

JORNADA DE BRUCELOSIS ANIMAL Y HUMANA

AAVLD



Fundada el 21 de noviembre de 1984

Personería Jurídica 439/96

Afiliada a la World Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians (WAVLD)



17 de marzo de 2023

Tandil, Buenos Aires, Argentina

*Asociación Argentina de Veterinarios
de Laboratorios de Diagnóstico*

Jornada de brucelosis humana y animal AAVLD

Resúmenes

Benitez, Daniel Francisco; Colque Caro, Luis Adrián; Cicuttin, Gabriel; Eirin, María Emilia; Estein, Silvia
Marcela; Dus Santos, María José; Falzoni, Elvira María; Llorente, Patricia Laura; Pintos, María Eugenia;
Traversa, María Julia

Editores

Samartino, Luis Ernesto; Estein, Silvia Marcela; Vanzini, Víctor René; Elena, Matías Alejandro; Escobar,
Gabriela
Autores

Jornada de brucelosis animal y humana AAVLD / Daniel Francisco Benitez ... [et al.]; editado por Daniel Francisco Benitez ... [et al.]. - 1a ed. - Ciudad Autónoma de Buenos Aires : Asoc. Argentina de Veterinarios de Laboratorios de Diagnóstico, 2023.

Libro digital, PDF

Archivo Digital: descarga y online
ISBN 978-987-21667-6-2

1. Veterinaria. 2. Argentina. 3. Jornadas. I. Benitez, Daniel Francisco, ed.
CDD 636.089

© Asociación Argentina de Veterinarios de Laboratorios de Diagnóstico, 2023.
Primera edición: Noviembre de 2023 ISBN 978-987-21667-6-2



Esta obra está bajo una Licencia Creative Commons Atribución 2.5 Argentina
http://creativecommons.org/licenses/by/2.5/ar/deed.es_AR

Comisión directiva 2022-2024

Presidente:	Dr. Sergio Garbaccio
Vice Presidente:	Dr. Marcelo Fort
Tesorera:	Dra. Patricia Llorente
Secretaria:	Dra. María Catena
Vocales titulares:	Dr. Diana Martinez
	Lic. Romanela Marcellino
	Dra. Andrea Fiorentino
	Dra. Carolina Gorchs
Vocales suplentes:	Dr. Dadin Moore
	Dra. Mabel Garcia
	Dr. Gastón Moré
	Dra. María L. Chiapparrone
Revisores Cuenta titulares:	Dr. Sebastian Elena
	Dra. Aldana Vissani
Revisores Cuenta suplentes:	Dr. Ricardo Sánchez
	Dra. Ivana Moncá

Organización de la jornada

PhD Luis Samartino, Dra. Silvia Estein, Dra. María Catena y Dr. Sergio Garbaccio.

Comisión Científica Editorial

Dr. Daniel F. Benitez INTA

Dr. Gabriel Cicuttin IZLP

Méd. Vet. Esp. Luis A. Colque Caro CONICET, IIACS, INTA, CIAP

Dra. M. Emilia Eirin IABiMo, UEDD-INTA-CONICET

Dra. Silvia M. Estein SAMP FCV UNCPBA, CIVETAN, CICIPBA, CONICET

Dra. M. José Dus Santos IVIT INTA

Dra. Elvira Falzoni FCV UBA

Dra. Patricia L. Llorente FCV UBA

Dra. M. Eugenia Pintos SCL, FCV UNLP

Dra. M. Julia Traversa SAMP FCV UNCPBA, CIVETAN, CICIPBA, CONICET

Agradecemos a nuestros auspiciantes y patrocinante el apoyo incondicional, el compromiso y la confianza para hacer posible esta jornada

Empresa patrocinante



Editorial

Estimadas/os colegas, tengo el enorme agrado de dirigirme a ustedes para darles la bienvenida a la Jornada de Brucelosis animal y humana organizada por la Comisión Científica de Brucelosis de la AAVLD, llevada a cabo en la Facultad de Ciencias Veterinaria de la UNCPBA-Tandil. Para que el evento sea una realidad quiero agradecer el trabajo y compromiso de toda la Comisión Científica, en particular a los doctores Luis Samartino y Silvia Estein. A la Comisión Directiva, principalmente a la Dra. María Catena por ser nexo entre ambas comisiones y por el apoyo local brindado. También a la Comisión Científica Editorial por llevar adelante su labor para que este documento sea un producto escrito que sintetice la riqueza de la Jornada. A todos los disertantes quienes, generosamente, aceptaron la invitación y se sumaron para compartir sus conocimientos y a los participantes quienes demostraron un marcado interés en la temática y con sus experiencias enriquecieron el intercambio. Finalmente, deseo agradecer a quienes nos apoyaron desde su patrocinio (empresa Biotandil) y auspicios que permitieron llevar adelante esta Jornada. Desde nuestra asociación continuaremos trabajando para generar estos espacios de intercambios, de calidad científico-académica, con una mirada federal, que nos posibilite entender más acerca de los fenómenos sanitarios actuales y las diversas estrategias que posibiliten una continua mejora en la labor diagnóstica veterinaria.

Les dejo un cordial saludo a todos esperando que este tipo de eventos nos permitan continuar mejorando y que, a través de este documento, logremos condensar las temáticas desarrolladas.



Dr. Sergio Gabriel Garbaccio
Presidente AAVLD

Índice

Resúmenes

ASPECTOS GENERALES DE LA BRUCELOSIS BOVINA/ 10

DIAGNÓSTICO DE LA BRUCELOSIS BOVINA/ 11

VACUNAS PARA PREVENIR LA BRUCELOSIS BOVINA/ 13

CONTROL DE LA BRUCELOSIS BOVINA / 15

CONTROL DE LA BRUCELOSIS PORCINA / 17

BRUCELOSIS EN ANIMALES DE COMPAÑIA / 19

DIAGNÓSTICO DE LA BRUCELOSIS HUMANA/ 21

Resúmenes

Luis Ernesto Samartino es Veterinario, MSc y PhD. Es docente en la Carrera de Veterinaria de la Universidad del Salvador y de la Facultad de Veterinarias de la Universidad Católica de Cuyo.



ASPECTOS GENERALES DE LA BRUCELOSIS BOVINA

Samartino Luis Ernesto

Carrera de Veterinarias, Universidad del Salvador, Pilar, Buenos Aires. Argentina

