

DETERMINACIÓN DE LA SERO-PREVALENCIA DE ANTICUERPOS CONTRA *BRUCELLA SPP.*, EN TRABAJADORES DE CAMALES DE LA REGIÓN NORTE DEL ECUADOR.

Calva-Pacheco, J.¹⁻²⁻⁵; Ron-Román, J.¹; Ron-Garrido L.¹;
Celi-Erazo, M.¹; Benítez-Ortiz, W.¹⁻³

¹ Centro Internacional de Zoonosis (CIZ), Universidad Central del Ecuador.

² Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Central del Ecuador.

³ Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad Central del Ecuador.

⁴ Proyecto de Desarrollo de la Producción de Cárnicos Sanos en el Norte del Ecuador (PROCANOR), Quito Ecuador.

Resumen. La brucelosis, es una enfermedad zoonótica de distribución mundial, cuya incidencia es más alta en personas que mantienen contacto directo con animales domésticos, o que consumen derivados láctea, provenientes de animales contaminados.

Con el propósito de determinar la sero-prevalencia de anticuerpos contra *Brucella spp.*, y los factores de riesgo asociados a la infección en trabajadores de camales, se realizó un estudio de corte transversal en nueve camales de la Sierra Norte del Ecuador (Pichincha, Imbabura y Carchi), entre septiembre 2006 y febrero 2007. Para este efecto, se recolectaron 162 muestras de sangre, los sueros fueron analizados con tres pruebas serológicas: Rosa de Bengala (RB), Seroaglutinación lenta en tubo en presencia de EDTA (SAT-EDTA) y "Enzyme-linked immunosorbent assay" indirecto (iELISA). La investigación permitió determinar una sero-prevalencia aparente del 9.9% (16/162) (I.C 5.2% - 14.81%). Los posibles factores de riesgo asociados a la enfermedad, identificados fueron: tiempo de trabajo en el camal (R.R 4.483, I.C 1.0 - 20.0), ocupaciones que demandan contacto directo con sangre de animales (R.R 3.429, I.C 0.8 - 15.7); identificándose además, que el camal con mayor número de casos positivos (n=9) fue el ubicado en el cantón Tulcán. Adicionalmente, la realización de hemocultivos, a través del sistema semi-automático BACTEC, permitió el aislamiento de *Brucella abortus* bio-tipo 4, de un paciente sero-positivo. Estos datos, difieren con los datos oficiales reportados por el Ministerio de Salud Pública de nuestro país, que expresa que durante el año 2005, únicamente existieron 6 casos de brucelosis a nivel nacional.

Palabras Claves: Brucelosis, *Brucella abortus*, humanos, camales, sero-prevalencia, factores de riesgo, Ecuador.

Corresponding author:

Dr. Jorge Ron Román; M.Sc.

Centro Internacional de Zoonosis (CIZ), 3^{er} piso Hospital del Día, Universidad Central del Ecuador.

Apartado 17-03-100. Telefax (00.593.2) 2904-801 Quito-Ecuador

e-mails: jron-ciz@ac.uce.edu.ec

Introducción

La brucelosis, también conocida como **fiebre de Malta** o fiebre ondulante en los humanos, aborto contagioso o enfermedad de **Bang** en el ganado (Pelczar, 1982), es una enfermedad infecto-contagiosa, ocasionada por bacterias del género *Brucella*, microorganismos Gram-negativos, que presentan morfología coco-bacilar, y que debido a su capacidad de sobrevivir dentro de las células del sistema inmunitario, presenta una elevada tendencia a producir infecciones crónicas tanto en el humano como en los animales (Morriyón *et al.*, 2001; Torres *et al.*, 2004). La brucelosis es una enfermedad prevalente en muchos países del mundo (Guillén, 2006) y desde el punto de vista económico, provoca importantes pérdidas en la producción pecuaria; según estimaciones en el caso ecuatoriano podrían ascender a 5.4 millones de dólares anuales (Torres, 2005; comunicación personal). En la especie humana, las pérdidas causadas por esta zoonosis, están asociadas principalmente, a la pérdida de horas de trabajo y a costos generados por el diagnóstico y tratamiento (Bowden, 1996). Según el Ministerio de Salud Pública del Ecuador (MSP); durante el año 2005, a nivel nacional, se reportaron únicamente 6 casos de brucelosis (Aguilar, 2005).

Las vías de transmisión de la brucelosis humana, en el medio urbano, se asocian a la ingesta de productos lácteos contaminados sin higienizar y, en el medio rural, al contacto con el animal enfermo (Segura, 2005). El aislamiento e identificación de los microorganismos, es la prueba inequívoca; sin embargo, en ocasiones no es posible alcanzar este objetivo, por lo cual se hace necesario recurrir a los métodos indirectos, basados en la demostración de anticuerpos específicos frente al antígeno de *Brucella* (Díaz *et al.*, 2001; Lennette *et al.*, 1982).

