



INSTITUTO TECNOLÓGICO DE SONORA

División de Ingeniería y Ciencias Biológicas

Departamento de Medicina Veterinaria y Zootecnia

**AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DE *Brucella* spp. EN GANADO
CAPRINO SACRIFICADO PROCEDENTE DEL VALLE DEL YAQUI,
SONORA**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA**

P R E S E N T A

MIGUEL ALBERTO GARCIA ARMENTA

**AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DE *Brucella* spp. EN GANADO CAPRINO
SACRIFICADO PROCEDENTE DEL VALLE DEL YAQUI, SONORA.**

TEMA DE TESIS QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

PRESENTA:

MIGUEL ALBERTO GARCIA ARMENTA

MVZ Ana Laura Miranda Romero.
ASESOR

Dr. Fernando Lares Villa
ASESOR

MA Carlos Aguilar Trejo
COORDINADOR DE LA CARRERA
DE MVZ

COMITÉ:

PRESIDENTE: _____

SECRETARIO: _____

VOCAL: _____

DEDICATORIAS

A DIOS:

Por que me dio la capacidad de ver, oír, caminar, en sí toda la vida. Por que gracias a él pude terminar y llegar hasta este momento de mi vida.

A MIS PADRES:

Que con sus enseñanzas me han sabido exhortar para que siempre vaya hacia delante y para responsabilizarme de mis compromisos, pero sobre todo, por su cariño.

A MIS HERMANAS:

Gracias a su apoyo he podido salir adelante.

A MI HIJO Y ESPOSA:

Por estar presentes en mi vida y apoyarme en cada momento.

AGRADECIMIENTOS

A MIS MAESTROS:

Por transmitirnos todos los conocimientos esenciales para formarnos como Médicos Veterinarios.

A MIS ASESORES:

MVZ Ana Laura Miranda Romero.

Por apoyarme en este trabajo de investigación, por ser una gran amiga y darme la confianza para elaborar este trabajo.

Dr. Fernando Lares Villa.

Por tener confianza en mí y por apoyarme en la elaboración de este trabajo.

Al MVZ Ramón Molina Barrios.

Por apoyarme en mis estudios y por aconsejarme en cada paso de mi carrera.

A MIS COMPAÑEROS:

Por el esfuerzo que juntos hicimos hasta terminar esta etapa de nuestra vida y sobre todo por la convivencia que hizo más llevaderos los momentos difíciles.

A MIS AMIGOS:

Por brindarme esa palabra de aliento cuando se necesitaba y por brindarme su amistad, en especial a ti Gabby, Lolys, Güero y Martín por ser como son. Jorge por brindarme amistad, confianza y apoyo.

A TODOS LOS TRABAJADORES DEL RASTRO DE CABRAS:

Por permitirme obtener las muestras de sangre y leche de cabras necesarias para realizar el presente trabajo.

INTRODUCCION

La brucelosis es una enfermedad infectocontagiosa de origen bacteriano que afecta a los humanos principalmente por el consumo de alimentos de origen lácteo no pasteurizados o por contacto directo con animales infectados. La brucelosis disminuye la productividad de los bovinos, ovinos, caprinos y cerdos, por lo que su impacto económico es muy fuerte. Aunque en la actualidad no se tienen datos específicos sobre las pérdidas económicas, en un publicado de la CONETB, se reporta que en un hato de 100 caprinos el porcentaje de aborto es del 13.1 % lo que representa pérdidas económicas de 18,082,881 pesos¹ por hato. Comité de campaña de erradicación de la tuberculosis bovina y brucelosis en el Estado de Sonora, (CONETB, 1998).

La brucelosis es una enfermedad distribuida en todo el mundo, especialmente en países en desarrollo. Es causada por el género *Brucella*: *B. melitensis*, *B. abortus*, *B. suis*, *B. canis*, *B. ovis* y *B. neotomae*, que esta formado por bacterias Gram negativas, no fermentadoras, que provocan infecciones intracelulares y con tendencia a establecer procesos crónicos. (Manual de procedimiento de laboratorio, 1996).

Según la Norma Técnica No. 55 para prevención y control de la brucelosis en la atención primaria a la salud, aprobada en 1994 autorizada por SSA, la presentación, distribución y frecuencia de este padecimiento está condicionado por diversos factores, entre los que destacan el deficiente control sanitario del ganado vacuno y caprino, residencia o permanencia en área enzoótica del ganado, riesgo laboral, malos hábitos higiénicos-alimenticios y falta de información de la población acerca de las características del padecimiento.

¹ Comunicación personal. MVZ Sergio Vázquez Jefe del Programa de Brucelosis del Sur de Sonora.

A partir de 1977, año en que ocurrieron los primeros casos autóctonos de brucelosis en el estado de Sonora, las instituciones del sector pecuario iniciaron los estudios de prevalencia de la enfermedad en las especies animales bovina y caprina. Con base en ello se procedió a la eliminación de los reactores positivos y al control de la movilización de los animales.

Sin embargo los resultados obtenidos no fueron satisfactorios, ya que los casos humanos se incrementaron y la enfermedad se diseminaba a otras áreas ocasionando bajas en la producción bovina y caprina, por lo que el Gobierno del estado instituyó en 1990 el CONETB.

Los estudios de campo realizados por el citado comité, han permitido detectar la existencia de un área enzootica que abarca los municipios de Empalme, Guaymas, Bacúm y Yécora (Figura 1). En esta área habitan individuos de la raza indígena Yaqui, que aún conservan sus tradiciones ancestrales para la cría de los animales, lo que ocasiona dificultades para los muestreos serológicos de campo y la aplicación de las medidas de control necesarias (Borrador de acuerdos para la atención del brote de brucelosis en Pótam, 1997).

