

Colombia Mayo 2020
Bienvenidos



*Sabe más,
Sabe a campo*



Plataforma de Formación Virtual



Sabe más,
Sabe a campo

Conceptos Generales sobre

Control de la Brucelosis Bovina

Dr. Luis Ernesto Samartino
luersa00@yahoo.com.ar

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



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

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

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

Wright y Smith en 1897 proponen el test de seroaglutinación.

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

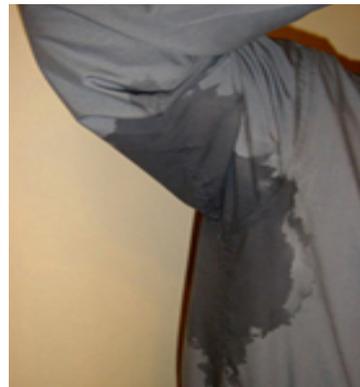


¿Por qué
estamos
discutiendo
sobre esta
enfermedad
prehistórica?

Definición

Es una zoonosis causada por bacterias del género *Brucella*, caracterizada por causar infertilidad y aborto en los animales al final de la gestación, afectando principalmente a varias especies domésticas, productoras de alimentos.

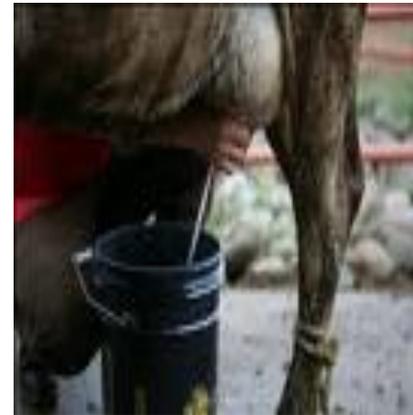
En el hombre causa síntomas que similares a estados gripales como:



Factores de Riesgo



Sabe más,
Sabe a campo



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 Bovina

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

Brucelosis animal

Conocimiento de la Enfermedad



Sabe más,
Sabe a campo

- Etiología
- Epidemiología
- Patogénesis
- Métodos de control
- **Implementación de los conocimientos adquiridos**

AGENTE CAUSAL

Brucella abortus



Coco bacilo

Bacteria Gram negativa

AGENTE ETIOLÓGICO

Brucella

- 1° - *B. melitensis* - 3 biovares – caprinos y ovinos
- 2° - *B. suis* - 5 biovares suinos y la *B. suis* 4 renos
- 3° - *B. abortus* - 7 biovares – bovinos
- 4° - *B. canis* – caninos
- 5° - *B. ovis* – ovinos
- 6° - *B. neotomae* – rata del desierto (USA)
- 7° - *B. Pinnipedeae* lobos marinos
- 8° - *B. cetaceae* ballenas y delfines
- 9° - *B. microti* (topillos)



Género *Brucella*

ESPECIE

HUESPED

Abortus

Bovinos

Suis

Porcinos

Melitensis

Ovinos

Caprinos

Canis

Canino

Ovis

Ovino

Neotomae

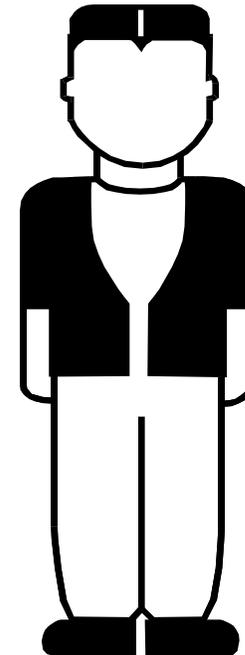
Neotomae lepida (roedor)

Pinnipedeae

Pinnípedos (lobos etc)

Cetaceae

Ballenas, delfines



Human infection by *Brucella melitensis*: an outbreak attributed to contact with infected goats

Jorge C. Wallach ^a, Luis E. Samartino ^b, Adriana Efron ^c, Pablo C. Baldi ^{d,*}

^a Sección Brucelosis, Hospital F.J. Muñoz, Uspallata 2272, 1282 Buenos Aires, Argentina

^b Centro de Investigación en Ciencias Veterinarias, Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), C.C.77, 1708 Morón, Argentina

^c Laboratorio de Microbiología, Hospital Nacional de Pediatría Dr. Juan P. Garrohan, Conchate de los Pozos 1881, 1253 Buenos Aires, Argentina

^d Instituto de Estudios de la Inmunidad Humoral (IDEHU), Junín 956 4to. piso, 1113 Buenos Aires, Argentina

Received 6 May 1997; revised 20 October 1997; accepted 21 October 1997



Brucelosis Bovina

Epidemiología

- Transmisión
- Vías de Infección
- Vías de eliminación(fuente de contagio)
- **Movimientos de animales**
- Prevalencia de la enfermedad en el rodeo, adyacentes, cuartel, partido, región, etc.

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 Bovina

Vías de Eliminación

- Secreciones vaginales post parto-aborto
- Semen
- Leche



Brucelosis Animal

Infección de una finca



Sabe más,
Sabe a campo

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

Introducción de la enfermedad en las fincas



Sabe más,
Sabe a campo

- ¡Participación en eventos!



Animales domésticos afectados por *Brucella abortus*



Abceso escápula (bursitis)





