

Incidencia de *Brucella suis* en cerdos de Lomarena - Bolívar

Incidence of *Brucella suis* in pig in Lomarena - Bolivar

Juan G Restrepo Salazar MV, SSc, candidato PhD; Yesenia Orrego Mesa ; Sonia P Agudelo López1 Bac, PhD

Resumen

La brucella es una bacteria intracelular Gram negativa que causa la brucelosis, afectando a humanos y animales, las especies más importantes son: melitensis, abortus, suis y canis. De una población de 753 cerdos en Lomarena - Bolívar, se seleccionó una muestra aleatoria de 44 animales. Las muestras de sangre fueron depositadas en tubos de ensayo sin anticoagulante para la prueba de Rosa de Bengala, facilitado por la Asociación Colombiana de Porcicultores, el material obtenido se proceso en el Centro Diagnostico del Instituto Colombiano Agropecuario (ICA) en Medellín. Se analizaron 44 sueros sanguíneos, de las cuales 30 eran de hembras y 14 de machos; 28 pertenecían a hembras mayores de 1 año de edad y 2 a hembras entre 10 y 12 meses de edad; las 14 muestras restantes pertenecían a machos; 11 machos eran mayores de un año y 3 machos tenían edades entre 10 y 12 meses. No se encontraron anticuerpos contra *Brucella* en los animales ya que todas las muestras resultaron negativas.

Palabras clave

Brucella suis, Porcino, Zoonosis.

Abstract

The *Brucella* is a gram negative intracellular bacterium that causes brucellosis affecting animals and human being the most important *Brucella* species are: melitensis, suis and canis. Of a population of 753 pigs, a random sample of 44 animals was selected. The blood samples were placed in test tubes without anticoagulant for the Flare Rose test, facilitated by the Colombian Association of Porcicultores, the material obtained was processed in the Diagnostic Center of the Instituto Colombiano Agropecuario (ICA) in Medellín. 44 samples of blood serum of hogs were analyzed, 30 of which were females and 14 males. 28 belonged to females older than 1-year and 2 to females between 10 and 12 months of age; the 14 remaining samples belonged to males; 11 males had more than one year of age and 3 males had ages between 10 and 12 months. No antibodies were found against *Brucella* in the animals since all the samples resulted negative.

Key words:

Brucella suis, Pig, Zoonosis.

Introducción

La brucelosis es denominada fiebre ondulante, fiebre de Malta, fiebre del mediterráneo, enfermedad de Bang. Una de las referencias más antiguas de las que se tiene noticia sobre la descripción de la brucelosis fue efectuada en 1861(15).

En 1887 se determinó que la fiebre de Malta del hombre la producía una pequeña bacteria (*Micrococcus melitensis*), en 1905 se demostró que tal germen era transmitido al hombre por el consumo de leche de cabras infectadas. Entre tanto, en 1896 se comprobó que el aborto infeccioso de las vacas, ya conocido en Europa, lo causaba una bacteria que denominaron *Bacillus abortus infectiosus*. Este germen fue hallado luego en abortos de cerdas en 1909 y 1914. La fiebre de Malta y el aborto epizootico, fueron puestos en relación entre sí, en 1918 cuando se demostró el parentesco de los gérmenes. Posteriormente, en 1920 se agruparon en un género bacteriano especial (*Brucella*) y los denominaron *Brucella melitensis* y *Brucella abortus*; actualmente suele distinguirse otra especie la *B. suis*(15).

La *Brucella* es clasificada como una bacteria Gram negativa intracelular facultativa y es la causante de la brucelosis, esta enfermedad afecta a humanos y animales y puede ser zoonótica. Las especies de *Brucella* más importantes son *B. melitensis*, *B. abortus*, *B. suis* y *B. canis*(23). La *B. suis* posee los serotipos 1, 2, 3 y 4(11, 21), las liebres y los jabalíes salvajes son sus reservorios naturales en Europa, en América son los artrópodos y la rata(14, 19, 20).

