

- Estrategias de control de la brucelosis bovina
Luis Ernesto Samartino



CONFERENCIA

BRUCELOSIS CONTROLADA,
GANANCIA ASEGURADA



Colanta[®]

Sabe más
Sabe a campo

10^o Taller
Seminario

Internacional de leche

Colanta[®]

Octubre 25 y 26



LUIS ERNESTO SAMARTINO

Doctor y Magíster,
Departamento de
Microbiología y
Parasitología, Facultad
de Medicina Veterinaria
de la Universidad Estatal
de Louisiana, Estados
Unidos.

Médico Veterinario,
Facultad de Ciencias
Veterinarias, Universidad
Nacional de La Plata,
Argentina.

Investigador referente
del Instituto Nacional de
Tecnología Agropecuaria
(INTA), Centro de
Ciencias Veterinarias
y Agronómicas y del
Instituto de Patobiología,
Buenos Aires, Argentina.

Profesor Titular
Bacteriología, Micología,
Virología e Inmunología

Argentina

ESTRATEGIAS DE CONTROL DE LA BRUCELOSIS BOVINA

Resumen

La brucelosis bovina es una enfermedad infectocontagiosa que se transmite al hombre por consumir productos lácteos no pasteurizados o el contacto con animales infectados. *Brucella abortus*, es la bacteria que infecta a los animales causando infertilidad, ocasionales abortos y orquitis en los machos. El control de la brucelosis se basa en cuatro aspectos fundamentales: conocimiento de la enfermedad, diagnóstico correcto, vacunación y eliminación de los animales positivos con un único destino: sacrificio. En una finca afectada de brucelosis los abortos se producen entre el sexto y el octavo mes, eliminando una enorme cantidad de bacterias al medio ambiente y contagiando al resto de los animales que componen el hato.

24

El diagnóstico inmediato, generalmente por técnicas serológicas, es imprescindible para conocer la prevalencia existente y, de este modo, separar a la mayor brevedad posible los animales infectados para transportarlos a frigoríficos. La vacunación con cepa 19 o RB51 es importantísima para la prevención de la enfermedad. Se deben vacunar indefectiblemente todas las terneras con cepa RB51 o con cepa 19 de acuerdo con la legislación de cada país. Seguidamente se puede considerar vacunar antes del primer servicio a todas las hembras únicamente con la vacuna RB51, la cual no induce la producción de anticuerpos que confundan el diagnóstico. El control y la erradicación de la brucelosis bovina son posibles aplicando estrictamente estas medidas. Además, la industria lechera puede aplicar precios diferenciados a las fincas que provean leche de animales libres de brucelosis, constituyéndose también en una excelente medida para controlar la enfermedad.

Palabras clave: Brucelosis, diagnóstico, vacunación, control.

Abstract

Bovine brucellosis is an infectious-contagious disease that is transmitted to humans by consuming unpasteurized dairy products or being in contact with infected animals. *Brucella abortus* is the bacterium that infects animals causing infertility, occasional abortions and orchitis in males. The control of brucellosis is based on four fundamental aspects: knowledge of the *disease*, precise diagnosis, vaccination and elimination of positive animals with a single destination: sacrifice. In an affected herd, abortions occur between the sixth and eighth month, shedding a huge amount of bacteria to the environment infecting the rest of the animals which share the pasture.

The immediate diagnosis, usually by serological techniques, is essential to know the current prevalence and in this way, to isolate the infected animals as soon as possible to transport them to slaughterhouse. Vaccination with strain 19 or RB51 is very important for the prevention of the disease. All calves must be vaccinated, with strain RB51 or with strain 19 according to the legislation of each country. A good practice is also to revaccinate all females before the first service with the RB51 vaccine, which does not induce the production of antibodies that confuse the diagnosis. By strictly applying these measures, the control and eradication of bovine brucellosis is possible. In addition, the dairy industry can apply differentiated prices to the farms that provide milk from animals free of brucellosis, being also an excellent approach to control the disease.

Keywords: brucellosis, diagnosis, vaccinate, control.

Introducción

La brucelosis es una enfermedad infecciosa de los animales que se transmite al hombre constituyendo una zoonosis. Es producida por bacterias del género *Brucella* que afecta enormemente la economía pecuaria, constituyendo una seria perturbación en la marcha normal de las explotaciones ganaderas, por las pérdidas que ocasiona y las implicaciones en la salud pública (Acha & Zyfres, 2003).