La brucelosis caprina es considerada la enfermedad más relevante en el país por el gran número de casos humanos que genera, ya que el ganado caprino se encuentra diseminado en todo el territorio nacional en zonas en donde puede presentarse con mayor o menor concentración. (Secretaría de Salubridad y Asistencia)

Es importante mencionar que en algunos estados como Sonora, Durango, Sinaloa, Tamaulipas y Puebla que antiguamente ocuparon lugares intermedios o finales de problemas de brucelosis en humanos, ahora están en los primeros lugares. Cabe señalar que en uno de los pueblos Yaquis (Pótam) la tasa de presentación de la enfermedad fue de: 10 % en 1995, 10 % en 1996 y 30 % en 1997 (Secretaría Salubridad y Asistencia).

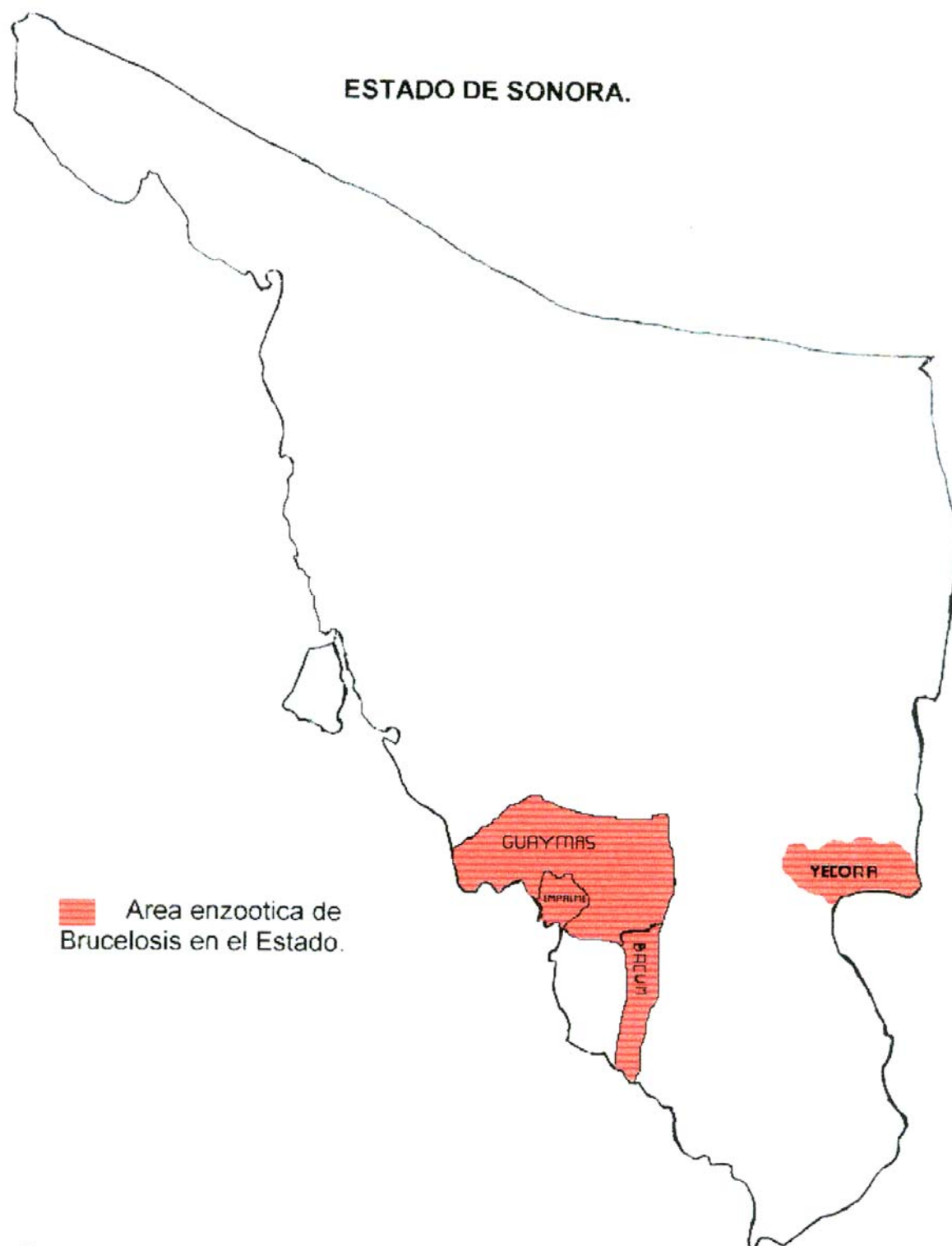


Figura 1. Zona de Brucelosis animal en el Sur de Sonora.

A pesar de la importancia regional de esta enfermedad hasta ahora solo se realiza el diagnóstico a través de pruebas serológicas y con este trabajo se pretende dar inicio a estudios de tipo bacteriológico.

El objetivo del estudio fue aislar e identificar las especies de *Brucella* a partir de muestras de sangre y leche de caprinos procedentes del valle del Yaqui enviadas para su sacrificio al rastro de cabras para su posterior comercialización ubicado en Esperanza, Sonora, durante el periodo diciembre de 1998 y enero de 1999.

Si *Brucella melitensis* infecta principalmente a caprinos y *Brucella abortus* a bovinos, pero también esta última puede infectar a caprinos, y considerando que en territorio Yaqui conviven ambas especies, entonces, es factible aislar ambas especies en caprinos que se encuentran en dicha zona.

ÍNDICE

	Página
LISTA DE FIGURAS.....	III
RESUMEN	IV
INTRODUCCIÓN	V
I REVISIÓN DE LITERATURA	1
1.1 Antecedentes	1
1.2 Agente etiológico.....	2
1.3 Virulencia	3
1.4 Epizootiología.....	4
1.5 Patogenia	4
1.6 Signos y Lesiones	6
1.7 Inmunología	6
1.8 Diagnóstico	7
1.9 Control, prevención y erradicación.....	8
II. MATERIAL Y MÉTODOS	10
2.1 Localización	10
2.2 Origen de la muestra.....	10
2.3 Toma de muestra	10
2.4 Cultivo bacteriológico	11
2.5 Identificación de los aislamientos.....	11
2.6 Método estadístico	12

