

AISLAMIENTO DE *Brucella suis* DE CABRAS*

José Pérez F **

1. INTRODUCCION

La brucelosis de las cabras reviste gran interés, tanto por el problema que representa la enfermedad para la población caprina, como por el hecho de ser esta especie huésped principal de la *Brucella melitensis* considerada como la mas patógena para el hombre

En Colombia, como en muchos países del mundo, los caprinos sirven de sustento a parte de la población humana de escasos recursos economicos La convivencia hombre-animal es comúnmente muy estrecha y no se tienen en cuenta normas elementales de higiene para evitar el contagio de la enfermedad al hombre

También existen los antecedentes de importaciones de cabras de países altamente infectados por *Br melitensis* Estos hechos han despertado el interés en la investigación de esta zoonosis en las cabras

El presente trabajo se realizó en un hato situado en el departamento del Tolima, cuyo número de animales fluctuaba entre 30 y 60 cabezas El hato está dedicado a la producción de leche para consumo humano, la cual se vende a precios elevados ya que el dueño le atribuye cualidades especiales en la curación de algunas enfermedades

* Contribución del Programa Nacional de Microbiología Departamento de Ciencias Veterinarias

** Medico Veterinario Director Campaña Nacional de Brucelosis Laboratorio de Investigaciones Medicas Veterinarias (LIMV) ICA Ciudad Universitaria Bogotá

El autor expresa su reconocimiento al personal del Centro de Diagnostico de Ibagué y de la Sección de Brucelosis del LIMV en Bogotá, por su valiosa colaboración en los estudios del caso

2. REVISION DE LITERATURA

La *Br melitensis* fue la primera en conocerse y se aislo en el año de 1887 del bazo de pacientes muertos de "Fiebre Gastrica o Mediterránea" Fue aislada por David Bruce de cuyo nombre se derivó el del microorganismo y el de la enfermedad

En 1905 se descubrió que la infección procedía de la leche de cabra, la cual es aun la fuente más común del organismo causal (5)

La brucelosis en las cabras es conocida desde hace muchos años Algunos autores sostienen que es originaria de ciertas regiones de los Montes Persicos, pero los estudios a fondo de la enfermedad se iniciaron en la Isla de Malta De allí se expandió por casi todo el mundo, causando verdaderos estragos en la poblacion caprina y en los humanos (3)

Los países del Continente Americano más seriamente afectados han sido Argentina, Mejico, Uruguay, Estados Unidos y Peru, con indices hasta del 30 o/o de reactivos

Siguiendo las recomendaciones del Comite Mixto FAO/OMS de Expertos en Brucelosis (1), los estudios epidemiológicos de la enfermedad deberan basarse en el aislamiento y el estudio de mayor numero de cepas de *Brucella* procedentes de ganado caprino

La poblacion caprina en Colombia, segun informe del DANE (2) sobre Encuesta Agropecuaria Nacional, para el año de 1967, estaba considerada en 844 620 cabezas, distribuidas principalmente en los departamentos de Guajira, Boyaca, Magdalena, Santander y Norte de Santander

En Colombia han sido identificadas la *Br abortus* y la *Br suis* (4), sin embargo, hasta ahora no se ha comprobado el primer caso de *Br melitensis*

Las vias de infección en las cabras son las mucosas de los ojos, del tubo digestivo, y el aparato respiratorio Otro medio posible de transmision es el contacto directo de la piel con materias contaminadas

En terminos generales, la transmision de *Br melitensis* por contacto en los caprinos requiere una exposición masiva, como la que se produce durante el periodo del parto, con los abortos y fetos infectados

La mayoría de las cabras infectadas, elimina Brucellas por la leche, en algunas, esta eliminacion es continua, en otras intermitente y en otras cesa bruscamente La eliminación vaginal de *Brucella* en la cabra se asocia con frecuencia aunque no siempre con el parto En efecto, se han hallado Brucellas en el mucus vaginal de una cabra que nunca habia estado preñada y que las elimino por esta via por lo menos durante tres meses (1)

3 MATERIALES Y METODOS

Se seleccionó un hato de cabras en el departamento del Tolima, en vista

de que se presentaban numerosos abortos y muertes de cabritos al poco tiempo de nacidos y por estar dedicado a la producción de leche para consumo humano. El hato constaba de 30 cabras de raza criolla, que habían sido adquiridas en distintos sitios del país.

