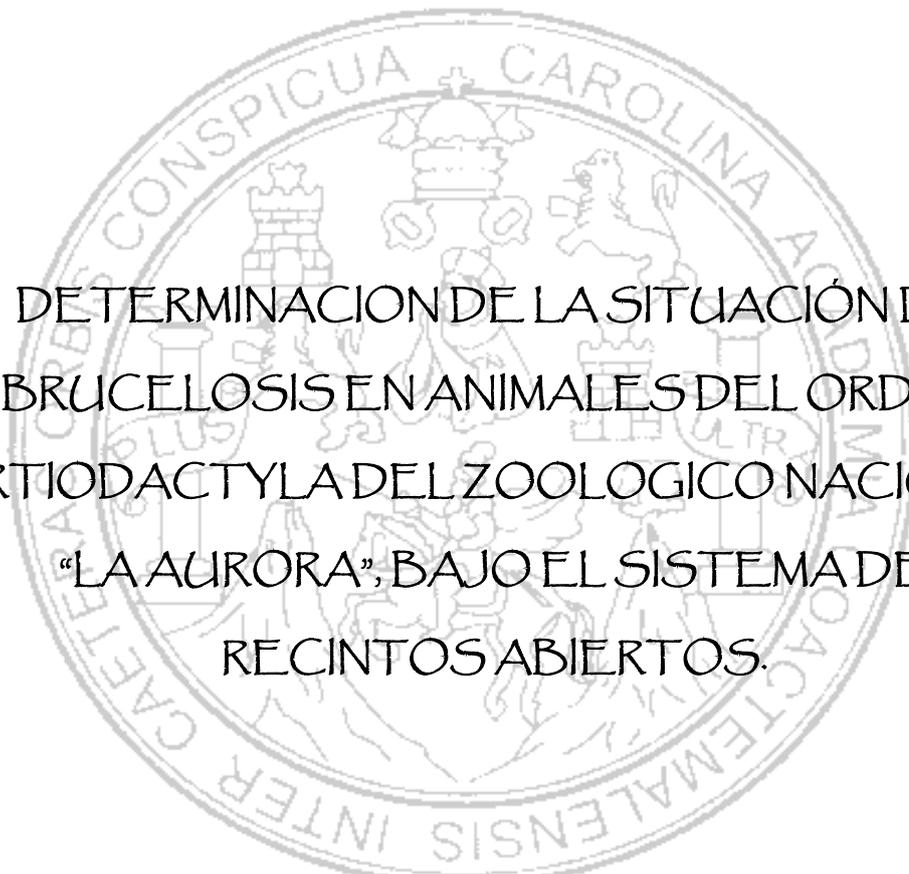


UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
ESCUELA DE MEDICINA VETERINARIA



DETERMINACION DE LA SITUACION DE
BRUCELOSIS EN ANIMALES DEL ORDEN
ARTIODACTYLA DEL ZOOLOGICO NACIONAL
"LA AURORA", BAJO EL SISTEMA DE
RECINTOS ABIERTOS.

HEDLLY VANESSA CENTENO ALDANA

GUATEMALA, AGOSTO 2002.

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

DETERMINACION DE LA SITUACIÓN DE
BRUCELOSIS EN ANIMALES DEL ORDEN
ARTIODACTYLA DEL ZOOLOGICO NACIONAL
“LA AURORA”, BAJO EL SISTEMA DE
RECINTOS ABIERTOS.

TESIS

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

POR

HEDLLY VANESSA CENTENO ALDANA

Al conferírsele el Título Académico de

Médico Veterinario

Guatemala, Agosto 2002.

JUNTA DIRECTIVA

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

DECANO: Dr. MARIO LLERENA QUAN
SECRETARIO: Lic. Zoot. ROBIN IBARRA
VOCAL PRIMERO: Lic. Zoot. CARLOS SAAVEDRA
VOCAL SEGUNDO: Dr. FREDY GONZALEZ
VOCAL TERCERO: Lic. Zoot. EDUARDO SPIEGELER
VOCAL CUARTO: Br. MANUEL ARENAS
VOCAL QUINTO: Br. ALEJANDRO CHAVEZ

Asesores:

Dr. Gustavo González

Dra. Blanca Zelaya de Romillo

Dr. Fredy Rolando González

GUATEMALA, AGOSTO DE 2002.

HONORABLE TRIBUNAL EXAMINADOR

Tengo el honor de someter a su consideración mi trabajo de tesis titulado:

“DETERMINACIÓN DE LA SITUACIÓN DE BRUCELOSIS EN ANIMALES DEL ORDEN ARTIODACTYLA DEL ZOOLOGICO NACIONAL “LA AURORA”, BAJO EL SISTEMA DE RECINTOS ABIERTOS”, conforme lo demandan los estatutos de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad de San Carlos de Guatemala, previo a optar al título de:

MEDICO VETERINARIO

Quiero expresar mi más sincero agradecimiento a todas las personas que en alguna forma ayudaron en la realización del presente estudio, y a todos los catedráticos y personas en general que me brindaron su apoyo para culminar mi carrera con éxito y ustedes distinguidos miembros del Honorable Tribunal Examinador reciban mis más altas muestras de consideración y respeto.

Gracias.

ACTO QUE DEDICO:

- ADIOS:** Por darme vida, fortaleza, perseverancia y felicidad. (Gracias por amarme y escucharme siempre).
- ALA VIRGEN:** Por ser mi amiga, mi guía, consejera y consuelo. (Gracias por amarme y cuidarme siempre).
- AMIS PADRES:** Hugo Ramiro Centeno Martínez y Ma. Concepción Aldana Sosa de Centeno. Por su amor, cariño, cuidados, apoyo incondicional y consejos que me han motivado a ser cada día mejor y luchar por mis metas.
- AMIS HERMANAS:** Nancy Arlette y Dairyn Xiomara por su amor, apoyo y amistad que guardo siempre conmigo.
- AMIS ABUELITOS:** Enrique Aldana Salguero (Q.E.P.D.)
María Melida Sosa de Aldana (Q.E.P.D.)
Alfonso Centeno Villegas
Margarita Martínez de Centeno
Por todo el cariño y consejos brindados.
- AMIS TIOS Y PRIMOS:** Por todo el cariño y amistad que me brindan.
- AMIS AMIGOS:** Mayra Motta, Gabriel Martínez, Oscar Barrios, Ibis García, Brenda López, Claudia Guitz, Federico Villatoro, David Morán, Gabriel Espino, Alfredo Hurtarte, Mario Llerena, Gustavo González, Geraldine Nidasio, Luis Martínez, Elizabeth del Cid. Por todos los lindos momentos compartidos, gracias.
- CON AMORA:** Oscar Rolando Barrios Cabrera, por todo el amor brindado y su apoyo incondicional que me ayudaron a terminar este trabajo.

DEDICO ESTE TESIS Y AGRADEZCO

ADIOS

ALA VIRGEN

AMIS PADRES

AMIS HERMANAS

AMINOVIO

AMIFAMILIA

AMIS AMIGOS

AL ZOOLOGICO NACIONAL "LA AURORA"

ALA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

A LA FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y
ZOOTECNIA

A MIS CATEDRATICOS Quienes colaboraron en mi formación
profesional.

AMIS ASESORES

DR. GUSTAVO GONZALEZ.

DRA. BLANCA ZELAYA DE ROMILLO.

DR. FREDY GONZALEZ.

Por toda su ayuda y apoyo incondicional en la realización de este trabajo.

A QUIENES DESINTERESADAMENTE ME BRINDARON
SU AYUDA.

INDICE

I INTRODUCCION	1
II HIPOTESIS	2
III OBJETIVOS	3
3.1. OBJETIVO GENERAL	3
3.2. OBJETIVO ESPECIFICOS	3
IV REVISION DE LITERATURA	4
4.1. BRUCELOSIS	4
4.1.1. DEFINICION	4
4.1.2. SINONIMOS	4
4.1.3. HISTORIA	4
4.1.4. ETIOLOGIA	6
4.1.5. TRANSMISION	8
4.1.6. DISTRIBUCION GEOGRAFICA	10
4.1.7. PATOGENIA	10
4.1.7.1. Proceso inmune	10
4.1.8. REPORTE DE INVESTIGACION EN VIDA SILVESTRE	14
4.1.9. SIGNOS Y SINTOMAS	16
4.1.10. DIAGNOSTICO	17
4.1.10.1. Diagnóstico directo para determinación de brucelosis.	18
- Cultivo	18
- Examen microscópico	20
- Subcultivo y aspecto del cultivo en el laboratorio	21
- Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)	21
4.1.10.2. Pruebas indirectas para la determinación de brucelosis	22
4.1.10.3. Diagnóstico serológico	24
- Prueba de aglutinación lenta en tubo (SAT-A)	25
- Prueba rápida en placa o de Huddleson	30
- Prueba de fijación del complemento	30
- Prueba de rivanol	31
- Prueba de la antiglobulina o de coombs	32
- Prueba de rosa de bengala (tarjeta o card test)	33
- Pruebas enzimáticas (E.L.I.S.A.)	35
- Prueba del mercaptoetanol	38
- Prueba del anillo en la leche (PAL)	38

4.1.11. TRATAMIENTO	39
4.1.12. PREVENCIÓN CONTROL Y ERRADICACIÓN	39
4.1.13. DESCRIPCIÓN DE INDIVIDUOS MUESTREADOS	42
4.1.13.1. Cérvidos	42
- Características generales de los cérvidos	42
- Clasificación taxonómica de los cérvidos de Guatemala	44
- Hütizil (<i>Mazama americana</i>)	45
- Venado cola blanca (<i>Odocoileus virginianus</i>)	46
4.1.13.2. Llama (<i>Lama glama</i>)	48
- Clasificación taxonómica de las llamas	48
4.1.13.3. Borrego de berbería (<i>Ammotragus lervia</i>)	50
- Clasificación taxonómica de los borregos	50
4.1.13.4. Cabra de camerun (<i>Capra aegagrus</i>)	52
- Clasificación taxonómica de las cabras	52
4.1.13.5. Oveja (<i>Ovis ammon aries</i>)	54
- Clasificación taxonómica de las cabras	54
- Características	55
4.1.13.6. Vaca jersey (<i>Bos taurus</i>)	56
- Clasificación zoológica de los bovinos	56
V MATERIALES Y MÉTODOS	59
5.1. ÁREA DE ESTUDIO	59
5.2. MATERIALES	60
5.2.1. Recursos Humanos	60
5.2.2. De Laboratorio	60
5.2.2.1. Prueba SAT	60
5.2.2.2. Prueba Card Test	61
5.2.2.3. Prueba de Rivanol	61
5.2.3. De Campo	62
5.2.4. De Tipo Biológico	62
5.2.4.1. Prueba SAT	62
5.2.4.2. Prueba Card Test	62
5.2.4.3. Prueba de Rivanol	63
5.3. MÉTODOS	63
5.3.1. PRUEBA DE ROSA DE BENGALA, CARD TEST	63
5.3.1.1. Técnica	64
5.3.1.2. Interpretación	64

5.3.1.3. Precauciones	65
5.3.2. PRUEBA DEL RIVANOL	65
5.3.2.1. Equipo y reactivos necesarios.....	65
5.3.2.2. Técnica	66
5.3.2.3. Interpretación.....	68
5.3.3. METODO PARA LA PRUEBA EN TUBO SAT-A.....	68
5.3.3.1. Dilución del antígeno.....	69
5.3.3.2. Instrumental necesario.....	69
5.3.3.3. Procedimiento de rutina para diluciones.	70
5.3.3.4. Incubación.....	71
5.3.3.5. Lectura de las pruebas.	72
5.4. METODOLOGIA DE CAMPO	73
5.5. DISEÑO ESTADISTICO	74
5.6. ANALISIS ESTADISTICO	74
VI RESULTADOS Y DISCUSION.....	75
- Cuadro No. 1	75
- Cuadro No. 2	76
- Cuadro No. 3	77
VII CONCLUSIONES.....	80
VIII RECOMENDACIONES.....	81
IX RESUMEN.....	82
X BIBLIOGRAFIA	84
XI ANEXOS.....	87

I INTRODUCCION

La Brucelosis es sin duda una de las zoonosis más importantes, debido a los elevados índices de prevalencia en las diferentes especies animales y la frecuencia con que estos la transmiten al hombre. También es de importancia económica en los rebaños de renos o caribúes (*Brucella rangiferi*, *B. suis*). Esta ha sido reportada en otros rumiantes exóticos.

También se ha aislado *B. abortus* en el bisonte americano (*Bison bison athabasca*), alce (*Alces alces*), caribú o reno (*Rangifer tarandus*), venado (*Odocoileus virginianus*), búfalo africano (*Syncerus caffer*), camello dromedario (*Camelus dromedarius*) y camello baetriano (*Camelus bactrianus*).

La Brucelosis es una enfermedad contagiosa. Su erradicación en los animales domésticos, animales en vida silvestre, animales cautivos en zoológicos y, por consiguiente, en el hombre constituye un objetivo apremiante de los países en vías de desarrollo.

En Guatemala no existe actualmente ninguna investigación efectuada para determinar la presencia de enfermedades infecciosas como Brucelosis en animales Artiodáctilos en cautiverio por lo que se llevará a cabo este estudio para establecer la situación de los animales cautivos en el Zoológico Nacional La Aurora bajo el sistema de recintos abiertos.

II HIPOTESIS

No existe diferencia en el estado sanitario de los animales medido como porcentaje de prevalencia de anticuerpos contra *Brucella* al emplear recintos mixtos, con comunicación o individuales.

III OBJETIVOS

3.1. OBJETIVO GENERAL

Contribuir con información epidemiológica de las especies del orden Artiodactyla con que cuenta el Zoológico La Aurora.

