

Conceptos Generales sobre brucelosis bovina



**1 Congreso Ganadero,
CORFOGA**

, San José, Costa Rica, Agosto 2006

Luis Ernesto Samartino M.V., Ms, Ph D

Email: lsanma@cnia.inta.gov.ar

**Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria
Castelar, Buenos Aires, Argentina**





D. Bruce, describio la causa de la enfermedad en el hombre en 1884 en Malta.

T. Zammit aislo *Brucella melitensis* en 1897 de la leche de cabras abortadas

B. Bang aislo *Brucella abortus* de una vaca en 1897.

Wright y Smith en 1897 proponen el test de seroaglutinacion.

J. Buck en 1930 reporto resultados muy promisorios con una vacuna llamada *Bacterium abortus* strain 19



Por que
estamos acá
discutiendo
sobre esta
enfermedad
prehistórica??
??



BRUCELOSIS

Salud Pública
Salud Animal
Factores Económicos
Factores Sociales
Factores Políticos

500.000 casos/año

- Portugal
- España
- (Sur de Francia)
- Itália
- Grecia
- América Central e do Sul
- Turquía
- África do Sul
- Europa (Oeste)
- Ásia
- África
- Caribe

endémica

endémica

~ 100 casos reportados/año



Brucelosis Humana

Grupos de Riesgo

- Médicos Veterinarios
- Laboratoristas
- Empleados de frigoríficos expuestos.
- Empleados de establecimientos lecheros (infectados).
- Empleados de establecimientos de carne (infectados).

Brucelosis Humana

Grupos de Riesgo-Prevención

- Empleo de guantes (tactos, manipulación de fetos, lesiones mamarias)
- Quemar restos de fetos y placentas
- Empleo de desinfectantes (amonio cuaternario, alcohol 70°)
- Manipulación correcta de jeringas y frascos de vacunas contra la brucelosis
- En determinadas circunstancias usar anteojos protectores.



Brucelosis animal

- Conocimiento de la enfermedad
- Métodos de diagnóstico
- Métodos de prevención
- Eliminación de reaccionantes positivos con destino faena

Género *Brucella*

ESPECIE

abortus

suis

melitensis

canis

ovis

neotomae

maris

HUESPED

Bovinos

Porcinos

Ovinos

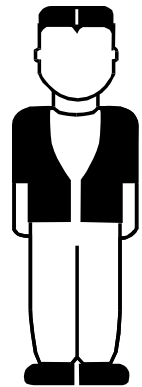
Caprinos

Canino

Ovino

Neotomae lepida (roedor)

Mamíferos marinos



Brucelosis

Etiología

Biovariedades

- Brucella abortus* (8 biovars)**
- Brucella suis* (5 biovars)**
- Brucella melitensis* (3 biovars)**
- Brucella canis* (1 biovar)**
- Brucella ovis* (1 biovar)**
- Brucella neotomae* (1 biovar)**
- Brucella maris* (2 biovars)**



Brucelosis Animal

Vías de Entrada

- **MUCOSAS**
- **La vía oral es la principal**
- **Venérea en porcinos y caninos**
- **En bovinos NO es una enfermedad venérea a pesar de que el toro elimina brucelas por semen.**



Brucelosis Animal

Vías de Eliminación

- **Secreciones vaginales post partum-aborto.**
- **Sémen**
- **Leche**
- **Orina**
- **Materias Fecales???????**

Brucelosis Animal

Infección de un establecimiento

- **Ingreso por compras de animales infectados**
 - Se debe conocer el estado sanitario de los animales antes de incorporarlos al rodeo
 - Si no se conoce lo mejor es **NO COMPRAR!!**
 - Si se conoce realizar sangrados en origen o antes de incorporarlos al rodeo!!!
 - De todas maneras es conveniente realizar una cuarentena previa a juntar los animales
 - Perros y otros animales pueden jugar un papel secundario.

Brucelosis Bovina

Patogénesis

- **Período de incubación!!!!!!**
- **Se relaciona con el estado fisiológico del animal**
- **Puede variar desde 10/15 días hasta varios meses.**
- **Es corto en animales preñados**

**LA BACTEREMIA ES
IMPORTANTE EN EL HOMBRE Y
EN EL PERRO**

Brucelosis Bovina

Patogénesis

- El síntoma mas importante en brucelosis bovina es el aborto tardío.
- La eliminación de brucelas por vía vaginal puede comenzar una semana antes del parto/aborto hasta 45-60 días posteriores al mismo.
- **La cantidad de brucelas eliminadas es variable y puede alcanzar hasta 1×10^{14} /gramos de placenta (rumiantes).**

