

DETECCIÓN SEROLÓGICA de ANTICUERPOS CONTRA *BRUCELLA* en la LIEBRE EUROPEA (*LEPUS EUROPAEUS*, PALLAS 1778) en la PROVINCIA de LA PAMPA (ARGENTINA).

Baldone, V¹; Fuchs, L¹; Fort, M¹; Rojas², M; Bedotti, D¹; Samartino, L³; Giménez, H¹ Kin, Marta⁴

¹INTA – EEA Anguil, La Pampa, Argentina.

²INTA EEA Cuenca del Salado, Rauch, Bs. As, Argentina

³INTA CICVyA, Castelar, Bs. As. , Argentina.

⁴Facultad de Ciencias Exactas, UNLPam, La Pampa, Argentina
email: mfort@anguil.inta.gov.ar

Resumen

Durante la última década se ha descrito en todo el mundo la infección por *Brucella* en un gran número de animales silvestres. La brucelosis es una enfermedad infecciosa crónica de los animales y el hombre, producida por varias especies del género *Brucella*. Cada especie tiene un hospedador natural principal. *Br. suis* es patógena para cerdos, liebres, caribú, roedores y humanos. El objetivo de este trabajo fue determinar la presencia de anticuerpos contra *Brucella* en la liebre europea (*Lepus europaeus*) en la provincia de La Pampa (Argentina). Para ello se analizaron por las pruebas de FPA, FC, SAP y 2-ME ciento seis sueros de liebres procedentes de acopiadores radicados en las localidades de Ataliva Roca, Santa Rosa, Anguil, Uriburu, Lonquimay y Catrilló. Del análisis de los sueros por las distintas técnicas se determinó que 8 eran

positivos a SAP, seis a 2-MEP y 6 a FPA. Con FC, solo pudieron analizarse algunos de los sueros obteniendo solo 3 resultados positivos. Combinando todas las técnicas se obtuvieron en total nueve liebres positivas, de las cuales siete son hembras, pero no se ha encontrado una diferencia significativa entre machos y hembras ($p=0.249249$). Finalmente, se determinó una prevalencia a *Br. suis* en la liebre europea del 8.49%.

Introducción

La brucelosis es una enfermedad infecciosa crónica producida por varias especies del género *Brucella*. La especie porcina es el reservorio natural de *Br. suis*, esta infección se propaga (biotipo 1 y 3) directa e indirectamente de cerdo a cerdo, en cambio el biotipo 2 es transmitido muchos veces al cerdo por la liebre europea (*Lepus europaeus*) (Rhaway, 1993). En los porcinos las vías principales de infección son la digestiva y la venérea. En las hembras, el aborto no es un signo constante de infección brucélica, pero sí el más característico y en los machos se producen lesiones del aparato genital (Giraud et al., 1997). La liebre europea, el jabalí (*Sus scrofa*) y los roedores son los reservorios naturales de *Br. suis* biotipo 2. Los cambios patológicos característicos producidos por *Br. suis* biotipo 2 en la liebre europea, son la formación de abscesos purulentos o secos, los cuales pueden ser de color amarillo, amarillo-verdoso o blanco crema y pueden encontrarse en diferentes partes del organismo: en tejido conectivo, tejido intramuscular,

bazo, hígado, pulmón y órganos reproductores (Szulowski et al., 1999). En Buenos Aires, Argentina el examen bacteriológico de 500 liebres europeas capturadas en las cercanías de Azul, permitió aislar de una mezcla de 5 liebres una sola cepa de *Brucella*, identificada como *Br. suis* biotipo 1. El examen serológico de 325 muestras de suero, sólo una (0.3%) dio un título de

1:50 en la prueba de seroaglutinación en placa (Szyfres et al., 1968).

El objetivo de este trabajo fue determinar la prevalencia serológica a *Brucella* en la liebre europea (*lepus europaeus*) en la provincia de La Pampa, Argentina.



