

SEROPREVALENCIA DE *Brucella* sp. EN ÉQUIDOS DE CÓRDOBA, COLOMBIA

Brucella sp. seroprevalence in equids of Córdoba, Colombia

Vaneza Tique^{*1}, Marco González, Salim Mattar, Raúl Velásquez, Angélica Triana
y Oscar Vergara

**Instituto de Investigaciones Biológicas del Trópico, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia,
Universidad de Córdoba, Montería, Colombia*

Correo-E:vtiquesalleg@yahoo.com

Recibido: 00/0/00 - Aprobado: 00/00/00

RESUMEN

La brucelosis es considerada una de las zoonosis más importantes en el mundo por sus implicaciones en la salud pública y sus repercusiones en la producción pecuaria. En la especie equina, la presentación de esta enfermedad es importante, debido a que estos animales son huéspedes potenciales y contribuyen con la introducción de la enfermedad en zonas no afectadas, así como el mantenimiento en donde ocurre de forma endémica. En el departamento de Córdoba no se registran estudios recientes que establezcan la prevalencia y características epidemiológicas de la enfermedad en équidos. El objetivo del presente estudio fue estimar la prevalencia de *Brucella* sp. en équidos del departamento de Córdoba. Se realizó un estudio descriptivo de corte transversal que incluyó 506 équidos procedentes de 14 municipios del departamento. Fueron estudiados tres especies: equinos (n=257), asnales (n=130) y mulares (n=119), procedentes de 46 predios. Las técnicas empleadas para el diagnóstico serológico fueron aglutinación rápida en placa Rosa de Bengala (n=506) y la confirmatoria fue con el ELISA competitiva (n=23). Se realizó la PCR convencional amplificando la región IS711 de *Brucella* sp. a partir de muestras de exudado (n=2) y sangre con EDTA (n=4). La seroprevalencia de brucelosis en équidos fue del 4,5 % (23/506) por Rosa de Bengala (RB), con una distribución por

ABSTRACT

Brucellosis is considered one of the most important zoonotic diseases in the world because of its implications for public health and its impact on livestock production. In the equine species, the presentation of this disease is important, because these animals are potential hosts and contribute to the introduction of the disease in unaffected areas, as well as to the maintenance of this disease in endemic zones. In the Department of Córdoba, Colombia, there have been no recent studies that establish the prevalence and epidemiological characteristics of the disease in equids. The purpose of the present study was to estimate the prevalence of *Brucella* sp. in equids of the department of Córdoba. A cross-sectional descriptive study was carried out involving 506 equids from 14 municipalities of the department. Three species from 46 farms were studied: horses (n=257), asses (n=130) and mules (n=119). The techniques used for the serological diagnosis were: rapid agglutination, which was performed in 506 equids, using the Bengal Rose (RB) method; and the confirmatory method was performed on 23 equids, using the competitive ELISA technique (C-ELISA). Conventional PCR was performed by amplifying the IS711 region of *Brucella* sp. from exudate samples (n=2) and EDTA blood (n=4). The results of the study showed that the seroprevalence of brucellosis in equids was 4.5% (23/506) using

¹ A quien debe dirigirse la correspondencia (To whom correspondence should be addressed)

especies de: equinos 20, asnos 2 y mulas 1. Con el ELISA competitiva (ELISA-C) la seroprevalencia fue del 4,3% (1/23), mientras que por PCR no se detectó ADN bacteriano en las seis muestras analizadas. La positividad en predios fue del 28,2% (13/46). Las cifras de seroprevalencia obtenidas en el presente estudio, demuestran la importancia de la vigilancia en las diferentes especies susceptibles a la brucelosis.

(Palabras clave: Brucelosis; équidos; PCR; Rosa de Bengala)

INTRODUCCIÓN

La brucelosis es una enfermedad zoonótica, altamente contagiosa, que afecta una gran variedad de especies animales entre las que se encuentran los bovinos, suínos, equinos, ovinos, caprinos y caninos, principalmente [1].

En algunos países la incidencia de brucelosis está disminuyendo como resultado de las medidas de control en bovinos, caprinos y ovinos. La enfermedad persiste en la Cuenca Mediterránea, Oriente Medio, Golfo de México y algunos países de América Latina. La prevalencia de la brucelosis bovina en América Latina varía considerablemente de un país a otro, siendo las tasas de 0,5 a 10% [2]. Por el contrario, poco énfasis se ha dado a la epidemiología de la brucelosis en los equinos. Aunque se han documentado reportes de casos clínicos en equinos, quizás se ignora la importancia que pueda tener esta especie como hospedador de *Brucella*, a pesar de haberse reconocido cierta importancia como transmisor para los bovinos y el hombre [3].

En América Latina, Lucero *et al.* [2] en 1377 cepas de *Brucella* aisladas de humanos y animales durante el período 1968-2006 reportaron aislamiento de *B. abortus* y *B. suis* en la especie equina; Ocholi *et al.* [4,5] reportaron el aislamiento de *B. abortus* biotipo 1 de un potro y *B. abortus* del fluido de un caballo con bursitis del carpiano.