Prevalencia en los rodeos





Sabe más,
Sabe a campo

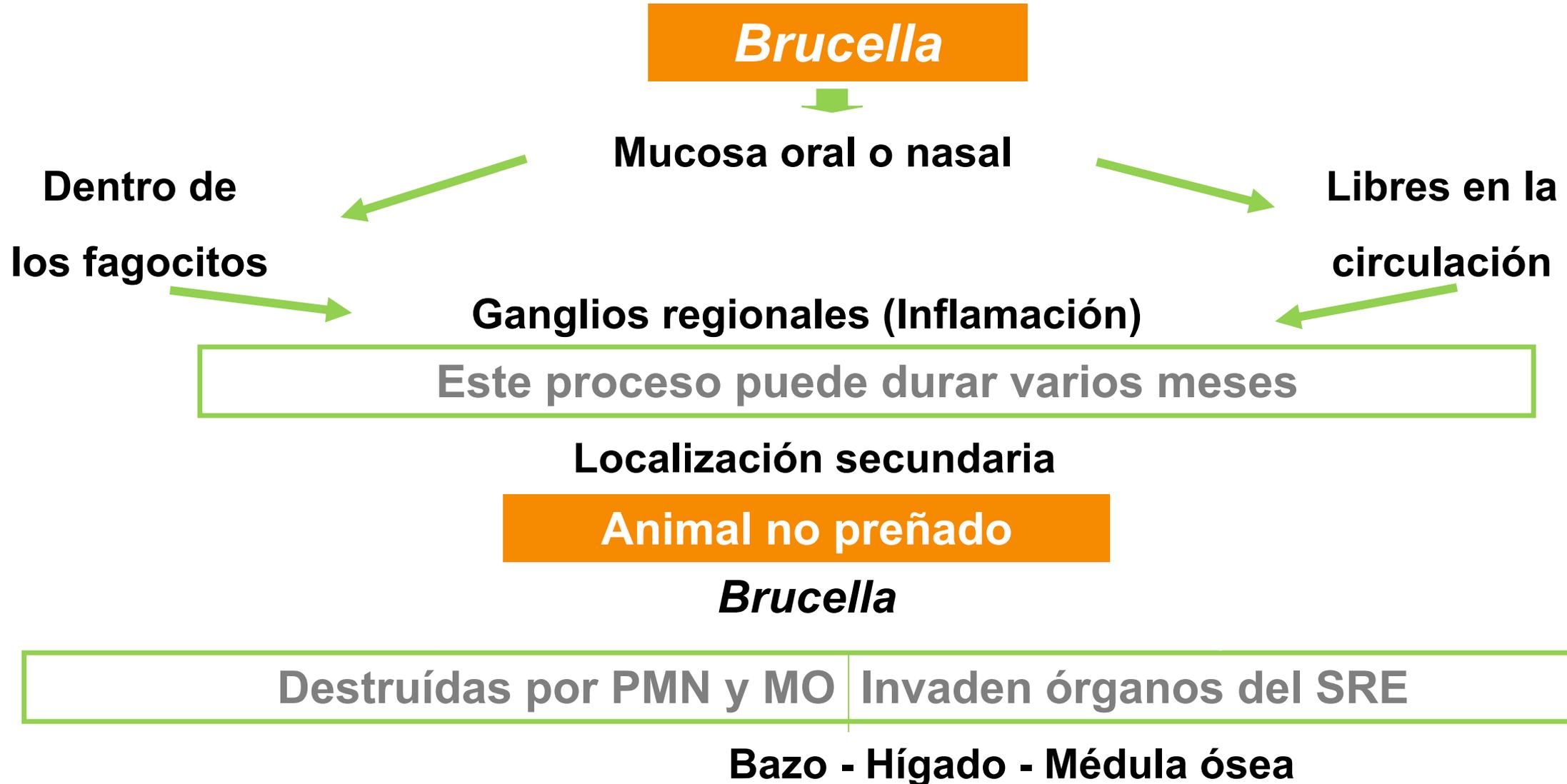


BRUCELOSIS

PATOGENÉNESIS



Sabe más,
Sabe a campo



Brucelosis Bovina

Patogénesis



Sabe más,
Sabe a campo

- **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 SOLO ES IMPORTANTE EN EL HOMBRE
Y EN EL PERRO

BRUCELOSIS

PATOGENÉNESIS



Sabe más,
Sabe a campo

Animal preñado

Vía hematológica

Placenta

Trofoblastos eritrofagocíticos del placentoma - infección contigua

Trofoblastos de la membrana corioalantoidea

(Ulceración y ruptura de la membrana)

Vía hematológica

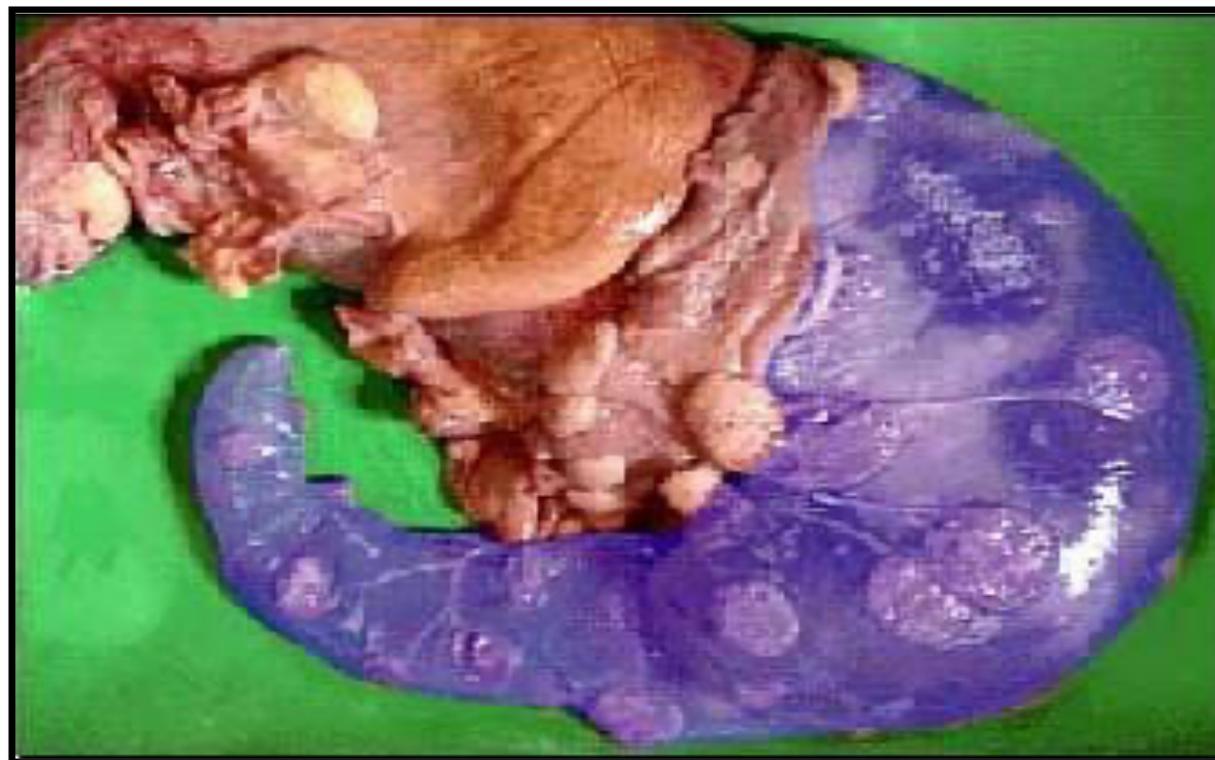
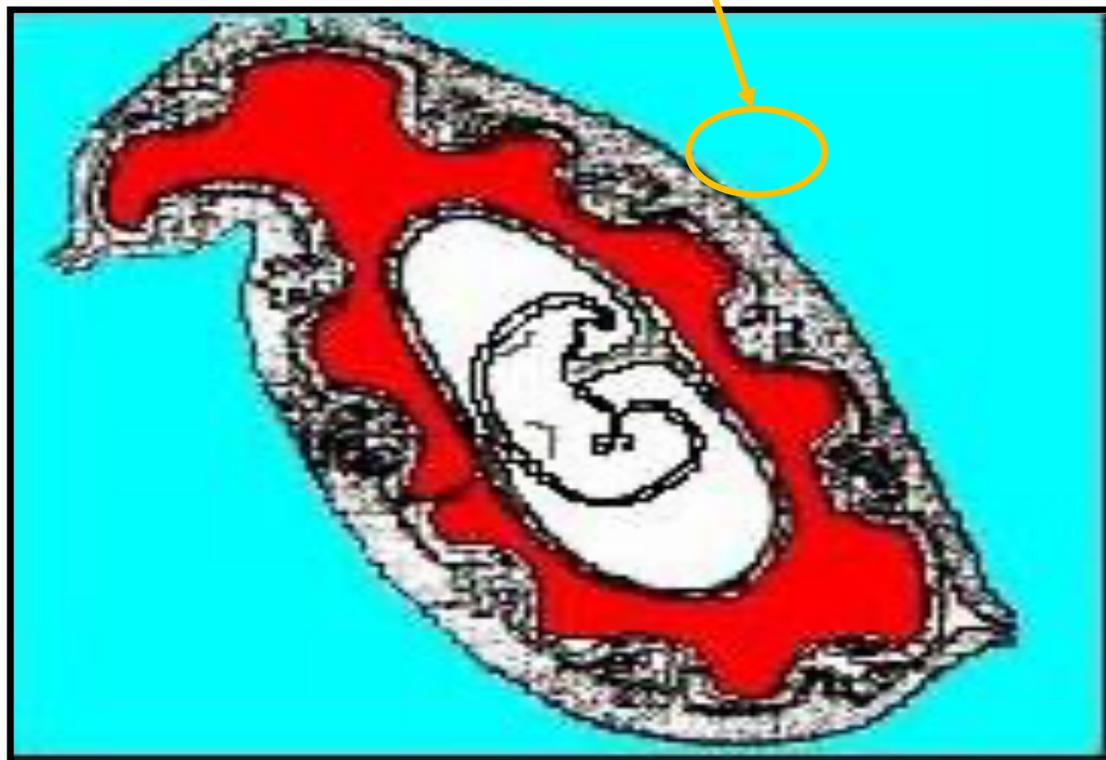
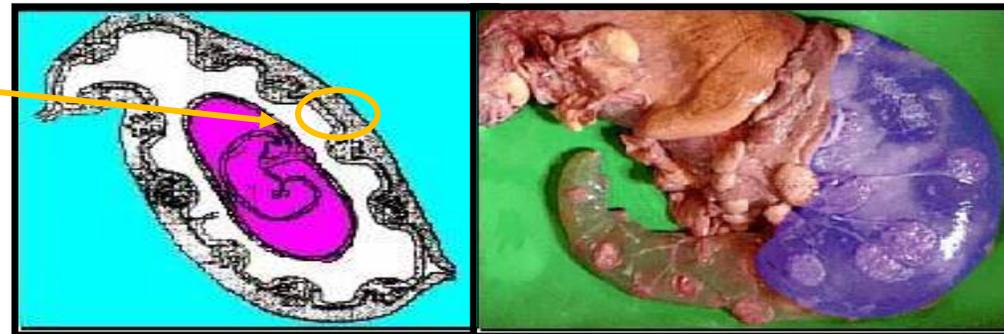
Feto y placentoma

El endometrio no es afectado por *Brucella*

ALANTÓIDE

Tejido córion-alantoidio

AMNIO



Brucelosis Bovina

Patogénesis



Sabe más,
Sabe a campo

- 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 excretadas es variable y puede alcanzar hasta 1×10^{14} /gramos de placenta (rumiantes).