Brucelosis Animal

Patogénesis

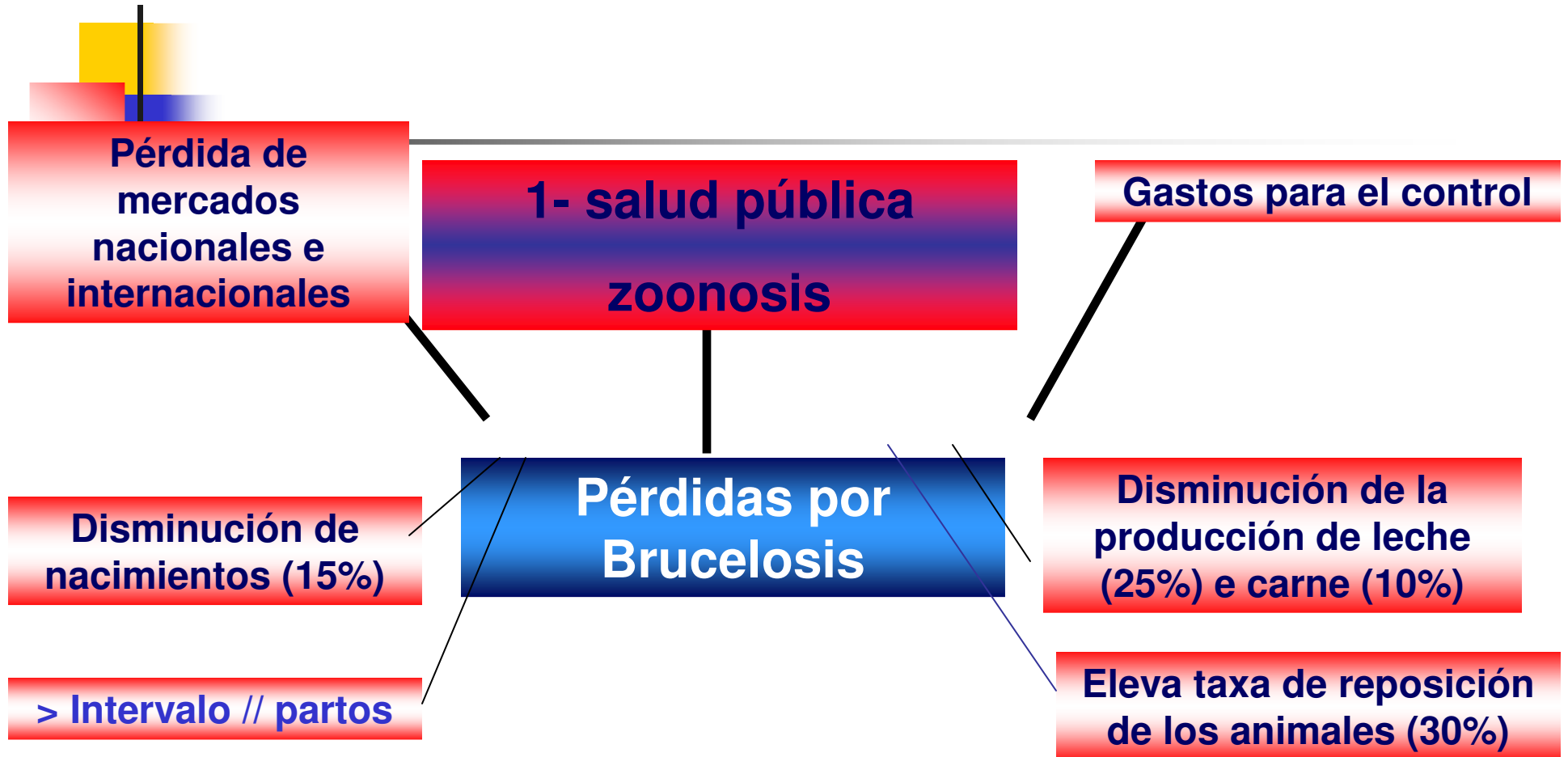
- La eliminación de brucelas por vía mamaria es intermitente pero se puede extender a lo largo de la lactancia.
- En el caso de necesitar ordeñar animales infectados, estos deben pasar en último término desinfectando las instalaciones con posterioridad.
- Se debe separar inmediatamente del rodeo a los animales preñados en los que se determine infección brucélica!!

Síndrome de las Vaquillas

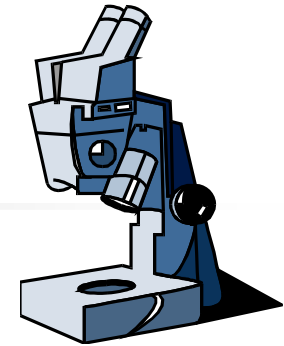
Latencia en terneras

- HIJA DE MADRE INFECTADA
- Infección preparto
- No detectable hasta la primera parición donde generalmente aborta
- Solo se produce en vaquillas de primera parición
- El porcentaje estimado es menor al 2%

PERDIDAS ECONOMICAS



Diagnóstico



CLINICO

**Circunstancias epidemiológicas.
Manifestaciones clínicas.
Lesiones anatomopatológicas macroscópicas.**

LABORATORIAL

**Diagnóstico bacteriológico (o de certeza).
Diagnóstico serológico (o presuntivo).**

Diagnóstico Serológico de la Brucelosis Animal

- Pruebas serológicas, fundamento e interpretación de las mismas.
- Capacidad de los laboratorios para realizar las técnicas de diagnóstico.
- Metodología empleada en un área, país o región.