3.2. OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Determinar la prevalencia de Brucelosis en los animales del Orden Artiodactyla del Zoológico Nacional La Aurora. La población de este orden comprende:

- *Mazama americana* (Venado Hütizil)
- *Odocoileus virginianus* (Venado Cola blanca)
- *Ammotragus lervia* (Borrego de berbería)
- *Lama glama* (Llama)
- *Bos taurus* (Vaca Jersey)
- *Ovis ammon aries* (Oveja)
- *Capra aegagrus* (Cabra de camerún)

IV REVISION DE LITERATURA

4.1. BRUCELOSIS

4.1.1. DEFINICION

La Brucelosis es una enfermedad infectocontagiosa que afecta a los animales domésticos y al hombre. Es una enfermedad del grupo de las zoonosis con un elevado índice de prevalencia en las diferentes especies animales. En los animales domésticos y en algunos mamíferos silvestres es una enfermedad infecciosa, de curso crónico caracterizada por producir aborto, retención placentaria en las hembras; orquítis e infección de las glándulas sexuales accesorias en el macho, así como infertilidad en ambos sexos. (3,7,9,16,24)

4.1.2. SINONIMOS

Melitococia, Fiebre de Malta, Fiebre ondulante, Fiebre del Mediterráneo y Fiebre de Bang, en el hombre. Aborto epizootico, Aborto contagioso, Aborto infeccioso, Abortus Bang y Enfermedad de Bang, en los animales. (1,3, 7)

4.1.3. HISTORIA

La Brucelosis es una enfermedad contagiosa. Su erradicación en los animales y, por consiguiente, en el hombre constituye un objetivo apremiante de los países en vías de desarrollo. La brucelosis es

producida por la bacteria del género *Brucella*, aislado por David Bruce en 1886, en bazos de pacientes que fallecieron de "Fiebre del Mediterráneo". Diez años más tarde, el germen que causaba aborto contagioso en las vacas fue aislado por primera vez en Dinamarca por los científicos Bang y Strömbolt. (24)

Unos 20 años después del trabajo de Bruce, el médico maltés Themistokles Zammít determinó que los productos lácteos no pasteurizados o hervidos provenientes de cabras infectadas eran la fuente de infección para el hombre. (24)

La evidencia serológica de Brucelosis en la vida salvaje de Norte América fue reportada por primera vez en 1917 cuando se observó al bisonte (*Bison bison*) abortando en el parque Nacional Yellowstone. En 1930, se aisló *B. abortus* en pruebas de un bisonte de la Extensión Nacional del Bisonte en Montana. La primera evidencia serológica de Brucelosis en el reno (*Rangifer tarandus*), fue en 1932 cuando 13 de 67 muestras de suero fueron positivas o sospechosas en la prueba de aglutinación en tubo. La Brucelosis parece ser altamente patogénica para el alce (*Alces alces*) y también se considera reservorio significativo el venado cola blanca (*Odocoileus virginianus*). (9)

4.1.4. ETIOLOGIA

Brucella es un parásito intracelular "facultativo", esto es, puede vivir dentro y fuera de la célula. A esa categoría pertenecen también los agentes causantes de la tuberculosis y salmonelosis. Las bacterias pertenecientes al género *Brucella*, que presenta una gama bastante amplia de huéspedes, se agrupan en seis especies. Aunque tienden a ser exclusivistas en la elección del huésped, producen también infecciones cruzadas. Estas especies y sus huéspedes son: *B. abortus*, que infecta el ganado vacuno; *B. melitensis*, el ovino y caprino, *B. suis*, el porcino; *B. suis* biovar 4 caribúes; *B. neotomae*, la rata del desierto; *B. ovis*, el ganado ovino y *B. canis*, los perros. Aunque se reconocen seis especies, los estudios de hibridación de ADN demuestran que se trata de una sola especie, *Brucella melitensis*, con biovariedades. Con excepción de *B. ovis* y *B. neotomae*, todas son patógenas para el hombre. El esquema taxonómico corriente reconoce a ocho Biotipos (biovars) de *Brucella abortus*, aunque al menos 22 han sido reportadas. La *Brucella abortus* tipo 1 es posiblemente la más aislada en vida salvaje animal ya que esta ha sido aislada en bisonte americano (*Bison bison athabasca*), alce (*Alces alces*), caribú o reno (*Rangifer tarandus*), venado cola blanca (*Odocoileus virginianus*), búfalo africano (*Syncerus caffer*), camello dromedario (*Camelus dromedarius*) y camello baeriano (*Camelus bactrianus*). Se ha

encontrado también *Brucella rangiferi* la cual afecta directamente a los renos. (1,3, 7,9, 16, 17, 21, 24, 27)

Las brucelas son bacilos cocooides, pequeños, gramnegativos, inmóviles, no esporulantes, sin cápsula y flagelo. Las brucelas disponen de un metabolismo oxidativo y son gérmenes aerobios estrictos. Las especies de Brucela son microorganismos facultativos intracelulares capaces de sobrevivir y multiplicarse dentro de las células del sistema reticuloendotelial y tejidos asociados, por lo que este es considerado como el factor que confiere la virulencia en la enfermedad. Sorprende la gran resistencia a la desecación que muestran estas bacterias, resistencia que les permite permanecer durante largo tiempo viable en la paja y polvo de los establos. Se ha demostrado que las Brucelas duran 75 días en fetos, 10 días en leche a 10°C, 10 días en agua a 25°C y en garrapatas hasta 27 meses. (3, 7,9, 17, 24)

En los animales infectados, las bacterias son excretadas durante el aborto o parto; se encuentran en grandes cantidades (hasta diez billones de brucelas por gramo) en el calostro y leche, en el exudado vaginal y en los órganos del abortado. El reservorio de la enfermedad son los animales. En éstos, la enfermedad acostumbra cursar sin signos externos; las manifestaciones más frecuentes son los abortos, mortinatos y las alteraciones en el aparato genital de los

machos. (3, 17, 24)

4.1.5. TRANSMISION

La fuente primaria de transmisión entre manadas de bovinos es un animal infectado, ya sea recién infectado o portador crónico. Tal animal tarde o temprano excreta *B. abortus* en sus secreciones genitales. Los animales susceptibles se infectan por estrecha asociación con individuos infectados y por exposición en un ambiente contaminado. Son eliminadas en grandes cantidades en fetos abortados, placenta y líquidos placentarios; en descargas vaginales persisten por varias semanas después del aborto o parto normal. (3,24)

En animales no preñados y después del aborto el germen se localiza en los nódulos linfoides supramamarios a partir de los cuales se excreta en la leche y puede infectar terneros no destetados que estarán eliminando Brucelas en las heces. La transmisión puede ocurrir por: Orina, semen, heces, material proveniente de accidentes obstétricos, exudados vaginales o pus y es transmitida por bovinos, suínos, caprinos, ovinos, equinos, caninos y mamíferos silvestres. Indirectamente por moscas, mosquitos y garrapatas o por contaminación de la ubre durante el ordeño. La infección puede ocurrir por vía oral, intravaginal, conjuntiva, cutánea e intrauterina, siendo más común la vía oral por lamer

fetos abortados, placenta o genitales de hembras infectadas. En sí, las Brucelas pueden entrar en el cuerpo a través de las membranas mucosas, las conjuntivas, las laceraciones y a través de la piel intacta. El macho infectado elimina Brucellas por el semen pudiendo transmitir la enfermedad por medio de la cópula o bien cuando se utiliza este semen en inseminación artificial; aunque esta última posibilidad es poco probable. (3, 24)

La especie humana se infecta por contacto directo o indirecto con el reservorio siendo enfermedad frecuente en veterinarios, trabajadores de mataderos o granjeros. También en consumidores de leche fresca y derivados así como personal del laboratorio. La entrada en el organismo puede realizarse indirectamente por vía digestiva al ingerir productos contaminados pero existen otras vías para el contagio (por heridas, vía genital, nasofaríngea y conjuntival) que igualmente son muy eficaces. La transmisión hombre-hombre es prácticamente inexistente. (21, 24)

Los vectores mecánicos, incluso el hombre en prácticas de manejo como la inseminación artificial con semen infectado, carencia de zonas específicas para parideros, o monta directa con animales infectados. (3,9, 24)

Con todo, la brucelosis puede considerarse una enfermedad profesional, ligada a los trabajos relacionados con la ganadería.

Matarifes, carniceros, ganaderos, veterinarios y personal de laboratorio serán, pues, los sujetos más expuestos. (1)

4.1.6. DISTRIBUCION GEOGRAFICA

Mundial. La distribución de las diferentes especies de *Brucela* y sus biotipos varía con las áreas geográficas. (1)

4.1.7. PATOGENIA

4.1.7.1. Proceso inmune

Después de penetrar al organismo, la bacteria invade primero los ganglios linfáticos regionales; si vence esta barrera del sistema inmunitario, se propaga, por vía linfática o por la sangre, en el hígado, bazo, genitales, médula ósea y riñones, especialmente a órganos y tejidos ricos en células retículo endoteliales. (21,24)

El suero es capaz de opsonizar a la brucela preparándola para ser fagocitada por los polinucleares. La bacteria se aloja, paradójicamente, en las células fagocíticas, cuya función estriba en acabar con los cuerpos extraños. Si el microorganismo resiste el ataque del sistema inmunitario, se establece la infección crónica: la bacteria empieza a multiplicarse en diferentes órganos. (21,24)

Por mecanismos pobremente entendidos, la brucela es capaz de sobrevivir e incluso multiplicarse en el interior de los fagocitos (polinucleares y macrófagos del Sistema Reticulo Endotelial) por lo que este acontecimiento no termina con la bacteria y condiciona además la biología de la enfermedad y el tipo de tratamiento. (21, 24)

Lo mismo que en otras bacterias gramnegativas, los componentes de la envoltura celular de *Brucella* tienen mucho que ver con esa resistencia. La membrana externa bacteriana representa su primera barrera defensiva; gracias a ella, las bacterias gramnegativas resisten la acción tóxica de sales biliares, ácidos grasos y glicéridos, así como de enzimas proteolíticas y glicosidasas. (21,24)

El factor más importante de virulencia de este microorganismo es el Lipopolisacárido (LPS) que tienen las formas lisas. Las que se encuentran en la fase rugosa en general son menos virulentas para el hombre por lo que su tratamiento es menos problemático. El control de la infección recae fundamentalmente sobre los linfocitos T que de forma secuencial activan a los macrófagos y desencadenan una hipersensibilidad retardada frente a los antígenos proteicos. Este fenómeno puede ser el responsable de la formación de

granulomas en un intento de evitar la diseminación de la infección. No es de extrañar, por tanto, que *Brucella*, que se ha adaptado a medios tan hostiles como el interior de los fagocitos, posea una membrana peculiar. Una vez ingerida, o internalizada, una bacteria, el sistema de defensa insta la fusión del fagosoma con los lisosomas para formar fagolisosomas, los orgánulos donde se localizan la mayoría de los agentes tóxicos bactericidas, pero las *Brucellas* puede permanecer en el fagosoma intacto y bloquear la fusión posterior con el lisosoma. Ello le protege de la acción de los péptidos catiónicos y enzimas líticas presentes en los gránulos lisosómicos. Se cree que la cadena O (un polisacárido) y quizá lípidos de ornitina interactuarían directamente con la membrana del fagosoma impidiendo la fusión. (21, 24)

Paralelamente, esta bacteria debe resistir a potentes intermediarios del oxígeno (peróxido de hidrógeno y radicales hidroxilos), formados en los fagocitos durante la explosión respiratoria que acompaña a la fagocitosis para la destrucción de las bacterias ingeridas. Se sabe que la superóxido dismutasa y la catalasa, enzimas presentes en *Brucella*, se integran en el mecanismo de defensa que desarrollan algunos microorganismos frente a la toxicidad oxidativa. La catalasa,

que se encuentra en gran cantidad en esta bacteria, parece ser un factor de virulencia. (21,24)

Otra forma de evadir este mecanismo bactericida del huésped sería la de inhibir tal explosión respiratoria, o provocarla muy débilmente y con corta duración. Se trata de la estrategia adoptada también por *B. abortus*. Parece guardar relación con la presencia de la cadena O del lipopolisacárido y con la liberación de nucleótidos. Posterior a la muerte o lisis de los neutrófilos, las brucelas son liberadas y entonces son ingeridas por otros neutrófilos, monocitos, histiocitos, y por ciertas células epiteliales. De ahí la bacteria pasa a localizarse principalmente en los ganglios linfáticos, en la ubre, en el útero y los ganglios asociados, hasta la mitad de la gestación. (21,24)

El eritritol, sustancia que se encuentra en cantidades apreciables a nivel de corion, cotiledones y líquidos fetales es un polisacárido constituido de 4 carbonos y se cree, estimula el crecimiento de *B. abortus*. El microorganismo tiene tropismo por los órganos con eritritol (mama, útero, placenta y epidídimo) pudiendo producir esterilidad, aborto o estados de portador. (21, 24)

En consecuencia, esas bacterias tienden a multiplicarse y localizarse en los tejidos, donde el eritritol se produce en

cantidades considerables, como lo son las membranas placentarias y tejidos fetales donde las lesiones se originan en la pared del órgano provocando endometritis ulcerosa en los espacios intercotiledoneos, con el subsecuente invalidamiento de las vellosidades, causando la muerte y la expulsión del feto. Posteriormente la rápida propagación de los microorganismos por todo el cuerpo se hace a través de los vasos sanguíneos. En infecciones crónicas la bacteria tiende a localizarse invariablemente en útero y glándulas mamarias, testículos, glándulas sexuales masculinas accesorias y nódulos linfáticos. (21,24)

4.1.8. REPORTE DE INVESTIGACION EN VIDA SILVESTRE

La infección natural por *Brucella* ocurre en una amplia gama de especies silvestres. Hay focos naturales de infección, como por ejemplo entre las ratas del desierto, las liebres, los caribúes, etc. También ocurre que los animales domésticos transmitan la infección a los animales silvestres, tales como el antilope o el bisonte americano, en los cuales la brucelosis se perpetúa. (1)

En 1993, se realizó un estudio de la ocurrencia natural de *Brucella suis* biovar 4 infectando Alces (*Alces alces*), se encontró un Alce en Canadá el cual tenía una larga y fluctuante masa sobre ambos carpos.