La seroprevalencia de la brucelosis equina mundial varía de un país a otro. En Irán (noreste) 2,5%, Nigeria 14,7%, norte de Nigeria 4,8% y 14,7%, Jordania (1% en equinos y 8,5% en asnos),

the RB methodology, with the following distribution by species: 20 horses, 2 asses and 1 mule. With the C-ELISA technique, the seroprevalence was 4.3% (1/23), whereas by PCR no bacterial DNA was detected in the six samples analyzed. The positivity in farms was 28.2% (13/46). In conclusion, the seroprevalence figures obtained in the present study demonstrate the importance of epidemiological surveillance in the different species susceptible to brucellosis.

(Key words: Brucellosis; Equid; Rose Bengal; PCR)

Dafur (oeste de Sudán) 4,9% en equinos y 3,6% en asnos; en Brazil la seroprevalencia observada en equinos, asnos y mulas posee rangos desde 0,0% a 73,7%, desde 0,0% al 7,4% y desde 0,0% al 0,95%, respectivamente [1,6-10].

Colombia cuenta con un programa de prevención, control y erradicación de la brucelosis en las especies bovina, bufalina, ovina y porcina [11]. Sin embargo, la ausencia de medidas de control de la enfermedad en equinos genera preocupación ya que se desconoce cuáles son los patrones epidemiológico para esta especie.

El Instituto Colombiano Agropecuario (ICA) en el último informe anual de vigilancia reporta el análisis de 576 sueros de la especie equina con 50 animales positivos [12]. En algunas regiones del país se han realizado estudios de seroprevalencia en especies susceptibles, con cifras que se presentan a continuación: en Córdoba: 3,71% en bovinos (n=29,969) y 12% en búfalos (n=200); César y Sucre: 1,2% en caprina y ovina (n=329) para *B. abortus* y una ocurrencia del 0% para *Brucella melitensis*; Bolívar (María la Baja): 11% en bovinos y en 1,36% en Magdalena (Pijiño del Carmen) [13-16]. Estas cifras demuestran la importancia de los estudios seroepidemiológicos en las diferentes especies animales susceptibles que permiten conocer las fuentes potenciales de infección para otros animales, o incluso para el hombre, y el riesgo de introducción o mantenimiento de la enfermedad en áreas libres o rebaños.

La población equina en Colombia es de 1.568.083 animales y en el departamento de

Córdoba es de 148.164 equinos, censo que representa una población importante en las labores agropecuarias para las fincas [17]. La ausencia de estudios recientes de brucelosis en la especie equina en Córdoba motivó la realización del presente estudio que planteó como objetivo estimar la prevalencia de *Brucella* sp. en équidos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Tipo y Área de Estudio

Se realizó un estudio descriptivo de corte transversal que se llevó a cabo en el departamento de Córdoba, localizado al noreste de Colombia, al norte de la Cordillera Occidental entre las coordenadas geográficas 09° 26' 16''- 07° 22' 05'' N y 74° 47' 43''- 76° 30' 01'' O. El clima es cálido tropical, donde la precipitación promedio anual que varía desde los 1300 mm en las zonas costanera hasta 3000-4000 mm aproximadamente en la zona alta de los ríos Sinú y San Jorge [18].

Población Universo

La población de équidos del departamento de Córdoba es de 148.164. Esta población se distribuye de la siguiente manera: equinos 94.468 (hembras: 31.178 y machos: 63.290), mulas 7.960 (hembras: 3.073 y machos: 4.887) y asnos 15.069 (hembras: 3.735 y machos: 11.334) [19].

Cálculo del Tamaño de la Muestra

El cálculo de la muestra fue realizado utilizando el programa InfoStat y se consideró una población de équidos del departamento de Córdoba de 148.164 animales. La muestra fue de 250 équidos, con la siguiente distribución por especies: equinos (n=84), asnales (n=83) y mulares (n=83), con una confiabilidad del 95%, un margen de error de 0,03 y una prevalencia del 0,238% [17, 20]. La muestra fue ampliada a 506 animales.

Población y Muestra del Estudio

La población de estudio estuvo conformada por 312 muestras de équidos que incluyó: 126 equinos, 97 mulas y 89 asnos, muestreados durante el período comprendido entre agosto de 2012 y julio de 2013. Además, fueron incluidas 194 muestras de suero de équidos conformadas por: 131 equinos, 41 asnales y 22 mulares, muestras que fueron recolectadas entre

el 2010 y 2011 y que hacían parte de la seroteca del Instituto de Investigaciones Biológicas del Trópico de la Universidad de Córdoba. Los criterios de inclusión tenidos en cuenta para el muestreo y la selección de las muestras pertenecientes a la seroteca fueron: équidos desde un mes de edad en adelante, bien sea que estuvieron en confinamiento o en pastoreo y/o animales que presentaron lesión compatible con bursitis en la región atlantal (bursitis supra-atlantal) o en la región de la cruz (bursitis supraespinosa).