El ser humano se infecta por contacto con animales enfermos o subproductos contaminados de los mismos (leche no pasteurizada), sin descartar la mala manipulación de las jeringas al vacunar animales contra la brucelosis. En los humanos puede causar una amplia gama de síntomas, desde aquellos similares a una gripe a una severa infección del sistema nervioso central o cardíaca. Puede manifestarse en forma crónica, causando síntomas que incluyen fiebre recurrente, dolores asociados y depresión. La fiebre ondulante, con abundante sudoración es la forma más común de presentación de la brucelosis (Acha & Zyfres, 2003).

La brucelosis bovina está presente en todos los países de Suramérica a pesar de que desde hace muchos años se han sucedido diversos programas para su control y erradicación. La mayoría de ellos se basó en la vacunación de terneras, identificación y eliminación de animales positivos. Si bien estos aspectos son fundamentales en el éxito de dichos programas, otros aspectos generales deben considerarse para que lleguen a buen término. Algunos de ellos se complementarán a continuación.

El género *Brucella* está compuesto por bacterias de forma cocobacilar, Gram negativas, intracelulares, facultativas, capaces de producir brucelosis en una gran variedad de animales. Los reservorios de las brucelas clásicas son los bovinos (*B. abortus*), caprinos (*B. melitensis*), ovinos (*B. melitensis* and *B. ovis*), porcinos (*B. suis*), caninos (*B. canis*) y mamíferos marinos (*B. cetaceae* y *B. pinipidae*). Últimamente se han descrito otras especies de *Brucella*, tales como la *B. microti* (topos en Europa) y *B. iopinata* (implante mamario), *B. papionis* (monos) y *B. vulpis* (zorro rojo) (El Saied, A., & Awad, W., 2018). Ninguna de ellas hasta ahora demostró tener importancia en la cadena epidemiológica de infección a los animales y el hombre.

Estas bacterias ingresan en el organismo por las mucosas del tracto digestivo, genital o nasal, por la conjuntiva ocular o por soluciones de continuidad de la piel. En los rumiantes, la principal puerta de entrada es la mucosa orofaríngea del aparato digestivo superior, de allí son llevadas hasta los linfonódulos y fagocitadas, principalmente por macrófagos. Estas bacterias tienen afinidad por los órganos reproductivos en los animales domésticos y en el hombre. Uno de los desafíos que debe enfrentar esta bacteria, que se multiplica en trofoblastos o macrófagos, es adaptarse al nuevo compartimento intracelular y, al mismo tiempo, resistir las condiciones severas generadas por el sistema inmune, incluyendo la activación de la fagocitosis.

Los fagocitos han desarrollado varios mecanismos de defensa antimicrobiano para eliminar este tipo de patógenos, por ejemplo, estallido oxidativo, acidificación de fagosomas

o fusión de fagosomas con lisosomas. A su vez, *Brucella* ha desarrollado estrategias para impedir la acción de las sustancias defensivas de las células huésped, lo que le permite sobrevivir dentro del macrófago (Enright, 1990).

Como en otras bacterias Gram negativas, el lipopolisacárido (LPS) de *Brucella* es un importante componente de la membrana externa compuesto por el lípido A hidrofóbico y un core de oligosacárido densamente compacto, asociado (LPS-liso) o no (LPS-rugoso) con una cadena de polisacárido O hidrofílico (Cadena O). En las cepas lisas de *B. abortus*, el LPS está implicado en la virulencia bacteriana, a diferencia de las cepas rugosas donde el LPS pierde su virulencia debido a la ausencia de cadena O; de esto se infiere que la cadena O es un componente clave del LPS para la invasión y desarrollo de la bacteria. En la práctica, el LPS es el causante de la producción de anticuerpos en los animales infectados y/o los animales vacunados con cepa 19 detectados por las técnicas serológicas empleadas para el diagnóstico de esta enfermedad (Nielsen, 2002).

Aspectos de importancia en la brucelosis bovina

El control de la brucelosis se basa en cuatro aspectos fundamentales: El conocimiento de la enfermedad, el diagnóstico correcto, la vacunación y la eliminación de los animales positivos con un único destino: el sacrificio. Los aspectos principales de esta enfermedad se describen brevemente en la Figura 1.