La patología carpal incluía bursitis bilateral y osteomielitis de los huesos subyacentes. En adición, una severa osteomielitis con fracturas fueron observadas en los dígitos lateral izquierdo y medial derecho. *Brucella suis* biovar 4 fue aislada de la primera falange medial derecha. Este se cree que fue el primer caso reportado de infección con este organismo en un Alce salvaje. La bacteria es común en Caribú (*Rangifer tarandus*) en la región. (11)

También se ha realizado mucha investigación en vida silvestre efectuando infecciones experimentales como es el caso de inoculaciones en Alces (*Alces alces*) inoculados con *B. suis* biovar 4 en los cuales los títulos de anticuerpos séricos aumentaron rápidamente entre los 21 y 56 días. Fiebre, leucocitosis, recumbencia, anorexia y depresión fueron observadas después de 42 días post-inoculación. La Brucela fue aislada después de sangre, nódulos linfáticos, hígado y bazo. (6)

La Brucelosis no había sido reportada como una causa de aborto en los mamíferos marinos hasta que se efectuaron los cultivos de fetos abortados y líquidos maternos uterinos. Así, actualmente se reporta la presencia de Brucela en Delfín nariz de botella (*Tursiops truncatus*), Leones marinos (*Zalophus californianus*), Focas (*Phoca vitulina* y *Phoca hispida*), etc. (15)

Se han reportado abortos en hembras primerizas y hembras multiparas de Delfín nariz de botella y además se han encontrado evidencia de

brucela después de la necropsia de los fetos animales en varios órganos como pulmón, hígado, bazo, riñón, estómago, cavidad peritoneal, placenta y sangre y en la parte materna en fluidos uterinos y vaginales 2 días después del parto. En conclusión, se confirmó la presencia de la Brucelosis y se determinó que era la responsable de los abortos ocurridos en los mamíferos marinos. (15)

4.1.9. SIGNOS Y SINTOMAS

Los síntomas clínicos no son característicos y cualquier manifestación es posible. Las complicaciones esqueléticas, gastrointestinales, cardiovasculares, pulmonares, neurológicas y cutáneas son frecuentes. La historia epidemiológica es muy importante a la hora de establecer el diagnóstico. (21)

Los signos clínicos de la enfermedad incluyen el aborto, flujo vaginal excesivo después del parto, retención de placenta, orquitis, bursitis, articulaciones hinchadas, sinovitis, abscesos, esterilidad, metritis. Se cree que la enfermedad se difunde primero por contacto con descargas uterinas después del aborto. El aborto en el reno usualmente ocurre uno a dos meses antes de la fecha normal de parto. Los terneros pueden nacer vivos, pero débiles o morir después de pocos días. Es típico que la hembra aborte en el primer estado de preñez después de la infección. Estas pueden abortar el próximo año también pero después pueden producir terneros saludables. Algunos de estos terneros

pueden ser asintomáticos, serológicamente negativos pero son portadores de la enfermedad. La infección del tracto reproductivo de la hembra provoca aborto como resultado de una placentitis causando disminución del oxígeno y nutrientes al feto, las endotoxinas de la brucela o estrés fetal que resulta en incremento en el cortisol, progesterona disminuída y un aumento de prostaglandinas lo cual produce un parto adelantado. (21)

La infección del tracto reproductivo masculino produce orquítis necrotizante y epididimitis de uno o los dos testículos, vasculitis seminal o prostatitis. La *Brucella* en hueso y membranas sinoviales causa bursitis e higroma, y en la corteza renal causa nefritis intersticial no supurativa focal. (8,9,27)

4.1.10. DIAGNOSTICO

El diagnóstico de la Brucelosis se basa en la sospecha clínica de la enfermedad, pero es necesario tener la confirmación en el laboratorio, bien demostrando las brucelas en cultivos o bien estudiando los anticuerpos. El problema de los cultivos es su lentitud para crecer ya que en ocasiones *Brucella* tarda en recuperarse más de 15- 30 días. (21)

Puesto que los síntomas clínicos son inespecíficos en la mayoría de los casos, la historia epidemiológica es muy importante a la hora de establecer el diagnóstico. El problema diagnóstico de esta

infección radica en la dificultad existente para la clasificación de las recaídas, las re-infecciones y las formas subclínicas lo cual supone un serio contratiempo a la hora de establecer una pauta para el tratamiento. (21)

Se puede dar un diagnóstico presuntivo de Brucelosis en animales salvajes a través de una serie de pruebas serológicas, aunque se han utilizado los test de Aglutinación, rápida en placa, rivanol y fijación del complemento y se han encontrado que combinaciones de las cuatro pruebas tienen concordancia cercana con un animal infectado realmente ninguno de los test ha sido validado para las especies silvestres. (9)

4.1.10.1. DIAGNOSTICO DIRECTO PARA DETERMINACION DE BRUCELOSIS.

- Cultivo

El aislamiento de *Brucella spp.* constituye el método diagnóstico definitivo. Suele obtenerse por hemocultivo o cultivo de médula ósea y, más raramente, por cultivo de líquido cefalorraquídeo, líquido articular, exudado purulento, etc. El medio clásico de Ruíz Castañeda, que utiliza una fase sólida y otra líquida, es el más apropiado para el diagnóstico. En la mayoría de los procesos agudos,

tras incubar el medio 2-4 días, es posible observar en la fase sólida pequeñas colonias que se deslizan por el agar en forma que recuerdan las lágrimas de cera resbalando por la vela. Una pequeña proporción de casos presenta el crecimiento entre los 5-15 días, y sólo de forma excepcional, éste se retrasa hasta pasados 30-45 días. (16)

En los procesos agudos, incluso cuando la extracción de los hemocultivos se practica en fase afebril, el porcentaje de aislamiento oscila entre el 90-95% de los casos. En casos de fracaso terapéutico o re-infección este porcentaje no suele superar el 60%. El género *Brucella*, debido a su escasa producción de CO₂, lento crecimiento y baja actividad metabólica, se ha convertido en paradigma para la evaluación de la sensibilidad. Cabe destacar que todos los métodos estudiados presentan falsos negativos, circunstancia que obliga, en aquellas áreas donde la enfermedad es endémica, a hacer subcultivos a todos los hemocultivos con sospecha de brucelosis. El aislamiento de *Brucella spp.* a partir de hemocultivo suele ser la primera fuente diagnóstica de la enfermedad en áreas geográficas con muy baja incidencia. (16)

En casos de muestras contaminadas (abscesos, restos placentarios, etc.) deben utilizarse medios selectivos de los que, si bien hay varios descritos, probablemente el más accesible y práctico para la mayoría de los laboratorios es el medio modificado de Thayer-Martin. (16)

- Examen microscópico.

Una vez observado el crecimiento en el medio difásico o cuando el aparato automático de hemocultivo detecta un posible crecimiento, la simple tinción de Gram permite hacer el diagnóstico presuntivo de la enfermedad. *Brucella spp* presenta unas características tintoriales especiales: aunque no es una bacteria ácido-alcohol resistente, no sufre decoloración con ácidos débiles. (16)

Así mismo, también la tinción de Gram es peculiar: si el tiempo de exposición al alcohol-acetona es muy breve (simple arrastre por el porta del decolorante, en vez de tiempos de decoloración más prolongados), presenta una decoloración irregular, pudiendo observarse en la misma muestra la coexistencia de pequeños cocobacilos gramnegativos y grampositivos. No es extraño, en contra de lo que se cree, tener un diagnóstico presuntivo de brucelosis por hemocultivo en dos o tres días. (16)

- Subcultivo y aspecto del cultivo en el laboratorio

El subcultivo del medio difásico o del frasco procedente del aparato automático, en medio con agar-sangre o agar-chocolate, muestra el crecimiento, al cabo de 48 horas, de pequeñas colonias brillantes, de diferente tamaño y de color miel claro. Si no se observan cuidadosamente las placas, en casos con crecimiento de escaso número de colonias, se puede falsear erróneamente algún diagnóstico. Tras la tinción de Gram de estas colonias para observar su aspecto característico, se realizará la reacción de la oxidasa (positiva) y aglutinación con suero específico frente a *Brucella*, suficiente para identificar el aislamiento. (16)

- Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)

Dada la extrema sensibilidad que muestra la detección de ADN bacteriano mediante PCR en las distintas muestras estudiadas, es muy probable que en los próximos años se aplique la PCR a muestras de enfermos con sospecha de brucelosis, permitiendo el diagnóstico de la enfermedad con criterios de certeza en aquellos casos en los que hoy no podemos dar una respuesta precisa. (16)

4.1.10.2. PRUEBAS INDIRECTAS PARA LA DETERMINACION DE BRUCELOSIS

Las pruebas de aglutinación se utilizan mucho en el diagnóstico de infecciones bacterianas, particularmente en aquellas en las que participan microorganismos gramnegativos, como la BRUCELLA. El procedimiento habitual en estas pruebas consiste en titular el suero (AC) contra una suspensión estandarizada de antígenos. Desde luego, las bacterias no son homogéneas desde el punto de vista antigénico, sino que están cubiertas de un mosaico formado por muchos antígenos diferentes. Así, los microorganismos móviles tendrán antígenos flagelares (H), y la aglutinación por los anticuerpos anti-flagelares producirá flóculos laxos de tipo algodónoso a medida de que los flagelos se fijan unos con otros y ocasionará que los cuerpos bacterianos sólo se encuentren laxamente aglutinados. (16,21, 26)

La aglutinación de los antígenos somáticos (O) produce una estrecha agrupación de los cuerpos bacterianos; de ese modo la aglutinación es de tipo granuloso fino. Muchos microorganismos tienen varios antígenos O y H, así como antígenos capsulares (K) y vellositarios (F). Por medio de una batería de anti-sueros específicos, es posible caracterizar la estructura antigénica de un microorganismo, y en consecuencia, es posible clasificarlo. (16,21,26)

Los antígenos flagelares son termolábiles, en tanto que los tipo O resisten al calor y permanecen íntactos en los microorganismo muertos por calentamiento. La estabilidad térmica de los antígenos K es variable. Este tipo de pruebas puede realizarse mezclando gotas de reactivos sobre láminas de vidrio, o utilizando los reactivos en tubo, o en huecos de placas de plástico. Las pruebas de aglutinación en tubo se usan con frecuencia para tratar las enfermedades como salmonelosis, brucelosis, tularemia y campilobacter. (16,21,26)

Las pruebas de aglutinación en placas suelen usar como pruebas de detección. Entre ellas están las pruebas de antígeno-ácido para brucelosis, en la cual los microorganismos teñidos con un colorante rojo, rosa de Bengala, se suspenden en un amortiguador ácido (pH3.6). Existen varias pruebas de este tipo. Las pruebas en tarjeta se consideran de baja sensibilidad, pero más específicas. (16,21,26)

No es obligatorio que se utilice suero como fuente de anticuerpos para las pruebas diagnósticas. Los anticuerpos en otros líquidos corporales, como suero de leche, moco vaginal o líquido del lavado nasal pueden resultar más importantes, en especial si la infección es de tipo local o superficial. Una prueba de este tipo es la del anillo en la leche, la cual se utiliza para percibir la presencia en ella de anticuerpos contra *Brucella abortus*. (16,21,26)

La leche recién obtenida se agita con microorganismos teñidos con hematoxilina o con trifenil tetrazolium, y se deja reposar. Si los anticuerpos, y en especial los de los isotipos IgM o IgA, se encuentran en la mezcla, entonces los microorganismos se aglutinan, se adhieren a los glóbulos de grasa, y subirán a la superficie con la crema. Si no hay anticuerpos, entonces los microorganismos teñidos permanecerán dispersos en la leche y en la crema lo cual hará que ésta permanezca blanca. (16,21,26)

4.1.10.3. DIAGNOSTICO SEROLOGICO

La respuesta humoral se caracteriza por un aumento de la IgM en las fases iniciales, seguido por el cambio en la síntesis de IgG a los 7-14 días. Durante la curación las concentraciones de IgG disminuyen a lo largo de los meses. El estancamiento en esta caída de los títulos o una segunda elevación nos hará sospechar la persistencia de la infección, una recaída o reinfección. La IgM, incluso después de la curación puede ser detectable durante mucho tiempo pero a títulos muy bajos con muy discretas oscilaciones en su concentración. (16,21,26)

Las pruebas serológicas para el diagnóstico de esta infección exploran la presencia de anticuerpos dirigidos fundamentalmente contra el antígeno somático O lipopolisacárido (LPS, antígenos A y M) o las proteínas del microorganismo. (16,21,26)

En el momento actual el diagnóstico indirecto se basa en las pruebas de:

Rosa de Bengala.

Seroaglutinación en tubo, placa de microtitulación o porta.

Coombs anti-Brucella o su modificación Brucellacapt'

ELISA para IgM, IgG e IgA específica.

También existen intentos para utilizar la PCR en su diagnóstico. La fijación de complemento se utiliza ya muy poco al igual que otras pruebas que empleaban sulfitorreductores (2-ME o DTT). La interpretación de los resultados obtenidos con estas pruebas, ya sea en una sola muestra o mejor en muestras seriadas, pueden aclarar en muchos casos si nos encontramos con una primoínección, una recaída o una re-ínección, dato muy importante para el pronóstico del paciente. (16, 21,26)

- PRUEBA DE AGLUTINACION LENTA ENTUBO (SAT-A)

La prueba se utiliza para determinar inmunoglobulinas del tipo IgG como IgM, para los cuales dichos resultados se expresan en Unidades Internacionales (U.I.). A veces dicha prueba puede dar reacciones que son falsamente

positivas, las cuales están relacionadas con la presencia de anticuerpos residuales vacunales. (3,10,16,21)

Desde hace mucho tiempo es la prueba mas utilizada. Es sencilla, sensible y específica. Puede realizarse en tubo o en placa de microtitulación y al igual que Rosa de Bengala detecta anticuerpos para el LPS. Mide globalmente anti-IgG e IgM. Se realiza enfrentando diferentes diluciones del suero problema con una suspensión de brucelas formolizadas a una concentración preestablecida y estandarizada. El antígeno empleado es *Brucella abortus* 1119-3 en fase lisa (*United States Department of Agriculture, National Veterinary Laboratory. Iowa*) o cepa 99 (*WHO/FAO Collaborating Centre for Reference and Research on Brucellosis. United Kingdom*). Este antígeno es también reactivo para los anticuerpos generados por *B. melitensis* y *B. suis* (Todas ellas presentan fase lisa y por tanto LPS). Para el diagnóstico de *B. canis* y de *B. ovis* es necesario la preparación de antígeno específico ya que al ser especies de fase rugosa carecen de LPS-O. Algunos autores han recomendado el lavado previo de la suspensión para eliminar el antígeno soluble que pueda estar en la fase líquida y que pueden debilitar la aglutinación.