Prueba Serológica

Mediante el uso de tubos Vacutainer® sin anticoagulante, se extrajeron 10 mL de sangre de la vena yugular de cada animal. Se realizaron alícuotas de 1 mL de suero y se conservaron en tubos *Eppendorf* a -20°C hasta su procesamiento. Todas las muestras fueron analizadas por la técnica Rosa de Bengala (código GR-MA-LNDV-R002) y a los animales seropositivos se les realizó ELISA competitiva (código GR-MA-LNDV-R007) en el laboratorio de la red de diagnóstico del ICA como prueba confirmatoria. Estas pruebas en Colombia han sido validadas y autorizadas para ser realizadas en todas las especies susceptibles a la enfermedad, dentro de los propósitos definidos en la resolución, por la cual se establecen las medidas sanitarias para la prevención, el control y la erradicación de la brucelosis en las especies animales de interés pecuario en el país.

Técnica Rosa de Bengala

La prueba Rosa de Bengala se fundamenta en la aglutinación en placa en un medio acidificado tamponado (pH 3,6) que permite eliminar las posibles aglutinaciones no específicas. El uso del colorante facilita la demostración de la presencia de aglutinación. El reactivo Rosa de Bengala es un antígeno coloreado, acidificado y tamponado que permite el diagnóstico serológico de la brucelosis (*Brucella abortus* y *Brucella suis*) por la técnica de aglutinación rápida en placa. Este antígeno es una suspensión concentrada de *B. abortus* (cepa S99 *Weybridge*), inactivada por el calor y fenol al 0,5%, diluida en tampón ácido (pH 3,6) y coloreada con Rosa de Bengala. La concentración celular es de 7,5% a 8,5%, producido por IDEXX Montpellier S.A.S. Montpellier, Francia. Está calibrado para dar reacción positiva a una dilución de 1/45 y reacción negativa a una dilución de 1/55 del

suelo estándar internacional de la oficina internacional de epizootias [21].

Prueba ELISA Competitiva

El kit de la marca comercial SVANOVIR[®], un ensayo inmunoenzimático competitivo para la detección de anticuerpos séricos contra *Brucella abortus* y *Brucella mellitensis*. Es un ensayo multiespecies que permite la detección de anticuerpos específicos a *Brucella* tanto en las especies domésticas como en de vida salvaje.

El procedimiento del kit está basado en un ensayo inmunoenzimático competitivo en fase sólida, en el que los sueros problema son expuestos al lipopolisacárido liso (S-LPS) de la *Brucella abortus*, que se encuentra recubriendo las microplacas de el ELISA. Esta exposición debe ocurrir de manera simultánea con un anticuerpo monoclonal de ratón (mAb), denominado competidor, el cual es altamente específico por la cadena O del S-LPS presente en una conformación distinta en la pared de las bacterias patógenas. Un suero proveniente de un animal infectado tendrá anticuerpos que compiten con el monoclonal por el antígeno presente en la microplaca, inhibiendo la unión del competidor al antígeno. En un animal negativo no existirá la competencia y el anticuerpo competidor no estará inhibido para unirse a la cadena O del S-LPS.

Después de un periodo de incubación y varios ciclos de lavado, se adiciona un anticuerpo anti-IgG de ratón conjugado con peroxidasa de rábano picante, el cual reconocerá al anticuerpo competidor unido al S-LPS. Los materiales que no se unen durante las reacciones son removidos por medio de ciclos de lavado antes de la adición de la solución sustrato, el desarrollo de color es debido a la conversión del sustrato por el conjugado. La densidad óptica es medida a 450 nm. En ausencia de anticuerpos, debido a infección por *Brucella* en el suero problema, el anticuerpo monoclonal se unirá a la cadena O (epítipo antigénico) del s-LPS. Esta reacción se evidencia por el desarrollo de color al final del procedimiento. Si el suero problema contiene anticuerpos específicos a *Brucella*, ellos compiten, por los sitios epitópicos con el anticuerpo monoclonal e inhiben la unión de éste al polisacárido-O del S-LPS y por lo tanto no se desarrolla color [22]. El procedimiento descrito se realizó en el ICA, siguiendo el protocolo del kit de la marca comercial SVANOVIR[®].