III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	13
CONCLUSIONES	19
RECOMENDACIONES	20
BIBLIOGRAFÍA	21

INDICE DE FIGURAS

FIGURA 1. Zona de brucelosis animal en el sur de Sonora.....	vii
FIGURA 2. Origen de los caprinos muestreados	13
FIGURA 3. Origen de las muestras de sangre.....	14
FIGURA 4. Cantidad de muestras sangre obtenidas por mes.....	15
FIGURA 5. Crecimiento en hemocultivos.....	15
FIGURA 6. Genero de bacterias recuperadas de los hemocultivos.....	17

RESUMEN

La Brucelosis es una enfermedad infectocontagiosa, la cual puede infectar a bovinos, caprinos, ovinos, cerdos, caninos, equinos e incluso delfines. El objetivo de esta investigación fue aislar cepas del género *Brucella* a partir de muestras de sangre y leche de cabras adultas provenientes de una zona endémica, utilizando medios de cultivos selectivos como el medio modificado de Ruiz-Castañeda y el medio Farrel, para determinar las variedades que se encuentran presentes en la región. Se obtuvieron 169 muestras de sangre y 12 muestras de leche de cabras presentadas para sacrificio durante el periodo de septiembre 1998 a enero 1999 en el rastro de cabras ubicado en el municipio de Esperanza, Sonora. Las muestras fueron procesadas en el laboratorio de diagnóstico bacteriológico del departamento de Medicina Veterinaria y Zootecnia del ITSON. De las muestras de sangre analizadas 29 presentaron crecimiento colonial de morfología semejante a *Brucella*. Posteriormente se resembraron en el medio Farell no obteniéndose crecimiento después de tres semanas de incubación. A partir de estas muestras se recuperaron algunas bacterias como *Bacillus* spp. y *Corynebacterium* spp. Las muestras de leche se sembraron directamente en medio Farrel y después de tres semanas de incubación, ningún aislamiento tuvo características propias del género *Brucella*. Ante la dificultad que presenta esta género para su aislamiento se sugiere intentar el aislamiento de órganos o el muestreo dirigirlo a un mayor número de cabras positivas a pruebas serológicas.

I REVISIÓN DE LITERATURA

1.1 Antecedentes.

En 1887, Bruce estudiando la Brucelosis humana (fiebre ondulante), descubrió en el bazo de cadáveres un microorganismo que llamó *Micrococcus melitensis* (Ruíz-Castañeda, 1986). En 1904, Zammit, un veterinario inglés, descubrió que la fuente de la infección era la leche de cabras infectadas (Agraz, 1989). En 1897, Bang aisló el microorganismo responsable del aborto contagioso en el ganado y lo llamó *Bacillus abortus* (Freeman, 1974). En 1914, Traum aisló una bacteria de marranas que habían expulsado el feto prematuramente, del cual actualmente se sabe, está muy relacionado con el bacilo de Bang y el de la fiebre ondulante. Estas enfermedades, se estudiaron en forma independiente y no se relacionaron hasta los trabajos realizados por Evans en 1918 cuando se demostró su similitud en cuanto a morfología celular, cultivo y propiedades bioquímicas y serológicas, además de que esos dos microorganismos tenían la capacidad de producir abortos en animales y fiebre ondulante en el hombre, sugiriendo que esas bacterias deberían clasificarse en el género *Bacterium*. En 1920 Meyer y Shaw, retomando las características de *Brucella abortus* y *B. melitensis*, y para conmemorar el trabajo llevado a cabo por David Bruce, la separaron en un nuevo género *Brucella* (Plomet, 1987; Freeman, 1974; Meyer, 1990).

1.2 Agente etiológico.

Es una bacteria Gram negativa intracelular facultativo (Díaz, 1998). Son bacilos o cocobacilos, inmóviles, no esporulados, son aerobios, aunque algunas especies crecen mejor con bajas tensiones de CO₂ (Hernández 1996). Miden de 0.5 – 0.7 micras de ancho por 0.6 – 1.5 micras de largo (Acedo, 1994). Su metabolismo es de tipo oxidativo, produce oxidasa, catalasa, ureasa y reduce nitritos a nitratos.

No se consideran bacterias de vida libre, ya que son parásitos intracelulares obligados principalmente de las células del sistema fagocítico mononuclear y ocasionalmente presenta sintomatología de tipo sistémico (Hernández, 1996) y su hábitat son los animales, tanto silvestres como domésticos, en tanto que el hombre es un hospedador accidental.

Algunas especies requieren de suero u otros colorantes como tionina y fucsina para su crecimiento. La temperatura óptima de crecimiento para las especies de *Brucella* es de 37°C, con un rango entre 20 - 40°C y un pH de 6.6 a 7.4. Al igual que la mayoría de las bacterias gram-negativas, tiene una envoltura celular constituida por una membrana citoplasmática y una membrana externa, separadas por un espacio periplasmático. En la envoltura celular, se encuentran componentes que les proporcionan características diferenciales (Moriyón y col, 1987; Acedo, 1994).

La clasificación actual del género *Brucella* reconoce seis especies: *B. abortus*, *B. melitensis*, *B. suis*, *B. ovis*, *B. canis* y *B. neotomae* (Díaz, 1998).

Se han dividido a su vez en biotipos, que se distinguen por diferentes características bioquímicas y/o comportamientos frente a los sueros monoespecíficos A (*abortus*) y M (*melitensis*). De esta manera, *B. melitensis* se subdivide en tres biotipos (1-3), *B. abortus* en ocho (1-9, ya que se suprimió el biotipo 8), y *B. suis* en cuatro (1-4) (Acha y Boris, 1997).

