



*PROPORCIÓN DE PREVALENCIA DE BRUCELLA ABORTUS EN BOVINOS DE
LA REGIÓN DE TAURAMENA, CASANARE Y LA AFECTACIÓN EN SALUD
ANIMAL AÑO 2015*

UNIVERSIDAD COLEGIO MAYOR DE CUNDINAMARCA
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
PROGRAMA DE BACTERIOLOGÍA Y LABORATORIO CLÍNICO
TRABAJO DE GRADO
BOGOTÁ D.C., 04 DE OCTUBRE 2019



*PROPORCIÓN DE PREVALENCIA DE BRUCELLA ABORTUS EN BOVINOS DE
LA REGIÓN DE TAURAMENA, CASANARE Y LA AFECTACIÓN EN SALUD
ANIMAL AÑO 2015*

ESTUDIANTES: ALEJANDRA DANIELA CUBIDES GRANADOS
DAHIANA STEPHANNIE DIAZ CRISTIANO

ASESOR INTERNO
JOHANNA MARCELA MOSCOSO GAMA

ASESOR EXTERNO
SANDRA LILIANA CORTES AVELLANEDA

TRABAJO DE GRADO PARA OPTAR POR EL TÍTULO:
BACTERIÓLOGA Y LABORATORISTA CLÍNICO

UNIVERSIDAD COLEGIO MAYOR DE CUNDINAMARCA
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
PROGRAMA DE BACTERIOLOGÍA Y LABORATORIO CLÍNICO
TRABAJO DE GRADO
BOGOTÁ D.C., 2019

Dedicamos este trabajo a:

Dios, por darnos la oportunidad de recorrer pasó a paso este camino profesional, permitiéndonos vivir y crecer como personas y futuras profesionales. Por permitirnos alcanzar una de las metas propuestas en nuestros proyectos de vida.

A nuestros padres, por su dedicación, empeño, sabiduría y fortaleza, quienes siempre nos han apoyado con su amor y paciencia, en nuestras victorias y fracasos, formando en nosotras un ejemplo para futuras generaciones.

A nuestros familiares, por su apoyo incondicional y constante en este largo camino.

Finalmente a nuestros amigos que han sido parte fundamental de este proceso, creando momentos inolvidables, que están a punto de culminar.

Alejandra Cubides

Dahiana Díaz

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos principalmente a Dios por darnos la oportunidad de realizar este proyecto de investigación, por motivarnos en la culminación de este, y en su apoyo con amor y sabiduría para lograr este primer escalón en nuestra vida personal y profesional.

De antemano agradecer a la Dra Johana Marcela Moscoso, nuestra asesora interna, por su paciencia, apoyo y persistencia, para lograr la finalización de este trabajo, a cada uno de los docentes por su aporte de conocimientos y elementos que nos han servido para nuestra formación académica; también mostrarle nuestro aprecio a la facultad de Bacteriología y Laboratorio Clínico, quien nos acogió durante nuestra formación, inculcando los valores que nos harán profesionales íntegros. De la misma manera darle las gracias a la Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca por abrirnos las puertas y convertirse en nuestro segundo hogar.

Finalmente, mostrarle un agradecimiento al laboratorio ZOOLAB por brindarnos, la confianza y apoyo, para la realización de nuestro proyecto, además de confiar las bases de datos analizadas en este trabajo y toda la información requerida para el mismo. A la doctora Sandra Cortés por su asesoría y soporte en la elaboración y culminación de este proyecto.

TABLA DE CONTENIDO

RESUMEN.....	12
INTRODUCCIÓN.....	14
1. ANTECEDENTES.....	16
2. MARCO REFERENCIAL.....	20
2.1 DESCRIPCIÓN DEL PATÓGENO (<i>BRUCELLA SPP.</i>).....	20
2.1.1 ETIOLOGÍA.....	20
2.1.2 MORFOLOGÍA.....	21
2.2 PATOGÉNESIS.....	22
2.2.1 MECANISMOS DE PATOGENICIDAD.....	23
2.2.2 ESTRUCTURA ANTIGÉNICA Y COMPOSICIÓN.....	24
2.3 <i>BRUCELLA ABORTUS</i>	27
2.3.2 DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA.....	27
2.3.3 TRANSMISIÓN.....	29
2.3.4 MECANISMOS DE TRANSMISIÓN EN ANIMALES.....	30
2.3.5 MECANISMOS DE TRANSMISIÓN EN HUMANOS.....	30
2.4 FISIOPATOLOGÍA.....	31
2.4.1 FISIOPATOLOGÍA DEL ABORTO BOVINO.....	31
2.4.2 FISIOPATOLOGÍA EN HUMANOS.....	32
2.5 DIAGNÓSTICO DE <i>BRUCELLA ABORTUS</i>	34
2.5.1 IDENTIFICACIÓN DEL AGENTE.....	34
2.5.1.1 Métodos de tinción.....	34
2.5.2 MÉTODOS DIRECTOS.....	36
2.5.2.1 Cultivo.....	36
2.5.2.2 Reacción de Cadena de la Polimerasa (PCR).....	36
2.5.3 MÉTODOS INDIRECTOS.....	37

2.5.3.1 Rosa de Bengala	37
2.5.3.2 Enzimo-inmunoensayo (ELISA).....	38
2.5.3.2.1 Elisa indirecta.....	39
2.5.3.2.2 Elisa Competitiva	39
2.5.3.3 Fluorescencia Polarizada (FPA)	39
2.5.3.4 Fijación del Complemento.	40
2.6 <i>BRUCELLA ABORTUS</i> COMO ENFERMEDAD ASOCIADA A PÉRDIDAS ECONÓMICAS EN LA REGIÓN DE TAURAMENA CASANARE.	41
2.7 IMPLICACIÓN EN SALUD PÚBLICA DE <i>BRUCELLA ABORTUS</i> EN LA REGIÓN DE TAURAMENA CASANARE.	42
2.8 MARCO LEGAL DE BRUCELOSIS.....	43
2.8.1 LINEAMIENTO NORMATIVO DE BRUCELOSIS SEGÚN LA ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE SALUD ANIMAL WORLD ORGANISATION FOR ANIMAL HEALTH (OIE)	43
2.8.2 NORMATIVIDAD NACIONAL ACERCA DE BRUCELOSIS SEGÚN EL INSTITUTO COLOMBIANO AGROPECUARIO, ICA.	44
2.9 SITUACIÓN ACTUAL DE <i>BRUCELLA ABORTUS</i> EN EL MUNDO	47
2.9.1 SITUACIÓN ACTUAL DE <i>BRUCELLA ABORTUS</i> EN COLOMBIA	47
3 OBJETIVOS.....	49
3.1 OBJETIVO GENERAL	49
3.2 OBJETIVO ESPECÍFICOS	49
4 DISEÑO METODOLÓGICO	50
4.1 TIPO DE INVESTIGACIÓN	50
4.2 UNIVERSO	50
4.3 POBLACIÓN	50
4.4 MUESTRA	50
4.5 TÉCNICAS UTILIZADAS	50

4.5.1	VARIABLES UTILIZADAS	51
4.5.2	MÉTODOS DIAGNÓSTICOS	51
5	RESULTADOS	52
5.1	PRIMER MUESTREO DEL MUNICIPIO DE TAURAMENA, CASANARE.	52
5.2	SEGUNDO MUESTREO DEL MUNICIPIO DE TAURAMENA, CASANARE. .	54
5.3	FACTORES ASOCIADOS AL CONTAGIO DE <i>BRUCELLA ABORTUS</i> EN BOVINOS.....	58
5.3.1	ESPECIFICACIONES DEL MODELO	58
5.3.1.1	Modelo seleccionado	59
6	DISCUSIÓN.....	61
7	CONCLUSIONES	63
8	RECOMENDACIONES.....	64
	BIBLIOGRAFÍA.....	70

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Género <i>Brucella</i> , especie, biotipo y huésped.....	20
Tabla 2. Características bioquímicas de las especies del género <i>Brucella</i>	21
Tabla 3. Porcentaje de casos de Brucelosis por <i>Brucella abortus</i> en ganado bovino por continentes reportados a la OIE entre el 2006 y el 2015.	29
Tabla 4. Vía de entrada y fuente de infección.....	42
Tabla 5. Pruebas Diagnósticas <i>Brucella spp</i>	46
Tabla 6. Prevalencia primer muestreo de la región de Tauramena	53
Tabla 7. Incidencia segundo muestreo de la región de Tauramena.	55
Tabla 8. Modelos de regresión lineal	58
Tabla 9. Modelo seleccionado de la regresión.....	59

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Esquema de la membrana externa de la pared celular de <i>Brucella spp.</i>	25
Figura 2. Situación mundial de brucelosis. Fuente: OIE, 2016.	28
Figura 3 Tinción de Gram de <i>Brucella spp.</i>	35
Figura 4 <i>Brucella sp.</i> , tinción de Stamp.	35
Figura 5. Aglutinación positiva/negativa con rosa de bengala.	38
Figura 6. Reacción de Fijación de Complemento.	40
Figura 7. Prueba de Fijación del complemento en el laboratorio, ICA.	41

ÍNDICE DE GRÁFICAS

Gráfica 1. Porcentaje de casos positivos primer muestro distribuidos por veredas.	54
Gráfica 2. Casos positivos segundo muestro distribuidos por veredas.....	55
Gráfica 3. Bovinos existentes en las veredas con casos positivos.	56
Gráfica 4. % de casos positivos por sexo en las diferentes veredas.	57
Gráfica 5. Número de predios certificados y No certificados.	69



UNIVERSIDAD COLEGIO MAYOR DE CUNDINAMARCA
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
PROGRAMA DE BACTERIOLOGÍA

RESUMEN

*PROPORCIÓN DE PREVALENCIA DE BRUCELLA ABORTUS EN BOVINOS DE
LA REGIÓN DE TAURAMENA, CASANARE Y LA AFECTACIÓN EN SALUD
ANIMAL AÑO 2015*

La brucelosis en bovinos es una enfermedad causada por la bacteria *Brucella abortus*, siendo esta una zoonosis a nivel mundial que en los últimos años se le ha dado especial atención por su alto impacto en el bienestar animal. Esta investigación se desarrolló en la región de Tauramena (Casanare), con el propósito de determinar la proporción de prevalencia en 2015, para lo cual fueron seleccionados 6.121 bovinos, donde se recolectaron los datos y muestras necesarias para lograr nuestro objetivo. Las muestras de suero sanguíneo recolectadas fueron procesadas y analizadas por Zoolab, laboratorio de diagnóstico veterinario ubicado en la ciudad de Bogotá D.C., autorizado por el ICA para el análisis de Brucelosis por las pruebas de Rosa de Bengala y ELISA Indirecta (Pruebas tamiz) y por el Instituto Colombiano Agropecuario ICA, los diagnósticos de Fluorescencia Polarizada (FPA) como prueba tamiz y ELISA Competitiva, como prueba confirmatoria.

Los datos recolectados fueron organizados y analizados, mediante la evaluación y y cálculo de la proporción de prevalencia y el modelo para factores de riesgo, por medio de los programas EXCEL y STATA 14, aplicaciones utilizadas para la solución de dos tipos de muestreos realizados en el municipio

Como resultado del análisis, se calculó una proporción de prevalencia del 1.65% en el primer muestreo y del 0,27% en el segundo muestreo. Este estudio pretende brindar un aporte epidemiológico a la región, además de incentivar el desarrollo de nuevas investigaciones en el municipio de Tauramena, en el departamento de Casanare y en el país.

Palabras clave: *Brucella abortus*, bovinos, zoonosis, Tauramena, Prevalencia.

INTRODUCCIÓN

La brucelosis es una enfermedad zoonótica de distribución mundial, transmisible de forma natural de animales al ser humano; reconocida por su afectación a varias especies domésticas y salvajes; además de generar pérdidas económicas y consecuencias en el bienestar del hombre y animal (1). En bovinos esta enfermedad es causada por la bacteria *Brucella abortus*, un cocobacilo, Gram negativo que afecta al ganado de todas las edades y especialmente machos y hembras en edad reproductiva, causándoles altas tasas de abortos durante el último tercio de la gestación, retención de placenta, metritis, afecciones que pueden ocasionar infertilidad permanente y en machos signos como disminución de la libido e infertilidad, orquitis e inflamación de las vesículas seminales (2–4).

El Instituto Colombiano Agropecuario, ICA (6), es la entidad estatal encargada de la prevención, vigilancia y control de los riesgos que afecten la salud animal y vegetal del país, incluyendo las enfermedades zoonóticas de declaración obligatoria. Esta entidad emite boletines epidemiológicos con periodicidad anual, mensual y semanal, los cuales, una vez analizados, permitieron comparar el estado sanitario del país y obtener una visión de la condición sanitaria del departamento de Casanare para el periodo en estudio.

Según información registrada en el Boletín de Sanidad Animal del ICA año 2014, el departamento de Casanare estaba en la novena posición de contraer la enfermedad, ya que presentaba mayor proporción de predios afectados con una positividad igual o mayor a 24% (7). Cabe resaltar que una de las regiones que ha mantenido su tradición ganadera es el municipio de Tauramena; por lo tanto, la identificación de brucelosis y la determinación de su prevalencia, son indispensables para contrarrestar los factores de riesgo y realizar el manejo adecuado con el fin de evitar el contagio.

Este trabajo se centra en la región de Tauramena, ubicado al suroccidente del Departamento de Casanare, con una población de ganado aproximada a 122.881 para el año 2015 según el reporte de la gobernación del Departamento en ese entonces (8). El objetivo del presente estudio fue identificar la proporción de prevalencia y los factores asociados al contagio de *Brucella abortus* en el ganado bovino de la región; para esto, el Laboratorio Zoolab, diseñó encuestas como instrumento de recolección de información aplicados a propietarios de 98 predios, obteniendo una base de datos utilizada para la realización del presente estudio, con el fin de estimar la prevalencia de *Brucella abortus*, y el impacto en la salud animal del municipio.

1 ANTECEDENTES

La brucelosis es una enfermedad zoonótica de distribución mundial, tan antigua como su primera descripción, que fue atribuida a Hipócrates (450 a. de C.), donde basta la vaga descripción de un cuadro febril prolongado para asociarla a una patología que hoy en día se conoce como brucelosis (4).

Durante la guerra de Crimea (1854 - 1856) se observaron numerosos casos de fiebres prolongadas, por lo que se sospechó de una nueva infección, la que se extendió a los países del mediterráneo, especialmente a la Isla de Malta. (9)

El primer informe clínico fue realizado en los años de 1831 a 1911 por Jeffery Allen Marston, quien contrajo la enfermedad en 1861, en este informe clínico el describió su propia enfermedad, que contrajo mientras trabaja en el área del mediterráneo, a este estudio añadió, pacientes vivos y autopsias de personas con síntomas parecidos a los de brucelosis, confirmando la presencia de esta, en la zona del mediterráneo y la isla de Malta. (10)

Posteriormente en 1887 el coronel David Bruce, médico del ejército británico, logró aislar del bazo de algunos soldados británicos que residían en Malta, una bacteria la cual llamó *Micrococcus melitensis*. En este caso, un factor que pudo atribuir al contagio de esta enfermedad fue que los pacientes en esa época, como parte del tratamiento recibían leche de cabra, razón por la que esta enfermedad también es denominada fiebre de Malta. (11)

En 1895 el profesor, patólogo veterinario y bacteriólogo Danés Bernhard Bang, encontró un microorganismo causante de aborto en ganado bovino, el que denominó *Bacillus abortus*, la descripción del aislamiento de este patógeno en el ganado, y el aislamiento de este, causó un reconocimiento de una gran distribución en otros países. (12)

Así mismo, en el siglo xx, se obtuvo un interés alto en los bovinos, debido a que el aborto contagioso fue reconocido junto con la tuberculosis, como causa de grandes pérdidas económicas; gracias a esto, la oficina de industria animal (BAI) participó activamente en la investigación sobre Brucelosis bovina, con lo que contribuyó al desarrollo de pruebas diagnósticas y vacunas, ayudando a la creación de programas de erradicación de esta enfermedad.