Técnica Molecular

La extracción del ADN se realizó a partir de

muestras de exudado de las lesiones en la región atlantal, bolsa supraespinosa y sangre con EDTA de animales con bursitis, utilizando el kit de extracción por columna (QIAgen, EUA), de acuerdo con las instrucciones del fabricante. La PCR convencional fue desarrollada utilizando un par de oligonucleótidos is711a (GACGAACGGAATTTTTTCCAATCCC) y is711b (TGCCGATCACTTAAGGGCCTTCAT), para la amplificación la región IS711 de *B. abortus* previamente descritos por Leary *et al.* [23], con algunas modificaciones a las condiciones de reacción final, en un volumen de 50 μ L. Se agregó *buffer* (20 mM tris-HCL (pH 8,4), 50 mM KCL), 50 mM MgCl₂, 10mM dNTPs, oligonucleótido (IS711a) *forward* y oligonucleótido *reverse* (IS711b), agua ultra pura, 5U/ μ L Taq DNA polimerasa recombinante (*Invitrogen*) y 5 μ L de ADN de la muestra. Las condiciones del termociclador (*THERM-100 Axigen/Maxigene*) fueron las siguientes: desnaturalización 95°C x 2 min, 35 ciclos de 95°C x 1 min, 55°C x 1 min, 72°C x 1 min y la extensión final de 72°C x 5 min. Los productos amplificados se separaron mediante electroforesis en gel de agarosa 2% en *buffer* TBE (Tris ácido bórico y EDTA) a 90 voltios durante 30 min. Al finalizar la corrida, se tiñó el gel con bromuro de etidio y en cada montaje se empleó un control positivo: ADN de *Brucella abortus* cepa 19 y se consideró un resultado positivo cuando la muestra presentó una banda del tamaño esperado (498 pb).

Aspectos Éticos

Para la recolección, manejo y conservación de muestras, se tuvo en cuenta las normas científicas, técnicas y administrativas contenidas en la Ley 84 de 1989 (Estatuto Nacional de Protección de los Animales), relacionada con la investigación en salud animal [24]. Igualmente, se mantuvo la confidencialidad de la información de predios muestreados, propietarios y animales positivos. Este proyecto fue aprobado previamente por el Comité de Ética del Instituto de Investigaciones Biológicas del Trópico de la Universidad de Córdoba mediante la resolución 02-2012.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los datos recolectados en la ficha epidemiológica fueron registrados en una base de datos de Excel para su posterior análisis. La ficha incluyó los siguientes datos: número consecutivo en la ficha, nombre del

animal, nombre del propietario, especie, sexo, edad (meses), nombre del predio, nombre de la vereda, municipio, departamento, vacunas, síntomas y estado reproductivo. El análisis de los datos fue realizado mediante el uso del programa estadístico *Statistical Analysis System* (SAS®, versión 9.1). Se realizó estadística descriptiva, pruebas de Chi Cuadrado, test exacto de Fisher e intervalos de confianza para las variables. Se consideró significancia estadística para un valor de $p \leq 0,05$ [25].

RESULTADOS

Datos Epidemiológicos de la Población de Équidos Estudiada

Un total de 506 équidos fue incluido en el estudio. Esta población estuvo conformada por equinos ($n=257$), mulares ($n=119$), y asnales ($n=130$). Se establecieron 7 grupos etáreos con la siguiente distribución: 1-12 meses ($n=46$), 13-24 meses ($n=34$), 25-36 meses ($n=50$), 37-48 meses ($n=68$), 49-60 meses ($n=57$), 61-70 meses ($n=58$), y mayores de 72 meses ($n=193$), de estos 272 (53,7%) animales fueron hembras y 234 (46,2%) fueron machos.

Se incluyeron muestras de 14 municipios de Córdoba distribuidos de la siguiente forma: Montería ($n=127$), San Pelayo ($n=113$), Los Córdoba ($n=58$), Canalete ($n=57$), Ciénaga de Oro ($n=42$), San Antero ($n=26$), Montelíbano ($n=21$), San Carlos ($n=20$), Lorica ($n=12$), Cereté ($n=10$), Sahagún ($n=8$), Puerto Escondido ($n=8$), Cotorra ($n=2$) y Tierralta ($n=2$). Las muestras fueron recolectadas en 46 predios de Córdoba.

Seroprevalencia en los Équidos

La seropositividad fue del 4,5% (23/506), estableciéndose un intervalo de confianza del 2,7 al 6,3% en la población de équidos de Córdoba. Los 23 sueros positivos fueron confirmados por el ELISA competitivo y solo un animal fue positivo. De estos, 20 (7,78%) fueron equinos, 2 (1,53%) asnos y 1 (0,84%) mular. Sometida la variable especie a análisis estadísticos se encontró significancia ($p=0,0014$), lo cual demuestra que existe relación entre la positividad y las especies estudiadas. Con respecto a la variable sexo, 13 (4,77%) fueron hembras y 10 (4,27%) machos, no encontrándose significancia estadística ($p=0,31$) (Cuadro 1). Con relación a la edad, se determinó que los animales positivos fueron mayores

de 36 meses (19=5,0%) y menores de 36 meses (4=3,07%). No se encontró significancia ($p=0,91$), lo cual sugiere que no hay relación entre la positividad hallada y la edad.

Cuadro 1. Seroprevalencia de Brucelosis equina

Variables	Positivo	Frecuencia (%)	Total	P valor
Especies				($p=0,0014$)
Equinos	20	7,78	257	
Asnos	2	1,53	130	
Mulas	1	0,84	119	
Sexo				($p=0,31$)
Machos	10	4,27	234	
Hembras	13	4,77	272	
Edad				($p=0,91$)
Menores a 36 meses	4	3,07	130	
Mayores a 36 meses	19	5,05	376	

Seroprevalencia en Predios y Municipios

La positividad en predios fue de 28,26% (13/46). En los 14 municipios de Córdoba el mayor número de animales positivos se identificó en los municipios de Montería ($n=8$), Puerto Escondido ($n=4$), Canalete ($n=3$), Cereté ($n=2$), Montelíbano ($n=2$), San Pelayo ($n=2$), Ciénaga de Oro ($n=1$) y Tierralta ($n=1$) (Figura 1).

