

DETERMINACION DE ANTICUERPOS CONTRA BRUCELAS LISAS EN CERDOS, UTILIZANDO LA PRUEBA DE TARJETA CON ANTIGENO A DOS CONCENTRACIONES CELULARES ^a

Humberto Rodríguez Velasco ^b
Efrén Díaz Aparicio ^{b c}
José Francisco Morales Alvarez ^b
Francisco Velázquez Quezada ^b
Pablo Correa Girón ^b

RESUMEN

Rodríguez V H, Díaz A E, Morales A J F, Velázquez Q F, Correa G P. *Téc. Pecu. Méx.* Vol 36 No 1 1998. 83-88. En México se han realizado pocos trabajos encaminados a determinar la frecuencia de anticuerpos contra *Brucella* en cerdos. El objetivo de este trabajo fue conocer la presencia de anticuerpos contra *Brucella* en muestras de bancos de sueros de cerdos de los estados de Sonora, Sinaloa y Tlaxcala, así como establecer una comparación entre dos concentraciones de antígeno para la prueba de tarjeta. Se utilizaron 1493 muestras de sueros analizados con la prueba de tarjeta con el antígeno convencional de *Brucella abortus* a las concentraciones del 3 y 8%. La población muestreada correspondió a cerdos adultos de ambos sexos provenientes de 10 granjas del estado de Sonora, 2 granjas y 2 rastros del estado de Sinaloa y 15 granjas del estado de Tlaxcala. Se obtuvo el 13.12% (196/1493) de sueros positivos a la prueba de tarjeta al 3% y 2.9% (44/1493) de positivos al 8%, siendo solamente 25 sueros positivos a ambas pruebas. Los resultados indican que la prueba de tarjeta al 3% tuvo mejor sensibilidad relativa en relación a la del 8% ($p < 0.05$), aunque la diferencia de resultados podría deberse a que al aumentar la sensibilidad al utilizar el antígeno al 3%, disminuyó la especificidad de la prueba y se presentan falsos positivos.

PALABRAS CLAVE: Cerdos, Brucelosis, Diagnóstico.

Aunque no se ha cuantificado, es posible que la brucelosis porcina en México ocasione grandes pérdidas económicas, debidas principalmente a abortos y mortinatos, infertilidad, necesidad de un mayor número de reemplazos e incremento de los gastos administrativos y por asistencia médica veterinaria; así como la depreciación de animales enfermos, retraso en el crecimiento, pérdida de peso y pérdida de líneas genéticas. También pueden ser indirectas por su efecto sobre la salud humana (1,2).

La brucelosis porcina es una de las

- a) Recibido para su publicación el 31 de julio de 1996
- b) CENID-Microbiología-INIFAP-SAGAR.
- c) Depto. de Microbiología Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia UNAM.

enfermedades infecciosas de tipo reproductivo, la cual es causada generalmente por *Brucella suis*, y de acuerdo con las posibilidades de contacto con otras especies animales por *Brucella abortus* y *Brucella melitensis* (3,4,5).

Brucella suis fue aislada en 1914 en Indiana, a partir de fetos abortados (4), y se ha dividido en 4 biotipos, de los cuales sólo los 1, 2 y 3 son patógenos para los cerdos, siendo los 1 y 3 los de mayor importancia (6). El biotipo 2 se encuentra en Europa, siendo su hospedador la liebre, causando en el cerdo lesiones en el útero (4,7,8). En México es más común el biotipo 1 y mundialmente el biotipo 3 (1,4,8,10).

Las pruebas de seroaglutinación de placa,

lenta en tubo (SAT) y tarjeta (9,11) son métodos comúnmente utilizados en el diagnóstico.

Las pruebas complementarias se caracterizan por ser más sensibles y disminuir las reacciones inespecíficas; de ellas, la de fijación de complemento (FC) detecta anticuerpos no aglutinantes, especialmente IgG1 (2,9,11,12,13). Sin embargo, uno de los problemas frecuentes al realizar pruebas de FC es que se encuentra actividad anticomplementaria en el suero problema. El suero del cerdo presenta la propiedad de tener una actividad procomplementaria; es decir, que acentúa la actividad hemolítica del complemento agregado. Por esta razón, es difícil hacer pruebas de FC en el suero de esta especie (14).

