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



DETERMINACIÓN DE ANTICUERPOS CONTRA *Brucella* sp. EN CABRAS LECHERAS DEL PROGRAMA NUTRIFAM EN TRES MUNICIPIOS DEL DEPARTAMENTO DE SOLOLÁ EN EL AÑO 2018

ANDREA LUCÍA QUINTANILLA CASTELLANOS

MÉDICA VETERINARIA

GUATEMALA, FEBRERO DE 2019

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



DETERMINACIÓN DE ANTICUERPOS CONTRA *Brucella* sp. EN CABRAS LECHERAS DEL PROGRAMA NUTRIFAM EN TRES MUNICIPIOS DEL DEPARTAMENTO DE SOLOLÁ EN EL AÑO 2018

TRABAJO DE GRADUACIÓN

PRESENTADO A LA HONORABLE JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD

POR

ANDREA LUCÍA QUINTANILLA CASTELLANOS

Al conferírsele el título profesional de

MÉDICA VETERINARIA En el grado de licenciado

GUATEMALA, FEBRERO DE 2019

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

DECANO: M.A. Gustavo Enrique Taracena Gil SECRETARIO: Dr. Hugo René Pérez Noriega VOCAL I: M. Sc Juan José Prem González

VOCAL II: Lic. Zoo. Edgar Amílcar García Pimentel VOCAL III: Lic. Zoo. Alex Rafael Salazar Melgar VOCAL IV: Br. Yasmin Adalí Sian Gamboa

VOCAL V: Br. Maria Fernanda Amézquita Estévez

ASESORES

M.V. ALEJANDRO JOSÉ HUN MARTÍNEZ

M.V. SERGIO FERNANDO VÉLIZ LEMUS

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 ANTICUERPOS CONTRA *Brucella* sp. EN CABRAS LECHERAS DEL PROGRAMA NUTRIFAM EN TRES MUNICIPIOS DEL DEPARTAMENTO DE SOLOLÁ EN EL AÑO 2018.

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 por permitirme cumplir esta meta.

A: Mis papás por ser mi ejemplo y guía constante.

AGRADECIMIENTOS

A DIOS:	Por ayudarme en cada paso de mi carrera, rodeándome de personas que me ayudan a formarme no solo como profesional sino como persona.
A MIS PADRES:	Quienes han sido mi ejemplo de perseverancia, lucha y entrega constante. Por el esfuerzo que día a día realizaron para brindarme educación de calidad.
A MIS HERMANOS:	Que con su ejemplo me motivaron a culminar esta meta, por sus consejos, paciencia y ayuda.
A MIS ASESORES:	Mis asesores por su tiempo y guía aportados a la realización de este trabajo.
A:	Gabriel por su apoyo y amor incondicional.
A:	Mis amigos que a pesar de los obstáculos estuvieron siempre presente haciendo el camino más fácil y ameno.
A:	La Universidad de San Carlos de Guatemala y la Facultad de Medicina Veterinaria por contribuir a mi formación académica.

Todas

las personas y catedráticos

contribuyeron a mi formación profesional.

que

A:

ÍNDICE

I.	INTRODUCCION	1
II.	OBJETIVOS	2
	2.1 Objetivo General	2
	2.2 Objetivos Específicos	2
III.	REVISIÓN DE BIBLIOGRAFÍA	3
	3.1 Etiología	3
	3.2 Sinónimos	3
	3.3 Distribución Geográfica	3
	3.4 Historia de brucelosis caprina en Guatemala	4
	3.5 Modo de transmisión y patogenia	5
	3.6 Enfermedad en rumiantes	7
	3.7 Enfermedad en humanos	8
	3.8 Factores de riesgo	9
	3.9 Importancia en salud pública	9
	3.10 Importancia económica	10
	3.11 Métodos de control	10
	3.12 Pruebas Diagnósticas	12
	3.13 Diagnósticos Diferenciales	14
IV.	MATERIALES Y MÉTODOS	15
	4.1. Materiales	15
	4.1.1 Recursos Humanos	15
	4.1.2 Recursos de campo	15
	4.1.3 Recursos Biológicos	15
	4.1.4 Recursos de Laboratorio	16
	4.2 Métodos	16
	4.2.1 Área de Estudio	16
	4.2.2 Diseño de Estudio	16
	4.2.3 Cálculo de Muestra y muestreo	16
	4.3 Proceso de laboratorio	17

	4.4 Análisis Estadístico	
V.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	. 18
VI.	CONCLUSIONES	. 21
VII.	RECOMENDACIONES	22
VIII.	RESUMEN	. 23
	SUMMARY	24
IX.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	. 25
X.	ANEXOS	. 27

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1.	
Estrategias para la lucha contra la brucelosis según la situación	
epizootiológica11	
Cuadro 2.	
Número de animales muestreados según edad18	}

ÍNDICE DE FIGURAS

Mapa de distribución de <i>Brucella abortus</i> primer semestre año 2016	4
Figura 2. Mapa de distribución de <i>Brucella abortus</i> primer semestre año 2017	4
Figura 3. Cantidad porcentual de las distintas edades de los caprinos muestreados	18
Figura 4. Diferentes grados de aglutinación presentes en la prueba Rosa de Bengala	19

I. INTRODUCCIÓN

La brucelosis es una enfermedad de distribución mundial con importancia en salud pública debido a su carácter zoonótico. Las bacterias del género *Brucella* son causantes de la enfermedad, las cuales afectan animales tanto acuáticos como terrestres. Esta enfermedad se encuentra en el código sanitario para los animales terrestres de la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE) y se considera de reporte obligatorio.

Existen diversas especies de este género bacteriano las cuales afectan diversidad de animales en específico. Sin embargo, las infecciones mixtas pueden ocurrir, por ejemplo, en el caso de *Brucella abortus* cuyo hospedero principal es el ganado bovino también puede causar enfermedad en caprino y otros rumiantes. En Guatemala la crianza mixta de animales es común, principalmente en explotaciones no tecnificadas como las del área rural, en donde la cría de animales se realiza en el traspatio de las casas y el pastoreo se da en pasturas compartidas por varias especies animales de distintos propietarios y por ende distintos estatus sanitarios. Debido a esto, la transmisión de enfermedades, incluyendo la brucelosis, puede darse con mayor facilidad.