En el aislamiento primario de *Brucella abortus*, *B. melitensis*, *B. suis* y *B. neotomae*, las colonias son lisas, debido a los lipopolisacáridos (LPS) presentes en la membrana externa de la pared celular de la bacteria. Este LPS presenta una cadena compuesta de un homopolímero lineal de N-formil-perosamida (28,35) en enlace alfa (1,2), y/o alfa (1,3) (Díaz, 1998); mientras que *B. ovis* y *B. canis* son mucoides, debido a que no presentan en su LPS la cadena O en su membrana externa. Las especies de *Brucella*, están expuestas a variaciones morfológicas de sus colonias, así como de las características bioquímicas y fisiológicas. Entre las variantes que pueden encontrarse está el tipo liso (L) y el rugoso (R), con tipos intermedios y tipos mucoides (M). Las formas R son circulares, convexas, opacas, de aspecto granular y color amarillo rojizo al centro, con borde azulado. Las colonias M son de aspecto opaco, consistencia mucoide con bordes ligeramente elevados, a veces con depresión anular, otras con prolongaciones triangulares que destacan sobre fondo azulado de la misma colonia (Meyer, 1990; Corbel, 1985).

Algunas especies son resistentes a diferentes concentraciones de los colorantes safranina, fucsina básica, tionina y azul de tionina; aun cuando estos colorantes no son de origen natural, son un buen indicador para llevar a cabo la determinación de los biotipos (Meyer 1990).

Este género necesita de oxígeno para su desarrollo, aunque algunas especies presentan diferentes necesidades de dióxido de carbono y suero sanguíneo durante su crecimiento primario, principalmente algunos biotipos de *Brucella abortus* y *Brucella ovis* (Meyer, 1990).

1.3 Virulencia.

Se tiene poca información de los factores que determinan la capacidad de contagio del género; la especificidad celular puede ser el resultado de la expresión diferencial de los componentes que contribuyen a la virulencia, los cuales residen en el genoma

y pueden ser respuestas adaptativas a las condiciones inmunológicas existentes en el hospedero; la membrana externa (ME) tiene funciones físicas, además es la estructura que está en contacto con el sistema inmune de huésped infectado (Martin y Hancock, 1990). La ME resiste los efectos letales del plasma sanguíneo, promueve la entrada a las células fagocíticas, resiste la destrucción dentro de los fagocitos, altera o previene la inducción de la respuesta inmuno protectora lo que permite además que las brucelas colonicen y se dividen dentro de las células especializada de la placenta (Moriyon y col., 1987).

1.4 Epizootiología.

El establecimiento de la infección por *Brucella* depende del número y virulencia de las bacterias y la relativa resistencia de un huésped. Esta resistencia es hereditaria como una característica dominante y su influencia depende de uno o varios genes (Gyles y Thoen , 1993).

El modo de infección más eficiente es sin duda el contacto directo con las descargas del aborto que contienen grandes cantidades de bacterias vivas (alrededor de 10^{13} UFC/g), las que fácilmente pueden penetrar vía conjuntival y a través de piel maltratada. Otra vía de entrada es la respiratoria a través de la inhalación de materiales desecados o aerosoles. La vía digestiva es la forma de infección más común (López, 1991).

1.5 Patogenia

Las vías más comunes de infección en el hombre y los animales son las mucosas del aparato digestivo, las genitales y la piel. En la penetración a través de las mucosas, las bacterias son transportadas por células fagocíticas, que se alargan debido a la inflamación linfática o hiperplasia reticuloendotelial. Estos cambios requieren varias

semanas para desarrollarse y pueden durar varios meses si las bacterias no se localizan y no son eliminadas en nódulos linfáticos regionales; se diseminan a otros órganos por vía linfática o sanguínea. Las bacterias llegan al útero por vía hematógena y se localizan inicialmente dentro de trofoblastos eritrofagocíticos de la placenta. Los trofoblastos adyacentes corioalantoideos se infectan y soportan el desarrollo masivo de las bacterias. Estas células eventualmente se rompen y ulceran la membrana corioalantoidea. Las úlceras de la membrana se acompañan de una reacción inflamatoria observándose las bacterias y las células inflamatorias dentro del lumen del útero. Las bacterias se esparcen vía hematógena al feto.

La presencia de elevadas cantidades de eritritol en los tejidos uterinos del ganado sugieren un papel importante para el desarrollo de la bacteria debido a que este alcohol polihídrico es capaz de estimular su crecimiento (Carter, 1985) esto explicaría la gran susceptibilidad de los tejidos fetales (Acha, 1997).

Los fetos infectados desarrollan hiperplasia linforetica en linfonódulos para posteriormente cambiar a la formación de folículos primarios y al desarrollo de centros germinales. Posteriormente se presenta una respuesta granulomatosa en las células epiteliales y células gigantes del tejido linfático y ocasionalmente las células gigantes se presentan dentro del riñón; extendiéndose hacia los pulmones fetales y caracterizado por un adelgazamiento interglobular acompañado de una neumonía intersticial exudativa.

La retención de leche en la glándula mamaria se correlaciona con el grado de infección, ya que favorece a la proliferación de las bacterias. Los estudios en cabras han mostrado que las fallas en los métodos de ordeño de la leche influyen en la localización y replicación de las bacterias en la glándula mamaria como resultado de un incremento en el desarrollo sistémico y la persistencia de la bacteria en el huésped (Gyles y Thoen, 1992).

1.6 Signos y Lesiones

Los signos clínicos más frecuentes en los animales son el aborto, que se presenta con mayor frecuencia en el tercero ó cuarto mes de gestación (Acha 1997) y la reducción hasta del 20 % en la producción de leche, muerte del producto al final de la gestación, retención placentaria y aumento en el número de servicios por concepción. Hay placentitis con lesiones fibrinosas y los líquidos son de color rojo y fétidos, sin embargo en el feto no se encuentran hallazgos específicos. En el macho, la infección ataca las glándulas accesorias, los testículos y el epidídimo (Lanza, 1987). También se pueden observar higromas, artritis, espondilitis y orquitis.

A diferencia de otras especies, en las cabras la mastitis es común y puede ser el primer signo en un hato, se pueden observar coágulos en la leche, así como pequeños nódulos en la glándula mamaria. Los cabritos pueden nacer infectados ó infectarse poco tiempo después de nacer (Acha, 1997).

1.7 Inmunología

La respuesta individual a una infección es variada y con frecuencia muy compleja. La respuesta inmune a *Brucella* involucra el desarrollo y mediadores y efectores tanto actividad como celulares. En la mayoría de los casos, esta respuesta es suficiente para limitar o eliminar la infección bacteriana, pero a veces las bacterias escapan de los mecanismos de inmunidad llevando al individuo a una presentación aguda o crónica (López, 1991).

