

Presencia de *Brucella* sp. en cabras de la ciudad de Quito, provincia de Pichincha, Ecuador**Carmen Zabala¹, Verónica Barragán¹, Gabriel Trueba^{1*}**

¹Universidad San Francisco de Quito, Colegio de Ciencias Biológicas y Ambientales. COCIBA, Instituto de Microbiología
Calle Diego de Robles y Vía Interoceánica, Campus Cumbayá
Casilla Postal 17-1200-841, Quito, Ecuador

*Autor principal/Corresponding author, e-mail: gtrueba@usfq.edu.ec

Editado por/Edited by: D. F. Cisneros-Heredia, Ph.D.(c)

Recibido/Received: 09/28/2012. Aceptado/Accepted: 10/24/2012.

Publicado en línea/Published on Web: 12/28/2012. Impreso/Printed: 12/28/2012.

Abstract

The objective of this research was to investigate the presence of *Brucella* sp. in goats from Quito. Lymph nodes and blood were collected from goats slaughtered at the local abattoir and in raw goat milk sold in the streets of Quito. Samples were collected from a total of 300 goats which were analyzed by PCR (lymph nodes and milk) and agglutination test (sera). Our results confirmed the presence of *Brucella* sp. in the goats sampled during this research: 9,0 % in milk (PCR), 8,0 % in lymph nodes (PCR) and 17,8 % in serum samples (agglutination test).

Keywords. *Brucella* sp

Resumen

El objetivo de esta investigación fue establecer la presencia de *Brucella* sp. en cabras de la ciudad de Quito. Se realizó análisis de nódulos linfáticos y suero de animales sacrificados en el Camal Metropolitano de Quito y de leche cruda expedida en las calles de la ciudad. Se colectó muestras de 300 animales que fueron analizadas mediante aglutinación en suero y reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Se obtuvo un 9,0 % de positividad en leche (PCR), 8,0 % en ganglios (PCR) y 17,8 % en suero (prueba de aglutinación). Estos resultados confirman la presencia de *Brucella* sp. en las cabras analizadas.

Palabras Clave. *Brucella* sp

Brucella es un cocobacilo Gram negativo intracelular facultativo [1, 2, 3] y es el agente etiológico de la fiebre ondulante, una enfermedad zoonótica grave de distribución mundial y de reporte obligatorio [4]. Se ha identificado siete especies de *Brucella* [5] que se encuentran asociadas generalmente a hospederos específicos: *Brucella suis* es patógena en suinos; *B. canis* tiene afinidad por caninos; *B. ovis* afecta a ovinos; *B. melitensis* a ovinos y caprinos; *B. cetaceae* afecta principalmente a los cetáceos; *B. abortus* a bovinos; y *B. neotomae* a las ratas [1, 4]. Sin embargo las diferentes especies de *Brucella* pueden infectar distintos animales; por ejemplo, *B. abortus* puede infectar también a ovejas y cabras. La infección se manifiesta en los animales con aborto[6], retención placentaria, parición de crías débiles, mastitis, epididimitis, orquitis y artritis[5, 7]. La brucelosis humana es causada por varias especies de *Brucella*, *B. melitensis* es la especie predominante de estas infecciones [7].

La transmisión de *Brucella* sp. a humanos ha sido atri-

buida a varias formas de exposición al patógeno: 1) consumo de productos lácteos no pasteurizados, 2) consumo de carne cruda, 3) contacto directo con secreciones de animales infectados (veterinarios y granjeros), 4) contacto directo con cultivos bacterianos en laboratorios de investigación [4, 8, 9, 10, 11, 12]. La enfermedad se caracteriza por una sintomatología no específica tal como cefalea, pirexia, anorexia, lumbalgia, mialgia, adenopatía, esplenomegalia, entre otras [7]. Algunos pacientes pueden desarrollar osteomielitis, artritis, abscesos esplénicos, orquitis y endocarditis [4]. El control de la transmisión al humano depende únicamente de la prevención en animales mediante la aplicación de la vacuna y la eliminación de animales infectados [13].

En el Ecuador se ha reportado la presencia de *Brucella* en bovinos [14, 15], y un estudio realizado en los años 2009-2010 en cabras del sector periurbano de Quito registró una seropositividad a brucelosis del 0.05 % [16]. Sin embargo Ecuador no ha reportado oficialmente la presencia de *B. melitensis* a pesar de que la enfermedad

ISSN 1390-5384



Tipo de muestra	Método de detección	Muestras analizadas	Muestras positivas	Positividad
Ganglio	PCR	100	8	8,0 %
Leche cruda	PCR	100	9	9,0 %
Suero	Rosa de bengala	101	18	17,8 %
			PROMEDIO	1,6 %

Table 1: Muestras de ganglios, leche cruda y suero de cabras colectadas en la ciudad de Quito, Ecuador, analizadas para la presencia de *Brucella* sp. utilizando PCR y Rosa de Bengala.

está presente en Perú y Colombia [17, 18]. El objetivo de este estudio fue establecer la presencia de *Brucella* sp. en cabras a partir de muestras obtenidas de diferentes fuentes de origen y por medio de varios métodos complementarios.