En el proyecto de nutrición familiar, Nutrifam desarrollado por Good Neighbors Guatemala, la mayoría de los beneficiarios son niños y mujeres quienes consumen la leche y sus subproductos sin pasteurización previa. Esta práctica se considera de alto riesgo ya que la glándula mamaria es uno de los órganos afectados frecuentemente por la brucelosis debido a esto el consumo de dicha leche se considera un riesgo para la población del programa. Por lo tanto, el presente trabajo pretende generar información sobre la situación actual del hato caprino lechero.

II. OBJETIVOS

2.1 Objetivo General

 Generar información sobre el estado sanitario para Brucella sp. en el hato de cabras, perteneciente al programa de seguridad alimentaria Nutrifam, desarrollado por Good Neighbors en tres municipios del departamento de Sololá.

2.2 Objetivos Específicos

- Detectar la presencia de anticuerpos contra *Brucella* sp. utilizando serología en el hato caprino sujeto a estudio.
- Establecer la presencia de *Brucella* sp. de acuerdo a edad y procedencia del hato caprino sometido al estudio.

III. REVISIÓN DE BIBLIOGRAFÍA

3.1 Etiologías

El género *Brucella* es un patógeno intracelular facultativo, compuesto por bacterias patógenas únicamente para mamíferos, causando enfermedades crónicas. Algunas de las características importantes de la bacteria son; su alto nivel de supervivencia dentro de las células y su capacidad de multiplicación y propagación a nuevas células. Las especies más importantes son: *Brucella melitensis* (pequeños rumiantes), *B. abortus* (bovinos), *B. suis* (porcinos), *B. canis* (perros), *B. ovis* (ovinos), *B. neotomae* (roedores) (Halling et al., 2005; Aparicio, 2013; Wareth, 2015).

Es una zoonosis en donde la mayoría de casos en humanos ocurren principalmente por exposición ocupacional y consumo de alimentos infectados (The Center for Food Security and Human Health (CFSPH), 2009).

Las bacterias del género *Brucella* son cocobacilos gramnegativos que en algunas coloraciones (Stamp) pueden apreciarse como acidorresistentes, acapsuladas, inmóviles, no esporulados y aerobios estrictos (Stanchi, 2010).

3.2 Sinónimos

A la brucelosis también puede llamársele fiebre ondulante, fiebre de malta, fiebre mediterránea, aborto enzoótico, aborto contagioso, aborto epizoótico y enfermedad de Bang (The Center for Food Security and Human Health (CFSPH), 2009).

3.3 Distribución Geográfica

La brucelosis se encuentra en todo el mundo, sin embargo, en algunos países desarrollados está controlada. La manifestación clínica de esta enfermedad se da en lugares como el Medio Oriente, Asia0, África, América Central, América del Sur, el Caribe y la Cuenca Mediterránea (The Center for Food Security and Human Health (CFSPH), 2009).

En países como Japón, Canadá, Australia, Nueva Zelanda e Israel, la brucelosis causada por *B. abortus* se considera erradicada (The Center for Food Security and Human Health (CFSPH), 2009).

La brucelosis es endémica en el Mediterráneo, Medio Oriente, Golfo Arábico, América Latina, partes de África y Asia y algunos países de Europa.

Según el mapa de distribución de enfermedades, realizado por la Organización Internacional de Epizootias (2017), para el año 2016 puede identificarse a Guatemala como país con presencia de la enfermedad (ver figura 1 y 2).

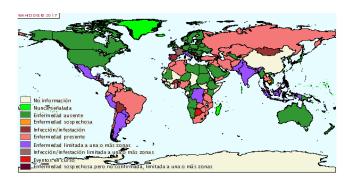


Figura 1. Mapa de distribución de *Brucella abortus* primer semestre, año 2016 Fuente: Organización Mundial de Sanidad animal, 2017.

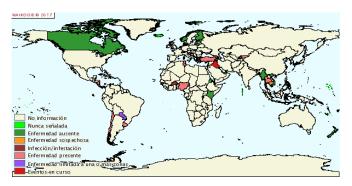


Figura 2. Mapa de distribución de *Brucella abortus* primer semestre, año 2017 Fuente: Organización Mundial de Sanidad animal, 2017.

3.4 Historia de brucelosis caprina en Guatemala

En 1978 Girón realizó un estudio en el departamento de Guatemala, en el cual encontró a toda la población caprina muestreada (450 animales) como negativa,

siendo los resultados de Monge (1981) parecidos a los de Girón (1978) ya que no encontró seropositividad en la población caprina en dicho estudio (Monterroso, 2006).

En los distintos estudios realizados por Orozco (1993), Aguilar (1995) y Portillo (1995) se encontró seropositividad en los hatos caprinos sujetos a estudio siendo de 2.29%, 1.09%, 0.78% respectivamente (Monterroso, 2006).

Monterroso (2006) no encontró seropositividad de *B.melitensis* en ninguno de los 75 animales muestreados en el departamento de Guatemala, dicho resultado coincide con lo encontrado por García (2008) quien encuentra un 0% de seroprevalencia en Chimaltenango.

En el caso de las investigaciones realizadas por Pérez (2011) para la detección de anticuerpos de *B. abortus* la seroprevalencia es de 0% en el Municipio de Uspantán, Quiché; dicho resultado concuerda con lo obtenido por Carpio (2011) quien determina seronegatividad en el 100% de las cabras del proyecto PROMASA II en Quiché.

Ríos (2009) realizó la búsqueda de anticuerpos contra *Brucella* sp. obteniendo 51 animales seronegativos en el área de Conguaco del departamento de Jutiapa.

Según el Ministerio de Agricultura Ganaderia y Alimentación (MAGA) (2010), a través del programa de brucelosis y tuberculosis bovina obtuvo una prevalencia de brucelosis de 1.95, sin embargo, no existen datos generados por el MAGA en cuanto a la prevalencia de dicha enfermedad en cabras. 369 fincas han sido certificadas como libres de Brucelosis.