Por otro lado la importación de 60 cabras a través de un navío proveniente de la isla de Malta, llegó a la ciudad de Nueva York en 1905, todos los tripulantes ingirieron leche de las cabras, y pocas semanas después presentaron la enfermedad. Posteriormente en 1914 fue aislada *Brucella suis*, en un feto de cerdo abortado, en el país de Estados Unidos. (11,12)

Luego en 1918, el doctor Evans logró comprobar el parentesco entre *Micrococcus melitensis* y *Bacillus abortus*; este descubrimiento junto con los resultados de los doctores Meyer y Shaw, obtenidos en 1920, permitieron agrupar los microorganismos en un solo género bacteriano denominado *Brucella*, por lo tanto ahora tendrían el nombre correspondiente a *Brucella melitensis* y *Brucella abortus*. En la actualidad se la han unido seis especies más con sus correspondientes biotipos, descritos hasta el momento (13).

En Colombia, los estudios se remontan al año 1927 cuando el profesor César Uribe Piedrahita, cultivó por primera vez el bacilo de la Brucelosis, aislandolo de placenta de vacas abortadoras de la sabana de Bogotá. En este país, el primero en detectar brucelosis humana en el año de 1952 fue el doctor Héctor Espinosa Vellojin en el departamento de Córdoba, partiendo del cultivo de sangre de un niño de 9 años que padecía accesos febriles, habiendo salido negativos los exámenes para las enfermedades de tifoidea y paludismo; este estudio fue enviado a Bogotá para su posterior confirmación realizada por el profesor Luis Patiño Camargo, en el departamento de medicina tropical del Hospital San Juan de Dios, se sabe que el paciente cuidaba una cerda que había tenido abortos repetitivos, pero no se le hizo ningún tipo de estudio a esta. (7)

En 1934 los doctores, Grhenfeld y Butts, consideraron que el contacto con las vacas era la principal fuente de infección para los humanos, debido a que en su estudio notaron la predominancia de *Brucella abortus* en poblaciones pequeñas y zonas rurales, que pronto se diseminó a Alaska y Canadá. (9)

También para el año de 1934 un comité de la Asociación Médica Veterinaria de América, recomendó una vacuna que ha sido utilizada por décadas, a base de una cepa de baja virulencia llamada *B. abortus conocida como cepa 19*, la cual es el agente inmunizante para el control de la brucelosis bovina y se han estudiado varios métodos de administración. Para este año también se creó un programa cooperativo de Erradicación de Brucelosis en Estados Unidos, el cual ha sido un ejemplo para implementarlo en el resto de América, teniendo en cuenta las distintas necesidades de cada país; en 1952 la prueba de anillo en leche fue introducida a este programa; cabe resaltar que el programa está en constantes cambios para mejorar y ser más efectivo en el control de esta enfermedad (12).

En el año 2003, se realizó un estudio en las plantas de sacrificio de bovinos del departamento del Tolima (Colombia), utilizando una muestra de 187 trabajadores a los que se les realizaron las pruebas diagnósticas como Rosa de Bengala, fijación de complemento y ELISAS, para descartar o confirmar si poseían la bacteria. De la anterior prueba, el 1,61% de los pacientes muestreados fueron positivos para este estudio. Durante los meses de septiembre de 2004 a enero de 2005, en la cuenca lechera del departamento del Cauca fueron recolectadas 290 muestras de trabajadores de este lugar, realizándose la prueba de Rosa de Bengala, bajo el método indirecto de la técnica cualitativa de seroaglutinación, obteniendo como resultado la seronegatividad en el 100% de las muestras analizadas. Sin embargo, este hallazgo no concuerda con estudios efectuados en Colombia y Latinoamérica. (8)

En el año 2008 se evaluaron 323 muestras de bovinos obteniendo una positividad de 7,4% (n=24), para *Brucella abortus*, mediante las pruebas de rosa de bengala, fijación de complemento y Elisa competitiva (4).

En América latina según la OMS, los países que demuestran tener mayor incidencia de esta enfermedad son: Argentina, México y Perú, seguidos de Colombia, Chile y Ecuador. Para continuar, en Colombia según la OMS, los estudios realizados para brucelosis humana se han limitado únicamente a los casos de personas con un alto riesgo de contraer la enfermedad, un ejemplo de esto son los trabajadores de los mataderos. La forma inespecífica con que cursa la enfermedad, los problemas en la captación a nivel local y el bajo porcentaje de enfermos que acuden a los centros de salud o clínicas, conllevan a una subnotificación y subregistro de los casos verdaderos que realmente ocurrieron en el país, por ende, los estudios existentes sobre *Brucella* spp son esporádicos, sin embargo, podemos resaltar que algunos estudios se han realizado en lugares con alto impacto de *Brucella abortus*. (9)

La brucelosis es una enfermedad conocida desde hace más de 150 años, a nivel mundial los estudios afirman que la prevalencia ha sido determinada en ciertas áreas geográficas, principalmente en las zonas del Mediterráneo, Asia occidental, algunas partes de África y América; sin embargo, actualmente no se ha logrado del todo su erradicación e incluso en los países bien desarrollados, aún se manejan cifras con valores inferiores a 0.01 por 100.000 habitantes y por otro lado los países en vía de desarrollo reportan cifras superiores a 200 por 100.000 habitantes. (4)

2 MARCO REFERENCIAL

2.1 DESCRIPCIÓN DEL PATÓGENO (*Brucella spp.*)

2.1.1 Etiología

La brucelosis es una enfermedad zoonótica producida por la Familia *Brucellaceae* del género *Brucella*, bacteria cocobacilar Gram negativa, intracelular, facultativa, inmóvil, no esporulada y de crecimiento lento (16). En los animales existen seis especies identificadas de acuerdo a su hospedador: *B. abortus* (9 biotipos), *B. melitensis* (3 biotipos), *B. suis* (5 biotipos), *B. canis*, *B. ovis* y *B. neotomae*. En relación a lo anterior se conocen dos especies nuevas, cuyos hospedadores son animales marinos: *B. Pinnipediae* y *B. cetácea* (Tabla 1)(3,17). Para el caso de los seres humanos, la brucelosis puede ser producida por *B. melitensis*, *B. abortus* y *B. suis* biotipos 1-4 y en ocasiones por *B. canis* o *Brucella* de mamíferos marinos (17,18).

Tabla 1. Género *Brucella*, especie, biotipo y huésped.

Especie	Biotipo	Huésped	Descripción original	Virulencia en seres humanos
<i>B. melitensis</i>	1 a 3	Cabras, ovejas, camellos	Bruce, 1887	++++
<i>B. abortus</i>	1 a 6, 9	Vacas, camellos, búfalos	Bang, 1897	++ a +++
<i>B. suis</i>	1 a 5	Cerdos, roedores	Traum 1914	+
<i>B. canis</i>	-	Caninos	Carmicheal y Brunner, 1968	+
<i>B. ovis</i>	-	Ovejas	Van Drimmelen, 1953	-
<i>B. neotomae</i>	-	Roedores	Stoenner y Lackman, 1957	-
<i>B. pinnipediae</i> y <i>B. cetacea</i>	-	Ballenas, delfines, focas	Ewalt y Ross, 1994	+

FUENTE: Infectología Clínica 2ª edición. Javier Ramos Jiménez- México. 2012 (3)

2.1.2 Morfología

Los microorganismos del género *Brucella* se encuentran formados por cocobacilos o bacilos cortos Gram negativos que miden aproximadamente entre 0,6-1,5 μm de largo por 0,5-0,7 μm de ancho, son inmóviles y aerobios estrictos, con un crecimiento lento que no cuentan con cápsula, flagelos, endosporas y carecen de plásmidos (19,20). Además, cuentan con un metabolismo oxidativo, que está basado en la utilización de nitratos como aceptores de electrones. Y en donde estos bacilos son catalasa positiva; sin embargo, para la oxidasa, ureasa y la producción de H₂S es variable (**¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.**) (19,21,22). Todas las cepas son indol y VP negativas; para la identificación por medio de los métodos convencionales incluye el requerimiento de CO₂ para su crecimiento.

De acuerdo con lo anterior, son consideradas como un microorganismo de crecimiento fastidioso por sus requerimientos en el cultivo, aunque puede crecer en medios nutritivos mínimos, tiene sensibilidad a los colorantes como a la tionina y fucsina los que ayudan en la identificación de especies como biovares en el caso de *B. abortus* y *B. suis* (23).

Tabla 2. Características bioquímicas de las especies del género *Brucella*.

Especie	Hospedador	Biovareidad	Producción de H ₂ S	Necesidad de CO ₂	Sensibilidad a los colorantes		Aglutinación con sueros monoespecíficos		
					Tionina	Fucsina	A	M	R
<i>B. melitensis</i>	Cabras, bovinos,	1	-	-	+	+	-	+	-
	ovino, cánidos,	2	-	-	+	+	+	-	-
	hombre	3	-	-	+	+	+	+	-
<i>B. abortus</i>	Bovinos,	1	+	+	-	+	+	+	-
	cánidos,hombre	2	+	+	-	-	+	-	-
		3	+	+	+	+	+	-	-
		4	+	+	-	-	-	+	-
		5	-	-	+	+	-	+	-
		6	-	-	+	+	+	-	-
	7	+	-	+	+	+	+	-	
	8	-	+	+	+	+	+	-	
	9	+	+	+	+	-	+	-	
<i>B. suis</i>	Cerdos, cánidos,	1	-	-	+	-	+	-	-
	hombre	2	-	-	+	-	+	-	-
		3	-	-	+	+	+	-	-
		4	-	-	+	-	+	+	-
		5	-	-	+	-	-	+	-
<i>B. canis</i>	Cánidos, hombre		-	-	+	-	-	-	+
<i>B. neotomae</i>	Roedores		+	-	-	-	+	-	-
<i>B. ovis</i>	Ovinos		-	+	+	-	-	-	+
<i>B. maris</i>	Focas, leones marinos, delfines, ballenas.		-	-	-	-	-	-	-

Fuente: Brucelosis: una revisión práctica*. Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana 2005.(19)

2.2 PATOGÉNESIS

En cuanto a los miembros del género *Brucella*, estos se conocen como patógenos intracelulares facultativos con capacidad de infectar a gran variedad de especies incluyendo al hombre. Pero a su vez, el huésped natural de cada especie es diferente y la susceptibilidad para padecer la enfermedad dependerá de los factores del individuo receptor, el medio ambiente y de la bacteria (24). Por consiguiente, en la mayoría de las vías de infección para los animales, es por medio directo a través de la mucosa oronasal, ingestión de alimentos contaminados, inhalación o por exudados vaginales después del aborto (16). En los humanos puede ser por el consumo de productos derivados de los bovinos sin algún procesamiento adecuado.

Con lo anterior, al depender de cuál sea la vía de entrada, está invade células del sistema fagocítico mononuclear donde se desarrollan intracelularmente y usan a estas como vehículo de transporte, aquellas que no son eliminadas y evaden la respuesta inmune del individuo logran llegar por vía linfática a los ganglios linfáticos regionales, por ejemplo, si la vía de entrada es digestiva generalmente la infección primaria se lleva a cabo en los ganglios de cabeza y cuello (23,25).

A partir de su localización en los ganglios, puede pasar al torrente sanguíneo, produciendo una bacteriemia, allí son fagocitadas por los macrófagos y polimorfonucleares y son transportadas a los órganos del cuerpo humano, en los cuales pueden continuar multiplicándose a través de los fagocitos tisulares, llegando a órganos secundarios como huesos, hígado, bazo, útero, entre otros produciendo en poco tiempo la formación de granulomas (4).

Finalmente, la *Brucella* también es capaz de inducir su propia internalización en células que no son fagocíticas activas, como los fibroblastos y células epiteliales que una vez dentro de la célula consigue establecerse en el retículo endoplásmico donde permanece y se multiplica. La localización final de *Brucella* se encuentra en

los tejidos de los animales preñados en otras palabras en la placenta, donde alcanza concentraciones muy altas (aproximadamente 10^{10} bacterias por cm^3). Esto produce finalmente una placentitis severa con infección del feto y aborto del animal (26).

2.2.1 Mecanismos de patogenicidad

A diferencia de muchas bacterias patógenas intracelulares, la *Brucella* no posee los factores tradicionales de virulencia como plásmidos o bacteriófagos lisogénicos que le confieran esta capacidad, además no produce exotoxinas, no tiene cápsula que la proteja de la fagocitosis, ni muestra variación antigénica. Sin embargo, es considerada como una bacteria muy virulenta y patogénica en su huésped natural. La virulencia de esta bacteria pareciera estar determinada por su habilidad para internalizarse, sobrevivir y replicarse dentro de los fagocitos (23,27,28).

Por otra parte, se pueden identificar tres tipos de mecanismos principales de patogenicidad, el primero está conformado por los lipopolisacáridos (S-LPS) que son los más importantes gracias a su baja toxicidad, pirogenicidad y actividad inductora de hipofefermia. Asimismo, es considerado como un pobre inductor del factor de necrosis tumoral α (TNF- α) e interferón γ (IFN- γ) y, por último, no activa la vía alterna del complemento (3).

Complementando lo anterior, el lipopolisacárido de la pared es una endotoxina, y la fracción de carbohidratos parece ser la responsable, ya que las cepas patógenas puedan reproducirse dentro de los fagocitos, y de esta manera, invadir el sistema fagocítico mononuclear.

Por otra parte, se encuentran los monofosfatos de adenina y guanina (AMP y GMP) que son de importancia, ya que inhiben la fusión de la fagolisosoma, la granulación y la activación del sistema mieloperoxidasa-halida e inhiben la producción de TNF (3).

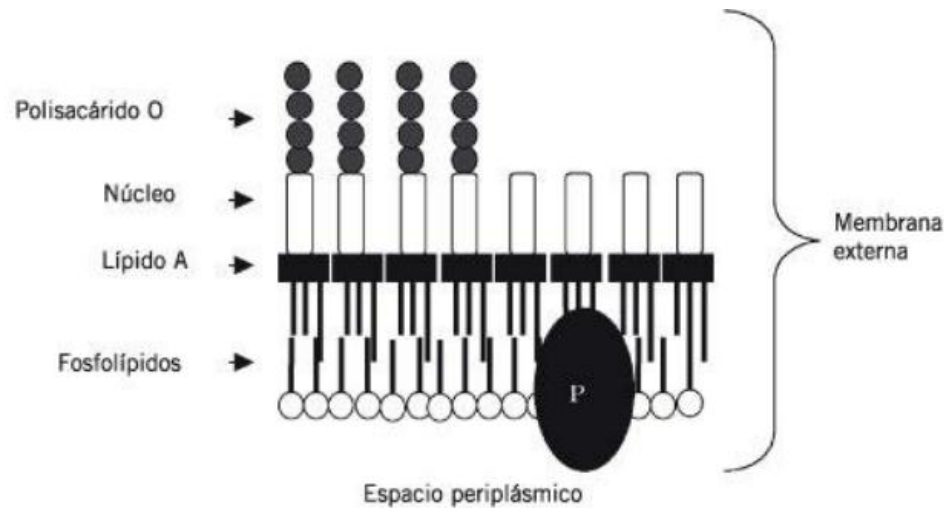
Por último, cabe resaltar que el principal factor de virulencia de la *Brucella* spp. es el lípido A (parte del complejo lipopolisacárido), el cual posee las mismas propiedades patogénicas que la endotoxina de las enterobacteriáceas. La endotoxina de *Brucella* spp. está representada únicamente en las cepas S y es aproximadamente seis veces más tóxica para el ratón, que una de producida por la *E. coli* (23).