La respuesta humoral dada por anticuerpos tiene una cinética clásica en caprinos, en las primeras etapas de la infección. Después de la primera semana aparecen anticuerpos de la clase IgM, que alcanzan su nivel más alto a las cuatro semanas. comienza a elevarse el título de IgG, el cual disminuye con el tratamiento hasta desaparecer. La respuesta de IgA es más tardía y muy recientemente se reportó que

también se presenta una respuesta de IgE, con una cinética intermedia entre la de IgM e IgG.

La inmunidad celular se da después de la fagocitosis de *Brucella* por macrófagos, algunos antígenos microbianos son procesados dentro de estructuras especializadas en el citoplasma celular y presentados en la superficie del macrófago en íntima asociación con las moléculas clase II del complejo principal de histocompatibilidad. El macrófago produce además una molécula denominada interleucina-1, que representa una segunda señal para el Linfocito T, el cual se activa y entra en una fase de intensa proliferación celular, dependiente de un mediador soluble con actividad autócrina, la interleucina-2, producido por las mismas células T que se han estimulado. Finalmente, las células activadas se diferencian a las células efectoras, que libera linfocinas con actividad biológica muy importante sobre una amplia variedad de células blanco (López, 1991).

1.8 Diagnóstico

Los microorganismos se encuentran prácticamente en cualquier lugar y las características de la población microbiana varían con el hábitat. Sin embargo, para observarlos es necesario aumentar su tamaño mediante la utilización del microscopio compuesto (Pérez, 1989).

En los caprinos las pruebas serológicas son aplicadas a todo el rebaño y no en forma individual. Cuando hay infección en el rebaño, se encuentra uno o más individuos con títulos de 100 UI o más; en tal caso es prudente adoptar títulos de 50 UI como significativo de infección (Acha, 1997).

La brucelosis puede ser diagnosticada detectando los microorganismos o demostrando una respuesta inmune específica, mediada por células o por la producción de anticuerpos (Acedo, 1994).

El aislamiento de la bacteria constituye la prueba indiscutible de una infección por *Brucella*. La utilización de muestras correctamente tomadas y la existencia de un excelente medio selectivo, permite realizar con éxito el diagnóstico bacteriológico en la inmensa mayoría de los casos. *Brucella* spp. puede observarse sobre frotis de órganos o de exudados, mediante coloraciones especiales (Díaz, 1998).

B. abortus y *B. melitensis* pueden ser aisladas normalmente sin dificultad en medios ordinarios. Sin embargo su utilización no puede recomendarse para aislamiento primarios, debido a la gran contaminación que suelen tener todas las muestras por bacterias de crecimiento rápido que pueden impedir su desarrollo. Afortunadamente se dispone de medios selectivos realmente excepcionales entre los que podemos encontrar el medio de Farell, el caldo *Brucella* enriquecido con antibiótico o los medios sólidos para el aislamiento. En forma alternativa se puede emplear el medio con glicerol y dextrosa como enriquecedores que permiten el aislamiento de *Brucella* (Díaz, 1998; WHO, 1986).

1.9 Control, prevención y erradicación

Emprender acciones para el control, la erradicación y la prevención de la brucelosis se justifica por las pérdidas económicas y el riesgo de alterar la salud humana. Los aspectos económicos incluyen la restricción de mercados para los animales infectados y sus productos así como el costo por reemplazo de animales perdidos por aborto o infección, por lo que la incidencia en los animales repercute directamente en la salud humana (López, 1991).

Los programas de prevención, control y erradicación de brucelosis animal se organizan de acuerdo a los lineamientos básicos en el ámbito internacional, los cuales prohíben la movilización de animales y/o productos infectados hacia áreas libres o en etapa de erradicación (NOR-041-ZOO-1995). Los diferentes componentes de un programa incluyen: diagnóstico, vigilancia epizootiológica, vacunación,

identificación de animales infectados, sistema de acreditación sanitaria, educación sanitaria, entrenamiento, legislación, investigación, control de la movilización y fondo de emergencia (Hernández, 1996).

El control de la infestación de *B. melitensis* se basa en la vacunación. La vacuna de elección es la cepa Rev 1 que se aplica en hembras de 3-6 meses de edad la cual debe contener de 1 a 2×10^9 UFC/ml de vacuna reconstituida y la dosis será de 1ml. Esta también se puede usar en hembras adultas con menos carga bacteriana la cual debe tener título de 1×10^5 UFC/ml por cada dosis (Acha 1997; NOM-041-ZOO-1995).

II MATERIAL Y MÉTODOS

2.1 Localización

El muestreo de los animales se realizó en el rastro de cabras ubicado en Esperanza, Sonora. Este municipio esta situado a 27° 34' 00" Latitud Norte, 109° 53' 30" longitud Oeste, con una altura media de 50 m sobre el nivel del mar, con una precipitación pluvial promedio de 34.75 mm y temperaturas promedio de 39.46°C como máximo y 9.29°C como mínimo.

2.2 Origen de las muestras

Se procesaron muestras de sangre y de leche de caprinos presentados a sacrificio en el periodo de septiembre de 1998 a enero de 1999.

El origen de las muestras que se analizaron para la búsqueda de *Brucella* spp. fue de cabras positivas a la prueba de Rosa de Bengala obtenidas durante la campaña de control de cabras infectadas las cuales fueron proporcionadas por la CONETB y de la población de cabras aparentemente sanas presentadas a sacrificio en el periodo ya mencionado.

El análisis bacteriológico de las muestras se realizó en el laboratorio de Diagnostico Bacteriológico del Departamento de Medicina Veterinaria y Zootecnia del Instituto Tecnológico de Sonora.

2.3 Toma de muestras.

La sangre se obtuvo por punción en la vena yugular o vena anocaudal con jeringa estéril de 20 ml que contenía citrato de sodio como anticoagulante, en proporción 3:17 (anticoagulante: sangre). Previo a la toma de muestra se desinfectó el área de venopunción con alcohol al 70 %.

