

## EVALUACIÓN DE LA CEPA S19 *Brucella abortus* EN EL CONTROL DE LA BRUCELOSIS BOVINA EN ACTOPAN, VERACRUZ, MÉXICO

D.I. Martínez Herrera\*, A. Peniche Cardaña\*, S.G. Hernández Ruiz\*, Ma. Antonia Abeledo\*\*, F.T. Barradas Piña\*\*\*, M. Villanueva Valencia\*, J.F. Morales Álvarez\*\*\*\*, R. Flores Castro\*\*\*\*

\*Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Veracruzana, Veracruz, Ver. México, Correo electrónico: chobilin@yahoo.com; \*\*Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA), La Habana, Cuba; \*\*\*CE La Posta, Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias, México, D.F., México; \*\*\*\*CENID Microbiología Animal, Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias, México, D.F., México

**RESUMEN:** Para evaluar la eficacia de la cepa S19 de *Brucella abortus* en hatos bovinos del municipio de Actopan, Veracruz que presentan una prevalencia baja de brucelosis, se emplearon 162 hembras procedentes de tres hatos, con prácticas de manejo y alimentación similares; estas fueron seleccionadas de manera aleatoria y divididas en dos grupos de 81 animales cada uno. Al primer grupo se les administró 2 mL de cepa S19 de *Brucella abortus*, con dosis clásica ( $5 \times 10^{10}$  Unidades Formadoras de Colonias) a las becerras de tres a seis meses de edad y con dosis reducida ( $3 \times 10^8$  a  $3 \times 10^9$  Unidades Formadoras de Colonias), a las hembras de más de seis meses, incluso gestantes. El otro grupo se manejó como grupo control sin vacunar. Todos los animales fueron muestreados para serología cada tres meses durante 18 meses. Los sueros se procesaron por la prueba de tarjeta como tamiz y los reactores fueron confirmados por la de Rivanol según la NOM-041-ZOO-1995. Los resultados se analizaron con Chi-cuadrado ( $X^2$ ) y riesgo relativo (RR). La prevalencia inicial fue de 0% para ambos grupos. En el primer muestreo post vacunación, cinco animales pertenecientes al grupo vacunado, resultaron positivos a la prueba de Rivanol, para una prevalencia de 3.3% y aunque en el resto de los muestreos, la seroconversión disminuyó, dos hembras del grupo vacunado se mantuvieron como positivas para una prevalencia final de 2%. El grupo control mantuvo en 0% la prevalencia durante todo el estudio. Se concluye que la cepa S19 de *Brucella abortus* no es recomendable en hatos con prevalencia baja debido a que induce la producción de anticuerpos postvacunales que se conservan hasta por más de 18 meses, lo que interfiere con el diagnóstico oficial de la brucelosis.

(Palabras clave: brucelosis; *Brucella abortus*; cepa 19; vacuna; baja prevalencia)

---

## EVALUATION OF *Brucella abortus* S19 STRAIN FOR THE CONTROL OF BOVINE BRUCELOSIS IN ACTOPAN MUNICIPALITY, STATE OF VERACRUZ, MEXICO

**ABSTRACT:** For evaluating the efficacy of *Brucella abortus* S19 strain in bovine herds with a low brucellosis prevalence, 162 females were randomly selected from three herds with similar management conditions and feeding in Actopan, Ver. and then divided into two groups of 81 each. The first group was vaccinated with 2 ml of S19 *Brucella abortus* strain suspension with  $3 \times 10^8$  to  $3 \times 10^9$  colony forming units (CFU) dose for females older than six months including pregnant and those between three and six months with  $5 \times 10^{10}$  CFU. The other one was used as unvaccinated control group. All selected animals were bled every three months for 18 months. Collected serum was processed by card test (CT) as screening assay and reactors were confirmed by Rivanol test (RIV) in agreement with NOM - 041 - ZOO - 1995. Results were analyzed by chi square ( $X^2$ )

and relative risk (RR). Initial prevalence was 0% for both groups. At first sampling after vaccination, RIV identified five positive animals from the vaccinated group for 3.3% prevalence; nevertheless, serum conversion decreased to 2% for the next sampling. Thus, two females from the vaccinated group remained as positives during the remaining samplings, so final prevalence was 2%. The control group kept 0% prevalence during all study. It was concluded that to vaccinate low prevalence herds with *Brucella abortus* strain S19 is not useful due to serum conversion inducing antibodies than could remain over 18 months, thus interfering with official diagnosis procedures for brucellosis.

