MODULO 1- La Brucelosis Bovina – Características Generales

La Brucelosis

La brucelosis es una enfermedad infectocontagiosa, producida por la bacteria *Brucella* sp que puede afectar a muchas especies de animales, particularmente a bovinos, cerdos, cabras, ovejas, camélidos, bisontes, alces, ciervos, caballos, caninos y otros mamíferos.

Esta enfermedad es una **zoonosis es decir se transmite de los animales al hombre** donde causa una enfermedad invalidante si no es tratada debidamente con antibióticos.

La Brucelosis en los bovinos es causada por *Brucella abortus*. En algunos países, particularmente en el sur Europa y Asia occidental, donde el ganado se mantiene en estrecha asociación con ovejas o cabras, la infección también puede ser causada por *B. melitensis*. En ocasiones *B. suis* puede causar una infección crónica en la glándula mamaria de bovinos, pero no se ha reportado de causar aborto o diseminarse a otros animales.
La distribución de la enfermedad es mundial; algunos países en el norte y centro de Europa, Canadá, Japón, Australia y Nueva Zelanda son libres de la enfermedad.

¿Cuáles son los signos clínicos de la brucelosis en bovinos?

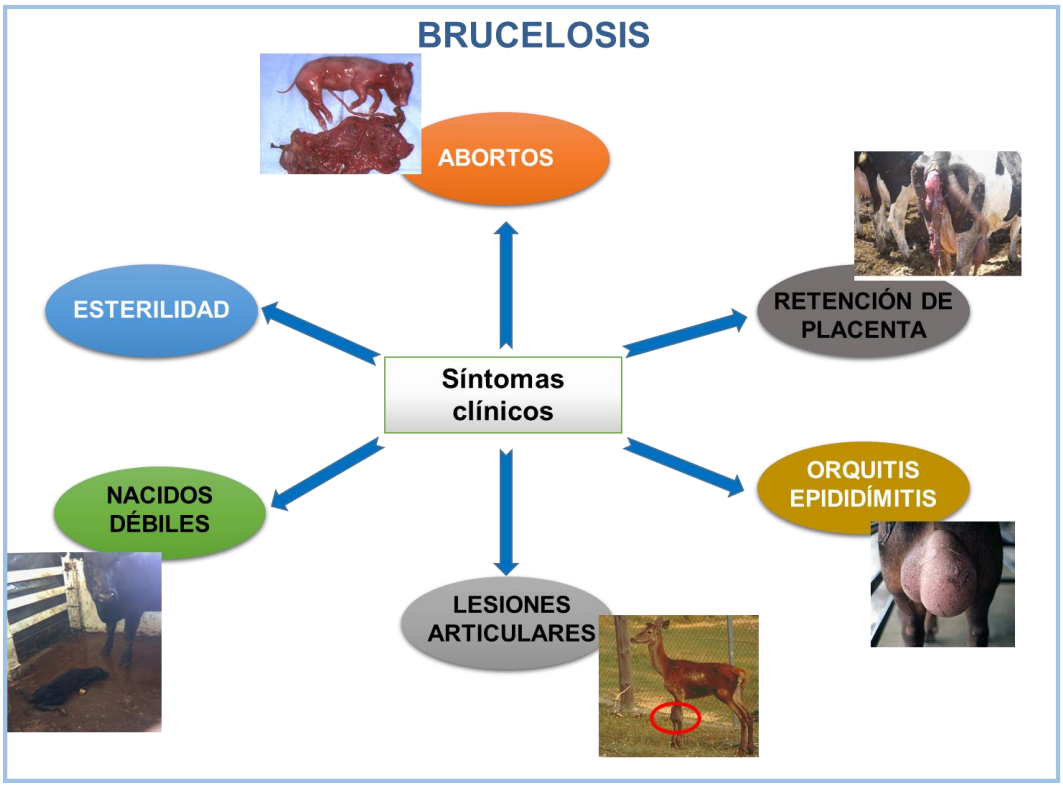
La enfermedad es generalmente asintomática en hembras no gestantes.
Después de la infección, las bacterias se multiplican primero en los ganglios linfáticos regionales y luego se propagan a través de la sangre y del sistema linfático del animal, infectando diferentes órganos, especialmente los órganos reproductivos, glándulas mamarias, las articulaciones, bazo e hígado. Esto puede causar abortos, infertilidad y el nacimiento de animales débiles.