PCR Convencional

La amplificación del gen IS711 de *B. abortus*, fue realizado en 6 muestras de sangre con EDTA ($n=4$) y de exudado de animales con bursitis ($n=2$), estos últimos fueron negativos a la prueba Rosa de Bengala. Las muestras fueron interpretadas como negativas por no presentar amplificación de los productos esperados.

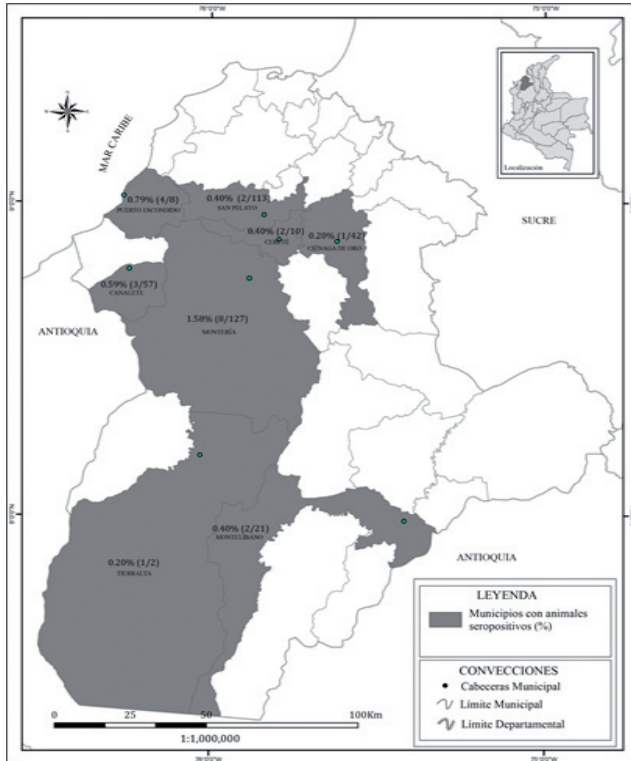
Examen Clínico de Équidos Estudiados

Se utilizó la ficha clínico-epidemiológica y el examen clínico para describir la presencia de la lesión unilateral o bilateral compatible con brucelosis; el 98,22% (497/506) de la población fue asintomática y el 1,78% (9/506) de los animales presentaron lesiones compatibles con brucelosis.

Datos Epidemiológicos de Équidos Seropositivos a Brucelosis

En los 23 animales positivos a Rosa de Bengala,

Figura 1. Distribución de los casos de brucelosis equina en el departamento de Córdoba



se destacó la especie equina ($n=20$), siendo menor el número de asnos ($n=2$) y mulas ($n=1$). Los ELISA competitivos demostraron la confirmación de un caso y la PCR convencional la cual fue realizada en un total de seis muestras de los equinos distribuidas de la siguiente manera: 4 (sangre con EDTA) de animales seropositivos y 2 (exudados) de animales negativos por RB, no detectó el ADN bacteriano en ninguna de las muestras analizadas.

DISCUSIÓN

La seropositividad encontrada en el presente estudio fue de 4,5% (23/506) utilizando la prueba Rosa de Bengala y 4,3% (1/23) por el ELISA competitivo, es inferior a la reportada en países como Turquía (9,5%) mediante RB y SAT, Pakistán 20,7% RB y 17,7% SAT e Irán 9,9% RB, 8% SAT y 7% 2-ME [26-28]. La brucelosis es endémica en estos países, lo cual podría explicar las cifras altas de prevalencia comparadas con las del presente estudio.

Acosta *et al.* [20] en México reportaron una seroprevalencia del 0,2% ($n=420$) en équidos por Rosa de Bengala en concentraciones celulares del antígeno del 3 y 8% y prueba de Rivanol como

prueba confirmatoria; cifras bajas comparadas con las del presente estudio que además fue presentada en animales sin signos clínicos de la enfermedad.

Arruda *et al.* [29] en Brasil, empleando tres pruebas para la detección de anticuerpos de *Brucella abortus* en equinos notificaron una positividad de 3,7% mediante antígeno acidificado tamponado (AAT), 0,7% 2-ME y 0,6% por Fijación al complemento, cifras bajas comparadas con las del presente estudio, lo que se podría atribuir a las medidas de control, prevención y erradicación de la brucelosis implementados en ese país.

Estudios realizados en el departamento de Córdoba y en algunas regiones de Colombia en especies susceptibles reportan seroprevalencia del 3,71% en bovinos, del 12% en búfalos de agua (*Bubalus bubalis*), del 1,2% en caprinos y ovinos; en estos últimos con una ocurrencia del 0% para *Brucella melitensis*, Bolívar (María la Baja): 11% en bovinos y en 1,36% Magdalena (Pijiño del Carmen) [13-16]. Los resultados del presente estudio, del 4,5% por RB y 4,3% por ELISA-C, permiten conocer el comportamiento de la brucelosis en équidos de Córdoba.