(Key words: brucellosis; *Brucella abortus*; S19 *Brucella abortus* strain; vaccine; low prevalence)

## INTRODUCCIÓN

La brucelosis es una enfermedad de alta contagiosidad que afecta diversas especies animales, se transmite al hombre y constituye una zoonosis que es aún motivo de preocupación a nivel mundial (1). Si bien la enfermedad humana ha estado asociada a un reservorio animal, la complejidad de la interacción entre humanos y animales se ha incrementado en los últimos años ante la aparición de nuevas especies (2). La enfermedad es de curso crónico, afecta de forma severa la salud del animal al ocasionar abortos en varias especies de importancia zootécnica, lo que genera un impacto económico negativo en la industria por las importantes pérdidas originadas en la producción de carne y leche (3).

La fuente primaria de infección está representada por las hembras grávidas que, al abortar o parir, expulsan grandes cantidades de esta bacteria con el feto, el líquido amniótico y las membranas fetales (4,5). La vía de penetración más importante es la oral, debido a la ingestión de pastos, forrajes y agua contaminados (6).

Aunque el aislamiento de *Brucella* a partir de tejidos o fluidos corporales es la prueba definitiva en el diagnóstico de la enfermedad, pues indica que el animal está infectado; la serología es el recurso más utilizado para el diagnóstico de la brucelosis y se basa por lo general en métodos de aglutinación como las pruebas de tarjeta y Rivanol y, la de fijación del complemento (7,8).

Las estrategias de combate para la brucelosis bovina, son bastante conocidas y pueden ser resumidas en vacunación, certificación de hatos o rebaños libres mediante pruebas indirectas, control de desplazamientos de animales y sistema de vigilancia específico. Sin embargo, los resultados alcanzados, varían mucho, ya que hay registros de éxitos y fracasos citados en la literatura especializada (9).

Las vacunas que se han utilizado en los últimos años para el control de la brucelosis bovina son las cepas S19 y RB51 de *Brucella abortus* (10). La cepa S19 fue aislada como cepa virulenta en 1930 por el Dr. John M. Buck, a partir de leche de vaca (10); la bacteria es incapaz de crecer en presencia de eritritol, porque ha perdido entre sus loci el gen *Eri* que le sirve para codificar la enzima necesaria para su utilización. Esta vacuna es de baja patogenicidad, alta inmunogenicidad y buena antigenicidad (11); sin embargo, la principal desventaja para su uso, es la generación de anticuerpos en las hembras vacunadas y que interfieren con las pruebas diagnósticas más utilizadas que emplean antígenos con lipopolisacáridos (LPS) lisos. Estos LPS lisos están presentes tanto en la cepa utilizada en la vacunación como en las cepas de campo, lo que indica que son similares de forma antigénica, además de que explica la similitud de la respuesta inmune que existe entre un animal vacunado y uno infectado (12).

Del mismo modo ocurre con el resto de las cepas lisas del género *Brucella*, por lo que los individuos vacunados con esta cepa pueden ser identificados como positivos por un considerable periodo de tiempo al usar las pruebas convencionales que emplean antígenos lisos (13,14,15).

En México, se confirmó esta enfermedad en 1905 y a partir de esta fecha, ha causado grandes pérdidas a la ganadería; pero además, constituye uno de los más importantes problemas de salud pública para el país (4). La vacuna cepa S19 de *B. abortus* es utilizada desde 1942 a partir de la presencia de abortos causados por brucelosis; sin embargo, fue en 1971 que se inició el Programa Nacional contra la Brucelosis (10) cuyo objetivo fue determinar la situación epidemiológica mediante pruebas diagnósticas y prevenir la enfermedad a través de la vacunación.