Las formas como se transmite la brucella son la vía oral, conjuntival, genital, por inseminación artificial o por ectoparásitos; siendo la principal vía de transmisión la venérea(5, 18, 22, 26). En la respuesta inmunológica los fagocitos desarrollan su defensa mediante estallido oxidativo, acidificación de fagosomas a un pH bajo o fusión de fagosomas con lisosomas que vierten péptidos anti-microbianos y enzimas deletéreas dentro del nicho que contiene al invasor bacteriano(2, 3). Sin embargo, las bacterias intracelulares facultativas han desarrollado estrategias que neutralizan la defensa celular mientras producen la supervivencia intramacrófago, las principales estrategias son el escape temprano del fagosoma, inhibición de acidificación del fagosoma y/o adaptación al fagolisosoma(16, 26).

La infección empieza por una invasión del sistema retículoendotelial, seguida por una infección crónica que puede tener lugar en huesos, articulaciones, placenta e hígado; afectando además, ganglios linfáticos mandibulares, gastrohepáticos, ilíaco interno y suprafaríngeo(5). Si el contagio ocurre durante la monta o servicio se puede presentar aborto temprano con retorno del estro de 5 a 8 semanas, si ocurre durante una gestación avanzada, da origen a camadas con fetos momificados, mortinatos o lechones débiles. Otros signos que se presentan son exudado sanguinolento vaginal, endometritis y en el macho inflamación testicular, orquitis y atrofia testicular(5, 11, 14).

Las pruebas diagnósticas más comúnmente utilizadas para la detección de anticuerpos de *Brucella* son: Rosa de Bengala, aglutinación en tubo 2, mercaptoetanol (2-ME), Rivanol, prueba de aglutinación con suero inactivado, fijación del complemento y ELISA(6, 9). Desde el 2000 se han utilizado otras pruebas serológicas como ELISA indirecto (IELISA), ELISA competitiva (CELISA), ensayo de polarización de fluorescencia (FPA)(20, 24) y en el 2002 Betsy informa que la PCR es otra prueba útil para el diagnóstico de *Brucella*(4, 10). Para su prevención y control, se recomienda realizar tanto las pruebas serológicas como el aislamiento estricto de hembras y lechones positivos(6).

La incidencia de esta patología en algunos países es muy variada. En la India, la brucelosis se reconoció primero en 1942 y es actualmente endémica afectando búfalos, ovejas, cabras, cerdos, perros y humanos(25). En China, la incidencia de la brucelosis era relativamente baja pero aumentó a partir de 1995(8, 27). En la Unión Europea la brucelosis en humanos, bovinos y porcinos es considerada como una entidad rara y son los productos lácteos importados la fuente más importante de contaminación, en la actualidad esta cerca de erradicarse(1). Estudios realizados en EEUU reportan 44 % de los cerdos positivos para *Brucella*(12), México es endémico a la brucelosis(20) y en Venezuela existen reportes de 34.42 % de incidencia de esta enfermedad.

En nuestro país existen diferentes reportes, en 1951 se encontró una prevalencia de 17,5 % para *Brucella* en la planta de sacrificio de Medellín(5), en 1962 se realizó un estudio en cerdos en el matadero central de Bogotá, de 4200 sueros 4 fueron positivos(23). En 1967 se detectó la infección en el Valle del Cauca(5), en 1973 en Montería

(13,14 % positivos a la prueba rápida y 9,39 % a la prueba lenta) (5). En el matadero central de Bogotá en 1974 se examinaron 811 muestras (189 machos y 622 hembras) resultaron positivas a la prueba de Aglutinación Rápida tres muestras de machos y cinco de hembras(23). En 1974, se determinó una prevalencia de 6,25 % en el perímetro urbano de Lorica(5), en 1976 se estudiaron 584 cerdos en la planta de beneficio municipal de Villavicencio y encontraron 14% de sueros positivos(23). En 1978 en el matadero municipal de Medellín se encontró el 2,93 % de cerdos positivos a Brucella(23).