Con este proceder los títulos obtenidos suelen ser más elevados que cuando se utiliza la suspensión antigénica sin lavar, especialmente si es antigua. Puede igualmente realizarse en tubo o placa de micro-aglutinación. Existe un suero control valorado para la expresión de los resultados cuantificados en U/mL pero, en general, estos se expresan en título de dilución del suero. (16,21)

Como punto final de la reacción puede escogerse el último tubo o pocillo con aglutinación visible (sobrenadante claro) o el siguiente a este (50% de aglutinación). Por ello puede darse alguna variación en el título dependiendo de la costumbre empleada para la lectura. Es no obstante un método muy reproducible siempre que se emplee la misma marca de antígeno. (16,21)

No es infrecuente la presencia del **fenómeno de prozona** y por tanto la aglutinación deberá realizarse siempre sobre una dilución seriada de la muestra. Para evitar un resultado falso negativo el rango de la dilución del suero deberá alcanzar, al menos, el título de $1/320$. Es muy raro que los falsos negativos sean producidos por la presencia exclusiva

en el suero de anticuerpos incompletos los cuales pueden ponerse de manifiesto mediante otras técnicas. (16,21)

La actividad aglutinante de un suero esta ligada a inmunoglobulinas de las clases IgM, IgG e IgA, especialmente a IgM. Los anticuerpos aglutinantes hacen su aparición muy pronto y alcanzan su título más elevado rápidamente. En la enfermedad aguda son ya frecuentes títulos muy superiores a $1/160 \sim 1/320$ (100-200 U/mL), casi siempre superiores a $1/512$ en la primera muestra, pudiéndose demostrar una disminución significativa de los mismos entre el 4º, 5º mes después de la fase inicial de la enfermedad con persistencia muy prolongada de los mismos. Es excepcional objetivar una seroconversión en el inicio de la enfermedad. (16,21)

En el curso de la evolución, y tras un tratamiento eficaz, los títulos tienden a negativizarse en el plazo de un año; sin embargo, pueden persistir títulos positivos a niveles más bajos durante más tiempo. Estas cifras residuales, en ausencia de síntomas, no justifican nuevos tratamientos. (16,21)

Títulos débilmente positivos ($< 1/80$) no permiten el diagnóstico de enfermedad activa ya que pueden ser

consecuencia de un simple contacto con el microorganismo o sensibilización. Muchos individuos que viven en zonas endémicas o que practican profesiones relacionadas con cierto tipo de ganado presentan estos títulos. Algunas personas que poseen anticuerpos frente a *Vibrio cholerae* (vacunadas), *Campylobacter fetus*, *Francisella tularensis*, algunos serotipos de *E. coli* y *Salmonella* pueden dar falsos positivos. Es clásica la reactividad cruzada con *Yersinia enterocolitica* tipo 9 dada la similitud de su LPS. (complejo antigénico A y M). (16, 21)

Las mejores pruebas serológicas disponibles para el diagnóstico de Brucelosis son las pruebas de aglutinación con suero (SAT) que se lleva a cabo en tubos. Esta prueba permite identificar anticuerpos aglutinantes potentes de tipo IgM o IgG. Por desgracia, la más abundante de las inmunoglobulinas producidas durante la respuesta a una infección por Brucela es la IgG; no solamente la IgG produce poca aglutinación, sino que un exceso de la misma puede bloquear la actividad aglutinante de la IgM, con lo cual aparecen reacciones falsas negativas. (12,14,17,26).

- PRUEBA RAPIDA EN PLACA O DE HUDDLESON

Esta prueba es fácil y rápida. Detecta inmunoglobulinas IgM e IgG. Para esta prueba se utiliza una suspensión de una cepa seleccionada de *Brucella abortus* cepa 1119-3, teñida con azul de metileno para hacer más fácil la lectura; luego se espera un período de incubación de 8 minutos y se interpreta. (3,7,21)

- PRUEBA DE FIJACION DEL COMPLEMENTO

Esta prueba se practica en muchos países para el diagnóstico de Brucelosis y es la que ha demostrado ser la más exacta y sensible. En brucelosis, mientras que ambos anticuerpos IgM e IgG fijan el complemento, la IgG₁ es mucho más efectiva que la IgM en la prueba de fijación de complemento. Esta prueba detecta anticuerpos producidos por la vacuna cepa 19 de *Brucella abortus* hasta los 6 meses después de la vacunación, no así las pruebas de seroaglutinación, que continúan detectándolos durante más tiempo. (3,16,21)

En animales con infección crónica, los niveles de anticuerpos tienden a disminuir con las pruebas de seroaglutinación, mientras que con las pruebas de fijación de complemento los niveles de diagnósticos persisten durante mucho tiempo. La capacidad de Fijación del Complemento se detecta más tardíamente que la aglutinante pero persiste durante largo tiempo (12 - 13 meses). (3,16,21)

En la Brucelosis aguda los títulos obtenidos por Fijación de Complemento son similares o ligeramente inferiores a los de seroaglutinación. En los casos de evolución crónica los resultados son semejantes a los obtenidos con la prueba de Coombs. (3,16,21)

- PRUEBA DE RIVANOL

La prueba de Rivanol fue desarrollada en 1964 por Anderson y constituye junto con la fijación de complemento (FC), las pruebas confirmatorias oficiales avaladas contra la Brucelosis Animal. La prueba de Rivanol se realiza a los sueros de animales positivos a la prueba de tarjeta, con la finalidad de diferenciar una respuesta post-vacunal de una respuesta de tipo infeccioso. (3,10,16,21,26)

El Rivanol es un colorante de acridina que tiene la capacidad de sedimentar las proteínas del suero, entre ellas las proteínas del tipo IgM que predominan en el caso de una vacunación o infección primaria, quedando los de tipo IgG, que se encuentran en mayor cantidad sólo en estimulaciones inmunogénicas posteriores, por lo que esta prueba posee una alta especificidad. (3,10,16,21,26)

Esta prueba consiste en colocar 0.4 ml de suero más 0.4 ml de rivanol, agitando posteriormente el tubo para dejarlo reposar por 5 minutos a 22°C. Luego se centrifuga a 1,500 revoluciones por 5 minutos. El sobrenadante del tubo posee únicamente inmunoglobulinas IgG. Posteriormente se hacen las mismas diluciones que la prueba en placa. (3,10, 16, 21, 26)

- PRUEBA DE LA ANTIGLOBULINA O DE COOMBS

La prueba fue diseñada para detectar anticuerpos monovalentes o incompletos que reaccionan con el antígeno homólogo sin producir aglutinación. La prueba se basa en el uso de un suero específico anti-especie para el animal problema, por ejemplo, suero antiglobulina humana

para investigar brucelosis en el hombre, antiglobulina de cerdo para estudiar la enfermedad en estos animales. (10, 16, 21)

- PRUEBA DE ROSA DE BENGALA (TARJETA O CARD TEST)

La prueba se basa en la inhibición de algunas aglutininas inespecíficas a pH bajo. Se emplea un antígeno corpuscular de 8% de concentración celular en una solución tope a pH 3.65. Esta prueba debe usarse como prueba complementaria. Los resultados se leen como positivo (+) o negativo (-). (3, 10, 16, 21)

Los resultados se pueden leer cuatro minutos luego de mezclar el antígeno con el suero sanguíneo. Es altamente específica y sensible, proporcionando reacciones positivas mucho antes que con la prueba de aglutinación en tubo; esto es debido a que la acidez del antígeno inactiva las IgM y solo se aglutinan las IgG. El antígeno que utiliza se colorea con rosa de bengala tamponada a un pH de 3.65 y la concentración de *Br. Abortus* es del 8%. (3, 10, 16, 21)

Es una prueba muy útil y rápida que fue recomendada en su día por el Comité Mixto FAO/OMS de Expertos

en brucelosis. Detecta fundamentalmente anticuerpos para el LPS (A+M). Consiste en una aglutinación en porta con brucelas suspendidas en tampón lactato (muy ácido) coloreado con Rosa de Bengala. Tiene un valor predictivo muy alto y tiene la ventaja de realizarse con el suero sin diluir. Es positiva en el 99% de los enfermos que padecen brucelosis o que han tenido contacto previo con el agente. (21)

Es una prueba que presenta escasísimos fenómenos de prozona por lo que su negatividad descarta prácticamente la enfermedad brucelar y su positividad, en presencia de síntomas, confirma la infección. Detecta el mismo tipo de anticuerpos que la seroaglutinación por lo que la correlación entre ellas es muy buena. Puede realizarse con diluciones seriadas del suero y obtener así un resultado cuantitativo en forma de título, pero desde el punto de vista económico este procedimiento es más caro que la aglutinación en tubo. (21)

Algunas muestras que tienen anticoagulantes pueden producir con este test fenómenos de floculación simulando resultados positivos. En manos experimentadas estos fenómenos son fácilmente distinguibles mediante la

observación con lupa del sobrenadante que adquiere un aspecto lechoso muy diferente de lo que ocurre con el control positivo. (21)

-PRUEBAS ENZIMATICAS (E.L.I.S.A.)

Desde hace algún tiempo están apareciendo diferentes trabajos y publicaciones sobre la aplicación de los test enzimáticos al diagnóstico serológico de la brucelosis. En casi todos ellos el antígeno ligado a la fase sólida es el lipopolisacárido de la pared bacteriana (*Brucella abortus* 99) más o menos purificado. En ocasiones se ha utilizado el microorganismo entero y en otros proteínas de membrana. Del análisis de la literatura está claro que estos test pueden detectar inmunoglobulinas específicas con sensibilidades que oscilan entre el 93 y 97% con una especificidad del 98%. Esta sensibilidad parece aumentar si el antígeno empleado es de naturaleza proteica. (16,21)

La aplicación experimental de estas pruebas evidenció la posibilidad de diagnosticar infecciones brucelares en estadios muy tempranos en los que la serología convencional aún no era positiva e incluso en algunos casos, confirmados por aislamiento del microorganismo, en

los que nunca fue positiva. La valoración de los resultados obtenidos con ELISA debe de ser individualizada esto es, comparando las concentraciones de las diferentes clases de anticuerpos a lo largo de la enfermedad medidas contra un *cut-off* que deberá establecerse. (16,21)

Desde el punto de vista cinético está suficientemente demostrado que durante la fase aguda existe una respuesta de anticuerpos clásica: aumento de IgM e IgG y que a lo largo de la evolución el título de IgM va descendiendo. Aunque algunos autores postulaban lo contrario los anticuerpos de clase IgM no vuelven a elevarse de forma significativa en los casos de una nueva recaída o de re-infección. (16,21)

La IgM puede detectarse con títulos decrecientes durante unos 8-10 meses. En los casos que evolucionan a la curación, la IgG específica puede ser detectada con títulos progresivamente decrecientes aproximadamente unos 30 meses y sólo se mantienen estables y elevados o aumentan en los casos de re-infección o recaída. ELISA IgA alcanza igualmente valores elevados en todas las formas de enfermedad y ocupa una posición intermedia entre ambas con persistencias medias de 18 meses. Al igual que

ELISA IgG se eleva en las recaídas y re-infecciones.
(16,21)

El problema de la utilización de estas pruebas surge de la poca experiencia clínica que existe para correlacionar los resultados con la evolución clínica. Pocos autores se han planteado la realización de ELISA total (IgG+IgM+IgA) como prueba diagnóstica única de gran sensibilidad para la búsqueda de anticuerpos. En este sentido parece que en el 99% de los pacientes con aislamiento positivo de brucella tienen esta prueba positiva a pesar de poder ser negativos alguno de los test clásicos. (16,21)

La aplicación de ELISA en la infección del SNC ha abierto los horizontes de su diagnóstico. El 99% de los LCR testados en estos casos son positivos para IgG y aproximadamente un 70-80% lo son también para IgM e IgA. Es una prueba muy específica de tal manera que su negatividad descarta prácticamente la neurobrucelosis. En esta forma clínica sólo la positividad de las pruebas clásicas (Rosa de bengala, aglutinación y coombs) puede confirmar la afectación del SNC pero existen falsos negativos por falta de sensibilidad. (16, 21)

- PRUEBA DEL MERCAPTOETANOL

La prueba se basa en la propiedad de los compuestos químicos con grupos sulfhídricos, como el 2-mercaptoetanol, de inactivar las inmunoglobulinas IgM. El mercaptoetanol es sensible a la luz y al calor y se deteriora rápidamente por exposición al aire. Se debe conservar en frascos ámbar herméticamente cerrados y en refrigeración.

(16, 21, 26)

- PRUEBA DEL ANILLO EN LA LECHE

(PAL)

La prueba del anillo detecta la presencia de anticuerpos en la leche. Estos anticuerpos reaccionan con el antígeno coloreado de brucella; forman con él 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. En ausencia de anticuerpos específicos, la capa de crema será blanca y la columna de leche estará coloreada por las células brucelas teñidas que contienen en suspensión. Esta prueba se emplea para diagnosticar la infección en rebaños. Su sensibilidad es tal que permite

detectar la infección en la leche de una sola vaca mezclada con muchas vacas sanas. (3, 10, 26)

4.1.11. TRATAMIENTO

No existe un tratamiento que pueda ayudar a eliminar las brucelas del organismo infectado, por lo que el procedimiento que debe tomarse es el rifle sanitario, eliminando a todo aquel animal positivo y elaborando pruebas de confirmación para animales sospechosos. Es recomendado el uso de la vacuna comercial para la prevención de esta enfermedad en los animales susceptibles. (3, 8,9,12,17, 24, 27)

El tratamiento de la Brucelosis en animales es generalmente insatisfactorio. Los antibióticos como las sulfonamidas, tetraciclínas y estreptomícinas solas o en combinación pueden ser parcialmente exitosas, pero no pueden eliminar la enfermedad. No hay información o existe muy poca sobre la eficacia de estos regímenes en los animales salvajes. (9)

4.1.12. PREVENCIÓN CONTROL Y ERRADICACIÓN

La prevención puede conseguirse erradicando la enfermedad en los animales domésticos mediante la vacunación y pasteurización de la leche. En la vacuna animal se han empleado las cepas *B. abortus* la *B. melitensis* Rev - 1. Para la prevención en los individuos

pertenecientes a grupos de riesgo se emplearon vacunas vivas atenuadas pero en la actualidad no se utilizan. (21)

Para la eliminación de la infección se reporta eficiente la utilización de tetraciclínas, sulfonamidas y estreptomícinas. El tratamiento profiláctico para el reno es la vacuna Cepa-19 a un décimo de la dosis bovina y puede ser útil para otros rumiantes exóticos. La vacunación produce títulos de anticuerpos de 1:3200 en el reno en dos semanas. Después de un año los títulos caen a 1:50. (3,7,8,9,24, 27)

En animales domésticos, la Brucelosis puede ser controlada con una vacunación efectiva o puede ser erradicada usando un sistema de prueba y sacrificio. Algunos investigadores especulan que se puede usar el mismo sistema para los animales salvajes, no obstante, hay pocos datos para confirmar esta hipótesis. (8)

Los animales transportados de los rebaños endémicos no deben ser mezclados con los demás animales sanos hasta que se haya cumplido un ciclo reproductivo completo y sean seronegativos a varias pruebas repetidas. (8)

Existen varias soluciones alternativas para el conflicto de la Brucelosis en la vida salvaje y animales salvajes en cautiverio, en las cuales existe mucha controversia.