El programa fue reforzado por los gobiernos federal y estatal y, por las organizaciones de productores (16). Como resultado de ello, se intensificaron las acciones para el control de brucelosis con la publicación en el Diario Oficial de la Federación (DOF) en agosto de 1996, de la Norma Oficial Mexicana NOM-041-ZOO-1995 «Campaña Nacional contra la Brucelosis en los Animales», que es de cumplimiento obligatorio en todo el territorio nacional.

En el municipio de Actopan, Veracruz, existe un predominio de rebaños bovinos en sistema extensivo de doble propósito, que mantienen una prevalencia baja de brucelosis y están en constante riesgo, con las consiguientes pérdidas económicas y amenaza para la salud de la población, por lo que el objetivo del trabajo fue evaluar la vacunación con cepa S19 en el control de la enfermedad en estos rebaños.

## MATERIAL Y MÉTODOS

La investigación se realizó en el municipio de Actopan, Veracruz, México que se encuentra localizado en la zona centro del estado. Tiene una ubicación geográfica de 19° 30' de latitud norte y 96° 37' de longitud oeste, a una altitud de 260 msnm. El clima es templado-húmedo-regular, con una temperatura media anual de 24.8 °C. La precipitación media anual es de 860.1 mm con lluvias abundantes en el verano y a principios del otoño, pero de menor intensidad el resto del año. Tiene una superficie de 68,320 ha. dedicadas a la ganadería, en donde se ubican hatos con actividad de cría y producción de animales. Cuenta con 32,782 cabezas de ganado bovino (17).

Los hatos que se utilizaron se dedican al sistema de producción de doble propósito. El tipo de ordeño es manual y durante el ordeño las crías son utilizadas para el apoyo de la vaca. Las animales tienen diferente encaste de Brahman y Sardo Negro con razas europeas de *Bos taurus* como Holstein Friesian, Suizo Americano y Simmental.

Los hatos utilizados carecen de un programa de bioseguridad que incluye actividades de limpieza y desinfección dentro de todas sus áreas. Las instalaciones con las que cuentan son rústicas y con poca tecnología. Asimismo, los animales que mueren o los restos de placentas desechados por aborto o parto normal, no se procesan para disminuir las fuentes de infección.

Para calcular el tamaño de la muestra y conformar los grupos vacunado y no vacunado se empleó el programa Win Episcope 2.0 bajo la modalidad de encon-

trar la diferencia entre las proporciones. Se asumió una proporción esperada de 6% de animales positivos a brucelosis en la población vacunada y de 20% de animales positivos en la población no vacunada, con un nivel de confianza del 95% y una potencia del 80% (18). De tal manera, el tamaño de muestra se estimó en máximo 88 animales por grupo.

En una primera etapa, se desarrolló un estudio epidemiológico transversal para identificar hatos infectados de forma natural con brucelosis y conocer su prevalencia. Sólo fueron considerados los hatos en sistemas extensivos de doble propósito en clima tropical y sin antecedentes de vacunación contra brucelosis. Así en una segunda etapa, se ubicaron tres hatos que reunieron las características necesarias para la realización del ensayo.

Las hembras seleccionadas, fueron divididas en dos grupos de aproximadamente igual número; uno de ellos correspondió al vacunado y el otro, al control sin vacunar.

La vacunación se realizó en todas las hembras según la NOM-041-ZOO-1995, por lo que se aplicó la cepa S19 de *Brucella abortus* por vía subcutánea en la tabla del cuello del lado izquierdo en dosis normal (5 X 10<sup>10</sup> UFC) a hembras de tres a seis meses de edad y a las mayores de seis, incluso las gestantes, la dosis reducida (3 X 10<sup>8</sup> a 3 X 10<sup>9</sup> UFC).

Ambos grupos se identificaron con aretes plásticos especiales, asignando los aretes con terminación par al grupo vacunado y los de terminación impar al no vacunado.