En México, durante 1984 la prevalencia estimada de brucelosis porcina fue de 3.6% (15). La Dirección General de Sanidad Animal de la SAGAR, informó que durante 1992 no se presentaron casos.

La brucelosis porcina es una enfermedad zoonótica muy importante, a la cual no se le ha dado la debida atención, es de poca utilidad el programa establecido para su control y erradicación, desconociéndose su distribución y su incidencia.(16)

El objetivo del presente trabajo fue conocer la presencia de anticuerpos contra *Brucella* en sueros de cerdos que provenían de 27 granjas y 2 rastros de los estados de Sonora, Sinaloa y Tlaxcala, así como establecer una comparación entre los resultados obtenidos con la prueba de tarjeta con un antígeno a dos diferentes concentraciones celulares.

Se utilizaron 1493 sueros de cerdos

obtenidos de diferentes bancos en el año de 1994, de los cuales, 293 eran originarios de 10 granjas del estado de Sonora, 695 de 2 granjas y 2 rastros del estado de Sinaloa, proporcionados por el CENASA, Tecámac, SAGAR; y 505 de 15 granjas del estado de Tlaxcala, proporcionados por el proyecto de enfermedades vírales del cerdo, INIFAP, SAGAR, todos pertenecientes a cerdos adultos de ambos sexos.

A los sueros se les realizó la prueba de tarjeta por duplicado, para la cual se utilizó el antígeno convencional de *Brucella abortus* 1119-3 de la Productora Nacional de Biológicos Veterinarios (PRONABIVE), teñido con rosa de bengala, a concentraciones celulares de 3% y 8% (9, 17, 18).

La prueba estadística empleada fue la de X² (19) para comparar la sensibilidad de la prueba de tarjeta a las dos diferentes concentraciones. En la concentración al 3% se observó un 13.12% (196/1493) de positivos y en la del 8% un 2.9% (44/1493), 25 de los sueros lo fueron a ambas pruebas. Los resultados indican que la prueba al 3% fue más sensible comparada con la del 8% ($p < 0.05$). Los reactores positivos por estado de la República, para la prueba de tarjeta con cualesquiera de las dos concentraciones del antígeno fueron: 20% en Tlaxcala, 8% en Sonora y 4% en Sinaloa. Esta prueba es recomendada como tamiz en la Norma Oficial Mexicana (20).

Los resultados señalan la presencia de anticuerpos contra *Brucella* en el suero de los animales analizados, y están de acuerdo con lo obtenido por Giles (15) en 25 granjas

ANTICUERPOS CONTRA BRUCELAS LISAS EN CERDOS, PRUEBA DE TARJETA

de la República Mexicana y por Tron (21) en la granja experimental porcina de la FMVZ, UNAM, quienes encontraron reactores positivos. Sin embargo, no concuerdan con lo encontrado por Marín (22) en granjas de los estados de Guanajuato, Tlaxcala y Puebla, por Rodríguez (23) en el rastro de Cuautitlán, Estado de México ni por Torres (24) en cerdos de traspatio en San Antonio Tultitlán, Estado de México, quienes no obtuvieron ningún suero positivo. La discrepancia entre estos resultados puede deberse a las diferentes pruebas diagnósticas y antígenos utilizados.

Existió una marcada diferencia de los reactores positivos entre los dos antígenos, de los 196 sueros en la prueba de tarjeta al 3%, a los 44 que fueron al 8%. Esto es indicativo de la presencia de aglutininas heteroespecíficas (25), aunque también se debe considerar que pueden existir reacciones serológicas cruzadas, principalmente con algunas cepas de *Yersinia enterocolitica* y *Franciella tularensis* (26,27,28).