El Centro Internacional de Zoonosis (CIZ), de la Universidad Central del Ecuador, ha realizado varias investigaciones, para determinar la sero-prevalencia de la enfermedad en humanos y animales, así: Celi & Vizcaíno (2004) determinaron una seropositividad del 5.5 % en trabajadores de explotaciones ganaderas del cantón Mejía; en tanto que en bovinos, Miño & Pico (2003) determinaron una seropositividad del 13.53 % en animales del cantón Mejía; lo cual fue corroborado por Ron (2003), quien determinó una sero-prevalencia de anticuerpos contra *Brucella* spp, entre el 16 al 45% de bovinos muestreados en el cantón Mejía, mediante la aplicación de siete pruebas diagnósticas.

El Ecuador cuenta con más de 200 camales localizados: 45% en la Sierra, 38% en la Costa y 17% en la Región Amazónica y Galápagos, de los cuales la mayoría están bajo una administración municipal; el 81% de los mataderos están ubicados en áreas urbanas, 7% en semiurbanas y 12% son rurales. Con excepción de los mataderos privados, los cuales adquieren los animales de abasto y comercializan carne faenada; los camales municipales únicamente prestan el servicio de faenamamiento e inspección sanitaria ante y post-mortem, que no siempre es realizada por un médico veterinario (MAG, 2007). A pesar de que la notificación de esta zoonosis en el Ecuador, tiene el carácter obligatorio, se desconoce su verdadera incidencia en humanos. El presente trabajo tuvo como objetivo, determinar la sero-prevalencia de anticuerpos contra *Brucella* spp., e identificar el agente causal y los posibles factores de riesgo asociados a la infección, en trabajadores de camales, que se encuentran en la zona de influencia del “Proyecto de Desarrollo de la Producción de Cárnicos Sanos en el Norte del Ecuador” (PROCANOR).

Materiales y Métodos

Entre los meses de septiembre de 2006 y marzo de 2007, fue realizado un estudio de corte transversal, dirigido a la toma de muestras sanguíneas del personal de camales de la zona norte del Ecuador, así como la aplicación de una encuesta epidemiológica. Las personas que intervinieron en el estudio, aceptaron su participación libre y voluntaria.

Zona de estudio

El estudio comprendió el muestreo serológico a trabajadores de nueve camales del norte del Ecuador, localizados en las provincias de Pichincha (Cayambe), Imbabura (Otavalo, Antonio Ante e Ibarra) y Carchi (Mira, Espejo, Montúfar, Julio Andrade y Tulcán), ocho de estos camales son de administración municipal, mientras que uno es administrado por el gobierno parroquial.



Población

Un total de 162 muestras fueron obtenidas de trabajadores, sin límite de edad, sexo u ocupación laboral dentro del camal, entre los cuales hubieron: faenadores, lavadores de vísceras, introductores, comerciantes, transportistas, personal de mantenimiento y seguridad, veterinarios y personal administrativo. Una encuesta epidemiológica, fue aplicada a 158 personas muestreadas, la cual permitió obtener información referente a: identificación del individuo, edad, sexo, residencia, actividad que realiza en la cadena laboral, experiencia laboral, hábitos alimenticios, contacto con animales o sus excreciones.

Pruebas diagnósticas

Para la determinación de los anticuerpos dirigidos contra *Brucella spp.*, se utilizaron tres pruebas serológicas: Prueba de aglutinación rápida en placa Rosa de Bengala (RB), Prueba de aglutinación lenta en tubo de Wright (en presencia de EDTA) “Serum Agglutination Test” (SAT-EDTA), y un “Enzyme-linked immunosorbent assay” indirecto (iELISA). El procesamiento y análisis de las muestras, se realizó en el Laboratorio de Inmunodiagnóstico del Centro Internacional de Zoonosis (CIZ), de la Universidad Central del Ecuador.

Rosa de Bengala (RB)

Para la prueba RB, se utilizó el antígeno Bengatest®, suspensión concentrada (4% v/v) de *B. abortus* cepa 19 de Weybridge. La observación de cualquier grado de aglutinación fue considerado como positivo.

SAT-EDTA

Para la prueba SAT-EDTA, se utilizó el antígeno SAT, de la casa comercial SYMBIOTICS, suspensión concentrada de *B. abortus* (cepa 99 Weybridge). En una placa de micro titulación, fueron realizadas una serie de diluciones para cada uno de los sueros a investigar. La prueba fue considerada positiva, cuando se formó una fina capa de sedimento, repartido uniformemente sobre todo el fondo de la cúpula, o cuando existió la formación de una gran zona de sedimentación, rodeada de un espacio de líquido completamente transparente. El “cut off”, fue fijado en 30 UI (25% de translucidez en la dilución 1/25) (Godfroid & Boulaert, 1995).

iELISA

En la prueba iELISA, el antígeno que se utilizó para sensibilizar las micro placas de poliestireno fue el Lipopolisacárico (LPS) elaborado por el “Centre d’Etude et de Recherche Vétérinaires et Agrochimiques” (CERVA-Bélgica). El “cut off” fue determinado en 20U, los valores iguales o superiores a este fueron considerados positivos (Godfroid & Boulaert, 1995).