Facultad de Veterinarias, Universidad Católica de Cuyo, San Luis, Argentina

ernesto.samartino@usal.edu.ar luis.samartino@uccuyosl.edu.ar

Brucelosis, ¿qué podemos decir de esta enfermedad ya en la tercera década del siglo XXI? En principio, que es una enfermedad infecciosa de los animales que se transmite al ser humano, que es una zoonosis producida por bacterias del género *Brucella* caracterizada por producir abortos en los rumiantes y que afecta la economía pecuaria y la salud pública. Esta definición se encuadra dentro del concepto de “Una Salud” instalado, acertadamente, en estos últimos años. El control de la brucelosis bovina se basa fundamentalmente en la interpretación de la epidemiología, el diagnóstico correcto, la vacunación, y la eliminación de los animales positivos con un único destino: el frigorífico. La brucelosis es causada por una bacteria Gram negativa del género *Brucella*, que tiene la capacidad de multiplicarse dentro de las células “blanco” del sistema linfático y, fundamentalmente, en la placenta. Además como un fenómeno único de las bacterias que afectan a los animales, *Brucella* puede invadir y multiplicarse en el retículo endoplásmico rugoso de los trofoblastos placentarios y de los macrófagos. El género *Brucella* tiene varias especies que a su vez comprenden distintas “biovars”. En Argentina, los bovinos son afectados principalmente por la *Brucella abortus*, biovar 1, y, ocasionalmente, por la biovar 2, que ocasiona una signología clínica más severa. Se han descrito también las biovars 4 y 5, aunque no parecen ser circulantes. Debemos recalcar que, en nuestro país, también están presentes la brucelosis caprina y suina, pues en determinadas circunstancias, tanto *Brucella melitensis* como *Brucella suis* pueden infectar al ganado bovino si conviven animales contagiados con las especies mencionadas. La principal forma de contagio es por vía digestiva mediante la ingestión de alimentos contaminados con secreciones vaginales y leche de hembras enfermas. El signo principal de la enfermedad es el aborto promediando el último tercio de la preñez, mientras que además de la placenta, las principales fuentes de contagio son las secreciones vaginales que se producen desde 15 días antes del aborto/parto hasta las 4 semanas siguientes al mismo. La causa primaria de la infección de un establecimiento se debe al ingreso de animales infectados y/o incubando la enfermedad. Por ello, se debe conocer el estado sanitario del rodeo del que provienen. Al detectar animales positivos en un lote de animales a incorporar., no se debe adquirir animales provenientes del mismo, pues existe la alta probabilidad de que haya animales en fase de incubación que aún no fueron detectados. De manera alternativa, algunos animales silvestres podrían ser portadores o trasladar restos de material de abortos, aunque no juegan el mismo papel epidemiológico que el ser humano, quien, por descuido, introduce animales infectados sin su respectivo control. Siempre debe considerarse al vecino colindante, ya que de nada vale que un establecimiento elimine la enfermedad habiendo rodeos adyacentes infectados por brucelosis. La brucelosis es una enfermedad comunitaria y debe combatirse entre todos, es allí donde los veterinarios y las autoridades estatales deben proceder a tomar medidas para que el control de la misma se haga en forma integral. El control de un rodeo infectado se basa en la aplicación de los conocimientos adquiridos necesarios para “manejar” la enfermedad. Las herramientas para el diagnóstico y prevención están disponibles, y su correcta aplicación contribuye a evitar su difusión. No hay un modelo exacto para cada caso, al existir diversas variables que puedan afectar el desarrollo de la infección, característica del rodeo (de leche o carne), niveles de incidencia (incluyendo número de abortos), entre otros.

Referencias

- Enright F. The pathogenesis and Pathobiology of infection in domestic animals. Chapter 12 in Animal Brucellosis. Nielsen K and Duncan ed. 1990.
- García Carrillo C. Animal and Human Brucellosis in the Americas. Office International des Epizooties. 1990.
- Thoen C. et al. *Brucella*. Chapter 20 in Pathogenesis of Bacterial Infections in Animals. Second Edition. Gyles C and Thoen Ch., ed. 1993
- Samartino L.E. Brucellosis in Argentina. 2002. Vet Microbiol; 90:71-80
- RESOLUCIÓN-67-2019-SENASA - SERVICIO NACIONAL DE SANIDAD Y CALIDAD AGROALIMENTARIA

Silvia Marcela Estein es Veterinaria y Dra. en Ciencia Animal. Es Profesora Asociada en la Facultad de Ciencias Veterinarias de la UNCPBA e Investigadora Independiente de CONICET.



DIAGNÓSTICO DE LA BRUCELOSIS BOVINA

Estein Silvia Marcela

Centro de Investigación Veterinaria Tandil (CIVETAN), Facultad de Ciencias Veterinarias, UNCPBA, Tandil, Buenos Aires, Argentina.

silmares@vet.unicen.edu.ar

En Argentina está vigente el Plan Nacional de Control y Erradicación de la Brucelosis Bovina, el cual ha sido actualizado a través de diferentes resoluciones establecidas por el SENASA. La vacunación obligatoria de las terneras entre los 3 y 8 meses de edad con *Brucella abortus* cepa 19, el control de los movimientos y la eliminación de los animales infectados con destino a faena son los pilares en los que se apoya esta reglamentación. En esta disertación se abordan temas relacionados con la respuesta inmunitaria del bovino a *B. abortus*, los factores que influyen en la misma y aspectos básicos a considerar en el diagnóstico de la brucelosis bovina, los cuales abarcan desde la adecuada toma de muestra y remisión de la misma al laboratorio, hasta la correcta interpretación de los resultados de las técnicas serológicas en función del contexto epidemiológico. En nuestro país se encuentra con mayor frecuencia la biovar 1, aunque también se ha aislado la biovar 2, más patógena que la anterior. Si bien el aislamiento de *B. abortus* constituye el diagnóstico de certeza, es útil cuando se producen abortos en un rodeo sin historia conocida de brucelosis o cuando hay abortos masivos. Por otro lado, si bien la técnica de PCR surge como una alternativa que permite la detección del ADN de la bacteria, no es una técnica que esté difundida entre los laboratorios y el éxito de los resultados varía en función de la secuencia del gen detectado y de la muestra a analizar. Dado que la bacteriología es costosa e impracticable en gran escala en el contexto de un Programa de Control, la serología es la herramienta empleada para detectar la infección en los rodeos. En este sentido, la calidad y el volumen de la muestra de suero son aspectos importantes a considerar, no sólo para el diagnóstico de la brucelosis, sino de otras enfermedades que también requieren el análisis serológico cuando existen problemas de tipo reproductivo o de otra índole. Las pruebas serológicas dan una evidencia indirecta de la exposición del animal a *B. abortus* mediante la detección de los anticuerpos (Ac) circulantes, “huellas” que deja la bacteria como resultado de la respuesta inmunitaria del huésped. La respuesta inmunitaria del huésped a la infección por *B. abortus* es variable y depende de varios factores; (i) del huésped (idiosincrasia, edad, sexo, estado reproductivo (gestación o vacuidad), (ii) estado inmunitario (exposición previa, vacunación) y (iii) del agente (dosis infectante, virulencia de la cepa). Luego de la infección por *B. abortus*, la respuesta serológica se manifiesta de cuatro a diez semanas o más tardíamente. La infección crónica se caracteriza en el bovino por la síntesis prolongada de Ac del isotipo IgG1. Los niveles de Ac IgG2 pueden variar de acuerdo con el individuo, en tanto que los de Ac IgG1 sufren una disminución en el período próximo al parto, debido a la derivación suero-calostro propia de esta Ig en el vacuno. Asimismo, en la leche de los animales infectados pueden aparecer Ac de origen sérico (IgG1) así como de origen local (IgM e IgA). Por otro lado, tras la vacunación de las terneras a los 3-8 meses con *B. abortus* cepa 19, la serología se vuelve positiva a la primera o segunda semana, con un predominio de Ac del isotipo IgM durante las primeras dos semanas. La respuesta a IgG comienza también tempranamente, antes de que la IgM llegue a su pico, pudiendo alcanzar su máximo entre la tercera semana y el mes. En general, tras la vacunación de las hembras prepúberes sanas, los niveles de Ac declinan hasta niveles no significativos en el término de 3 a 6 meses, es decir, para el momento de su entrada en servicio. Generalmente, los Ac residuales por la vacunación son del isotipo IgM. Por lo anteriormente expuesto, los isotipos de Ig generados por la infección o la vacunación son los mismos, pero la persistencia en ambos casos es diferente. La presencia de IgG en los animales vacunados debería analizarse teniendo en cuenta al tiempo transcurrido entre la vacunación y el momento del muestreo, la edad del animal en el momento de la vacunación y los antecedentes de brucelosis en el rodeo (prevalencia). Actualmente existen distintas pruebas serológicas oficialmente aceptadas por SENASA para el diagnóstico de la brucelosis bovina (Resolución 438/2006) y se continúan incorporando nuevas técnicas a medida que avanzan la investigaciones. Los antígenos son aprobados por SENASA y las pruebas deben ser realizadas en los Laboratorios de la Red Nacional. Todas las pruebas detectan Ac (distintos isotipos) contra la cadena O del lipopolisacárido (PSO), antígeno de la membrana externa de la bacteria que es capaz de inducir una respuesta humoral en la mayoría de los animales en contacto con especies lisas de *Brucella* spp. La prueba del BPA (*Buffered Plate Antigen*) es una prueba de aglutinación rápida en placa que detecta principalmente Ac de isotipo IgG1. Se emplea como tamiz debido a su alta sensibilidad, bajo costo operativo y sencillez. Dentro de las pruebas confirmatorias, la prueba de Seroaglutinación Lenta en Tubo (SAT) es una prueba semicuantitativa, que detecta Ac de clase IgM e IgG2. Esta prueba se realiza en forma pareada con la