Materiales y Métodos

El área de estudio estuvo comprendida por seis localidades de la provincia de La Pampa: Ataliva Roca, Santa Rosa, Anguil, Uriburu, Lonquimay y Catrileo (fig. 1). El muestreo se realizó durante el período de caza, que abarcó desde el 15 de mayo al 31 de julio del 2004. En todos los casos datos referidos a las características (peso y sexo) del animal muestreado así como del sitio donde se obtuvo el mismo, fueron recolectados en una planilla diseñada para tal fin. Se

recolectaron 106 liebres de diferentes acopiadores (Tabla 1). Las muestras de

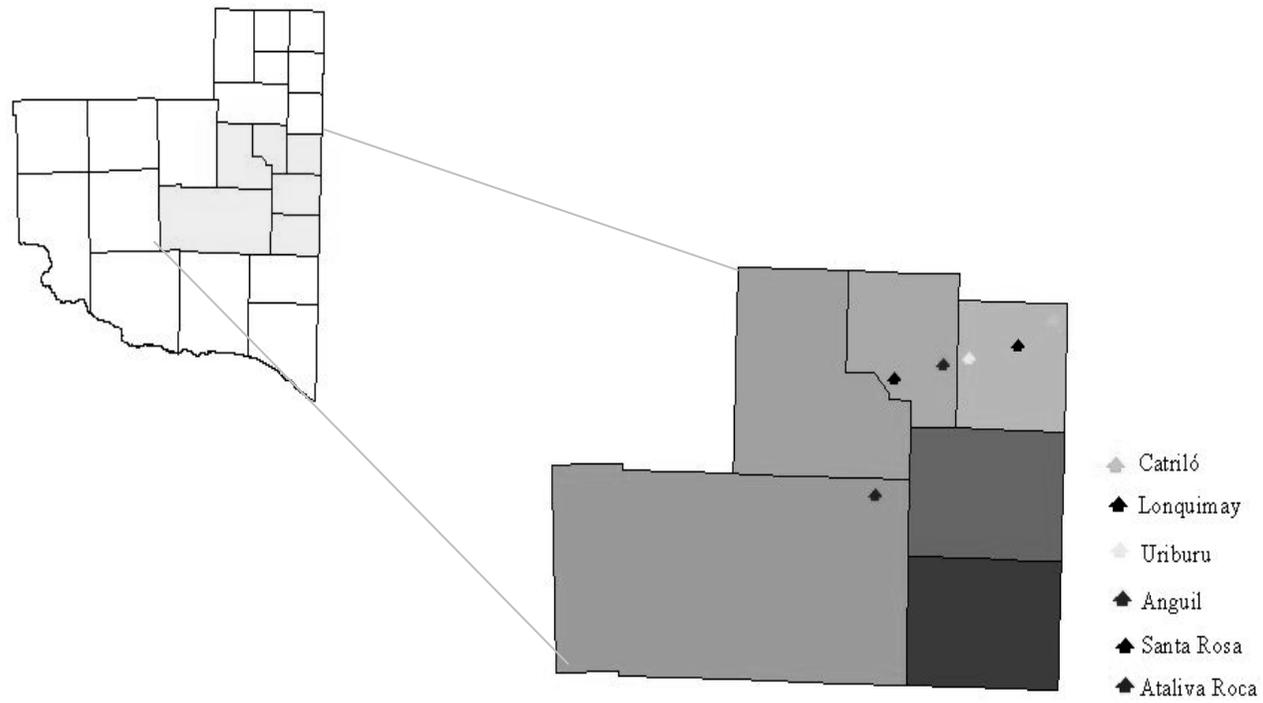
sangre fueron extraídas del corazón y luego de identificadas convenientemente se llevaron al laboratorio en donde se centrifugaron, durante 15 minutos a 2500 r.p.m, para la extracción del suero. Los sueros se conservaron a -20°C hasta su procesamiento.

La determinación de anticuerpos se realizó mediante las siguientes pruebas:

- Fijación de complemento (FC): para la que se usaron diluciones de 1/10 1/20 1/40 1/80 1/160 y 1/320, según García Carrillo (1981).
- Polarización de la fluorescencia (FPA): según Nielsen et al, (1995).

- Seroaglutinación en placa (SAP) y seroaglutinación con 2-mercaptoetanol en placa (2-ME): según Robles et al, (1996).