TOMA DE MUESTRAS

Serológico

Sangre, suero

Leche, semen

Identificación

Bacteriológico

Fetos: Pulmón, líquido de abomaso, hígado

Placenta, membrana corioalantoidea

Leche, calostro

Animal Sacrificado: Ganglios, bazo, hígado

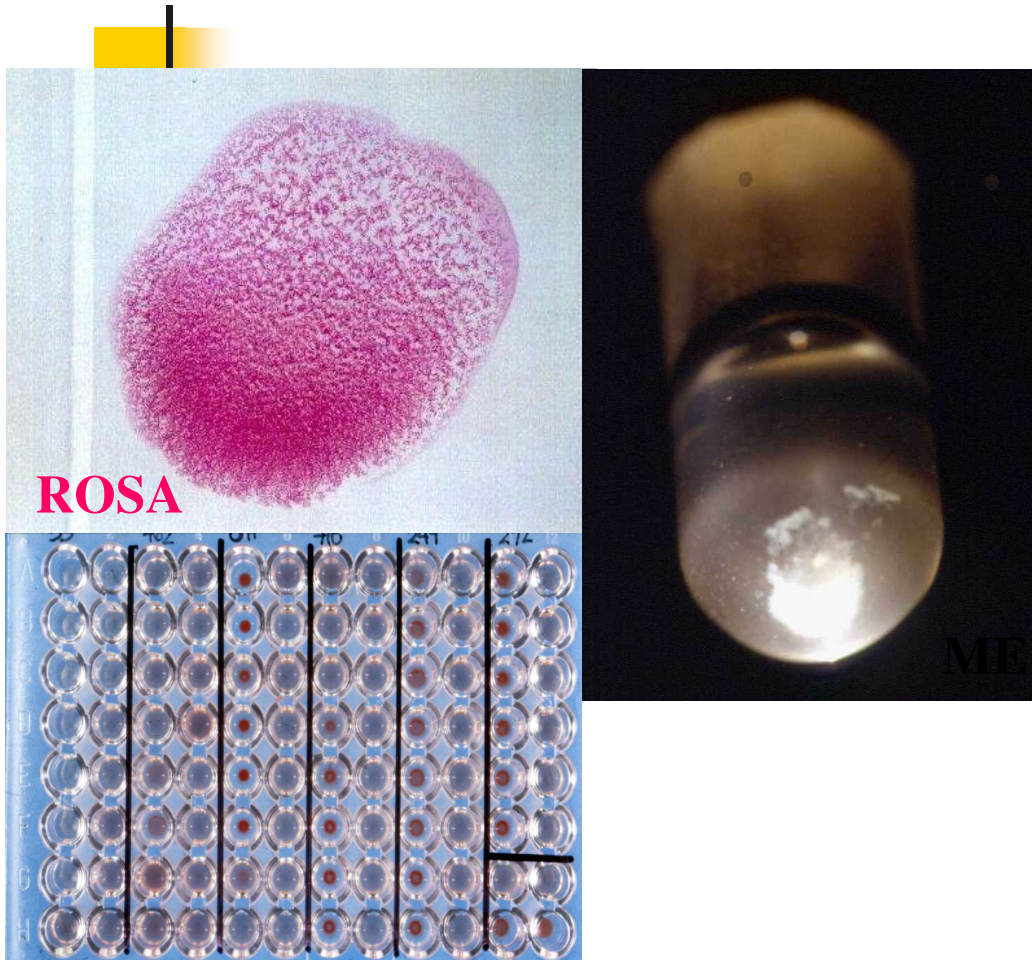
CUANDO SE PRETENDE AISLAR BRUCELAS, NUNCA SE ADICIONARAN ANTIBIOTICOS Y/O BACTERIOSTATICOS A LOS MATERIALES RECOGIDOS, LOS CUALES SE REMITIRAN RAPIDAMENTE AL LABORATORIO, REFRIGERADOS Y/O CONGELADOS



Diagnóstico Serológico de la Brucelosis

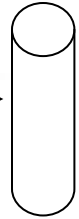
- Tamiz o Screening:
BPA, RB, RAP
- Clásicas: Wright,
Huddleson,
- Complementarias:
Rivanol, 2-ME, FC
- Vigilancia
Epidemiológica: GD,
Ring Test (Anillo en
la leche)
- Nuevas técnicas:
Enzimo
inmunoensayos,
Polarización
fluorescente,