- Erradicación de toda la población de reservorios significantes de la enfermedad.
- Realizar pruebas serológicas a todos los animales y eliminar a los positivos a Brucelosis.
- Vacunación intensiva de todos los animales.
- Vacunación de los animales después de la prueba y eliminación.
- Eliminar los pastizales para reducir el área de infección.
- Crear un hábitat más conveniente para el invierno como una alternativa para los pastizales.
- Vacunar animales domésticos susceptibles.
- Eliminar animales domésticos susceptibles.
- Abandonar el programa de erradicación de Brucelosis.
- Manejar el riesgo de la transmisión de la enfermedad entre la vida salvaje y los animales domésticos. (9)

4.1.13. DESCRIPCIÓN DE INDIVIDUOS MUESTREADOS

4.1.13.1. CERVIDOS

La familia de los Cérvidos es una de las más prósperas de los grandes mamíferos en el mundo. Se encuentran distribuidos en casi todas partes. En Europa, Asia, África, Norte América y por supuesto en los trópicos de Centro y Sur América. Son animales exclusivamente herbívoros, con cascos en las patas, cuerpos esbeltos y largas y finas patas. La mayoría de ellos llevan cornamentas en la cabeza. Las dos especies de venado que se encuentran en Guatemala son, El Húitzil (*Mazama americana*) y el Venado Cola Blanca (*Odocoileus virginianus*). (2,4,5,13,18,20,23)

- CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LOS CERVIDOS

Entre las características generales podemos mencionar que poseen cuatro dedos en sus extremidades posteriores, dos de los cuales están atrofiados y los dos restantes forman el casco que está cubierto por una capa muy dura como una gruesa uña, lo que le permite correr más rápidamente porque se apoya sobre la punta de sus dedos. (2,4,5,13)

Las cornamentas de los cérvidos son diferentes de los cuernos de las vacas. Los cuernos son para siempre porque en su interior hay un hueso unido al esqueleto, que está cubierto por una fina capa de piel, y sobre ella, una capa de queratina. Las ornamentas en cambio son enteramente de hueso sólido. Todos los años se desprenden del esqueleto, se mudan, y luego crecen otras nuevas. Únicamente los cérvidos poseen cornamenta ramificada. (2,4,5,13,18,20,23)

Los cérvidos son capaces de ver en todas las direcciones menos detrás de ellos. No ven los objetos tan claramente como el hombre, pero pueden rápidamente captar el movimiento. El estómago de los cérvidos está dividido en cuatro cámaras: La primera es como un gran almacén que llena con el alimento. Cuando se siente seguro, devuelve este alimento a la boca en pequeñas porciones que va masticando y luego las digiere de nuevo. Esta vez, el alimento triturado va a la segunda cámara donde empieza la digestión. Después de una hora o dos en la segunda cámara, el alimento va a la tercera y cuarta cámaras en donde al cabo de unas 20 horas queda completamente

digerido y convertido en energía lista para ser utilizada por el cuerpo del venado. (2,4,5,13,18,20,23)

Casi todos los ciervos tienen una glándula facial cerca del ojo que contiene una sustancia de esencia fuerte, llamada feromona, empleada para marcar el territorio. Los machos de muchas especies segregan esta sustancia cuando están irritados o excitados por la presencia de otros machos. Todos los ciervos, excepto el ciervo almizclero, poseen un hígado desprovisto de vesícula biliar. (23)

- CLASIFICACION TAXONOMICA DE LOS CERVIDOS DE GUATEMALA

REINO	Animal
PHYLLUM	Cordados
CLASE	Mammalia
ORDEN	Artiodactyla
SUBORDEN	Ruminantia
INFRAORDEN	Pecora
SUPERFAMILIA	Cervoidea

FAMILIA Cervidae

GENERO Y ESPECIE *Odocoileus virginianus*

Mazama americana (23)

- HÜITZIZIL (*Mazama americana*)

NOMBRES CIENTÍFICOS Y VERNACULOS

Mazama americana: Hüitzizil, cabrito, cabrito rojo, temazame, corzo gamo, venadito rojo, venado de montaña, yuk (maya lacandon). Brouck deer. (18,20,23)

Es un mamífero mediano, del tamaño de una cabra chica, pesando de adulto entre 12 y 24 Kg. Su cuerpo es esbelto con patas largas y delgadas adaptadas para la carrera; su cabeza es pequeña, de orejas medianas y redondeadas, sus ojos son grandes. El pelaje es denso y de color rojizo, con las partes ventrales del cuerpo de color blanco y el cuello pardo. Los machos tienen en la frente un mechón de pelos ásperos y más largos, además ostentan unas astas rectas sin ramificaciones que mudan irregularmente. (2,4,5,13,18,20,23)

Es un animal solitario, sin embargo, frecuentemente se observa en parejas o una madre con cría. No acostumbra vivir en lugares abiertos, es activo tanto de día como de noche aunque frecuentemente se esconden durante el día; cuando pastan por la noche ellos se aventuran libremente en áreas despejadas alimentándose de retoños, frutas silvestres y algunas cortezas jugosas. Este bello ciervo es un animal muy confiado y curioso, difícil de criar en cautiverio pues es muy delicado. Tiene la costumbre de defecar en un lugar determinado, hasta que se forman verdaderos montículos de estiércol. (2,4,5,13,18,20,23)

El apareamiento puede tener lugar en cualquier época del año. El período de gestación no se conoce y la camada puede estar formada por 1 o 2 crías que al nacer tienen una coloración rojiza con motas blancas. Sus enemigos naturales son El Jaguar, El Ocelote y El Puma. (2,4,5,13,18,20,23)

- VENADO COLA BLANCA (*Odocoileus virginianus*)

NOMBRES CIENTÍFICOS Y
VERNACULOS

Odocoileus virginianus: Venado cola blanca, venado de campo, venado saltón, ciervo de virginia, venado de llano, ké, (maya lacandón), white tailed deer.

Se encuentra desde el sur de Canadá, Centroamérica, hasta el sur de Bolivia. En Guatemala su distribución es general dentro del país, habita en la mayoría de los departamentos se le puede encontrar desde los bosques lluviosos de las Verapaces, las húmedas y cálidas tierras de la Franja Transversal del Norte, en las tierras bajas y calidad de la costa sur y sabanas de Petén e Izabal hasta las tierras frías y montañosas del occidente del país. (2,4,5,13,18,20,23)

El venado cola blanca es pequeño, con una cola levantada verticalmente cuando el animal corre. Mide de 1 a 1.3 metros de largo, la cola mide de 18 a 27 centímetros, tiene una altura de 1.2 metros hasta la cruz. Los machos pesan de 36 a 57 kg y las hembras de 27 a 45 kg. El pelaje es leonado pardo-amarillento, la grupa es blanca en contraste con la cola bordeada de negro. Tiene astas curvadas hacia delante, las cuales adquieren su tamaño normal en 4 años y se reducen paulatinamente en años sucesivos. (2,4,5,13,18,20,23)

Tiene actividad tanto de día como de noche. Viven en pequeños grupos y los machos adultos tienden a separarse de las hembras y de los jóvenes durante todo el tiempo, excepto en la época de reproducción en donde atacan a otros machos pateando el suelo y embistiéndose, donde cada macho logra quedarse hasta con cuatro hembras. La época de apareamiento es por lo general en los meses de junio a octubre, siendo más temprano en la zona costera y más tardía en la zona central. (2,4,5,13,18,20,23)

El período de gestación es de 205 a 212 días, dando a luz uno o dos cervatillos café moteados de blanco, llegan a su madurez sexual en 7 meses. Viven alrededor de 10 años, pero en cautiverio pueden vivir hasta 30 años. (2,4,5,13,18,20,23)

4.1.13.2. LLAMA (*Lama glama*)

- CLASIFICACION TAXONOMICA DE LAS LLAMAS

REINO	Animal
PHYLLUM	Cordados
CLASE	Mammalia
ORDEN	Artiodactyla

SUBORDEN Tilópodos

FAMILIA Camélidos

GENERO Y ESPECIE *Llama glama*

Nombre común de un camélido rumiante propio de América del Sur. La llama se distribuye por Chile (en la puna de Atacama), el noroeste de Argentina, el oeste de Bolivia y el sur de Perú. Estos animales están perfectamente adaptados a su hábitat y en especial a la falta de oxígeno que se da a grandes altitudes. Se sabe que la hemoglobina de los glóbulos rojos de la llama posee una afinidad mayor por el oxígeno que la que presenta la hemoglobina del hombre; además, el número de glóbulos rojos es mayor. (3,5,6,13,18,20)

Una llama adulta mide entre 90 cm y 1,3 m a la altura de la cruz y el color de su pelo suele ser blanco con manchas de color negro o castaño; algunos individuos pueden ser completamente blancos o negros. Al igual que sus parientes, la vicuña, el guanaco y la alpaca, las llamas son animales sociales que viven formando rebaños que generalmente están compuestos por un macho dominante

y las hembras acompañadas de sus crías; el resto de los machos forman un rebaño aparte. (2,4,5,13,18,20)

Es fácil observar a los machos peleando durante la época de celo, cuando alguno intenta ocupar el puesto dominante del otro; en esta situación, la hembra puede lanzar al contrincante un escupitajo compuesto por saliva y comida semi-digerida. Este comportamiento también es utilizado como defensa frente a otros enemigos. Tras un periodo de gestación de alrededor de 11 meses, la hembra pare una sola cría, aunque en raras ocasiones son dos. (2,4,5,13,18,20)

4.1.13.3. BORREGO DE BERBERIA (*Ammotragus levia*)

- CLASIFICACION TAXONOMICA DE LOS BORREGOS

REINO	Animal
PHYLLUM	Cordados
CLASE	Mammalia
ORDEN	Artiodactyla

SUBORDEN Ruminantía

FAMILIA Bóvidos

GENERO Y ESPECIE *Ammotragus lervia* (18, 20)

Se encuentran en las tierras altas entre las zonas de desierto y sub-desierto desde Marruecos y el oeste del Sahara a Egipto y el Sudán. Se ubican en terrenos áridos, rocosos y accidentados. La total falta de vegetación nos dice mucho de su habilidad para esconderse de los peligros por medio de la quietud. Como el agua es escasa, es hábil para conseguir los líquidos de vegetación verde y el sereno que se acumula durante las noches frías del desierto. (2,4,5,13,18, 20)

Sus hábitos sociales son casi familiares, puesto que vive en pequeños grupos, en los que los viejos machos, solitarios y esquivos, abandonan su aislamiento durante la estación de apareamiento para enfrentarse con furia a sus rivales. En Nigeria, el apareo toma lugar en julio y agosto, pero se sabe que la actividad reproductiva es en todo el año, pero el apareo es desde septiembre hasta noviembre y los nacimientos son de marzo a mayo. Las hembras tienen dos partos al año. El período de gestación es de 154 – 161

días. Son comunes los gemelos y son raros los trillizos, pero son más usuales los partos simples. La madurez sexual se alcanza al año y medio de edad. Una característica poco común es que las hembras pueden quedar preñadas cuando todavía se encuentran amamantando una cría. (2,4,5,13,18,20)

4.1.13.4. CABRA DE CAMERUN (*Capra aegagrus*)

- CLASIFICACION TAXONOMICA DE LAS CABRAS

REINO	Animal
PHYLLUM	Cordados
CLASE	Mammalia
ORDEN	Artiodactyla
SUBORDEN	Ruminantia
FAMILIA	Bóvidos
SUBFAMILIA	Caprinos
GENERO Y ESPECIE	<i>Capra aegagrus</i> (18,20)

Especies de mamíferos provistos de pezuñas y cuernos, estrechamente emparentados con la oveja. La cabra y la oveja difieren en que la primera tiene una cola más pequeña, sus cuernos son largos y están dirigidos primero hacia arriba, y luego hacia atrás y hacia fuera, mientras que los de la oveja forman una espiral. Los machos tienen una barba (que no está presente en el macho de la oveja o carnero), y desprenden un olor fuerte característico en época de celo. La cabra hembra posee cuernos más pequeños que el macho, el cual recibe el nombre común de macho cabrío. A las crías se les llama cabritos. (2,4,5,13,18,20)

Las cabras son nómadas en estado salvaje y viven en hábitats montañosos. Son animales ágiles con adaptaciones que les permiten dar grandes saltos de roca a roca, y caer con las patas anteriores muy juntas. La seguridad en el agarre de sus pezuñas a la superficie rocosa se debe a las características morfológicas de éstas. El *subunguís* (capa interna de la pezuña), es más suave que el *unguís* (capa externa de la pezuña), y se desgasta con mayor rapidez. El *subunguís* amortigua el fuerte impacto causado sobre la pezuña cuando el animal cae, se desgasta y mantiene el crecimiento continuo del borde duro de la pezuña. Las cabras son gregarias,

excepto los machos viejos, que suelen vivir solos y, a veces, actúan como centinelas o avanzadillas en las cercanías del rebaño. (2,4,5,13,18,20)

Las cabras salvajes se alimentan de hierbas en las zonas de pastos y, en las zonas más altas de las montañas, de ramas y hojas de matorral. El apareamiento tiene lugar en el otoño. El periodo de gestación dura cinco meses, aunque en ciertas especies puede prolongarse durante algunas semanas más. La hembra suele parir dos cabritos, capaces de seguir al rebaño al poco tiempo de nacer. La madurez sexual se alcanza a la edad de dos o cinco años, según la especie. (2,4,5,13,18,20)

4.1.13.5. OVEJA (*Ovis ammon aries*)

- CLASIFICACION TAXONOMICA DE LAS CABRAS

REINO	Animal
PHYLLUM	Cordados
CLASE	Mammalia
ORDEN	Artiodactyla

SUBORDEN Ruminantía

FAMILIA Bóvidos

SUBFAMILIA Caprinos

GENERO Y ESPECIE *Ovis ammon aries* (18,20)

Mamíferos herbívoros que pertenecen a un único género y se encuentran en estado salvaje o domesticado. Se llama carnero al macho de la oveja y cordero o borrego a las crías, según la edad. Las variedades domésticas constituyen las ovejas típicas; son las que están distribuidas con mayor amplitud y se encuentran en casi todos los países del mundo. Por el contrario, las especies salvajes tienen un área de distribución más restringida y reciben otros nombres. (2,4,5,13)

- Características

Las ovejas son animales ungulados (con extremidades acabadas en pezuñas) y dotados de un número par de dedos. Rumian la comida, carecen de incisivos superiores y tienen un estómago formado por cuatro cámaras. Tienen cuernos no ramificados permanentes (no se mudan); los del macho suelen ser robustos, curvados y en espiral, mientras que los de la hembra son cortos y menos curvados.