2.2.2 Estructura antigénica y composición

La estructura clásica de las bacterias Gram negativas, es similar a la anatomía microscópica de la *Brucella* spp, además de ser muy semejante a recubrimiento de las enterobacteriaceae, sin embargo, la *Brucella* spp cuenta con características propias que permiten diferenciarlas de otras bacterias, cuyo recubrimiento celular está compuesta por una membrana externa, la membrana citoplasmática, dejando un espacio periplásmico (29). En esta bacteria la membrana externa está constituida por la barrera física y funcional, y tiene el propósito de mantener la supervivencia de la misma, ya sea en el exterior del huésped o al interior de este. Asimismo, es la primera estructura que tiene contacto con las células del sistema inmunológico cuando la enfermedad se encuentra en su etapa temprana, ya que no son claros los componentes capsulares en el género *Brucella*.

La composición de la membrana externa de *Brucella* spp, en cuanto a lípidos y polisacárido, diverge de otras bacterias Gram negativas, ya que la fosfatidilcolina que se encuentra en el fosfolípido tiene mayor concentración a diferencia de otras enterobacterias del género *Brucella* que poseen fosfatidiletanolamina. Esta membrana externa (Figura 1), además presenta un polisacárido que es nombrado como endotoxina, y que tiene una relación muy fuerte con las proteínas OMP del grupo que conforma esta Bacteria (23,29).

Figura 1. Esquema de la membrana externa de la pared celular de *Brucella* spp.



Fuente: Brucelosis: una revisión práctica*. Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana 2005.(19)

La lipoproteinlipasa (LPL) localizada en la membrana externa de la bacteria está conformada por la consecución de tres regiones y se distinguen como: el lípido A ubicado en la hoja externa, un núcleo conocido también como un oligosacárido y finalmente la cadena O, que puede estar presente o no según la especie de *Brucella*, cuya expresión de este polisacárido proporciona el aspecto que las colonias obtienen al ser cultivadas en los medios sólidos, accediendo a la clasificación de las especies de *Brucella* en lisas (S) entre las que se encuentran *B. abortus*, *B. melitensis*, *B. suis* y *B. neotomae* o rugosas (R) como es el caso de *B. ovis* y *B. canis* (19,29).

De acuerdo a lo anterior se entiende que el lípido A, es un agregado de glucosamina y diamiglucosa, lo que lo caracteriza como un glicolípido, además de presentar en su conglomerado de amino e hidroxilos cambios por ácidos grasos de variada longitud. Por otra parte el oligosacárido o núcleo está formado por glucosa, manosa, el ácido 3 deox-d-mano-2 octulosónico (KDO) y las cepas lisas LPS-S, por lo cual no contiene ni heptosa ni fosfatos y tampoco las cepas rugosas LPS-R. Por último encontramos el polisacárido O, conocido como un

homopolímero lineal conformado por residuos de N-formilperosamina (4,6 dideoxi-4-formamido- α -D-manopiranosilo), este vínculo de residuos forma dos tipos: α 1-2 o α 1-3 estas moléculas ayudan como marcadores, cumpliendo un papel importante en la virulencia de la bacteria, además de depender del tipo de antígeno, para la caracterización de las diferentes especies y biovariedades (19,30).

En contexto las cepas con epítipo A y dominante se encuentra en la especie *B. abortus*, conteniendo un polímero con 5 perosaminas vinculadas por la ligadura de la molécula α 1-2 y algunas en la α 1-3, entre tanto las cepas M y dominantes son más estructuradas para la especie *B. melitensis*, donde se encuentran unidades repetidas de un pentasacárido que está conformado por una perosamina y ligada al α 1-3 con cuatro más adheridas al α 1-2. Obteniendo una característica en la forma del tipo A que es una barra y del tipo M que es retorcido o rizado (12).

Dicho lo anterior, las moléculas de perosamina en el LPS establecen una actividad antigénica cruzada de algunas de las bacterias Gram negativas como lo son: *Escherichia hermanni*, *E. coli* O: 157, *Salmonella* O: 30, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Francisella tularensis*, *Vibrio cholerae* O, pero que en el caso de la *Yersinia enterocolitica* O que presenta un polisacárido O, algo similar a la especie *B. abortus*, se recomienda tener en cuenta los diagnósticos por métodos serológicos. En cuanto a su estructura los LPS de una especie rugosa es parecida a la de una especie lisa excepto por la ausencia o su reducido polisacárido O, por lo cual su especificidad está fijado por el oligosacárido del núcleo, permitiendo la modificación de la superficie para las especies de *Brucella spp* (12).

En la membrana externa, las proteínas (OmpS) se pueden clasificar en mayores y menores, esto de acuerdo con la su abundancia en dicha capa, además de estar adherida al liposacárido por fuerzas hidrofóbicas (24). Las proteínas mayores se encuentran expuestas al contorno de la membrana y son de menos accesibilidad para las cepas lisas, debido a un obstáculo ocasionado por las largas cadenas de polímeros O. de acuerdo con lo anterior, estas proteínas se pueden encontrar en

tres grupos que son formados por su peso molecular: el grupo 1 lo forman proteínas de 88 a 94 kDa y las cuales se encuentran en menos cantidad que los otros grupos, el grupo 2 o porinas forman proteínas de 36-38 kDa y el grupo 3 en la que se consideran proteínas de 25-27 y 31-34 kDa, similares a las OmpA de la *E. coli*, esto debido a su composición de aminoácidos y a su relación antigénica (19).

Por último, las proteínas menores de la membrana externa se consideran así porque son las menos numerosas y son identificadas por medio de los anticuerpos monoclonales, que presentan una masa molecular de 10, 16.5, 19 y 89 kDa, además de establecerse como lipoproteínas de la membrana al denominarlas como: Omp10, Omp16 y Omp19 para los aminoácidos de las 10, 16.5, y 19 kDa; y la proteína 89 kDa está expresada por la forma Omp17.

Finalmente, la estructura interna de la bacteria se forma por un conjunto de proteínas citoplasmáticas, que son determinadas de acuerdo con el género *Brucella spp*, que son compartidas por la mayoría de las especies, entre las de mayor importancia se encuentran la periplásmica B26 y las internas, cuyo componente A2 es una glicoproteína termo resistente, y empleada para el diagnóstico en bovinos, además su peso molecular es de 16 a 18 kDa, utilizadas como antígenos de reacciones intradérmicas(31).

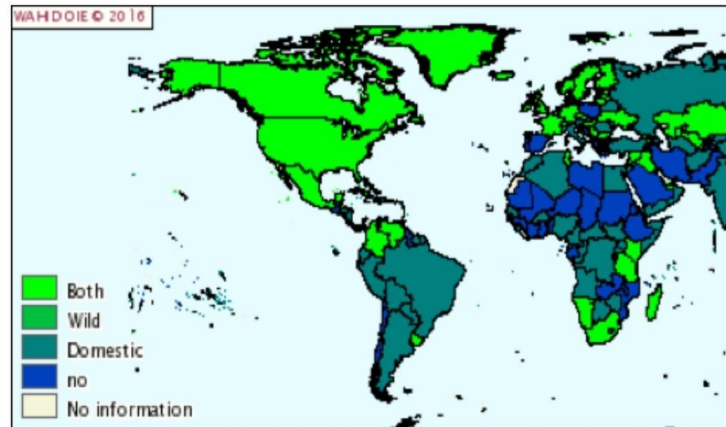
2.3 *Brucella abortus*

2.3.2 Distribución geográfica

La brucelosis bovina se encuentra prácticamente a nivel mundial o en todos aquellos países donde hay explotación ganadera, pero se cree que en varios países de Europa Occidental y del Norte, como Japón, Australia, Canadá y Nueva Zelanda no hay manifestaciones de esta bacteria. Uno de los países con

erradicación es Israel; en EEUU la erradicación de rodeos domésticas es casi completa. Según la OIE, los mayores niveles de incidencia se sitúan en la región del Mediterráneo, Oriente Medio, China, India y Latinoamérica especialmente en países con bajos recursos (17,32).

Figura 2. Situación mundial de brucelosis. Fuente: OIE, 2016.



Fuente: Revisión actualizada de la epidemiología de Brucelosis (*Brucella abortus*, *Brucella mellitensis*, *Brucella suis*, *Brucella canis*) en el Ecuador y el mundo. Centro de biotecnología 2017 (33).

Para el año 2008, 12 países fueron oficialmente declarados libres de brucelosis en bovinos, ovinos y caprinos en la Unión Europea. En cuanto a Estados Unidos (EE.UU.), todos los estados están libres de brucelosis en ganado bovino; sin embargo, en animales salvajes persiste la infección, conllevando a una diseminación ocasional entre rebaños bovinos (32).

De los casos que se han reportado por *Brucella abortus* la mayor cantidad está en las Américas con 561.990 casos desde el 2006 hasta el 2015, en segundo lugar se encuentra Europa con 190.124 casos y por último se ubica África con un reporte de 11.727 casos en el mismo periodo de tiempo. Por otra parte, la OIE en su página informa sobre los países que han reportado brucelosis causada por *Brucella abortus* en ganado bovino, algunos de estos países son: África, Asia,

Europa y América. En este último continente encontramos a países como: Bolivia; Brasil; Chile; Colombia; Costa Rica; Cuba; República Dominicana; Ecuador; El Salvador; Guatemala; Honduras; México; Nicaragua; Panamá; Paraguay; Perú; Estados Unidos de América; Uruguay; Venezuela (33).

Tabla 3. Porcentaje de casos de Brucelosis por Brucella abortus en ganado bovino por continentes reportados a la OIE entre el 2006 y el 2015.

Región	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	Total
África	0.50	0.83	1	2	1	2	2	2	2	2	1
Américas	73.8	66.1	57	48	75	48	63	33	40	57	61
Asia	15.2	14.4	22	21	10	22	11	33	25	12	17
Europa	10.5	18.6	20	29	14	28	24	32	32	29	21
Oceanía	0.00	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
Total	24	15	10	7	11	6	6	6	8	7	100

Fuente: Revisión actualizada de la epidemiología de Brucelosis (*Brucella abortus*, *Brucella mellitensis*, *Brucella suis*, *Brucella canis*) en el Ecuador y el mundo. Centro de biotecnología 2017 (33).

2.3.3 Transmisión

En los animales, *B. abortus* se suele transmitir por contacto con la placenta, el feto, los líquidos fetales y las descargas vaginales de los animales infectados. Los animales se encuentran en estado infeccioso después de un aborto o parto a término. También se puede encontrar *B. abortus* en la leche, la orina, el semen, las heces y el líquido de los higromas. La liberación del organismo en la leche puede ser intermitente, prolongada o permanente. Muchos bovinos infectados se convierten en portadores crónicos (1).

2.3.4 Mecanismos de transmisión en animales

La infección por *B. abortus* generalmente se produce por ingestión o a través de las membranas mucosas, pero también se puede transmitir a través de heridas en la piel. Aunque la glándula mamaria es colonizada durante el transcurso de la afección, también se puede infectar por contacto directo, y posteriormente se excreta el organismo en la leche.

La transmisión venérea parece ser poco frecuente. Se han informado casos de transmisión por inseminación artificial cuando se deposita el semen contaminado en el útero pero no en el cuello uterino.

B. abortus se puede propagar por fómites que pueden estar presentes en los alimentos y el agua. En condiciones de alta humedad, bajas temperaturas y ausencia de luz solar, estos microorganismos pueden permanecer viables durante varios meses en el agua, los fetos abortados, el estiércol, el heno, el equipamiento y la ropa (1).

2.3.5 Mecanismos de transmisión en humanos

El contagio de la brucelosis (también conocida como fiebre de Malta o mediterránea, fiebre ondulante o enfermedad de Bang) suele darse por contacto con fluidos provenientes de algún animal infectado (sangre, orina, heces, fluidos vaginales, fetos abortados, placenta), o debido al consumo de productos de origen animal infectados, principalmente leche cruda o productos lácteos elaborados con leche cruda.

Por lo general, no suelen darse casos de contagio persona a persona; solo se han podido detectar en circunstancias determinadas como trasplantes con órganos

infectados, contacto sexual con un individuo enfermo, o un bebé lactante amamantado por una madre infectada.

Las vías de contagio, es decir, los lugares por donde la bacteria penetra en el organismo una vez ha establecido contacto con el individuo, suelen ser la boca, nariz, ojos y zonas lesionadas en la piel (cortes, heridas, etcétera). También la ingesta de un producto infectado suele ser la forma más común de contagio no relacionado con el entorno laboral.

2.4 FISIOPATOLOGÍA

Luego de su ingreso, las bacterias se localizan inicialmente en los ganglios cercanos a la puerta de entrada donde se multiplican para posteriormente diseminarse al resto del organismo. La bacteriemia, que suele ser intermitente, puede persistir durante meses y aún años.

En las hembras el síntoma principal es el aborto en periodos avanzados de la gestación, durante el cual se liberan grandes cantidades de bacterias. También se puede observar infertilidad, retención placentaria, nacimientos prematuros o a término de crías débiles o muertas y metritis. Las vacas infectadas, luego de la parición, eliminan gérmenes en el calostro y la leche, sobre todo en la primera etapa de lactación, disminuyendo a medida que avanza la lactancia y pudiendo eliminar bacterias en forma intermitente hasta la tercera semana, pero cuando hay mastitis intersticial la liberación de *Brucella* es permanente. Esta bacteria también se elimina por heces y orina pero en menor número (16).

2.4.1 Fisiopatología del aborto bovino

Brucella abortus es un agente infectocontagioso y zoonótico de alta importancia. La infección se realiza principalmente a través de la ingestión, después de esta las bacterias se multiplican en los nódulos linfáticos regionales y se diseminan vía hematológica a otros órganos, principalmente a glándula mamaria, nódulos linfáticos mamarios y útero grávido, por lo general ocurre durante el segundo tercio de gestación. Las bacterias invaden los trofoblastos placentarios y causan una placentitis crónica, ocasionando la muerte del feto a causa de la interrupción de la irrigación transplacentaria y la endotoxemia; Los fetos son abortados después de las 24 a 72 horas luego de la muerte intrauterina, habitualmente el aborto se produce después del quinto mes de gestación. Por otra parte, en la vaca se observa comúnmente metritis y retención de placenta, lo que da lugar a realizar un diagnóstico confirmatorio que se aplica a partir de aislados de fluido abomasal fetal, pulmón, placenta, líquido uterino, leche y por serología de la madre.

Se debe tener en cuenta que aborto es la pérdida del producto de la concepción a partir del periodo fetal (aprox. 42 días) hasta antes de los 260 días en caso del bovino. La pérdida antes de los 42 días post concepción es denominada pérdida embrionaria. Mayormente las fallas ocurren en la etapa embrionaria ya que es el periodo más crítico del desarrollo fetal.

El bovino se infecta con la *Brucella* por vía digestiva, la bacteria invade el organismo y son fagocitadas por los macrófagos y distribuida a los órganos linfoides donde pueden persistir. Si la vaca está preñada la bacteria invade la placenta produciendo una severa placentitis e invasión fetal ocasionando el aborto mayormente después del quinto mes de la gestación. Una consecuencia del aborto es la retención de la placenta con la subsiguiente metritis e infertilidad (3).

2.4.2 Fisiopatología en humanos

En los seres humanos el periodo de incubación de la brucelosis puede ser muy variable, desde cinco días hasta varios meses. Lo más común es que los primeros síntomas comienzan a observarse entre 10 y 30 días tras la exposición al patógeno. Los síntomas de brucelosis pueden ser muy distintos en cada individuo, dándose incluso casos asintomáticos.

