

## ARTICULO ORIGINAL / ORIGINAL ARTICLE

# Estudio comparativo: valor diagnóstico de la serología tradicional vs PCR para la detección de brucelosis asintomática en trabajadores de la cadena productiva de la carne

Comparative study: diagnostic value of traditional serology vs. PCR for the detection of asymptomatic brucellosis in workers in the meat production chain

J. Jesús Padilla-Frausto<sup>a,b\*</sup>, Claudia Luz Navarro-Villarruel<sup>a</sup>, María Fernanda Alcalá-López<sup>a</sup>, Gema Rivera-Gutiérrez<sup>a</sup>, Daniela Guadalupe González-Flores<sup>a</sup>, Héctor Aarón Jacobo-Loza<sup>a</sup>, Ana Luisa Madriz-Elisondo<sup>a</sup> y Juan José Varela-Hernández<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Departamento de Ciencias Médicas y de la Vida, Centro Universitario de la Ciénega, Universidad de Guadalajara, Av. Universidad 1115, Col. Lindavista, Código Postal 47810, Ocotlán, Jalisco, México.

<sup>b</sup> Laboratorio de análisis clínicos Juan Pablo II, Calle Morelos 56, Código Postal 45860, Atequiza, Ixtlahuacan de los membrillos, Jalisco, México.

### Article history:

Received 22 Jun 2023

Received in revised from 24 Jun 2023

Accepted 28 Jun 2023

Available online 30 Jun 2023

### \* Corresponding author:

J. Jesús Padilla-Frausto

Telephone: +52 (392) 925 9400

Ext.: 48379

Electronic mail address:

[j.padilla@academicos.udg.mx](mailto:j.padilla@academicos.udg.mx)

## RESUMEN

La brucelosis es una enfermedad zoonótica infecciosa mundial, se transmite a través del contacto directo con animales o humanos infectados y por consumo de alimentos no pasteurizados. Frecuentemente se produce brucelosis asintomática, un problema de salud pública que encamina los esfuerzos a identificar y tratar a los portadores para prevenir la propagación de la enfermedad. Usualmente se emplea la serología tradicional para su diagnóstico, este proyecto pretende identificar la mejor metodología para detectarlos, ya que en el contexto del estudio, los sujetos evaluados están potencialmente expuestos a las principales fuentes de infección. Se recolectaron 106 muestras de trabajadores desde el rancho ganadero hasta las carnicerías. Se evaluó la positividad de la muestra empleando la reacción de Huddleson, rosa de bengala, la 2-mercaptoetanol y la prueba ELISA, y se compararon contra los resultados de la PCR. Según la PCR se observó que el 48.11 % de los trabajadores de la cadena productiva de la carne evaluados son portadores asintomáticos de *Brucella* spp. La reacción de Huddleson sobreestimó en un 3.8 % la prevalencia de portadores de *Brucella* spp. Dado su mayor sensibilidad y especificidad con respecto a los otros métodos se sugiere emplear el método serológico de ELISA *Brucella* (Vircell®).

*Palabras clave:* *Brucella*, portadores asintomáticos, Pruebas de Rx. Febriles

## ABSTRACT

Brucellosis is a global infectious zoonotic disease, transmitted through direct contact with infected animals or humans and through consumption of unpasteurized food. Asymptomatic brucellosis occurs frequently, a public health problem that directs efforts to identify and treat carriers to prevent the spread of the disease. Traditional serology is usually used for diagnosis, this project aims to identify the best methodology to detect them, since in the context of the study, the subjects evaluated are potentially exposed to the main sources of infection. 106 samples were collected from workers from the cattle ranch to the butcher shops. The sample was evaluated for positivity using the Huddleson reaction, rose bengal, 2-mercaptoethanol, and ELISA, and compared against the PCR results. According to the PCR, it was observed that 48.11% of the workers in the meat production chain evaluated are asymptomatic carriers of *Brucella* spp. The Huddleson reaction overestimated the prevalence of *Brucella* spp. carriers by 3.8%. Given its greater sensitivity and specificity with respect to the other methods, it is suggested to use the serological method of ELISA *Brucella* (Vircell™).

*Keywords:* *Brucella*, asymptomatic carriers, Reaction feverish test

## INTRODUCCIÓN

La brucelosis es una enfermedad zoonótica infecciosa de distribución mundial, causada por bacterias del género *Brucella*, pueden infectar a humanos y animales, y se transmiten a través del contacto directo con animales infectados (durante el pastoreo, el parto, el sacrificio o la manipulación de tejidos infectados) y alimentos no pasteurizados.