Brucelosis Animal

Patogénesis



Sabe más,
Sabe a campo

- **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 hato a los animales preñados en los que se determine infección brucélica!**

Brucelosis



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 1.5%**

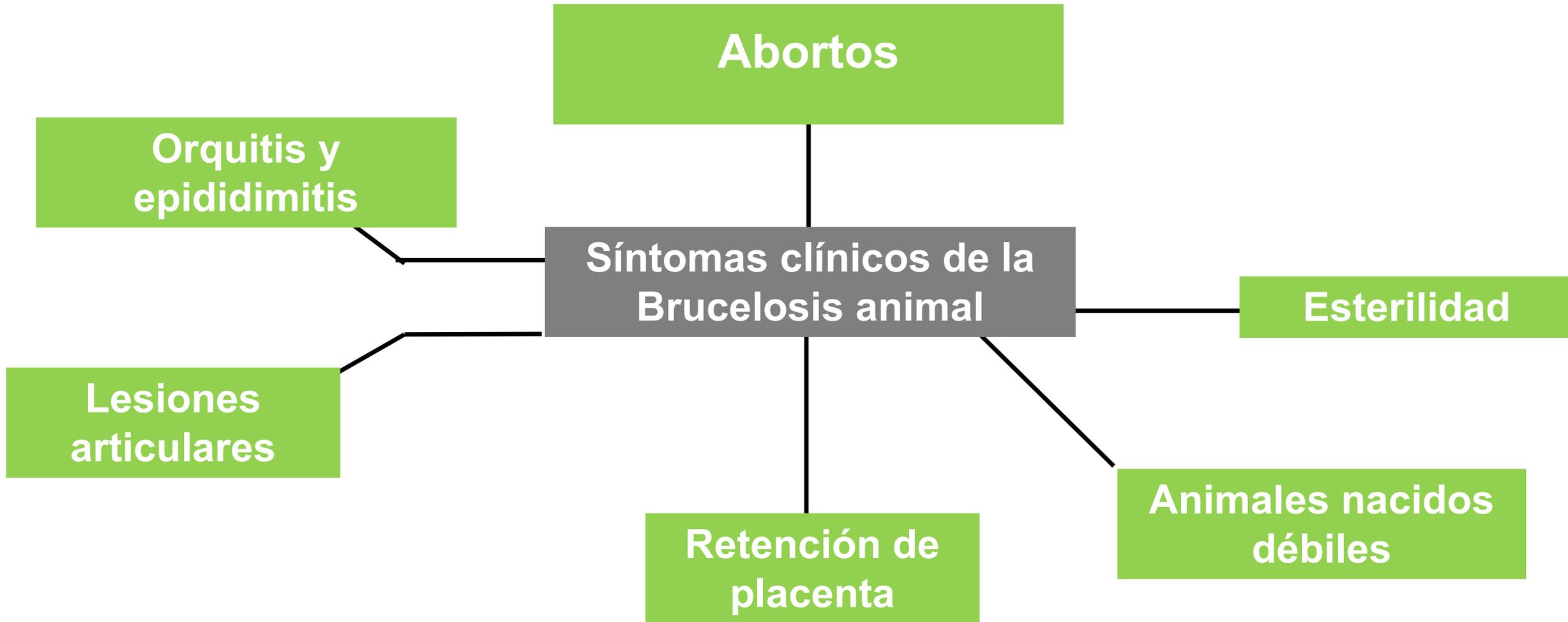
Diagnóstico



Sabe más,
Sabe a campo



Diagnóstico clínico



Toma de Muestras

Identificación

Serológico

Sangre, suero

Leche, semen

Bacteriológico

Fetos: **Pulmón, líquido de abomaso, hígado**

Placenta, membrana corioalantoidea

Leche, calostro

Animal Sacrificado: **Ganglios, bazo, hígado**

Cuando se pretende aislar brucelas, nunca se adicionarán antibióticos y/o bacteriostáticos a los materiales recogidos, los cuales se remitirán rápidamente al laboratorio, refrigerados y/o congelados.



Diagnóstico Bacteriológico

- Es el diagnóstico de certeza. Se realiza en escasas oportunidades debido a su complejidad (bioseguridad).
- Aislamiento e identificación de especies y biovariedades de Brucelas.
- *Brucella* es una bacteria Gram negativa, muy simple.

Diagnóstico Molecular

Reacción de la Polimerasa en Cadena (PCR)

- PCR es muy útil en la identificación de *Brucella* sp.
- PCR puede ser usado para diagnóstico simple en humanos o animales o en alimentos contaminados (quesos).
- PCR puede ser usado para estudios epidemiológicos. Para identificar especies o biovariedades de Brucelas en la región.



Diagnóstico Serológico de la Brucelosis Animal

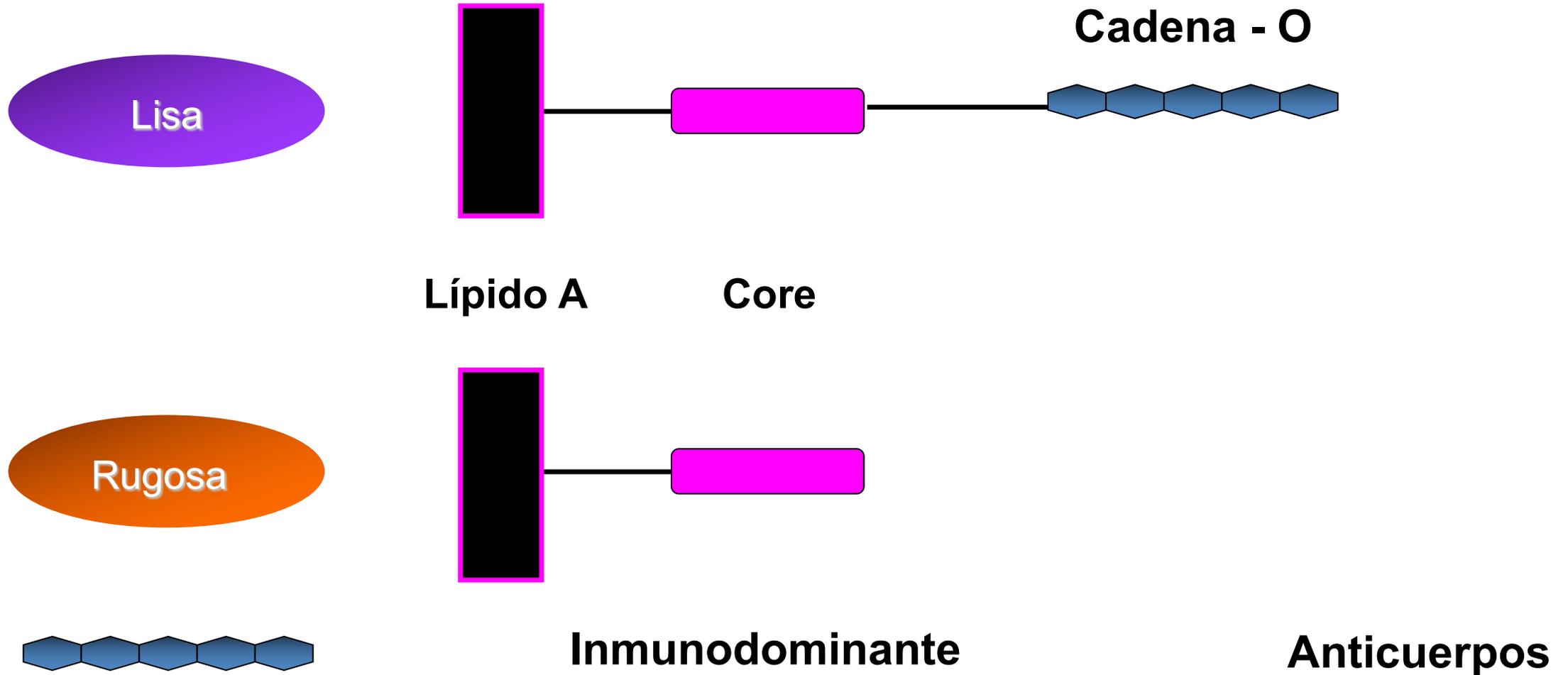


Sabe más,
Sabe a campo

- 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.