SERODIAGNÓSTICO DE LA BRUCELOSIS

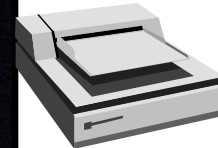


Polarización Fluorescente Nielsen, (1996)

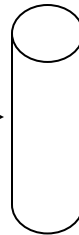
Suero 1% + Buffer



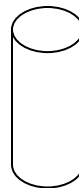
Homogeneizar > luz
polarizada



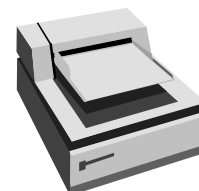
Antígeno



Homogeneizar > incubar a
RT dos minutos



Lectura > luz



**FIJACION DEL
COMPLEMENTO**



Nuevas Técnicas

Objetivos

- Aumentar sensibilidad y especificidad.
- Eliminar subjetividad.
- Diferenciar animales infectados de vacunados.
- Económica, Sencilla, Rápida ...



Vacuna Cepa 19

Vacuna Cepa Rev 1

Cepa de Campo



**ANTICUERPOS NO
diferenciables por las
pruebas clásicas**

ELISA

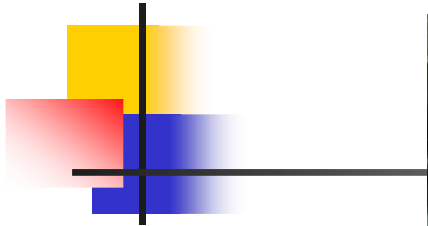


- I-ELISA en suero
- I-ELISA en leche
- I-ELISA ovis
- C-ELISA O-polisacarido
- C-ELISA LPS

Aplicaciones del FPA en el diagnóstico de brucelosis

- Diagnóstico serológico de la brucelosis bovina
- Diagnóstico con sangre entera(bovino)
- Diagnóstico de la brucelosis porcina
- Diagnóstico de la brucelosis caprina
- Diagnóstico de la brucelosis en bisón
- Diagnóstico de la brucelosis en bufalo
- Diagnóstico con leche bovina

- Tubos de borosilicato de 9 x 75mm
- Optimizado para ensayos *in situ*
- Liviano de transportar



SENTRY 100



Técnicas serológicas en algunos países de América

Tamiz

Complementarias



Argentina	BPA	ME/ Wright, FC, FPA
Chile	Rosa Bengala	Rivanol, ELISAC
Costa Rica	Rosa Bengala	ELISAC
Uruguay	Rosa Bengala	Rivanol
Paraguay	Rosa Bengala	ME/Wright
Brasil	Rosa Bengala	ME/Wright /FC
USA	RB/BPA	Rivanol, FC, FPA
Canada	BPA, FPA	ELISAC

Características Ideales de una Vacuna Contra la Brucelosis

- Inducir una respuesta inmune de larga duración.
- No inducir la producción de anticuerpos que interfieran con el diagnóstico.
- No inducir abortos. Aplicarse en cualquier edad.
- Mantener su atenuación constante (estable)
- Inducir una protección cruzada permanente contra las principales especies de *Brucella* (*abortus*, *suis*, *melitensis*).
- Administrarse por cualquier vía.

Introducción a la vacunación:

Premisas Básicas

- Numero de organismos expuestos
- Virulencia de la cepa salvaje
- Respuesta inmune individual
- Prevalencia en el rodeo
- Dosis de vacuna
- Edad de vacunación
- Ruta de vacunación

Efectividad de una Vacuna Contra la Brucelosis

- Eficacia en animales de laboratorios y su extrapolación al huésped natural.
- Eficacia en el huésped natural en condiciones controladas.
- Eficacia en condiciones de campo al aplicarse en situaciones donde las prevalencias se puedan comparar.
- En todas las situaciones comparar con controles no vacunados.