Aislamiento y tipificación de *Brucella spp.* (según lo descrito en Alton *et al.*, 1988)

Para el aislamiento del agente causal, se realizaron hemocultivos - BACTEC de las personas con serología altamente positiva (n=10). Las pruebas empleadas para la identificación y posterior tipificación de *Brucella* fueron las siguientes: 1) observación macroscópica y microscópica de las colonias, 2) pruebas bioquímicas (oxidasa, catalasa, ureasa), 3) producción de H₂S, 4) requerimiento de CO₂ para el crecimiento, 5) crecimientos en medios coloreados (fucsina, tionina, safranina), 6) aglutinación con sueros mono-específicos A y M, 7) PCR - AMOS, según lo descrito por Bricker & Halling, (1994).

Análisis estadístico:

Debido a la sensibilidad y especificidad de las pruebas serológicas utilizadas en el estudio, así como al tipo de inmunoglobulina que cada una de ellas detecta (RB - IgG; SAT - IgM, irisa -IgG), se aceptaron como positivos, a todas las personas que por lo menos hayan tenido un resultado positivo a una de las tres prueba diagnósticas.

Para determinar la asociación entre variables, se utilizó la prueba de chi cuadrado con un nivel de confianza del 5%, y en los casos en los cuales las frecuencias esperadas fueron menores a 5, se utilizó el test exacto de Fisher. Con la finalidad de cuantificar el impacto de cada uno de los factores de riesgo, se calculó el riesgo relativo (RR). Adicionalmente, se determinó la correlación o concordancia de los resultados entre las tres pruebas serológicas mediante la prueba de Kappa. Para el análisis estadístico se utilizaron los programas estadísticos SPSS 12.0 y EXCEL 2003 (Microsoft®).

Resultados

Caracterización de la muestra:

Del total de muestras tomadas (n=162), el 64.2% (104) fueron hombres, en tanto que el 35.8% (58) fueron mujeres. La edad de las personas que participaron en el estudio, estuvo en un rango entre 13 y 77 años, con una media de 41 años, una desviación estándar de ± 12 años, una mediana de 40 años y una moda de 36 años, es importante indicar que los tres pacientes menores de edad, fueron muestreados con el consentimiento de los padres. En la Tabla 1, se observa la distribución de las personas que participaron en el estudio, de acuerdo a la ocupación que realizan en el camal. La categorización de acuerdo al riesgo de cada ocupación, está relacionada con el grado de contacto y exposición que mantienen con los animales o sus derivados.

Tabla 1. Distribución de las personas, según la actividad laboral que realiza en el camal.

Ocupación	Número muestras	Porcentaje muestras	Número positivos	Porcentaje positivos
Faenador ^{***}	75	46,3%	5	31.25%
Lavado vísceras ^{***}	28	17,4%	8	50%
Comerciante/Introducción/ Transporte ^{**}	26	16,1%	2	12.5%
Mantenimiento y limpieza ^{***}	10	6,2%	1	6.21%
Administración y seguridad [*]	11	6,8%	0	0%
Veterinario ^{**}	4	2,5%	0	0%
Otros [*]	9	5,5%	0	0%
Total	162	100%	16	100%

^{***} Alto riesgo; ^{**} Moderado riesgo; ^{*} Bajo riesgo.

La investigación permitió constatar que las personas que participaron en el estudio, utilizan los siguientes materiales para su bioseguridad: en el 74.7% mandil, el 28.5% guantes, 1.9% gafas, 77.2% botas, 10.8% mascarilla, 38.6% overol y 15.2% otro tipo de protección como plásticos o cascos. El promedio de tiempo de trabajo de las personas encuestadas es de 11.9 años, con un rango entre 0.1 y 60 años. La encuesta permitió además, poner en evidencia hábitos alimenticios de riesgo, tales como: consumo de lácteos no pasteurizados (37.6%). La encuesta epidemiológica, también permitió advertir que ocho de los nueve camales, disponían de un médico veterinario, para la realización de la inspección veterinaria, pero es necesario indicar que únicamente cuatro veterinarios, accedieron a participar en el estudio.

Resultados de las pruebas serológicas:

Por la sensibilidad y especificidad de las pruebas serológicas utilizadas en el estudio, se aceptó como positivos, a todas las personas que por lo menos hayan tenido un resultado positivo a una de las tres prueba diagnósticas, determinándose así una seroprevalencia aparente del 9.9% (I.C 5% -14.8%). Los casos positivos se presentaron en los camales ubicados en: Cayambe 18.8% (3/16), Antonio Ante 6.3% (1/16), Ibarra 18.8% (3/16) y Tulcán 56.3% (9/16). La sero-prevalencia a cada una de las pruebas fue la siguiente: a la prueba RB 4.94% (I.C. 1.6% - 8.3%) (8/162), SAT-EDTA 6.8% (I.C. 2.9% -10.6%) (10/162) y 8.64% (I.C. 4.31% - 12.9%) (14/162) a la prueba iELISA. De

los 16 casos positivos, únicamente 6, presentaron resultados positivos a las tres pruebas serológicas, la información detallada de los pacientes positivos, se presenta en la Tabla 2.