Diagnóstico Serológico

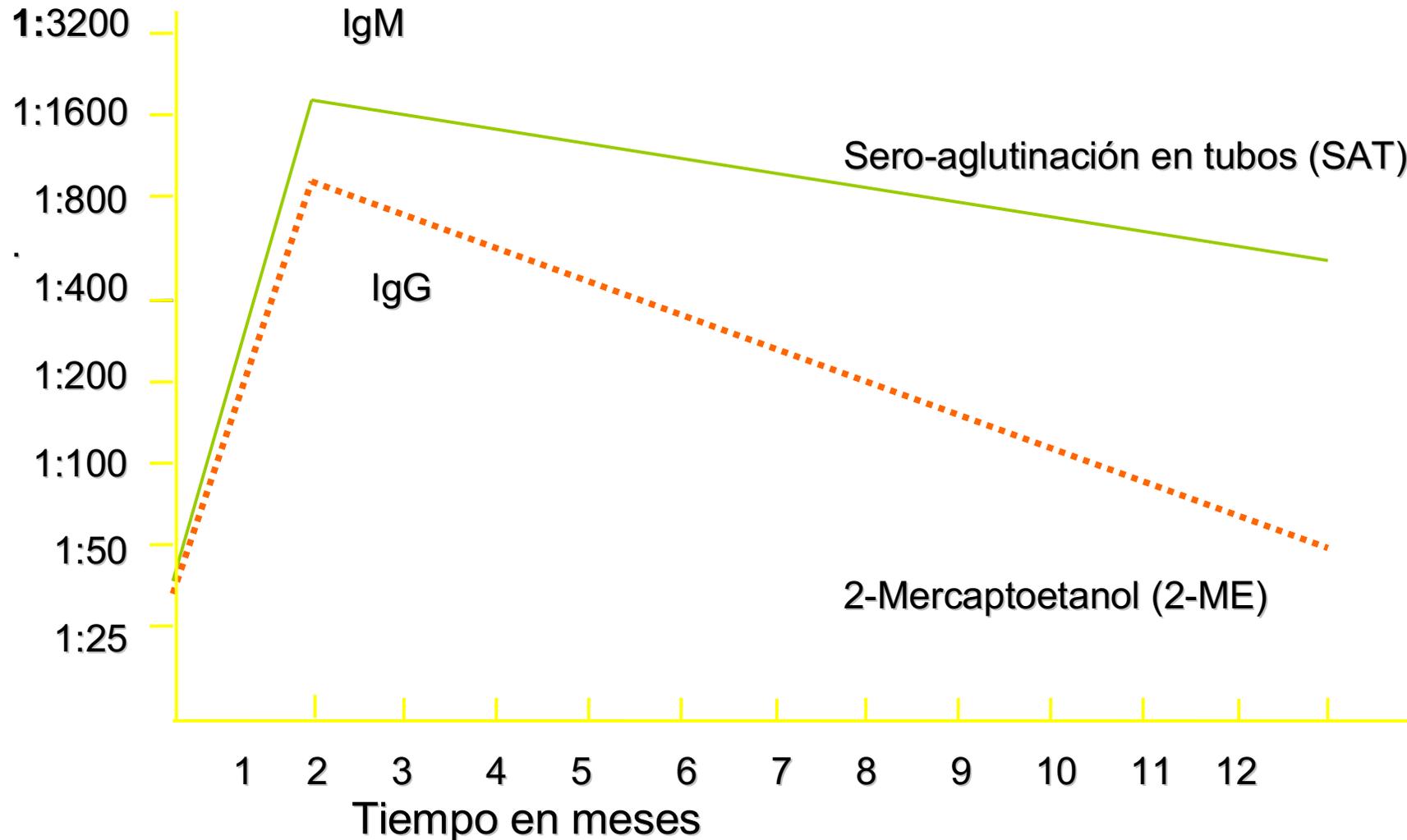
Cepas de *Brucella* Lisa y Rugosa



Evolución de anticuerpos en animales infectados de brucelosis

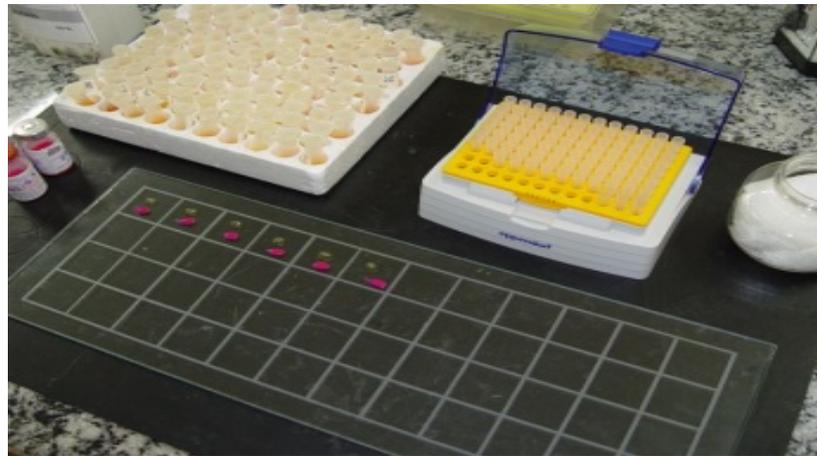
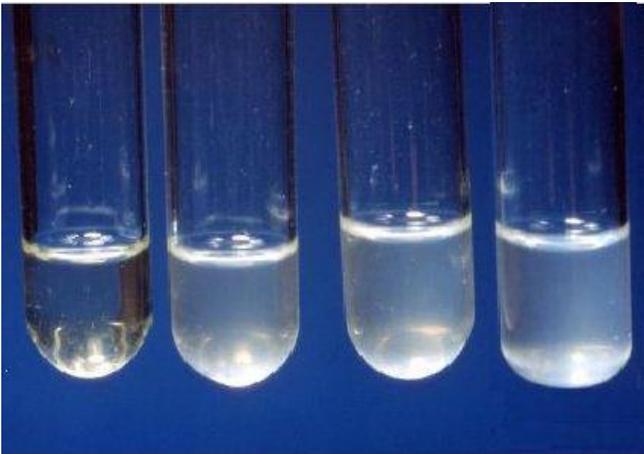


Sabe más,
Sabe a campo



Técnicas para el diagnóstico serológico de la Brucelosis

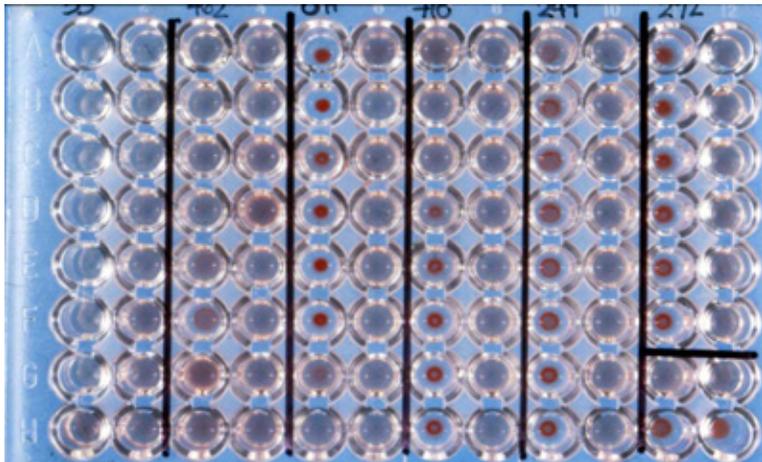
- Tamiz: Antígeno bufferado de placa BPA)/Rosa de Bengala
- Convencionales: Wright,
- Complementarias tests: 2-ME, FC.
- Vigilancia epidemiológica: Anillo en la Leche/IELISA
- Nuevos tests: CELISA Polarización Fluorescente (FPA)