Inicialmente todas las cabras se sangraron, y los sueros una vez separados de su coágulo, fueron sometidos a la prueba de aglutinación en placa. Para estas pruebas se usaron métodos convencionales y antígenos estándar elaborados en la Empresa Colombiana de Productos Veterinarios (VECOL) y se hicieron directamente las diluciones hasta 1/200 empleando pipetas Bang.

Los distintos títulos expresan el número de unidades internacionales (UI).

De las 30 cabras examinadas, fueron seleccionadas seis que dieron título de 1×100 o más, con el fin de intentar el aislamiento de Brucellas y de estudiar la marcha de la curva de anticuerpos en la sangre circulante.

Mensualmente se tomaron muestras de leche y de sangre para los análisis respectivos. Por cada muestra de leche se inocularon dos cobayos, de un peso aproximado de 450 a 500 gramos, aplicando 2 mL vía intraperitoneal.

Los cobayos fueron sacrificados a las seis semanas de la inoculación, después de tomar sangre de cada uno para la prueba de aglutinación. De los cobayos sacrificados se tomaron vísceras y se trituraron en mortero y el producto final se cultivó en agar-brucella. Las cajas sembradas se incubaron a 37°C durante siete días, en una atmósfera con un 10 o/o de CO₂.

La sangre de las cabras se tomó en frascos estériles con y sin citrato, con el fin de hacer seroaglutinación e inocular cobayos para intentar el aislamiento de Brucella, siguiendo los mismos procedimientos descritos para la leche.

4. RESULTADOS

A la quinta sangría o sea al quinto mes de estar tomando las muestras, resultaron dos cobayos positivos a la prueba de seroaglutinación. Estos cobayos habían sido inoculados con una mezcla de la sangre obtenida de las seis cabras positivas a la seroaglutinación.

Los cobayos fueron sacrificados y de cada uno se retiró asépticamente los ganglios inguinales, el bazo y porciones de pulmón, que se trituraron en mortero. Luego se sembró en cajas de petri con agar-brucella (Difco).

Las cajas de petri sembradas se incubaron a 37°C con un 10 o/o de CO₂. A los tres días de incubación empezaron a crecer pequeñas colonias. Se seleccionaron colonias típicas de Brucella, las que fueron repicadas en tubos de agar-brucella (Difco) y los cultivos se identificaron por los

Fecha de la prueba 8-II 71

Operador N GURISATTI

Supervisor C GARCIA CARRILLO

TABLA 1 Tipificación de Brucella

CEPAS	Procedencia (huésped)			TIONINA			FUCSINA			Producción de H ₂ S en días										Ureasa					Sucros monoespecifi		Sensibilidad al fago Tb		RESULTADOS											
	Procedencia (huésped)	Requiere CO ₂	Requiere suero	1/25	1/50	1/100	1/25	1/50	1/100	1/100 V metilo	1/50 Pironina	1/5 Safranina	1/500 Tripaflavina	1/500 Ver malaq	1/500 A tionina	1 mg/ml Eritrol	5 UI/ml Penicilina	Estrepto 2,5 Mg	Medio base	Fase colonia	1	2	3	4	5	15	30	60		120	180	A	M	1 DCP	10 ⁴ DCP					
																																				1	2	3	4	5
Cabra 756 70	Cab			4	4	4							2			4			4	S	+									+		B suis biotipo 1			
B abortus 544 2		+					4	4	4	4	4	4	2	4	4	4	1		4	S	+																	
B mel 16 M				3	4	4	3	4	4	2	4	4		4	1	4	1		4	S																				
B suis 1330				4	4	4							2			4			4	S	+	+	+	+	+									