El camino que sigue la bacteria tras penetrar en el organismo tiene su primera parada en los ganglios linfáticos; si en este punto las defensas del individuo no son capaces de eliminar al patógeno, este se multiplicará y pasará al torrente sanguíneo. En este momento podrán observarse los síntomas típicos de la etapa aguda de la enfermedad, donde lo más común y característico es la aparición de fiebre de hasta 38°C con duración de varios días, tras los cuales desciende, apareciendo posteriormente en oleadas y acompañada de sudoración profusa, desproporcionada con el estado febril y normalmente en las horas nocturnas, con dolores articulares, musculares o neurológicos. El paciente puede presentar un estado de cansancio continuo y, en muchas ocasiones, estreñimiento. A esto se le pueden sumar síntomas poco específicos como fatiga, dolor de cabeza o pérdida de peso.

La llegada de las bacterias al sistema nervioso central y la endocarditis (inflamación del endocardio, pared interna del corazón) son las complicaciones de las brucelosis más graves; éstas, al igual que los casos de lesiones dermatológicas, son bastante raras y suelen darse principalmente en individuos que están continuamente expuestos al patógeno debido a su ocupación laboral.

La brucelosis tiene una elevada tendencia a producir recidivas (reaparición de los síntomas), sobre todo en los tres meses posteriores a la enfermedad y en los casos que no han sido tratados. Algunos individuos pueden llegar a sufrir dolencias derivadas de la enfermedad durante años, dando lugar a un cuadro crónico que derivará en una disminución de la función músculo esquelética, alteraciones neurovegetativas, parestesia (sensación alterada de los sentidos que

se manifiesta en forma de hormigueos, adormecimiento, etcétera) y dolores articulares (17).

2.5 DIAGNÓSTICO DE *Brucella abortus*

2.5.1 Identificación del agente

Las bacterias del género *Brucella*, son bacilos cortos o cocobacilos Gram negativos de 0,5 a 0,7 μm de diámetro y de 0,5 a 1,5 μm de largo, aerobios, de crecimiento lento y no poseen cápsula ni forman esporas. Los bacilos son Catalasa y Oxidasa positiva, inmóviles ya que no poseen flagelos; su óptima temperatura de crecimiento es de 37°C.

En bovinos, las muestras más comunes y preferentes para la identificación son las de líquido del cuarto estómago del feto abortado, placenta, pulmón, bazo, leche, sangre y otros líquidos. Para el diagnóstico en humanos se realiza mediante la identificación de muestras de líquidos (34,35).

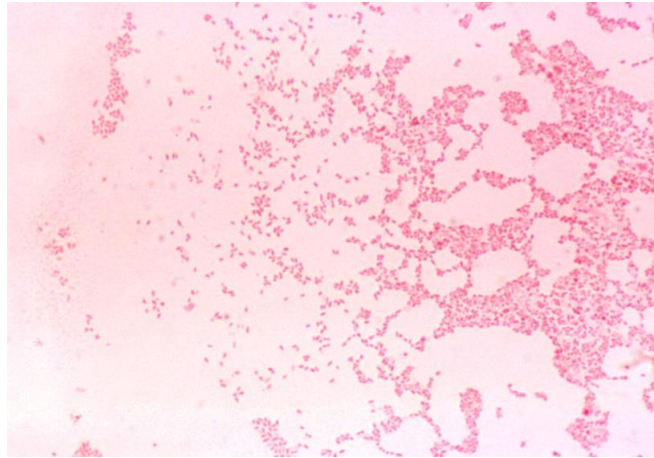
2.5.1.1 Métodos de tinción

Los métodos de tinción en *Brucella*, son una forma sencilla y de bajo costo para realizar un posible diagnóstico. Para la identificación de su morfología por medio de microscopía, se utilizan dos tipos de tinción como lo son: Gram y Ziehl-Neelsen modificado por Stamp (22).

Se debe tener en cuenta que cualquier colonia con una morfología similar a *Brucella* debe examinarse tiñendo un frotis con la tinción de Gram. Estos microorganismos no son bacterias ácido-alcohol resistentes, pero resisten a la decoloración con ácidos débiles (36). La coloración de Gram, se utiliza para muestras de hisopados, donde se observan los bacilos Gram negativos (Figura 3);

para la realización de la coloración se hace exactamente como se indica en el Anexo 1.

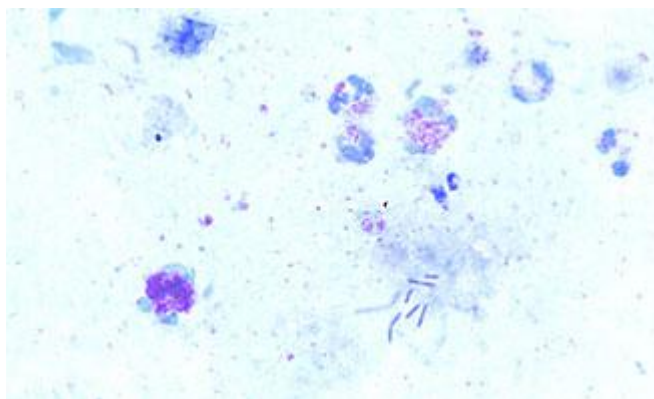
Figura 3 Tinción de Gram de Brucella spp.



Fuente: Fundación io. Atlas de Bacteriología: Brucella 2010 (37).

Por otra parte, el método de Ziehl-Neelsen modificado por Stamp (Anexo 1), se utiliza para el examen microscópico de frotis en tejidos, y al fijarlo previamente con calor o con etanol, se obtiene un teñido rojo sobre un fondo azul, lo que indica la positividad de *Brucella* en la muestra (Figura 4) (38).

Figura 4 Brucella sp., tinción de Stamp.



Fuente: Fundación io. Atlas de Bacteriología: Brucella 2010 (37).

La anterior prueba no es concluyente, ya que en la interpretación de los resultados positivos por el método de Stamp, se debe tener en cuenta otros microorganismos que también causan aborto, como *Chlamydothila abortus* y *Coxiella burnetii*, y que pueden asemejarse a *Brucella*. Es importante tener en cuenta que los resultados, tanto positivos como negativos, deben confirmarse por cultivo (22).

2.5.2 Métodos directos

Los métodos directos tienen como finalidad, identificar el Agente etiológico de las muestras, aislando a *Brucella* spp, por medio de cultivo o de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR). Las muestras que se utilizan por este método según el Instituto Colombiano Agropecuario, ICA, son las siguientes: Líquido cuarto estómago del feto, placenta, pulmón, bazo, leche, sangre (34,35).

2.5.2.1 Cultivo

El cultivo de la bacteria es la única forma de evidenciar que se trata de una infección por *Brucella*; este proceso es lento y engorroso, pero confirma la enfermedad y determina qué especies/biovariedades la están causando. Aunque se puede aislar de varias fuentes, la más empleada es la sangre para realizar el cultivo bacteriológico (39).

2.5.2.2 Reacción de Cadena de la Polimerasa (PCR)

La prueba de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) es un método diagnóstico rápido, sensible y específico para detectar a *Brucella* en muestras de sangre, que permite la detección de género y especie al sintetizar o copiar “in vitro” secuencias específicas de ADN bacteriano. La prueba utiliza secuencias de

RNA ribosomal (16S y 23S) y genes que codifican las proteínas Omp25 y Omp31. La ventaja de la PCR es que permite diferenciar las diferentes especies de *Brucella*. En este caso, es importante considerar que la cuantificación de la carga bacteriana puede ser una ayuda en el seguimiento y en la detección precoz de recaídas o fallos en el tratamiento (28).

2.5.3 Métodos indirectos

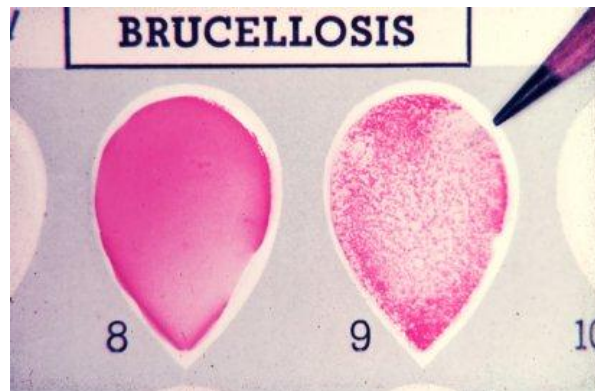
Los métodos indirectos son el recurso más utilizado para el diagnóstico de esta enfermedad y ayudan a determinar la presencia de anticuerpos específicos antibrucella. Las pruebas serológicas hacen parte de los métodos indirectos, estas incluyen: las pruebas de aglutinación rápida.

En el humano, el diagnóstico de la brucelosis está basado sobre la sintomatología y antecedentes epidemiológicos, información que debe confirmarse en el laboratorio mediante pruebas serológicas (40).

2.5.3.1 *Rosa de Bengala*

La prueba Rosa de Bengala, es un estudio de aglutinación rápida, de fácil realización y de bajo costo, que permite procesar un elevado número de muestras. Esta prueba es de tamizaje y es de carácter cualitativa, tiene como propósito clasificar los animales como positivos o negativos. La RB es una prueba con elevada sensibilidad, aunque su especificidad no es tan eminente, principalmente en la diferenciación entre animales infectados de forma natural o de vacunación (17,36). Para llevar a cabo el análisis por medio de este método, es necesario conocer el procedimiento y el fundamento de la prueba (36,41).

Figura 5. Aglutinación positiva/negativa con rosa de bengala.



Fuente: Docplayer. Pruebas diagnósticas basadas en la respuesta inmunitaria.

En esta prueba los falsos negativos se limitan a enfermos con procesos de pocos días de evolución y a algunos casos de enfermedad de curso muy prolongado. Al ser una prueba tamiz, no se puede identificar con esta la especie de *Brucella* en caso de ser positiva como se puede observar en el 9 de la figura y negativa en el 8 (36).

2.5.3.2 Enzimo-inmunoensayo (ELISA)

El método de ELISA es de gran utilidad, se basa en el uso de anticuerpos y antígenos marcados con una enzima, de forma que los conjugados resultantes tengan actividad tanto inmunológica como enzimática.

Al estar uno de los componentes (antígeno o anticuerpo) marcado con una enzima e insolubilizado sobre un soporte (inmuno-absorbente) la reacción antígeno-anticuerpo quedará inmobilizada y, por tanto, será fácilmente revelada mediante la adición de un substrato específico que al actuar la enzima producirá un color observable a simple vista o cuantificable mediante el uso de un espectrofotómetro o un colorímetro.

2.5.3.2.1 Elisa indirecta

La ELISA Indirecta (ELISA- I) es una prueba sensible, debido a que se añaden dos anticuerpos. Sin embargo, este método no es considerado prueba confirmatoria para la enfermedad de brucelosis, ya que cuando existe una previa vacunación del ganado, no es capaz de reconocer los anticuerpos, por tanto esta prueba debe considerarse como diagnóstica.

En cuanto al antígeno, se deben utilizar preparaciones ricas en lipopolisacárido liso (sLPS). Esta prueba de acuerdo con el Instituto Colombiano Agropecuario, ICA, se usa en ganado bovino para el diagnóstico de *B. abortus* (19).

2.5.3.2.2 Elisa Competitiva

Para la prueba de ELISA competitiva (C-ELISA), se emplea un anticuerpo monoclonal que reconoce el epítipo O del LPS-S de *Brucella*, y que compite con los anticuerpos del suero por la unión al antígeno fijado en la placa. El revelado se efectúa con un anticuerpo anti-ratón conjugado con una enzima. Esta prueba puede ser de mayor especificidad que una I-ELISA y se considera un resultado positivo a aquellos sueros con un porcentaje de inhibición mayor del 30% (19).

2.5.3.3 Fluorescencia Polarizada (FPA)

La Prueba de Polarización de Fluorescencia (FPA) es una técnica sencilla y rápida para determinar la interacción antígeno/anticuerpo. El mecanismo de la prueba se basa en la rotación aleatoria de las moléculas en solución.

El tamaño molecular es el principal factor que influencia la velocidad de rotación, con una relación de proporcionalidad inversa. Si una molécula se marca con un

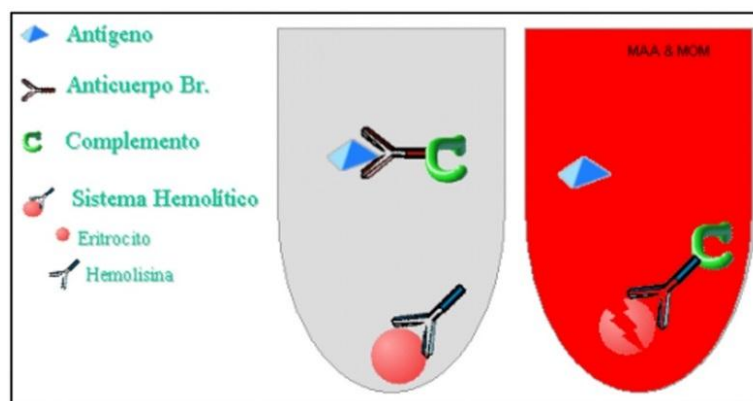
fluorocromo, se puede determinar el tiempo de rotación a través de un ángulo de 68,5°C midiendo la intensidad de la luz polarizada en planos verticales y horizontales. Una molécula grande emite más luz en un único plano (más polarizada) que una pequeña que gira más deprisa y emite luz más despolarizada (19).

2.5.3.4 Fijación del Complemento.

La prueba de fijación de complemento es altamente sensible y de referencia internacional, se usa para la detección de anticuerpos IgG y puede ser implementada tanto en animales como en humanos. La mejor técnica de lectura es a través de microtitulación, donde los sueros con un título equivalente a 20 UIFC/ml o más, se consideran positivos, esta prueba es confirmatoria y de referencia internacional según OIE.

Esta se basa en la unión Ag-Ac y formación del inmunocomplejo (Figura 6), que activa el complemento y produce complejos que lesionan las membranas celulares (eritrocitos y otras células).

Figura 6. Reacción de Fijación de Complemento.



Fuente: Pruebas Diagnósticas en brucelosis bovina.

Figura 7. Prueba de Fijación del complemento en el laboratorio, ICA.



Fuente: Instituto Colombiano Agropecuario, ICA. El Agente. 2015(42)

2.6 *Brucella abortus* COMO ENFERMEDAD ASOCIADA A PÉRDIDAS ECONÓMICAS EN LA REGIÓN DE TAURAMENA CASANARE.

De acuerdo con algunos estudios, la vacunación representa una inversión mayor al inicio del proceso, pero un gran ahorro al momento de afrontar la enfermedad, debido a las consecuencias de la infección producida por la bacteria *Brucella abortus* puede traer consigo grandes pérdidas económicas.

La vacuna no tiene ningún costo, lo que en definitiva tiene valor son los gastos ocasionados por el pago a las personas capacitadas para vacunar, en este caso a los veterinarios que hacen la revisión del ganado y otros gastos adicionales para mantener en buenas condiciones el ganado; aun así el ahorro generado por la vacunación alcanza los \$1.302.670.935, según un estudio realizado por la

Universidad Nacional y la Universidad de Nariño en el departamento de Nariño. Es de anotar que con la vacunación se evitan los abortos, disminuye el índice de mortalidad de las vacas, se amortigua la infertilidad temporal, y por supuesto el riesgo de pérdida en la producción de leche y carne principalmente (43) .

Según un estudio realizado por la universidad de Cundinamarca, la infección producida por *Brucella abortus* puede ascender a los \$6.885.000 por animal por un periodo de tiempo de un año; este estudio fue realizado en la región de Sumapaz; sin embargo, este mismo estudio revela que a nivel de toda Colombia, según el ICA, las pérdidas oscilan entre 3 y 10 millones de pesos por cada animal infectado (44).