Tabla 2. Pacientes positivos a las pruebas serológicas y aislamiento de *Brucella spp.*

Datos Generales						Resultados serología			Hemocultivo	
Nº muestra	Edad	Sexo	Camal	Oficio	Antigüedad	RB	SAT-EDTA	ELISA	Realización	Resultado
5	39	Femenino	Cayambe	Lavado vísceras	6	Positivo	50 UI	75.8 U	Si	Negativo
7	39	Masculino	Cayambe	Faenador	30	Negativo	34.4 UI	37.9 U	Si	Negativo
17	42	Femenino	Cayambe	Comerciante	18	Negativo	60 UI	Negativo	No	NA
54	42	Masculino	Antonio Ante	Faenador	3	Negativo	Negativo	30.8 U	Si	Negativo
66	63	Masculino	Ibarra	Faenador	20	Negativo	30 UI	33.5 U	No	NA
74	33	Masculino	Ibarra	Faenador	13	Negativo	Negativo	28.9 U	No	NA
75	45	Femenino	Ibarra	Lavado vísceras	15	Negativo	Negativo	27.5 U	No	NA
150	42	Masculino	Tulcán	Faenador	9	Positivo	40 UI	106.6 U	Si	Negativo
151	55	Masculino	Tulcán	Limpieza	5	Positivo	30 UI	50 U	Si	Negativo
162	54	Femenino	Tulcán	Lavado vísceras	33	Positivo	Negativo	32.5 U	No	NA
163	50	Femenino	Tulcán	Lavado vísceras	20	Negativo	30 UI	48.6 U	Si	Negativo
168	66	Femenino	Tulcán	Lavado vísceras	12	Positivo	60 UI	86.0 U	Si	Negativo
169	36	Femenino	Tulcán	Lavado vísceras	12	Positivo	400 UI	53.3 U	Si	Positivo
172	24	Masculino	Tulcán	Comerciante	6	Positivo	Negativo	Negativo	No	NA
173	35	Masculino	Tulcán	Lavado vísceras	12	Positivo	120 UI	26.2 U	Si	Negativo
175	27	Femenino	Tulcán	Lavado vísceras	10	Negativo	Negativo	40.0 U	Si	Negativo

RB: Rosa de Bengala, SAT-EDTA: Sero-aglutinación en tubo – Wright, en presencia de EDTA, iELISA: “Enzyme-linked immunosorbent assay” indirecto, NA: No aplicable

De los casos positivos, el 50% corresponden a hombres; pero en relación al total de la población muestreada, las mujeres presentaron una prevalencia más alta 13.8% (8/58), que la determinada en los hombres 7.7% (8/104) (R.R 1.920). La investigación, permitió demostrar la presencia de hábitos alimenticios de riesgo, pues de las personas que presentaron resultados positivos el 37.5% (6/16) consumen lácteos crudos sin higienizar. La sintomatología aparente, de las personas que presentaron resultados positivos a las pruebas serológicas, se observa en la Tabla 3.

Tabla 3. Signos y Síntomas de las personas sero – positivas (n=16)

Signos - Síntomas	Nº personas positivas	Porcentaje
Fiebre continua	3	18,75%
Debilidad	5	31,25%
Escalofríos	3	18,75%
Dolor muscular	11	68,75%
Dolor articular	11	68,75%
Cefaleas	3	18,75%
Falta de sueño	2	12,5%
Problemas cardíacos	4	25%
Abortos	0	0%

Análisis estadístico de los factores de riesgo

La realización de la encuesta epidemiológica, permitió cuantificar el efecto de posibles factores de riesgo, en la infección por esta zoonosis, los resultados de las pruebas de chi cuadrado y test exacto de Fisher, así como los valores del Riesgo Relativo (RR) y su Intervalo de Confianza (IC), se observan en la Tabla 4.