Medio base TRIPTICASE SOYA
 Temperatura de incubación 37°C
 Atmosfera CO₂ 10o/o

métodos usuales, examen microscópico de preparaciones coloreadas con Gram y aglutinación con suero específico

La cepa aislada fue enviada al Centro Panamericano para su tipificación definitiva y fue clasificada como *Br suis* biotipo 1

El comportamiento de la cepa en la tipificación por los métodos bioquímicos y serológicos convencionales, queda consignada en la Tabla 1

Como puede apreciarse en la Tabla 1, la cepa fue identificada con el número "cabra 756/70", y su comportamiento en las pruebas fue idéntico a la cepa de referencia 1330, que corresponde también a *Br suis*

Las cepas números 544-2 y 16 M que aparecen también en la Tabla, corresponden a cepas de referencia. En las Figuras 1 y 2 se expresan las variaciones de los títulos de anticuerpos de animales infectados, las cuales fueron muy poco significativas, ya que todos los animales permanecieron con títulos durante todo el tiempo de observación

Cabe anotar que desde el primer examen serológico, las cabras dieron títulos de 100 UI o mas, o sea animales considerados serológicamente positivos a la enfermedad

Analizando las Figuras puede verse que la cabra No 1, después de dar inicialmente un título de 100 I, descendió en un mes a 50 I, lo que significa un título sospechoso, sin embargo, al tercer mes volvió al título inicial, permaneciendo así hasta el séptimo mes cuando dió un título de 200 I

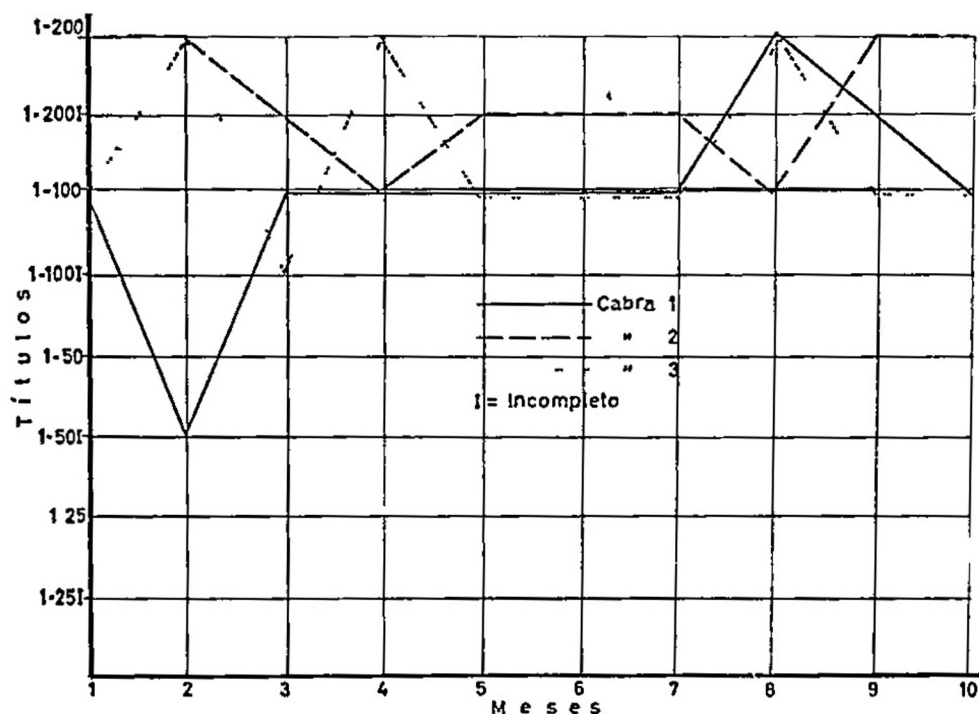


FIGURA 1 Variación de títulos serológicos en cabras rectoras positivas a la Brucelosis