Se tomaron muestras sanguíneas de todos los animales a partir de los tres meses de edad con tubos al vacío de 7 mL de capacidad y sin anticoagulante. Cada tubo se identificó con el número de arete plástico asignado a cada animal en dependencia del grupo al que pertenecía. Las muestras se conservaron a temperatura ambiente durante 3 horas y luego fueron centrifugadas a 1,000 X g durante 10 minutos para separar el suero. Los sueros obtenidos se mantuvieron en congelación a -20 °C en tubos Eppendorf hasta su procesamiento.

Después de la vacunación, los sueros de los animales utilizados en el estudio fueron evaluados a los 3, 6, 9, 12, 15, 18 meses en el Centro Nacional de Investigación y Desarrollo en Microbiología Animal (CENID Microbiología) del INIFAP por las técnicas serológicas oficiales mexicanas de tarjeta y Rivanol en modalidades de tamiz y confirmatoria, respectivamente como se establece en la NOM-041-ZOO-1995.

## RESULTADOS Y DISCUSION

Se obtuvieron 162 muestras en total de animales procedentes de tres hatos diferentes, de las cuales la mitad correspondieron a los del grupo vacunado y la otra, a los del control. Del hato 1 fueron colectadas 82 (50.6%) muestras, del 2, 27 (16.66%) y del 3, 53 (32.71%), como se aprecia en la Tabla 1.

Según Samartino (19) el uso de la cepa S19 se debe evaluar bajo las condiciones locales de cada región, las diferentes prevalencias de hato, las biovariedades presentes y las características de manejo de ganado, entre otros aspectos, con la finalidad de definir su efectividad bajo las condiciones propias de cada región.

En el grupo vacunado, la prevalencia de reactivos por la prueba de tarjeta varía en los diferentes muestreos; sin embargo, a partir del segundo muestreo postvacunación, los seropositivos a Rivanol se mantuvieron en 2.4%. En la Figura 1 se presentan los resultados de seroprevalencia del grupo vacunado y se identifica la distribución durante todos los muestreos de las pruebas de tarjeta y Rivanol.

La prueba de tarjeta posee una sensibilidad de 100% y se usa como prueba inicial de selección o tamiz

(20); sin embargo, su baja especificidad (38%) la hace útil sólo como prueba selectiva en animales no vacunados contra brucelosis (21,22). Por otra parte, esta prueba no permite discriminar entre animales vacunados o revacunados y los infectados de manera natural, ya que presenta reacciones falsas positivas y negativas, lo que conlleva a diagnósticos equivocados en los animales reactivos (23).

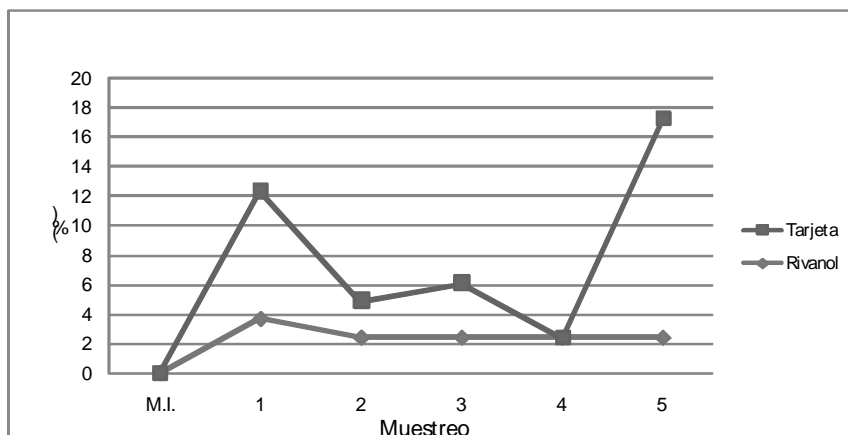
En el grupo no vacunado, el muestreo inicial marca una seroprevalencia en la prueba de tarjeta de 2.4%, pero ninguno de los animales resultó positivo a Rivanol (Figura 2). En los siguientes muestreos los resultados de la prueba de tarjeta variaron, pero sólo existió un seropositivo en el primero, que en los siguientes muestreos resultó negativo.