En este estudio se colectó un total de 300 muestras de caprinos. Cien muestras de suero y 100 de ganglios linfáticos (retrofaríngeo e inguinal) provinieron del Camal Metropolitano de Quito (ubicado en la calle Camilo Orejuela y General Angel Issac Chiriboga, Quito, Ecuador); mientras que 100 muestras de leche fueron tomadas en las calles de 4 zonas de la ciudad de Quito (*Zona Sur de Quito*: Calle Quitumbe, Av. Moran Valverde, Barrio el Pintado Calle Atahualpa y Mariscal Sucre, Mariscal Sucre y Guaynafalcon, Mariscal Sucre y Alonso De Angulo, Barrio Ferroviaria, Moraspungo, Panamericana Sur, Calle Maldonado. *Zona Pomasqui*: Autopista Manuel Córdova Galarza, Barrio San Mateo, Oyacoto, Calderón: Mercado de Calderón. *Zona Norte*: Av. Eloy Alfaro (frente a la embajada Americana, Av. Amazonas y Calle Ñaquito, Barrio Comité del Pueblo Av. Francisco De la Torre, Mercado Central de Cotacollao. *Zona Sangolqui*: Mercado Central Sangolqui, Conocoto: Plaza Central de Conocoto, Amaguaña: Mercado Central de Amaguaña). Las muestras de suero fueron analizadas utilizando la prueba de Rosa de Bengala [19]. Se utilizó 25 µl del reactivo Rosa de Bengala (Acros Organics, New Jersey, EE.UU) con 75 µl de suero; a los 4 minutos se determinó la reacción de aglutinación. La extracción de ADN a partir de los tejidos y de las muestras de leche fue realizada utilizando CTAB (Merck, Darmstadt, Germany) con el procedimiento previamente utilizado por Baquero et al. [20]. Para descartar la presencia de compuestos inhibitorios y como control de la PCR (reacción en cadena de la polimerasa) se amplificó el gen de beta-actina [21]. Para la detección de *Brucella* sp. se utilizó cebadores del gen *bcs31* [22, 15]. Los productos de PCR fueron visualizados mediante electroforesis en gel de agarosa al 1,5 %. Para confirmar resultados, se realizó el secuenciamiento de 4 productos de PCR en los laboratorios FUNCTIONAL BIOSCIENCES (Madison, Wisconsin EEUU), las secuencias obtenidas se alinearon con el programa MEGA 5.1 para luego ser comparadas con secuencias del GenBank utilizando BLAST (blast.ncbi.nlm.nih.gov).

Este estudio encontró evidencia de infección por *Brucella* sp. en un 11,6 % de los animales muestreados. Los resultados de la PCR de ganglios linfáticos obtenidos de cabras faenadas del Camal Metropolitano de Quito mostraron un 8,0 % de positividad mientras que las muestras

de sangre fueron positivas en un 17,8 %. Las 100 muestras de leche cruda comercializada en las calles de la ciudad de Quito evidenciaron un 9,0 % de positividad (Tabla 2).

El porcentaje de positividad encontrado en las cabras analizadas en este estudio es superior al reportado previamente [16] en cabras de granjas del sector periurbano de Quito. Sin embargo se ha encontrado que la prevalencia de brucelosis en cabras es diversa. En Argentina una prevalencia varía del 6,5 % al 80,0 % dependiendo de la zona y el predio analizado [23]. Los resultados obtenidos en este estudio son coherentes con las prevalencias de brucelosis en cabras detectadas en Sudamérica: Perú 5,7 % [17], Colombia 1,2 % [18], Argentina 12,5 % [23].

La secuencia de ADN obtenida a partir de los productos de PCR confirmaron que el ADN detectado proviene de bacterias del género *Brucella*. Al momento se desconoce la especie de *Brucella* detectada (las cabras pueden infectarse de *B. ovis*, *B. melitensis* y *B. abortus*). El próximo paso dentro de este proyecto es la determinación de la especie de *Brucella* detectada en cabras ecuatorianas.

La producción caprina y el consumo de productos de este origen ha crecido en el Ecuador durante los últimos años. Así mismo, se ha popularizado el hábito de tomar leche cruda de cabra ya que se le atribuye propiedades medicinales. Pensamos que es importante que las autoridades de sanidad animal ecuatoriana inicien un programa de detección y control de esta enfermedad. Es importante educar a los pequeños ganaderos vendedores de leche de cabra en las calles de Quito para que emprendan un programa de eliminación de la enfermedad en los animales y la promoción del consumo de leche hervida.

Agradecimientos

Al Instituto de Microbiología de la Universidad San Francisco de Quito por el financiamiento de este proyecto. Al Doctor Ramiro Gonzalez por su apertura para la colecta de muestras en el Camal Metropolitano de Quito. Al Doctor Keith Poulsen de la Universidad de Wisconsin por el reactivo para Rosa de Bengala. A María Inés Baquero y Estefanía Bermeo por sus consejos técnicos. A Daysi Parrales por toda su ayuda.

