORES	LTS DE LECHE	VACAS ORDEÑADAS
A	1	100	30
	2	170	27
	3	28	6
	4	14	4
	5	4	2
	6	18	11
	7	336	60
	8	42	21
	9	30	9
	10	65	30
	11	45	11
	12	336	45
	13	12	4
	14	144	46
	15	37	10
B	16	50	9
	17	61	9
	18	47	9
	19	30	6
	20	140	22
	21	55	12
C	22	19	9
	23	74	35
	24	80	17
	25	63	25
	26	60	18
	27	79	14
	28	15	4
	29	74	20
	30	8	3
D	31	81	17
	32	45	7
	33	135	21
	34	90	10

	35	30	9
	36	80	20
	37	30	7
E	38	220	75
	39	76	20
	40	22	5
	41	500	120
F	42	280	45
	43	90	20
	44	83	12
G	45	328	38
	46	54	17
	47	79	23
	48	26	8
	49	519	86
H	50	87	15
I	51	65	10
J	52	230	50
K	53	84	21
	54	18	13
	55	35	10
	56	19	4
	57	142	50

Cuadro No. 8 Resultados obtenidos de la prueba de anillo en leche de acuerdo a la cantidad de litros producidos por hato.

LITROS PRODUCIDOS	POSITIVAS A PAL	NEGATIVAS A PAL	TOTAL
< 50	3	20	23
51-100	3	18	21
101-150	1	3	4
>150	2	7	9
TOTAL	9	48	57

Cuadro No. 9 Cantidad de muestras analizadas por aldea y resultados obtenidos con la prueba de anillo en leche.

No.	ALDEA	CANTIDAD DE MUESTRAS	POSITIVAS A LA PAL	PORCENTAJE
1	San Miguelito	2	0	0.00
2	Sitio de las Flores	3	0	0.00
3	San Joaquín	3	0	0.00
4	Los Amates	7	4	57.14
5	El Jicaral	4	0	0.00
6	El Tule	4	0	0.00
7	Casco Urbano	7	0	0.00
8	Tiucal	2	1	50.00
9	Trapiche Vargas	5	2	40.00
10	San Rafael El Rosario	5	0	0.00
11	Las Moritas	4	1	25.00
12	Los Llanitos	7	1	14.29
13	Hacienda Abajo	3	0	0.00
14	El Cerrón	1	0	0.00
	TOTAL	57	9	15.79

Figura No. 3 Porcentaje de muestras de leche positivas y negativas a la prueba de anillo en leche.

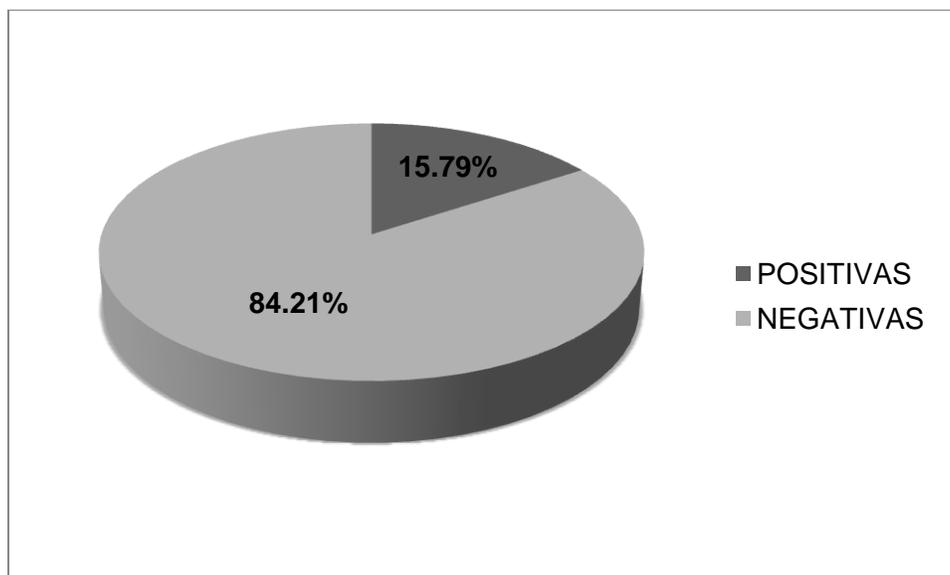


Figura No. 4 Porcentaje de procesadoras positivas y negativas a la prueba de anillo en leche.