Tabla 4. Resultados de la prueba chi cuadrado, test de Fisher y RR, en relación con las variables analizadas

Variables	Muestras positivas/n (%)	Chi cuadrado p	Test Fisher p	RR	I.C (95%)
Género	8/58				
Femenino	(13.8%)	0.212	NA	1.920	0.680-5.421
Masculino	8/104 (7.7%)				
Contacto con sangre	14/112	NA	0.076	3.429	0.800- 15.697
Si	(12.5%)				
No	2/50 (0.04)				
Contacto directo con animales	15/133	NA	0.177	3.559	0.451- 28.087
Si	(11.3%)				
No	1/29 (3.4%)				
Consumo lácteos crudos	6/61 (9.8%)	0.989	NA	0.993	0.342-2.883
Si	10/101 (9.9%)				
No					
Años de trabajo	2/59 (3.4%)	0.036	NA	4.483	1.00-20.00
< 5 años	14/103				
> 5 años	(13.5%)				

p: probabilidad, **RR:** Riesgo relativo, **IC:** Intervalo de confianza, **NA:** No Aplicable

Se determinó, además, mediante la prueba de chi cuadrado ($p= 0.01$), que existe una diferencia significativa entre los resultados de las personas agrupadas por camal, observándose que el camal del cantón Tulcán, fue el centro de faenamiento que presentó el mayor número de personas con anticuerpos contra *Brucella spp.* Se pudo determinar, que existe una asociación entre el tiempo de trabajo y la prevalencia de anticuerpos contra *Brucella spp.*, así, el riesgo de las personas que han trabajado más

de 5 años en el camal, es cuatro veces mayor que aquellos que han trabajado menos de 5 años.

Correlación o concordancia de los resultados de las tres pruebas serológicas

Para conocer concordancia entre los resultados de las tres pruebas serológicas, se aplicó la prueba de Kappa, determinándose de acuerdo a la escala de Londis y Koch, una correlación, “buena” (valor Kappa = 0.612) entre las pruebas Rosa de Bengala y iELISA, “buena” (valor Kappa = 0.61) entre las pruebas Rosa de Bengala y SAT-EDTA y “buena” (valor Kappa = 0.697) entre la prueba SAT-EDTA y iELISA.

Discusión

En el presente estudio, se determinó una sero-prevalencia aparente de anticuerpos contra *Brucella spp.* del 9.9 % (16/162), en trabajadores de nueve camales del norte del Ecuador, lo cual no guarda relación con los datos reportados por el Ministerio de Salud Pública del Ecuador (MSP), al expresar que existieron 6 casos a nivel nacional para el año 2005 (Aguilar, 2005).

En el Ecuador se han realizado varios estudios, dentro de los cuales se han determinado la sero-prevalencia de brucelosis tanto en grupos de riesgo como en personas sin riesgo ocupacional aparente. Así, Macías (1977) mediante la prueba de Huddleson, determinó una sero-prevalencia del 4.4% (31/700) en personas que acudían al Hospital Regional de Portoviejo (Manabí-Ecuador); Delgado (1992) mediante la prueba de sero-aglutinación rápida en placa, determinó una sero-prevalencia del 2.32% en trabajadores de centros de procesamiento de cárnicos de Cuenca; Álvarez & Pillacela (1985) en un estudio retrospectivo, determinaron que entre 1974 y 1983 en la ciudad de Cuenca se reportaron 4 casos; en un estudio realizado durante 1980 en trabajadores de camales en la Provincia de El Oro, se determinó una sero-prevalencia del 23.83% (Izurieta, citado por Ron, 2003); en tanto que Celi & Vizcaíno (2004), determinaron una sero-prevalencia del 5.5% en trabajadores de explotaciones ganaderas del cantón Mejía, mediante la utilización de las pruebas Rosa de Bengala, Suero Aglutinación Lenta en Tubo – Wright y iELISA.

Los resultados obtenidos en la presente investigación, sumados a los trabajos anteriormente efectuados, sugieren que la brucelosis es una enfermedad que presenta elevadas sero-prevalencias de anticuerpos en humanos, además, pone en evidencia la sub-notificación de casos de esta zoonosis en el Ecuador.

Aislamiento y tipificación de *Brucella spp.*

El hemocultivo, permitió el aislamiento del agente causal de una de las personas positivas a las pruebas serológicas; la bacteria fue tipificada como *Brucella abortus* biotipo 4, los resultados de las pruebas de tipificación se resumen en la Tabla 5; la prueba de PCR (AMOS), ratificó los resultados al constatar que la cepa aislada, pertenecía al género *Brucella*, ver Foto 1.

Foto 1. Resultados PCR (AMOS)



MP: Marcador de peso, **B2:** control *Brucella abortus* biotipo 2, **M1:** Muestra 1 (paciente N° 169), **CB:** Control blanco

Tabla 5. Resultados de las pruebas de tipificación, realizadas en cepas de *Brucella* aisladas.