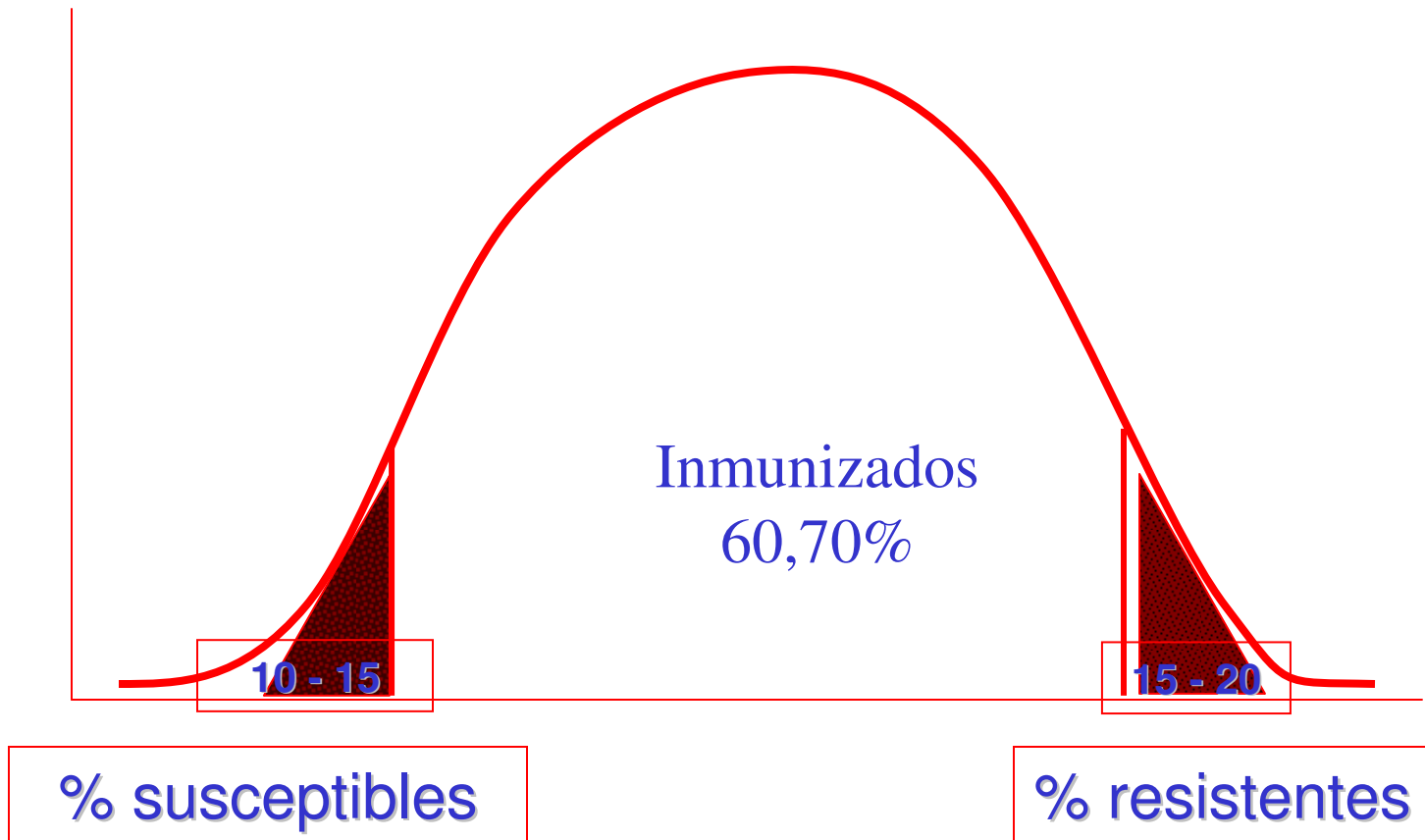
Relación entre dosis de exposición, porcentaje de infección y abortos en vacunados con S19 y testigos

Dosis de Exposición (<i>B. abortus</i> 2308)	254 vacunados		210 testigos	
	% infectados	% abortos	% infectados	% abortos
350.000	0	0	78	56
700.000	26	20	87	74
15.000.000	61	47	100	100
25.000.000	57	44	97	91
75.000.000	61	45	100	92
100.000.000	71	52	100	97
Natural *	20	20	56	22

* Natural: exposición por contacto con animales de un rodeo en el cual la incidencia de brucelosis fue mantenida a 50% o más.

Ref.: Manthei, C. A. Summary of controlled research with Strain 19. Proc. Ann. Meet. U. S. Liv. Sanit. Ass., 63: 91-97, 1960.

Susceptibilidad de un Rodeo Bovino a la Brucelosis





Prevalencia en los rodeos



TABLE 1

Results of Selected Studies on Immunity in Cattle Vaccinated with Strain 19

Age at vaccination	Vaccine dose	Challenge dose	Live calves	Number infected	Index of infection	Ref. ()^a
Adult	5.6 x 10 ⁴	2 x 10 ⁷		1/9	6.0	13
	2.8 x 10 ⁸			2/9	2.3	(a)
	Controls			9/9	30.6	
14-23 mo.	2.25 x 10 ⁸	1.3 x 10 ⁷	6/9	8/10	10.8	14
	Controls		2/10	10/10	28.3	(a,b)
1 mo.	110 x 10 ⁹	2 x 10 ⁷	2/9	8/9	0-54	15
1 and 12 mo.	+ 1/20th		5/10	8/10	0-29	(a,b,c)
5 mo.			4/10	9/10	0-25	
	Controls		2/10	10/10	10-55	
8 mo.	Standard	12 x 10 ⁶	10/13	3/14		16
8 and 14 mo.	dose		15/17	5/18		(c)
8 and 20 mo.			13/16	4/16		
	Controls		3/18	19/22		
10-12 mo.	10 ⁹	9.4 x 10 ⁶	8/9	2/11		17
	10 ¹⁰		10/11	7/10		(a,d)
	Controls		1/9	7/9		
10-12 mo.	10 ⁹	5.2 x 10 ⁷	2/10	8/10		17
	10 ¹⁰		0/8	7/8		(a,d)
	Controls		0/9	8/9		