Fig. 1: Ubicación geográfica de los sitios de muestreo

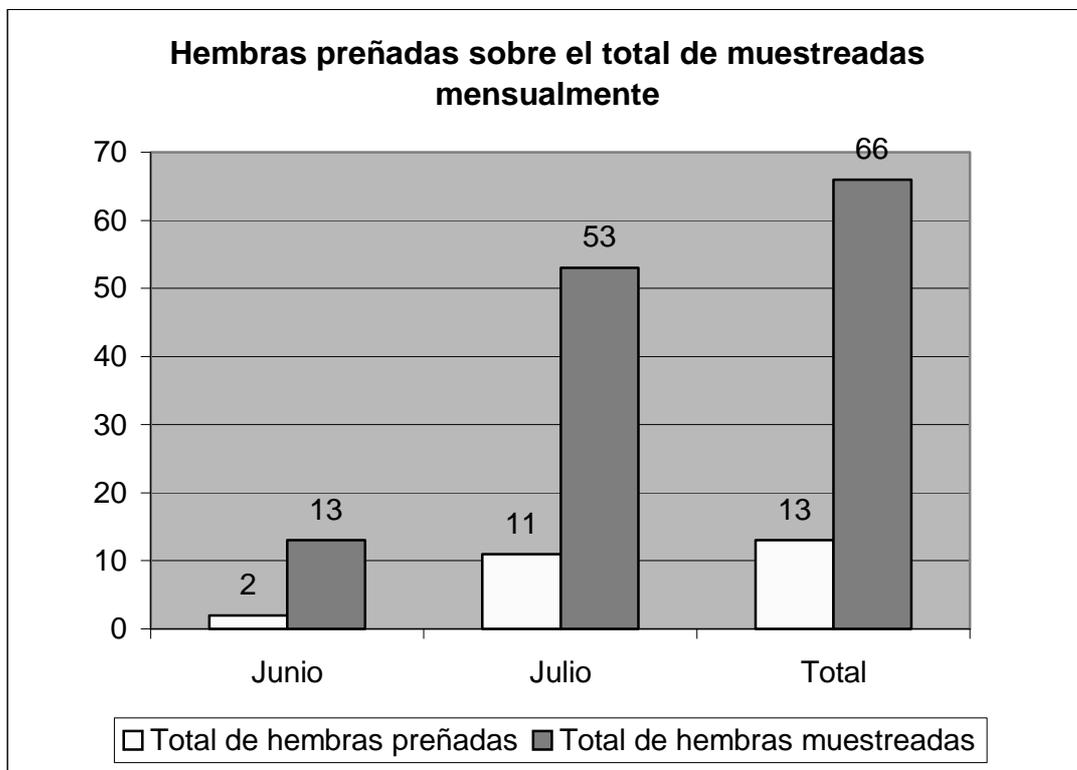


Resultados

Se muestrearon 106 liebres, de las cuales 46 se obtuvieron en acopiadores de la localidad de Anguil, 29 de Uriburu, 10 de Lonquimay, 8 de Ataliva Roca, 7 de Catriló y 6 de Santa Rosa.

A todas las liebres muestreadas se les determinó el sexo, obteniendo 66 hembras y 40 machos. Se encontró una diferencia significativa entre el número

de hembras y machos ($p=0.01$). De las 66 hembras, 13 estaban preñadas, sólo 1 tenía dos fetos, mientras que las 12 restantes tenían un único feto. Dentro de la época de muestreo el mes en el que se encontraron mayor cantidad de hembras preñadas fue julio, con un total de 11 preñeces, mientras que en junio sólo se detectaron 2 hembras preñadas y ninguna en mayo.



Se registró el peso de 98 liebres, en las restantes no fue posible debido a que en ciertas ocasiones no se contaba con los elementos necesarios para hacerlo. La media de los pesos fue de 3.91 Kg.

El diagnóstico de brucelosis mediante FPA se realizó en 100 sueros, de los cuales 6 dieron positivos y 94 negativos. Se tomaron como positivas aquellas muestras cuyos valores tuvieron en el polarizador fluorescente una lectura igual o mayor a los 100 mp.

Por FC sólo se analizaron 23 sueros, 3 de ellos fueron positivos y 14 negativos, 5 correspondieron a sueros que presentaban un nivel de hemólisis muy alto y 1 fue anticomplementario.