N° muestra	Acti- vidad ureásica	Necesi- dad de CO ₂	Produc- ción de H ₂ S	Cultivo con colorantes				Aglutinación con sueros	
				Tionina 20 µg	Tionina 10 µg	Fucsina 20 µg	Safra- nina 100 µg	A ¹	M ²
169	+	+	+	-	-	+	+	-	+
B2*	+	+	+	-	-	-	-	+	-
B9**	+	-	+	+	+	+	+	-	+

(B2*) control *Brucella abortus* biotipo 2, (B9**) control *Brucella abortus* biotipo 9, (¹) suero monoespecífico anti-A, (²) suero monoespecífico anti-M

La alta prevalencia de la enfermedad en los humanos encontrada en el presente estudio, está relacionada con la alta incidencia de la brucelosis bovina, ya que según el SESA – MAG, las provincias de Pichincha, Imbabura y Carchi se encuentran en la zona de más alta prevalencia de brucelosis bovina (Torres, 1999). Este hecho, concuerda con los trabajos realizados por Morales & Combarías (2004) en Colombia y con Gonçalves *et al.* (2006) en Paraná - Brasil, investigaciones en las cuales se determinó que la prevalencia de la enfermedad en los humanos, está relacionada directamente con la alta prevalencia de la enfermedad, presente en los reservorios naturales que son los animales.

La presente investigación, no sólo permitió poner en evidencia la elevada sero-prevalencia de anticuerpos contra *Brucella spp.*, en trabajadores de camales del norte del Ecuador, sino también permitió el aislamiento y tipificación del agente causal, como *Brucella abortus* biotipo 4. Según la FAO & OMS (1986), es necesaria la identificación del agente causal, hasta la determinación de su biotipo, ya que estos presentan una distribución geográfica particular; el conocimiento más exacto de los biotipos responsables del problema en una determinada región, permitirá comprender de mejor forma la propagación de esta zoonosis (Roux, 1979). Lamentablemente el aislamiento y bio-tipificación de *Brucella spp.*, no es trabajo fácil, pues requiere de un laboratorio especializado, y de alta bioseguridad; es por ello que se ha mencionado que el número de aislamientos reportados en un determinado país, guarda relación directa con el grado de desarrollo de sus laboratorios de referencia, si estos existen.

Debido a que cada prueba diagnóstica, posee valores de sensibilidad y especificidad que están en relación al tipo de prueba, así como al tipo de anticuerpo que detecta, es

necesario disponer de una “batería de pruebas”, con el objetivo de localizar la mayor cantidad posible de individuos infectados. Los resultados de las pruebas diagnósticas, pueden ser combinados, creando así el llamado “gold Standard”; este hecho, permite determinar no solo los individuos con infecciones crónicas (IgG), sino también, aquellos recientemente infectados (IgM), propiciando así un tratamiento eficaz, antes del apareamiento de los síntomas. La utilización de la prueba diagnóstica SAT, permitió determinar un paciente (muestra número 169) con infección aguda (400 UI), lo que posibilitó a través del hemocultivo, el aislamiento y posterior bio-tipificación del agente causal.

En cuanto al riesgo ocupacional, González & Navarro (1980) determinaron mediante RB y SAT-EDTA, una seropositividad del 16.3% de muestras obtenidas de trabajadores en camales en la localidad de Caldas – Colombia, evidenciándose que el grupo ocupacional, que más casos positivos presentó, fue el de las personas que lavan vísceras (52%). Esto, concuerda con los datos obtenidos en el presente estudio, ya que la ocupación con mayor prevalencia de casos positivos para las pruebas serológicas fueron los lavadores de víscera (50% del total de positivos). Las personas que se dedican a esta labor, trabajan contratados por los introductores de ganado y no directamente por la administración del camal, por lo cual no disponen de una adecuada capacitación, y desconoce las medidas de bioseguridad, para desempeñar su trabajo. El camal que presentó el mayor número de casos positivos, fue el ubicado en el Municipio del cantón Tulcán (9/16), constatándose que el 66.6 % (6/9) de las personas positivas del mencionado centro de faenamiento, se dedican al lavado de vísceras.

Si bien es cierto, el 38% de las personas positivas, expuso haber consumido anteriormente por lo menos una vez en su vida, productos lácteos no pasteurizados, este factor de riesgo (consumo de productos contaminados) descrito hace tiempo atrás, no puede ser correlacionado directamente con los casos positivos, como el factor de riesgo principal; pues es evidente que el contacto directo y frecuente con los animales infectados, sus excretas y secreciones, es el factor predisponente y determinante para la infección de los trabajadores de camales.

El 93,7% (15/16) de las personas que presentaron resultados positivos, manifestaron verbalmente padecer algún tipo de síntoma, siendo los más comunes los dolores musculares (68.75%) y articulares (68.7 %), sin embargo, muy pocas personas padecen cuadros febriles (18.75 %), lo cual puede estar relacionado, a que, por lo general, estos síntomas son confundidos con cuadros gripales.

Aunque, estadísticamente no existió diferencia significativa de los resultados positivos de acuerdo al género, se pudo evidenciar una mayor prevalencia de anticuerpos contra *Brucella spp.*, en mujeres 13.8% (8/58) que en hombres 7.7% (8/104), tomando en consideración la población total muestreada; esto puede deberse a que las mujeres por

lo general se dedican al lavado de vísceras, manejo de fetos o excreciones de todo tipo, siendo el grupo más expuesto a contraer la enfermedad; y dejando a los hombres ocupaciones de menos riesgo aparente ante la enfermedad, como por ejemplo: transportistas, introductores o personal administrativo.