2.7 IMPLICACIÓN EN SALUD PÚBLICA DE *Brucella abortus* EN LA REGIÓN DE TAURAMENA CASANARE.

La brucelosis es una enfermedad de alto impacto zoonótico, causando en los humanos fiebre ondulante más conocida como fiebre de malta. Esta infección es altamente contagiosa, principalmente para las personas que están en contacto directo con el ganado bovino, debido a que es fácilmente confundida con los síntomas de afecciones comunes como la gripa, razón por la que es ocasionalmente reportada y tratada inadecuadamente, desencadenando así un problema grave de salud pública, debido a que si los ganaderos no ingresan al proceso de certificación o se retiran en algún momento de este y las personas no son diagnosticadas con la enfermedad, es probable que ésta siga latente y contagie a la demás población(45).

De otra parte, y teniendo en cuenta que para el diagnóstico de la enfermedad se limita a población que esté en contacto con las secreciones de los bovinos, las placentas y los fetos abortados, como son veterinarios, zootecnistas y personal de

laboratorio que recibe y realiza los cultivos de la bacteria, desconociendo en algunas ocasiones la población que puede llegar a ingerir productos lácteos no pasteurizados y que por tanto pueden contener la bacteria, generando un problema en la salud pública.

Tabla 4. Vía de entrada y fuente de infección

Vía de infección	Vía de entrada	Fuente de infección	Población en riesgo
Oral	Mucosa digestiva	Leche y sus derivados lácteos no pasteurizados	Población en general
Contacto directo	Piel erosionada, conjuntivas, mucosa nasal	Productos animales contaminados, como tejidos (placenta), heces, secreciones vaginales, etc.	Trabajadores en contacto con los animales infectados o sus productos
Respiratoria	Mucosa nasal	Aerosoles en laboratorios con muestras contaminadas, vacunas vivas, aerosoles en establos, lana, etc.	Personal de laboratorio, trabajadores de lana, personal de establos, etc.
Parenteral	Inoculación accidental, transfusión sanguínea	Vacunas vivas, material biológico contaminado, etc.	Personal de laboratorio, veterinarios, población en general

Fuente: Castro et al.⁵

2.8 MARCO LEGAL PARA LA VIGILANCIA DE LA BRUCELOSIS

2.8.1 Lineamiento normativo de Brucelosis según la Organización mundial de salud animal World Organisation for Animal Health (OIE)

El ente más importante a nivel global es la Organización Mundial de Salud Animal (OIE), entidad intergubernamental que establece los códigos sanitarios que buscan mejorar la sanidad y el bienestar animal, al igual que la salud pública en todo el mundo (22), incluyendo el Código Sanitario para los Animales Terrestres, con última fecha de actualización mayo de 2019, que tiene como fin. “establecer

normas en materia de detección temprana, notificación y control de agentes patógenos, incluso los zoonóticos, en los animales terrestres (mamíferos, aves, reptiles y abejas) y prevenir su propagación a través del comercio internacional de animales y de sus productos derivados”, incluyendo la Brucelosis.

Este documento se encuentra en su segundo volumen y trata sobre las recomendaciones que se deben tener en cuenta para diagnosticar y controlar a las enfermedades zoonóticas de la lista de la OIE y a otras enfermedades importantes para el comercio internacional. Cabe resaltar el título 8 de este código, que tiene como propósito dar a conocer las enfermedades más comunes en varias especies.

2.8.2 Normatividad Nacional para Brucelosis según el Instituto Colombiano Agropecuario, ICA.

El Instituto Colombiano Agropecuario, ICA, actualizó la normativa sanitaria del país, así como las acciones de prevención, control y erradicación en el marco del programa nacional de Brucelosis, mediante Resolución No. 00007231 del 13 de junio de 2017.

- RESOLUCIÓN No. 00007231 del 13 de junio de 2017: *“Por medio de la cual se establecen las medidas sanitarias para la prevención, control y erradicación de la Brucelosis en las especies bovina, bufalina, ovina, caprina, porcina y equina en Colombia”.*

Para una mejor comprensión de esta Resolución, a continuación se mencionan, en forma resumida, los puntos más importantes a tener en cuenta en Colombia:

“CAPÍTULO I

ARTÍCULO 3. DEFINICIONES. Para efectos de la presente resolución se adoptan las siguientes definiciones:

3.4 Estrategias Confirmatorias. Son métodos analíticos indirectos dentro de los cuales se encuentran las pruebas de Fluorescencia Polarizada (FPA) y ELISA Competitiva, para bovinos, búfalos, ovinos, caprinos, porcinos y la prueba de Fijación del Complemento para equinos y caninos.

3.5 Estrategias Complementarias. Son métodos analíticos dentro de los cuales se encuentran el Aislamiento Bacteriológico, la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) y la Fijación de Complemento para bovinos y búfalos.

CAPÍTULO II

DE LA VACUNACIÓN Y SU SISTEMAS DE IDENTIFICACIÓN

ARTÍCULO 5. VACUNACIÓN OBLIGATORIA. Todo productor deberá realizar la vacunación de hembras bovinas y bufalinas durante los ciclos y fechas de vacunación establecidos por el ICA para la Fiebre Aftosa y la Brucelosis Bovina, utilizando las vacunas oficiales autorizadas por el programa.

ARTÍCULO 12. PRUEBAS DIAGNÓSTICAS. Para el diagnóstico oficial de la brucelosis bovina ocasionada por *Brucella abortus*, se utilizarán los siguientes métodos analíticos según la especie:

Tabla 5. Pruebas Diagnósticas *Brucella spp*

Espece	Rosa de Bengala	ELISA indirecta	Fluorescencia polarizada	Fijación de complemento	ELISA competitiva
Bovina	X	X	X	X	X
Bufalina	X		X	X	X
Porcina	X				X
Ovina y Caprina	X				X
Equina	X			X	
Canina				X	

FUENTE: Resolución No. 00007231 del 13 de junio de 2017. ICA.

ARTÍCULO 14. PROTOCOLO SEROLÓGICO EN SERIE PARA EL DIAGNÓSTICO DE LA BRUCELOSIS. Para el análisis y confirmación en suero sanguíneo de animales positivos a brucelosis bovina, se emplearán protocolos en serie de las pruebas indicadas en el Artículo 12 de la presente resolución, según la especie y de la siguiente manera:

14.1. Para las especies bovina y bufalina se usará cualquiera de los siguientes protocolos diagnósticos:

14.1.1. Protocolo 1:

- i. Rosa de Bengala o ELISA indirecta (excepto en búfalos) como prueba tamiz.
- ii. FPA como primera estrategia confirmatoria de los animales positivos por la prueba tamiz.
- iii. ELISA competitiva como segunda estrategia confirmatoria de los animales positivos o sospechosos a la primera estrategia confirmatoria.

14.1.2. Protocolo 2:

- i. FPA como prueba tamiz.

ii. ELISA competitiva como estrategia confirmatoria de los animales positivos o sospechosos a la prueba tamiz.”

2.9 SITUACIÓN ACTUAL DE *Brucella abortus* EN EL MUNDO

Brucella abortus a nivel mundial se encuentra principalmente en países de Asia Central y sur oriental, en donde presentan el mayor número de incidencias de casos y de crecimiento de la enfermedad. También tienen niveles altos de incidencia en países como Perú, México, India, China, África, Oriente medio y la región Mediterránea. Según la OIE es probable que los países de Europa Occidental y Norte, Canadá, Nueva Zelanda, Australia y Japón, estén libres de *Brucella abortus* (46).

En América del Norte se ha identificado que en rebaños domésticos no se encuentra la enfermedad, sin embargo en animales silvestres del parque nacional de Yellowstone, *Brucella abortus* aún se encuentra presente, infectando ocasionalmente a bovinos de granjas cercanas (47).

2.9.1 Situación actual de *Brucella abortus* en Colombia

En Colombia en 2018 se logró declarar a tres (3) zonas libres de Brucella, ubicadas en la provincia de García Rovira en el departamento de Santander, el Archipiélago de San Andrés y Los municipios de Soatá, Boavita, Tipacoque, Covarachía, San Mateo, la Uvita, Chiscas, El Cocuy, Espino, Guacamayas, Guicán, Panqueba, y las veredas Mortiñal, Tobal, Cortadera, Parroquita, Quindeba, La Playa y Quichua del municipio de Chita en el Departamento de Boyacá.

En los procesos de certificación tres (3) departamentos son los que participan más activamente en esta fase, Nariño con 10.146 predios representa el 63%, Antioquia con 2.900 predios representa el 18%, y Cundinamarca con 1.381 predios representa el 8%.

En los demás departamentos solo 16.080 predios de toda Colombia se lograron certificar como libres de *Brucella abortus*, y Casanare el cual es de gran importancia para este estudio solo tiene 41 predios certificados de los cuales ninguno hace parte del municipio de Tauramena (48).

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GENERAL

Determinar la proporción de prevalencia de *Brucella abortus*, los factores asociados a la presentación de la enfermedad y la afectación en la salud animal, en la región de Tauramena-Casanare.

3.2 OBJETIVO ESPECÍFICOS

- Establecer la proporción de prevalencia de *Brucella abortus* en bovinos en la región de Tauramena (Casanare).
- Proporcionar los factores asociados al contagio de *Brucella abortus* en bovinos, a través encuestas epidemiológicas aplicadas en la región.

4 DISEÑO METODOLÓGICO

4.1 TIPO DE INVESTIGACIÓN

Es de tipo descriptiva, de corte transversal analítica.

4.2 UNIVERSO

122.881 bovinos del municipio de Tauramena (Casanare)

4.3 POBLACIÓN

Bovinos de la región de Tauramena (Casanare), pertenecientes al programa para certificación de predios libres de *Brucella*.

4.4 MUESTRA

La muestra fue por conveniencia -no probabilista- que corresponden a 6.121 muestras de bovinos de los predios estudiados durante el periodo 2015.

4.5 TÉCNICAS UTILIZADAS

El estudio se realizó de forma analítica con datos recolectados mediante un formulario suministrado por el laboratorio Zoolab S.A.S y tabulados en Excel; para

el análisis respectivo de las variables se utilizó el programa STATA 14, con el propósito de establecer la asociación de posibles factores de riesgo para *Brucella abortus* en la región. Estos datos fueron recolectados durante el año 2015 a 98 predios de las 38 veredas de Tauramena.

4.5.1 Variables Utilizadas

Las variables analizadas en este trabajo fueron:

- Casos positivos
- Sexo
- Edad
- Agua
- Predios (Propio/Arrendado)

4.5.2 Métodos diagnósticos

Según la RESOLUCIÓN No. 001332 (12/03/2013) del ICA, que durante ese año regía para el protocolo de detección de *Brucella spp* en el país; como métodos diagnósticos empleados para este trabajo fueron las pruebas tamiz, pruebas de aglutinación con antígeno Rosa de Bengala, Fluorescencia Polarizada (FPA) y ELISA Indirecta en suero sanguíneo. Los resultados positivos para las anteriores pruebas o casos sospechosos fueron confirmados con la prueba de ELISA Competitiva que únicamente la realiza el ICA.

Según esta Resolución, para acceder a la certificación de predios libres de Brucelosis se deben realizar dos pruebas en sueros sanguíneos consecutivas con un intervalo de cuatro meses y en caso que alguna prueba arroje un resultado positivo se debe iniciar de nuevo el proceso.

5 RESULTADOS

El estudio se llevó a cabo en el municipio de Tauramena, situado al suroccidente del Departamento de Casanare en la región de los Llanos, oriente colombiano; cuya extensión total es 2607.2 Km² y una población ganadera aproximada a 122.881 reses para el año 2015 según la Secretaría de Agricultura de la gobernación de Casanare para este periodo.

5.1 PRIMER MUESTREO DEL MUNICIPIO DE TAURAMENA, CASANARE.

De las 6121 cabezas de ganado, correspondientes al primer muestreo se estimó que en 16 veredas con una población ganadera en su totalidad de 5630 presentaron con la prueba de tamiz rosa de bengala un diagnóstico primario de 403 casos posiblemente positivos, los cuales fueron confirmados por ELISA-C como dice la normatividad del ICA para este caso, con un resultado de 101 casos positivos.

Tabla 6. Prevalencia primer muestreo de la región de Tauramena. 2015

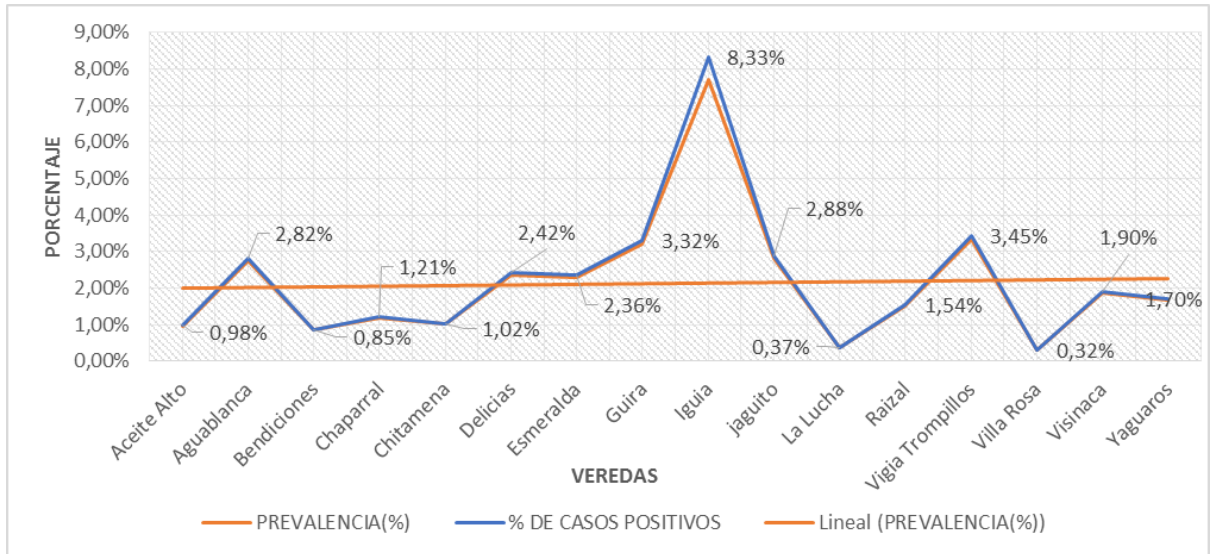
TAURAMENA PRIMER MUESTREO						
MUESTREO	VEREDAS	NEGATIVOS	POSITIVOS	PRUEBA TAMZ POSITIVAS	CONFIRMATORIA POSITIVA	PREVALENCIA POR VEREDA (%)
				ROSA DE B	ELISA-c	
103	Accite Alto	102	1	3	1	0,97%
73	Aguablanca	71	2	6	2	2,74%
237	Bendiciones	235	2	19	2	0,84%
167	Chaparral	165	2	3	2	1,20%
396	Chitamena	392	4	10	4	1,01%
338	Delicias	330	8	18	8	2,37%
565	Esmeralda	552	13	47	13	2,30%
1277	Guira	1236	41	166	41	3,21%
52	Iguia	48	4	6	4	7,69%
250	Jaguito	243	7	19	7	2,80%
271	La Lucha	270	1	6	1	0,37%
990	Raizal	975	15	63	15	1,52%
30	Trompillos	29	1	1	1	3,33%
317	Villa Rosa	316	1	7	1	0,32%
107	Visinaca	105	2	5	2	1,87%
538	Yaguaros	529	9	53	9	1,67%
					PROMEDIO	2,14%
					PREVALENCIA	1,65%

Fuente propia con datos obtenidos del laboratorio ZOO&LAB.