prueba del 2-mercaptoetanol, orientada a neutralizar la actividad aglutinante de los Ac de clase IgM, los cuales predominan tras una vacunación, mediante la despolimerización reductora de esta Ig. También se incluyen entre las pruebas confirmatorias el ELISA competitivo (u otros ELISA validados) y la Polarización de la Fluorescencia (FPA) las cuales poseen mayor sensibilidad y especificidad en relación a las pruebas convencionales antes mencionadas. Otras ventajas del FPA se relacionan con la ejecución sencilla, rápida y la objetividad en la lectura. Sin embargo, son pocos los laboratorios que tienen el equipo (polarímetro) para analizar las muestras por esta técnica. Por otra parte, la prueba de Fijación de Complemento continúa siendo "la prueba" de referencia en brucelosis bovina a nivel internacional y es considerada definitiva en nuestro país. En lo que respecta al tambo, la Prueba del Anillo en Leche (PAL) y el ELISA indirecto son utilizadas para la vigilancia de los rodeos sanos. Se realizan en leche de tanque o pueden utilizarse para analizar muestras individuales. Permiten la detección de un gran número de animales positivos con una precocidad superior respecto de las pruebas realizadas en suero. Cabe destacar que el ELISA ofrece una serie de ventajas respecto del PAL asociadas a la mayor sensibilidad y especificidad de la prueba, a la automatización, la lectura objetiva y a la posibilidad de procesar muestras de leche conservadas en forma congelada. Para el diagnóstico de la brucelosis se emplea una combinación de pruebas en secuencia o en serie. De este modo, un animal es clasificado como enfermo cuando fue positivo a una primera prueba y también lo es a la segunda. Con esta estrategia se busca demostrar que el animal enfermo realmente lo está. Cualquiera de los técnicas serológicas disponibles o su combinación, miden la respuesta de un animal en un momento dado y no describe el estado del rodeo. Asimismo, la patogenia de la enfermedad, la variabilidad que existe en la respuesta inmunitaria de los animales y la supervivencia alta de la bacteria en el ambiente, determinan que se realice más de un muestreo anual en los establecimientos que no están certificados como libres de brucelosis para aumentar la probabilidad de detectar animales positivos. Existen dos parámetros de validez de las pruebas diagnósticas: la sensibilidad, habilidad de una prueba para detectar correctamente animales enfermos y la especificidad, capacidad de la prueba para detectar animales sanos en forma correcta. ¿Por qué puede haber animales del rodeo que estando infectados con *B. abortus* no reaccionen a las pruebas serológicas? Estas reacciones falsas negativas pueden darse en animales que se infectaron por la vía congénita (un porcentaje bajo de los infectados no manifiestan serología positiva hasta luego del primer parto), animales en fase de incubación (el período de incubación de la brucelosis puede ir de 14 días a más de 1 año), en algunas hembras que se infectaron durante la gestación (los Ac aparecen a las 2 o 3 semanas post-parto) o bien, en animales que no generan un nivel de Ac significativo. También está la posibilidad de que animales sanos reaccionen positivamente en las pruebas. En este caso, las causas están relacionadas principalmente con la presencia de Ac residuales post-vacunación (vacunación tardía, doble vacunación accidental, empleo de la jeringa para la vacunación contra brucelosis para la administración de otras vacunas, suplementos minerales, etc.) o por Ac de reacción cruzada con otras bacterias Gram negativas que tienen un PSO con una composición similar al de *B. abortus*. En este último caso, se observan reacciones serológicas heteroespecíficas en individuos que no están infectados con *B. abortus* pero que sí están infectados con *Pasteurella multocida*, *Haemophilus somni* y *Manheimia haemolytica* o con *Campylobacter foetus*, o por el empleo de vacunas que contienen bacterinas elaboradas con estos microorganismos. Particularmente, *M. haemolytica* y *P. multocida* han sido reportados como los principales microorganismos implicados en estas reacciones atípicas y los que generaron las respuestas serológicas más persistentes. De este modo, también estas bacterinas podrían ser las responsables de ciertas reacciones atípicas reportadas en establecimientos certificados como libres. Las técnicas serológicas debe ejecutarse en forma uniforme y la interpretación de las mismas debe hacerse con criterio epidemiológico. Es fundamental la actividad sincronizada entre los Laboratorios de Red, los profesionales veterinarios que cumplen sus tareas en el campo, y que actúan como corresponsables sanitarios, los productores y el SENASA para lograr controlar y erradicar la brucelosis, enfermedad que no sólo ocasiona pérdidas económicas importantes, sino que también tiene impacto en la Salud Pública. Para esto, más allá de los aspectos técnicos, es importante la labor de educación y concientización que debe asumir cada uno de los responsables implicados en el plan nacional de control y erradicación.

Referencias

- Díaz AG, et al. Estudio de la interferencia serológica en el diagnóstico de la brucelosis bovina en el modelo murino. In Vet, 2012; 14 (1):68-77.
- Nicola A. et al. Manual de diagnóstico serológico de la brucelosis bovina. Servicio de Sanidad y Calidad Agroalimentaria (SENASA), Argentina. 2019.
- Samartino L. et al. Unspecific titles in a bovine brucellosis free herd induced by a commercial vaccine against respiratory complex. In Proceeding: Brucellosis 2011. International Research Conference 2011. Buenos Aires, Argentina.

Luis Ernesto Samartino es Veterinario, MSc y PhD. Es docente en la Carrera de Veterinaria de la Universidad del Salvador y de la Facultad de Veterinarias de la Universidad Católica de Cuyo.



VACUNAS PARA PREVENIR LA BRUCELOSIS BOVINA

Samartino Luis Ernesto

Carrera de Veterinarias, Universidad del Salvador, Pilar, Buenos Aires. Argentina

