

## **AISLAMIENTO de *BRUCELLA SUIIS* en LIEBRE EUROPEA (*LEPUS EUROPAEUS*) en la PROVINCIA de LA PAMPA - ARGENTINA**

Fort, M<sup>1</sup>; Baldone, V<sup>1</sup>; Fuchs, L<sup>1</sup>; Rojas M<sup>2</sup>; Bedotti, D<sup>1</sup>; Giménez, H<sup>1</sup>

<sup>1</sup>INTA –EEA Anguil, La Pampa, Argentina

<sup>2</sup>INTA –EEA Cuenca del Salado, Rauch, Buenos Aires, Argentina

### **Resumen**

*Brucella suis* afecta primariamente a porcinos y libres, pudiendo también infectar al hombre. Con el objeto de determinar la presencia de *Br. suis* se tomaron muestras de 106 liebres en distintos sitios de acopio en la región central de la provincia de La Pampa. Para tal fin se extraían todos los órganos de las cavidades torácico y abdominal a través de una pequeña incisión realizada en el abdomen. En el laboratorio los órganos eran inspeccionados en la búsqueda de lesiones compatibles con *Br. suis* y en caso de encontrarlas se tomaban muestras para estudios bacteriológicos e histopatológicos. Las muestras para bacteriología se sembraron en medios de Agar Sangre y Agar Brucella y eran cultivadas 10 días a 37°C. De las 106 liebres muestreadas solo 5 presentaron abscesos en su mayoría secos de color blanco amarillento y que se localizaron principalmente en bazo e hígado. Los abscesos fueron abiertos y se tomaron muestras raspando la pared del mismo para efectuar la siembra en los medios descriptos. En 4 de las liebres muestreadas se

aislaron *Brucella sp.* identificadas posteriormente como *Br. Suis* Biotipo 1. Se describen en el trabajo las características bioquímicas de las cepas aisladas los órganos afectados y las lesiones histológicas encontradas. También se discute sobre la importancia de la liebre como reservorio y los posibles ciclos silvestres o domésticos en los que podría participar.

### **Introducción**

El estudio y conocimiento de las enfermedades en animales silvestres revisten especial interés dado el estrecho contacto existente entre la fauna silvestre y doméstica. Durante las últimas décadas se han descrito en todo el mundo la infección por *Brucella* en un gran número de animales silvestres. La infección por *Br. suis* en la liebre europea fue comprobada en numerosos países europeos: Alemania (Witte, 1941), Suiza (Bouvier et al., 1954), Francia (Jacotot y Vallée, 1954), Dinamarca (Bendtsen et al., 1954), Checoslovaquia (Niznansky et al., 1956), Rumania (Tudoriu et al., 1957), URSS (Rementsova, 1960), Yugoslavia (Jaksic, 1958), Polonia (Hay, 1961), Austria (Willinger, 1960) e Italia (3). En Europa se atribuye a la infección de las liebres un importante papel en la epizootiología de la brucelosis porcina (Bendtsen et al., 1954; Christiansen y Thomsen, 1957). En la mayoría de los países europeos la infección de las liebres se debe a *Br. suis* Biotipo 2. En Buenos Aires, Argentina en un estudio bacteriológico de 500 liebres europeas capturadas en las cercanías de

Azul, se logró aislar de una mezcla de 5 liebres una sola cepa de *Brucella*, identificada como *Br. suis* Biotipo 1 (Szifres, D. J. y col, 1968).

Estudios más recientes realizados en Río Cuarto, Córdoba, muestran mediante test serológicos que de un total de 77 liebres europeas, solo una mostró una reacción incompleta en un título de 1:25. El aislamiento de brucelas desde hígado, bazo y nódulos linfáticos hepáticos de este animal fue negativo. Se concluyó que la liebre no juega un rol muy importante como reservorio de *Br. suis* (Giraudó, 1985). El objetivo de este trabajo fue determinar la presencia de *Brucella sp* en la liebre europea (*Lepus europaeus*) en una determinada área de la provincia de La Pampa, Argentina.