3.5 Modo de transmisión y patogenia

Los animales infectados de *Brucella* pueden eliminar dicha bacteria por varias vías, siendo el parto infeccioso o aborto, las eliminaciones más importantes en cuanto a la cantidad de bacteria expulsada (10¹⁴ UFC por gramo de tejido cotiledonario bovino). Durante el proceso del parto, tanto las membranas fetales, el

feto, la orina de la madre, los loquios y la leche, están infestadas por bacterias. En este caso, la leche constituye la vía principal de infección para el humano (Stanchi, 2010).

La vía oral es la más común en animales, debido a la ingesta de alimento, agua o material fetal contaminado o lamido de secreciones vaginales, genitales, fetos abortados o recién nacidos infectados. En el caso de los humanos, la brucelosis puede transmitirse por el consumo de productos lácteos no pasteurizados, siendo los quesos frescos los de mayor riesgo. Las heridas en piel y mucosas, confieren otra vía de ingreso de la bacteria al organismo. Además, los animales pueden adquirir la infección en el útero o al nacer, así como por la ingestión de calostro o leche infectada. La monta natural no es de importancia epidemiológica, sin embargo, la inseminación artificial si lo es (Stanchi, 2010; Aparicio, 2013).

La transmisión de la brucelosis al ambiente puede darse también por medio de vehículos tales como; zapatos o instrumentos veterinarios, ya que esta bacteria es resistente al medio ambiente (Stanchi, 2010).

La patogenia se describe haciendo referencia al ingreso oral de la bacteria por ser la vía más común. Al momento que la bacteria se encuentra en la mucosa, ésta es fagocitada por células de la submucosa en las que forma una vacuola que madura poco a poco, pasando de endosoma temprano a endosoma tardío, que luego se multiplica (si no es destruida) en el retículo endoplasmático de los macrófagos. A este proceso no sobrevive el mismo número de microorganismos que ingreso, por lo que dependiendo de factores como la cantidad de patógenos y fuerza del sistema inmune, se da una respuesta inmunitaria (Aparicio E. D., 2013).

Luego del ingreso de *Brucella* al organismo, ésta se dirige a los nódulos linfáticos regionales, siendo los más frecuentes los retrofaríngeos, parotídeos y submaxilares, a partir de estos se da la diseminación a los otros órganos linfoides como el bazo y nódulos linfáticos ilíacos y retromamarios (Stanchi, 2010).

Si el animal se encuentra en gestación, la bacteria se dirige al útero, en donde se multiplica de forma masiva principalmente en cotiledones y corión placentario y líquidos fetales, ocasionando endometrosis ulcerosa en los espacios intercotiledonarios así como destrucción de vellosidades, causando muerte fetal y aborto. De no encontrarse en gestación, la infección permanece latente en los nódulos linfáticos retromamarios (Stanchi, 2010; Aparicio, 2013).

3.6 Enfermedad en rumiantes

La multiplicación bacteriana uterina, ocasiona lesiones como endometritis, ulceración de los espacios intercotiledonarios y compromiso del alantocorion, por ende, los signos clínicos que se manifiesta en la brucelosis son reproductivos. En rumiantes, el signo clínico más común de la enfermedad es el aborto en el último tercio de la gestación, dándose en las primerizas. Sin embargo, puede no darse en las siguientes gestaciones, aunque la expulsión de *Brucella*, sigue dándose en todos los partos, siendo la metritis y retención de placenta, las secuelas frecuentes. Los fetos pueden desarrollar hiperplasia linfoide, depleción tímica y neumonía hematógena (Stanchi, 2010).

En el caso de los machos también se produce daño al sistema reproductor, manifestándose con orquitis uni o bilateral, epididimitis, prostatitis y seminovasculitis. En ocasiones, existen lesiones en el aparato locomotor, principalmente en los miembros posteriores observándose sinovitis y artritis (Stanchi, 2010).

Se debe tomar en cuenta que, la respuesta inmune y por ende la enfermedad del huésped ante la infección por *Brucella* varía por factores:

- Hospedero: edad, sexo, gestación e idiosincrasia, exposición previa o vacunación.
- Agente etiológico: virulencia de la cepa y dosis infectante (Stanchi, 2010).

3.7 Enfermedad en humanos

El período de incubación estimado es de 5 días hasta 3 meses, sin embargo, la mayoría se manifiesta 2 semanas post-infección. Los signos de la enfermedad son muy variables y pueden tener una aparición repentina. Entre los síntomas de la brucelosis en humanos se encuentra; fiebre, dolor de cabeza, malestar general, mialgia y dolor de espalda. Estos síntomas pueden ser confundidos con los de un resfriado común. Otros signos que pueden estar presentes son: sudoración por la noche, tos y dolor de pecho, también pueden existir signos gastrointestinales siendo más frecuentes en adultos (The Center for Food Security and Human Health (CFSPH), 2009).

La recuperación es espontánea luego de 2-4 semanas, sin embargo, puede prolongarse de 3-12 meses en personas que padezcan fiebre ondulante u otros síntomas persistentes y a diferencia de los animales, la enfermedad crónica no es común en humanos. La presencia de artritis, espondilitis, epidídimo-orquitis, fatiga y endocarditis son complicaciones de la enfermedad y se originan cuando la enfermedad es crónica o en la forma ondulante (The Center for Food Security and Human Health (CFSPH), 2009).

Signos neurológicos como meningitis, encefalitis, neuropatía periférica y cambio de comportamiento pueden aparecer en algunos casos. Por ser una enfermedad multisistémica puede causar nefritis, dermatitis, vasculitis, hepatomegalia, esplenomegalia, linfoadenopatía, trombosis, hepatitis granulomatosa, colecistitis, osteomielitis, anemia, leucopenia y trombocitopenia (The Center for Food Security and Human Health (CFSPH), 2009).

Generalmente la brucelosis no es transmisible entre personas, sin embargo se registran casos en los que se ha dado por trasplante de médula ósea, transfusión sanguínea, contacto sexual o de forma muy inusual de forma congénita, la cual se manifiesta con partos prematuros o recién nacidos con bajo peso al nacimiento,

fiebre, falla en el crecimiento, hepatomegalia, ictericia y esplenomegalia (The Center for Food Security and Human Health (CFSPH), 2009).