Facultad de Veterinarias, Universidad Católica de Cuyo, San Luis, Argentina

ernesto.samartino@usal.edu.ar luis.samartino@uccuyosl.edu.ar

La vacunación, junto con el diagnóstico y el manejo epidemiológico, es una de las herramientas fundamentales para el control y eventual erradicación de la brucelosis bovina. Actualmente, existen sólo dos vacunas, reconocidas por la OMSA (Organización Mundial de Sanidad Animal) para la prevención de la brucelosis bovina, la Cepa 19 (1930) y la RB51 (1991). La prevención de la brucelosis bovina mediante el uso de la cepa 19 ya comenzó en Estados Unidos (EEUU) en la década de los 40 del siglo pasado, siendo obligatoria desde 1954 con el primer programa nacional de control y erradicación de la brucelosis bovina. La cepa 19 de *Brucella abortus* (Gram negativa) es una cepa lisa, es decir que tiene su lipopolisacárido (LPS) completo incluyendo la cadena O. Por ello, la cepa 19 induce la producción de anticuerpos no distinguibles de aquellos que provoca la infección por *Brucella* de campo. Si bien la cepa 19, se usa en Argentina desde los años 60s en programas regionales, su aplicación es obligatoria desde el año 1982 a las terneras entre 3 y 8 meses de edad. Los países que utilizan esta cepa deben vacunar sólo las terneras de 3 a 8 meses de edad, pues de lo contrario, si se vacuna a una edad más avanzada o adulta, los animales seroconvierten a todas las técnicas serológicas disponibles, y el diagnóstico de la enfermedad se vuelve muy impreciso. En la década del 80, una nueva vacuna contra la brucelosis bovina fue desarrollada en la Universidad de Virginia Tech en los Estados Unidos por el Dr. Gerhardt Schurig. Esta vacuna fue denominada RB51 y la misma se caracteriza por tener algunas propiedades que merecen destacarse. La cepa RB51 carece de la cadena O la cual está presente en todas las biovariedades de *B. abortus*. La cadena O es el segmento de la bacteria responsable de la inducción de inmunoglobulinas detectables por las técnicas serológicas convencionales, por ello, la vacuna RB51 al no poseer la cadena O, no induce la formación de anticuerpos aunque sea aplicada más de una vez. Otra característica muy importante de la RB51 es su estabilidad, es decir, dicha cepa es rugosa permanentemente, y en todos los estudios generales de inmunidad, se demostró que la misma no revierte a la forma lisa (virulenta). Los diversos estudios realizados en EEUU demostraron que la cepa RB51 producía una protección contra la enfermedad y el aborto similar a la otorgada por la cepa 19, ya que la inmunidad más importante para *Brucella*, es de tipo celular. En consecuencia, dicho país en 1996 adoptó esta vacuna en reemplazo de la cepa 19, mejorando su programa de control y erradicación. En EEUU se demostró que la vacunación de las terneras con cepa 19 no protege de por vida como se creía y que tampoco la vacunación de adultos con dosis reducida de cepa 19 logró controlar la enfermedad, es por ello que su programa de control de brucelosis fue reemplazado definitivamente de cepa 19 por la vacuna RB51 en el año mencionado. La misma estrategia fue adoptada luego por México 1997, Chile en 1997 y Uruguay en el 2002, siendo posteriormente adoptada por otros programas de brucelosis de América Latina debido a la importante versatilidad que tiene la vacuna RB51 de adaptarse a diferentes estrategias en el plan de vacunación de la brucelosis bovina. En México la elección de la vacuna siempre fue opcional, sin embargo un 90% es aplicación de RB51 en cambio en Chile y Uruguay es la única vacuna que se aplica desde los años indicados. Por ejemplo, en Paraguay es obligatoria la vacunación con cepa 19 de todas las terneras, sin embargo, es también obligatoria la vacunación con RB51 al primer servicio de todas las hembras bovinas. Brasil, en cambio determina que, si por alguna circunstancia las terneras no fueron vacunadas antes de los 8 meses, deben ser vacunadas obligatoriamente con la vacuna RB51 exclusivamente. En Argentina la vacuna RB51 fue aprobada transitoriamente para el uso de animales mayores de 8 meses de edad y suspendida en el año 2003 basada en un experimento realizado por técnicos del SENASA. Esta significativa característica de la vacuna RB51 de no poseer cadena O y no inducir títulos serológicos que confunden el diagnóstico, así como su inmunidad otorgada, es aprovechada por diversos programas de control de brucelosis, incluyendo la vacunación de adultos preferentemente antes del servicio, logrando así por esta metodología reforzar la inmunidad del rodeo. Esta estrategia es independiente de la vacuna utilizada en las terneras sea Cepa 19 o RB51. Debe insistirse que la vacunación tiene una importancia trascendental en el control de la brucelosis bovina que va más allá de la salud animal y el enorme beneficio económico que representa tener los animales protegidos contra la enfermedad.

Referencias

Bagnat, E. y J. C. Manetti (2000), "Proof of efficacy of the RB51 and strain 19 antibrucellosis vaccines in cattle", Revista de Medicina Veterinaria (Buenos Aires), Vol. 81, N.º 6, pp. 428-429
Dorneles, E.M., Sriranganathan, N. & Lage, A.P. Recent advances in *Brucella abortus* vaccines. Vet Res 46, 76 (2015). <https://doi.org/10.1186/s13567-015-0199-7>

Luna-Martínez JE, Mejía-Terán C. Brucellosis in México: current status and trends. *Vet Microbiol* . 2002; 90: 19–30

Nicoletti P. Vaccination of cattle with *Brucella abortus* strain 19 administered by differing routes and doses. *Vaccine*. 1984; 2: 133-135.

Nicoletti, P. (1990), “Vaccination”, en Nielsen, K. and J.R. Duncan (eds.), *Animal brucellosis*. CRC Press, Inc., Boca Raton, Fla., pp. 283-299.

Olsen SC, Evans D, Hennager SG, Cheville NF, Stevens MG. Serologic responses of *Brucella abortus* strain 19 calfhood-vaccinated cattle following adult vaccination with strain RB51. *J Vet Diagn Invest* 1996; 8: 451–454

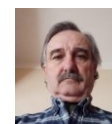
Poester FP, Goncalves VS, Paixao TA, Santos RL, Olsen SC, Schurig GG, Lage AP (2006) Efficacy of strain RB51 vaccine in heifers against experimental brucellosis. *Vaccine* 24:5327–5334

Samartino LE. Brucellosis in Argentina. *Vet Microbiol* 2002; 90:71-80

Schurig GG, Roop RM, Bagchi T, Boyle S, Sriranganathan N. Biological properties of RB51: a stable rough strain of *Brucella abortus*. *Vet Microbiol* 1991; 28:171-188.

Uzal FA, Samartino LE, Schurig GG, Carrasco A, Nielsen KH, Cabrera RF, Taddeo HR. Effect of vaccination with *Brucella abortus* strain RB51 on heifers and pregnant cattle. *Vet Res Commun.*, 2000; 24: 143–151.

Víctor René Vanzini es Veterinario. Es Investigador Asociado en la Estación Experimental Agropecuaria Rafaela de INTA.



CONTROL DE LA BRUCELOSIS BOVINA

Vanzin Víctor René
INTA, EEA-Rafaela, Rafaela, Santa Fe, Argentina
vanzini.victor@inta.gob.ar

La brucelosis bovina en la Argentina es causada casi exclusivamente por la *Brucella abortus*. El principal signo clínico de esta enfermedad es el aborto en el último tercio de la gestación, aunque también pueden observarse partos prematuros, terneros débiles nacidos a término o natimortos (muertos al parto). Los pilares para el control de la brucelosis bovina son: a) la vacunación de las terneras entre los 3 a 8 meses de edad; b) el diagnóstico precoz de las vacas infectadas; c) la segregación y eliminación de los animales infectados y d) el manejo del rodeo basado en la epidemiología de la enfermedad con el propósito de reducir su diseminación. Para la implementación de medidas de manejo destinadas a cortar el ciclo de la enfermedad, el profesional veterinario debe explicar claramente al productor la epidemiología de la brucelosis para que pueda comprender el por qué de cada medida. Durante la etapa de erradicación debe formarse una verdadera sociedad entre el veterinario, el productor y el personal encargado del manejo de los animales. En referencia a la patogénesis de la brucelosis, *B. abortus* ingresa al animal generalmente por vía digestiva, ocular o respiratoria. Luego se multiplica y localiza en los linfonodos próximos al lugar de ingreso de la bacteria. La gestación estimula la multiplicación de las brucelas, las que por vía sanguínea se dirigen al útero, atraviesan la placenta y llegan al feto. La multiplicación de *B. abortus* en la placenta produce una inflamación (placentitis), se interrumpe el suministro de nutrientes de la madre al feto y sobreviene el aborto, el cual ocurre generalmente en el último trimestre de la gestación, próximo a la fecha de parto. Si bien el signo clínico más común de la brucelosis es el aborto, también pueden observarse:

- a) partos a término con el ternero muerto.
- b) nacimientos de terneros débiles que mueren posteriormente.
- c) partos normales con el nacimiento de terneros/terneras sanas o con la infección adquirida en el útero.

El feto, la placenta, los líquidos del parto, las secreciones vaginales y la leche, contienen una elevada cantidad de *B. abortus*, principal fuente de infección.

En el caso de las infecciones latentes, *B. abortus* permanece inactiva en los linfonodos y no es posible detectarla con las pruebas serológicas hasta que se inicie la gestación. La proporción de casos con infecciones latentes es bajo (2-5 %), pero puede ocurrir que para el momento en que una vaquillona con infección latente entre en servicio el establecimiento esté saneado y las medidas de vigilancia más relajadas, en consecuencia la infección pasa desapercibida y se produce el aborto reiniciando el ciclo. Ante esta posibilidad, no es aconsejable utilizar las terneras hijas de vacas infectadas para reposición. En cuanto al periodo de incubación, en la EEA Rafaela se obtuvo información de tres establecimientos productores de leche en saneamiento con controles periódicos. En el cuadro 1 se resumen los distintos periodos de incubación registrados y los meses de gestación al momento de adquirir la infección. El máximo periodo registrado fue de 405 días y a diferencia de lo observado por otros investigadores, las vacas no abortaron ni resultaron positivas a las pruebas serológicas en suero sanguíneo durante la gestación en que se infectaron. La infección se activó en la gestación siguiente.