Davis (29), estudió un total de 22 162 sueros y encontró una sensibilidad alta de la prueba de tarjeta y una correlación alta con FC (97.1%). Pilet y cols.(30) experimentaron con tres pruebas: Tarjeta, SAT y FC sobre 1,000 sueros (de animales y humanos), infectados o vacunados, encontrando una buena correlación (89%) con los resultados del antígeno de tarjeta y los de SAT y FC, siendo la correlación más importante con la de FC. Payeur y cols.(31) utilizaron 16 cerdos de entre 68 y 80 Kg, infectándolos con *Brucella suis*, muestreándolos entre 4 y 40 días posinfección; concluyeron que la prueba

de tarjeta fue la mejor y que a la de FC le falta su estandarización para usarse en cerdos. Rogers y cols.(32) aplicaron las pruebas de Tarjeta, FC y la de SAT en 345 cerdos salvajes y 80 domésticos. Los tejidos en todos los cerdos fueron cultivados para intentar el aislamiento de *Brucella suis*; 58 cerdos salvajes y 35 domésticos fueron positivos al cultivo. La sensibilidad en cultivos positivos de la prueba de Tarjeta (79.1%) fue mas significativa que a FC (49.1%) o a SAT (51.1%).

Todas la cepas lisas de *Brucella* muestran una gran reactividad cruzada, que se pone de manifiesto cuando se realizan pruebas de aglutinación; lo anterior se debe al comportamiento de un lipopolisacárido (LPS), principal antígeno de superficie de la *Brucella* (25).

En un estudio realizado en 41,300 muestras de sueros de cerdo, se encontró que la mitad de las muestras positivas a *Brucella abortus* reaccionaron con el antígeno de *Brucella suis* (33). Es por esto, que el antígeno estándar es preparado a partir de *Brucella abortus* 1119-3.(4) En la prueba de tarjeta se utiliza en forma rutinaria a una concentración del 8%, sin embargo, recientemente se ha encontrado que en ovinos y caprinos, la concentración al 3% aporta resultados mas confiables al aumentar la sensibilidad (17). Esto podría explicarse por el fenómeno de equivalencia entre antígenos y anticuerpos, ya que cuando se agrega antígeno en exceso, se forma poco precipitado, cada molécula de anticuerpo se une a un par de moléculas de antígeno y se forma poco precipitado, y como los complejos son pequeños y solubles, no se produce precipitación (14).

Es muy importante continuar haciendo estudios sobre pruebas diagnósticas de brucelosis porcina, con particular atención al aislamiento de *Brucella suis* y otras especies; de esta manera se irán determinando la prevalencia y la incidencia de la enfermedad en diferentes zonas del país. Para el diagnóstico diferencial entre *Brucella* y *Yersinia* la alternativa es la prueba de contrainmunolectroforesis con antígeno citoplasmático de *Brucella*, que ha demostrado ser una herramienta eficaz (34).

Pueden existir infecciones por *Brucella* en diferentes hospedadores, por lo que se pueden encontrar cerdos infectados con *Brucella abortus* y *B. melitensis* (8). También se han informado infecciones por *Brucella suis* en bovinos de carne (35), en perros (36), caballos (37), e incluso se ha aislado del semen de un carnero (38).

A pesar de que los resultados no son representativos de la magnitud del problema en el país, debido a que no son una muestra real de la población nacional porcina y no reflejan prevalencia ni incidencia de la enfermedad, es evidente que se le debe dar mayor importancia a este problema y seguir haciendo estudios al respecto, así como realizar el aislamiento bacteriano.

CARD-TEST ANTIBODIES AGAINST *Brucella abortus* SMOOTH STRAINS IN PIGS AT TWO ANTIGEN CONCENTRATIONS

SUMMARY

Rodríguez V H, Díaz A E, Morales A J F, Velázquez Q F, Correa G P. *Téc. Pecu. Méx.* Vol 36 No 1 1998. 83-

88. In Mexico the frequency of brucellosis in pigs has been poorly studied. Three percent concentrated *Brucella* antigen has been found to give more reliable results when using the card test for brucellosis diagnostic, in ovines and caprines. The objective of this work was to determine the sensitivity of the conventional 3% and 8% *Brucella abortus* antigens in the detection of antibodies against *Brucella* in 1493 swine serum samples by using the card test (CT). The sampled population corresponded to adult pigs from both sexes, coming from ten farms from Sonora state; two farms and two slaughter houses from Sinaloa state; and fifteen farms from Tlaxcala state. When using CT/3% antigen, 196 out of 1493 (13.12%) sera were positive; with CT/8% antigen, 44 (2.9%) of the tested sera were positive; only 25 sera were positive to both tests. Ours results indicate that the CT/3% antigen had a higher sensitivity than the CT/8% antigen ($p < 0.05$).