Figura 1: Síntomas clínicos de la brucelosis

En los rumiantes, la infección se adquiere mayormente por vía oral, nasal o conjuntival. Luego de haber atravesado las mucosas, *Brucella* se localiza en los ganglios linfáticos retrofaríngeos o submaxilares, entre los más frecuentes, para de allí diseminarse hacia otros órganos linfoides como el bazo, los ganglios ilíacos y los retromamarios. El periodo de incubación está relacionado con el estado fisiológico de la hembra. En la hembra no gestante, la bacteria puede permanecer localizada en los ganglios retromamarios. Durante la gestación, *Brucella* invade el útero en donde se multiplica masivamente y allí provoca una endometritis con ulceración de los espacios intercotiledonarios y compromiso de la membrana corioalantoidea, de los cotiledones placentarios, alojándose preferentemente en los trofoblastos eritrofagocíticos. En el caso de una primoinfección, el proceso culmina de modo característico por el aborto durante el último tercio de la gestación. La retención de placenta y la metritis son secuelas frecuentes (Figura 2). Rara vez el animal infectado aborta por segunda vez, sin embargo, quedan infectados, eliminando *Brucella* con cada parto. Los neonatos pueden infectarse en el útero (latencia o síndrome de las novillas), aunque con baja frecuencia. En el toro, la enfermedad se caracteriza por orquitis y/o epididimitis y, a menudo, también

prostatitis y seminovesiculitis. En circunstancias de enfermedad crónica se producen artritis y sinovitis no supurativas.

La principal forma de contagio es por vía digestiva por la ingestión de alimentos y bebidas contaminadas con secreciones vaginales y leche de hembras enfermas; sin embargo, la brucelosis bovina no es una enfermedad venérea. El periodo de incubación de la brucelosis siempre es más corto en el animal preñado. El signo principal de la enfermedad es el aborto al final del tercio medio de la preñez (de 5 a 7 meses). La principal fuente de contagio son las secreciones vaginales que se producen desde 15 días antes del aborto o parto hasta las cuatro semanas siguientes al mismo. Se demostró que se eliminan hasta 1×10^{14} brucelas por gramo de placenta, lo que indica la gravedad que representa el aborto y el parto normal de un animal bruceloso que, sin embargo, elimina tantas brucelas como aquel que pare. Se debe remarcar que un tercio de las hembras bovinas brucelosas no abortan nunca, pero son iguales o más peligrosas en cuanto al contagio para otros animales, especialmente en el parto (Figura 2). La retención de placenta acompaña frecuentemente a los abortos y/o partos de animales brucelosos. El calostro y la leche cruda también son portadores de brucelas y la eliminación es intermitente. En el medio, *Brucella* sobrevive por periodos relativamente largos, teniendo en cuenta que es una bacteria no esporulada. En el suelo húmedo y el estiércol usado como abono se registran tiempos de sobrevivencia de hasta 80 días y en el polvo, según la humedad ambiente, entre 15 y 40 días. Sin embargo, el sol directo (luz ultravioleta) destruye la mayoría de estas bacterias, por lo que se aconseja en potreros donde hubo animales infectados dejar pasar un tiempo, preferentemente cálido (2 o 3 meses de verano) antes de introducir nuevos animales.



Figura 2. Retención de placenta por Brucelosis

Crédito foto polarización fluorescente. Foto. Instituto Colombiano Agropecuario (Ica). Tomada de <https://goo.gl/jzVDvh>

Infección de un establecimiento

La causa fundamental de la infección de un establecimiento se debe a introducir animales infectados procedentes de compras de ferias u otros establecimientos o animales que se trasladen a otros campos para engorde y vuelvan infectados. Por tal motivo, es recomendable conocer el estado sanitario del hato que proviene. Al detectar animales positivos en los animales de compra no se debe adquirir ningún integrante del lote, pues existe la alta probabilidad de que haya animales en fase de incubación que no fueron detectados todavía. De manera alternativa también contribuyen los perros, zorros, u otros animales carnívoros que llevan restos de fetos abortados, placentas u otros materiales infectados pero, sin duda, no juegan el papel que juega el hombre quien, por descuido, introduce animales infectados sin su respectivo control. Otro punto muy importante de considerar es el vecino colindante: de nada vale si una finca controla perfectamente la enfermedad y hay fincas adyacentes infectados por brucelosis. La brucelosis es una enfermedad comunitaria y debe combatirse

entre todos, es allí donde los veterinarios privados y las autoridades estatales deben tomar medidas para que el control de la enfermedad se haga en forma integral.