Los bovinos y cerdos suelen ser los principales portadores. Los signos y síntomas más comunes pueden incluir fiebre, fatiga, dolor muscular, articular y de cabeza, así como, pérdida de peso, cardiomegalia y meningitis. Sin embargo, la forma más frecuente es la brucelosis asintomática crónica, en la que pese a parecer saludables, pueden transmitir la infección a otras personas, o de animales a personas a través de la leche, la orina y otros fluidos corporales, y presentar los síntomas antes mencionados hasta después de semanas e incluso años después del contagio (Cardona-López, *et al.*, 2020). Cabe mencionar que los portadores asintomáticos humanos también pueden ser una fuente de infección para los animales, lo que puede aumentar la propagación de la enfermedad en los trabajadores de la cadena productiva de la carne (Libera, *et al.*, 2022; Navarro Villarruel, *et al.*, 2021). En este contexto, también es importante indicar que la brucelosis es una enfermedad clasificada como un problema de salud pública en muchos países y por ende, los portadores asintomáticos deben ser identificados y tratados para prevenir la propagación de la enfermedad (Lozano, Austreberta, & Nahed, 2022).

El diagnóstico de la brucelosis se basa en relacionar la combinación de los signos y síntomas del paciente, la historia clínica y los resultados de las pruebas de laboratorio (serología y hemocultivo).

En la mayoría de los laboratorios clínicos del país para identificar a los portadores o enfermos se emplea la serología tradicional con sangre

periférica, mediante las reacciones febriles (reacción de Huddleson), rosa de bengala, la 2-mercaptoetanol o la prueba ELISA.

Se presume que la elección de entre estas técnicas, ya sea como herramienta de screening o de confirmación, además de su costo en el mercado, depende de la sensibilidad y especificidad de la prueba, pero, en el gremio esto genera una frecuente controversia y opiniones divididas, ya que usualmente las variaciones puede deberse a factores como la etapa de la infección y enfermedad, la carga bacteriana en sangre periférica, la antigüedad de los anticuerpos específicos generados tras la infección, o si el individuo se encuentra en zonas endémicas o no. Y usualmente, la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), por su costo elevado y requerimientos técnicos específicos se aplica sólo como una prueba confirmatoria, para el diagnóstico de esta enfermedad. En este contexto, una alcaldía de la Región Ciénega del estado de Jalisco, México ha solicitado un diagnóstico de enfermedades zoonóticas en trabajadores de la cadena productiva de la carne (ganaderos, faenadores, personal del rastro y carniceros), para ello se ha diseñado el presente estudio, con la finalidad de identificar la mejor metodología (la que presente el mayor valor diagnóstico) para la identificación de portadores asintomáticos (crónicos o no) de *Brucella* spp. en dichos individuos, ya que están potencialmente expuestos a las principales fuentes de infección.

## OBJETIVO

Comparar el valor diagnóstico de la serología tradicional (reacción de Huddleson, rosa de bengala, la 2-mercaptoetanol o la prueba ELISA) vs PCR para la detección de brucelosis asintomática en trabajadores de la cadena productiva de la carne de la Región Ciénega del estado de Jalisco, México.

## MATERIAL Y MÉTODOS

Se presenta un estudio descriptivo. Durante el periodo comprendido entre diciembre/2022 y

marzo/2023, tras una breve encuesta, se recolectaron 106 muestras de sangre periférica por duplicado (una de 5 mL con anticoagulante EDTA y otra igual pero sin anticoagulante) de trabajadores de las diferentes etapas y sitios de la cadena productiva de la carne; ganaderos en el rancho (21), faenadores (9), personal del rastro (16), transportista del canal (8) y carniceros en expendios (52).

*Para las muestras con anticoagulante:* Se procedió a realizar el protocolo modificado de Leal-Klevezas *et al.* (1995) para la lisis de eritrocitos y la extracción de ADN, así mismo, se preparó una mezcla de reacción para la PCR incluyendo el par iniciadores derivados de la secuencia 16S ARNr de *Brucella* spp. (GenBank: X13695.1-AB1-R2). La reacción fue programada en un termociclador (Mastercycler® ep, EPPENDORF). Las condiciones de amplificación se basaron en un programa de 94 °C por 4 min y 40 ciclos de 94 °C por 1 min, 56 °C por 80 seg. y 72 °C por 80 seg. con una extensión final de 72 °C por 10 min. Como marcador de peso molecular en la electroforesis en gel de agarosa 2 % se empleó la escalera de 100 pb de ADN (Invitrogen®). Los productos de amplificación se visualizaron bajo luz UV. Los resultados de tamaño de banda después de la amplificación fueron de 725 pb que coincide con lo publicado en el GenBank: X13695. Esta prueba se consideró el estándar de oro para comparar los resultados de la metodología serológica tradicional.