En el ganado vacuno, el aborto es el principal signo clínico de la enfermedad entre el quinto y noveno mes de preñez. En la placenta de la vaca se ha podido demostrar la existencia de una gran cantidad de eritrol, un hidrato de carbono que estimula la multiplicación de las *Brucellas*, lo que explicaría la gran susceptibilidad de los tejidos fetales del bovino. Después de que una vaca infectada aborta o pare

normalmente, abundante excreción de microorganismos se produce en la placenta, fluidos fetales y descargas vaginales. La infección se vuelve crónica y las *Brucellas* se acantonan en los ganglios y glándulas mamarias de la vaca y la bacteria puede excretarse por leche.
Las gestaciones subsecuentes generalmente llegan a término, pero la infección uterina y mamaria se repite.

Los bovinos machos adultos pueden desarrollar orquitis (inflamación de los testículos) y la brucelosis puede ser una causa de infertilidad en ambos sexos.
La inflamación de las articulaciones (higromas) generalmente en las patas, son una manifestación común de brucelosis en algunos países tropicales y puede ser el único indicador de la infección.

Fig. 1 Síntomas clínicos



Incubación de la enfermedad

En infecciones naturales es difícil medir el período de incubación (desde la infección hasta el aborto o nacimiento prematuro), porque no se puede determinar el momento de la infección. Por experimentación se ha demostrado que el período de incubación es sumamente variable e inversamente proporcional al desarrollo del feto. Cuando más adelantada está la preñez, más corto será el período de incubación.

El período de "incubación serológica" (desde la infección hasta la aparición de anticuerpos) dura de varias semanas a varios meses. Factores tales como la virulencia y la dosis de la bacteria, la vía de infección y la susceptibilidad del animal hacen variar el período de incubación.

Susceptibilidad

Los diferentes animales de un rebaño manifiestan distinto grado de susceptibilidad a la infección, según la edad y el sexo.

Los terneros y terneras de hasta seis meses de edad son poco susceptibles a la infección y en general se infectan solo en forma transitoria. Un ternero alimentado con leche que contiene *Brucellas* puede albergar el agente en sus ganglios, pero a las 6–8 semanas de suspender la lactancia, el animal suele liberarse de la infección. Las vaquillonas que se mantienen separadas de las vacas, como es costumbre en el manejo de los establecimientos, presentan con frecuencia una tasa de infección más baja que las vacas. Las vaquillonas expuestas a la infección antes del servicio son susceptibles, se infectan, pero generalmente no abortan.

Las vacas constituyen la categoría más susceptible y más aún cuando están preñadas; en ellas la infección es común y el aborto frecuente.

El toro es también susceptible, aunque algunos investigadores sostienen que es más resistente a la infección que la hembra. Sin embargo, es posible que se haya llegado a esta conclusión por observaciones que se deben más al manejo de un establecimiento que a la susceptibilidad natural del macho, pues, en efecto, se suele mantener a los toros separados de las vacas.

Por otra parte, los machos castrados y las hembras no gestantes no desempeñan un papel importante en la epizootiología de la brucelosis, ya que no pueden eliminar *Brucellas* al medio exterior.

Además de la edad y el sexo, es importante tener en cuenta la susceptibilidad individual. Aun en las categorías más susceptibles —vacas y vaquillonas— hay animales que nunca se infectan o, cuando eso sucede, la infección es transitoria.

Algunas vacas son poco susceptibles, tienen una infección generalizada, sufren en su función reproductora y en la producción de leche durante uno o más años, pero se recuperan gradualmente; el título aglutinante resulta negativo, puede interrumpirse la eliminación de *Brucellas*, y se normalizan tanto la función reproductora como la producción de leche. Sin embargo, la mayoría de las vacas se infectan y se mantienen con títulos aglutinantes positivos por muchos años o por toda la vida y, si bien después de uno o dos abortos paren normalmente y vuelven a su producción normal de leche, muchas son portadoras y eliminadoras de *Brucellas*.