Diagnóstico

El diagnóstico se puede diferenciar en clínico y de laboratorio. Clínicamente es muy difícil determinar la brucelosis bovina con precisión, los abortos y la retención de placenta pueden ser un importante indicio de la presencia de la enfermedad. La orquitis y la presencia de artritis, fundamentalmente en rodillas, pueden tener también un origen en la brucelosis (Figura 1). El diagnóstico de laboratorio de la brucelosis, como de otras enfermedades, comienza con una buena toma de las muestras que serán enviadas para su estudio. Si son muestras para diagnóstico bacteriológico deben tomarse en forma aséptica, ser enviadas lo más rápido posible al laboratorio y también agregarse hielo (estuches prefabricados) para su mejor conservación. Las muestras por excelencia para este tipo de diagnóstico son, si hay abortos, un trozo de pulmón, bazo y contenido estomacal tomado con jeringa estéril. De lo contrario, puede enviarse leche del animal positivo o abortado donde se toma un “chorro” de cada cuarto en envase estéril. Si por algún motivo no es posible enviar rápidamente al laboratorio la muestra para estudios bacteriológicos debe congelarse la misma hasta su envío. El diagnóstico de certeza es el aislamiento del germen causal, en este caso *Brucella abortus*, por ello es recomendable que cada país conozca qué biovariedades están presentes en su territorio.

Por ejemplo, en toda América está presente la biovariedad 1, sin embargo en Argentina también está presente la biovariedad 2, que ocasiona

severas tormentas de abortos, natimortos y es más patogénica para el hombre (Samartino, 2002). La frecuencia de aislamiento de esta biovariedad es escasa, pero también es escaso el diagnóstico bacteriológico que se hace de los rodeos con problemas de brucelosis por la dificultad que el mismo ocasiona. Los laboratorios donde se hacen estudios bacteriológicos de brucelas deben contar con las condiciones de bioseguridad necesaria para que el mismo pueda desarrollarse en forma adecuada.

El diagnóstico de la brucelosis bovina se realiza fundamentalmente por métodos serológicos (Alton *et al.*, 1988, OIE., 2017). En Argentina se utiliza la prueba del antígeno buferado de placa (BPA) como prueba tamiz, pero en la mayoría de los países del continente se realiza la Rosa de Bengala (RB). En todos los casos, los sueros reaccionantes deber ser procesados con las pruebas complementarias (Samartino, 2002). Varios países como Argentina y Brasil, por ejemplo, aun utilizan la prueba lenta en tubo y 2-mercaptoetanol (2-ME) en forma simultanea y como definitiva se utiliza la prueba de fijación de complemento (FC), que se observa en la Figura 4 (Samartino, 2002).