Se realizó SAP a 100 sueros, sin embargo en 19 de los mismos no pudo obtenerse ningún resultado ya que no se encontraban en buenas condiciones. De los restantes sueros, 73 dieron resultados negativos y 7 fueron positivos (5 con título de 1:336, 1 con título de 1:168 y 1 con título de 1:42).

Mediante SAP con el agregado de 2-ME se analizaron 100 sueros. En este caso tampoco se pudo en 19 sueros obtener un resultado debido al mal estado de los mismos, de los restantes 75 sueros dieron negativos y 6 positivos (3 con títulos de 1/336, 2 con títulos de 1/42 y 1 con títulos de 1/84).

Liebre N°	FPA	FC	SAP	2-ME	Fecha de muestreo	Zona	Peso Kg.	Sexo
6	P	P	P 1/336	P 1/336	17/06/04	Uriburu	3,9	Hembra
57	P	A-C	P 1/336	P 1/336	15/07/04	Uriburu	3,9	Hembra
68	P	NH	P 1/336	P 1/336	20/07/04	Anguil	3,9	Hembra
78	P	Hem	P 1/336	N	22/07/04	Uriburu	4,5	Hembra
80	N	Hem	P 1/42	P 1/42	23/07/04	Anguil	3,75	Hembra
98	P	P	P 1/168	P 1/84	29/07/04	Anguil	3,75	Macho
106	P	P	P 1/336	P 1/336	30/07/04	Catriló	4	Hembra

Tabla 1: P= positivo N= negativo NH= no se hizo
A-C= anticomplementario Hem= hemolizado

Conclusiones

La liebre europea es un animal que ronda entre los 3.50 Kg. y 4.00 Kg., con una media de peso de 3.91 Kg. Si bien su periodo de celo es generalmente entre agosto y septiembre, se puede observar (porcentaje de preñez en julio= 20,75%) que dicho periodo puede no siempre respetar los límites a causa de la influencia de ciertos factores, como por ejemplo el clima.

La seroprevalencia a brucelosis determinada por FPA fue del 6% sobre un total de 100 sueros. Sobre la misma cantidad de muestras analizadas por la técnica de SAP sin el agregado de 2-ME se obtuvo una seroprevalencia del 7% y mediante SAP con agregado de 2-ME la seroprevalencia obtenida fue del 6%. Estos resultados son bastante altos comparados con el trabajo realizado por Szyfres et al (1968), en el que determinó un solo título (0,3%) de 1:50 sobre un total de 325 muestras. A partir de las técnicas de diagnóstico serológico realizadas puede decirse que, si bien FPA no es una técnica muy utilizada en el diagnóstico serológico de brucelosis en animales silvestres, en este caso se comporta como una de las técnicas más adecuadas.

Si bien la liebre europea es considerada reservorio de *Br. suis* en la mayoría de los países europeos, con este trabajo se determinó una prevalencia del 7% sobre un total de 100 para la provincia de La Pampa, Argentina.

provincia de Córdoba. IV Jornada Científica-Técnica. Facultad de Agronomía y Veterinaria. Universidad Nacional de Río Cuarto. Córdoba. Argentina.

Nielsen, K. et. al. 1995. A fluorescence Polarization Assay for the Detection of Serum Antibody to *Brucella abortus*. Agriculture and Agri-Food. Canada.

Rhaway, N. 1993. "Manual Merck de Veterinaria". España.

Robles, C. et. al. 1996. Evaluación de una variante en microplaca, de las de seroaglutinación lenta en tubo y 2-mercaptoetanol, para la detección de anticuerpos contra *Brucella abortus*. Asociación Argentina de Veterinarios de Laboratorios de Diagnóstico. XIa. Reunión Anual. pp. 37.

Szyfres, D. J. et. al. 1968. Aislamiento de *Brucella suis* de la liebre europea (*Lepus europaeus*) en la Argentina.

Szulowski, K. et. al. 1999. The ELISA for the examination of hare sera anti-*Brucella* antibodies. Elsevier Science Ltd. Comparative Immunology, Microbiology & Infectious Disease 22 33-40.

Bibliografía

Giraudó, J. et. al. 1997. Prevalencia de la brucelosis en rodeos lecheros de la