En la

Tabla 6 se puede apreciar la prevalencia por veredas, para los 101 casos positivos que fueron diagnosticados con la bacteria *Brucella abortus*, obteniendo una prevalencia 1.65% del 100%; de los datos más relevantes en las veredas fueron Iguia con un 7,69% de 52 bovinos muestreados con 4 casos positivos, la vereda Guira con 1.277 cabezas de ganado muestreadas y con 41 casos positivos, para una prevalencia 3,21%, y finalmente la vereda Trompillos con un total de 3,33% equivalentes a un caso positivo de 30 animales muestreados.

Gráfica 1. Porcentaje de casos positivos primer muestro distribuidos por veredas.



Fuente propia. Con datos obtenidos del laboratorio ZOO&LAB.

Como se observa en la

Gráfica 1. Porcentaje de casos positivos primer muestro distribuidos por veredas.

podemos visualizar que el porcentaje de casos positivos es similar a las prevalencias, mostrando un comportamiento similar para las dos variables, exceptuando un pico de no normalidad en la vereda Igüia con una prevalencia de 7.69% y un 8.33% de casos positivos.

5.2 SEGUNDO MUESTREO DEL MUNICIPIO DE TAURAMENA, CASANARE.

Según la RESOLUCIÓN dicha con anterioridad se debe realizar una segunda toma de muestras sanguíneas y el cual se tomó una población total de 4.578 cabezas de ganado, para este muestreo no se tuvieron en cuenta los casos positivos del anterior muestreo como especifica la normativa y se realizó en un intervalo de 4 meses, en razón a que los animales diagnosticados con brucelosis debieron ser sacrificados para continuar con el proceso de certificación.

Tabla 7. Prevalencia segundo muestreo de la región de Tauramena.

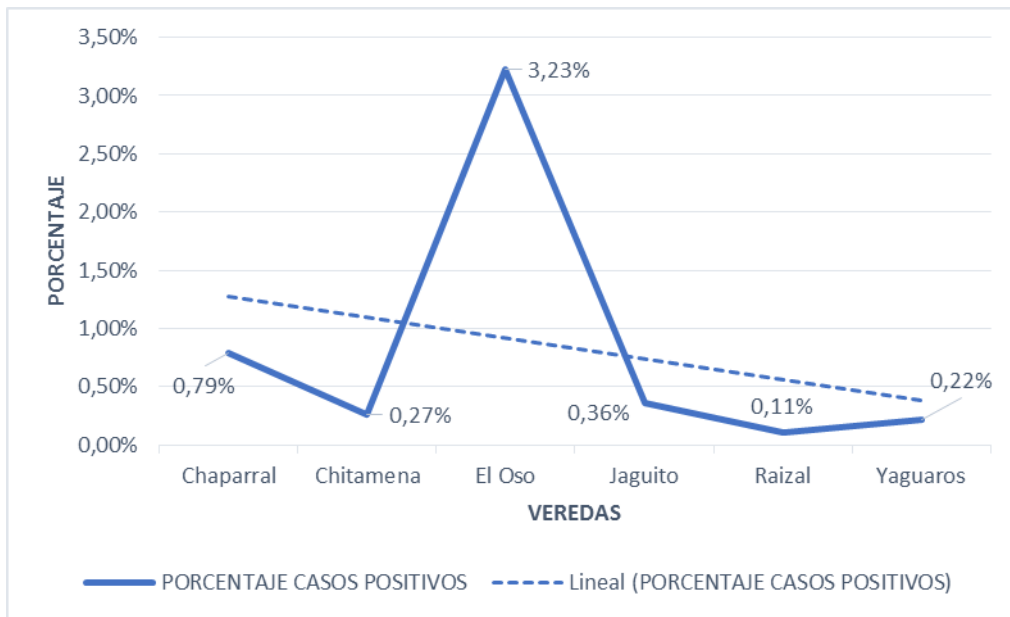
TAURAMENA SEGUNDO MUESTREO							
MUESTREO	VEREDAS	NEGATIVOS	POSITIVOS	PRUEBA TAMIZ POSITIVAS		CONFIRMATORIA POSITIVA	PREVALENCIA POR VEREDAS (%)
				ELISA-i	FPA	ELISA-c	
126	Chaparral	125	1	6	0	1	0,79%
377	Chitarena	376	1	0	10	1	0,27%
31	El Oso	30	1	11	0	1	3,23%
280	Jaguito	279	1	7	4	1	0,36%
927	Raizal	926	1	17	37	1	0,11%
464	Yaguaros	463	1	67	9	1	0,22%
PROMEDIO							0,83%
PREVALENCIA							0,27%

Fuente propia con datos obtenidos del laboratorio ZOO&LAB.

Como se puede ver en la

Tabla 7, las veredas que se encuentran enunciadas presentan un caso positivo. Cabe resaltar que la vereda El Oso presentó un reporte de un caso positivo equivalente a una prevalencia del 3,23% de los 31 casos muestreados en la vereda (Ver Gráfica 2).

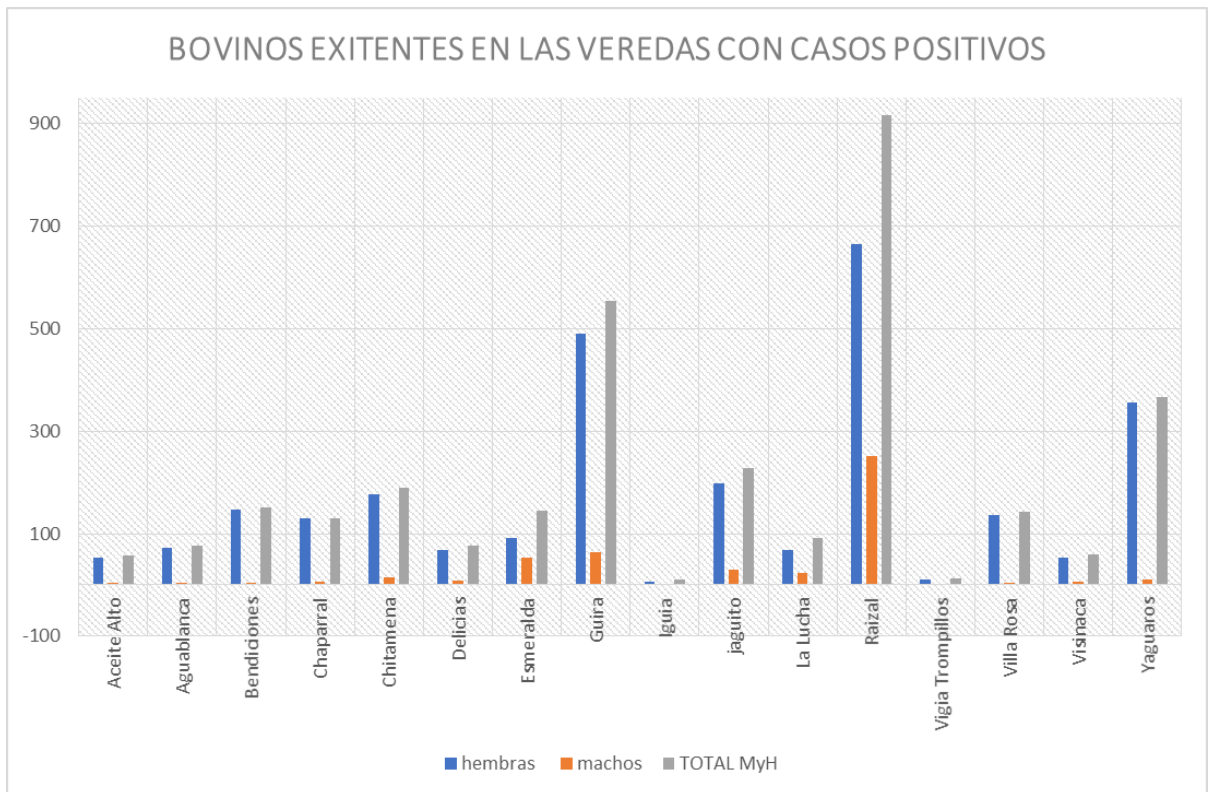
Gráfica 2. Casos positivos segundo muestro distribuidos por veredas.



Fuente propia con datos obtenidos del laboratorio ZOO&LAB.

En este trabajo la selección de los factores de riesgo se basará en los resultados entregados en la encuesta realizada por el Laboratorio Zoolab, y de la información suministrada por la literatura pertinente de dichos factores.

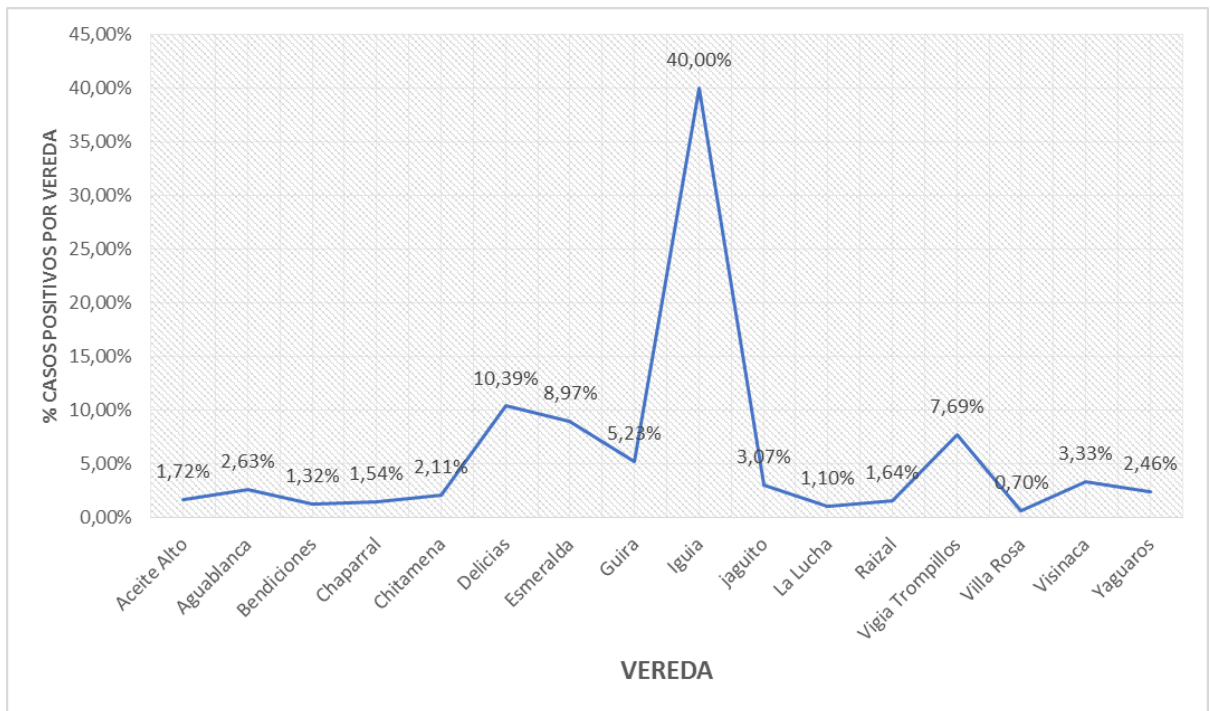
Gráfica 3. Bovinos existentes en las veredas con casos positivos.



Fuente propia con datos obtenidos del laboratorio ZOO&LAB.

Como se puede apreciar en la siguiente Gráfica 3 es el número total de machos y hembras existentes en las veredas con casos positivos estableciendo que la mayor población de machos y hembras se determinó en la vereda el Raizal y Guira con 917 y 542 bovinos respectivamente. Por otro lado, las veredas que tienen menos población de bovinos en sus predios fueron las de la Iguira y Trompillos con 10 bovinos cada uno. Pero al apreciar el impacto de cada caso positivo a la vereda perteneciente se evidenció que la probabilidad de Casos positivos más alto se encuentra, en las veredas con menor población bovina, como se analizará más adelante.

Gráfica 4. % de casos positivos por sexo en las diferentes veredas.



Fuente propia con datos obtenidos del laboratorio ZOO&LAB.

En la gráfica anterior, una vez teniendo en cuenta solo las encuestas que por vereda reportaron casos positivos se determina el porcentaje de bovinos, por sexo, edad adulta y reproductiva, se evidencia que aún existe una linealidad en las veredas, excepto en el sector de la Iguía que arroja un porcentaje mayor al 40% de casos positivos de la población.

5.3 FACTORES ASOCIADOS AL CONTAGIO DE *Brucella abortus* EN BOVINOS.

5.3.1 Especificaciones del modelo

Tabla 8. Modelos de regresión lineal

MODELO	pvalue T	pvalue F	varianza	error	R cua	AIC	BIC
modelo 1	1%	1%	1,906914	1,380900	83,96%	374,114800	387,432000
modelo 2	1%	1%	0,052156	0,228380	75,41%	-7,379919	5,937277
modelo 3	1%	1%	0,052156	0,228380	75,41%	-7,379919	5,937277
modelo 4	1%	1%	0,001586	0,039830	99,26%	-22,673280	-9,356089
modelo 5	1%	1%	1,913936	1,383500	83,90%	374,504400	387,821600
modelo 6	1%	1%	1,776482	1,332800	85,06%	366,604500	379,921700
mejor	CUALQUIERA	CUALQUIERA	MODELO4	MODELO4	MODELO4	MODELO4	MODELO4

Fuente: propia con datos obtenidos de Stata14.

La selección del modelo a realizar se estipuló por medio del programa STATA 14, y en el cual se produjeron 6 modelos de los cuales el modelo 4 cumplió las especificaciones necesarias para seleccionar un modelo de regresión, y en donde se tienen en cuenta los criterios de información AIC y BIC que funcionan como una herramienta para estimar el mejor de los seis, así como se puede observar en la Tabla 8.

5.3.1.1 Modelo seleccionado

Tabla 9. Modelo seleccionado de la regresión

ESTIMACION REGRESION LINEAL			
	Lcaso	Pvalue> T	Std. Error
sexo	0.331733***	1%	0,0139213
Lagu	0.06734624***	1%	0,019423
edadadulta	-0,1479804	1%	0,0140557
Ltip	0.0191897***	1%	0,1166611
_cons	0.08994383***	1%	0,0143218
R-squared	99,26%		
*** p<0.01, ** p<0.05, * p<0.1			

Fuente: Propia con datos obtenidos de Stata14, por regresión lineal.

B1: representa la brecha de los casos positivos en cuanto a género, lo que genera es un resultado de que la cantidad de casos positivos en cuanto a hembras es mayor del 33,17% por cada nueva hembra con la enfermedad, respecto a cada macho reportado con este patógeno, con un grado de significancia del 1%. Teniendo en cuenta que en el estudio se tuvieron en cuenta los machos y hembras infectados con esta enfermedad.

B2: si por un aumento del 1% en pozos y ríos nuevos, los casos de Brucella Abortus en Bovinos aumenta en 6,73%, esto con un grado de significancia del 1%.

B3: teniendo en cuenta que para el estudio solo se tuvieron en cuenta animales mayores a 3 años, por consiguiente, al determinarse que por cada nuevo adulto, hay una disminución de casos reportados del 14,79%, esto con un grado de significancia del 1%.

B4: esto significa que por cada nuevo predio arrendado y propio que se reporte por el municipio el número de casos positivos de Brucella aumentaría en 1,9% esto a un grado de significancia del 1%, teniendo en cuenta que la variable solo fue determinada por el número de predios propios infectados.

B0: si todas las variables independientes fueran 0, los casos positivos aumentarían en un 8,99%, a un nivel de significancia del 1%.

PVALUE: Toda la variable tiene un efecto sobre el salario con un grado de significancia del 1%.

R_squared: los casos positivos reportados son explicados por las variables independientes en un 99,26%.