El valor de Kappa entre las pruebas iELISA y RB, fue de 0.612, demostrando una concordancia “buena” entre estas dos pruebas, este hecho está relacionado a que las dos pruebas detectan Inmunoglobulina G (IgG) y a la alta sensibilidad (92.5% – 100.0%) y especificidad (90.6% – 100.0%) de la prueba iELISA; aunque cabe recalcar que RB detecta también pequeñas cantidades de IgM. El valor de Kappa entre RB y SAT-EDTA fue de 0.61, evidenciando una correlación “buena” entre estas dos pruebas, esto se debe a que la prueba SAT-EDTA detecta IgM, y la prueba RB detecta IgG, además al hecho que las dos pruebas tienen una moderada sensibilidad (SAT 29.1% – 100.0%; RB 21.0% - 98.3%) y especificidad (SAT 99.2% - 100.0%; RB 68.8% - 100.0%). El valor de Kappa calculado entre iELISA y SAT-EDTA fue de 0.697, demostrando una correlación “buena” entre estas dos pruebas, esto, está relacionado principalmente al hecho que la prueba iELISA detecta exclusivamente IgG, así como por la diferencia entre las sensibilidades y especificidades de las pruebas (Nielsen, 2002).

La investigación, permitió concluir que la brucelosis sigue siendo una de las principales zoonosis en el Ecuador, en especial en los grupos de alto riesgo (trabajadores de camales). El grupo laboral de mayor riesgo de contaminación, fue el que mantiene contacto directo con la sangre o excreciones de los animales, y dentro de estos, los lavadores de vísceras, así como el personal encargado del faenamiento del ganado. Adicionalmente, la principal causa de contaminación de los trabajadores, es la falta de capacitación y la utilización de material de bioseguridad y protección, la cual se complementa con el consumo de productos lácteos sin pasteurizar, al evidenciarse que el 38% de las personas positivas, declararon haber consumido por lo menos una vez, productos lácteos sin pasteurizar. En base a los resultados obtenidos, es necesario y conveniente, establecer un programa que informe sobre los riesgos que acarrea el contacto directo con animales infectados (sangre, carcasas, excretas), así como, se instruya al personal en riesgo sobre las medidas preventivas para no atrapar esta zoonosis. Se debe informar a las autoridades responsables del manejo administrativo de los camales, sobre las normas de bioseguridad mínimas que deben existir en un centro de faenamiento, y sobre la importancia de dotar al personal, del material de bioseguridad laboral (físicos y químicos) indispensables para salvaguardar la salud de las personas. Complementariamente, es necesario continuar con estudios que permitan aislar e identificar los biotipos de *Brucella spp.*, presentes en el Ecuador.

Agradecimientos

El presente trabajo se realizó dentro del marco del Proyecto de Cooperación entre el Instituto de Medicina Tropical de Amberes Bélgica - IMT, y el Centro Internacional de Zoonosis – CIZ, de la Universidad Central del Ecuador - UCE; y gracias al co-financiamiento del Proyecto de Desarrollo de la Producción de Cárnicos Sanos en el Norte del Ecuador – PROCANOR, y la colaboración de los camales de los cantones: Cayambe, Otavalo, Antonio Ante, Ibarra, Mira, Espejo, Montúfar, Julio Andrade y Tulcán.



Bibliografía

Aguilar E., 2005. Casos de brucelosis humana reportados en Ecuador. Departamento de Epidemiología. Reporte del MSP. EPI-2. Quito-Ecuador.

Alton G.G., Jones L.M., Angus R.D. & Verger J.M. 1988. Techniques for the brucellosis Laboratory 1st edn. Institut National de la Recherche Agronomique, Paris (France)

Álvarez F. & Pillacela C. 1985. Estudio de Prevalencia de Enfermedades Zoonóticas Diagnosticadas en la ciudad de Cuenca durante los años 1974-1983. Tesis de doctorado en Medicina Veterinaria y Zootecnia. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad de Cuenca. Cuenca-Ecuador

Bowden R., 1996. Género *Brucella*. En: Temas de Microbiología Veterinaria. Stan-chi N., Martino P., Gentilini E., Reinoso E. & Pennimpe E., Ediciones Sur. Primera edición, Buenos Aires-Argentina.

Broker B.J., & Halling S.M. 1994. Differentiation of *Brucella abortus* bv, 1, 2, and 4, *Brucella melitensis*, *Brucella ovis*, and *Brucella suis* bv 1 by PCR. Journal of Clinical Microbiology, **32**, 2660-2666.

Celi M. & Vizcaino L. 2004. Determinación de la seropresencia de anticuerpos contra *Brucella spp.* en trabajadores de explotaciones ganaderas del cantón Mejía. Tesis de Licenciatura en Laboratorio Clínico e Histotecnológico. Facultad de Ciencias Médicas. Universidad Central del Ecuador. Quito-Ecuador.