Es importante mencionar que en este caso pudo deberse a una reacción cruzada, ya que algunas cepas de *Yersinia enterocolitica* u otras enterobacterias poseen estructuras idénticas o similares como el lipopolisacárido (LPS), el cual es responsable de ocasionar falsos positivos a las pruebas diagnósticas (24).

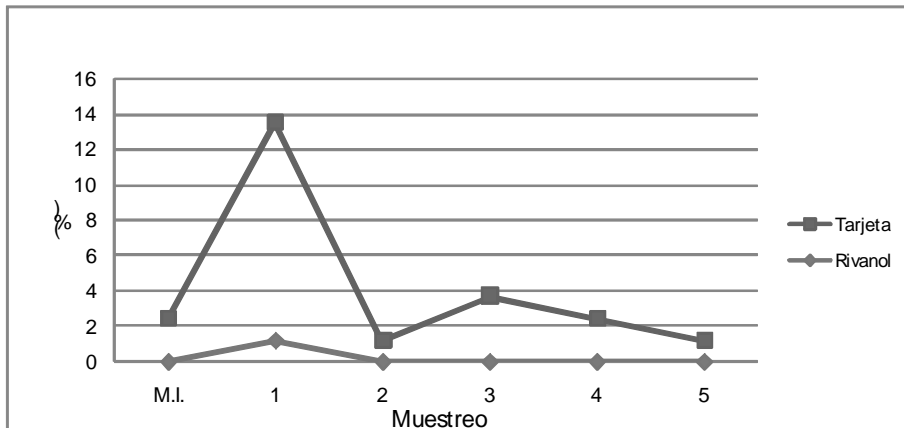
Mediante la prueba de Rivanol se obtuvo una prevalencia inicial de 0% en el muestreo realizado el día de la vacunación. En el primer muestreo del grupo vacunado, realizado 3 meses después de la vacunación,

**TABLA 1.** Número de hembras por hato y total de animales por grupo vacunado y no vacunado con cepa S19 de *B. abortus*/ Number of females per herd and animals by vaccinated group and unvaccinated group with S19 *B. abortus* strain

HATO	GRUPO VACUNADO		GRUPO NO VACUNADO		TOTAL
	Vacas	Becerras	Vacas	Becerras	
1	34	10	33	5	82
2	10	4	11	2	27
3	19	4	24	6	53
Total	63	18	68	13	<b>162</b>



**FIGURA 1.** Seroprevalencia a brucelosis obtenida del grupo vacunado (%) mediante las pruebas de Tarjeta y Rivanol./ Seroprevalence of brucellosis in vaccinated group (%) by Card and Rivanol tests.



**FIGURA 2.** Seroprevalencia a brucelosis obtenida del grupo no vacunado mediante las pruebas de tarjeta y Rivanol (%)./ *Seroprevalence of brucellosis in the unvaccinated group (%) by Card and Rivanol tests.*

hubo una prevalencia de 3.3% (3/81) debido a los anticuerpos post vacunales generados; en los siguientes muestreos, la prevalencia se conservó en 2% (2/81) como se observa en la Figura 3.