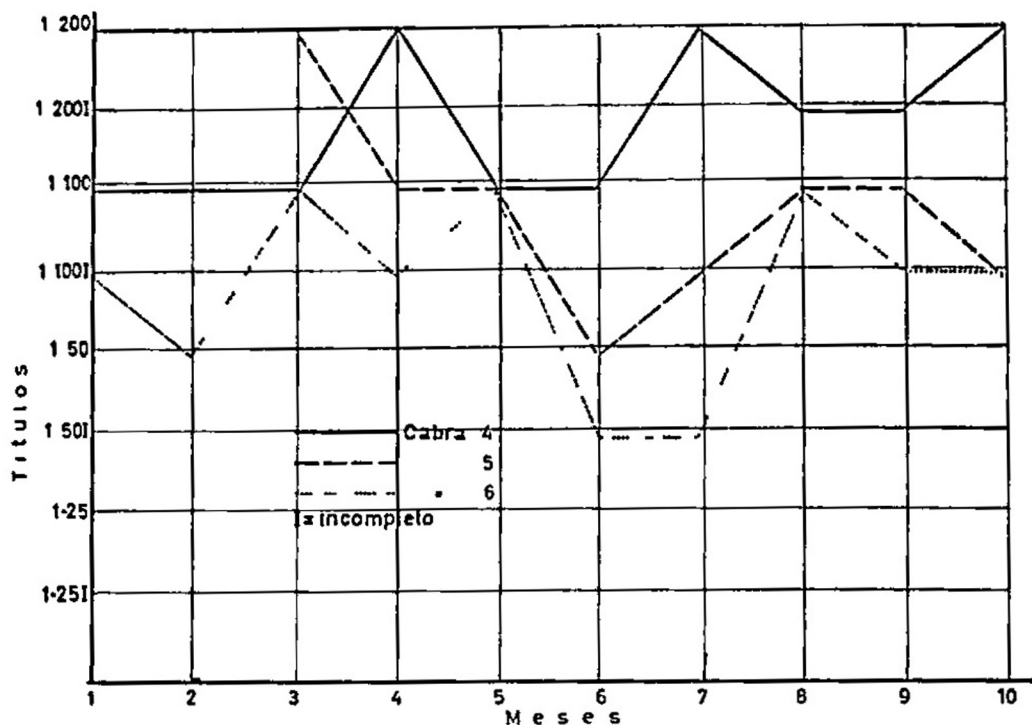


FIGURA 2 Variación de títulos serológicos en cabras rectoras positivas a la Brucelosis

La cabra No 2, dió un título inicial de 1 x 200 UI y solo hubo una variación muy pequeña en los demás meses, la cual no llegó a ser sospechosa

Las cabras estudiadas tenían antecedentes de haber presentado abortos y muertes de cabritos a los tres o cuatro días después de nacidos. Para continuar con el estudio de los abortos, las cabras fueron confinadas con un reproductor y se pudo observar lo siguiente de las seis cabras infectadas sólo una crió dos cabritos que se desarrollaron normalmente. Otra cabra abortó dos fetos y las cuatro restantes solamente criaron un solo cabrito.

De estos animales se obtuvo en total seis crías, las cuales fueron sangradas cada mes y examinadas por un periodo de seis meses. Ninguno de los cabritos tuvo reacción serológica en el tiempo de estudio a pesar de haber sido alimentados por las madres, rectoras positivas.

5 DISCUSION Y CONCLUSIONES

El mayor interés ha sido investigar la presencia de *Br melitensis* en el país en vista de las probabilidades que existen de que el germen haya llegado a nuestra ganadería. Afortunadamente y ratificando lo expuesto por otros investigadores*, se puede continuar considerando al país como libre de esta especie de *Brucella*, ya que hasta ahora, que se tenga noticia,

* A. Arias 1971 Comunicación personal

no se ha aislado el primer caso

Sin embargo, se considera de mucha importancia la investigación de la brucelosis en las cabras ya que los estudios han demostrado su infección por *Brucella suis*, considerada por algunos autores como más patógena para el hombre que la misma *Br melitensis*.