Referencias

- [1] Nicoletti, P. 2010. "Brucellosis: Past, Present and Future." *Biol. Med. Sci.* 31: 21-32.
- [2] Freer, E. y. Castro-Arce, R. 2002. "Brucella: Una bacteria virulenta carente de los factores de virulencia clásicos." *Rev. Costarric. Cienc. Méd.* 22: 73-82.
- [3] Romero, R. 2007. "Microbiología y parasitología humana." Editorial Panamericana: México.
- [4] OIE 2011. "General Disease Information Sheets: Brucellosis." Enlace:
http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Media_Center/docs/pdf/Disease_cards/BCLS-EN.pdf, Organización Mundial de Sanidad Animal OIE: París, Francia. Consulta: Agosto 2012.
- [5] Coetzer, J. y Tustin, R. 2004. "Infectious Diseases of Livestock." Oxford University Press: South Africa.
- [6] Ficht, T. 2010. "Brucella Taxonomy and Evolution." *Future Microbiol.* 5:859-866.
- [7] Franco, M., Mulder, M., Gilman, R. y Smits, H. 2007. "Human Brucellosis." *Lancet Infect Dis.* 7:775-786.
- [8] Freer, E., Moreno, E., Moriyón, I., Pizarron-Cerda, J., Weintraub, A., y Gorvel, J. 1996. "Brucella- Salmonella Lipopolysaccharide Chimeras are Less Permeable to Hydrophobic Probes and More Sensitive to Cationic Peptides and EDTA Than are Their Native Brucella sp. Counterparts." *J. Bacteriol.* 178: 5867-5876.
- [9] CFSPH 2007. "Ovine and Caprine Brucellosis: *Brucella melitensis*." Enlace:
<http://www.cfsph.iastate.edu/Factsheets/brucellosismelitensis.pdf>, The Center for Food Security & Public Health, Iowa State University: Ames, IA. Consulta: Agosto 2012.
- [10] Godfroid, J., Nielsen, K., y Saegerman, C. 2010. "Diagnosis of Brucellosis in Livestock and Wildlife." *Croat Med J.* 51: 296- 305.
- [11] Mantur, B.G, Amarnath S.K., y Shinde, R.S. 2007. "Review of Clinical and Laboratory Features of Human Brucellosis." *Indian J Med Microbiol.* 25:188-202.
- [12] Yagupsky, P. y Baron, E. 2005. "Laboratory Exposures to Brucellae and Implications for Bioterrorism." *EID Journal.* 11: 1180-1185.
- [13] OIE 2009. "OIE Terrestrial Manual: Caprine and Ovine Brucellosis (Excluding *Brucella Ovis*)." En: "Terrestrial Manual", Organización Mundial de Sanidad Animal OIE: París, Francia, capítulo 2.7.2.
- [14] Ron, J. y Benítez, W. 2005. "Brucelosis bovina. Mundo veterinario." *Revista del Colegio de Médicos Veterinarios de Pichincha.* 5: 10-11.
- [15] Lozada, G. 2008. Leche de cabra en Quito. *La Televisión*, Quito, Ecuador.
- [16] Ron, J.; Barzallo, D.; Gonzalez P.; Minda E.; Bervens D.; Benitez, W.; Brandt, J.; Saegerman, C. 2012. "Seroprevalencia de *Brucella* spp., en cabras de los cantones Quito y Zapotillo." *II Encuentro Nacional de Investigación en Enfermedades Infecciosas y Medicina Tropical. Junio 2012.*
- [17] Taboada, N.; Campos, M.; Leiva R.; Gomez, J.; Mancilla, C.; Salazar, M. 2005. "Seroprevalencia de brucelosis en ganado caprino en hatos del Callao." *Rev Peru Med Exp Salud Publica.* 22: 139- 144.
- [18] Tique, V.; Daza, E.; Alvarez J.; Mattar, S. 2012. "Seroprevalencia de *Brucella abortus* y ocurrencia de *Brucella melitensis* en ovinos y caprinos de Cesar y Sucre." *U.D.C.A Act and Div. Cient.* 13: 133-139.
- [19] OIE 2009. *Bovine Brucellosis*, en: "Terrestrial Manual", Organización Mundial de Sanidad Animal OIE: París, Francia, capítulo 2.4.3.
- [20] Baquero, M.; Lopez, N.; Mejia, M.; Trueba, G. 2010. "Evaluation of a Polymerase Chain Reaction for the Diagnosis of Leptospirosis on Cattle." *The Open Veterinary Science Journal.* 4: 31-35.
- [21] duBreuil, RM.; Patel, J.M.; Medeleow, B.V. 1993. "Quantitation of eta-actin-specific mRNA transcripts using xeno-competitive PCR." *PCR Methods Appl.* 3: 57-59.
- [22] Sanjay, K.; Tuteja, U.; Sarika, K.; Kumar, D.; Kumar, A.; Kumar, O. 2011. "Rapid Multiplex PCR assay for the simultaneous detection of *Brucella* Genus, *B. abortus*, *B. melitensis*, and *B. suis*." *J. Microbiol. Biotechnol.* 21: 89-92.
- [23] Robles, C.A. 2009. "Brucelosis caprina." *Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria- INTA: Argentina.*