a () Reason for experiment: a = effects of dosage of vaccine; b = effects of age; c = effects of booster vaccination; d = effects of challenge dose; e = vaccine types.

Vacunas Antibrucélicas



- **Vacunas a gérmenes vivos virulentos**
- **Vacunas a gérmenes muertos**
- **Vacunas de última generación**
- **Vacunas a gérmenes vivos atenuados**

Vacunas a Gérmenes Vivos Atenuados Naturalmente

- Cepa 19 de *B. abortus* para bovinos (SC)
- Cepa RB51 de *B. abortus* para bovinos (SC)
- Cepa REV 1 de *B. melitensis* para caprinos y ovinos (SC, IC)
- Cepa *B. suis* (S2) para porcinos, bovinos, (SC, oral, IC).

Vacunas vivas atenuadas

Rev 1

- Originada a partir de *B. melitensis* biovar 1 (Elberg and Founce, 1957).
 - Usada para prevenir la brucelosis en caprinos y ovinos.
 - Dosis completa. 1×10^9 para corderos y cabritos SC o IC.
 - Induce anticuerpos.
- Bioseguridad!!

Vacunas muertas

Strain 45/20

- Originada de una cepa de *B. abortus* (McEwen and Priestley, 1938).
 - Rugosa luego de 20 pasajes en cobayos.
 - Se uso primero viva, pero revertía.
 - Por ello, se empleo como vacuna muerta con adyuvantes.
 - “Casi” no inducía anticuerpos.
 - Se aplicaba 2 veces, con un refuerzo anual.
 - Se uso como test anamnestic.
- La mayoría de los estudios mostraron que la eficacia de la vacuna 45/20 fue menor que la cepa 19.

Vacunas vivas atenuadas

Cepa 19

- Originada de una *B. abortus* biovar 1 virulenta en US, atenuada naturalmente. (Buck J, 1930).
 - Empleada para prevenir brucelosis en bovinos.
 - Se aplica por vía SC pero la vía IC es a veces recomendada.
 - Fue la vacuna mas extensamente usada en el mundo para prevenir la brucelosis bovina.
 - Hoy, algunos tiene restricciones en algunos países.

Vacunación de Terneras

- **Animales sexualmente inmaduros**
- **Dosis estándar 5×10^{10}**
- **Edad optima 4-6 meses**
 - **Menos de 3 meses (anticuerpos maternos)**
 - **Mas de 10 meses (muy cerca de la madurez sexual) →**
- **Dosis reducida 3×10^8 a 3×10^9**
- **Dosis recomendada $15-30 \times 10^9$**