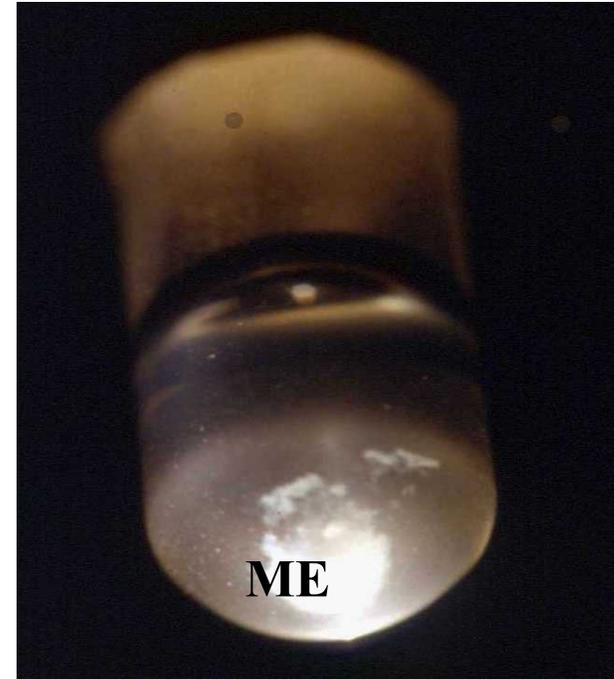
Diagnóstico Serológico de la Brucelosis Bovina