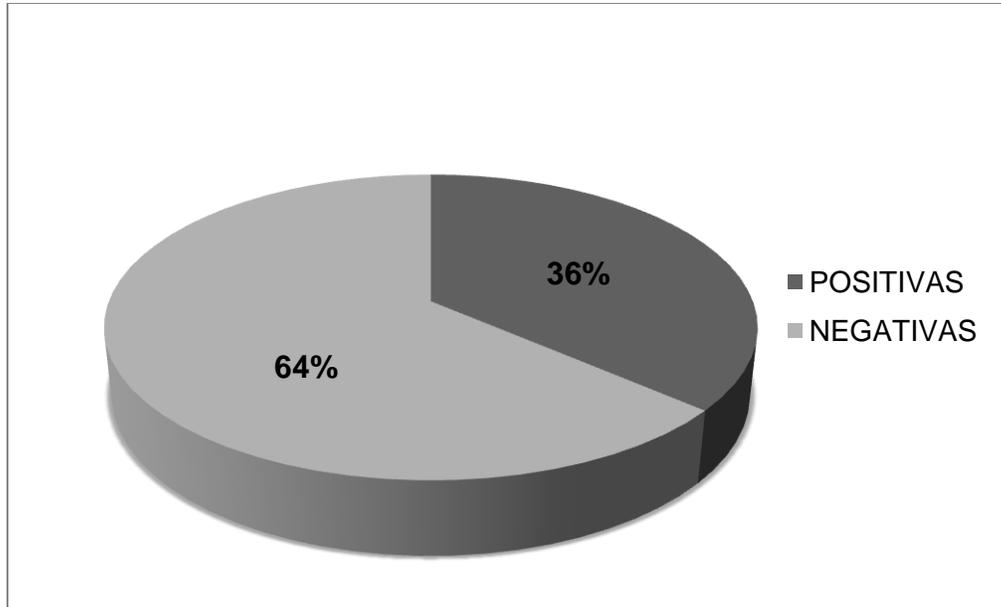


Figura No. 5 Análisis de resultados de las procesadoras positivas a la presencia de anticuerpos contra *B. abortus*.

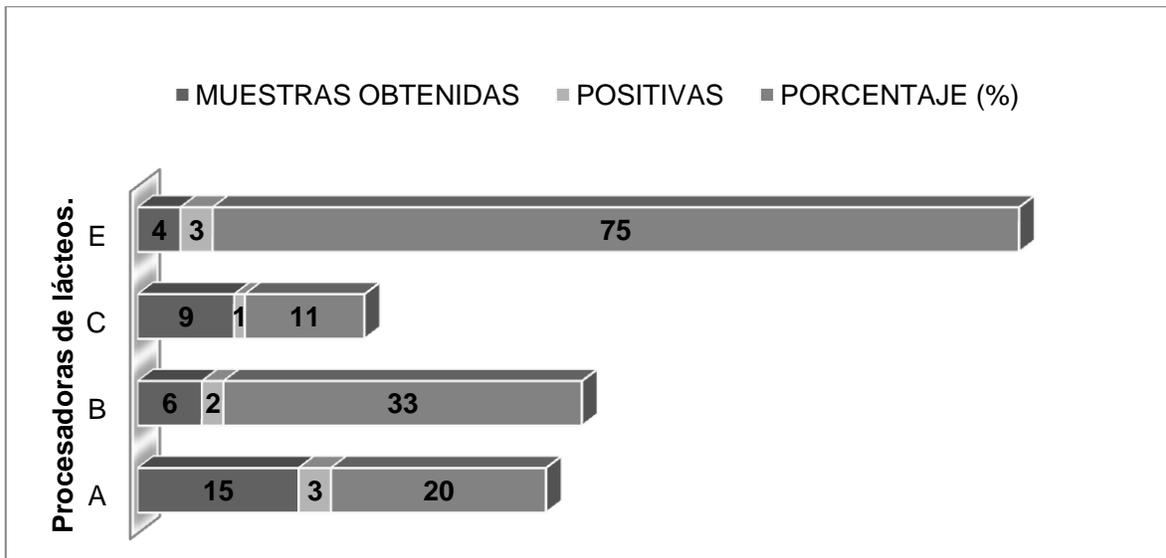


Figura No. 6 Resultados obtenidos con la prueba de anillo en leche de acuerdo a la cantidad de litros producidos por hato.