Las ovejas tienen el morro estrecho y largo; la longitud del cuerpo es de 1,5 m, la cola es corta y el peso oscila entre 75 y 200 kg. En la naturaleza son animales bastante ágiles y bien adaptados al medio donde habitan. La hembra por lo general pare una cría (cordero) aunque pueden ser hasta tres después de un periodo de gestación de unos 150 días. Viven hasta 20 años.
(2,4,5,13,18,20)

4.1.13.6. VACA JERSEY (*Bos taurus*)

- CLASIFICACION ZOOLOGICA DE LOS BOVINOS

REINO	Animalia
PHYLLUM:	Cordata
SUBPHYLLUM:	Vertebrata
CLASE:	Mammalia
ORDEN:	Artiodactyla
SUBORDEN	Rumiantes
FAMILIA:	Bóvidos
GENERO Y ESPECIE	<i>Bos taurus</i> (18,20)

Mamíferos herbívoros domesticados del género *Bos*, de la familia Bóvidos, que tienen gran importancia para el hombre, quien obtiene de ellos carne, leche, cuero, cola, gelatina y otros productos comerciales. El ganado vacuno actual se divide en dos especies: *Bos taurus*, que tuvo su origen en Europa e incluye la mayoría de las variedades modernas de ganado lechero y de carne, y *Bos indicus*, que tuvo su origen en India y se caracteriza por una joroba en la cruz (entre los hombros). Este último está muy extendido en África y Asia y en número menor, ha sido importado en América. (2,4,5,13,18,20)

Las características generales del ganado vacuno quedan descritas en su clasificación. Pertenece al orden Artiodáctilos (mamíferos de número par de dedos con pezuñas) y al suborden Rumiantes (estómagos divididos en cuatro compartimentos y con un número reducido de dientes, sin incisivos). Como otros miembros de la familia Bóvidos, tienen dos cuernos o astas huecos y sin ramificar que conservan durante toda la vida. Otros bóvidos están tan íntimamente emparentados con el verdadero ganado vacuno que aún pueden hibridarse entre sí, como el anoa, el bisonte, el gaur, los búfalos

indios y africanos y el yak. (2,4,5,13,18,20)

En estado salvaje, los bovinos son animales gregarios y de costumbres nómadas. Se alimentan de hierba y otras plantas, y comen con rapidez para más tarde masticar y digerir despacio. El período de gestación es de nueve meses y paren una o dos crías. (2,4,5,13,18,20)

V MATERIALES Y METODOS

5.1. AREA DE ESTUDIO

El presente estudio se realizó en el parque Zoológico Nacional “La Aurora”, situado en la ciudad capital de Guatemala, Finca La Aurora zona 13, a 1,510 metros sobre el nivel del mar. Dicho zoológico cuenta con 13 manzanas con abundante cantidad de árboles.

Este parque fue construido por el Coronel Herlindo Solórzano por mandato del Presidente José María Orellana, quien asignó 544 manzanas de extensión. Fue creado con la idea de formar un jardín público llamado “La Reforma”. Con el pasar del tiempo le fueron quitando terrenos al parque, tanto para fines particulares como para edificaciones gubernamentales, entre ellos el INSHIVUME, el Hipódromo del Sur y la Dirección General de Caminos, esto durante la época del General Jorge Ubico, quedando el resto del parque en un total abandono. Así se fue desglosando el parque hasta que quedaron aproximadamente 8 manzanas. En 1963 el parque comienza a ser manejado por la Asociación Guatemalteca de Historia Natural. No es sino hasta 1992, con la presidencia del Ingeniero Serrano Elías, quien ordena devolver al Zoológico La Aurora parte de los terrenos ocupados por “La Arena” y otras dependencias, aumentando entonces su área a aproximadamente 13 manzanas.

5.2. MATERIALES

5.2.1. Recursos Humanos

- Tres Médicos Veterinarios
- Un Sustentante

5.2.2. De Laboratorio

5.2.2.1. Prueba SAT

- Probetas de 500 ml.
- Beakers de 500 ml
- Papel mayordomo
- Gradillas de alambre
- Pipetas de 10 ml
- Pipetas de 2 ml
- Pipetas de 1 ml
- Pipetas especiales de Bang
- Tubos de Wassermann de 13 mm x 100 mm
- Incubadora

- Caja de Huddleson
- Mechero
- Maskin tape

5.2.2.2. Prueba Card Test

- Placa de vidrio con divisiones con esmeril
- Pipetas de Bang
- Pipetas Pasteur
- Palillos
- Reloj
- Caja de Huddleson
- Papel mayordomo

5.2.2.3. Prueba de Rivanol

- Centrifuga
- Tubos de ensayo
- Pipetas de 1 ml.
- Placa de vidrio con divisiones con esmeril

- Palillos
- Reloj
- Caja de Huddleson

5.2.3. De Campo

- Lazos o tiras
- Tubos al vacío con anticoagulante (Vacutainer®)
- Agujas para sangrar al vacío
- Hielera
- Hielo

5.2.4. De Tipo Biológico

- Sueros sanguíneos problema.

5.2.4.1. Prueba SAT

- Solución salina fenolada.
- Antígeno no coloreado diluido 1:100 al 0.045%.

5.2.4.2. Prueba Card Test

- Antígeno ácido de Card Test (pH 3.65).

5.2.4.3. Prueba de Rivanol

- Reactivo Lactato de 2 etoxi-6-9-diamino acridina (rivanol).

5.3. METODOS

5.3.1. PRUEBA DE ROSA DE BENGALA, CARD TEST,

1. La prueba se basa en la inhibición de algunas aglutininas inespecíficas a pH bajo. Se emplea un antígeno corpuscular de 8% de concentración celular en una solución tope a pH 3,65. Esta prueba esta considerada dentro de las pruebas complementarias o suplementarias. Esta prueba detecta IgG y su fundamento técnico consiste en que por ser prueba del antígeno ácido (3.65) inhiben los anticuerpos IgM y a los anticuerpos IgG no les afecta. En las etapas iniciales de Brucelosis se forman IgM, las IgG se forman después, entonces hay que considerar que si hacemos la prueba en estas etapas iniciales de la brucelosis la prueba puede resultarnos negativa. (10,12, 14,17,26)

5.3.1.1. TECNICA

1. Colocar 0,03 ml de plasma o suero problema sobre uno de los cuadrados de la lámina de vidrio.
2. Colocar una gota (0,03 ml) de antígeno rosa de bengala (de card test) cerca de la gota del suero.
3. Mezclar bien el suero y el antígeno utilizando un agitador o montadientes distinto para cada muestra. La superficie ocupada para cada muestra debe tener un diámetro de 23 a 24 mm.
4. Hacer girar la lámina o tarjeta durante cuatro minutos a razón de 10 – 12 movimientos por minuto. Esto se puede hacer en forma manual o con rotadores diseñados especialmente.
5. El resultado de la prueba se lee a los cuatro minutos sobre un fondo blanco. Las reacciones positivas presentan grumos de aglutinación, que pueden ser grandes o pequeños.

2. La prueba es cualitativa, por lo que el resultado se informa como positivo o negativo. (10,12, 14,17,26)

5.3.1.2. INTERPRETACION

En animales que nunca fueron vacunados, la reacción positiva es un indicador de infección muy probable.

3. Es aconsejable utilizar la prueba como tamiz y someter los sueros que presentan algún tipo de reacción a una prueba confirmatoria como, por ejemplo, la de aglutinación lenta o la de fijación del complemento. (10,12,14,17,26)

5.3.1.3. PRECAUCIONES

4. El antígeno debe mantenerse en refrigeración a una temperatura de 4 a 8 grados centígrados; se debe evitar su congelación, porque queda inutilizado para la prueba.
5. Tanto el antígeno como el suero deben mantenerse a temperatura ambiente por lo menos una hora antes de realizar la prueba.
6. Los goteros deben lavarse con agua destilada al terminar la jornada de trabajo. (10,12,14,17,24)

5.3.2. PRUEBA DEL RIVANOL

La Prueba se basa en la precipitación de la albúmina y las macroglobulinas por la acción del lactato de 2 etoxi-6-9-diamino acridina (rivanol).

5.3.2.1. EQUIPO Y REACTIVOS NECESARIOS

1. Antígeno para la prueba del rivanol.

2. Solución rivanol al 1%.
3. Tubos de ensayo 13 x 100 o similares.
4. Pipetas serológicas Bang.
5. Placa de vidrio dividida en cuadrados de 3.5 cms de lado.
6. Caja aglutinoscopio con fondo negro y luz indirecta.
7. palillos mondadientes o un agitador múltiple.
8. Gotero calibrado para 0.03 ml/gota.
9. Reloj de laboratorio.
10. Centrifuga.

5.3.2.2. TECNICA

- a) El suero problema, el antígeno y la solución de rivanol deben estar a temperatura ambiente por lo menos una hora antes de realizar la prueba.
- b) En un tubo pequeño, depositar 0,4 ml de suero problema. Agregar 0,4 ml de solución rivanol y mezclar bien agitando el tubo y dejar a temperatura ambiente no menos de 10 minutos y no más de una hora.

- c) Centrifugar las mezclas a 2000 r.p.m. por 5 a 10 minutos.
- d) Con pipeta serológica Bang, aspirar el líquido sobrenadante y hacer una prueba de aglutinación. En una placa de vidrio clara y limpia, depositar cantidades de 0,08; 0,04; 0,02; y 0,01 ml.
- e) Agregar una gota (0,03 ml) de antígeno rivanol a cada cantidad de líquido sobrenadante, mezclar con un palillo mondadientes o agitador múltiple, comenzando con la cantidad más pequeña (0,01 ml). Cada dilución debe ser extendida de forma que cubra la superficie indicada para la prueba estándar de aglutinación en placa.
- f) Si se usa agitador metálico, enjuagarlo y secarlo bien antes de pasar a la muestra siguiente.
- g) Inclinar la placa imprimiéndole movimiento circular y haciéndola girar 4 veces. Preparar el reloj para que suene a los 12 minutos.
- h) Transcurridos 6 minutos, girar 4 veces la placa en la forma indicada en el punto anterior. A los 12
- i)

- j) minutos rotar nuevamente la placa y efectuar la lectura con luz indirecta sobre fondo negro.

5.3.2.3. INTERPRETACION

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

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

Cualquiera se el título de reacción, se interpreta como infectado, ya que la prueba solamente detecta anticuerpos del grupo IgG en la misma forma que en la prueba del mercaptoetanol. El rivanol puede causar cierta precipitación de inmunoglobulinas IgG, por lo cual el título final puede ser inferior al obtenido con la prueba de mercaptoetanol. (10,12,14,17,26)

5.3.3. METODO PARA LA PRUEBA EN TUBO SAT-A

En el diagnóstico de rutina de sueros se usa el sistema de diluciones por medio de una pipeta graduada, se colocan cantidades de suero claro en cada tubo de los cuatro tubos de aglutinación, agregando luego el antígeno a cada tubo para obtener diluciones de 1/25, 1/50,

1/100 y 1/200 respectivamente. La lectura de las pruebas se hace después de 40 a 48 horas de incubación a 37.5° C. la aglutinación del antígeno bajo la forma de grumos y su depósito del fondo del tubo por gravedad determina la clarificación del líquido en el tubo, manteniéndose los grumos firmes después de una leve agitación del tubo. La aglutinación es el resultado directo de la acción específica de las aglutininas del suero, con las brucelas del antígeno. El título final de aglutinación del suero es el dado por la dilución del último tubo, en el que se presenta una clarificación evidente, manteniéndose los grumos firmes a pesar de una agitación leve. Si esto ocurre, por ejemplo, en los tres primeros tubos, solamente, el título del suero es de 1/100.
(25)

5.3.3.1. Dilución del antígeno.

El antígeno a emplear ha sido estandarizados previamente y mantenido en concentración de 4.5% de brucelas. En la prueba se usa al 0.045%, por lo que debe diluirse 100 veces en solución salina al 0.85% que contiene 0.5% de fenol. Se recomienda hacer esta dilución 12 horas antes de sus uso.
(25)

5.3.3.2. Instrumental necesario.

Tubos de serología tipo Wassermann de 13 mm. por 100mm., de vidrio claro y completamente limpios.

Gradillas de alambre para sostener tubos. Pipetas de 0.2ml. en graduaciones de 0.01ml. o especialmente graduadas (pipetas de Bang) para 0.08; 0.04; 0.02; 0.01 y 0.005 ml., respectivamente. Si es necesario se puede utilizar un pipeta calibrada para varias pruebas, siempre que se le enjuague y se la seque entre cada prueba tanto como sea posible.

Pipeta de 10 ml. de capacidad.

Estufas para incubar a 37° C

Refrigeradora para almacenar muestras de sangre durante las pruebas. (25)

5.3.3.3. Procedimiento de rutina para diluciones.

Las muestras de sangre deben ser numeradas claramente. Después de la centrifugación para separar el suero del coágulo, los tubos de sangre se colocan en orden en las gradillas. Se numeran estas para la prueba y el primer tubo de cada hilera, en filas de 4, de manera que concuerden con las muestras de suero. Se extrae por succión una cantidad de suero ligeramente mayor a la que se requiere para la prueba; se deja correr el exceso en el tubo de suero hasta que la base del menisco en la luz de la pipeta toque la línea de la graduación requerida. La pipeta se inserta en el primer tubo y se deposita 0.08 ml. del suero en el fondo del

mismo, se retira la pipeta a lo largo de las paredes del tubo para permitir que se deposite el suero detenido en la punta de la pipeta, 0.04 ml. se distribuyen en el segundo tubo, 0.02 ml. en el tercero, y 0.01 ml. en el cuarto. Por este método no se pueden efectuar con exactitud mayores diluciones. Se procede en igual forma con las otras muestras hasta completar la serie. No deben utilizarse pipetas cuyas puntas estén rotas. (25)

Se distribuyen con pipeta 2 ml. del antígeno (0.045% de brucelas) en cada una de los tubos con suero. En esta forma las diluciones del suero corresponden a 1/25, 1/50, 1/100 y 1/200, respectivamente. Las gradillas con los tubos se agitan levemente para asegurar la mezcla del suero con el antígeno, y se lleva a la estufa a 37.5° C. Las muestras de sangre se llevan a la refrigeradora hasta que se haga la lectura final de todas las pruebas. (25)

5.3.3.4. Incubación.

La incubación tiene por objeto obtener en el tiempo más corto posible el máximo de aglutinación. Se ha determinado que la incubación a 37.5° C. durante 40-48 hrs., es suficiente para obtener el máximo de aglutinación en un suero de bajo

contenido de aglutininas, 1/400 o menos. Este período de incubación es suficiente para el diagnóstico de rutina. (25)

5.3.3.5. Lectura de las pruebas.

Debe hacerse contra un fondo negro opaco con una fuerte luz que atraviese los tubos. Las fuentes extrañas de luz se deben reducir. Las determinaciones se deben basar tanto en la claridad de las mezclas como en el grado de aglutinación del antígeno y en la firmeza de los grumos al agitar suavemente el tubo. El grado de aglutinación en cada una de las distintas diluciones puede clasificarse como completo (+), incompleto (I) o negativo (-). Los límites de exactitud inherentes a la prueba no justifican una clasificación más detallada para el diagnóstico rutina.

Aglutinación completa. Es aquella en que el líquido de la mezcla suero-antígeno aparece clara y la agitación suave no rompe los grumos.

Aglutinación incompleta. Es la que muestra la mezcla suero antígeno parcialmente clara y una suave agitación no rompe los grumos.

Aglutinación negativa. Es aquella en que la mezcla suero-antígeno no parece clara y una suave agitación no revela grumos. (25)

5.4. METODOLOGIA DE CAMPO TAMAÑO DE LA MUESTRA

Se muestreó todo el universo de animales del Orden Artiodáctyla.

La restricción de los animales se realizó de forma manual, ayudados por lazos en un grupo de animales, y en el otro grupo se utilizó restricción química.