6 DISCUSIÓN

La *Brucella abortus* es una enfermedad que según OIE y FEDEGAN se encuentra incluida en la lista de enfermedades, de declaración obligatoria. Además los valores que tiene en cuenta la Federación de Ganaderos estiman que para los países de Suramérica, dicha bacteria como lo es *Brucella abortus* presenta una mayor prevalencia en el ganado lechero, con valores que oscilan entre 0,1% y 20,3%.

En contraste con el estudio realizado en el presente proyecto, se puede determinar que tal y como fue estipulado por la Federación de Ganaderos (FEDEGAN), los muestreos realizados a los 98 predios que hicieron parte del programa con resultados para el primer muestreo de 1.65% de prevalencia y para un segundo muestreo de 0.27%. Se puede observar que los resultados se encuentran entre el rango estimado por dicha Federación.

En la región no se encontraron estudios previos sobre el tema, solo el censo realizado por la alcaldía de Tauramena para determinar la población bovina y los pocos casos reportados ante el ICA. Se tiene un estimado de la población bovina de la región de Casanare partiendo del inventario ganadero de FEDEGAN, el cual identifica que del año 2015 al 2018 hubo un incremento de la población bovina partiendo de 1.828.748 cabezas de ganado para el 2015 y en el 2018 finalmente se obtuvo un resultado de 1.992.767 (49).

Debido a que estos son las únicas investigaciones concretas que se tienen de la región de Tauramena Casanare, se realizó una revisión bibliográfica, encontrando que en Córdoba, un región con características climáticas parecidas a las de Casanare, se realizó un estudio de Seroprevalencia de *brucella abortus* en bovinos del departamento de Córdoba, el cual dio como resultado una prevalencia de brucelosis bovina en animales de 3,71% y en predios 12,7%, evidenciando que

esta región tampoco se encuentra libre de brucelosis bovina, y demostrando que existe una variedad de aspectos similares entre ambos estudios ya que la prevalencia del presente estudio fueron 1.65% y 0.27 que resaltan que la brucelosis es un problema grande de salud pública al cual se le debe prestar una mayor atención (31).

Actualmente solo un municipio de Colombia se ha logrado certificar como libre de brucella en la región de santander, y según datos de FEDEGAN se encuentran muy pocos convenios habilitados para la certificación de predios ganaderos, los cuales están por departamentos y de estos muy pocas ciudades o municipios tienen la facilidad de acceder a estos (1).

Basado en el trabajo “Factores de riesgo asociados a la brucelosis bovina (*Brucella abortus*) en vacas en producción lechera en el cantón Montúfar”, en contraste con nuestros resultados se establece que para el presente estudio existe una probabilidad de 1.9% para posibles nuevos predios arrendados o propios, mientras que para el estudio encontrado la variable de arredramiento de potreros no presentó ninguna significancia como factor de riesgo.

En el artículo de Canton Montufar del año 2018, se identificaron posibles factores de riesgo como son: presencia de otras especies animales, procedencia de animales de reemplazo, sistema reproductivo empleado, manejo de residuos de abortos y/o manejo del personal respectivamente de mayor a menor importancia para la prevalencia de la enfermedad (50). La falta de instrumentos estadísticos en este estudio nos permite referirnos mediante la literatura de estos factores de riesgo como una posible relación hacia el contagio de la enfermedad en zonas ganaderas.

7 CONCLUSIONES

Para concluir, en este estudio se determinó que Tauramena no está libre de brucelosis, debido a que al finalizar el estudio se obtuvo una prevalencia representativa no acorde con lo que dicta el decreto 7231 del año 2017, para la certificación de un predio libre de *Brucella abortus* . Por lo tanto, no se puede mantener el estatus sanitario, debido a que se observan varios casos positivos, ya que el segundo muestreo se utilizó tanto para certificar, como para iniciar de nuevo el proceso de los que en el primer muestreo salieron positivos, y tampoco se pudo muestrear el total de la población por parámetros de la norma.

Además de esto se identificaron algunos factores de riesgo asociados a la presentación de la enfermedad, que deben ser socializados a la comunidad para así reducir la prevalencia de la enfermedad en la región.

El municipio no cuenta con un programa de implementación de buenas prácticas ganaderas que contribuyan a la erradicación de la enfermedad en la región, lo cual no permite que durante este proceso el municipio pueda generar mayores ingresos con la venta de ganado libre de Brucelosis Bovina.

Como conclusión del programa que se realizó y del cual no se tuvo en cuenta en este trabajo fueron los resultados de la certificación de predios a la cual se llegó por medio de los datos suministrado por el Laboratorio ZOOLAB, ya que de los 98 predios que participaron se certificaron 53 como libres de *Brucella abortus*. Además quedaron 3 para revisión documental de certificación, y 42 con distintas observaciones, esto debido a la finalización del programa y no continuación de algunos predios (Anexo 3).

8 RECOMENDACIONES

Se recomienda continuar con el programa de saneamiento, ya que al momento de terminar el segundo muestreo se evidencia una reducción en la prevalencia con respecto al primero, aunque al momento de finalizar el la certificación quedaron predios positivos, los cuales deben reiniciar el proceso, pero por motivos de financiación y finalización de la licitación, no fue posible continuar con el programa para los predios positivos restante.

Promover la implementación de buenas prácticas ganaderas contribuyendo por medio de diferentes herramientas metodológicas de fácil comprensión para toda la población, con el fin de lograr la erradicación de la enfermedad en la región, permitiendo que durante este proceso el municipio pueda generar mayores ingresos con la venta de ganado libre de Brucelosis Bovina, convirtiendo a Tauramena nuevamente en potencia ganadera y demostrado que puede continuar de manera eficiente con su tradición ganadera.

Además, es necesario realizar más estudios en la región que ayuden a medir impactos en salud pública y económica para lograr estimar las pérdidas pertinentes que tiene el municipio por presentar esta enfermedad. Ya que son muy pocos los estudios realizados en esta región y no se tienen datos concretos de los impactos ocasionados.

Finalmente, como se observa a continuación se ha realizado un folleto como herramienta informativa para la prevención de la brucelosis y las buenas prácticas biosanitarias, las cuales son de suma importancia para los ganaderos o personas comunes se informen acerca de esta enfermedad.

Humanos

En los humanos se manifiesta con síntomas parecidos a los de un resfriado común, se puede diferenciar por la presencia de fiebres ondulantes, que reaparecen por periodos y dolor articular.

Es importante seguir estas recomendaciones, para evitar grandes pérdidas económicas para su predio.

Recuerde participar activamente en los diferentes procesos de certificación, para así lograr ser un país libre de Brucelosis.



<https://es.slideshare.net/Fedegan/carta-fedegan-141>

Aspectos para tener en cuenta

- Vacune su ganado siguiendo lineamientos del ICA.
- Realice exámenes clínicos para identificar el estatus sanitario de sus animales.
- Sacrifique los animales positivos, para evitar el contagio a animales sanos.
- Los fetos abortados deben ser quemados o enterrados.
- Debe notificar al ICA los casos abortados.
- Participe en los programas de prevención y diagnóstico de la enfermedad en su región.
- La Brucelosis bovina es una enfermedad de control oficial y notificación obligatoria.



Referencias

- DETERMINACIÓN DE LA PREVALENCIA E INCIDENCIA DE BRUCELLA ABORTUS EN BOVINOS DE LA REGIÓN DE TAURAMENA, CASANARE Y SU IMPACTO EN SALUD HUMANA Y ANIMAL EN EL AÑO 2015
- <https://es.slideshare.net/Fedegan/carta-fedegan-141>

Como prevenirla

Brucelosis bovina

- Ingrese al predio solo animales negativos para brucelosis.
- Evite el contacto de otras especies de animales, principalmente caninos que pueden entrar en contacto con los fetos abortados y las secesiones, convirtiéndose en vectores de la enfermedad.
- Verifique el macho con el que vaya a realizar el proceso de reproducción sea negativo para la enfermedad.
- El personal que entre en contacto con los bovinos debe estar capacitado, en el manejo de este para evitar el contagio por medio de fómites.
- Realizar un plan de bioseguridad, con procesos de limpieza, desinfección y manipulación de material contaminado.
- Aislé los animales sospechosos para la presentación de la enfermedad.



<https://es.slideshare.net/Fedegan/carta-fedegan-141>

Brucelosis Bovina

Es una enfermedad causada por una bacteria llamada *Brucella abortus*, siendo esta una zoonosis a nivel mundial, provocando grandes afectaciones a la salud de los animales y las personas.



<https://www.google.com/url?>

Brucelosis humana

- Evite tomar o comer productos lácteos sin pasteurizar.
- Implementar hábitos de higiene antes y después de manipular los animales.
- Brindar todas las barreras de bioseguridad al personal que manipula los animales.
- Si presenta signos y síntomas de la enfermedad acercarse al centro de salud más cercano e informar que es personal de riesgo para la presentación de la enfermedad

Signos y Síntomas de la enfermedad

Bovinos

El principal signo son los abortos en el tercer trimestre de la gestación en las hembras, también se puede presentar retención de la placenta e infertilidad, en el caso de sobrevivir el ternero, son terneros que nacen débiles.

En los machos se puede presentar inflamación de los testículos, glándulas genitales, orquitis e infertilidad.



<https://es.slideshare.net/Fedegan/carta-fedegan-141>

ANEXOS

Anexo 1. COLORACIÓN DE STAMP

- Realizar el extendido
- Dejar secar a temperatura ambiente
- Fijar suavemente con calor
- Teñir durante 10 minutos con una dilución de la solución madre Fucsina de Ziehl-Neelsen (Solución madre: 1 g. de fucsina básica de 10 ml de alcohol absoluto, agregar 90 ml de solución de fenol al 5%)
- Lavar con agua corriente
- Decolorar con ácido acético al 0.5%, máximo durante 30 segundos
- Lavar cuidadosamente
- Colocar Azul de metileno al 1% durante 20 segundos (Colorante de contraste)
- Lavar
- Observar al microscopio con inmersión

Las brucelas se tiñen de color rojo sobre fondo azul, en los frotis de las membranas fetales las brucelas suelen estar agrupadas en racimos redondeados dentro de las células del tejido teñidas de azul.

*Cultivo e identificación de *Brucella* spp. [Internet]. Instituto Colombiano Agropecuario. 2016.

Anexo 2. PRUEBAS DE ESPECIFICACIÓN DEL MODELO

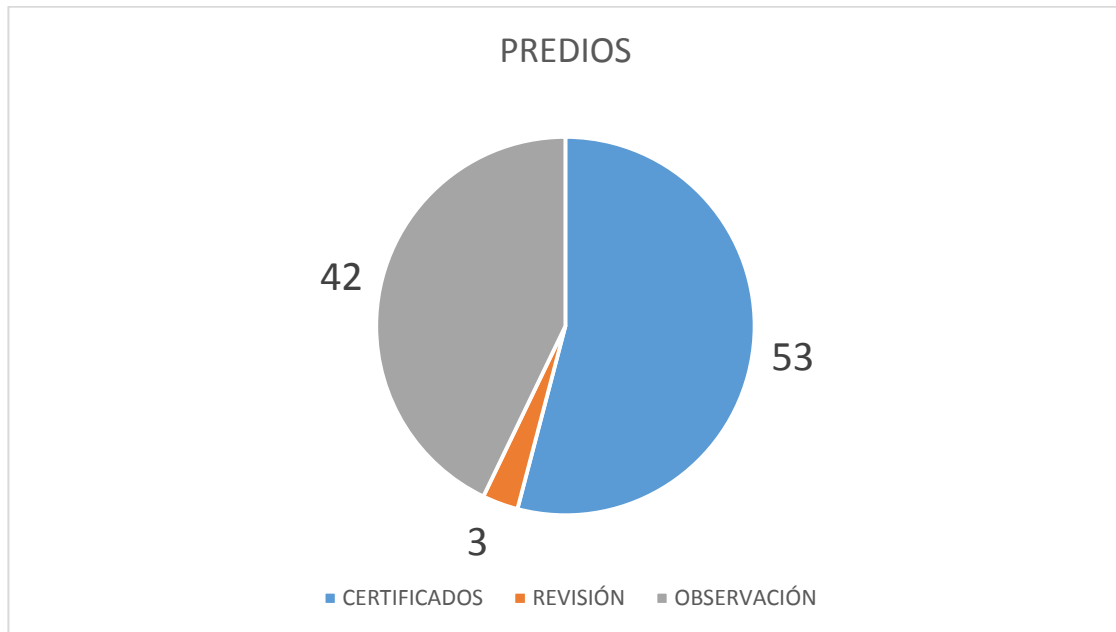
prueba de Multicolinealidad		
test Inflacion de varianzas		
Variable	VIF	1/VIF
ltip	5.92	0.169059
lagu	5.67	0.176363
edadadulta	3.18	0.314211
sexo	2.73	0.366436
error	1.02	0.984548
Mean VIF	3.70	
variable < 10 no multicolinealidad		
<p>Al realizar la prueba de inflacion de varianzas, se demuestra que las variables utilizadas en el modelo son menores a 10, con esto se estima que no existe relacion entre las variable predictoras del modelo estimado.</p>		

PRUEBAS DE HOMOCEASTICIDAD	
test de white	test de Breusch-Pagan
White's test for Ho: homoskedasticity against Ha: unrestricted heteroskedasticity chi2(13) = 105.98 Prob > chi2 = 0.092	Breusch-Pagan / Cook-Weisberg test for heteroskedasticity Ho: Constant variance Variables: fitted values of lcaso chi2(1) = 2.43 Prob > chi2 = 0.1192
Prob > 0,05 Homocedasticidad	Prob < 0,05 Heterocedasticidad
<p>Al realizarse las pruebas pertinentes, se comprueba que el modelo estimado tienen varianzas a lo largo de las observaciones constatante por lo cual el modelo es homocedastico como se observa en la tabla anterior, porque, de haber presentado heterocedasticidad el modelo se deberia haber ajustado, ya que este problema es muy frecuente en estudios de tipo corte transversal como este.</p>	

PRUEBA DE NORMALIDAD					
TEST Skewness/Kurtosis tests for Normality					
Variable	Obs	Pr(Skewnes	Pr(Kurtosis)	adj chi2(2)	Prob>chi2
casos	106	0.0734	0.7276	3.41	0.1815
TEST Jarque-Bera					
Jarque-Bera normality test				3.041 Chi(2)	0.2186
Jarque-Bera test for Ho: normality: Prob > 0,05 Normalidad					
se realizaron las pruebas pertinentes para estimar si existe normalidad en la distribución de los datos del modelo estimado para la región de tauramena, y donde además se estableció que al estar en un rango mayor a 0,5 existe normalidad en las observaciones.					

Anexo 3. RESULTADOS DE CERTIFICACIÓN DE PREDIOS

Gráfica 5. Número de predios certificados y No certificados.



Fuente propia con datos obtenidos por ZOOLAB.