Rosa de Bengala



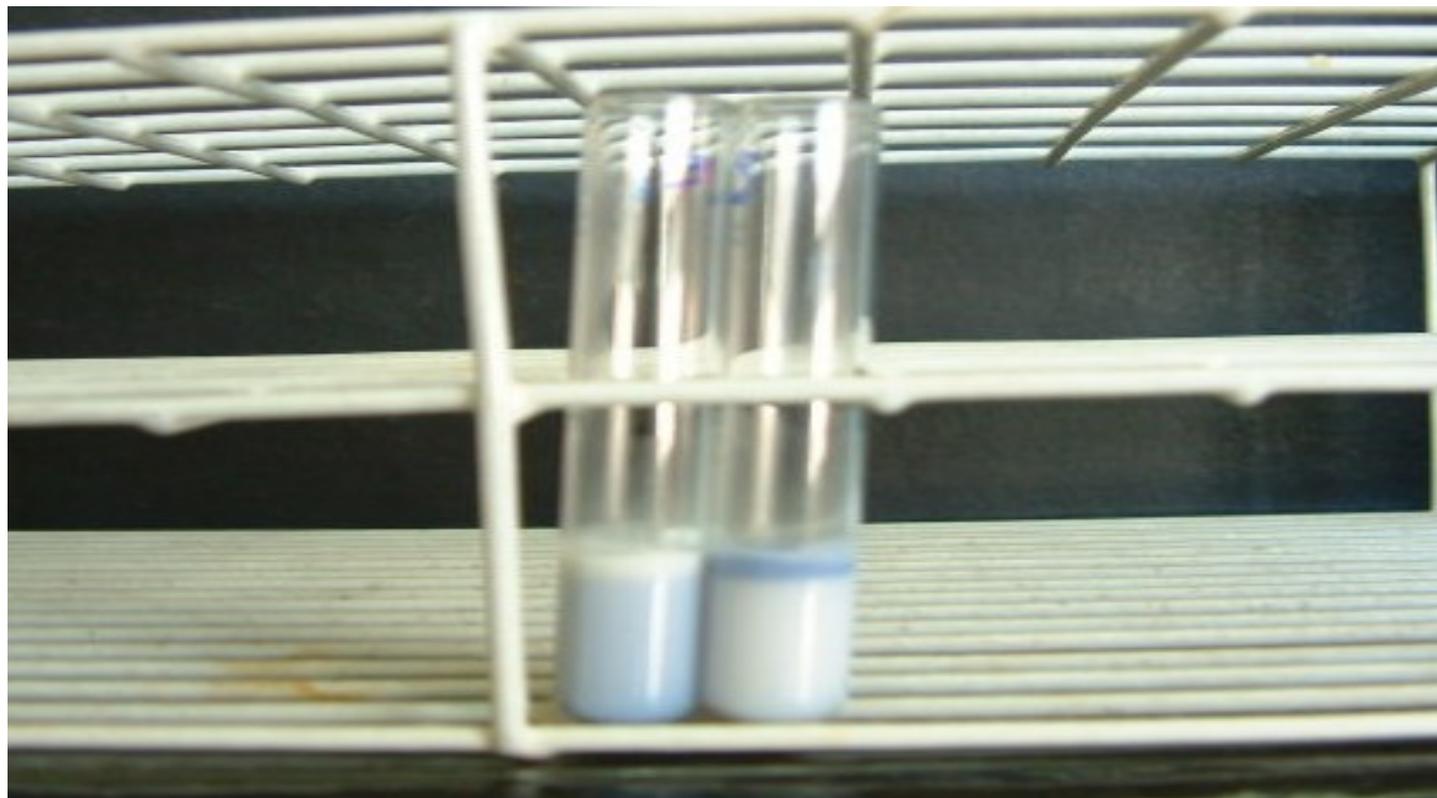
Fijación de complemento



2 mercaptoetanol

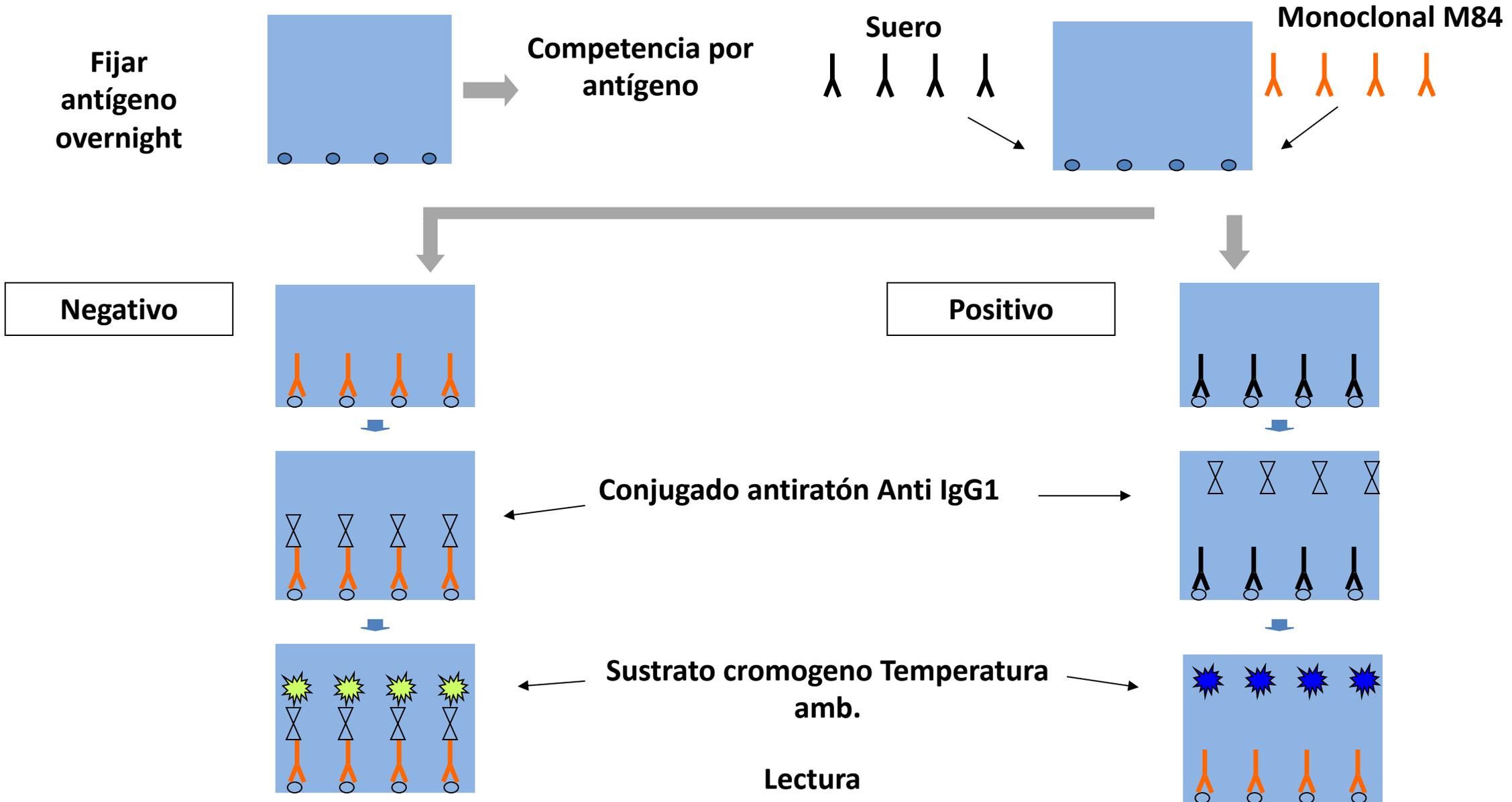
ME

Prueba de Anillo en la Leche



Ring test

Enzimo inmunoensayo de competencia (celisa)



Polarización fluorescente para el Diagnóstico de Brucelosis

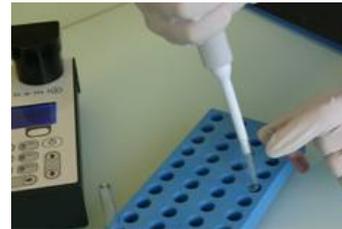


Sabe más,
Sabe a campo

Dilución del buffer



1 Medición de controles



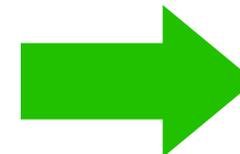
2 Lectura del blanco



3 Adición del antígeno



4 Lectura

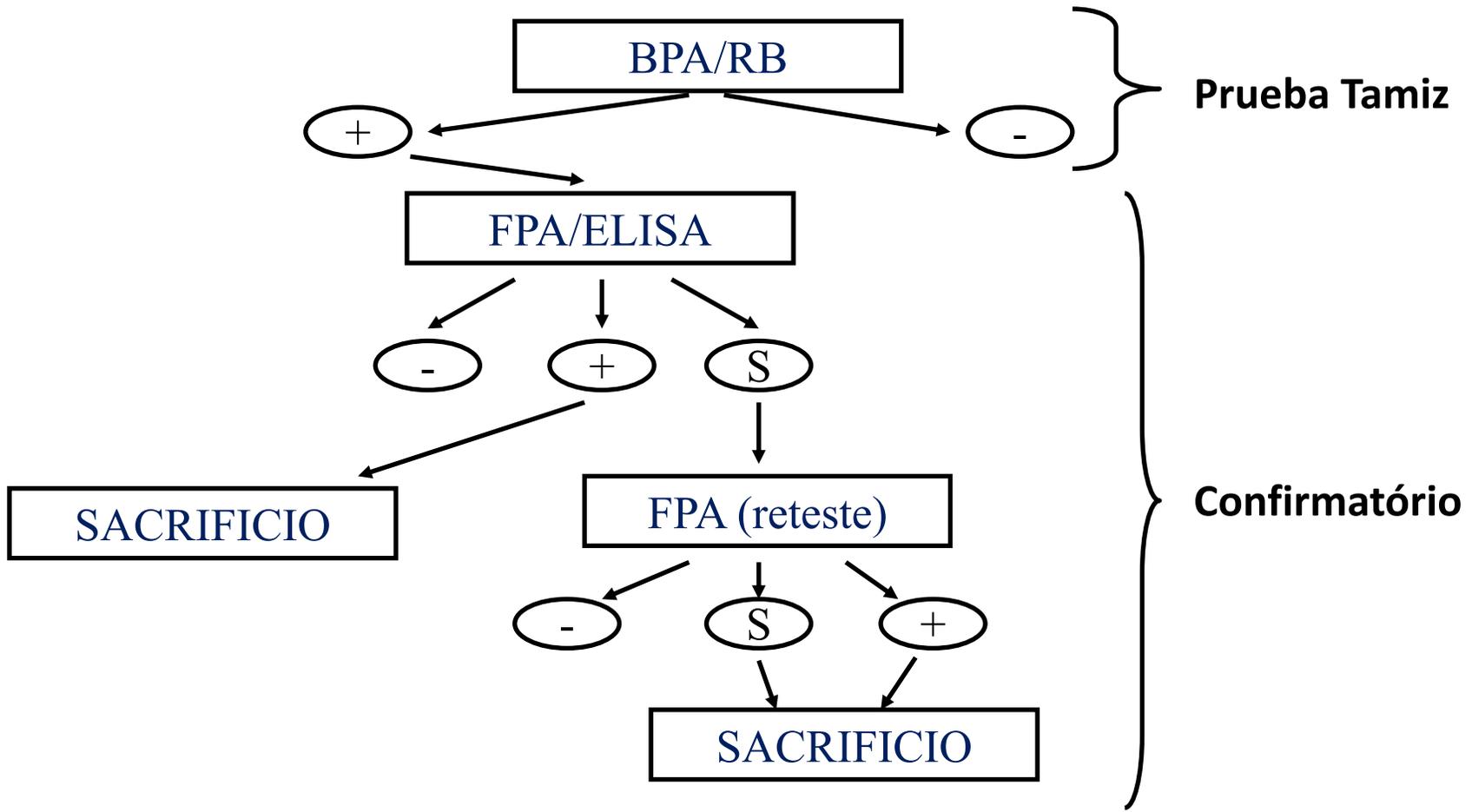


Resultado expresado en
unidades de mP

Etapa alternativa de saneamiento para Brucelosis



Sabe más,
Sabe a campo



Brucelosis en Argentina



Sabe más,
Sabe a campo

Red Nacional de Laboratorios

En Argentina existen 185 laboratorios acreditados que constituyen la red.

- SENASA (central y regionales)
- INTA
- Facultades de Veterinaria
- Privados

Diagnóstico de la Brucelosis Animal

Consideraciones finales



Sabe más,
Sabe a campo

- Ninguna técnica diagnóstica es capaz de detectar el 100% de animales infectados.
- Cada país o región debe adecuar una metodología diagnóstica acorde a sus posibilidades y necesidades.
- La elección de la metodología diagnóstica deberá basarse en los objetivos que se fijen en dicha país o región.

Vacunas



Sabe más,
Sabe a campo



Características Ideales de una vacuna contra la Brucelosis



Sabe más,
Sabe a campo

- 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

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



Sabe más,
Sabe a campo

Vacunas Antibrucélicas

- **Vacunas a gérmenes muertos (Vacuna 45/20 Reino Unido)**
- **Vacunas de última generación**
- **Vacunas a gérmenes vivos atenuados**

Vacunas a gérmenes vivos atenuados naturalmente



Sabe más,
Sabe a campo

- **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



Sabe más.
Sabe a campo

- **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 vivas atenuadas

Cepa 19



Sabe más.
Sabe a campo

- **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 más 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 $15-30 \times 10^9$** →

Estrategias de Vacunación

(ejemplo programa nacional de USA)

- 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.
- **Se plantea el uso de la dosis reducida de Cepa 19, para evitar que los animales vacunados se confundan con los infectados luego de su aplicación.**

Desventajas de la Vacunación de Bovinos Adultos con Cepa 19



Sabe más,
Sabe a campo

- Promediando los años 80 se concluye que **la vacunación de adultos fue fundamental para el control de la brucelosis bovina en USA (Dr. P. Nicoletti)**, sin embargo, se producían los siguientes efectos indeseables:
 - Los títulos vacunales residuales permanentes confundían el diagnóstico en muchos animales.
 - La prueba del anillo en la leche era frecuentemente positiva.
 - Había una “infección” persistente con S 19 (1-3%) en adultos vacunados.
 - Inducción de abortos en animales preñados (1-3%).