Díaz R., Leiva J., Rubio M., & Dorronsoro I. 2001. Diagnóstico de la brucelosis humana. En: Diagnóstico de brucelosis animal. Díaz E., Hernández L., Valero G. & Arellano B., INIFAP, México.

Delgado P. 1992. Diagnóstico de Brucelosis en Trabajadores de Centros de Procesamiento Cárnicos de Cuenca, Mediante Seroaglutinación rápida en placa. Tesis de doctorado en Medicina Veterinaria y Zootecnia. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad de Cuenca. Cuenca-Ecuador.

FAO & OMS. 1986. Comité miste FAO/OMS d'Experts de la brucellosis. Sixieme rapporte Organisation Mondiale de la Santé, Genève (Suisse).

Godfroid J. & Boulaert 1995. Prescriptions pour le diagnostique serologique de la brucellose. CERVA – Belgique.

Gonçalves D., Teles P., Reis C., Lopes F., Freire R., Navarro J., Alves L., Muller E. & Freitas J. 2006. Seroepidemiology and occupational and environmental variables for Leptospirosis, Brucellosis and Toxoplasmosis in Slaughterhouse workers in the Paraná State, Brazil, Rev. Inst. Med. Trop. S. Paulo. **48**; 135-140.

Gonzalez I. & Navarro M., 1980. Prevalencia de la brucelosis en el personal de los mataderos en el Departamento de Caldas. Servicio de salud de Caldas-Colombia. <http://telesalud.ucaldas.edu.co/rmc/articulos/v2e4a4.htm>

Guillén A., 2006. *Brucella melitensis* en el hombre: Clínica, tratamiento y bioseguridad. En: Temas de Zoonosis III. Cocchione R., Durlach R., Larghi O. & Martino P. Asociación Argentina de Zoonosis. Buenos Aires-Argentina.

Lennette, Balows, Hauster & Trvant. 1982. Manual de Microbiología Clínica. Editorial Panamericana. Tercera Edición. Buenos Aires-Argentina.

Macías F. 1977. Investigación de Brucelosis Humana a nivel de Centro de Salud y Hospital Regional de la ciudad de Portoviejo. Tesis de Doctorado en Medicina Veterinaria. Universidad Técnica de Manabí. Portoviejo-Ecuador.

MAG, 2007. Ministerio de Agricultura, Ganadería, Acuacultura y Pesca del Ecuador. Panorama de la Cadena Agroindustrial de la carne y subproductos. <http://www.sica.gov.ec/cadenas/carne/docs/panorama.htm>

Miño E. & Pico F. 2003. Estudio de la presencia de Brucelosis bovina, en explotaciones Ganaderas del cantón Mejía. Tesis de doctorado en Medicina Veterinaria, Universidad Central del Ecuador. Quito-Ecuador.

Morales O. & Cambariza D., 2004. Seroprevalencia de brucelosis en trabajadores de mataderos de municipios del Tolima (Colombia). Rev. Cienc. Salud / Bogotá. 2; 15-23.

Morilla A. & González D. 1998. Introducción al diagnóstico inmunológico de las enfermedades de los animales domésticos. Inifap. SAGAR, México.

Moriyón I., Díaz R. & López-Goñi I. 2001. Bacteriología del género *Brucella*. En: Manual de brucelosis. Rodríguez T., Orduña A., Ariza X., Morrión I., Díaz R., Blasco J., Almaraz A., Martínez F., Ruíz C. & Abad R. Junta de Castilla y León. España.

Nielsen K., 2002. Diagnosis of brucellosis by serology. Vet. Microbiol, 90; 447-459.

Pelczar M., 1982. Microbiología. McGraw Hill. Quinta edición. México.

Raux J. 1979. Epidemiologie et prévention de la brucellose. Bulletin de l'Organisation Mondiale de la Santé 57, 179-194.

Ron J., 2003. Validación de Técnicas diagnósticas para la detección de brucelosis y estudio epidemiológico en una región Andina del Ecuador. Tesis de Master en Ciencias en Salud Animal. Instituto de Medicina Tropical Príncipe Leopoldo, Departamento de Sanidad Animal Tropical. Amberes – Bélgica.

Segura J., 2005. Brucelosis. <http://www.fisterra.com/guias2/brucelosis.asp>

Torres J., López A., García R. & Gutiérrez J. 2004. Seroprevalencia de anticuerpos anti – *Brucella* en disponentes de sangre con fines terapéuticos en tres bancos de sangre del Instituto Mexicano del Seguro Social. Gac. Méd. Mex. 140: 145-148.

Torres H., 1999. Prevención y control de Brucelosis Bovina. Reporte de Perfil de Proyecto, Servicio Ecuatoriano de Sanidad Agropecuaria. Ministerio de Agricultura y Ganadería. Quito-Ecuador. 26 p.