La leche se obtuvo previo lavado y desinfección de la mama por ordeño manual de cada una de las mamas, la cual se recolectó en tubos estériles después del tercer chorro de leche.

Las muestras fueron transportadas al laboratorio de diagnóstico en condiciones de refrigeración de 4 a 10°C.

2.4 Cultivo bacteriológico.

El cultivo de sangre se llevó a cabo en el medio bifásico de Ruiz Castañeda modificado, recomendado por Instituto Nacional de Diagnóstico y Referencia Epidemiológica (INDRE, SS).

Este método consiste en sembrar en una botella de vidrio neutro que contiene una fase sólida (medio agar base) y una líquida (caldo); la cual permite el enriquecimiento de inóculos pequeños por crecimiento en la fase líquida, seguido por transferencia a la fase sólida y formación de colonias.

El cultivo de la leche se realizó en medio Farell una vez que la muestra se había centrifugado a 2500rpm/15min para separar la crema y sembrar finalmente crema y sedimento. Este medio puede elaborarse basándose en agar Brucella, agar triptosa ó agar tripticasa soya. Contiene 25 unidades por mililitro de bacitracina; 5 unidades por

mililitro de polimixina; 5 μ l por mililitro de ácido nalidíxico; 5 μ l por mililitro de vancomicina; 100 mg por mililitro de cicloheximida; 10 μ l por mililitro de anfotericina B, (Oxoid Brucella Supplement).

2.5 Identificación de los aislamientos

La identificación de la bacteria se realizó con las siguientes pruebas bioquímicas:

- Tinción de Stamp
 - Agar de triple azúcar y hierro.
 - Agar urea de Christensen.
 - Prueba de ácido sulfhídrico con tira de acetato de plomo.
 - Agar citrato de Simmons.
 - Medio SIM.

2.6 Análisis estadístico.

Se utilizó la estadística descriptiva básica.

III RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en este trabajo de investigación son los siguientes:

Se trabajaron 169 muestras de sangre de caprino los cuales 85 caprinos provenían de BÁCUM, 18 de Quetchehueca, 45 de Vícam, 3 del Ejido Francisco Villa y 22 del Campo 30. (FIGURA 2)

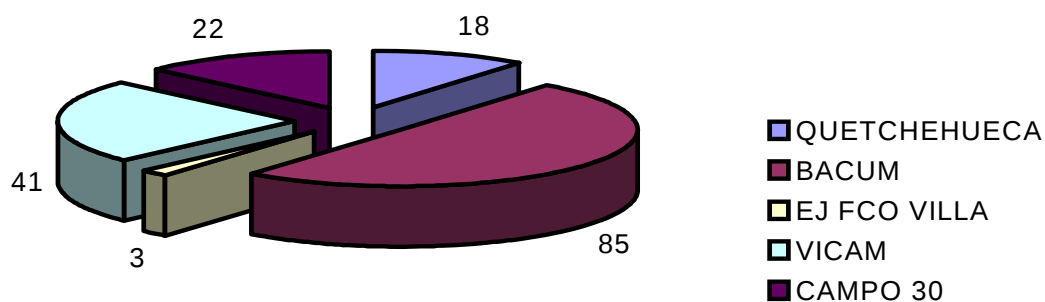


Figura 2. Origen de los caprinos muestreados.

Las muestras de sangre algunas de ellas se obtuvieron de cabras presentadas a sacrificio en el rastro y algunas otras fueron proporcionadas por la CONETB de cabras positivas a la prueba de rosa de bengala. (FIGURA 3)

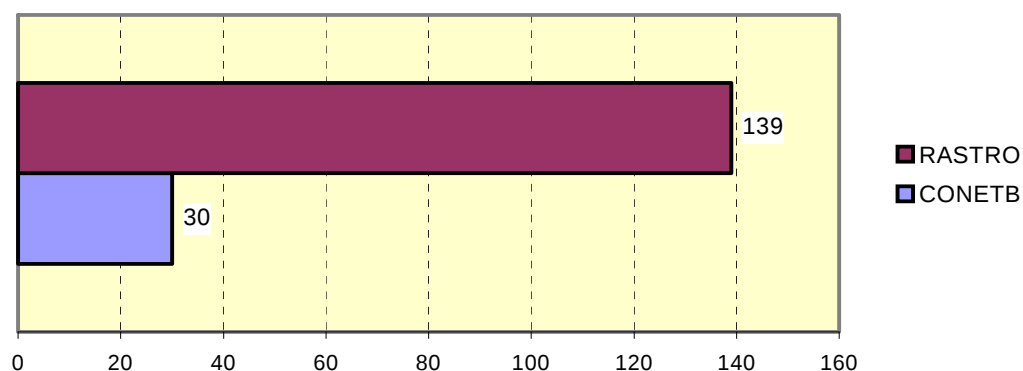


Figura 3. Origen de las muestras de sangre.

Inicialmente el muestreo se realizaría desde los meses de septiembre de 1998 a febrero de 1999, sería en cabras positivas a la prueba de rosa de bengala de las tribus Yaquis y las muestras se tomarían en colaboración con la CONETB. Lo anterior no fue posible debido a la problemática de no tener un buen registro de producción por parte de productores, así como la negación a colaborar por parte de las tribus Yaquis, en la obtención de las muestras de sangre, optándose por hacer un muestreo a caprinos que se presentaron para sacrificio en dichos meses; durante los meses de septiembre a noviembre la matanza fue muy baja, presentándose el mayor número de sacrificios en los meses de diciembre a febrero. (FIGURA 4)