BIBLIOGRAFÍA

1. Federación Colombiana de Ganaderos-FEDEGAN. Programa de Prevención, Control y Erradicación de la Brucelosis Bovina | Fedegan [Internet]. 2012 [cited 2019 Apr 28]. Available from: <https://www.fedegan.org.co/programas/programa-de-prevencion-control-y-erradicacion-de-la-brucelosis-bovina>
2. ICA. Resolución-7231-del-13-de-junio-2017 [Internet]. 2017. p. 1–28. Available from: <https://www.ica.gov.co/normatividad/normas-ica/resoluciones-oficinas-nacionales/2017/2017r7231.aspx>
3. Ramos Jiménez J. Infectología clínica [Internet]. 2 edición. Mendoza Murillo CA, editor. México: El Manual Moderno; 2012 [cited 2019 Apr 28]. 581 p. Available from: <https://vdocuments.mx/infectologiaclinicaramos2aed.html>
4. Dirección de Epidemiología - Ministerio de Salud de la Nación. Enfermedades Infecciosas. Brucelosis [Internet]. República Argentina; 2013. Report No.: 12. Available from: <chrome-extension://ieepebjnkhaiioojkepfniodjmjjihl/data/pdf.js/web/viewer.html?file=http%3A%2F%2Fwww.msal.gob.ar%2Fimages%2Fstories%2Fbes%2Fgraficos%2F0000000304cnt-guia-medica-brucelosis.pdf>
5. Organización Mundial de Sanidad Animal. Enfermedades, infecciones e infestaciones de la Lista de la OIE en vigor en 2019 [Internet]. 2019. Available from: <https://www.oie.int/es/sanidad-animal-en-el-mundo/oie-listed-diseases-2019/>
6. Instituto Colombiano Agropecuario I. Funciones del ICA [Internet]. 2008. Available from: <https://www.ica.gov.co/el-ica/funciones>
7. Instituto Colombiano Agropecuario I. COLOMBIA SANIDAD ANIMAL 2014 [Internet]. Marzo 2017. Oficina Asesora de Comunicaciones I, editor.

- Colombia; 2014. 161 p. Available from:
<https://www.ica.gov.co/getattachment/986dd783-8f37-4ab3-bc33-39995bd8c065/2014.aspx>
8. Gobernación de Casanare. CENSO BOVINO DEL PRIMER CICLO DE 2015 [Internet]. p. 1–12. Available from:
<https://www.casanare.gov.co/index.php?idcategoria=49481#>
 9. Padrón Tello O, Martínez Herrera D, Cardeña Peniche Á, López de Buen L. Historia de la brucelosis. Rev Divulg CIENTÍFICA Y TECNOLÓGICA LA Univ VERACRUZANA [Internet]. 2011;XXIV(2). Available from:
<https://www.uv.mx/cienciahombre/revistae/vol24num2/articulos/brucelosis/>
 10. Álvarez-Hernández NE, Díaz-Flores M, Ortiz-Reynoso M. Brucelosis, una zoonosis frecuente. Med e Investig. 2015 Jul;3(2):129–33.
 11. INSTITUTO DE MEDICINA VETERINARIA, MINISTERIO DE LA AGRICULTURA. BRUCELOSIS ASUNTO DE INTERÉS [Internet]. 5 de Marzo. 2007. Available from: chrome-extension://ieepebpjnkhaiioojkepfnioldjmjjihl/data/pdf.js/web/viewer.html?file=http%3A%2F%2Fwww.sld.cu%2Fgalerias%2Fpdf%2Fsitios%2Fmed-veterinaria%2Fbrucelosis_.historia.pdf
 12. Vega Medellín DM. BRUCELLA ABORTUS: ANTECEDENTES Y AVANCES EN ASPECTOS DE PATOGENESIS, DIAGNÓSTICO Y CONTROL. PONTIFICIA UNIVERSIDAD JAVERIANA; 2006.
 13. Rodríguez Valera Y, Ramírez Sánchez W, Antúnez Sánchez G, Pérez Benet F, Ramírez Pérez Y, Igarza Pulles A. Brucelosis bovina, aspectos históricos y epidemiológicos. Rev Electrónica Vet REDVET [Internet]. 2005;VI(9). Available from:
https://www.researchgate.net/publication/26425478_Brucelosis_bovina_aspectos_historicos_y_epidemiologicos

14. Bechara Z R. Brucelosis humana y aborto. Rev Colomb Obstet Ginecol. XXIX(5):242–5.
15. Osejo V AF, Chilangua S LF, Astudillo A D, Canaval T ZS, Delgado N MF. PREVALENCIA DE BRUCELOSIS HUMANA EN TRABAJADORES DE MATADEROS EN EL DEPARTAMENTO DEL CAUCA-COLOMBIA. REV FAC CIENC SALUD UNIV CAUCA. 2005;7(4):8–12.
16. D.R. © SECRETARÍA DE SALUD. Manual para la Vigilancia Epidemiológica de la Brucelosis [Internet]. México; [cited 2019 Apr 28]. Available from: http://187.191.75.115/gobmx/salud/documentos/manuales/03_Manual_Brucelosis.pdf
17. The Center For Food Security & Public Health; Institute For International Cooperation In Animal Biologics. Brucelosis [Internet]. 2009 [cited 2019 May 1]. Available from: <http://www.cfsph.iastate.edu/Factsheets/es/brucellosis-es.pdf>
18. Rovid Spickler A, Roth JA, Galyon J, Lofstedt J, Lenardón MV. Enfermedades emergentes y exóticas de los animales [Internet]. Primera Ed. Iowa USA: The Center for Food Security & Public Health and the Institute for International Cooperation in Animal Biologics, Iowa State University College of Veterinary Medicine; 2010 [cited 2019 May 1]. 107 p. Available from: <https://books.google.com.co/books?id=s1R6wsyeT4IC&pg=PA106&dq=morfologia+de+brucella+spp&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwjlrLHui73hAhWt11kKHcW7AAwQ6AEIMzAC#v=onepage&q=morfologia+de+brucella+spp&f=false>
19. Castro, Hugo Abel; González, Sofía Raquel; Prat MI. Brucelosis: una revisión práctica [Internet]. Vol. 39, Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana. Buenos Aires, Argentina: [Federación de Especialistas de Análisis Biológicos de la Provincia de Buenos Aires]; 2005 [cited 2019 Apr 28]. 203–216 p. Available from: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=53539208>

20. Domínguez L, Goyache J, Cabezas A, Velasco J, Sánchez-Vizcaíno JM. OTRAS ENFERMEDADES BACTERIANAS (MAL ROJO, BRUCELOSIS, TUBERCULOSIS) Etiología [Internet]. 28 Ago. 2019. Available from: <http://apps.sanidadanimal.info/cursos/enfermedades-infecciosas-porcinas/13/etiologia.htm>
21. Álvarez-Hernández N., Díaz Flores M, Ortiz-Reynoso M. Brucelosis, una zoonosis frecuente. *ELSERVIER, Med* [Internet]. 2015;3(2):129–33. Available from: <https://www.elsevier.es/es-revista-revista-medicina-e-investigacion-353-articulo-brucelosis-una-zoonosis-frecuente-S2214310615000382>
22. Manual Terrestre de la OIE 2018. CAPÍTULO 3.1.4. BRUCELOSIS (BRUCELLA ABORTUS, B. MELITENSIS Y B. SUIS) (INFECCIÓN POR B. ABORTUS, B. MELITENSIS Y B. SUIS) [Internet]. 2018 [cited 2019 May 1]. Available from: <http://www.the-icsp.org/subcoms/Brucella.htm>
23. Freer E, Castro-Arce R. Brucella: una bacteria virulenta carente de los factores de virulencia clásicos. *Rev Costarric Cienc Med* [Internet]. 2001 [cited 2019 May 1];22(1–2):73–82. Available from: https://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0253-29482001000100008
24. Rivers R, Andrews E, González-Smith A, Donoso G, Oñate A. Brucella abortus: inmunidad, vacunas y estrategias de prevención basadas en ácidos nucleicos. *Arch Med Vet* [Internet]. 2006 [cited 2019 May 1];38(1):7–18. Available from: http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0301-732X2006000100002&lng=en&nrm=iso&tlng=en
25. Rocha Gracia RDC, Lozano Zarain P, Martínez Laguna Y. Mecanismos de Patogenicidad e Interacción : Parásito-Hospedero. [Internet]. Primera ed. BUAP, editor. Puebla, pue. México; 2004. 52 p. Available from: <https://books.google.com.co/books?id=aIEwbl7zHAYC&pg=PA53&dq=PATO>

GENESIS+BRUCELLA&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwiXsZiczMHkAhXjlkKH
SKcDuUQ6AEIMzAC#v=onepage&q=PATOGENESIS BRUCELLA&f=false

26. Sbriglio JL, Sbriglio H, Sainz S. BRUCELOSIS Una patología generalmente subdiagnosticada en Humanos y que impacta negativamente en la producción pecuaria y desarrollo de nuestros países. Rev Bioanálisis [Internet]. 2001;22(1–2):73–82. Available from: chrome-extension://ieeepbjnkhaiioojkepfniodjmjjihl/data/pdf.js/web/viewer.html?file=http%3A%2F%2Fwww.revistabioanalisis.com%2Fimages%2Fflippingbook%2FRev13%2520n%2FNota3.pdf
27. Rivas-solano O. Brucella abortus: patogénesis y regulación génica de la virulencia. Tecnol en Marcha [Internet]. 2014;28(2):61–73. Available from: chrome-extension://ieeepbjnkhaiioojkepfniodjmjjihl/data/pdf.js/web/viewer.html?file=https%3A%2F%2Fdialnet.unirioja.es%2Fdescarga%2Farticulo%2F5198854.pdf
28. Vega López CA, Ariza Andraca R, Rodríguez Weber FL. Brucelosis. Una infección vigente. medigraphic [Internet]. 2008;6(4):158–65. Available from: chrome-extension://ieeepbjnkhaiioojkepfniodjmjjihl/data/pdf.js/web/viewer.html?file=https%3A%2F%2Fwww.medigraphic.com%2Fpdfs%2Ffactmed%2Fam-2008%2Fam084c.pdf
29. Fernández García D. Contribución al estudio epidemiológico de la brucelosis bovina en la Comunidad Autónoma de Galicia: investigación y aplicabilidad de nuevas técnicas diagnósticas. Veterinaria. UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA; 2011.
30. Carrica M del C. Caracterización estructural y funcional del factor de virulencia livA de Brucella abortus [Internet]. Repositorio Institucional Digital de Acceso Abierto de la Universidad Nacional de Quilmes. Universidad

Nacional de Quilmes, Bernal, Argentina; 2008. Available from: <http://ridaa.unq.edu.ar/handle/20.500.11807/139>

31. Tique V, González M, Mattar S. SEROPREVALENCIA DE *Brucella abortus* EN BOVINOS DEL DEPARTAMENTO DE CÓRDOBA. *Rev UDCA Actual Divulg Científica* [Internet]. 2010;12(2):51–9. Available from: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0123-42262009000200006
32. Díaz Aparicio E. Epidemiología de la brucelosis causada por *Brucella melitensis*, *Brucella suis* y *Brucella abortus* en animales domésticos. 2013;32(1):43–51. Available from: <chrome-extension://ieepebpjnkhaiioojkepfniodjmjjihl/data/pdf.js/web/viewer.html?file=https%3A%2F%2Fwww.oie.int%2Fdoc%2Fged%2FD12404.PDF>
33. Román F, Luna J. Revisión actualizada de la epidemiología de Brucelosis (*Brucella abortus*, *Brucella melitensis*, *Brucella suis*, *Brucella canis*) en el Ecuador y el mundo. *Cent Biotecnol* [Internet]. 2017;6:82–93. Available from: <http://revistas.unl.edu.ec/index.php/biotecnologia/article/view/342/309>
34. Instituto Colombiano Agropecuario-ICA. PROGRAMA NACIONAL DE PREVENCIÓN, CONTROL Y ERRADICACIÓN DE LA BRUCELOSIS BOVINA EN COLOMBIA. Available from: <https://www.ica.gov.co/areas/pecuaria/servicios/convocatoria-publica-de-autorizacion-en-el-diagnos/brucelosis-inspectores-publicacion-convocatoria-ii.aspx>
35. Instituto Colombiano Agropecuario-ICA. TOMA Y ENVIO DE MUESTRAS DE BRUCELOSIS PARA ENVIO A LABORATORIO [Internet]. 2013. Available from: <chrome-extension://ieepebpjnkhaiioojkepfniodjmjjihl/data/pdf.js/web/viewer.html?file=http%3A%2F%2Fwww.saludcapital.gov.co%2FCTD%2FLab%2FPublicaciones%2F2015%2FToma%2520y%2520Envio%2520de%2520Muestras-Dx->

Brucelosis.pdf

36. Montes I. Diagnóstico de la brucelosis [Internet]. Control Calidad SEIMC. Available from: chrome-extension://ieepebpjnkhaiioojkepfniodjmjjihl/data/pdf.js/web/viewer.html?file=https%3A%2F%2Fwww.seimc.org%2Fcontenidos%2Fccs%2Frevisionestematicas%2Fserologia%2Fdiagbruce.pdf
37. Sabalet T, Fundación io. Atlas de Bacteriología: Brucella [Internet]. 2010 [cited 2019 Sep 8]. Available from: <http://fundacionio.org/img/bacteriology/cont/brucella.html>
38. Coelho A, Díez JG, Coelho AC. Brucelosis en pequeños rumiantes : etiología , sintomatología , diagnóstico , prevención y control. REDVET-Revista electrónica Vet [Internet]. 2014;15(05):1–31. Available from: chrome-extension://ieepebpjnkhaiioojkepfniodjmjjihl/data/pdf.js/web/viewer.html?file=http%3A%2F%2Fwww.redalyc.org%2Fpdf%2F636%2F63633881002.pdf
39. López Merino A. Brucella [Internet]. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Instituto Politécnico Nacional. Available from: <http://www.biblioweb.tic.unam.mx/libros/microbios/Cap7/>
40. Instituto Colombiano Agropecuario I. METODOS PARA EL DIAGNÓSTICO DE BRUCELOSIS EN COLOMBIA [Internet]. Available from: <https://www.ica.gov.co/areas/pecuaria/servicios/enfermedades-animales/brucelosis-bovina-1/pruebas-para-el-diagnostico-de-brucelosis.aspx>
41. MonlabTest®. ROSA DE BENGALA. 2016.
42. Instituto Colombiano Agropecuario I. EL AGENTE.
43. Astaiza-Martínez JM, Benavides-Melo JC, Díaz-Rojas JA. Estudio de costo-efectividad del programa de vacunación contra Brucella abortus en bovinos en el departamento de Nariño. Rev Colomb Ciencias Químico-

- Farmacéuticas (Rev Colomb Cienc Quím Farm) [Internet]. 2012;41(2):167–86. Available from: <https://revistas.unal.edu.co/index.php/rccquifa/article/view/45095/46448>
44. Moreno V, Arenas NE. ESTUDIO ECONÓMICO DE LA INFECCIÓN POR *Brucella abortus* EN GANADO BOVINO DE LA REGIÓN DEL SUMAPAZ, COLOMBIA. Rev la Fac Med Vet y Zootec. 2016;63(3):218–28.
 45. Organización Mundial de Sanidad Animal. Brucelosis Fichas de información general sobre enfermedades animales. p. 6.
 46. Organización Mundial de Sanidad Animal. Brucelosis [Internet]. 2019. Available from: <https://www.oie.int/es/sanidad-animal-en-el-mundo/enfermedades-de-los-animales/brucelosis/>
 47. CÁRDENAS CONTRERAS ZL. LA BRUCELOSIS BOVINA Y SUS FACTORES DE RIESGO: EVALUACIÓN A NIVEL MUNDIAL Y ENCOLOMBIA. Universitat Autònoma de Barcelona; 2018.
 48. Instituto Colombiano Agropecuario I. Avance en la Erradicación de la Brucelosis en Colombia [Internet]. 2018. Available from: <https://www.ica.gov.co/areas/pecuaria/servicios/enfermedades-animales/brucelosis-bovina-1/avance-erradicacion-de-brucelosis.aspx>
 49. Federación Colombiana de Ganaderos-FEDEGAN. Inventario Ganadero [Internet]. FEDEGAN. Available from: <https://www.fedegan.org.co/estadisticas/inventario-ganadero>
 50. González Chavisnan PH. Factores de riesgo asociados a la brucelosis bovina (*Brucella abortus*) en vacas en producción lechera en el cantón Montúfar [Internet]. Universidad Politécnica Estatal del Carchi. Universidad Politécnica Estatal del Carchi; 2018. Available from: <http://repositorio.upec.edu.ec/handle/123456789/603>