## **Materiales y Métodos**

### **Toma de muestras**

Se muestrearon 106 liebres procedentes de acopiadores de Santa Rosa, Anguil, Uriburu, Ataliva Roca, Lonquimay y Catriló. Las liebres eran elegidas al azar y se les extraía los órganos parenquimatosos de la cavidad abdominal (bazo, riñón e hígado), el tracto digestivo (estómago e intestinos delgado y grueso) y los órganos de la cavidad torácica (pulmón y corazón) a través de una incisión realizada en la línea media de la cavidad abdominal. Seguidamente eran colocados en bolsas de nylon y transportados al laboratorio donde se inspeccionaron. En el caso de observarse lesiones (particularmente abscesos) se tomaban muestras, para lo cual, los abscesos eran abiertos y las muestras eran tomadas con hisopos estériles o ansas raspando la pared del mismo y colocadas en recipientes estériles para estudios bacteriológicos.



**Toma de muestras en acopiadores**

### **Diagnóstico bacteriológico**

Las muestras tomadas eran sembradas en agar sangre, agar *Brucella*, agar Mc

Conkey y agar *Salmonella Shigella*. Luego se incubaron en atmósfera con un 10% de CO<sub>2</sub> en jarras para anaerobios a 37°C por 10 días. El cultivo en jarra se realizó para tratar de aislar alguna otra bacteria que pudiera no ser aerotolerante. La presencia de colonias sospechosas se confirmaron con las pruebas de Gram, Fucsina básica, oxidasa, urea, necesidad de O<sub>2</sub> y también aglutinación en placa con sueros anti bovinos positivos a *Br. abortus*.

### **Diagnóstico serológico:**

Con las muestras de suero extraídas se realizaron las pruebas de Fijación del Complemento (**FC**), Polarización de la Fluorescencia (**FPA**), y aglutinación en microplaca, con (**SAP**) y sin el agregado de 2- Mercaptoetanol. (**2ME**)

### **Resultados**

Sobre un total de 106 liebres muestreadas solo se encontraron lesiones visibles compatibles con *Brucella suis* en 5 liebres (Fotos), de las cuales en 4 (3.8%) fue posible aislar *Brucella sp*, que de acuerdo a las pruebas bioquímicas realizadas fueron clasificadas como biotipo 1 (Tabla 1). Los resultados serológicos y otros datos de las liebres con aislamiento positivos

se observan en la tabla 2. En 3 de las 4 liebres con aislamiento se detectaron altos títulos en todas las pruebas serológicas realizadas. En la restante liebre no se pudo extraer suero. Todos los animales se pueden considerar adultos por el rango de peso en el que se encuentran (3.8 y 4.0) y con respecto al sexo se puede observar que 2 fueron hembras y 2 machos. Y en las Fotos 1 y 2 se pueden observar las típicas lesiones granulomatosas producidas por *Br suis*. En orden de importancia los órganos en los que se encontraron lesiones fueron: bazo, hígado y riñón. El tamaño de los abscesos varió desde apenas un milímetro hasta algunos de casi 2 cm. como los que se observa en la foto 2. La cantidad de abscesos fue variable, en algunos animales se observaron los órganos casi cubiertos por los mismos como es el caso del Bazo en la Foto 1 y en otros casos se observaron unos pocos por órgano (3 o 4 granulomas solamente). La consistencia de los granulomas fue casi siempre seca, caseosa. Histológicamente las lesiones consistieron de nódulos con centros necróticos, rodeados por células fibroblásticas y epiteloides y una cápsula externa fibrosa en cuya proximidad se observaba abundante cantidad de células linfoides y polimorfonucleares.

**Resultados de las pruebas bioquímicas realizadas con las cepas aisladas**

				<b>Cultivo con colorantes</b>	<b>Aglutinación con sueros</b>
<b>Gram</b>	<b>Necesidad de CO<sub>2</sub></b>	<b>Producción de H<sub>2</sub>S</b>	<b>Actividad ureásica</b>	<b>Fucsina básica</b>	<b>Anti-brucella abortus</b>
Bac(-)	Negativo	Positivo	0-30 minutos	Negativo	Positivo

**Tabla 1: Serología y otros datos de las liebres en las cuales se realizó el aislamiento de *Br. suis***

<b>Liebre N°</b>	<b>FPA</b>	<b>FC</b>	<b>SAP</b>	<b>2-ME</b>	<b>Aisl. Bact.</b>	<b>Fecha de muestreo</b>	<b>Zona</b>	<b>Peso Kg.</b>	<b>Sexo</b>
<b>68</b>	P	ns	P 1/336	P 1/336	P	20/07/04	Anguil	3,9	Hembra
<b>88</b>	Ns	ns	ns	Ns	P	26/07/04	Uriburu	3,9	Macho
<b>98</b>	P	P	P 1/168	P 1/84	P	29/07/04	Anguil	3,8	Macho
<b>106</b>	P	P	P 1/336	P 1/336	P	30/07/04	Catriló	4.0	Hembra

**Tabla 2 : P= positivo N= negativo ns= no se realizó**



**Foto 1**

Bazo con presencia de granulomas en casi todo el parénquima.