¿Cómo se transmite la enfermedad en animales?

Los reservorios naturales de *B. abortus*, *B. suis* y *B. melitensis* son los bovinos, los porcinos, y los caprinos y ovinos, respectivamente. El huésped natural de *B. canis* es el perro y el de *B. ovis*, el ovino.

Los animales se infectan naturalmente por las mucosas, a través de la vía conjuntival, digestiva, respiratoria, genital y por contacto.

La vía de invasión más frecuente es a través de la **mucosa oro faríngea,** a través de la costumbre de lamer los órganos genitales, membranas fetales, fetos y terneros recién nacidos, que contienen todos ellos gran número de *Brucellas*. En menor grado, pueden contribuir a la contaminación del campo las materias fecales de terneros que se alimentan de leche contaminada, ya que no todas las *Brucellas* se destruyen en el tracto digestivo y también **por ingestión** de pastos, forrajes y agua contaminados por *Brucellas.*

En ambientes cerrados, con gran concentración de animales, la inhalación de polvo en suspensión es una vía muy importante de infección, sobre todo en tierras secas y desérticas.

En forma experimental se ha demostrado que las brucelas **pueden penetrar a través de la piel lesionada o aún intacta**, pero se desconoce el grado en que interviene esta vía de invasión en la infección natural.

La vía intrauterina que se emplea en la inseminación artificial es muy importante en la transmisión de la infección en bovinos. El uso de toros infectados para inseminación artificial constituye un peligro importante. También está demostrada la transmisión vertical de madre a terneros.

Fig. 2: Vías de eliminación

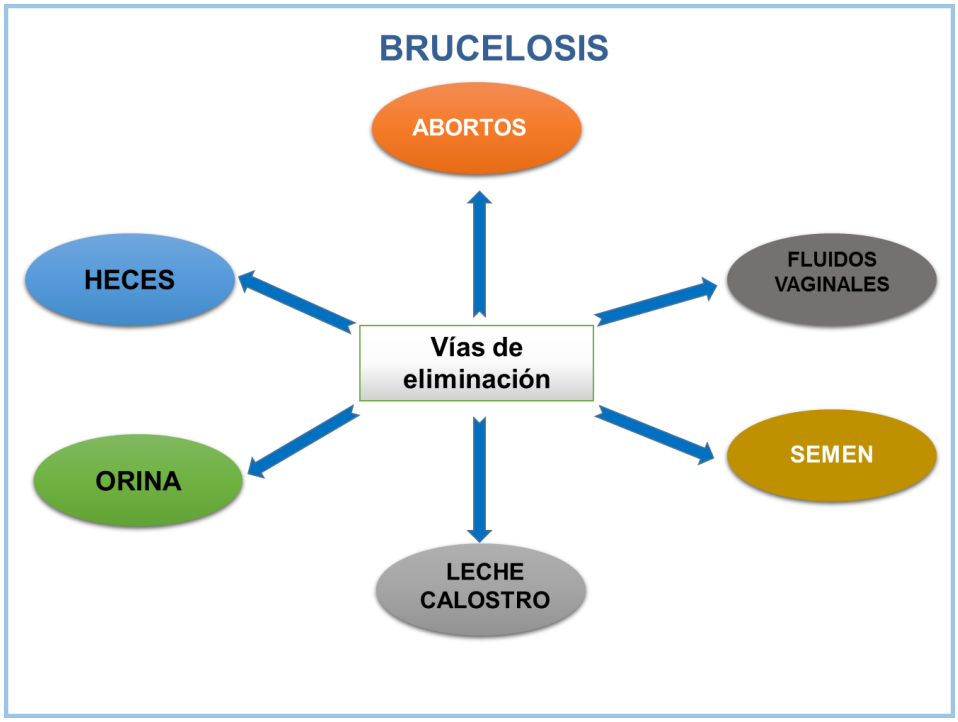
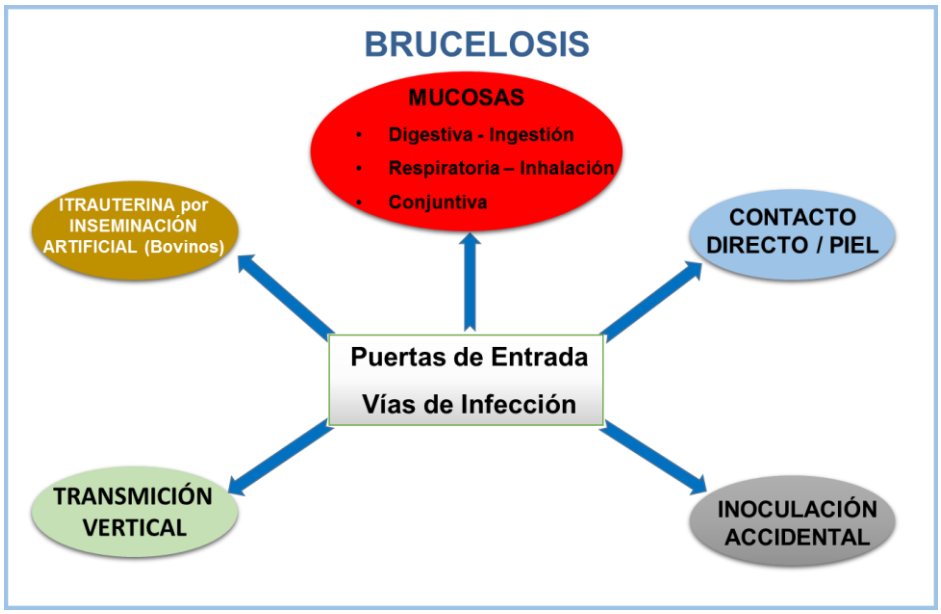