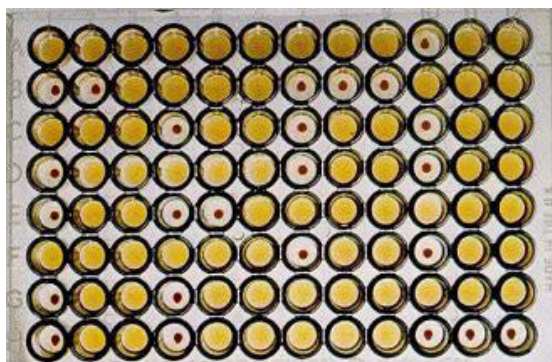


Figura 3. Técnica de fijación de complemento

Esta metodología ha demostrado ser muy eficaz en el diagnóstico de la enfermedad, sin embargo, se puede objetar su lentitud y también la toxicidad del 2-ME. En Uruguay, la prueba de Rivanol ha sido usada por muchos años con muy buenos resultados. Hace unos años se incorporaron otros métodos diagnósticos previamente validados en laboratorios en el INTA de Castelar, en las décadas del 80 y 90, respectivamente: la ELISA Indirecta, de competición y la Polarización fluorescente (ambas desarrolladas en los laboratorios del Animal Research Disease Institute, ADRI, Canadá), que se aprecia en la Figura 4 (Samartino, L. 2002). Estas técnicas tienen como ventaja, además de su automatización, mayor sensibilidad y especificidad, que son capaces de distinguir aquellos animales vacunados con cepa 19 de los animales infectados. Sin embargo, debe recordarse que ni la ELISA indirecta ni la fijación de complemento discriminan animales infectados de vacunados. Para vigilancia epidemiológica de las fincas lecheras, la prueba de anillo en la leche ha sido utilizada desde la década del 40, una muy buena prueba, simple y fácil de hacer, aunque carece de una sensibilidad y especificidad ideal. Últimamente, varios países la han reemplazado por la ELISA

29



Figura 4. Técnica de polarización fluorescente

indirecta en leche que arroja resultados más exactos con mayor sensibilidad que la anterior. El diagnóstico de la brucelosis bovina también puede hacerse por métodos moleculares. Técnicas como la reacción de la polimerasa en cadena (PCR) permiten detectar el ADN bacteriano en tejidos e incluso existen métodos para identificar la especie y la biovariedad actuante (Ewalt & Bricker, 2000; Whatmore, *et al.*, 2006). Desde luego, estas metodologías se realizan en laboratorios de mayor complejidad. En brucelosis bovina existen las suficientes herramientas para realizar un diagnóstico preciso. De todos modos, es importante recalcar que cada país debe fijar su estrategia y elegir su metodología de diagnóstico de acuerdo con su programa de control.

Vacunación

La vacunación contra la brucelosis bovina es obligatoria. La cepa 19, se conoce desde la década del 30, cuando comenzó a aplicarse en los Estados Unidos. Esta vacuna es una cepa de *B. abortus* atenuada naturalmente y se ha empleado en los últimos 50 años para prevenir la brucelosis (Nicoletti, 1990). La inmunidad otorgada es relativa y oscila entre 60-70%. En muchos países se vacunan las terneras entre los 3 y 8 meses de edad con la cepa 19 y no es recomendable la vacunación de adultos por la inducción de títulos serológicos. En un principio, se decía que la cepa 19 protege de por vida, pero varios factores pueden influir en que esta afirmación no sea exacta, tales como la prevalencia de la enfermedad, la cantidad de animales enfermos, la alta tasa de abortos y la eliminación de brucelas, entre otros. Por ello en los Estados Unidos, en la década del 70, al ver que la enfermedad en los bovinos había disminuido, pero estaba lejos de controlarse, se decidió implementar el programa de vacunación de adultos con dosis

reducida. Esta dosis tenía un logaritmo menos de concentración a la dosis habitual y por ello los títulos serológicos debían desaparecer antes de los 6 meses posvacunación (Nicoletti, 1990). Un programa similar fue implementado también en los años 80 en Chile. Sin embargo, a pesar de que la vacunación de adultos disminuía en estos países donde se aplicó en forma “organizada”, existía el problema de los animales falsos positivos, que no alcanzaban a reducir su nivel de anticuerpos y eran enviados a frigoríficos injustamente.

Durante la década del 80, se desarrolló en Virginia Tech, USA, una vacuna viva a partir de la cepa virulenta 2308 de *Brucella abortus*. Esta vacuna denominada RB51, es una cepa viva rugosa rifampicina resistente de *Brucella abortus*. Esta cepa rugosa tiene un LPS sin la cadena O, por lo tanto no induce la producción de títulos de anticuerpos que puedan ser detectados por los métodos de diagnóstico convencionales y por ello facilita la identificación de los animales enfermos sin riesgo de que se condenen “falsos positivos” (Schurig *et al.*, 2002; OIE, 2017).