lisa

Vacuna Cepa 19

=



lisa

Cepa de campo

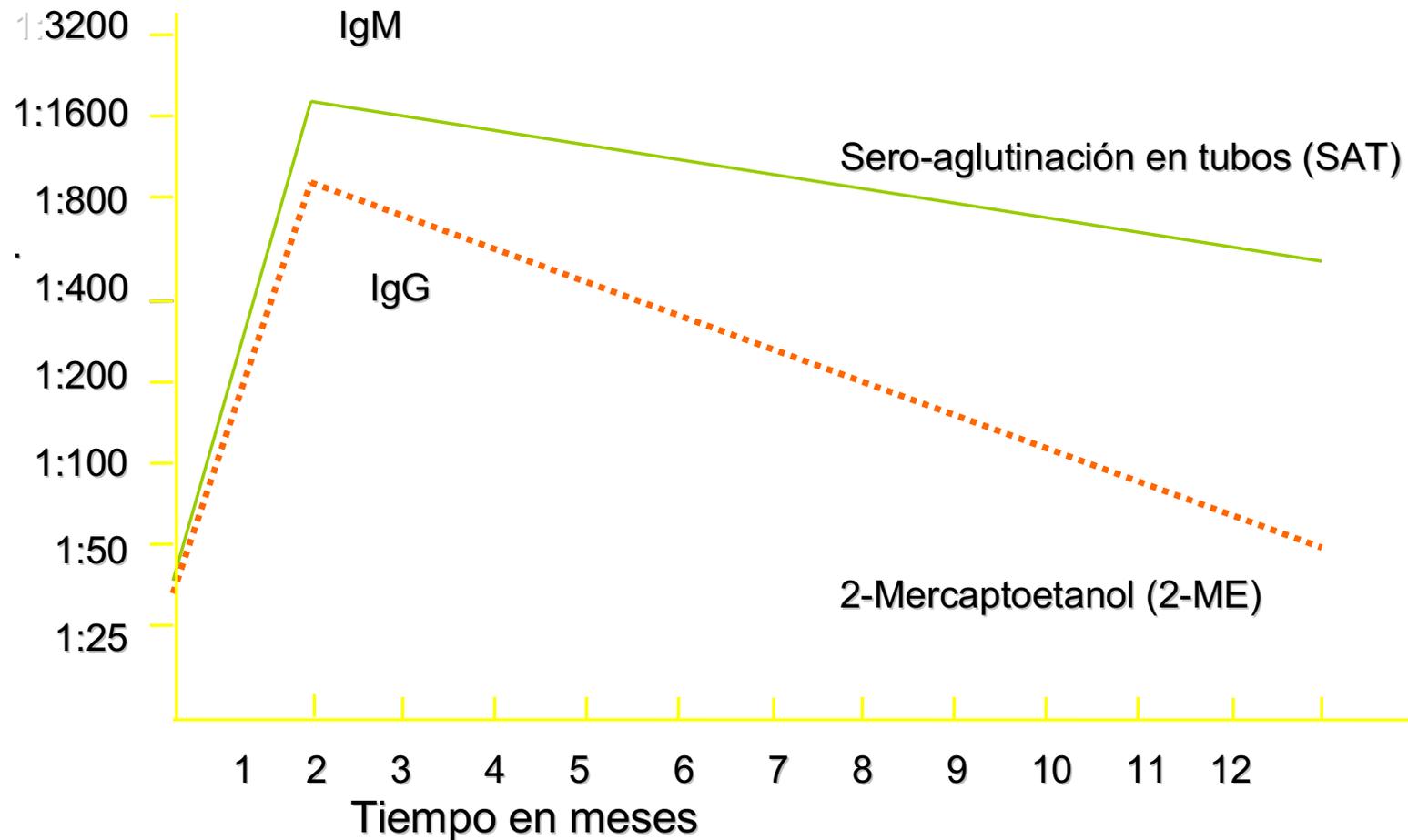


ANTICUERPOS

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



Sabe más,
Sabe a campo



Dosis reducida cepa 19 en Argentina



Sabe más,
Sabe a campo

- **Diferentes dosis de S19 fueron usadas en forma NO oficial.**
 - ✓ NO se producían vacunas dosis reducida por la industria farmacéutica veterinaria.
 - ✓ Se empleaban para “parar” la tormenta de abortos.
 - ✓ Se aplicaba en realidad dosis fraccionadas de la dosis completa de S19.
 - ✓ Ej 1ml de dosis completa o esta misma diluida 1/10 or 1/20.
 - ✓ Las CFU (conteo viable) de brucelas era desconocida
- **La vacunación no modifica el estado sanitario de animales enfermos de brucelosis**

Evaluación de la protección antibrucélica otorgada por la cepa 19 en bovinos vacunados simultáneamente con vacuna antiaftosa oleosa.

L.E. SAMARTINO ¹; M.C. FORT ²; J.S. GONZÁLEZ TOMÉ¹;
M. MARDUEL ²; E. PIAZZA ¹; E. SALUSTIO ¹; R. GREGORET ¹.

Palabras clave: *Brucella abortus*, Vacunación, Cepa 19, Brucelosis bovina.

RESUMEN

Se estudió la posible influencia de la vacuna antiaftosa, conteniendo adyuvante oleoso, sobre la inmunidad otorgada a bovinos vacunados con la cepa 19 de *Brucella abortus* en forma simultánea y en forma separada. Se utilizaron 137 hembras bovinas: 52 de ellas se vacunaron en forma separada, 54 en forma simultánea y 31 no se vacunaron contra brucelosis bovina (testigos). El desafío se realizó empleando una dosis de 1.54×10^7 , cepa 2308 de *B. abortus* por vía intraconjuntival en la mitad de la preñez. Los animales se sangraron periódicamente hasta un año después de la vacunación y desafío experimental respectivamente.

Luego del desafío, no hubo diferencias significativas ($P < .05$) entre ambas metodologías, con respecto al número de abortos ni tampoco al número de animales infectados. En el grupo de vaquillonas vacunadas contra brucelosis, el porcentaje de preñadas infectadas superó en un 42% al de vacías infectadas.

Estos resultados sugieren que la aplicación simultánea de las vacunas contra brucelosis bovina y anti aftosa oleosa no interfieren la inmunidad inducida por la cepa 19. En el grupo testigo, se infectaron el 100% de las preñadas y el 50% de las vacías.

Key words: Bovine brucellosis, vaccination, strain 19, *Brucella abortus*

establecimientos con diferentes prevalencias (G. Tomé y col., 1987, 1993 Villa y col., 1995).

La aplicación de ambas vacunas pueden coincidir o no, y este hecho ha generado permanentes discusiones sobre la conveniencia de aplicarlas al mismo momento o en forma separada, pues se ha dicho que el adyuvante oleoso contenido en la vacuna antiaftosa podría interferir en la inmunidad otorgada por la cepa 19. De acuerdo a la teoría de selección clonal no habría inconvenientes para que ambas vacunas pudieran aplicarse simultáneamente. Sin embargo, existen trabajos realizados en cobayos donde se demostró que la inmunidad otorgada por la cepa 19 descendía notoriamente al aplicarse ambas vacunas en forma simultánea (García Carrillo, 1987). De comprobarse esto, dicho fac-

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 números pasajes “*in vivo* and *in vitro*”**

Vacuna RB51 de *B. abortus*



Sabe más.
Sabe a campo

Brucella abortus, melitensis, suis, neotomae, maris

Son cepas lisas

Tienen lipopolisacáridos (LPS)