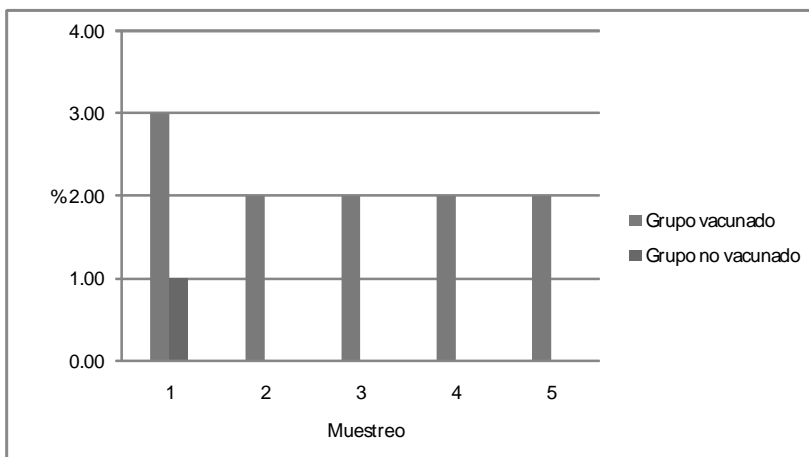
En el grupo vacunado, los seropositivos identificados en el primer muestreo, en los siguientes muestreos resultaron negativos, este comportamiento se atribuye a la presencia de anticuerpos post vacunales tal y como ha sido señalado (25). En cuanto a los animales que se conservaron como seropositivos durante todos los muestreos, se considera que la seropositividad se debe a la infección por *Brucella* spp, o a que el periodo de insensibilización no corresponde al que se encuentra establecido en la NOM – 041 – ZOO – 1995.

De acuerdo con los resultados de Rivanol, una hembra del grupo vacunado apareció como positiva a partir del segundo muestreo y el título de anticuerpos aumentó en los siguientes muestreos, al igual que otra, que se conservó como positiva en todos los muestreos, a partir del primero. Otras tres hembras sólo aparecieron

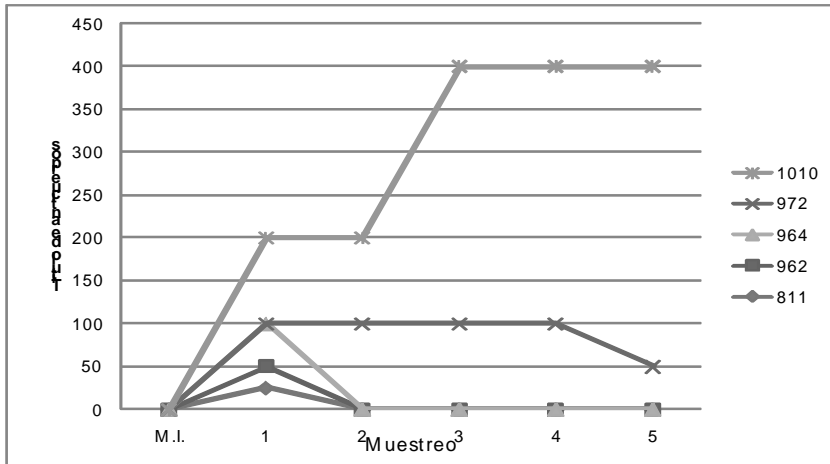
como positivas en el primer muestreo, pero a partir del segundo no presentaron anticuerpos. La Figura 4 destaca los títulos de anticuerpos de los seropositivos a Rivanol en los diferentes muestreos.

Acha y Szyfres (1) mencionan que las pruebas de aglutinación son de especial interés en casos de brucelosis crónica, en los que el título de anticuerpos pudo haber disminuido, pero la infección puede seguir activa. En este estudio, un animal del grupo vacunado presentó un título de anticuerpos 1:100 en el primer muestreo, pero en el último muestreo bajó a 1:50; sin embargo, en este caso donde la prevalencia inicial fue cero, es más probable que se deba a una remisión del periodo de desensibilización (24).

En este estudio se determinó el valor umbral de acuerdo al título de anticuerpos establecido en la NOM – 041 – ZOO – 1995 para animales vacunados que fue de 1:50, con el objetivo de tratar de encontrar una explicación a los resultados obtenidos, por lo tanto la sensibilidad obtenida de la prueba de Rivanol fue del



**FIGURA 3.** Seroprevalencia a brucelosis obtenida por cada muestreo del grupo vacunado y no vacunado (%)./ *Seroprevalence of brucellosis each assay in vaccinated and unvaccinated groups.*



**FIGURA 4.** Animales reactivos a brucelosis mediante la prueba de Rivanol./ *Reactor animals in Rivanol test.*

66.6% y la especificidad del 100%; sin embargo, los valores obtenidos son limitados por los pocos animales que se emplearon. Dájer-Abimerhi *et al.* (20) mencionan que la prueba de Rivanol posee una sensibilidad que varía de 86 a 97%, por lo tanto, no se recomienda en etapas finales de programas de erradicación; sin embargo su alta especificidad (100%) la hace útil como prueba confirmatoria en programas de control. Díaz Aparicio *et al.* (23) la recomiendan como una buena opción para diferenciar las vacas vacunadas con cepa S19 a dosis reducida de los animales infectados.