Cuadro 1. Período de incubación de la brucelosis en infecciones asociadas a abortos

Tambo Nro.	Vaca	Meses de preñez al infectarse	Período de incubación (días)
1	1	6-7	300
	2	6-7	390
2	1	6-8	100
	2	6-8	160
	2	6-8	220
	4	6-8	220
	5	8-9	405
3	1	6-7	102
	2	7-8	102
	3	6-7	102
	4	5-6	102

El diagnóstico precoz está dirigido a identificar y aislar a las vacas infectadas para reducir la probabilidad de que aborte junto a las vacas sanas. El feto y materiales de un aborto, o los líquidos expulsados durante el parto normal de una vaca infectada, constituyen la principal fuente de infección y diseminación de *B. abortus*. Las medidas recomendadas para el saneamiento de establecimientos infectados con *B. abortus* consideran el análisis sistemático de muestras de suero sanguíneo de las hembras mayores de 18 meses en un intervalo que va de 60 a 120 días. Sin embargo, dado que la infección brucélica se activa a medida que progresa la gestación, la mayor atención debe estar dirigida al control periódico de hembras preñadas en el último trimestre de la gestación, para la detección precoz de los animales infectados. El análisis de las hembras preñadas en el último trimestre de la gestación es una herramienta sanitaria muy importante y debería realizarse una vez al mes a partir del 5°-6° mes de gestación. Ante la sospecha de infección, el animal debe ser separado del grupo hasta tanto se aclare su verdadero estado. Como las vacas en lactancia no están gestando o recién comienzan el período de gestación, el control serológico puede espaciarse, incluso se puede recurrir a un control serológico en muestras del tanque de leche, para lo cual sería de utilidad la prueba de ELISA indirecto, la cual posee mayor sensibilidad que la prueba del anillo en leche (PAL). Aun cuando el establecimiento haya logrado el *status* de negativo y haya sido saneado, se recomienda mantener un sistema de vigilancia por un período de al menos 12 meses lo cual surge como consecuencia de haber detectado períodos de incubación de más de un año. También es importante continuar con el análisis serológico de las hembras preñadas durante el último trimestre de gestación. La transmisión de la *B. abortus* está íntimamente relacionada con la intensificación de los sistemas productivos, en consecuencia, esta enfermedad se transmite con mayor facilidad en ganado lechero, donde el contacto es intensivo. Otro factor a tener en cuenta es el sistema de servicio, estacionado o continuo. El servicio estacionado es una práctica utilizada principalmente en ganado productor de carne y al finalizar el período de servicio se implementa el control de preñez. Si en ese momento se realiza un sangrado, se podrán detectar las hembras positivas y separarlas de las sanas y de esa manera cortar el ciclo de la enfermedad. Los establecimientos productores de leche generalmente tienen servicio continuo, lo cual significa que permanentemente tienen hembras en el último trimestre de gestación (preparto), momento en que se incrementa la probabilidad de aborto o parto de vacas infectadas, principal fuente de nuevas infecciones. Si ocurre un aborto durante el preparto en ganado lechero, es conveniente que los fetos y sus envolturas sean destruidos quemándolos en el lugar donde se encuentran. También es útil el rociado de los alrededores con una solución de cresol (creolina) que tiene por objeto desinfectar el pasto, evitar que las vacas se alimenten en el lugar del aborto y reducir la posibilidad de que los perros arrastren materiales del aborto por el campo. El traslado del resto de las vacas a otro potrero también es una práctica recomendable. La causa más frecuente de ingreso de la brucelosis se presenta por la incorporación de vaquillonas provenientes de establecimientos infectados. Si se decide comprar vaquillonas para la reposición, se recomienda comprarlas en establecimientos libres de brucelosis y con antecedentes de vacunación. El estado de seronegativas, no garantiza que esté libre de la enfermedad. Vaquillonas negativas a las pruebas serológicas provenientes de establecimientos infectados pueden ser portadoras de una infección latente por *B. abortus* que generalmente se activa durante la primera gestación. Como precaución, es conveniente extraer muestras de sangre para la realización de pruebas serológicas en el establecimiento de origen y luego realizar pruebas periódicas durante la gestación para la detección precoz de la enfermedad. Esta medida debe adoptarse en función del período de incubación variable que tiene la brucelosis. Lo más adecuado es mantener las hembras compradas separadas del rodeo y después de quince días del parto, si son negativas a las pruebas serológicas incorporarlas con el resto.

Referencias

Vanzini V. y Torioni S. Manual de Referencias Técnicas para el Logro de leche de Calidad. 2da. Edición, Capítulo 3, Enfermedades. 69 – 75, 2005 Ediciones INTA - ISBN 987-521-165-6.

Vanzini V. et al. Reseña epidemiológica de la brucelosis bovina en la provincia de Santa Fe. Publicación Conjunta INTA-Ministerio de la Producción Santa Fe. Publicación miscelánea. Julio - 2015. pp36
http://inta.gob.ar/busqueda/p/buscar/rese%C3%B1a%20epidemiologica%20de%20la%20brucelosis%20bovina%20en%20la%20provincia%20de%20santa%20fe%2C%20pdf/type/0_all

<https://www.youtube.com/watch?v=vhglyNrSSEk>

Silvia Marcela Estein es Veterinaria y Dra. en Ciencia Animal. Es Profesora Asociada en la Facultad de Ciencias Veterinarias de la UNCPBA e Investigadora Independiente de CONICET.



CONTROL DE LA BRUCELOSIS PORCINA

Estein Silvia Marcela

Centro de Investigación Veterinaria Tandil (CIVETAN), Facultad de Ciencias Veterinarias, UNCPBA, Tandil, Buenos Aires, Argentina.