KEY WORDS: Swine, Brucellosis, Diagnosis.

REFERENCIAS

1. Bautista O P. Estudio serológico y Aislamiento Bacteriológico de la Brucelosis, en cerdos residentes en una granja de San Pedro Actopan, D. F. Tesis de Licenciatura. FESC. UNAM, 1981.
2. Casas O R. Diagnóstico serológico de la brucelosis. *Zoonosis*. 18: 107-134. Buenos Aires, Argentina, 1976.
3. Blood D C, Henderson J A, Radostits O M. *Medicina Veterinaria* 6a ed. Ed. Interamericana, México, 1986.
4. Nielsen K, Duncan J R. *Animal Brucellosis*. CCR Press, USA, 1990.
5. Valero G. En *Patología Sistémica Veterinaria* 2a ed. Editado por Trigo F. Ed' Interamericana, México, 1992.
6. Flores V R, Carrasco C A. *Brucelosis Enfermedades de los cerdos*. 1a ed. Ed. Diana. México, 1987.
7. Acha P N, Szyfres B. *Zoonosis y enfermedades comunes al hombre y a los animales* 2a ed. OPS/OMS. Publicación científica No. 503, 1986.
8. Deyoe B L. *Brucellosis. Disease of swine* edited. 5th. edition. A Lemman Iowa State University Press. 1986.
9. Alton G G, Jones L M, Pietz D E. *Las técnicas de laboratorio en la Brucelosis*, 2a ed. FAO/OMS, Ginebra, 1976.