**Foto 2**

Hígado con presencia de granulomas de aproximadamente 2 cm. de color blanco amarillento.

## Discusión

Si bien no existen muchos trabajos en el país relacionados a la presencia de Brucelosis en liebre, lesiones granulomatosas del tipo de las que produce *Br. suis* son observadas comúnmente en las plantas donde se faenan estos animales (Comunicación personal). El aislamiento bacteriológico confirmó la presencia de *Br. suis* biotipo 1 en la liebre europea, esto coincide con el trabajo realizado en provincia de Buenos Aires por Szyfres y

col. (1968) donde se aisló también el biotipo 1. Sin embargo, en el trabajo realizado por Szyfres solo logran aislar una cepa de un total de más de 500 liebres muestreadas. Esto podría estar indicando una prevalencia más baja para esa época y/o para esa región o por el contrario la metodología de trabajo utilizada (pules de órganos inoculados a cobayos) no fue tan sensible como la usada en este trabajo (siembra de muestras individuales). Con respecto al

biotipo podría decirse que hay diferencia entre Argentina y el resto de los países donde se han hecho estudios de este tipo, ya que en la mayoría de ellos se ha aislado solamente el biotipo 2 en liebre. También es importante destacar que en un estudio de cepas de *brucella* aisladas de humanos en Argentina se determinó que 36 de las 44 cepas correspondían al biotipo 1 de *Br. suis* (García Carrillo, y col 1972), por lo que sería importante realizar estudios epidemiológicos en diferentes regiones para conocer la real dispersión de esta enfermedad y su asociación con la alta prevalencia encontrada en humanos.

Podemos decir que la liebre europea puede ser considerada un reservorio natural de *Br. suis* biotipo 1 en la provincia de La Pampa, pudiendo infectar a otros animales silvestres como el jabalí y viceversa, manteniendo un ciclo silvestre de la enfermedad. También es importante saber si el jabalí o la liebre podrían ser una fuente de infección para los porcinos u otras especies domésticas. En forma contraria, existiría la posibilidad de que la liebre pueda infectarse de los cerdos domésticos por vía mucosa al estar o frecuentar cerca de los chiqueros. Otra de las formas de dispersión que puede haber contribuido en la Pampa es el hecho que una de las plantas que faenaba libres utilizaba las vísceras de las mismas para alimentar cerdos en un criadero que pertenecía a la planta (comunicación personal).

## Bibliografía

Jacotot, H. y Vallée, A. 1954. Quelques considerations sur la brucellose du lièvre à propos de huit cas identifiés en

France. Ann. Inst. Pasteur (Paris) 87: 218-220.

Jaksic, B. D. 1958. Brucellosis and Spirochaetosis in Hares. Vet Glas 11: 423-425.

García Carrillo, C. et. al. 1972. Tipificación de brucelas aisladas del hombre y los animales de América Latina. Rev. lat-amer. Microbiol. 14: 117-125.

Gonzalez Ruiz, E. 1994. la liebre europea (Pallas, 1778). Cámara Argentina de Productores y Procesadores de Productos de la Fauna Silvestre y sus Derivados. La Industria Frigorífica Argentina Exportadora de Liebres: 16-20.

Gonzalez Tomé, J. 1986. brucelosis porcina. II parte. Diagnóstico de la brucelosis animal. Boletín técnico informativo de la AAVEPP. Nº 8.

Giraud, J. et. al. 1997. Prevalencia de la brucelosis en rodeos lecheros de la provincia de Córdoba. IV Jornada Científica-Técnica. Facultad de Agronomía y Veterinaria. Universidad Nacional de Río Cuarto. Córdoba. Argentina.

Godfroid, J. et. al. 1994. Brucellose enzootique a *Brucella suis* biotype 2 chez le sanglier (*Sus scrofa*) en Belgique. Ann. Med. Vet., 138, 263-268.

Godfroid, J. y Käsboher, A. 2002. Brucellosis in the European Union and Norway at the turn of the twenty-first. Century. Veterinary Microbiology 90 135-145.

Italia. Circolare 19, oggetto: Brucellosi nelle lepri. Ministero della Sanita, Roma. Vet. Ital. 16: 219.

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

Szifres, 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.