silmares@vet.unicen.edu.ar

Brucella suis es el agente etiológico principal de la brucelosis porcina, enfermedad infectocontagiosa crónica ampliamente distribuida a nivel mundial. Esta enfermedad causa pérdidas reproductivas asociadas a abortos, natimortos, infertilidad y patologías osteoarticulares que ocasionan consecuencias económicas significativas en regiones o países donde esta producción es importante. Aunque el cerdo es el huésped preferencial de la bacteria, distintas especies de animales domésticos y silvestres actúan como reservorio. Por otro lado, el potencial zoonótico de la bacteria constituye un problema relevante para la Salud Pública. En este sentido, si bien la brucelosis porcina es considerada una enfermedad profesional que afecta a veterinarios, trabajadores de frigoríficos, empleados de granjas y técnicos de laboratorio, la población general también puede estar expuesta. Sin embargo, aunque se trata de una enfermedad de notificación obligatoria, frecuentemente está subdiagnosticada y existe un subregistro de la misma a nivel nacional y mundial. De las distintas biovariedades de esta especie, *B. suis* biovar 1 y *B. suis* biovar 1a con características atípicas, son las únicas presentes en América Latina y a su vez, las más patógenas para el humano. En Argentina, la biovariedad 1 ha sido aislada de cerdos, liebres, comadreja, armadillos y también se ha detectado serología positiva en jabalíes de distintas regiones. En nuestro país, se desconoce la verdadera situación epidemiológica a nivel nacional, aunque existen reportes de relevamientos aislados y parciales realizados en distintas provincias del país que indican un porcentaje de seroreactores que oscila entre el 5,7 y el 25,7%. En líneas generales, los mayores registros se informan en granjas porcinas familiares o en granjas traspato de menos de 100 madres, en las cuales los productores poseen animales para consumo propio o para abastecimiento local. Si se tiene en cuenta que los establecimientos registrados de 100 madres constituyen el 99,1% de los establecimientos y comprenden al 73,89% del total de cerdas del país (el 97,3% está comprendido por establecimientos de hasta 50 madres y se corresponde con el 61,07% del total de cerdas del país), existe un estrato productivo donde el control de la brucelosis y también de otras enfermedades generalmente es deficiente, sin un control en el movimiento de los animales y sin respeto de las normas mínimas de bioseguridad e higiene. En Argentina no existe un programa oficial de control de la brucelosis porcina y en la mayoría de los países no hay una vacuna disponible para la prevención de esta enfermedad. El SENASA mantiene un sistema de vigilancia activo mediante la realización de muestreos serológicos y crea el registro de "Establecimientos Oficialmente libres de Brucelosis Porcina", para todos aquellos establecimientos que deseen permutar, ceder o comercializar reproductores porcos y/o material reproductivo (Resolución N° 63/2013), pero, en la mayoría de los casos, esta normativa no alcanza a los establecimientos de pequeña escala. El diagnóstico de la brucelosis porcina es complejo ya que el tiempo de incubación de la enfermedad es muy variable y los signos clínicos pueden estar ausentes en las granjas endémicas. Aunque el aislamiento de la bacteria a partir de secreciones o fluidos constituye el diagnóstico de certeza, no siempre es factible y un resultado negativo no implica ausencia de infección. Por otra parte, el cultivo bacteriológico es costoso y difícil de implementar a nivel piara. Por este motivo, el control de la enfermedad se apoya en el diagnóstico serológico y en la eliminación de los animales positivos con destino a faena. Sin embargo, no existe una prueba serológica de referencia y ninguna de las actualmente disponibles ha demostrado ser confiables para el diagnóstico individual. Las técnicas serológicas oficiales presentan limitaciones en sensibilidad y especificidad y brindan información a nivel de piara. Las pruebas tamiz, BPA (*Buffered Plate Antigen*) y RB (Rosa de Bengala), son relativamente sensibles, aplicables a un gran número de muestras y de lectura subjetiva, sin embargo, poseen baja especificidad y no están debidamente estandarizadas para el diagnóstico de los porcos. Asimismo, frecuentemente, cuando se ensayan los sueros porcos en estas pruebas, se observan reacciones atípicas que son de difícil interpretación para un operario poco entrenado y que pueden confundir en el diagnóstico. Por otra parte, se han observado discrepancias entre los resultados obtenidos en estas pruebas y en los obtenidos con la técnica confirmatoria de FPA (Polarización de la Fluorescencia). Desde 2017, nuestro equipo de investigación está evaluando modificaciones en algunas de las técnicas serológicas oficiales para aumentar su eficiencia y también nos encontramos desarrollando nuevas pruebas para el diagnóstico. En nuestros estudios hemos detectado un alto porcentaje de animales seropositivos en establecimientos de pequeña escala ubicados en la zona de influencia de nuestra institución en los cuales la situación epidemiológica era diferente. En uno de ellos diagnosticamos la enfermedad a partir de un caso de

brucelosis humana en la persona a cargo de la granja. Si bien el establecimiento no tenía antecedentes de brucelosis y los animales no registraban signos clínicos, el 53 % de los reproductores fueron seropositivos. Se realizó la necropsia a dos de los animales seropositivos, un padrillo y una cerda. Las muestras de linfonodos craneales, bazo, hígado y órganos del tracto reproductor se cultivaron en medio Skirrow modificado. Se aisló *B. suis* biovar 1 a partir de testículos y epidídimos del padrillo y se detectó la bacteria mediante Inmunofluorescencia Directa en las improntas de los distintos órganos de la cerda. Por otro lado, en una granja traspatio en la cual se habían registrado abortos, detectamos animales seropositivos 11/11 y aislamos la bacteria a partir del hisopado vaginal y lavado prepucial de reproductores de distinto sexo. Asimismo, cuando se hizo la necropsia de una de las cerdas preñadas, se aisló *B. suis* biovar 1 de estómago, bazo e hígado de los fetos. Este hallazgo indica que la faena y la venta clandestina también implican un riesgo sanitario potencial no sólo para las personas en contacto con los animales infectados sino también para la población general que compra esos lechones. La brucelosis porcina se presenta principalmente en establecimientos de pequeña escala donde no sólo impacta negativamente en la economía de los productores (menor número de lechones por camada, eliminación de animales positivos, pérdida de reproductores) sino que además, representa un riesgo para la salud humana, de otros animales domésticos y silvestres que cohabitan o comparten el espacio con los cerdos. Al respecto, en condiciones favorables de humedad y baja temperatura la bacteria puede sobrevivir por tiempo prolongado en el agua y en el suelo, convirtiéndose en una fuente de contagio importante. Cuando la bacteria ingresa por primera vez a una granja puede ocasionar una tormenta de abortos mientras que en granjas endémicas se produce el efecto “iceberg”. Por este motivo es importante el muestreo serológico de los animales que ingresan y de los padrillos que darán servicio, dado que es frecuente el “préstamo” de los reproductores entre vecinos, siendo una de las principales causas de transmisión de la enfermedad. Asimismo, teniendo en cuenta la patogenicidad de la enfermedad, es importante testear a los animales de la piara al menos 2 veces con un intervalo entre 30 días y 90 días y eliminar los animales positivos con destino a faena. El asesoramiento del profesional veterinario, la instauración de normas básicas de bioseguridad y la concientización de los productores son aspectos clave para prevenir y controlar esta enfermedad zoonótica. La subvención/indemnización por parte del estado también es un aspecto importante tanto cuando se trata de un despoblamiento parcial o total de las granjas afectadas.

Referencias

- Bence A.R. et al. Identification of a small-scale pig farm infected with *Brucella suis* linked to a clinical case of human brucellosis in Buenos Aires Province, Argentina. Revista FAVE–Sección Ciencias Veterinarias. 2021. 20:34–40.
- Bence A.R., Gutiérrez S.E., Estein S.M. Brucelosis porcina: Una problemática para la producción y la salud pública. 2018. Revista Visión Rural. N°121: 25-27.
- Estein S.M. et al. 2019. Comparison of direct fluorescent antibody test and bacteriological culture for detection of *Brucella* spp. Application to demonstrate *Brucella suis* in swine tissues. 2019. Revista Veterinaria 30: 39-42.
- Samartino L.E. Brucellosis in Argentina. 2002. Veterinary Microbiology. 90: 71-80.

Matias Alejandro Elena es Veterinario y MSc. Es jefe del Laboratorio de Referencia de Brucelosis dependiente de Senasa ubicado en Martínez.



BRUCELOSIS EN ANIMALES DE COMPAÑÍA

Elena Matias Alejandro
Senasa, Martínez, Buenos Aires, Argentina
selena@senasa.gob.ar