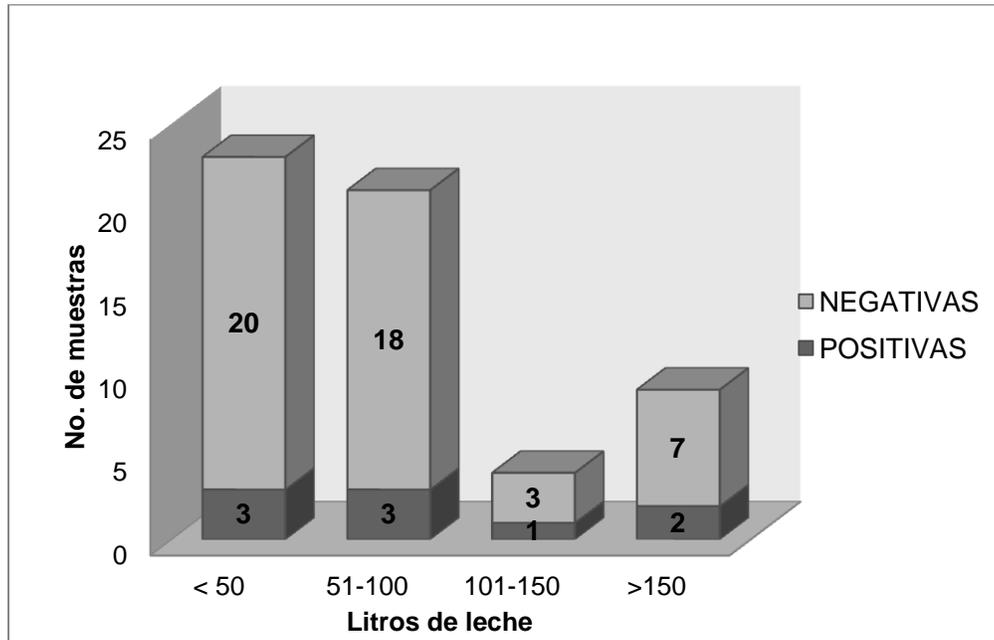


Figura No. 7 Muestras positivas a la prueba de anillo en leche por aldea (lugar de procedencia).



Figura No. 8 Análisis de resultados de las aldeas con muestras positivas a la prueba de anillo en leche.

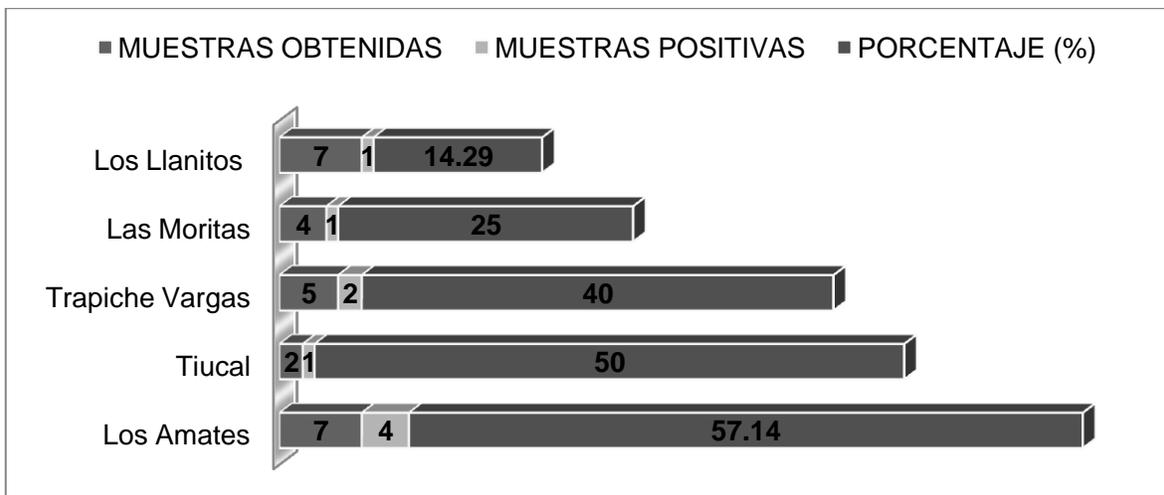


Figura No. 9 Recopilación de datos de los hatos bovinos proveedores de leche.