Llama la atención el hecho de que de los casos investigados bacteriológicamente, en Colombia se ha aislado únicamente *Br suis* Esto sería explicable en razón de que los caprinos investigados han estado en convivencia con porcinos, posiblemente infectados

En los animales estudiados se aislaron cepas de *Brucella* de la sangre, pero no de la leche, lo que hace suponer que la eliminación es escasa por esta vía.

Solamente tres cabras de las usadas en la experiencia, presentaron reducción de un título considerado como "positivo" en algunas oportunidades, a "sospechoso", sin llegar en ningún caso a desaparecer los títulos reaccionantes De este comportamiento serológico se saca como conclusión que la variación de títulos es poca en animales que se han diagnosticado serológicamente como positivos a brucelosis

El hato estudiado pertenece a una familia de escasos recursos económicos y los animales conviven, además de la misma familia, con otras especies como porcinos y bovinos A pesar de que no se hizo un estudio en la gente vinculada al hato, es de suponer que haya personas infectadas si se tienen en cuenta los datos anamnésicos recogidos y el frecuente consumo de leches infectadas

En el mismo hato se hizo análisis serológico de ocho bovinos, de los cuales se encontraron dos reactores con título de 100 y 200 UI respectivamente, lo que hace suponer que la enfermedad hace su ciclo completo entre caprinos, porcinos, bovinos y humanos

6 RESUMEN

Una vez más se aísla *Br suis* de cabras "reactoras serologicamente" positivas a la brucelosis, coincidiendo con otro aislamiento en el Magdalena Medio Esto hace pensar que la causa de la contaminación de esta especie en nuestro medio se debe a la estrecha convivencia con porcinos infectados

En las pocas encuestas serológicas realizadas en cabras, se encuentran índices de reactores positivos demasiado bajos Solamente se han encontrado pequeños hatos con índices de infección localizados en zonas de familias de escasos recursos y que también tienen algunos cerdos, esto confirma que los causantes de la infección en las cabras, en nuestro medio, son los cerdos

De los análisis serológicos se concluye que en ese grupo de seis cabras "reactoras positivas", la variación serológica no fue significativa en un

tiempo aproximado de un año

Se considera que cuando se presentan grandes variaciones en estos títulos, no hay que descartar la posibilidad de fallas en el diagnóstico de la enfermedad.

7. SUMMARY

Goats are reservoirs of *Brucella melitensis* which is considered, within the *Brucella* genus, as the most pathogenic for man and it is the cause of economic losses for people who have these animals as the main source of income

Colombia has imported goats from countries where this *Brucella* species has a high index of infection and in this country the control measures in these cases have been considerably reduced.

Due to the number of these animals in the country as well as the danger for human health and the absence of data, it was considered to set up a research work to detect *Brucella* in goats

This work was carried out in a herd of 30 goats with clinical history resembling a *Brucellosis* infected herd

Six goats, serologically positive to *Brucella*, were selected to study curve and to try to isolate *Brucella* using specific culture media and by guinea pig inoculation.

Two guinea pigs were serologically positive five months after inoculation with blood, they were killed and a *Brucella* strain was isolated from their organs. The Panamerican Center of Zoonoses typified this strain as *Brucella suis* biotype 1

There were no significative variations in the antibody titers during one year of study. Only three goats from those used in the experiment gave titers considered as suspicious after producing positive titers, but the antibodies never dissappeared

8. BIBLIOGRAFIA

- 1 COMITE MIXTO FAO/OMS de Expertos en Brucelosis 1965 Cuarto Informe
- 2 DANE 1967 Encuesta Agropecuaria Nacional
3. HIPOLITO O e M.G FREITAS 1961 Doencas Infetocontagiosas dos Animais Domésticos 2a ed Edicoes Malhoramentos Brasil pp 80-81
- 4 LOBO C.A. e I GALLEGO Brucelosis Porcina. Aislamiento de *Brucella suis* en el Valle del Cauca Trabajo en Prensa.
- 5 SMITH H A y T.C. JONES 1962. Patología Veterinaria Editorial Hispanoamericana, México pp 387-388