En Colombia, es común encontrar áreas con animales no confinados, tal es el caso de los cerdos del corregimiento de Lomarena en el departamento de Bolívar, en el que se presentan todos los factores de riesgo de tipo demográfico, epidemiológico y social que inciden en la aparición de diferentes enfermedades. Nuestro objetivo fue determinar la incidencia de Brucella suis en los cerdos del corregimiento de Lomarena en el departamento de Bolívar, utilizando la prueba Rosa de Bengala, facilitada por la Asociación Colombiana de Porcicultores (ACP) y procesada en la granja “Tulio Ospina” del Instituto Colombiano Agropecuario (ICA) en Medellín - Colombia.

Materiales y Método:

El estudio se realizó en el corregimiento de Lomarena, municipio de Santa Catalina localizado a 10°44'00” de latitud norte, 75°16'00” de latitud oeste y ubicado al norte del Departamento de Bolívar, sobre la carretera al mar a 45 km. de Cartagena. Tiene 5 msnm, posee una temperatura promedio anual de 30oC y una precipitación anual de 832 mm.

Manejo de los cerdos, composición y obtención de la muestra

Los cerdos de este corregimiento son no confinados, deambulan libremente por calles, potreros, ciénagas y aguas residuales; tienen acceso a basuras, fuentes de agua, excretas humanas y de otros animales. Su alimentación consiste en crustáceos como cangrejos, moluscos como caracoles, además de insectos y lombrices; esporádicamente reciben sobras de alimentos humanos (aguamasa). No poseen ningún programa de sanidad en cuanto a vacunas y desparasitación.

Aprobación del Comité de Ética

Para su ejecución, metodología y manejo de los cerdos utilizados en esta investigación en cuanto a procedimientos y criterios de selección de punto final; se contó con la aprobación del Comité de Ética para la Experimentación con Animales de la Universidad de Antioquia.

Socialización

El grupo de investigadores contactó a los líderes comunales y a la población en general, para presentarles, de manera clara, las características básicas de Brucella y las implicaciones en la salud de los animales y de las personas; además, se les expuso el propósito y la metodología de la investigación.

Selección de los cerdos

Dado que todos los cerdos son no confinados o se encuentran en estado libre, de la población total (753 cerdos), no fue posible tomar muestra a todos, debido al temor de los propietarios porque estos fueran decomisados por las malas condiciones sanitarias en que se encuentran, por lo tanto, el tamaño de la muestra esta determinado por el número de animales que los propietarios dejaron muestrear.

Toma, conservación y análisis de las muestras

Las muestras de sangre fueron depositadas en tubos de ensayo sin anticoagulante para la prueba de Rosa de Bengala (sensibilidad de 79,1 % y especificidad de 81,2 %), esta prueba cualitativa que clasifica los animales como positivos o negativos, se utiliza un antígeno con 8 % de Brucella abortus cepa 1119-3 teñido con colorante Rosa de Bengala y taponadas a un pH de 3.65, luego de mezclarlo con una cantidad igual de suero. La prueba fue facilitada por la Asociación Colombiana de Porcicultores, el material obtenido se procesó en el Centro Diagnóstico del Instituto Colombiano Agropecuario (ICA) en Medellín.

Resultados:

Se pudieron muestrear 44 animales, 28 pertenecían a hembras mayores de 1 año de edad y 2 a hembras entre 10 y 12 meses; las 14 muestras restantes pertenecían a

machos, 11 mayores de un año y 3 tenían edades entre 10 y 12 meses (Tablas No. 1 y 2).

No se encontraron anticuerpos contra *Brucella* en ninguno de los 44 cerdos ya que todas las muestras resultaron negativas.

Tabla 1. Número de cerdos seropositivos a *Brucella* diferenciados por edad.