Figura No. 10 y 11 Toma de muestras de leche por hato bovino.



Figura No. 12 Preservación de muestras de leche con formol al 1%.



Figura No. 13 Identificación de muestras con números correlativos del 1 al 57.



Figura No. 14 Procedimiento de la prueba de anillo en leche en el Laboratorio del Departamento de Microbiología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia (USAC).



Figura No. 15 Procedimiento de la prueba de anillo en leche (Agregando el antígeno de *Brucella abortus* a las muestras de leche).

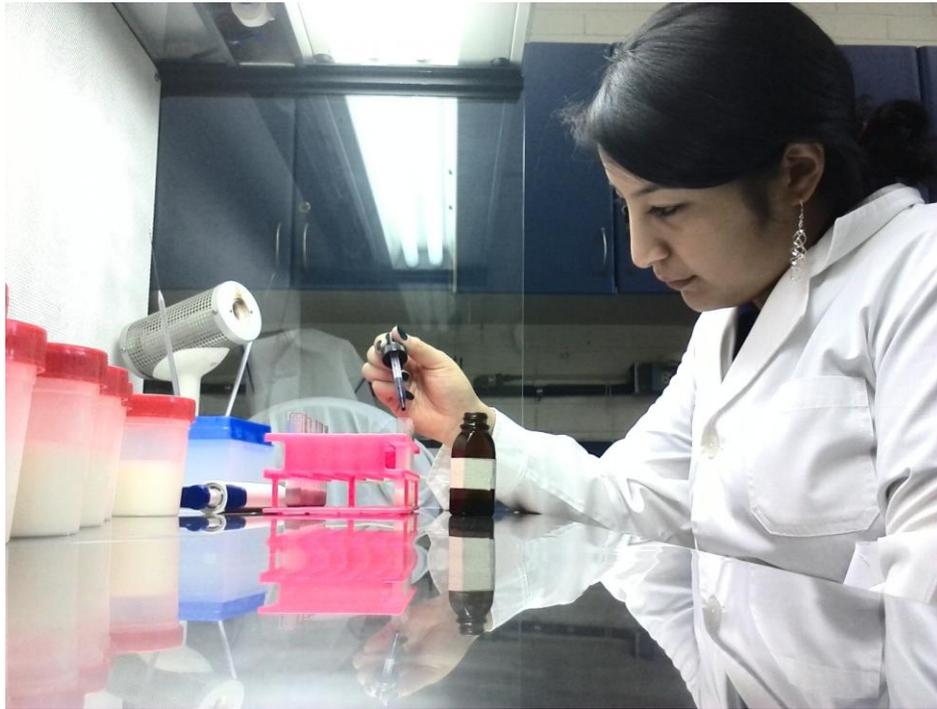


Figura No. 16 Lectura de la prueba de anillo en leche (3 muestras positivas en la fotografía).



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

**DETERMINACIÓN DE LA PRESENCIA DE ANTICUERPOS
CONTRA *Brucella abortus* EN LECHE DE VACA UTILIZADA EN
PROCESADORAS, DEL MUNICIPIO DE ASUNCIÓN MITA,
JUTIAPA.**

f. _____

Liliana María Barrios Ajcuc.

f. _____

Dra. Jacqueline Escobar Muñoz.

ASESOR PRINCIPAL

f. _____

MSc. Fredy Rolando González

Guerrero.

ASESOR

f. _____

M.A. Andrea Muñoz.

EVALUADOR

IMPRÍMASE

f. _____

M.Sc. Carlos Enrique Saavedra Vélez

DECANO