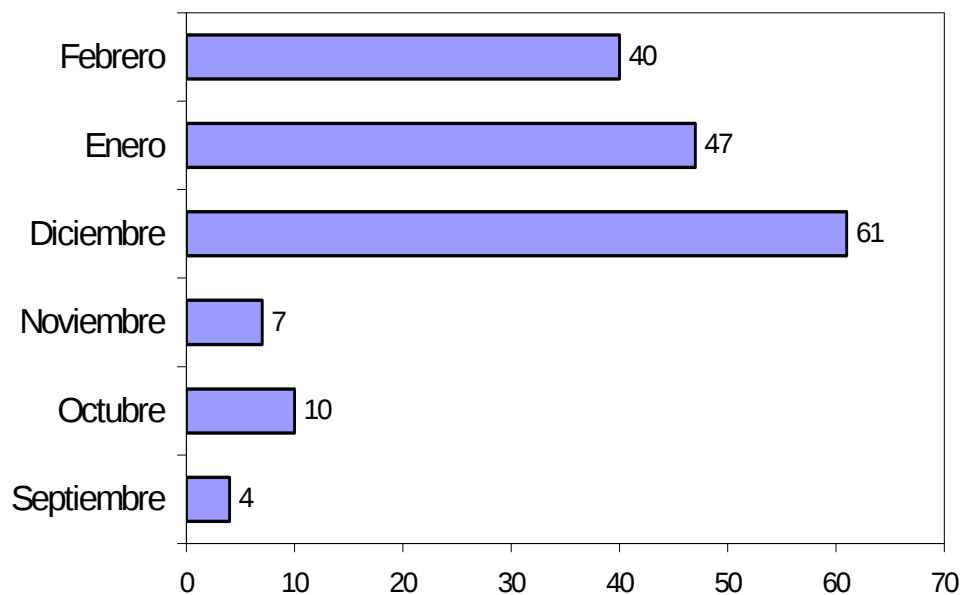


Figura 4. Cantidad de muestras de sangre obtenidas por mes.

De las muestras de sangre cultivadas 141 muestras no tuvieron crecimiento bacteriano, en 24 de las muestras hubo crecimiento sugestivo a *Brucella* spp. Y cuatro con crecimiento no sugestivo. (FIGURA 5)

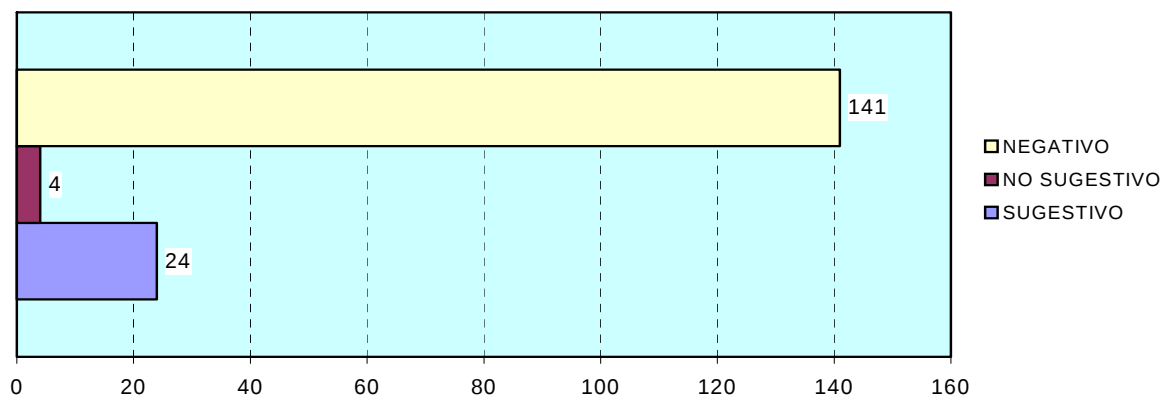


Figura 5. Crecimiento en hemocultivos.

La falta de aislamientos de *Brucella* a partir de sangre no es tan fácil, ya que aunque la bacteria se encuentre en sangre sobre todo en estado febril, no se recupera igual que otras bacterias que causan bacteremia principalmente por sus requerimientos nutricionales y a que su presencia en sangre es en pequeño número debido a que su crecimiento se lleva a cabo dentro de las células de algunos órganos (López,1991).

Los hemocultivos suelen ser negativos en casos subclínicos y crónicos, especialmente en los que no hubo una fase aguda aparente o cuando en esta no se estableció el diagnóstico (Hernández, 1996). Otras causas por las que un hemocultivo es negativo son el uso de antibióticos en los estados febriles con anterioridad al diagnóstico o a fallas durante el procesamiento de las muestras (Acha, 1997).

Una vez transcurrido la fase febril de la infección, *Brucella* en muy pocas ocasiones regresa al torrente sanguíneo, prefiriendo situarse en algunos tejidos como son glándula mamaria, bazo, nódulos linfáticos, en órganos y/o glándulas accesorios del aparato reproductivo tanto de hembras como machos.

De las 24 muestras con crecimiento sugestivo se sembraron en medio Farrel donde se obtuvo crecimiento que al realizar la identificación observamos cinco aislamientos de *Proteus* spp., siete de *Corynebacterium* spp. y ocho de *Bacillus* spp.(FIGURA 6)

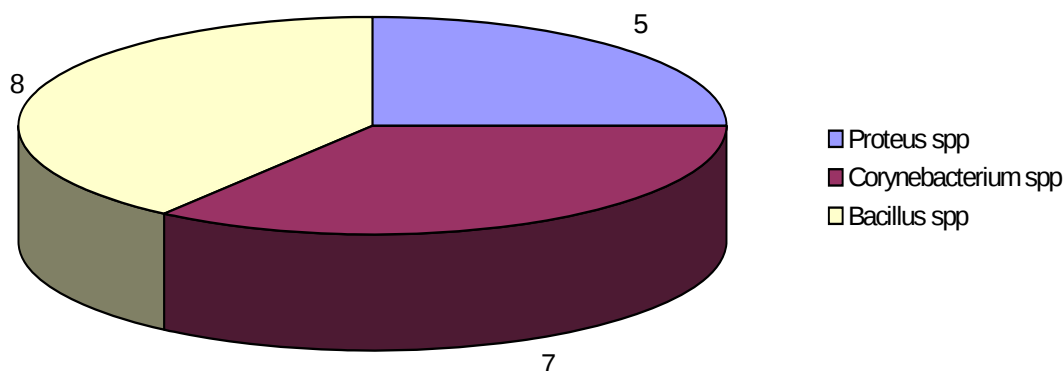


Figura 6. Géneros de bacterias recuperadas de los hemocultivos.