En el presente estudio el 2,57% de los animales fueron hembras y el 1,98% machos. Sin embargo, la variable sexo no fue estadísticamente significativa ($p=0,31$). Estos resultados concuerdan con lo reportado por Waddod *et al.* [27], Badiei *et al.* [28] y Seles *et al.* [30] quienes reportaron que la seroprevalencia de brucelosis no se asoció con el sexo. Sin embargo, Solmaz *et al.* [31] informaron una mayor prevalencia en hembras que en machos. Este hecho se le atribuyó a que las hembras permanecen en estrecha asociación y con las descargas de loquios pueden infectar otros animales sanos. También, se considera que las hembras experimentan mayor estrés durante la preñez y la lactancia lo que las hace más susceptibles a la infección.

En el presente estudio los animales seropositivos, en un 5,0%, fueron mayores de 36 meses, mientras que el 3,07% fueron menores de 36 meses. Estos resultados son similares a los reportados por Badiei *et al.* [28], Seles *et al.* [30] y Ardo y Abubakar [1], quienes encontraron que los animales seropositivos pertenecen al grupo etario que oscila entre los 5 y 10 años y 6 a 8 años. La variable edad no fue estadísticamente significativa ($p=0,91$) en el presente estudio, lo que difiere con Waddod *et al.*

[27] quienes encontraron significancia ($p < 0,01$) y atribuyeron la baja prevalencia en los animales jóvenes a que éstos pueden albergar el organismo sin expresar ningún anticuerpo detectable hasta su primer parto o aborto. Además, después de la entrada, el microorganismo se localiza en los ganglios linfáticos regionales y permanece allí sin provocar la producción de anticuerpos hasta la preñez cuando comienza la secreción de eritritol que estimula y apoya el crecimiento de *Brucella* [31].

En el presente estudio el mayor porcentaje de animales seropositivos correspondió a equinos con 7,78%, seguido de asnos (1,53%) y mulas (0,84%) y se demostró la relación entre la positividad y la variable especie ($p = 0,0014$). Esto es diferente a lo reportado por Waddod *et al.* [27] quienes no asociaron la seroprevalencia de brucelosis a la especie. Además, Seles *et al.* [30] reportaron a los equinos como seropositivos principalmente.

Los equinos positivos a brucelosis presentaron una amplia distribución en el departamento de Córdoba, el mayor número de ellos, se registró en el municipio de Montería 1,58%, Puerto Escondido 0,79%, Canalete 0,59%, Cereté y Montelíbano 0,40%, Ciénega de Oro y Tierralta 0,20%. Estos resultados son similares a los reportados por Tique *et al.* [13], quienes encontraron una incidencia moderada de brucelosis bovina en dichos municipios, excepto en Montelíbano donde no se presentaron casos. La presencia de equinos seropositivos en los municipios con incidencia moderada de brucelosis bovina sugiere que estos animales estaban en contacto con el ganado, principal hospedador de este agente y aunque el mecanismo de transmisión de la brucelosis a los equinos no es claro, se considera que es favorecido por la convivencia entre estas especies [32, 33].

En el presente estudio, el 98,22% de la población fue asintomática, de los 23 animales seropositivos el 0,99% ($n = 3$) presentó lesiones compatibles con brucelosis. La PCR no permitió detectar en ninguno de los casos ADN de *Brucella abortus*, similar a lo reportado en Irán por Badiei *et al.* [28], quienes en 312 equinos detectaron un animal positivo por PCR en muestras de exudado de tres caballos con cruz fistulosa. *Brucella* puede desempeñar un papel en la patogénesis de la cruz de la fistula pero en el momento que la bursitis crónica se desarrolla el ADN de *Brucella* no puede ser detectada mediante un ensayo de PCR. Además, los negativos por PCR pueden explicarse por la presencia

de inhibidores de la PCR que reducen la sensibilidad de esta prueba [23]. Estudio realizado por Mosquera *et al.* [34]. Colombia, se ha demostrado en forma preliminar que la PCR es una prueba diagnóstica de brucelosis útil, ya que fue posible que a partir de muestras de sangre y leche de vacunos realizar la amplificación de un fragmento de ADN de *Brucella abortus*.

Por otra parte, Acosta *et al.* [20] concluyen que los equinos no son reservorios importantes en perpetuar la brucelosis en el área estudiada, lo cual difiere con el presente estudio y otros que confirman la importancia y el papel con potencial de los equinos en la transmisión de la enfermedad a otras especies, incluso al hombre, así como el riesgo de introducir o de mantener la enfermedad en las zonas libre [20]. Además que las pérdidas económicas derivadas de la enfermedad en equinos, la gravedad de las lesiones, por lo general con lenta evolución, que incapacitan a los animales infectados para trabajar y los costos de cualquier tratamiento u hospitalización. [9].