Vacunación de Adultos

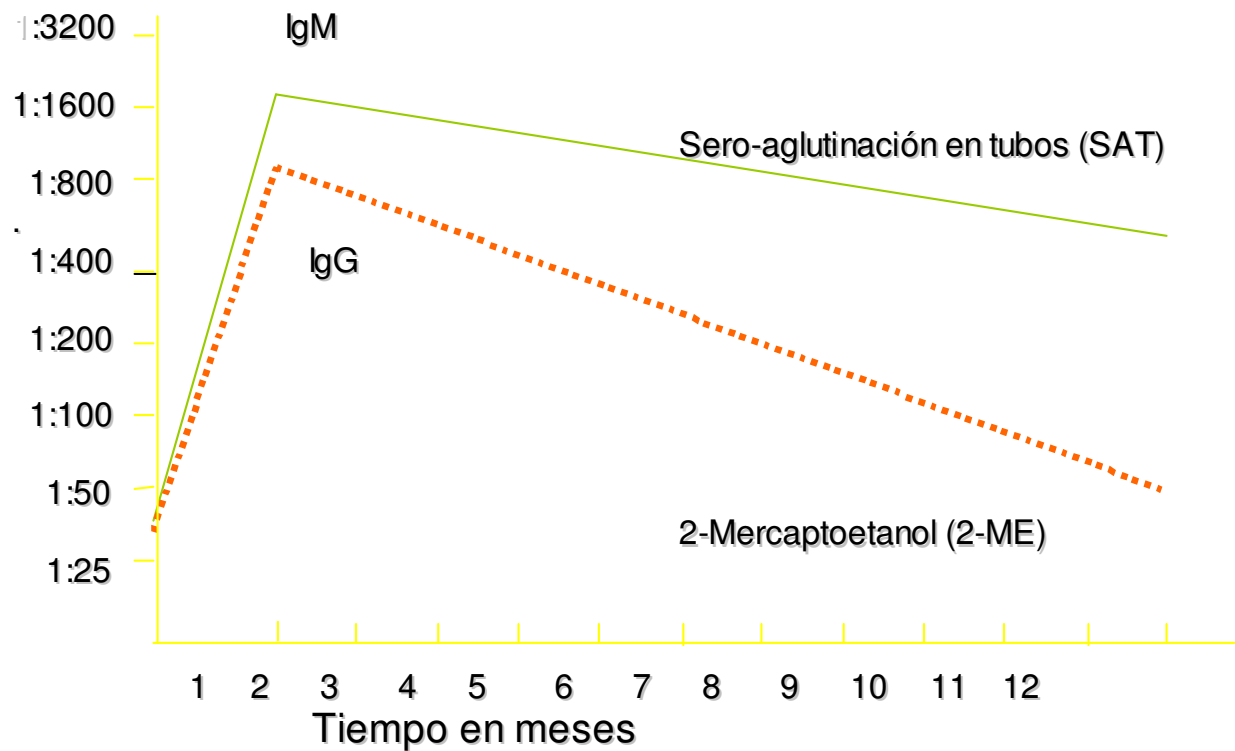
■ Ventajas

- La dosis reducida otorga inmunidad a todo el rodeo “whole herd”.
- Titulos poco persistentes
- Bajo % abortos

■ Desventajas

- Infeccion Persistente con S19
- Titulos serologicos persistentes
- Titulos de “Ring Test” persistentes.
- Requiere “demasiada” serologia.

Secuencia de los títulos serológicos en terneras mayores de 10 meses de edad vacunadas con doble dosis





Vacunas vivas atenuadas

- **RB51 es una cepa mutante rifampicin-resistente originada a partir de la *B. abortus* 2308 biovar 1 (Schurig G, 1991).**
 - Se usa para prevenir la brucelosis bovina.
 - **NO** tiene **cadena O** en su LPS por lo tanto **NO** induce anticuerpos detectables por técnicas de diagnóstico convencionales.
 - La dosis recomendada es $1-3,4 \times 10^{10}$
- **Es una vacuna estable ante numerosos pasajes “*in vivo* and *in vitro*”**

Brucella abortus

Brucella abortus



2308

Selección: Mutante natural



Rifampicina resistente




RB51

**No tiene
cadena - O**

Estrategias de Vacunación

- **1950s, 1960s, (Manthei, Mingle etc)**
Se recomienda la vacunación de terneras. No hay diferencias entre aplicar o no la vacunación de adultos.
- **1970s, (Nicoletti, Barton, Deyoe)** **La necesidad de efectuar la vacunación de animales adultos es impostergable.**

Estrategias de Vacunación Para la Prevención de la Brucelosis Bovina



- **Vacunación con cepa 19 de terneras (3 a 12 meses de edad)**
- **Vacunación y revacunación de adultos con cepa 19 (dosis reducida u otras)**
- **Vacunación de terneras con RB51.**
- **Vacunación de adultos con cepa RB51**
- **Vacunación combinada Cepa 19 y RB51**

Vacunas usadas actualmente en America para prevenir la Brucelosis Bovina

- USA (RB51, 100%)
- México (RB51 90% S19 (10%))
- Costa Rica (RB51 100%)
- Venezuela (RB51 50% S19 50%)
- Colombia (RB51 40% S19 60%)
- Uruguay (RB51 100%)
- Ecuador (S 19 60% RB51 40%)
- Perú (S 19 70% RB51 30%)
- Brasil (S 19 100% **RB51 VA**)
- Chile (RB51 100%)
- Argentina (S 19 100% **RB51 VA**)
- Paraguay (S 19 60% RB51 40%)

Que necesitamos???

- **Necesitamos una vacuna mejor para prevenir la brucelosis bovina y caprina.**
 - **BIOSEGURIDAD!!**
 - **MAYOR PROTECCION QUE LAS ACTUALES VACUNAS.**
 - **NO INDUCIR TITULOS SEROLOGICOS**
- **Sin embargo, también necesitamos encontrar vacunas para las otras especies expuestas a brucelosis**

Conceptos Generales



Ninguna vacuna, a la fecha, confiere una inmunidad absoluta contra la brucelosis.

No se obtendrán resultados exitosos en el saneamiento de un rodeo vacunado si no se aplican correctas medidas de manejo.

Sin embargo, la vacunación constituye mejor herramienta existente para la prevención de la brucelosis bovina.