Por considerarse una bacteria de especie específica, la enfermedad en humanos se considera accidental y por tanto se convierte en un indicativo de la situación de sanidad en los animales (Stanchi, 2010).

3.8 Factores de riesgo

A continuación, se enumeran algunos factores de riesgo para la presentación de brucelosis, (Chandrika et al. 2017).

- Introducción de animales sin certificado de salud.
- Abortos dentro de los corrales (aumentan la diseminación).
- Crianzas mixtas de animales,
- Nivel económico (pobreza)
- Nivel educativo y asesoría técnica.
- Sistema extensivo
- Inseminación artificial

3.9 Importancia en salud pública

Zoonosis se define como infecciones que naturalmente pueden dispersarse de animales a humanos. La mayoría de las zoonosis en cabras, se transmiten debido al contacto cercano entre el hombre y la cabra, así también pueden ser ocupacionales, siendo los veterinarios, empleados de rastros, cazadores y productores, las ocupaciones más vulnerables (Rodolakis, 2014) (The Center for Food Security and Human Health (CFSPH), 2009).

Se dice que al menos un 61% de todos los patógenos humanos son zoonóticos y un 75% de los patógenos emergentes que han afectado al hombre en los últimos 10 años, se originan de los animales o de sus productos (Rodolakis, 2014).

La brucelosis es una enfermedad que se transmite principalmente por los alimentos, como la ingestión de productos no pasteurizados o por consumo de carne infectada, sin embargo, esta última es menos común, ya que previo a su ingesta, la carne es cocinada (Rodolakis, 2014).

Esta patología puede ser tratada con antibióticos, sin embargo, debido al carácter intracelular de la bacteria, la duración del tratamiento es prolongada. Si la persona no es tratada, el índice de mortalidad oscila entre el 2-5% (Halling et al., 2005; cfsph, 2009). Algunos de los antibióticos utilizados son cloruro de tetraciclina o doxiciclina, combinado con estreptomicina. También se puede emplear la trimetoprima en combinación con sulfametoxazol, en un período de tiempo de 3 semanas y en casos crónicos, con presencia de complicaciones, se prolonga por un mínimo de 6 semanas (Stanchi, 2010).

3.10 Importancia económica

La brucelosis no es solo importante en cuanto a la enfermedad que produce en el humano, sino también debido al impacto en la producción de alimento de origen animal, comercio internacional de animales y sus productos, siendo esta la importancia económica de la enfermedad (Rodolakis, 2014).

El impacto primario de esta enfermedad, se da principalmente en la falla reproductiva que induce en los animales destinados a la producción de alimento. Así también, la enfermedad en el hombre provoca un impacto económico, ya que se pierde la productividad del mismo (Halling et al., 2005).

Se estima que un 20% de pérdidas de producción de leche, se dan cuando el animal está infectado de *Brucella* (Chandrika et al., 2017).

3.11 Métodos de control

Los esfuerzos para el control de la brucelosis se basan en dos pilares: detección de animales infectados y vacunación, siendo la situación epidemiológica, sanitaria y

económica de cada país y región la que define los métodos de control (Stanchi, 2010).

Stanchi (2010) define tres estrategias sobre la lucha contra brucelosis en función a la situación epizootiológica en la cual se contempla la vacunación y el sacrificio como métodos de control (Cuadro 1).

Cuadro 1. Estrategias para la lucha contra la brucelosis según la situación epizootiológica.

TIPO	OBJETIVO	SACRIFICIO	VACUNACIÓN	DURACIÓN
Sanitaria	Erradicación y vigilancia	Obligatorio	Excluida	Permanente
Médica	Reducir prevalencia	Facultativo	Si	Permanente
Mixta	Control hacia la erradicación	Si	Si (edad limitada)	Según prevalencia y costo/beneficio

Fuente: Stanchi, 2010.

La prevención y control, deben ir enfocados en reducir las pérdidas económicas provocadas por abortos y la prevención de infecciones humanas (Rodolakis, 2014).

En humanos no existe actualmente ninguna vacuna segura para brucelosis, por lo que su prevención debe basarse en el control de dicha patología en los animales, así como en la educación de la población que está directamente relacionada con el manejo de los animales susceptibles a la enfermedad (Rodolakis, 2014).

Por tanto, una medida de seguridad esencial para prevenir la enfermedad en humanos es la pasteurización de productos lácteos y cocción adecuada de la carne previo a su consumo. En cuanto al riesgo ocupacional, es importante priorizar la higiene, vestimenta y equipo de protección (Rodolakis, 2014).

3.12 Pruebas Diagnósticas

 Métodos Bacteriológicos: estos métodos son los únicos que pueden confirmar la enfermedad.

Cultivo: se puede utilizar el agar sangre enriquecido un 2-5% con suero equino o bovino, agar tripticasa-soya y el triptona soya. El crecimiento puede observarse después de tres días, sin embargo, algunas pueden mostrar crecimiento posterior a los diez días; Las colonias son blanco (perlado o marfil) y convexas que van de 1-2 mm de diámetro, redondas con bordes enteros (Stanchi, 2010).

Inoculación de animales de laboratorio: este método aumenta las probabilidades de aislar la bacteria. Se utilizan cobayos inoculando 1-2 ml de muestra vía subcutánea y sacrificando a las 3 semanas post- la mitad de la muestra y 6 semanas después al resto de animales. Durante la necropsia, la búsqueda de lesiones se focaliza en órganos linfoides y reproductivos. Si se utilizan ratones, la inoculación es intravenosa (0.1-0.2 ml de muestra) y el sacrificio se realiza una semana después procediendo a extracción y cultivo del bazo (Stanchi, 2010).

Métodos indirectos: estos métodos, a pesar de no confirmar el diagnóstico, son los más utilizados debido a su fácil acceso. En estas pruebas lo más importante es su interpretación, la cual debe relacionarse a la epidemiología del área, así también juega un papel importante la especificidad (detección de animales infectados) y sensibilidad (diferenciación entre animales infectados y vacunados) de la prueba utilizada, ya que debido a la semejanza antigénica entre las vacunas y la cepa de campo, las respuestas séricas producidas por los animales son muy semejantes. Estas pruebas utilizan principalmente suero o leche para la detección de anticuerpos contra brucelosis (Stanchi, 2010).