Se realizó la toma de muestra sanguínea de la vena yugular en todos los animales y se llenó una ficha de identificación por cada animal. Los animales están identificados por un microchip el cual se utilizó como número de registro.

La muestra sanguínea se recolectó en un tubo al vacío sin anticoagulante (vacutainer®) identificando cada muestra. Luego se procedió a separar el suero y llevarlo al laboratorio para su procesamiento.

A todos los sueros muestreados se les realizó la prueba de SAT-A, luego se efectuó la interpretación de los resultados y se anotó debidamente en la ficha de control individual. A los sueros se les efectuaron después las pruebas confirmativas de Card test y Rivanol. Se tabularon los datos obtenidos en cada una de las pruebas para la interpretación de los resultados.

5.5. DISEÑO ESTADISTICO

No se requiere por ser un estudio descriptivo.

5.6. ANALISIS ESTADISTICO

Variables:

- Género
- Sexo
- Procedencia

Se utilizó distribución porcentual y prueba de Chi cuadrado.

VI RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se muestrearon 42 animales, 14 machos y 28 hembras, la distribución se presenta en el cuadro No. 1 que representa la población de animales del Orden Artiodáctila que habitan en el Zoológico Nacional "La Aurora".

Cuadro No. 1 Distribución de animales del Orden Artiodáctila
muestreados en el Zoológico Nacional La Aurora
Agosto de 2002.

ESPECIE	TOTAL	MACHOS	HEMBRAS
Borrego de Berbería (<i>Ammotragus leviá</i>)	17	6	11
Vaca Jersey (<i>Bos taurus</i>)	1	0	1
Oveja Común (<i>Ovis aries</i>)	5	2	3
Cabra de Camerún (<i>Capra aegagrus</i>)	7	2	5
Hüitzzil (<i>Mazama americana</i>)	3	2	1
Venado Cola Blanca (<i>Odocoileus virginianus</i>)	7	1	6
Llama (<i>Lama glama</i>)	2	1	1
TOTAL	42	14	28

Se realizaron las pruebas de Seroaglutinación en tubo (SAT), Card test y Rivanol, obteniéndose los resultados que se muestran en el cuadro No. 2.

Cuadro No. 2 Resultados obtenidos en las pruebas de SAT, Card test y Rivanol en los animales del Orden Artiodáctila muestreados en el Zoológico Nacional La Aurora. Agosto de 2002.

ESPECIE		SAT		C.T.		RIV.	
		(+)	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)
Borrego de Berbería (<i>Ammotragus lervia</i>)	17	2	15	0	17	0	17
Vaca Jersey (<i>Bos taurus</i>)	1	1	0	0	1	0	1
Oveja Común (<i>Ovis aries</i>)	5	2	3	0	5	0	5
Cabra de Camerún (<i>Capra aegagrus</i>)	7	0	7	0	7	0	7
Hüitzzil (<i>Mazama americana</i>)	3	0	3	0	3	0	3
Venado Cola Blanca (<i>Odocoileus virginianus</i>)	7	1	6	0	7	0	7
Llama (<i>Lama glama</i>)	2	0	2	0	2	0	2
TOTAL	42	6	36	0	42	0	42

SAT = Sero Aglutinación en Tubo

C.T. = Card Test

RIV. = Rivanol

En el caso de la prueba de SAT, se encontró que la especie *Ammotragus lervia* presentó individuos positivos a los títulos 1:25 y 1:50 una hembra y un macho respectivamente.

La especie *Bos taurus* presentó una hembra positiva con título de 1:25; La especie *Ovis aries* presentó positivos en los títulos de 1:25 y 1: 100 una hembra y un macho respectivamente; Y la especie *Odocoileus virginianus* presentó una hembra positiva mostrando un título de 1:100, como se muestra en el cuadro No. 3.

Cuadro No. 3 Seropositividad a la Prueba SAT por especie en hembras y machos del Orden Artiodáctila muestreados en el Zoológico Nacional La Aurora . Agosto de 2002.

ESPECIE	MACHOS	HEMBRAS
Borrego de Berbería <i>Ammotragus lervia</i>	1	1
Venado cola blanca <i>Odocoileus virginianus</i>	0	1
Oveja <i>Ovis aries</i>	1	1
Vaca Jersey <i>Bos taurus</i>	0	(+) Sosp.

La seropositividad a la prueba SAT no dependió de la especie ($\chi^2 = 10.79$, g.l. = 6, $p > 0.05$).

Dado que la prevalencia para todos los tipos de recinto fue cero, se acepta la hipótesis nula, planteada en el diseño del presente estudio, es decir, el tipo de recinto no afecta la prevalencia.

En los resultados obtenidos en las pruebas de Card test y Rivanol el 100% de los sueros fueron negativos; sin embargo en la prueba de SAT se encontró un 14% sueros positivos.

Estos resultados pueden deberse a que las inmunoglobulinas contenidas en los sueros de los animales son de tipo IgM e IgA y estas son de tipo inespecífico, por lo tanto, dieron resultados falso positivos a la prueba de SAT, no así a las pruebas complementarias (Card test y Rivanol), porque estas pruebas inactivan dichas inmunoglobulinas y solamente detectan las IgG que son específicas, por lo que se demostró que estos anticuerpos son de tipo heteroespecífico.

La obtención de estos resultados heteroespecíficos puede deberse al padecimiento de otros procesos como parasitismo o tratamiento con inmunoestimulantes como el Acido Yatrenico más Caseína libre de protalbumosa (Yatren Caseína®), o bien que se encuentren en etapa de recuperación de enfermedades tal y como lo describe la literatura. (19)

La aparición de reacciones heteroespecíficas posiblemente se debe a que en el lugar se aplica el Yatren Caseína®¹ como medida rutinaria cuando se manipulan los animales y para reducir los efectos indeseables de la captura los cuales se presentan días después. Es posible por lo tanto que los reactores positivos a SAT hayan sido tratados con este producto previamente.

El Yatren Caseína® (Acido Yatrenico más caseína libre de protalbumosa), es una sustancia proteínica que conduce a un aumento de la proporción de leucocitos circulantes, la caseína provoca el aumento de la fagocitosis e incrementa los mecanismos de defensa inespecíficos; es un inmunoestimulante, bioestimulante que provoca la inducción de la parainmunidad hasta por un período de 90 días, lo que podría explicar los resultados obtenidos en el presente estudio. (19,22)

En relación a lo anterior, se pudieron detectar también pruebas heteroespecíficas en animales de recintos contiguos, *Ovis aries* y *Bos taurus*, no así en los otros animales, bajo condiciones similares, pero como se discute pudo ser debido al manejo médico con Yatren Caseína®.

¹Bayer

El proceso de limpieza es realizado por los mismos empleados en un sector, lo cual constituye otro factor de riesgo por la transmisión a través de secreciones o fómites.

El manejo de las especies silvestres es bastante delicado por las circunstancias del encierro, por lo que el manejo sanitario debe ser muy cuidadoso y ser sujeto de evaluación periódica por los efectos indeseables del estrés. La utilización de recintos contiguos puede representar un alto riesgo de transmisión si antes no se realiza previamente la evaluación de salud.

VII CONCLUSIONES

- La prevalencia para la Brucelosis en los animales del Orden Artiodáctila del zoológico Nacional la Aurora para la prueba SAT fue de 14%, y para las pruebas de Card test y Rivanol de un 0%. En vista de esto, los resultados de la prueba de SAT se consideraron como heteroespecíficos en animales de los Géneros *Ammotragus*, *Bos*, *Ovis* y *Odocoileus*.
- La obtención de resultados heteroespecíficos puede deberse al padecimiento de otros procesos como parasitismo o tratamiento con inmunoestimulantes como Yatren Caseína® (Ácido Yatrénico más Caseína libre de Protalbumosa), o bien que se encuentren en etapa de recuperación de enfermedades.
- Pueden ocurrir reacciones heteroespecíficas cuando los animales sospechosos a Brucelosis han sido tratados con inmunoestimulantes como el Yatren Caseína® que producen un alto incremento en el nivel de anticuerpos, aumentando las inmunoglobulinas de tipo IgA e IgM mostrando resultados falso positivos en la prueba SAT hasta por un período de 90 días.
- Se encontró que utilizando únicamente la prueba de SAT se presentan falsos positivos y que si se utilizan pruebas complementarias Card test y/o Rivanol este riesgo será menor.
- La cercanía de los recintos es un factor de riesgo de transmisión, por lo que los animales deben muestrearse y cuarentenarse antes de realizar la introducción.
- Otro factor de riesgo es que la persona que realiza la limpieza en los recintos cercanos es el mismo, lo que puede facilitar la transmisión si no se tiene una adecuada bioseguridad.

VIII RECOMENDACIONES

- Para el muestreo serológico de Brucelosis debe tomarse en cuenta la historia clínica (abortos, medicaciones, vacunaciones, etc), y su adecuado registro.
- No es conveniente sangrar a los animales antes de 90 días después del tratamiento con inmunoestimulantes, desparasitantes y/o vacunas para efectuar pruebas serológicas en el diagnóstico de Brucelosis con las pruebas rutinarias.
- En caso de historia de vacunaciones, desparasitaciones, y tratamiento con inmunoestimulantes reciente, deben usarse para el diagnóstico de Brucelosis, no solo pruebas rutinarias sino que también pruebas complementarias.
- Velar por la bioseguridad de los recintos contiguos una vez establecidos.
- Realizar pruebas de salud que incluya *Brucella abortus* en el personal que maneja a los animales.

IX RESUMEN

Con el objeto de determinar los títulos de anticuerpos circulantes contra *Brucella sp.* se muestrearon 42 Artiodáctilos (siete especies) del Zoológico Nacional "La Aurora"; diecisiete *Ammotragus lervia* (Borrego de Berbería); un *Bos taurus* (Vaca Jersey); cinco *Ovis aries* (Oveja); siete *Capra aegagrus* (Cabra de Camerún); tres *Mazama americana* (Hütizil); siete *Odocoileus virginianus* (Venado Cola Blanca); dos *Lama glama* (Llama).

Se utilizaron las pruebas SAT, Card test y Rivanol. Los porcentajes de positividad para la población muestreada fueron de un 14% para la prueba de Sat, y 0% para las pruebas de Card test y Rivanol.

Utilizando SAT, *Ammotragus lervia* presentó 2 individuos positivos a títulos 1:25 en la hembra y 1:50 en el macho; Una hembra *Bos taurus* presentó positividad en título 1:25; dos *Ovis aries* fueron positivos en títulos de 1:25 en la hembra y 1:100 en el macho; y *Odocoileus virginianus* presentó una hembra positiva mostrando título 1:100.

Las pruebas complementarias (Card test y Rivanol) indicaron reacciones heteroespecíficas, probablemente relacionadas al padecimiento de procesos parasitarios, tratamiento con inmunoestimulantes como el Ácido Yatrénico y Caseína libre de Protalbumosa, o recuperación de enfermedades como lo reporta la literatura.

Se concluye que los recintos contiguos representan un alto factor de riesgo si no se lleva a cabo una adecuada bioseguridad.

SUMMARY

In order to determine the circulating antibody titers against *Brucella sp*, 42 Artiodactyls were tested (seven species) from the "La Aurora" National Zoo; seventeen *Ammotragus lervia* (Barbary sheep); one *Bos Taurus* (Jersey cow); five *Ovis aries* (Sheep); seven *Capra aegagrus* (Camerun goat); three *Mazama Americana* (Hützizil deer); seven *Odocoileus virginianus* (White tail deer); and two *Lama glama* (Llama).

SAT, Card test and Rivanol tests were performed. The positives for the sampled population were 14% for SAT and 0% for Card test and Rivanol.

When SAT was used, *Ammotragus lervia* exhibited two positive individuals to titers 1:25 for one female and 1:50 for one male; one female *Bos taurus* was positive to titer 1:25; two *Ovis aries* were positive in titers 1:25 for one female and 1:100 for one male; and one female *Odocoileus virginianus* was positive to titer 1:100.

The complementary test (Card test and Rivanol) showed heteroespecific reactions, probably related to parasitism, therapy with immunostimulants like Yatrenic Acid and Casein free of Protalbumin (Yatren Casein®) or the recovery of diseases like those reported in literature.

I conclude that contiguous animal enclosures represent a risk factor if we don't have an adequate biosecurity.

X BIBLIOGRAFÍA

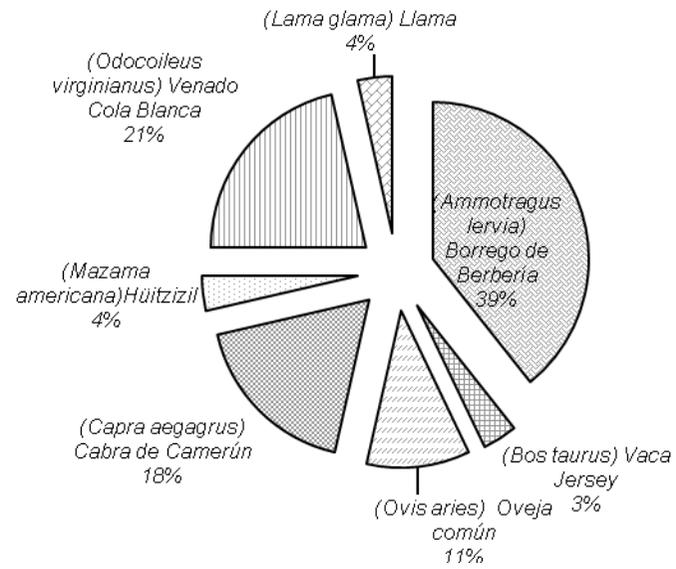
1. ACHA, P.N.; SZYFRES, B. 1986. Zoonosis y enfermedades. Transmisibles comunes al hombre y los animales. 2 ed. Washington, D.C., Organización americana de la Salud. 708 p.
2. ANDERSON, A. *et al.* 1972. Enciclopedia del mundo animal. Trad. por Esteban Diorki. Barcelona. Argos, S.A. p 223-224.
3. BLOOD, D.C.; RADOSTITS, O.M. 1992. Medicina Veterinaria. Trad. por Isabel Begara y Montserrat Díaz. 7 ed. México. Nueva Editorial Interamericana, S.A. de C.V. p. 729-750.
4. BURTON, J.A. 1987. Collins Guide to the Rare Mammals of the World. London. William Collins Sons & Co. Ltd. 240 p.
5. CALVO, L. 1994. Maravillas de la Fauna Guatemalteca. Guatemala. Glifos. 120 p.
6. DIETERICH, R.A. *et al.* 1991. Experimental *Brucella suis* biovar 4 infection in a moose. *Journal of Wildlife Disease*. E.E.U.U. 27(3): 470-2
7. EL MANUAL, merck de veterinaria: Un manual de diagnóstico, tratamiento, prevención y control de las enfermedades para el veterinario. 1993. Trad. por Clarence M. Frazer. 4 ed. Barcelona, España. 2092 p.
8. FOWLER, MURRAY E. 1993. Zoo & Wild Animal Medicine. Current Therapy 3 ed. Denver, Colorado. W.B. Saunders Company. 617 p.
9. ————. 1999. Zoo & Wild Animal Medicine. Current Therapy. 4 ed. Denver, Colorado. W.B. Saunders Company. p. 621 - 627.
10. GARCIA CARRILLO, C. 1982. Pruebas Suplementarias para el Diagnóstico de brucelosis. Argentina, Organización Panamericana de la Salud. 25 p. (Nota Técnica No. 25).