Los distintos estudios realizados permitieron comprobar, tanto en animales de laboratorio como en bovinos, que esta cepa era capaz de generar una protección similar a la conferida por la cepa 19, sin inducir respuestas serológicas que interfiriesen con los tests de diagnóstico, aun en el caso de que los animales recibieran más de una dosis, que era estable, es decir no revertía a la patogenicidad. Actualmente esta vacuna es empleada en la mayoría de los países de América (en USA, México, Chile y Uruguay es la única vacuna utilizada) y algunos países de Europa, cuando es necesario aplicar un programa de control, incluyendo la vacuna. Se

pueden mencionar como programas exitosos en dicho continente la erradicación de la brucelosis bovina en las Islas Azores en Portugal (Martins *et al.*, 2009) y en la región de Extremadura, en España (Sanz, *et al.*, 2010), donde hubo necesidad de aplicar la vacunación para controlar la enfermedad y se decidió utilizar la cepa RB51. En el INTA (Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria de Argentina) se ha estado trabajando desde 1993 con esta vacuna y se demostró que si se aplica la RB51 en animales adultos (incluso en forma repetida), aun siendo vacunados de terneras con cepa 19, no se produce la formación de anticuerpos, lo que facilitaría la vacunación de animales adultos (Samartino, *et al.*, 2000).

De este modo, aquellos países donde la vacunación de terneras es obligatoria con cepa 19 pueden vacunar de adulto a sus animales sin correr el riesgo que se produzcan títulos serológicos que confundan el diagnóstico. Un buen esquema de vacunación en zonas donde la prevalencia de brucelosis es media o alta y hay dificultad para el control de la enfermedad es vacunar de becerras con cepa 19 o RB51 y aplicar una dosis al primer servicio de RB51. Si bien tras la aplicación de la vacuna RB51 en animales preñados, que hayan sido previamente vacunados de becerras con cualquier vacuna, es muy difícil que aborten, no se recomienda vacunar en el último tercio de la gestación pues, primero, es conveniente no someter a un estrés de movimiento a los animales en ese periodo y, segundo, debe recordarse que la vacuna es preventiva y debe aplicarse con el tiempo suficiente para inducir una correcta respuesta inmune (celular) contra la infección y el aborto, que en brucelosis se produce en el último tercio de gestación (Palmer *et al.*, 1997; Samartino *et al.*, 2000; Uzal *et al.*, 2000).

En todos los casos, con cepa 19 o con RB51, la vacunación es un arma imprescindible en aquellos países en donde la brucelosis bovina esté presente. En países en los que se vacuna aún contra la fiebre aftosa, la vacunación es uno de los pilares fundamentales del control de la enfermedad y al poder aplicarse en forma simultánea con la vacuna antiaftosa contribuye a facilitar el manejo de los animales a vacunar.

Control

En América Latina, la brucelosis bovina está presente, en mayor o menor medida, en todos los países. Uruguay y Chile son los países que mayor han avanzado en el control de esta enfermedad y tienen sus propios programas de control, generalmente, con base en la vacunación de terneras obligatoria, vacunación optativa de adulto, control de los hatos (serológico), separación y eliminación de los animales infectados.

Los conocimientos para el diagnóstico de la enfermedad y para su prevención están ampliamente difundidos, sin embargo no siempre se aplican correctamente y es allí donde se produce una falla y el control de la enfermedad se hace muy difícil.

El factor económico juega un papel preponderante para el productor quien, inevitablemente, debe eliminar sus animales positivos. La retención de dichos animales enfermos solo incrementa la perpetuación de la enfermedad. Por ello, es imprescindible que cada país tenga su programa de control y/o erradicación, con

normas generales, contemplando las metodologías conocidas que puedan ser aplicadas de manera realista y que siempre estén disponibles para su aplicación. En otras palabras, siempre debe haber vacunas y reactivos de diagnóstico disponibles para que los laboratorios habilitados y/o acreditados por el organismo de control puedan dar una respuesta en tiempo y forma de los resultados de los análisis realizados constituyendo de esta forma un programa de control eficiente que beneficie al productor, los veterinarios y al servicio oficial.

Conclusiones

La brucelosis bovina es una enfermedad difícil de erradicar, sin embargo, aplicando la tecnología disponible para prevenir y diagnosticar la enfermedad, así como el sentido común para segregar y eliminar los animales positivos se puede llegar a realizar.

En varias regiones, el sector lechero ha tomado una ventaja en el control de la enfermedad, especialmente en aquellos lugares en los que, además de emplear las herramientas técnicas que han sido explicadas, se favorece con el precio diferenciado la entrega de leche “negativa”, lo que ha influido en una notable evolución en la lucha contra la brucelosis.