Grupo por edad (meses)	Negativos		Positivos		TOTAL
	No	%	No	%	
10 a 12	5	100	0	0	0
Mayor de 12	39	100	0	0	0

Tabla 2. Número de cerdos seropositivos a *Brucella* diferenciados por sexo.

Grupo por sexo	Negativos		Positivos		TOTAL
	No	%	No	%	
Hembras	30	100	0	0	0
Machos	14	100	0	0	0

Discusión:

La brucelosis porcina es una enfermedad muy importante, ya que genera pérdidas económicas para todos los porcicultores y por sus posibles implicaciones en la salud tanto humana como animal.

Dadas las condiciones donde se encontraron los cerdos y los factores de riesgo de tipo demográfico, epidemiológico y social que se presentan en el corregimiento de Lomarena, municipio de Santa Catalina en el departamento de Bolívar, Colombia; se esperaba encontrar anticuerpos contra *Brucella*, sin embargo esto no sucedió ya que todas las muestras resultaron negativas utilizando la prueba Rosa de Bengala. Esto significa que los cerdos evaluados, no han estado expuestos a la bacteria, sin embargo no se puede inferir que este microorganismo patógeno no este presente en la región.

Estos resultados difieren de los reportados por Botero y Ramírez(5) en el municipio de Sincelejo en 1987 donde se reportó una prevalencia de 6,23 % por la prueba rápida

en placa y en el norte de departamento de Bolívar del 8 % utilizando la prueba de aglutinación rápida en placa; también difieren de la prevalencia (15,1 %) encontrada en el departamento de Córdoba en 1988 utilizando la prueba de aglutinación rápida en placa y del estudio realizado en 1991 en el Valle del Cauca utilizando la prueba rápida en placa y luego sometiendo los positivos a la prueba lenta en tubo donde se demostró la presencia de *Brucella* en 6,5 % de los cerdos, ambos fueron realizados por los mismos investigadores.

En Colombia no se dispone de una prueba de laboratorio específica para diferenciar las diferentes especies de *Brucella* y la prueba de Rosa de Bengala es elaborada con antígeno de *B. abortus*, por lo tanto en el momento que tengamos resultados positivos de esta enfermedad no podríamos tener la certeza de que se trate de *B. suis* o *B. abortus* que también puede afectar a los cerdos. Las ventajas de utilizar esta prueba es que es rápida, de fácil ejecución y no tiene altos costos.

Para un buen programa de control de brucelosis es importante introducir una prueba de laboratorio específica que pueda diferenciar las especies de *Brucella*, para poder hacer un control en cada una de las especies ganaderas que se producen. Sería de gran utilidad realizar más estudios y con una población de cerdos más numerosa, debido a que en la actualidad no se conoce la verdadera incidencia de *Brucella suis*.

En nuestro país se adelantan campañas para la prevención de brucelosis en el ganado bovino, es de gran importancia que este tipo de actividades se extiendan a las explotaciones porcinas y caprinas en donde la brucelosis también tiene un impacto económico negativo.

Conclusiones:

En Colombia no se dispone de una prueba de laboratorio específica para diferenciar las diferentes especies de *Brucella* y la técnica Rosa de Bengala es útil para determinar antígeno contra este microorganismo; por lo tanto en el momento que tengamos resultados positivos de esta enfermedad no podríamos tener la certeza de que se trate de *B. suis* o *B. abortus* o *B. melitensis* que también pueden afectar a los cerdos. Las ventajas de utilizar esta

prueba es que es rápida, de fácil ejecución y no tiene altos costos.

Aunque el error experimental es bastante alto (14,77%), se debe tener en cuenta que el tamaño de la muestra no fue determinado por los investigadores sino por factores epidemiológicos y sociales como el número de animales que los propietarios dejaron capturar.