Seroaglutinación de Wright: es la prueba más antigua para el diagnóstico de brucelosis, tanto animal como humana. Consiste en la seroaglutinación lenta en

tubo, detectando anticuerpos IgM e IgG2 y se considera semicuantitativa y con baja especificidad y sensibilidad (Stanchi, 2010).

Prueba de la tarjeta (Card Test): el fundamento de esta prueba consiste en la aglutinación inespecífica de anticuerpos con el antígeno (antígeno preparado con cepa 1119-3 de *Brucella abortus*) (Aparicio, Martínez, & Güemes, 1999). Prueba de Fijación de complemento: es la prueba de referencia de brucelosis a nivel internacional debido a que es la menos afectada por anticuerpos post vacunales y a su capacidad para detectar mínimas cantidades de anticuerpos, por tanto se dice que es la de mayor especificidad y sensibilidad (Stanchi, 2010). Esta prueba detecta los anticuerpos fijadores del complemento contra varias cepas lisas del género *Brucella* (Mejía y Lemus, 2012).

PCR (Reacción en cadena de la polimerasa): identificación del genoma bacteriano por medio a la síntesis repetitiva del ADN por parte de la polimerasa, a partir de los oligonucleótidos iniciadores también llamados primers que son capaces de reconocer una secuencia complementaria en cada ácido nucleico que es desnaturalizado. Se estima un 95% de eficacia diagnóstica (Lavaroni, 2012).

Prueba de anillo en leche: los resultados de esta prueba son confiables cuando se utiliza con leche bovina. A la leche es agregado hematoxilina, en presencia de anticuerpos, una porción del colorante se unirá a los glóbulos de grasa de la leche, observándose una banda purpura. Esta prueba es de baja sensibilidad, ya que puede existir falsos positivos en casos de mastitis, calostro o en animales al final del ciclo de lactación (Stanchi, 2010).

ELISA indirecta (Enzime Linked Inmunoabsorbent assay): dicha prueba permite la identificación cualitativa y cuantitativa de la concentración de anticuerpos contra brucelosis, por medio de la formación de un complejo antígeno-anticuerpo, el cual se evidencia al adicionar el sustrato. Así como la prueba de

fijación de complemento, ésta también es utilizada como referencia internacional para la confirmación de la enfermedad (Stanchi, 2010; Mejía y Lemus, 2012).

Prueba del rivanol: esta prueba se puede utilizar como confirmación del diagnóstico. Consiste en adicionar rivanol al suero, lo que ocasiona la precipitación de glicoproteínas de alto peso molecular la cual es retirada por centrifugación, para poder realizar un test de aglutinación rápido utilizando diluciones de suero (Nielsen, 2002).

Pruebas alérgicas: consiste en la inyección intradérmica de brucelina que produce inflamación local retardada (Stanchi, 2010).

3.13 Diagnósticos Diferenciales

Los problemas reproductivos son los principales signos observados en la brucelosis, sin embargo, existen diversas causas tanto infecciosas como no infecciosas que pueden causar estos problemas. En cabras el aborto se encuentra estrechamente relacionado con deficiencia nutricionales debido a la baja de los niveles de glucosa. Así también la deficiencia de minerales como el cobre, fósforo, selenio y micronutrientes como yodo, manganeso y magnesio (Mellado & Pastor, 2006).

La ingestión de plantas tóxicas como escobilla (*Xanthocephalum* spp.), así también la administración de fármacos como antihelmínticos como el febendazole en el cuarto y quinto mes de gestación (Mellado & Pastor, 2006).

Así también la brucelosis debe ser diferenciada de otros agentes infecciosas como bacterias (*Chlamydia psittaci*, *Escherichia coli*, *Lespotospira pomona*), virus (herpesvirus), protozoos (*Toxoplasma gondii*), hongos (*Candida albicans*) o no infecciosos como las deficiencias minerales (selenio y cobre) de los cuales debe ser diferenciada dicha enfermedad (Moeller, 2001).

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1. Materiales

4.1.1 Recursos Humanos

- Estudiante de medicina veterinaria
- Asesores de trabajo de investigación
- Encargado del proyecto Nutrifam
- Madres beneficiarias del proyecto Nutrifam.
- Personal de laboratorio Microbiologico de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia (FMVZ), Universidad de San Carlos de Guatemala.

4.1.2 Recursos de campo

- Hielera
- Hielo seco
- Gradilla plástica para tubos.
- Tubos sin anticoagulante
- Vacutainer
- Marcador permanente
- Lapicero
- Hojas de registro
- Algodón
- Alcohol
- Bolsas plásticas
- Recipiente de descarte de objetos punzocortantes
- Guantes de látex

4.1.3 Recursos biológicos

Suero sanguíneo de cabras lecheras en edad reproductiva.

4.1.4 Recursos de laboratorio

- Gradilla
- Centrífuga
- Placas de vidrio
- Agitadores
- Micropipetas
- Bata blanca
- Guantes de látex
- Palillos de madera
- Cepa Brucella abortus 1119-3

4.2 Métodos

4.2.1 Área de Estudio

Dicho estudio se llevó a cabo en tres municipios del departamento de Sololá: Santa María Visitación, Santa Lucía Utatlán y Santa Clara La Laguna.

4.2.2 Diseño de Estudio

Estudio descriptivo de corte transversal.

4.2.3 Cálculo de muestra y muestreo

Para el presente trabajo se utilizó la totalidad de la población de cabras pertenecientes a la ONG Good Neighbors de Guatemala en el área de estudio. De cada animal se tomó una muestra de sangre, así como se obtendrá la edad y lugar de procedencia del registro general de animales de la organización, toda la información anterior se anotará en una ficha de registro (Anexo 1).

El sangrado se realizó en la vena yugular con una aguja Vacutainer®, la sangre se recolectó directamente en el tubo sin anticoagulante,

identificándolas colocando la identificación del animal, edad, fecha y hora de toma de muestra luego fueron colocadas en la hielera para su transporte al laboratorio de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia (FMVZ) de la Universidad de San Carlos de Guatemala (USAC).