El LPS de estas cepas tiene la cadena O

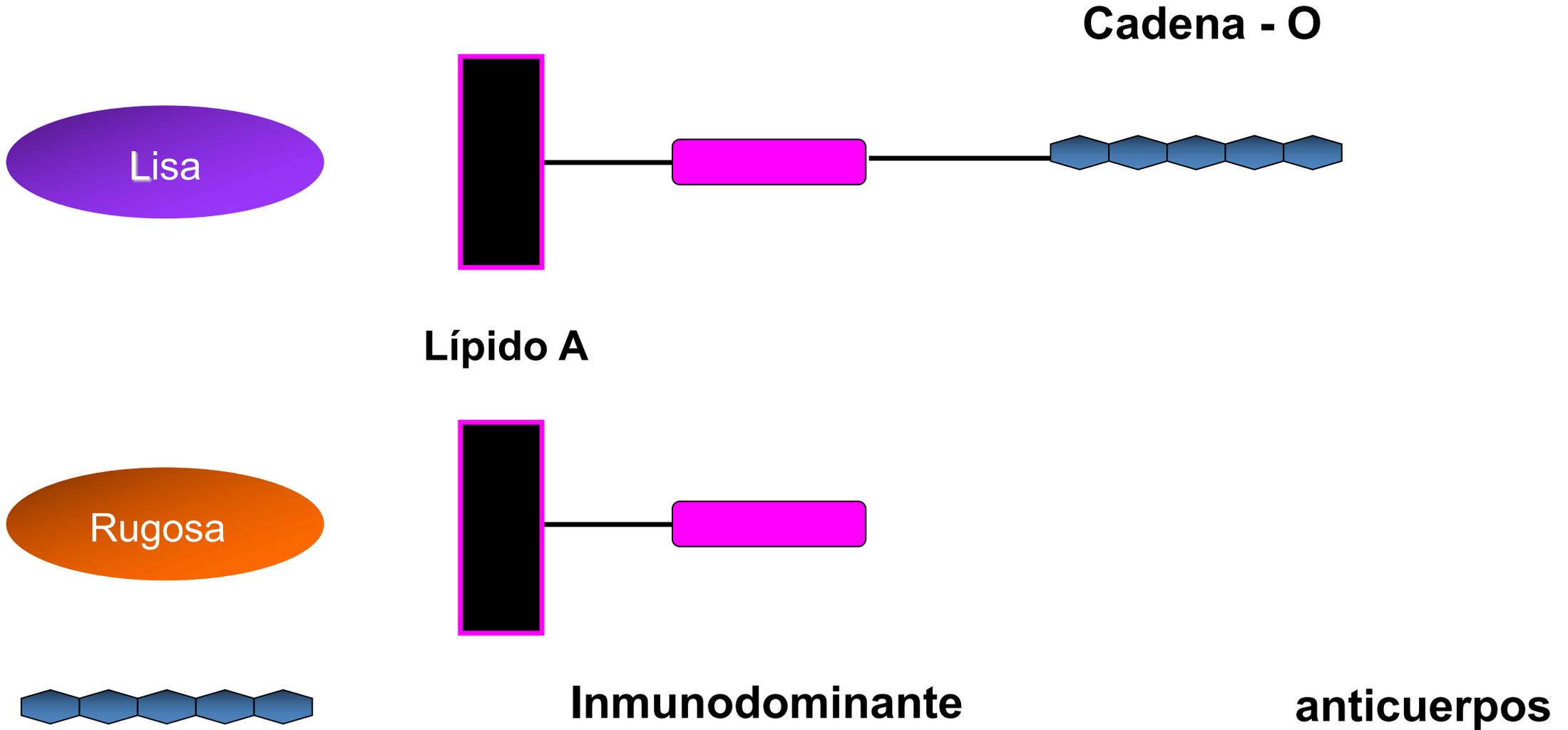
B. canis, B. ovis

Son cepas rugosas

El LPS tiene un mínima o no tienen cadena O

La cepa 19, vacuna actual, es una cepa lisa
por lo tanto contiene cadena O en su superficie

Cepas de Brucella Lisa y Rugosa



Simple Esquema del desarrollo de la vacuna RB51



Sabe más,
Sabe a campo

Brucella abortus

Brucella abortus

Selección: Mutante natural

Lisa

Rugosa

Rifampicina resistente

**2308 cepa original
tiene cadena O**

**Cepa RB51
NO tiene cadena O**

Vacuna RB51 comercial



Sabe más,
Sabe a campo

- Vacuna viva liofilizada contra la brucelosis en ganado bovino.
- 2. COMPOSICIÓN CUALITATIVA Y CUANTITATIVA. Cada dosis (**2 ml**) de vacuna reconstituida contiene:
 - **2.1 Sustancia activa *Brucella abortus*, cepa RB51 (fase rugosa) 10 - 34 x 10⁹ UFC.**
 - 2.2 Excipientes Tampón fosfato salino.
- 3. FORMA FARMACÉUTICA. Polvo y disolvente para suspensión inyectable.
- 4. PROPIEDADES INMUNOLÓGICAS. La sustancia activa estimula la inmunidad activa frente a la brucelosis en ganado bovino. La Cepa RB51 de *Brucella abortus* es un mutante atenuado rugoso de la cepa virulenta 2308, obtenida por métodos de selección clásicos, que carece de las cadenas laterales O (perosamina) del lipopolisacárido (LPS) sobre la superficie celular bacteriana. **La cepa RB51 no induce anticuerpos que reaccionen en los tests serológicos convencionales de la brucelosis**, haciendo posible el distinguir entre animales vacunados e infectados. Por ello el producto es adecuado para ser usado en los programas de erradicación contra la brucelosis basados en la presencia o ausencia de anticuerpos frente a las cadenas laterales O del LPS.



Estrategias de vacunación para la prevención de la Brucelosis Bovina



Sabe más,
Sabe a campo

- 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.

Estrategias de vacunación para la prevención de la Brucelosis Bovina



Sabe más,
Sabe a campo

- Vacunación con Cepa RB51 de terneras (3 a 12 meses de edad).
- Vacunación y revacunación de adultos con Cepa RB51 (de acuerdo con la prevalencia).
- **Vacunación de terneras con RB51 y revacunación al servicio (recomendada cuando no se sabe la prevalencia o no todos los ganaderos están involucrados).**
- **Recordar:** La Cepa RB51 **NO** da títulos serológicos que interfieran el diagnóstico, por eso la revacunación ¡no causa inconveniente alguno!

Vacunas contra la brucelosis bovina empleadas en América (2018)



Sabe más,
Sabe a campo

- Países que emplean exclusivamente cepa RB51

- ✓ USA (1997)
- ✓ Chile (1998)
- ✓ Uruguay (2002)
- ✓ Costa Rica (2001)

- Países que emplean las vacunas Cepa 19 y RB51

- ✓ México* (1997)
- ✓ Ecuador* (2002)
- ✓ Colombia* (2010)
- ✓ Brasil** (2014)
- ✓ Paraguay** (2016)
- ✓ Bolivia* (2015)

*vacunación de becerras y adultos

** vacunación solo de adultos

Brucelosis Animal en América Latina



Colanta®

Sabe más,
Sabe a campo

PAISES	Bovinos (<i>B.abortus</i>)	Caprinos (<i>B.melitensis</i>)	Porcinos (<i>B.suis</i>)	Ovinos (<i>B.ovis</i>)
Argentina	++	++	++	++
Bolivia	++	+	++	ND
Brasil	++	-	+	+
Chile	++	-	+	+
Colombia	++	-	ND	ND
Costa Rica	+	-	+	-
Cuba	+	-	-	-
Dominican Rep.	++	-	+	-
Ecuador	++	+	ND	ND
El Salvador	++	ND	+	ND
Guatemala	+	-	+	-
Honduras	+	-	ND	ND
México	++	+++	+	+
Nicaragua	++	ND	ND	ND
Panamá	+	-	-	-
Perú	++	+++	ND	+
Paraguay	++	++	+	+
Uruguay	+	-	+	+
Venezuela	++	+	-	+

Conceptos Generales

- Ninguna vacuna, a la fecha, confiere una inmunidad absoluta contra la Brucelosis.
- No se obtendrán resultados exitosos en el saneamiento de un hatp vacunado si no se aplican correctas medidas de manejo.
- Sin embargo, la vacunación constituye la mejor herramienta existente para la prevención de la brucelosis bovina.



*Sabe más,
Sabe a campo*

MUCHAS GRACIAS