ANTICUERPOS CONTRA BRUCELAS LISAS EN CERDOS, PRUEBA DE TARJETA

10. López M A. Brucellosis. Avances y Perspectivas. Editado por LOPEZ, M.A., México, 1991.
11. Iturbe R R. Evaluación de las Pruebas de Coombs e Inmunofluorescencia indirecta como métodos de Diagnóstico en Brucellosis Porcina. Tesis de Licenciatura. FMVZ.UNAM, México, 1978.
12. Flores M. Detección de Anticuerpos Séricos contra *Brucella suis* en cerdos de abasto por la Técnica de ELISA, Tesis de Licenciatura. FMVZ. UNAM, México, 1981.
13. Velázquez Q F, Ontiveros L. Práctica para la estandarización de la prueba de Fijación de Complemento para el Diagnóstico de Brucellosis. Curso Teórico-Práctico de Diagnóstico de Brucellosis Animal. Memorias, SARH. INIFAP. Palo Alto, 1994.
14. Tizard I. Inmunología Veterinaria. 3 ed. Ed Interamericana, 1990.
15. Giles G E. Titulación de Anticuerpos contra Brucellosis en sueros de cerdos procedentes de granjas en diferentes estados de la República Mexicana. Tesis de Licenciatura. FMVZ.UNAM.1993.
16. Comisión México-Americana para la Prevención de la Fiebre Aftosa y otras Enfermedades Exóticas. Boletín informativo. 2:3:31, 1989.
17. Díaz E, Velazquez Q F, Blasco M J M, Pérez M A. Prueba de Tarjeta modificada para el diagnóstico de la brucellosis caprina. Memorias de la Reunión Nacional de Investigación pecuaria, Jalisco, 1993.
18. Velázquez Q F, Moles L P, Vázquez N J, Mancera M A. en Diagnóstico Veterinario. Editado por Valero, G. Sociedad Mexicana de Patólogos Veterinarios, A.C. 1a ed. 1993.
19. Daniel W W. Bioestadística. Base para el análisis de la Ciencias de la Salud 3a ed. Ed. LIMUSA, México, 1990.
20. Norma Oficial Mexicana, Diario Oficial de la Federación del 23 de Enero de 1995.
21. Tron F M. La prueba de MIF para el Diagnóstico de la brucellosis porcina. Tesis de Licenciatura. FMVZ.UNAM.1980.
22. Marín T, Jaramillo C, Rosales C, López A, Castro D. Sondeo serológico de brucellosis en cuatro granjas porcinas mediante distintas pruebas diagnósticas. Memorias del XXIV Congreso Nacional AMVEC, México, 1989.
23. Rodríguez R A. Estudio serológico de brucellosis por medio de las técnicas de aglutinación en placa y tarjeta y fijación del complemento, y de Parvovirus por IH en 500 cerdos sacrificados en el rastro de abasto de Cuautitlán, Estado de México. Tesis de Licenciatura. FESC. UNAM. 1991
24. Torres P E. Determinación de la seroprevalencia de la enfermedad de Aujeszky, Parvovirus porcina, Enfermedad del ojo azul, Brucellosis, Leptospirosis y Fiebre porcina clásica en cerdos adultos de traspatio de San Antonio Tultitlán, México. Tesis de Licenciatura. FESC. UNAM.1993
25. Serra A, Argote E, Herrera F. Títulos inespecíficos a la brucellosis en porcinos. Cienc. Tec. Agric., , (1979) 1:1
26. Bockemuhl J, Roth J. *Brucella trites* in subclinical infections due to *Yersinia enterocolitica* serotype 0:9 in a pig-breeding farm. Zentralblatt fur Bakteriologie, Parasitenkunde, infektionskrankheiten und Hygiene, Erst Abteilung Originale. 1978, 240A: 1, 85.
27. FAO.OMS. Comité de Expertos de Brucellosis. 6o Informe. Serie de Informes Técnicos No. 740, Ginebra, 1986.
28. Karpinski T M, Skawarek P, Zorawski C. Agglutinins cross-reacting with *Brucella*, *Salmonella*, *Yersinia* and *Francisella* antigens in the serum of swine. Medycyna Weterynaryjna, 1986, 36:7, 394.
29. Davis G. The rose bengal test. Vet. Rec. (1971) 88: 447.
30. Pilet Ch, Toma B, Andre G. Diagnostic Serologique de la brucellose par l'épreuve a l'antigène tamponne(E.A.T) ou card test. Can. Med. Vet.1972, 41: 5.
31. Payeur J B, Miller C, Hennager S G, Ewalt D R. Comparison of five serologic test and culture for brucellosis in swine experimentally infected with *Brucella suis* biovar 1. Proceeding Annual Meeting of the United States Animal Health Association. 1990, 94: 147.

32. Rogers R J, Cook D R, Kettener P J, Baldock F C, Blackall P J, Stewart R W. An evaluation of three serological test for antibody to *Brucella suis* in pigs. *Aust. Vet. J.*, 1989, 66:3, 77.
33. Lewkowicz H. Attainment of objective results in serological tests for brucellosis in swine. *Medycyna Weterynaryjna*, 1981, 37:6, 337.
34. Diaz R. Valor de la prueba de la rosa de bengala y la demostración de anticuerpos anti-proteína de *Brucella* en el diagnóstico serológico de brucellosis y yersiniosis. *Medicina clínica*, 1974 63:463.
35. Cook A R, Noble J W. Isolation of *Brucella suis* from cattle. *Aus.Vet.J.*, 1984 61:263.
36. Thanappa-Pillai M, Nedunchelliyan S, Raghavan N. Brucellosis in a dog caused by *Brucella suis* biovar 1 in Madras. *Cheiron*. 1990, 19:2, 97.37.
37. Cook A R, Kingston G C. Isolation of *Brucella suis* botype 1 from a horse. *Aus. Vet.J.*, 1988 65:5, 162.
38. Paolicchi F A, Terzolo H R, Campero C M. Isolation of *Brucella suis* from the semen of a ram. *Vet. Rec.* 1993, 132: 3, 67.