4.3 Proceso de laboratorio

- Centrifugar la sangre a 1,500 r.p.m. por 5 minutos.
- Tomar con una micropipeta 0.03 ml de suero sanguíneo y 0.03 ml de antígeno y colocarlos en placa de aglutinación.
- Mezclar ambos biológicos con un palillo de madera.
- Esperar 4 minutos y observar los resultados (aglutinación).

4.4 Análisis Estadístico

Se utilizó estadística descriptiva para el análisis de datos, dado a que la variable es cualitativa se realizó cálculo de proporciones y para mejor entendimiento de los datos se utilizaron tablas de distribución de frecuencia y gráficas de los resultados obtenidos.

V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La totalidad de animales muestreados pertenecen al programa de nutrición familiar (NUTRIFAM) desarrollado por la organización no gubernamental (ONG) Good Neighbors de Guatemala, dicho proyecto se encuentra en distintos departamentos a nivel nacional. El hato sujeto a estudio se encuentra distribuido en el departamento de Sololá; Se obtuvo un total de 42 muestras de hembras caprinas en edad reproductiva. De los 42 animales, 30 Se encuentran en el Municipio de Santa Lucía Utatlán, 6 en el Municipio de Santa Clara la Laguna y 6 en el Municipio de Santa María Visitación.

Los animales muestreados fueron únicamente hembras en etapa reproductiva, encontrándose en edades desde el año y medio hasta tres años según lo mostrado en el cuadro 2 y figura 3.

Cuadro 2. Número de animales muestreados según edad.

Años	No. Animales	Porcentaje
1.5	9	21.43%
2	22	52.38%
3	11	26.19%

Fuente: Elaboración propia., 2018.

EDAD DE ANIMALES
MUESTREADOS
3 años 1.5 años
26% 22%

Figura 3. Cantidad porcentual de las distintas edades de los caprinos muestreados en el mes de mayo del 2018 en tres municipios del

departamento del Sololá (Santa Lucía Utatlán, Santa María Visitación y Santa Clara La Laguna).

Fuente: elaboración propia, 2018.

La prueba de la tarjeta o rosa de bengala, brinda un resultado dicotómico, positivo o negativo. En el presente estudio la totalidad de muestras obtenidas fueron negativas. Siendo la prevalencia en el hato caprino del programa NUTRIFAM de 0, dicho resultado varía según lo obtenido en el estudio realizado por Zelaya et al. 2017 quienes obtuvieron un total de 9 reactores positivos en el departamento de Sololá, por lo que la prevalencia fue de 0.02.

La confiabilidad de la prueba pudo verse afectada por algunos factores, como es el conocimiento de los distintos tipos de aglutinación que pueden presentarse en dicha prueba (Figura 4) (Díaz et al., 2011).



Figura 4. Diferentes grados de aglutinación presentes en la prueba Rosa de Bengala. En el recuadro de la izquierda se observa una muestra negativa, en el cuadro de l0a izquierda se pueden observar muestras positivas en distintos grados de aglutinación.

Fuente: (Díaz et al., 2011).

Así también la concentración del antígeno puede afectar los resultados obtenidos en la prueba ya que utilizando una concentración de la cepa *B. abortus* 1119-3 al 8% la sensibilidad de la prueba es de 83.93% y especificidad de 98.84% mientras que la cepa al 3% presenta una sensibilidad del 95.4% y especificidad del 98.63% (Cisterna et al. 2015).

Lo anterior cobra importancia ya que entre las concentraciones mencionadas existe una diferencia de 11.47% de sensibilidad, por tanto, existe la posibilidad de que no se detectaran todos los animales enfermos con la prueba utilizando la concentración del 8%. Sin embargo, para el análisis de estos resultados es importante tener en cuenta que la prevalencia de la enfermedad en el área en donde fue desarrollado el estudio es baja, así como la ausencia de vacunación en el área aumentan la confianza en los resultados obtenidos (Cuevas, 2010; Díaz et al., 2011; Cisterna et al., 2015; Wareth et al., 2015).

Otro factor a tomar en cuenta es el momento del muestreo, debido a que si se obtienen muestras de animales que abortaron recientemente los resultados pueden ser negativos, según Wareth et al. (2011) los títulos de anticuerpos se elevan principalmente durante la primera y segunda semana post infección, sin embargo, el ADN bacteriano de *Brucella* permanece circulante por lo que se pueden utilizar pruebas moleculares para detección y diagnóstico definitivo de la enfermedad en dichos animales.

El aborto es el signo principal de la brucelosis, el cual se ha observado en algunos de los animales muestreados durante el estudio, sin embargo, existen otras causas infecciosas y no infecciosas que pueden ocasionar aborto.

VI. CONCLUSIONES

- La seronegatividad obtenida en el presente estudio muestra la ausencia de anticuerpos circulantes en el hato caprino para Brucella sp.
- Los resultados obtenidos coinciden con la baja prevalencia obtenida en estudios anteriores en el área de estudio.
- No fue posible establecer la presencia de la enfermedad de acuerdo a la edad y procedencia de la muestra.
- Los resultados obtenidos indican un buen estado de salud sanitario del hato caprino perteneciente a NUTRIFAM respecto a brucelosis, dando mayor seguridad en salud pública a las familias beneficiadas por el proyecto.

VII. RECOMENDACIONES

- Utilizar la prueba rosa de bengala en el hato caprino perteneciente a Nutrifam como una prueba de tamiz rutinaria cada 3 – 6 meses según el ingreso de nuevos animales en el hato.
- Usar pruebas complementarias en caso de detectar reactores positivos en la prueba rosa de bengala.
- Utilizar en caprinos la prueba de la tarjeta con una concentración del 3% para obtener resultados con mayor sensibilidad.
- Realizar pruebas que permitan el diagnostico de otras enfermedades zoonóticas.
- Tomar medidas de higiene previo a consumir la leche y sus subproductos, para evitar transmisión de enfermedades por esta vía.
- Ingresar nuevos animales al proyecto Nutrifam, únicamente con certificado de salud comprobable.