En equinos se han reportado aislamientos de cepas de *B. abortus* y *B. suis*, especies relacionadas principalmente con bovinos y cerdos [2, 4, 5], aunque en este estudio no se realizó aislamiento, las pruebas serológicas demuestran la presencia de anticuerpos en la especie equina por contacto con cepas de *Brucella* que circulan en Córdoba o anticuerpos inespecíficos detectados por la prueba de Rosa de Bengala.

La prevalencia de brucelosis equina en el departamento de Córdoba fue de 4,5% (23/506) por Rosa de Bengala y del 4,3% (1/23) por el ELISA competitivo y la implementación de estas técnicas incluyendo la PCR convencional para el diagnóstico de brucelosis en la especie equina, permitió por primera vez en esta región conocer las cifras de seroprevalencia y algunos aspectos epidemiológicos de la brucelosis equina que son requeridos para la implementación de medidas de control y prevención de la enfermedad en las especies susceptibles.

DECLARACIÓN DE CONFLICTO DE INTERÉS

Manifestamos que no existen relaciones económicas o de otra índole que podría conducir a un conflicto de interés entre las partes.

APORTE DE LOS AUTORES AL TRABAJO

OV: Realización del análisis estadístico y revisión del manuscrito. RV y AT: Toma de muestras en campo

y tabulación de la información. SM: Elaboración y revisión y del manuscrito. MG: Toma de muestras en campo. Elaboración y revisión del manuscrito. VT: Procesamiento de pruebas de laboratorio. Elaboración y revisión del manuscrito.

REFERENCIAS

1. Ardo M, Abubakar D. Seroprevalence of horse (*Equus caballus*) brucellosis on the Mambilla plateau of Taraba State, Nigeria. *J. Equine Sci.* 2016; 27(1):1-6.
2. Lucero N, Anaya S, Escobar G, Jacob N. *Brucella* isolated in humans and animals in Latin America from 1968 to 2006. *Epidemiol. Infect.* 2008; 136(4): 496-503.
3. Ribeiro M, Motta R, Almeida C. Brucelose Equina: Aspectos da doença no Brasil. *Rev Bras Reprod Anim.* 2008; 3 2):83-92.
4. Ocholi R.A, Kwaga J.K.P, Ajogi I, Bale J.O.O. Phenotypic characterization of *Brucella* strains isolated from livestock in Nigeria. *Vet Microbiol.* 2004; 103:47-53.
5. Ocholi RA, Bertu WJ, Kwaga JKP, Ajogi I, Bale JOO, Okpara J. Carpal bursitis associated with *Brucella abortus* in a horse in Nigeria. *Vet Rec.* 2004; 155: 566-567.
6. Tahamtan Y, Navari MM, Mohammadi G, Jula GM. Prevalence of brucellosis in horse North-East of Iran. *J Equine Vet Sci.* 2010; 7 (30):376-378.
7. Ehizibolo O, Gusi M, Ehizibolo O, Mbuk U, Ocholi A. Serological prevalence of brucellosis in horse stables in two northern states of Nigeria. *Afr J Biomed Res* 2011; 2(4):17-19.
8. Abo-Shedada MN. Seroprevalence of *Brucella* species in equids in Jordan. *Vet Rec.* 2009; 165 (9):267-268.
9. Musa, M. Serological Study on Equine Brucellosis in Darfur, Western Sudan. *The Sudan J Vet Res.* 2004; 19:7-11.
10. Guedes D, Seles E, Vito Salvador Picão Goncalves, Jordana Almeida Santana, Valéria Maria de Andrade Almeida, Rafael Romero Nicolino, *et al.* Brucellosis in working equines of cattle farms from Minas Gerais State, Brazil. *Preventive Veterinary Medicine.* 2015;121: 380-385.
11. Instituto Colombiano Agropecuario. Resolución 001332. Por medio de la cual se autorizan las medidas sanitarias para la prevención, el control y la erradicación de la brucellosis en las especies bovina y bufalina en Colombia, 2013.
12. Araujo A, Alvarez A, Chaparro C, Santander A, Barón J, Botero A. Subgerencia de protección animal, Dirección Técnica de vigilancia epidemiológica. Colombia Sanidad Animal 2013, Instituto Colombiano Agropecuario, 2015:26-28. [acceso 5 septiembre de 2016]. Disponible en: <http://www.ica.gov.co/getattachment/0b099ac3-d670-4c11-be1b-02e50db63047/2013.aspx>.
13. Tique V, González M, Mattar S. Seroprevalencia de *Brucella abortus* en bovinos del departamento de Córdoba. *Rev UDCA.* 2009; 12 (2):51-59.
14. Calderón A, Tique V, Ensuncho CF, Rodríguez V. Seroprevalencia de *Brucella abortus* en búfalos de agua (*Bubalus bubalis*) en el municipio de Lorica, Córdoba. *Rev UDCA.* 2010; 13 (2):125-132.
15. Tique V, Daza E, Álvarez J, Mattar S. Seroprevalencia de *Brucella abortus* y ocurrencia de *Brucella melitensis* en caprinos y en ovinos de Cesar y Sucre. *Rev UDCA.* 2010; 13(2):133-139.
16. Calderón-Rangel A, Angulo-Maza L, Tique-Salleg V, Rodríguez-Rodríguez V, Ensuncho-Hoyos C. Seroprevalencia de brucelosis bovina en dos localidades del Caribe colombiano. *Orinoquia.* 2015; 19 (2):203-209.
17. Instituto Colombiano Agropecuario (ICA). Censo Pecuario por Departamento Colombia: Instituto Colombiano Agropecuario, 2013. [acceso 2 agosto de 2015]. Disponible en: <http://www.ica.gov.co/Areas/Pecuaria/Servicios/Epidemiologia-Veterinaria/Censos-2013.aspx>.
18. Ballesteros J, Fernández C, Dueñas R. Introducción a la diversidad faunística del departamento de Córdoba. Informe técnico. Montería-Colombia: Universidad de Córdoba, Facultad de Ciencias Básicas e Ingeniería; 2006.
19. Departamento Administrativo Nacional de Estadística (DANE). Resultados Encuesta Nacional Agropecuaria, 2011. [acceso 3 julio de 2015]. Disponible en: https://www.dane.gov.co/files/investigaciones/agropecuario/ena/doc_anexos_ena_2011.pdf.
20. Acosta R, González I, Reyes, Flores G. Prevalence of *Brucella abortus* antibodies in equines of a tropical region of Mexico. *Can J Vet Res.* 2006; 70(4):302-304.
21. Walteros D, Instituto Colombiano Agropecuario. Detección de anticuerpos contra *Brucella abortus* en suero por aglutinación con rosa de bengala (código GR-MA-LNDV-R-002) Método analítico y/o de ensayo -LNDV brucelosis. [acceso 4 septiembre de 2016]. Disponible en: <https://portal.ica.gov.co/DocManagerSwift/User/Listing.aspx?SearchIn=SearchAll&ElementTypeId=65&WorkflowId=1#ContentMark>.
22. Rueda O, Instituto Colombiano Agropecuario. ELISA competitiva para la detección de anticuerpos anti *Brucella abortus* em suero de las especies susceptibles