*Para las muestras sin anticoagulante:* Se procedió a realizar una separación del suero por centrifugación a 2500 rpm durante 5 minutos. La reacción de Huddleson (Spinreact®), rosa de bengala (Spinreact®), la 2-mercaptoetanol (Spinreact®) o la prueba ELISA (Vircell®) se realizaron siguiendo el procedimiento indicado por cada proveedor. Se documentaron los títulos positivo/negativo, según corresponde, y un resultado positivo de la prueba de Huddleson se determinó al observar la aglutinación en una dilución de suero de 1:80 o superior.

Cabe mencionar que en la práctica rutinaria del laboratorio la reacción de Huddleson se emplea como prueba de screening y las reacciones con rosa de bengala, 2-mercaptoetanol y ELISA como de confirmación, pero en este estudio todas las muestras se evaluaron por los cuatro métodos. Los resultados de los métodos serológicos tradicionales contra los de la PCR, se evaluaron para calcular la sensibilidad y especificidad en pares empleando el paquete estadístico XLSTAT del Excel, y en conjuntos por prueba H de Kruskal-Wallis en Statgraphic centurión ver. 16.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Según los resultados de la PCR se observó que el 48.11 % de los trabajadores de la cadena productiva de la carne evaluados son portadores asintomáticos de *Brucella* spp. resultado que contrasta con el 13.3 % de prevalencia global que reporta la Dirección General de Epidemiología ípara el estado de Jalisco, en el año 2022. Lo que sugiere que per se la actividad laboral (de los trabajadores de la cadena productiva de la carne) potencialmente incrementa el riesgo de ser portadores asintomáticos de la bacteria. Cabe mencionar que los trabajadores incluidos no referenciaron haber presentado síntomas, diagnóstico o tratamiento para brucelosis. Los resultados de presencia (+) o ausencia (-) se concentraron como tabla de contingencia (2x2) comparando los resultados de las metodologías serológicas tradicionales con los observados en la PCR (**Tabla 1**).

**Tabla 1.** Tabla de contingencia  
**Table 1.** Contingency table

Método serológico tradicional	PCR (+)	PCR (-)
Reacción de Huddleson (+)	44	9
Reacción de Huddleson (-)	7	46
Rosa de bengala (+)	39	5
Rosa de bengala (-)	12	50
2 mercaptoetanol (+)	41	3
2 mercaptoetanol (-)	11	51
ELISA (+)	48	2
ELISA (-)	3	53

**Tabla 2.** Índices de desempeño de las pruebas de diagnóstico serológico tradicional vs PCR  
**Table 2.** Performance index of traditional serological diagnostic tests vs PCR

Estadístico	Índice			
	Reacción de Huddleson	Rosa de bengala	2-mercaptoetanol	ELISA
Bien clasificados	0.849	0.850	0.868	0.953
Mal clasificados	0.151	0.150	0.132	0.047
<b>Sensibilidad</b>	<b>0.765<sup>a</sup></b>	<b>0.863<sup>b</sup></b>	<b>0.888<sup>b</sup></b>	<b>0.941<sup>c</sup></b>
<b>Especificidad</b>	<b>0.836<sup>a</sup></b>	<b>0.909<sup>b</sup></b>	<b>0.944<sup>b</sup></b>	<b>0.964<sup>bc</sup></b>
Tasa de falsos positivos	0.164	0.091	0.056	0.036
Tasa de falsos negativos	0.137	0.235	0.212	0.059
<b>Prevalencia</b>	<b>0.519</b>	<b>0.489</b>	<b>0.491</b>	<b>0.481</b>
VPP (Valor Predictivo Positivo)	0.830	0.886	0.932	0.960
VPN (Valor Predictivo Negativo)	0.868	0.806	0.823	0.946

Letras iguales indican no diferencia significativa ( $p>0.05$ ), por lo que letras diferentes indican diferencia significativa ( $p<0.05$ ) evaluada por la prueba H de Kruskal-Wallis.