VIII. RESUMEN

El proyecto de nutrición familiar (Nutrifam), desarrollado en el departamento de Sololá distribuido en tres municipios (Santa María Visitación, Santa Clara La Laguna y Santa Lucía Utatlán), tiene como objetivo combatir la desnutrición de niños menores de 5 años por medio del consumo de leche caprina. Sin embargo, el consumo de este producto se realiza sin pasteurización previa considerándose esta acción como un factor de riesgo importante para la transmisión de la enfermedad ya que la glándula mamaria es uno de los órganos normalmente afectados por la brucelosis. La investigación realizada es de tipo descriptiva de corte transversal por lo que se realizó un solo muestreo obteniendo una muestra de sangre entera de 42 cabras hembras del programa Nutrifam así como edad y lugar de origen. Utilizando "card test" se determinó la ausencia de anticuerpos contra Brucella sp. en la totalidad de la muestra. No obstante, existen algunos factores como la interpretación de aglutinación y concentración del antígeno de la prueba que pueden afectar la confiabilidad de los resultados. Sin embargo, la baja prevalencia encontrada por otro estudio realizado en el área coincide con la información generada en la presente investigación. Debido a los resultados no fue posible establecer una relación de la enfermedad con la edad y procedencia del hato pero fue de utilidad para generar información sanitaria del mismo.

SUMMARY

The family nutrition program (Nutrifam) developed in Sololá city is distributed in three towns (Santa María Visitación, Santa Clara La Laguna y Santa Lucía Utatlán), the objective is combat malnutrition of children under 5 years through goat milk consumption. However, the milk for intake is unpasteurized considering this action as an important risk factor for the transmition of the disease because the mammary gland is commonly affected by brucellosis. This investigation is a transversal descriptive study so only one sampling was required obtaining a whole blood sample of 42 female goats from Nutrifam, as well age and place of origin were collected. Using card test it was determined the absence of antibodies against *Brucella* sp. in the entire sample. Although there are some factors such as the interpretation of agglutination and the concentration of the test's antigen that can affect the reliability of the results. Nevertheless, the low prevalence founded in other investigation in the area is similar with the information of the present study. Due to the results it was not possible to stablish the relationship of the disease with age and origin of the herd, still it was useful to generate sanitary information about it.

IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aparicio, E. D. (2013). Epidemiología de la brucelosis causada por Brucella melitensis, Brucella suis y Brucella abortus en animales domésticos. *Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Microbiología Animal*, 32(1), 45-51.
- Aparicio, E. D., Martínez, J. M., y Güemes, F. S. (1999). Prueba de tarjeta modificada para el diagnóstico de la brucelosis caprina. *Veterinaria México*, 30(4), 307-311.
- Chandrika, K., Makita, K., Kothalawala, H., Jiffry, A., Kubota, S., y Kono, H. (2017). Association of farmers socio-economics with bovine bruceloosis epidemiology in the dry zone of Sri-Lanka. *Preventive Veterinary Medicine*, 147(2017), 117-123. doi: 10.1016/j.prevetmed.2017.08.014.
- Cisterna, C., Conde, S., Hollender, D., Martino, P., y Samartino, L. (2015). Diagnóstico Serológico de brucelosis en caprinos: comparación de técnicas. *Scielo*, 17(2), 203-210. Recuperado de http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1668-34982015000200004
- Cuevas, C., y Alejo, A. (2010). Validez y fiabilidad de las medidas de exposición y medición. México. Universidad Nacional Autónoma de México. Recuperado dehttp://www.psicol.unam.mx/Investigacion2/pdf/SENSIBILIDAD%20Y%20E SPECIFICIDAD.pdf
- Díaz, R., Casanova, A., Ariza, J., y Moriyón, I. (2011). The Rose Bengal Test in Human Brucellosis: A neglected test for the diagnosis of a neglected disease. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, *5*(4), 1-8. doi:10.1371/journal.pntd.0000950.
- Lavaroni, O. M. (2012). Evaluación de la reacción en cadena de la polimerasa para el diagnóstico de brucelosis en un rebaño lechero infectado con Brucella spp.
 . Universidad Nacional del Litoral, Argentina. Recuperado de http://www.fcv.unl.edu.ar/archivos/grado/catedras/inmunologia/material/anex os/pdf/pcr.pdf
- Mellado, M., y Pastor, F. (2006). Aborto no infeccioso en caprinos. *Ciencia Animal Brasileira*, 7(2), 167-175.
- Moeller, R. (2001). Causes of caprine abortion: diagnostic assessment of 211 cases . *Brief Communications*, *13*, 265-270.
- Monterroso, O. (2006). Evaluación de la prevalencia de Brucella melitensis en tres hatos caprinos semitecnificados en tres municipios del departamento de

- Guatemala, durante febrero y marzo del año 2006 (Tesis de pregrado). Universidad de San Carlos de Guatemala, Guatemala.
- Nielsen, K. (2002). Diagnosis of brucellosis by serology. *Veterinary microbiology*, 90(2002), 447-459.
- Organización Mundial de Sanidad Animal. (2017). WAHIS INTERFACE: Mapas de distribución de brucelosis. World animal health Information data base Recuperado de http://www.oie.int/wahis_2/public/wahid.php/Diseaseinformation/Diseasedist ributionmap/index/newlang/es?disease_type_hidden=&disease_id_hidden=&selected_disease_name_hidden=&disease_type=0&disease_id_terrestrial=182&species_t=0&disease_id_aquatic=-999&s
- Rodolakis, A. (2014). Zoonoses in goats: How to control them. *Small Ruminant Research*, 121(2014), 12-20. doi: 10.1016/j.smallrumres.2014.01.07.
- Shirley Halling, B. P., Zuener, R., Zhang Qing, L.-L. L., Kapur, V., Alt, D., & Olsen, S. (2005). Completion of the Genome Sequence of Brucella abortus and Comparison to the Highly Similar Genomes of Brucella melitensis and Brucella suis. *Journal of Bacteriology, 187*(8), 1-12. doi: 10.1128/JB.187.8.2715-2726.2005.
- Stanchi, N. O. (2010). *Microbiología Veterinaria*. Buenos Aires, Argentina: Intermédica.
- The Center for Food Security and Human Health (CFSPH). (2009). Obtenido de Brucelosis bovina: Recuperado de http://www.cfsph.iastate.edu/Factsheets/es/brucelosis.pdf
- Wareth, G., Melzer, F., Tomaso, H., Roesler, U., & Neubauer, H. (2015). Detection of Brucella abortus DNA in aborted goats and sheep in Egypt by real time PCR. *BMC Research Notes*, 8(212), 1-5. doi: 10.1186/s13104-015-1173-1.
- Zelaya, B., Lepe, M., Andrea Muñoz, M. C., Paniagua, J., & Escobar, J. (2017).
 Monitoreo serológico de brucelosis bovina en Guatemala: Reactores positivos a la prueba de rosa de bengala durante el período 2010-2015.
 REDVET, 18(12), 1-9. Recuperado de http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n121217/121737.pdf