Sin duda alguna, el control de la brucelosis bovina demanda un esfuerzo enorme pero el cumplimiento de este objetivo aportará un gran beneficio económico y social.

Referencias

- Acha, P. & Szyfres, B., (2003). *Zoonoses and communicable diseases common to man and animals, vol. 1.* (3ª ed.). Washington, D.C.: Pan American Health Organization (PAHO).
- Alton, G.G., Jones, L.M., Angus, R.D. & Verger, J.M. (1988). *Techniques for the brucellosis laboratory.* Paris, France: INRA
- El Saied, A. & Awad, W. (2018). Brucellosis: evolution and expected comeback. *Int. J. of Vet. and Med.*, 6, 31-35.
- Enright, F. (1990). In pathogenesis and pathobiology of brucellosis in domestic animals. En Nielsen K. and Duncan J.R. (Eds), *Animal brucellosis (pp. 301-320)*. Boca Raton, USA: CRC Press.
- Ewalt, D. & Bricker, B. (2000). Validation of the abbreviated AMOS PCR as a rapid screening method for differentiation of *Brucella abortus* field strain isolates and the vaccine strains, 19 and RB51. *J. Clin. Microbiol.*, 38, 3085–3086.
- Martins, H., Garin-Bastuji, B., Lima, F., Flor, L., Pina Fonseca, A. & Boinas, F., (2009). Eradication of bovine brucellosis in the Azores, Portugal—Outcome of a 5-year programme (2002–2007) based on test-and-slaughter and RB51 vaccination. *Prev. Vet. Med.*, 90, 80–89
- Nicoletti, P. (1990). Vaccination. En En Nielsen K. and Duncan J.R. (Eds), *Animal brucellosis (pp. 284-290)*. Boca Raton, USA: CRC Press.
- Nielsen, K. (2002). Diagnosis of brucellosis by serology. *Vet. Microbiol.*, 90, 447–459.

OIE. (2017). Bovine brucellosis. En *Manual of standards for diagnostic tests and vaccines*. Paris, France: Office International des Epizooties.

Palmer, M., Olsen, S. & Cheville, N., (1997). Safety and immunogenicity of *brucella abortus* strain RB51 vaccine in pregnant cattle. *Am. J. Vet. Res.*, 58, 472–477.

Samartino L., Fort, M., Gregoret, R. & Schurig, G. (2000). Use of *Brucella abortus* vaccine strain RB51 in pregnant cows after calthood vaccination with strain 19 in Argentina. *Prev. Vet. Med.*, 45, 193–199.

Samartino, L. E. (2002) Brucellosis in Argentina. *Vet. Microbiol.*, 90(1–4), 71–80.

Sanz, C., Sáez, J., Alvarez, J., Cortés, M., Pereira, G., Reyes, A., Rubio, F., Martín, J., García, N., Domínguez, L., Hermoso-de-Mendoza, M. & Hermoso-de-Mendoza, J. (2010). Mass vaccination as a complementary tool in the control of a severe outbreak of bovine brucellosis due to *Brucella abortus* in Extremadura Spain. *Prev. Vet. Med.*, 97(2), 119-25.

Schurig, G., Sriranganathan, N. & Corbel, M. (2002). Brucellosis vaccines: past, present and future. *Vet. Microbiol.*, 90, 479-496.

Uzal, F., Samartino, L., Schurig, G., Carrasco, A., Nielsen, K., Cabrera & Taddeo, H. (2000). Effect of vaccination with *Brucella abortus* strain RB51 on heifers and pregnant cattle. *Vet. Res. Comm.*, 24, 143–151.

Whatmore, A., Shankster S., Perre L., Murphy, T., Brew, S., Thirlwall, R., Cuttler S. & Macmillan, A. (2006). Identification and characterization of variable-number tandem-repeat markers for typing of *Brucella spp.* *J. Clin. Microbiol.*, 44 (6), 1982–1993.

VIGILADA SUPERSOLIDARIA



Colanta®

Sabe más
Sabe a campo

Lo Natural ES QUE TE GUSTE NUESTRO Quesito

Porque tiene todo el sabor del campo.
COLANTA, el queso, quesito.

Colanta® es de campesinos colombianos.