Las pruebas serológicas recomendadas por la NOM-041-ZOO-1995 para el diagnóstico de brucelosis bovina, presentan dificultades para discernir de forma temprana entre anticuerpos debidos a la vacunación y los ocasionados por la infección, por lo que se estipula no realizar el diagnóstico en bovinos vacunados con cepa S19 en dosis reducida hasta los diez meses post vacunación, y para el caso de animales vacunados con la dosis normal, hasta los 22 meses de edad pues esta se aplica entre los tres y seis meses de nacidas las becerras (16).

Nicoletti (26), Casas (27) y Samartino (19) indican que la inmunización del ganado con la cepa S19 induce una protección entre el 65% y el 75% de los animales vacunados; en el resto de la población, sólo estimula una defensa relativa, ya que el bovino aún vacunado, puede infectarse como podría ser posible en este estudio con dos de las hembras del grupo vacunado.

Finalmente, se concluye que la vacunación obligatoria de hembras con cepa S19 en zonas con baja prevalencia y que se ubican en zonas en control y erradicación como se encuentra establecido en la NOM-041-ZOO-1995 (16), no es aconsejable ya que no permite la movilización del ganado y la fácil identificación de las hembras reactivas.

## AGRADECIMIENTOS

El presente trabajo fue financiado con recursos de los Fondos Sectoriales CONACYT – SAGARPA y forma parte del proyecto «Estudio comparativo de la eficacia de la cepa RB51 y cepa 19 para prevenir la brucelosis en hatos con diferentes condiciones sanitarias» (SAGARPA-CONACYT-2004-23)

## REFERENCIAS

1. Acha PN, Szyfres B. Bacteriosis y micosis. En: Acha PN, Szyfres B, editores. Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. Washington D.C., OPS-OMS, 2001, p. 362-4.
2. Godfroid J, Cloeckert A, Liautard J, Kohler S, Fretin D, Walravens K, et al. From the discovery of the Malta fever's agent to the discovery of a marine mammal reservoir, brucellosis has continuously been a re-emerging zoonosis. *Vet Res.* 2005;36:313-326
3. Samartino L. Conceptos generales sobre brucelosis bovina. Jornada de actualización sobre brucelosis bovina, 2003. Rocha, Argentina.
4. Gurría FJ. Importancia de la erradicación de la brucelosis. III Foro Nacional brucelosis. 1998; SAGAR. Acapulco, Guerrero, México.
5. Carter GR, Wise DJ. *Essentials of Veterinary Bacteriology and Mycology.* 2004; 6th Ed. Iowa State Press.
6. Rodríguez Y, Ramírez W, Antúnez G, Pérez F, Ramírez Y, Igarza, A. Brucelosis bovina, aspectos