En el presente estudio no se demostró si existe relación entre la presentación de anticuerpos contra *Brucella* spp y el sexo de los animales, teniendo en cuenta que en el macho, la infección por *Brucella* puede persistir durante toda su vida constituyendo un riesgo para la salud de humanos y animales.

Los 44 cerdos muestreados en el corregimiento de Lomarena, municipio de Santa Catalina (departamento de Bolívar – Colombia), resultaron negativos a *Brucella* spp usando la técnica Rosa de Bengala; lo que significa que ninguno de los cerdos estuvo expuesto en algún momento de su vida a este microorganismo. Resultado no esperado dado el manejo y las condiciones higiénico-sanitarias de los animales, esto puede deberse a que los animales tienen procesos infecciosos de pocos días de evolución o posiblemente a cursos muy prolongado de la enfermedad, recordemos que a medida que la infección se torna crónica, comienzan a incrementarse los anticuerpos incompletos o no aglutinantes, que no son capaces de dar positivas las reacciones de aglutinación directa; por lo tanto, cuando la concentración de anticuerpos no aglutinantes en el suero investigado alcanza valores relativos importantes, esta reacción puede arrojar resultados de bajo título y aún negativos. Para lograr un diagnóstico inicial correcto se recomienda efectuar pruebas que evidencien la presencia de anticuerpos totales, tanto completos como incompletos.

En un buen programa de control de Brucelosis es importante introducir una prueba de laboratorio específica que pueda diferenciar las especies de *Brucella*, por lo tanto, recomendamos realizar estudios que involucren todas las edades y un tamaño de muestra representativo para conocer el verdadero estado de la Brucelosis porcina, determinar los diversos serotipos, patogenicidad y su impacto en la salud de humanos y animales.

El desarrollo, supervivencia y transmisión de enfermedades infectocontagiosas en los porcinos dependen de un variado número de factores, es

fundamental realizar campañas educativas en esta región sobre manejo y prácticas higiénico-sanitarias para controlar su presencia.

Agradecimientos:

Por su colaboración con el estudio, a la comunidad del corregimiento de Lomarena, en el municipio de Santa Catalina - Bolívar, a la Asociación Colombiana de Porcicultores (ACP), al Instituto Colombiano Agropecuario (ICA) y a Laboratorios Pfizer.