- a la enfermedad utilizando el kit de la marca comercial SVANOVIR (código GR-MALNDV-R007) Método analítico y/o de ensayo –LNDV brucelosis. [acceso 4 septiembre de 2016]. Disponible en: <https://portal.ica.gov.co/DocManagerSwift/User/Listing.aspx?SearchIn=SearchAll&ElementTypeId=65&WorkFlowId=1#ContentMark>.
23. Leary S, Sheahan M, Sweeney T. *Brucella abortus* detection by PCR assay in blood, milk and lymph tissue of serologically positives cows. *Res vet sci.* 2006; 81 (2): 170-171.
 24. República de Colombia, Congreso Nacional. Ley 84 del 27 de diciembre de 1989. Colombia, 1989. 1-9.
 25. Statistical Analysis System Institute (SAS) 2006 SAS/STAT User's guide (Release 9.1.3), Cary, NC, USA.
 26. Goz Y, Babur C, Aydın A, Kılıç S. Seroprevalence of toxoplasmosis, brucellosis and listeriosis in horses in Hakkari, Eastern Region of Turkey. *Rev Med Vet.* 2007; 158 (11): 534-539.
 27. Wadood F, Ahmad M, Khan A, Gul ST, Rehman N. Seroprevalence of brucellosis in horses in and around Faisalabad. *Pak Vet J.* 2009; 29 (4):196-198.
 28. Badii Kh, Sharifiyazuli H, Pourjafar M, Ghane M, Hashemi S. Seroepidemiology and molecular detection of *Brucella* infection in Iranian horse: a provincial study. *Iranian J Vet Med.* 2013; 7(1):43-49.
 29. Arruada FR, Silva MH, Soares PM, Campos AC, Azevedo EO. Brucelose equina no Estado da Paraíba. *Med Vet (Recife).* 2012; 6(1):7-10.
 30. Seles EM, Gomes L, Fernandes; Almeida J, Santana; Correa FJ, Lima JM, Oliveira I. *et al.* Anti-*Brucella abortus* antibodies in free-ranging equid from Mossoró, Rio Grande do Norte, Brazil. *Sem Ciênc Agrá.* 2013; 34:1281-1286.
 31. Keppie J, Williams AE, Witt H, Smith H. The role of erythritol in the tissue localization of the *Brucella*. *British J Exp Pathol.* 1965; 46(1):104-108.
 32. Solmaz H, Tutuncu M, Akhan HA, Aksakal A, Gulhan T, Boynukara B. Brucellosis in horses around Van. Turkey. *Indian Vet J.* 2004; 81(7):748-749.
 33. Corbel MJ, Elberg SS, Cosivi O. Brucellosis in humans and animals. Geneva: World Health Organization. 2006:89.
 34. Mosquera X, Bernal C, Muskus C, Berdugo J. Detección de *Brucella abortus* por PCR en muestras de sangre y leche de vacunos. *Rev MVZ Córdoba.* 2008; 13(3):1504-1513.