SANEAMIENTO de las Propiedades

Medidas específicas

- 1- **Vacunación;**
- 2- **Control serológico;**
- 3- **Eliminación de los animales reactivos**
- 4- **Tránsito de los animales (compra) - QUARENTENA**

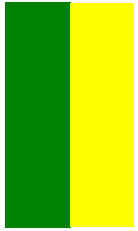
Medidas inespecíficas

- 1- **Educación sanitaria/** Examen de salud de las personas
- 2- Control y segregación de **otras especies** –
Evitar el copastoreo
- 3- Examen clínico y serológico de los reproductores antes del entore.
- 4- Manejo del rodeo – **DESTRUCCIÓN** de fetos, abortamiento
DESINFECCIÓN de las instalaciones

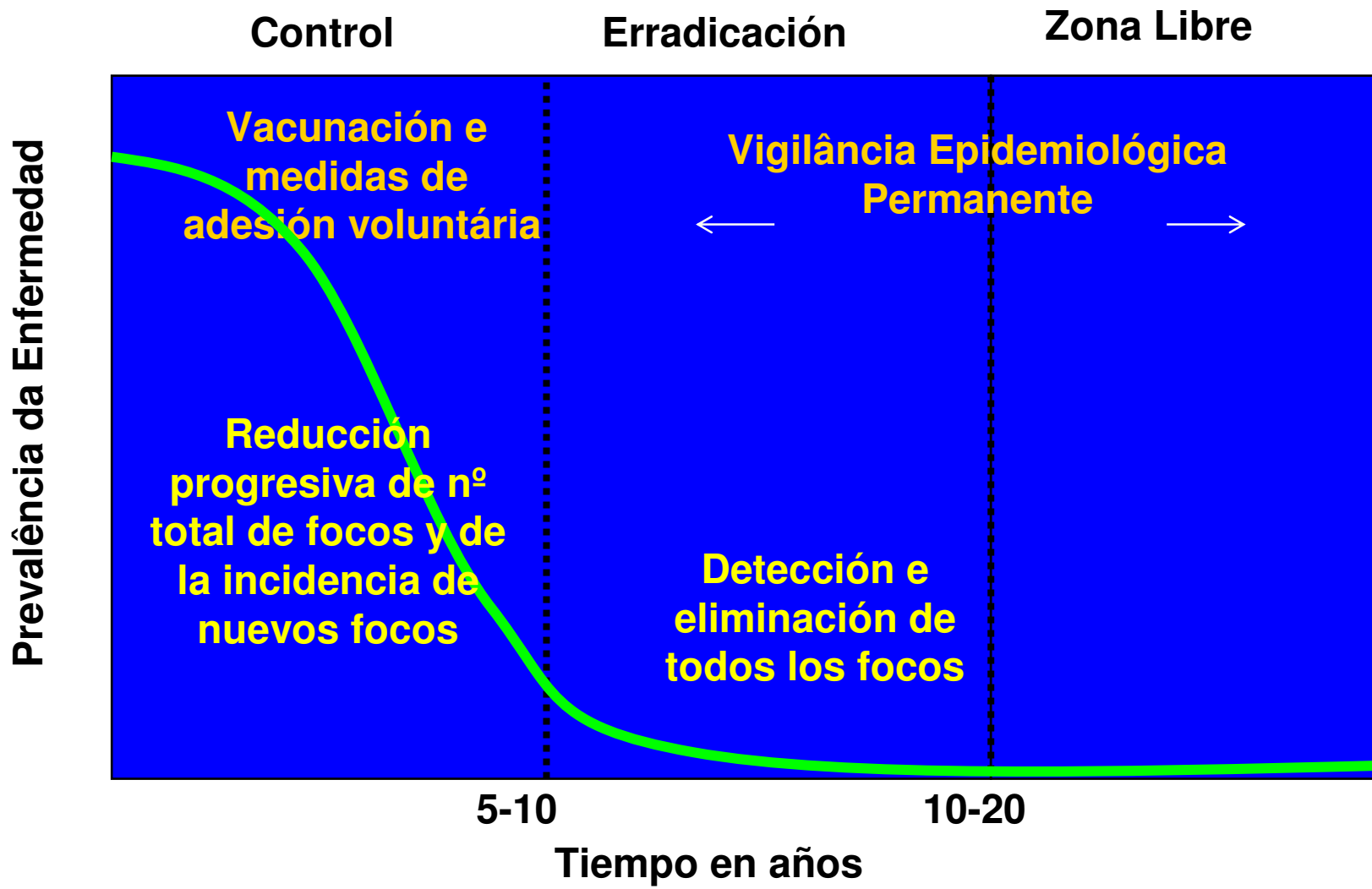
MATERNIDAD

Esquema de sistema de vigilancia para brucelosis bovina





Fases de los Programas Sanitarios





MUCHAS GRACIAS