BIBLIOGRAFÍA

1. Kusumawati A, Cazeuieille Ch, Porte F, Bettache S. 2000. Human and animal brucellosis in France in 2000. Epidemiological situation- control and eradication programmes. *Microbial Pathogenesis*; 28 (6): 343 – 352.
2. Bastujin G, Delcuelleirrie F. 2001. Investigation into the role of the response regulator NtrC in the metabolism and virulence of *Brucella suis*. *Médecine et Maladies Infectieuses*; 202-216.
3. Bastujin G , Delcuelleiri F. 2002. Role of cholesterol and the ganglioside GM (1) in entry and short-term survival of *brucella suis* in murine macrophages. *Infect Immun*; 70 (3):1640-1644.
4. Betsy J. 2002. PCR as a diagnostic tool for brucellosis. *Vet Microbiol*; 90, 1-4 , (20): 435-446.
5. Botero J C, Ramírez L M. 1998. Estandarización de la prueba de fijación del complemento para el diagnóstico de la brucelosis porcina. Tesis de grado. Universidad de Antioquia. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Medellín. 46 p.
6. Burkhardtts, Jimenez MP, Liautard JP, Kohlers. 2005. The IncP island in the genome of *Brucella suis* 1330 was acquired by site-specific integration. *Infect Immun*; 73 (10): 6782-6790.
7. Corn JL et. al. 1986. Survey of selected diaseases in wild swine in Texas. *J Am Vet Med Assoc.* 1; 189 (9):1029-1032.
8. Deqiu et. al. 2002. Epidemiology and control of brucellosis in china. *Vet microbial*; 90, Issues 1-4 , 20: 165-182.
9. Edmonds MD, Ward FM, Ohara TM, Elzer PH. 1999. Use of western immunoblot analysis for testing moose serum for *Brucella suis* biovar 4 specific antibodies. *J Wildl Dis*; 35 (3): 591-595.
10. Ferrao-Beckl, Cardoso R, Muñoz PM, de Miquel Mj, Alberto D, et. al. 2006. Development of multiplex PCR assay for polymorphsm analysis of *Brucella suis* biovars causing analysis in swine. *Vet Microbiol*; 115, 1-3 , 15, 269-277.
11. Forbes Lb, Tessaro. 2003. Evaluation of cattle for experimental infection with and transmission of *Brucella suis* biovar 4. *J Am Vet Med Assoc*; 222 (9): 1252-1256.
12. Gresham CS et. al. 2002. Increased prevalence of *Brucella suis* and pseudorabies virus antibodies in adults o fan isolated feral swine population in coastal South Carolina. *J Wildl Dis*; 38 (3): 653-656.
13. Godfroids et. al. 2002. Brucellosis in the European Union and Norway at the turn of the twenty-first century. *Vet Microbiol*; Volume 90, 1-4 (20): 135-145.
14. Hutyra Marek, Manninger mocsy. 1973. Patología y terapéutica especiales de los animales domésticos, 3 ed. tomo I. Enfermedades infecciosas. Barcelona: Labor.
15. Jaramillo LF, Gómez G. 1985. Prevalencia de anticuerpos contra *brucella sp* en matarifes del Matadero Municipal de Envigado (Antioquia). Tesis de grado Médico Veterinario. Universidad de Antioquia, Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia, Medellín. 48 p.
16. Kohler S. et. al. 2002. The intramacrophagic environment of *Brucella suis* and bacterial response. *Vet Microbiol* Volume; 90, 1-4 , 20, 299-309.
17. Lord VR, Lord RD. 1991. *Brucella suis* infections in collared peccaries in Venezuela. *J Wildl Dis*; 27 (3): 477-481.
18. Maldonado H, Martín J, Vásquez H de J , Velásquez JI . 1992. Comparación de 5 pruebas serológicas en el diagnóstico de brucelosis porcina. Tesis de Grado. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad de Antioquia, Medellín. 41p.

19. Maldonado H et. al. 1999. Regulation of expression and bactericidal activity of nitric oxide synthase in *Brucella suis*-infected murine macrophages. *Microbiology and Infectious Diseases*; 22 (1): 33-40.
20. Martínez et. al. 2002. Brucellosis in Mexico: current status and trends. *Vet Microbiol*; 90, 1-4 , 20, 19-30.
21. Naroenia, Jouyn N, Ouahrani, Liautardsp. 2001. Brucellosis in America Central. *infect immun*; 69 (1): 486-493.
22. Nielsen K et. al. 1999. Validation of the fluorescence polarization assay as a serological test for the presumptive diagnosis of porcine brucellosis. *Vet Microbiol*; 68 (3-4): 245-253.
23. Ocampo R D, Reyes G. 1979. Detención de anticuerpos para *Brucella sp* en pjaras con problemas reproductivos en algunos municipios del departamento de Antioquia. Tesis de Grado. Universidad de Antioquia. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Medellín. 15p.
24. Paul P. et. al. 2000. Evaluation of primary binding assays for presumptive serodiagnosis of swine Brucellosis in Argentina. *Clin Diagn Lab Immunol*; 7 (5): 828-831.
25. Renukaradhya G.J. 2002. Epidemiology, zoonotic aspects, vaccination and control/eradication of Brucellosis in India. *Vet Microbiol*; 90, 1-4 , 20, 183-195.
26. Tracker Bj, Larsenre. 1984. Swine diseases transmissibles with artificial insemination. *J Am Vet Med Assoc*; 1; 185 (5): 511-516.
27. Van der Giessen JW, Priadi A. 1988. Swine brucellosis in Indonesia. *Vet Q*; 10 (3): 172-176.