11. HONOUR, S.; HICKLING, K.M. 1993. Naturally occurring *Brucella suis* biovar 4 infection in a moose (*Alces alces*). *Journal of Wildlife Disease*. E.E.U.U. 29(4): 596-8
12. JAWETZ, E.; MELNICK, J.L.; ADELBERG, E.A. 1992. *Microbiología Médica*. Trad. Ma. del Rosario Carsolio Pacheco. 14 ed. México, D.F. Editorial El Manual Moderno. 700 p.
13. MACDONALD, D. 1985. *The Enciclopedia of Mammals*. New York. Facts On File Publications. 895 p.
14. MERCHANT, I. A.; PACKER, R. A. 1980. *Bacteriología y Virología Veterinarias*. 3 ed. Zaragoza, España, Acribia. 768 p.
15. MILLER, W. G. *et al.* 1999. *Brucella* - Induced Abortions and Infection in Bottlenose Dolphins (*Tursiops truncatus*). *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*. (E.E.U.U.) 30(1): 100-109
16. MONTES, I. ---. Diagnóstico de la Brucelosis. Servicio de Microbiología. Hospital Virgen del Puerto. Plasencia. 6 p. Tomado de internet:
http://www.seimc.es/control/revi_serolo/diagbruce.htm
17. NICOLET JACQUES. 1986. *Compendio de Bacteriología Médica Veterinaria*. Trad. José Romero Muñoz. Zaragoza (España). Acribia, S.A. 275 p.
18. NOWAK, R.M.; PARADISO, J.L. 1983. *Walker's mammals of the world*. 4 ed. Vol III. London. The Johns Hopkins University Press. 1362 p.
19. PEREZ NORIEGA, H. R. 1981. *Determinación de Reacciones Heteroespecíficas en las Pruebas de aglutinación en placa para el diagnóstico de brucelosis bovina, después de la aplicación de vacuna (Pasteurella y Clostridium), y levamisol*. Tesis Médico Veterinario. Guatemala, Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia.

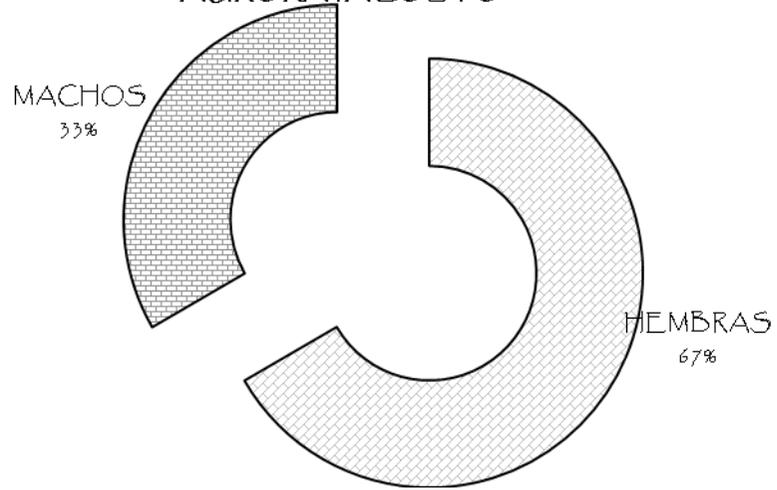
20. PIA, M.; MINELLI, A. 1995. El león y los animales de africa. 4 ed. Madrid, España. Everest, S.A. 79p.
21. PICAZO, J. J., ORTIZ, A. F. ——. DSC Protocolos de Diagnóstico Serológico Clínico, Núm. 4. 8 p. Tomado de Internet:
<http://www.fei.es/protocol/sero04.htm>.
22. PRONTUARIO DE especialidades veterinarias. 1993. 14 ed. México, D.F. Ediciones PLM. P.498.
23. REID, F.A. 1997. A field guide to the mammals of central america and southeast méxico. E.E.U.U., Oxford University. 334 p.
24. SÁNCHEZ, Y. *et al.* ——. Inmunología de Brucella Abortus. 5 p. Universidad Autónoma Metropolitana. Depto. De Producción Agrícola y Animal. M.V.Z. Tomado de Internet:
<http://intramed.uam.mx/bruce/conter>
25. Técnicas de interpretación de las pruebas de sero-aglutinación para el diagnóstico de brucelosis bovina. 1968. Argentina. Organización Panamericana de la Salud. p. 1-4 (nota técnica #2, Revisión 1)
26. TIZARD, I. 1992. Inmunología Veterinaria. Trad. por Sergio Alfredo Cortéz P. 4 ed. México, D.F., Interamericana. 558 p.
27. WALLACH, JOEL D.; BOEVER, WILLIAM J. 1983. Diseases of Exotic Animals: Medical and Surgical Management. Philadelphia. W.B. Saunders Comapany. 1159 p.

XI ANEXOS

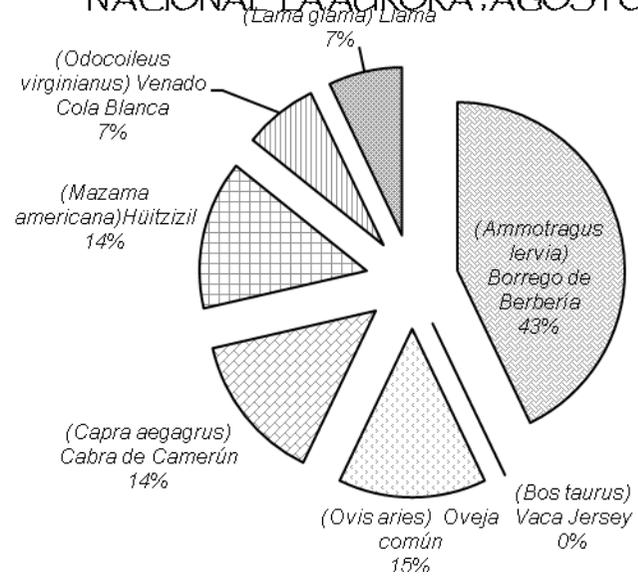
GRAFICA No. 3
DISTRIBUCIÓN DE HEMBRAS POR ESPECIE DE LOS
ARTIODACTILOS MUESTREADOS EN EL ZOOLOGICO
NACIONAL "LA AURORA", AGOSTO 2002.



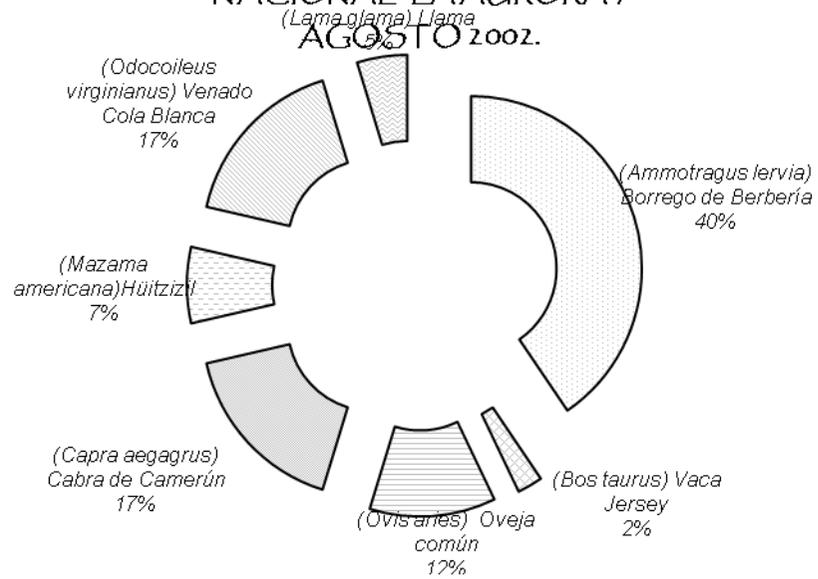
GRAFICA No. 2
DISTRIBUCION POR SEXO DE LOS ARTIODACTILOS
MUESTREADOS EN EL ZOOLOGICO NACIONAL "LA
AURORA", AGOSTO 2002.



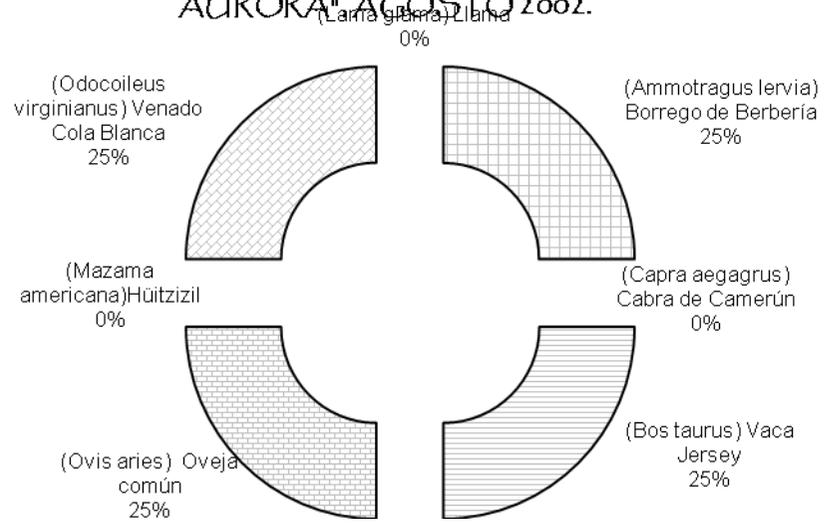
GRAFICA No. 4
 DISTRIBUCION DE MACHOS POR ESPECIE DE LOS
 ARTIODACTILOS MUESTREADOS EN EL ZOOLOGICO
 NACIONAL "LA AURORA", AGOSTO 2002.



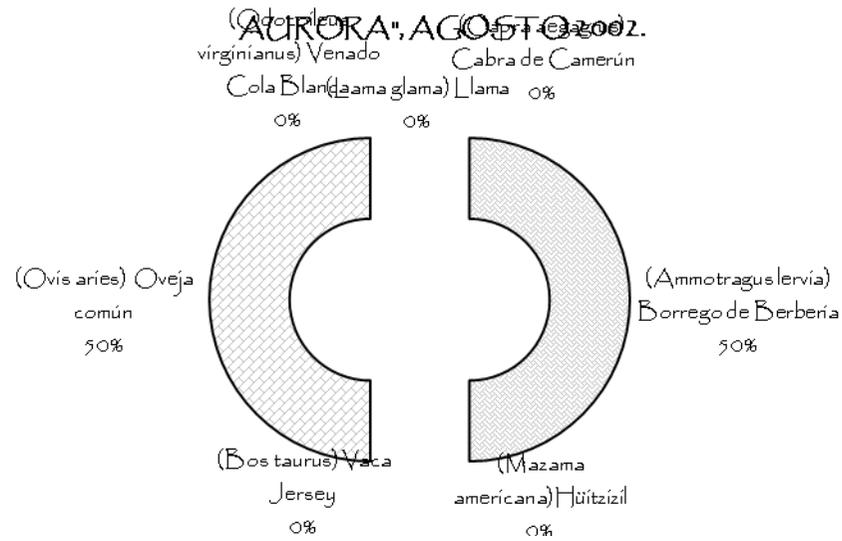
GRAFICANo. 1
NUMEROTOTALDEANIMALESPORESPECIEDELOS
ARTIODACTILOS MUESTREADOS EN EL ZOOLOGICO
NACIONAL "LA AURORA",
AGOSTO 2002.



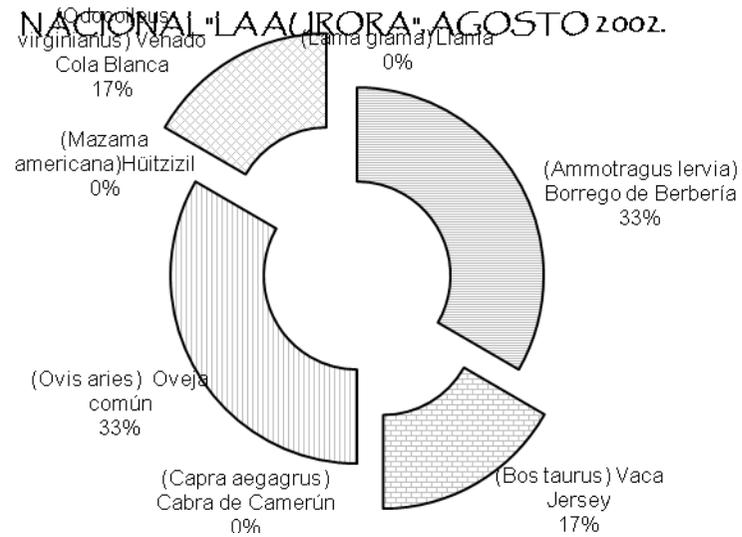
GRAFICA No. 6
 PORCENTAJE DE HEMBRAS REACTORAS POSITIVAS A
 LA PRUEBA SAT, POR ESPECIE DE ARTIODACTILOS
 MUESTREADOS EN EL ZOOLOGICO NACIONAL "LA
 AURORA" AGOSTO 2002.



GRAFICANº.7
 PORCENTAJE DE MACHOS REACTORES POSITIVOS A
 LA PRUEBA SAT. POR ESPECIE DE ARTIODACTILOS
 MUESTREADOS EN EL ZOOLOGICO NACIONAL "LA
 AURORA", AGOSTO 1992.



GRAFICA No. 5
 PORCENTAJE TOTAL DE ANIMALES REACTORES
 POSITIVOS A LA PRUEBA SAT, POR ESPECIE DE
 ARTIODACTILOSMUESTREADOS EN EL ZOOLOGICO
 NACIONAL "LA AURORA" AGOSTO 2002.



<i>(Ammotragus lervia)</i> Borrego de Berbería	2
<i>(Bos taurus)</i> Vaca Jersey	1
<i>(Ovis aries)</i> Oveja común	2
<i>(Capra aegagrus)</i> Cabra de Camerún	0
<i>(Mazama americana)</i> Hüitzzil	0
<i>(Odocoileus virginianus)</i> Venado Cola Blanca	1
<i>(Lama glama)</i> Llama	0