X. ANEXOS

Anexo 1. Ficha para recolección de muestras para trabajo de investigación

REGISTRO DE MUESTRAS

No. Muestra	ID animal	Municipio	Edad	Fecha de recolección	Hora
Muestra	anımaı		(Años)	recolection	
1	62	Santa Lucía	1.5	19/04/2018	8:10 a.m.
•	02	Utatlán	1.0	10/0 1/2010	0.10 4
2	65	Santa Lucía	2	19/04/2018	8:25 a.m.
2	05	Utatlán	2	19/04/2018	0.25 a.III.
3	60	Santa Lucía	1.5	19/04/2018	8:40 a.m.
3	00	Utatlán	1.5	19/04/2018	0.40 a.iii.
4	60	Santa Lucía	1.5	19/04/2018	8:55 a.m.
*	69	Utatlán	1.5	19/04/2018	
5	63	Santa Lucía	1.5	19/04/2018	9:08 a.m.
3		Utatlán	1.5		
6	61	Santa Lucía	1.5	19/04/2018	9:21 a.m.
· ·		Utatlán	1.0	13/04/2010	
7	66	Santa Lucía	2	2 19/04/2018	9:37 am.
•		Utatlán	_		
8	64	Santa Lucía	1.5	19/04/2018	9:50 a.m.
5		Utatlán	1.5	10/07/2010	9.50 a.III.
9	67	Santa Lucía	1.5	19/04/2018	10:01 a.m.
9	O1	Utatlán	1.5	13/04/2010	10.01 a.111.
10	68	Santa Lucía	1.5	19/04/2018	10:19 a.m.
	00	Utatlán		13/07/2010	

11	73	Santa Lucía	1.5	19/04/2018	10:33 a.m.
''		Utatlán	1.5	19/04/2016	10.55 a.iii.
12	70	Santa Lucía	3	19/04/2018	10:49 a.m.
12	70	Utatlán		13/04/2010	10.43 a.iii.
13	75	Santa Lucía	2	19/04/2018	11:05 a.m.
	. 0	Utatlán	_	16/6 1/2016	11100 0
14	74	Santa Lucía	3	19/04/2018	11:29 a.m.
		Utatlán			
15	5	Santa Lucía	2	19/04/2018	12:15 p.m.
		Utatlán			
16	30	Santa Lucía	2	19/04/2018	12:20 p.m.
		Utatlán			
17	8	Santa Lucía	2	19/04/2018	12:50 p.m.
		Utatlán Santa Lucía			
18	33	Utatlán	2	19/04/2018	12:57 p.m.
		Santa Lucía			
19	3	Utatlán	3	19/04/2018	1:19 p.m.
		Santa Lucía			
20	6	Utatlán	3	19/04/2018	2:20 p.m.
	31	Santa Lucía			
21		Utatlán	3	19/04/2018	2:32 p.m.
_		Santa Lucía			
22	7	Utatlán	2	19/04/2018	2:58 p.m.
23	20	Santa Lucía		40/04/0040	2.12 = ==
	32	Utatlán	2	19/04/2018	3:13 p.m.
24	34	Santa Lucía	2	10/04/2019	2:25 n m
24	34	Utatlán		19/04/2018	3:35 p.m.

25	10	Santa Lucía Utatlán	3	19/04/2018	3: 57 p.m.
26	37	Santa Lucía Utatlán	2	19/04/2018	4:00 p.m.
27	13	Santa Lucía Utatlán	3	19/04/2018	4:12 p.m.
28	38	Santa Lucía Utatlán	2	19/04/2018	4:21 p.m.
29	12	Santa Lucía Utatlán	2	19/04/2018	4:34 p.m.
30	43	Santa Lucía Utatlán	2	19/04/2018	4:40 p.m.
31	44	Santa Clara La Laguna	2	19/04/2018	5:15 p.m.
32	18	Santa Clara La Laguna	2	19/04/2018	5:20 p.m.
33	39	Santa Clara La Laguna	2	19/04/2018	5:24 p.m.
34	20	Santa Clara La Laguna	3	19/04/2018	5:37 p.m.
35	41	Santa Clara La Laguna	2	19/04/2018	5:43 p.m.
36	19	Santa Clara La Laguna	3	19/04/2018	5:50 p.m.
37	25	Santa María Visitación	2	19/04/2018	6:08 p.m.
38	50	Santa María Visitación	2	19/04/2018	6:12 p.m.

39	21	Santa María Visitación	2	19/04/2018	6:22 p.m.
40	46	Santa María Visitación	3	19/04/2018	6:31 p.m.
41	23	Santa María Visitación	3	19/04/2018	6:39 p.m.
42	24	Santa María Visitación	2	19/04/2018	6:47 p.m.

Fuente: Elaboración propia, año 2018.

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

DETERMINACIÓN DE ANTICUERPOS CONTRA *Brucella* sp. EN CABRAS LECHERAS DEL PROGRAMA NUTRIFAM EN TRES MUNICIPIOS DEL DEPARTAMENTO DE SOLOLÁ EN EL AÑO 2018.

	f ANDREA LUCIA QUINTANILLA CASTELLANOS
f.	M.V. Alejandro José Hun Martínez ASESOR PRINCIPAL f. M.V. Sergio Fernando Véliz Lemus ASESOR
	M.Sc. Freddy Rolando González Guerrero EVALUADOR
	IMPRÍMASE
	f M.A. Gustavo Enrique Taracena Gil DECANO