La brucelosis canina por *Brucella canis* es un grave problema para los dueños de mascotas y criadores, siendo una zoonosis desatendida distribuida en todo el mundo. El perro es la principal especie animal susceptible, porque constituye su reservorio fundamental de infección. La brucelosis canina por *B. abortus*, *B. melitensis* o *B. suis* se diagnostica esporádicamente en perros que viven en contacto con rumiantes infectados o porcinos, aunque el perro no juega el papel de reservorio de la enfermedad. Esta enfermedad suele ser asintomática, los signos clínicos, cuando ocurren, pueden ser limitados a una linfadenopatía periférica generalizada con o sin infertilidad. En la hembra, el aborto generalmente ocurre al final de la gestación y se caracteriza por autólisis fetal y flujo vaginal de color oscuro con una duración de una a seis semanas. Algunas perras pueden parir cachorros muertos o débiles. Los cachorros que sobreviven tienen un linfadenopatía generalizada y pueden llevar la infección a la madurez. Los perros machos maduros pueden desarrollar orquitis y epididimitis que resulta en agrandamiento testicular. En infecciones testiculares crónicas, unilaterales o bilaterales, la atrofia es la secuela más común. Anormalidades del semen son evidentes cinco semanas después de la infección. Se observa con menos frecuencia disco-espondilitis y uveítis. El diagnóstico de certeza se obtiene sólo con el aislamiento de la bacteria. El microorganismo crece en los medios de cultivo nutritivos utilizados para todas las demás especies del género *Brucella*, aunque la sensibilidad del diagnóstico puede verse comprometida debido a la bacteriemia intermitente o bien, si el animal ha recibido previamente antibióticos como terapia. La bacteriemia se desarrolla de una a cuatro semanas después de la infección inicial y persiste por lo menos seis meses y, después es intermitentemente hasta 64 meses, siendo la sangre la matriz de elección para el aislamiento de *B. canis*. Para hemocultivos se debe recolectar consecutivamente una serie de 3 muestras, al menos con 24 horas de diferencia. El cultivo requiere de hasta 10 días para dar un resultado como negativo. También el aislamiento es posible a partir de descargas vaginales, útero, placenta, feto, epidídimo y también a partir de leche, orina, y semen. La detección de anticuerpos contra los antígenos de *Brucella* tiene un papel central en el diagnóstico de la brucelosis canina, por lo tanto los perros con signos clínicos o con sospecha de infección por *Brucella* deben ser confirmados por pruebas serológicas. Éstas incluyen, la prueba de aglutinación rápida en portaobjetos (RSAT), la prueba de aglutinación rápida en portaobjetos con 2-mercaptoetanol (2ME-RSAT), pruebas de aglutinación en tubo clásicas o en microplacas (TAT o M-TAT) con o sin 2-mercaptoetanol, inmunodifusión en gel de agar (IDGA), pruebas inmunoenzimáticas (ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas, ELISA) e inmunocromatografía de flujo lateral. Cualquiera que sea la prueba que se utilice, la presencia de anticuerpos contra *B. canis* en la sangre normalmente no es detectable antes de 5 a 8 semanas después de la infección ya que los resultados pueden ser negativos durante las primeras 3 a 4 semanas de infección. El tratamiento de la brucelosis canina por *B. canis* es posible, aunque a menudo los resultados son decepcionantes debido a la localización intracelular de la bacteria por un periodo prolongado y su capacidad de generar bacteriemia episódica. Las combinaciones de antibióticos han tenido mejores resultados que el uso de un fármaco único. Los esquemas de administración son largos, costosos y desalentadores para el propietario. Entre varios protocolos terapéuticos el que ha dado los mejores resultados es la combinación de tetraciclinas asociadas a estreptomina. Como recomendación, luego de confirmado el diagnóstico, se debe realizar una terapia con antibióticos y castración con un seguimiento serológico y hemocultivo.

Referencias

- ALTON G.G., JONES L.M., ANGUS R.D. & VERGER J.M., 1988. Techniques for the Brucellosis Laboratory. Institut National de la Recherche Agronomique, Paris, France.
- CARMICHAEL L. E., JOUBERT J. C., 1988: TRANSMISSION OF BRUCELLA CANIS BY CONTACT EXPOSURE. CORNELL VETERINARIAN; 78: 1, 63-73.
- CARMICHAEL L. E., KENNEY R. .M., 1968. CANINE ABORTION CAUSED BY BRUCELLA CANIS. J AM VET MED ASSOC. 152: 605-616.

FLORES-CASTRO R., CARMICHAEL L. E., 1981: BRUCELLA CANIS INFECTION IN DOGS. REVISTA LATINOAMERICANA DE MICROBIOLOGIA; 23: 75.

CARMICHAEL LE, GREENE CE, 2006. CANINE BRUCELLOSIS. IN: GREENE CE, ED. INFECTIOUS DISEASES OF THE DOG AND CAT. 3RD ED. PHILADELPHIA, PENNSYLVANIA: ELSEVIER SAUNDERS, 369-381.

CARMICHAEL LE, 2012. CANINE BRUCELLOSIS. IN: GREENE CE, EDITOR. INFECTIOUS DISEASES OF THE DOG AND CAT. 4TH ED. LONDON: ELSEVIER HEALTH SCIENCES. 398-411.

FELDMAN E. C., NELSON R. W., 1996: CANINE AND FELINE ENDOCRINOLOGY AND REPRODUCTION, 2ND EDITION.: W.B. SAUNDERS CO., PHILADELPHIA. 731-739.

HOLLETT R.B., 2006. CANINE BRUCELLOSIS: OUTBREAKS AND COMPLIANCE. THERIOGENOLOGY 663: 575–587.

NOVAK A.; CORTINA, MARIA E.; MELLI LJ; ELENA S.; CORBERA, NATALIA; ROMERO, JUAN E.; NICOLA A.M.; UGALDE JE; COMERCI D. J; CIOCCHINI AE. DEVELOPMENT OF IMPROVED ENZYME-BASED AND LATERAL FLOW IMMUNOASSAYS FOR RAPID AND ACCURATE SERODIAGNOSIS OF CANINE BRUCELLOSIS. VETERINARY MICROBIOLOGY 208 (2017) 174–180.

CARMICHAEL L. E., 1990: BRUCELLA CANIS. IN ANIMAL BRUCELLOSIS; NIELSEN K. E DUNCAN J. R., ED. CRC PRESS, BOCA RATON, FLORIDA, 335-350.

CARMICHAEL L. E., SHIN S. J., 1996: CANINE BRUCELLOSIS: A DIAGNOSTICIAN'S DILEMMA. SEMINARS IN VETERINARY MEDICINE AND SURGERY (SMALL ANIMAL); 11: 3, 161-165.

CARMICHAEL L.E., GREENE C.E., 2006. CANINE BRUCELLOSIS. IN: GREENE C.E., ED. INFECTIOUS DISEASES OF THE DOG AND CAT. 3RD ED. PHILADELPHIA, PENNSYLVANIA: ELSEVIER SAUNDERS, 369–381.

HENSEL M.E., NEGRON M., ARENAS-GAMBOA A.M., 2018. BRUCELLOSIS IN DOGS AND PUBLIC HEALTH RISK. EMERGING INFECTIOUS DISEASES 24: 8. 1401-1406.

WANKE M.M., 2004. CANINE BRUCELLOSIS. ANIMAL REPRODUCTION SCIENCE 82–83: 195–207.

Gabriela Escobar es Bioquímica y Dra. Es jefa del Laboratorio Nacional de Brucelosis dependiente de INEI-ANLIS “Carlos Malbrán”.