- históricos y epidemiológicos - Revista Electrónica de Veterinaria REDVET. 2005; 6. Disponible en: <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n090905.html> [Consultado el 13 de Mayo de 2009].
7. Castro HA, González SR, Prat MI. Brucelosis: una revisión práctica. Acta Bioquím Clín Latinoam. 2005, 39, (2): 203-216.
  8. Corbel MJ, Elberg SS, Cosivi O. (Ed.). Brucellosis in humans and animals. Geneva: WHO Press, 2006. 89p.
  9. Poester F, Figueiredo VCF, Lôbo JR, Gonçalves VSP, Lage AP, Roxo E et al. Estudos de prevalência da brucelose bovina no âmbito do Programa Nacional de Controle e Erradicação de Brucelose e Tuberculose: Introdução. Arq Brás Med Vet Zootec. 2009; 61(1):1-5.
  10. Rodríguez GA. Vacunación contra brucelosis: vacunas Cepa 19 y Rev-1. III Foro Nacional brucelosis. 1998; SAGAR. Acapulco, Guerrero, México: 117-132.
  11. Aréstegui MB, Gualtieri C, Domínguez J, Scharovsky G. El género *Brucella* y su interacción con el sistema mononuclear fagocítico. Vet Méx. 2001; 32:131-139.
  12. Moriyon I, Grillo M, Monreal D, González D, Marin C, Lopez-Goni I, et al. Rough vaccines in animal brucellosis: structural and genetic basis and present status. Vet Res. 2004; 35: 1-38.
  13. Schurig G, Ropp RM, Bagchi T, Boyle S, Burhrman D, Sriranganathan N. Biological properties of RB51; A stable rough strain of *Brucella abortus*. Vet. Microb. 1991; 28:171-174.
  14. Schurig G. Technical report on vaccination of cattle with *Brucella abortus* RB51. Technical Committee for Vaccination 1996. Evaluation, U.S.D.A.
  15. Stevens MG. *Brucella abortus* RB51: A New Brucellosis Vaccine for Cattle. The Compendium. 1997; 19(6): 766 - 775.
  16. Luna-Martínez JE, Mejía-Terán C. Brucellosis in Mexico: Current status and trends. Vet. Microbiol. 2002; 90:19-30,
  17. INEGI 2009 Enciclopedia de los Municipios de México. Estado de Veracruz. Actopan. Disponible en: <http://www.emexico.gob.mx/work/EMM04/Veracruz/mpios/30004a.htm> [Consultado el 12 de Junio de 2009].
  18. Thrusfield M. Veterinary Epidemiology. 2005; 3rd edition. Blackwell science, Oxford, England, 600p.
  19. Samartino L. Brucellosis vaccines. In: Proceedings of the 58th Brucellosis research Conference. 15-19 October 2005; Mérida, Yucatan, México.
  20. Dájer-Abimerhi A, Gutiérrez RE, Zapata V. Uso de las pruebas de ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas de competencia (ELISA-C) para el diagnóstico serológico de la brucelosis bovina. Rev. Biomed. 1998; 14: 167-171.
  21. Dájer-Abimerhi A, Gutiérrez RE, Zapata V, Honhold N, Villegas I. Comparación de cinco pruebas serológicas para la detección de anticuerpos de *Brucella abortus* y reporte preliminar del porcentaje de reactores positivos en hatos bovinos en Yucatán, México. Rev Biomed. 1995; 6: 84-90.
  22. Valdivia LP, Rivera G. Seroprevalencia de *Brucella sp.* en bovinos criollos de crianza extensiva de la provincia de Parinacochas, Ayacucho. Rev Inv Vet. Perú. 2003; 14: 174-177.
  23. Díaz Aparicio BA, Hernández A, Pérez G, Alfonseca S, Suárez G. Evaluación serológica y bacteriológica de un hato bovino con brucelosis y revacunado con dosis reducida de *Brucella abortus* cepa 19. Téc. Pecu. Méx. 2003; 41:129-140.
  24. Tizard IR. Inmunología veterinaria. 2000: 6a. edición. Mc Graw-Hill Interamericana.
  25. Szyfres B. Brucellosis: interpretación de diagnóstico serológico. Centro de diagnóstico Veterinario. Boletín técnico No. 2. 1986: Centro de diagnóstico veterinario SENASA. Pilar, Argentina.
  26. Nicoletti P. The effects of adult cattle vaccination with strain 19 on the incidence of Brucellosis in dairy herds in Florida and Puerto Rico. In: Proceedings of the 83<sup>rd</sup> Annual Meeting. 1976; US Animal Health Association. Florida. USA. p. 83.
  27. Casas OR. Informe sobre vacunas y vacunación contra brucelosis bovina. Veterinaria 2003; Montevideo. 38: 31-41.

**(Recibido 19-2-2010; Aceptado 30-9-2010)**