Con dichos datos se evaluó una serie de índices pareados en los que se incluye la sensibilidad y especificidad (**Tabla 2**) que permiten evaluar el desempeño de las pruebas serológicas tradicionales contra la PCR en el diagnóstico de *Brucella* spp. Se puede observar que de entre las pruebas serológicas tradicionales la prueba de ELISA (*Brucella* de Vircell®) presenta la mayor sensibilidad y especificidad.

Según la prueba H de Kruskal-Wallis existe una diferencia estadística significativa ( $p=0.0364$ ) en la sensibilidad observada por el método de ELISA, con respecto a los otros tres métodos serológicos y una equivalencia estadística ( $p=0.0912$ ) a la PCR.

Por otro lado para la especificidad la prueba H evidenció que no existe diferencia estadística significativa ( $p=0.0889$ ) entre los métodos de 2-mercaptoetanol, ELISA y PCR, por lo que para el propósito del estudio puede ser empleado como equivalentes por su elevado valor diagnóstico. Cabe resaltar que la técnica serológica que mostro menor valor diagnóstico fue la Reacción de Huddleson que se incluye en las “Reacciones febriles”.

Cabe mencionar que la reacción de Huddleson sobreestimó en un 3.8 % la prevalencia de portadores de *Brucella* spp.

## CONCLUSIÓN

Con el objetivo de reducir costos, sin sacrificar sensibilidad y especificidad se sugiere emplear el método serológico de ELISA *Brucella* (Vircell®) como sustituto de la PCR en la detección de brucelosis asintomática en trabajadores de la cadena productiva de la carne.

### Conflicto de intereses:

Los autores declaran no tener conflicto de intereses.

## REFERENCES

- Cardona-López, M. A., Padilla-Frausto, J. J., Madriz-Elisondo, A. L., Hinojosa-Dávalos, J., Navarro-Villarruel, C. L., Varela-Hernández, J. J., Ibarra-Velázquez, L. M. (2020). Identification of *Escherichia coli* pathotypes in ground beef from butcher shops of Guadalajara, Jalisco, Mexico. *Revista Bio Ciencias* 7, e924. DOI: <https://doi.org/10.15741/revbio.07.e924>
- DGE-Dirección General de Epidemiología. 2022. Estadísticas e indicadores. Boletín Epidemiológico. Recuperado el 16 de abril del 2023. Disponible en: <https://ssj.jalisco.gob.mx/salud-publica/estadisticas-e-indicadores/boletin-epidemiologico-2022>

3. Leal, D. S., Martínez, I. O., Lopez, A., y Martínez, J. P. (1995). Single-step PCR for detection of *Brucella* spp. from blood and milk of infected animals. *Journal of clinical microbiology*, **33**(12), 3087-3090. DOI: <https://doi.org/10.1128/jcm.33.12.3087-3090.1995>
4. Libera, K., Konieczny, K., Grabska, J., Szopka, W., Augustyniak, A., y Pomorska, M. (2022). Selected livestock-associated zoonoses as a growing challenge for public health. *Infectious disease reports*, **14**(1), 63-81. DOI: <https://doi.org/10.3390/idr14010008>
5. Lozano, E., Austreberta, D., & Nahed, J. (2022). Brucelosis bovina y humana en el sur de México: Una zoonosis desatendida. *Revista chilena de infectología*, **39**(2), 157-165. DOI: <http://dx.doi.org/10.4067/S0716-10182022000200157>
6. Navarro Villarruel, C. L., Ibarra Velázquez, L. M., Diosdado Rojas, J. D. ., Madriz Elisondo, A. L., Cardona López, M. A., Varela Hernández, J. J., Silva Sánchez, J., Arvizu Medrano, S. M., & Padilla Frausto, J. J. (2021). Frequency, territorial distribution and antimicrobial resistance of *Salmonella* spp. on bovine cattle feces from the Altos Sur region of Jalisco State, Mexico. *Biotechnia*, **23**(3). DOI: <https://doi.org/10.18633/biotechnia.v23i3.1371>



**Mexican Academy of Health Education A.C. Membership:** Our commitment is to keep professionals and students in training updated in this constantly evolving area. If you are interested in being part of our community and accessing exclusive benefits, the first step is to obtain your membership. Join us and stay up to date with advances in health education.

MEMBERSHIP SUBSCRIPTION IS FREE. Request your membership to the <https://forms.gle/kVYBYRdRnYZff14y9>