El crecimiento en este tipo de medio pudiera deberse a la resistencia bacteriana, el cual es un proceso natural que no tiene fin en caso de que los organismos adquieran una tolerancia para nuevas condiciones ambientales. Esto es debido a un factor preexistente en el microorganismo o algún o algunos factores adquiridos.

Esta resistencia se puede deber a exposición a bajas concentraciones de fármacos, y después de ello se exponen los descendientes de los microorganismos que sobreviven (Carpenter, 1984). Otros de los mecanismos de resistencia a los antimicrobianos suelen deberse a la inhibición competitiva entre metabolitos esenciales y un análogo metabólico (agente antimicrobiano), formación de una vía metabólica alterna, producción de enzima modificada y alteración de la estructura proteica ribosomal (Pelczar, Reid, Cha, 1992). Biberstein menciona que otros mecanismos de resistencia son la inactivación enzimática de los antibióticos, la falta de permeabilidad de las bacterias, alteraciones de los sitios receptores, la aparición de mecanismos secundarios en las vías metabólicas y la aparición de enzimas con escasa afinidad por agentes antimicrobianos (Biberstein, 1994).

Se obtuvieron en total una cantidad de 12 muestras de leche de las cuales cinco se obtuvieron en el mes de noviembre, tres en el mes de diciembre y cuatro en el mes de enero.

Las muestras de leche obtenidas se sembraron en el medio Farrel de los cuales siete tuvieron crecimiento no sugestivo y cinco crecimientos sugestivos a *Brucella*. De éstas últimas, después de haber realizado las pruebas de identificación para el género *Brucella*, resultaron ser otras bacterias a pesar de la selectividad del medio Farrel y no se realizaron las pruebas para su identificación final.

CONCLUSIONES

La recuperación del género *Brucella* a partir de sangre no fue posible debido que los animales muestreados no se encontraban bajo un proceso febril o condición aparente de enfermedad excepto el provenir de zona endémica de brucelosis, además de la ya demostrada dificultad de recuperarla debido a sus exigencias nutricionales y condiciones ambientales de desarrollo.

La seropositividad a la prueba de Rosa de Bengala no es condición suficiente para el aislamiento de *Brucella* a partir de sangre

El uso de medios de cultivo adecuados para el aislamiento de *Brucella* no impide el desarrollo de otras bacterias por lo que es importante utilizar siempre pruebas que descarten o confirmen la presencia de dicho género.

RECOMENDACIONES

Debido a los resultados obtenidos en este trabajo se sugiere la realización de estudios serológicos en cabras previas a su muestreo, así como tratar de tener sus archivos individuales de producción para conocer su historia clínica y saber si el caprino presentó alguna enfermedad, la cual nos hiciera sospechar de un problema en el cual halla presentado algún estado febril o partir de órganos de cabras con antecedentes de estudios serológicos positivos previos.

BIBLIOGRAFÍA

- Acedo, F.E. 1994. Recuperación, incidencia y biotipificación de *Brucella* spp. en queso fresco regional. Tesis, Centro de Investigación en Alimentación y desarrollo de Sonora (CIAD), Hermosillo, Sonora.
- Acha P.N. y Boris S. 1997. Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales, segunda edición, cuarta reimpresión, publicaciones científicas N° 503, OPS. pp. 14-35.
- Agraz, A.A. 1989. Caprinotecnia 3, editorial LIMUSA, México, D.F. pp. 35-47.
- Biberstein E.L. y Y.C. Zee. 1994. Tratado de microbiología, editorial ACRIBA S.A, Zaragoza España.
- Carpenter P.L, 1984, Microbiología 4 edición, editorial interamericana, México D.F.
- Carter G.R. 1985. Bacteriología y Micología Veterinaria, Editorial El Manual Moderno, México D.F. pp. 39-40.
- Corbel, M.J. 1985. Bacteriological procedures in the diagnosis of *Brucella melitensis* infection, in *Brucella melitensis*. J.M. Verger and Plommet Editors, Current topics in veterinary medicine and animal science, The Commision of European Communities. pp. 105-122.

- Díaz Aparicio E. y Col. 1998. Diagnóstico de Brucelosis Animal, Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias, SAGAR, México, D.F. pp. 3-11,22-27.
- Freeman, A. 1974. Brucella, en Tratado de Microbiología, Editorial Interamericana, México D.F. pp. 472-480.
- Gyles, C.L. and Thoen C.O. 1993. Pathogenesis of bacterial infections in animals, 2^{da} edition, Iowa State University Press/Ames. pp. 237-245.
- Hernández M. 1996. Manual de procedimientos de Laboratorio INDRE/SAGAR, México, D.F. pp. 13-17, 21-25.
- Lanza, H. 1987. Fiebre Caprichosa, Journal Holstein Americana
- López Merino A. 1991. Brucelosis avances y perspectivas, Instituto Nacional de Diagnostico y Referencia Epidemiológicos, México, D.F. pp. 2,7-9,11-22.
- Meyer, M.E. 1990. Evolutionary Development and Taxonomy of the Genus Brucella in Advances in Brucelosis Research, Texas A&M University, Press, U.S.A. pp. 12-25.
- Norma oficial Mexicana NOM-041-ZOO-1995, Campaña Nacional contra la Brucelosis en los animales.
- Pelczar A., R.A. Reid y E.C.S. Chan. 1992. Microbiología, editorial Mcgraw-Hill, México D.F.
- Pérez Martínez J.A. 1989. Procedimientos de Laboratorio para Bacteriología y Micología Veterinaria, UNAM, México D.F.

Ploment, M. 1987. Brucella and Brucellosis, An Update II Forum in Microbiology. pp. 138.

Ruiz-Castañeda. M. 1986. Brucelosis III, Editorial La Prensa Medica Mexicana, México D.F.

World Health Organization. 1986. Joint FAO/WHO Expert committee on Brucellosis. VI report series. Technical Report series. Geneva.