DIAGNÓSTICO DE LA BRUCELOSIS HUMANA

Escobar Gabriela

INEI-ANLIS Dr. Carlos G. Malbrán, Ciudad de Buenos Aires, Argentina

gescobar@anlis.gob.ar

La brucelosis también conocida como fiebre de Malta, fiebre ondulante o del Mediterráneo, es una enfermedad zoonótica, infectocontagiosa de curso crónico que afecta a animales domésticos, fauna silvestre y mamíferos marinos. El hombre es un huésped accidental. Es de difusión mundial y aunque ha sido erradicada en países industrializados continúa siendo aún hoy, un grave problema para la Salud Pública, la producción animal y las economías de algunas regiones. En América Latina, los países con mayor prevalencia son Argentina, México y Perú. Los agentes causales son las bacterias del género *Brucella* que al ser fagocitadas por las células del sistema mononuclear fagocítico son capaces de sobrevivir y multiplicarse generando una infección sistémica que puede afectar cualquier órgano o tejido. El diagnóstico certero es el aislamiento del germen y su identificación, pero no siempre se intenta por falta de facilidades y cuando se lo hace, no siempre se logra el aislamiento ya que la concentración en sangre es baja e intermitente. Los métodos serológicos se emplean como prueba indirecta de la infección. En este tipo de diagnóstico se debe tener en cuenta que el género *Brucella* presenta una estructura antigénica compleja, que la inmunidad no es estimulada igualmente por los distintos antígenos y que las respuestas varían con el estado de la infección. Los métodos clásicos para el diagnóstico serológico de infecciones debidas a *B. melitensis*, *B. abortus* y *B. suis* emplean antígenos de células enteras de *B. abortus* en fase lisa, que detectan anticuerpos anti-lipopolisacárido S (LPS-S). Pueden presentarse casos de reacción cruzada con algunas bacterias de importancia clínica como *Francisella tularensis*, *Escherichia coli* O 157:H7, *Vibrio cholerae*, *Salmonella* grupo N y *Pseudomonas maltophilia*. Las técnicas clásicas: prueba de aglutinación rápida en placa (Huddleson), aglutinación con antígeno tamponado (BPA), Rosa de Bengala (RB), Tubo (Wright), 2- mercapto-etanol (2ME), y Fijación de Complemento (FC) continúan siendo útiles en el diagnóstico. Es importante usar antígenos estandarizados para asegurar la uniformidad de los resultados. Tanto BPA como RB, por su bajo pH, privilegian la aglutinación de las inmunoglobulinas tipo IgG reduciendo las reacciones inespecíficas. BPA es ligeramente más sensible que RB y se recomienda para el estudio de brucelosis en sangre a transfundir. La prueba de Wright detecta isotipos IgM, IgG e IgA en el suero, es de baja especificidad y no es recomendable en casos crónicos. La prueba de 2ME se realiza conjuntamente con la prueba de Wright, utilizando el reactivo que es tóxico, para inhibir las IgM presentes en el suero. La FC es una prueba sensible y específica, detecta anticuerpos de tipo IgG que predominan en casos crónicos, pero tiene el inconveniente de ser muy laboriosa y poco apropiada para casos agudos. Las pruebas modernas de unión primaria tienen la ventaja de tener alta sensibilidad y especificidad, detectan anticuerpos incompletos, comunes en los pacientes crónicos y reducen la reacción cruzada con otros gérmenes Gram negativos. El Glyco-iELISA detecta casos agudos y crónicos. La prueba de análisis de la Polarización de la Fluorescencia (FPA), tiene la ventaja de realizarse en tubos de vidrio de 12x75mm, que se pueden volver a usar luego de su lavado, se realiza en pocos minutos, detecta casos agudos y crónicos. Requiere de un polarímetro para su lectura, mientras que el ELISA puede utilizar cualquier lector de uso habitual en los laboratorios clínicos, con la desventaja que se realiza cada 15 o 20 días según se pueda completar la placa de 96 pocillos. Por el contrario, el ensayo de FPA se puede realizar en el momento que ingresa la muestra. Actualmente se está validando para su uso en el análisis de sueros humanos. Cuando se sospecha de una infección por *B. canis*, el diagnóstico se realiza utilizando antígenos preparados con la cepa *B. canis* M-. La prueba que se utiliza es de microaglutinación (RSAT) como tamiz y una ELISA indirecto que emplea una proteína recombinante como conjugado para confirmar los casos. El diagnóstico bacteriológico se puede realizar a partir de sangre, médula ósea, líquido cefalorraquídeo, líquido articular, biopsias u otros materiales. La toma de muestra se debe realizar antes de indicar al paciente tratamiento antibiótico. Se recomiendan tres muestras en medio de cultivo monofásico o una en medio de cultivo de equipo automatizado, en un período de 24 horas, preferentemente durante la etapa febril del paciente. Si no se dispone de facilidades para continuar con el procesamiento de la muestra y se traslada a otra institución, tener la precaución de acondicionarla en recipientes triples, para envío de material para diagnóstico, con las etiquetas correspondientes de acuerdo a las normas de bioseguridad internacionales. La incubación de los cultivos se realiza a 37°C en atmósfera con 10 % de CO₂. Cuando se emplean medios de cultivo líquidos estáticos se requieren pasajes periódicos a medio de cultivo sólido para evitar la disociación de las colonias. Generalmente los hemocultivos requieren un período de incubación prolongado, por esa razón no se descartan como negativos antes de los 40 días. Las colonias, pequeñas, translúcidas y

de bordes lisos, se pueden visualizar en un medio de cultivo sólido a partir de las 48 h de incubación. A partir de las colonias se realiza la identificación mediante dos metodologías: 1) MALDI-TOF MS que permite una identificación rápida y altamente confiable de *Brucella* a nivel de género y especie a partir del crecimiento de colonias y 2) tipificación fenotípica que identifica a nivel de género, especie y biovar pero tiene la desventaja de llevar más tiempo y sólo se realiza en el Laboratorio Nacional de Referencia debido al riesgo biológico que implica y a la necesidad de personal altamente entrenado y de patrones de referencia. Como diagnóstico complementario, cuando no se logra el aislamiento o en pacientes crónicos se puede realizar PCR para detectar ADN de *Brucella* en muestras de sangre con citrato de sodio al 2,5 %. El hombre se contagia mediante el consumo de alimentos contaminados, contacto directo o indirecto con animales infectados o por accidentes de laboratorio. *B. melitensis* y *B. suis* son altamente patógenas, *B. abortus* y *B. canis* son moderadamente patógenas, mientras que *B. ovis* y *B. neotomae* parecen no afectarlo. La incidencia de la enfermedad en el hombre está en relación directa con la infección en los animales domésticos. Los síntomas más característicos son fiebre, pérdida de peso, escalofríos, sudores, cefaleas, anorexia, fatiga, astenia, mialgias y artralgias, aunque a veces la enfermedad puede cursar en forma subclínica. Los síntomas se presentan generalmente a las 2-3 semanas posteriores a la infección pero en algunos casos pueden aparecer más tarde. Ocasionalmente predominan los síntomas comprometidos con un órgano en particular y en ese caso la enfermedad se considera localizada o con complicaciones. Con el diagnóstico temprano y el tratamiento oportuno se busca acortar el período sintomático, reducir las complicaciones y prevenir las recaídas. El mayor problema en el tratamiento de la brucelosis lo constituye la dificultad para conseguir la eliminación intracelular del microorganismo. Por ello, el tratamiento se basa en la utilización de asociaciones de antibióticos con efecto sinérgico o aditivo, administradas durante varias semanas para reducir, en lo posible, la aparición de recaídas. Las combinaciones más usadas son las propuestas por la Organización Mundial de la Salud, que incluyen doxiciclina durante 6 semanas, combinada con estreptomicina durante 2 a 3 semanas, o rifampicina durante 6 semanas.

Referencias

- Alton G.G., Jones L.M., Angus R.D., Verger J.M. (1988). Bacteriological methods. In : Techniques for the Brucellosis Laboratory. Institut National de la Recherche Agronomique, Paris, France, 13 -61
- Corbel M.J. Brucellosis: an overview. (1997) Emerging Infectious Diseases 3: 13-221.
- Corbel M.J. Brucellosis: epidemiology and prevalence worldwide. In: Young EJ, Corbel MJ, eds. Brucellosis: Clinical and Laboratory Aspects. Boca Raton, Florida: CRC, 1989, pp. 26-37
- Corbel, M. J. 1997. Recent advances in brucellosis. J.Med.Microbiol. 46:101-103
- Diaz, R. & Moriyon, I. (1989). Laboratory techniques in the diagnosis of human brucellosis. In: Brucellosis: clinical and laboratory aspect, pp. 73-84. Ed. E. J. Young & M.J. Corbel. CRC, Boca Raton, Fl
- Goicochea, C.E., Gotuzzo, E., Carrillo, C. 1996. Cholera-*Brucella* cross –reaction: A new potential diagnostic problem for travelers to Latin America. J.Travel.Med. 3:37-39
- Lucero, N. E. & Bolpe, E. (1998). Buffered plate antigen test as a screening test for the diagnosis of human brucellosis. J.Clin. Microbiol. 36, 1425-1427
- Lucero, N.E., Ayala, S.M., Escobar, G.I., Jacob, N.R. (2007). The value of serologic tests for diagnosis and follow up of patients having brucellosis. Am J Infect Dis 3:27-35
- Mesureur J, A. S.-P.-J. (2018). A MALDI-TOF MS database with broad genus coverage for species-level identification of *Brucella*. PLoS Negl Trop Dis. 12(10); e0006874. Pappas G, Akritidis N, Bosilkovski M, Tsianos E. Brucellosis. (2005) N Engl J Med 2005; 352:2325-2336
- Simultaneous Detection of the Genus *Brucella* by Combinatorial PCR. K Imaoka, et al. Jpn J Infect Dis 2007, 60:137-139)
- Yagupsky P. (1999). Detection of Brucellae in blood cultures. J. Clin. Microbiol. 37, 3437-3442
- Young EJ. An overview of human brucellosis. (1995) Clin Infect Dis 21: 283-290