Fig. 3: Vías de Infección



Viabilidad en el medio ambiente

La viabilidad de *Brucella* en el medio exterior es extremadamente duradera sobre todo en agua y medios acuosos a pesar de tratarse de una bacteria no esporulada, la resistencia de *Brucella* a agentes químicos y su viabilidad en el medio ambiente es considerable aunque dependiente de factores tales como la temperatura, humedad y presencia de materia orgánica.

Supervivencia de *B. abortus* en diversos medios y condiciones naturales

Medio	Temp/Medio ambiente	Viabilidad
Agua	37°C, pH 7,5	< 1 día
Agua	8°C, pH 6,5	> 57 días
Suelo	Otoño, humedad 90%	48-73 días
Estiércol	Verano	1 día
Estiércol	Invierno	53 días
Orina	Verano	108 días
Orina	Invierno	174 días
Desperdicios animales	Depósito	7 semanas
Desperdicios animales	Depósito a 12°C	> 8 meses

Inactivación

Inactivación física: Las bacterias de *Brucella* mueren rápidamente cuando se someten a la acción del calor en suspensiones diluidas. La pasteurización destruye estas bacterias y también son sensibles a dosis esterilizantes normales de radiación ionizante siempre que la exposición sea completa.

Inactivación química: La mayoría de los desinfectantes matan rápidamente las bacterias que se encuentran en medios acuosos. Una solución de fenol en una proporción de 10g/l mata los microorganismos en una suspensión acuosa después de una exposición de menos de 15 minutos a 37°C.
La presencia de materia orgánica reduce drásticamente la eficacia de la mayoría de los desinfectantes.
Se ha comprobado que el xileno en una concentración de 1ml/l destruye las bacterias presentes en el estiércol líquido, aunque requiere una exposición de al menos un mes. Se pueda usar como alternativa una cantidad de 20 kg de cianamida cálcica por m^3 de estiércol líquido, con una exposición de no menos de dos semanas.
Siempre que sea posible, es conveniente efectuar la desinfección mediante un tratamiento térmico en lugar de usar sustancias químicas.

Para descontaminar la piel después de una exposición accidental se puede usar etanol, isopropanol, yodóforos o soluciones diluidas de hipoclorito

Diagnóstico

Son muy diversas las técnicas actualmente en uso, nos referiremos especialmente a las que tienen carácter oficial en la mayoría de los países y son recomendadas por organismos internacionales como la Organización Mundial de Sanidad animal (OIE)

1) Métodos Directos (diagnóstico Bacteriológico y molecular)
2) Métodos Indirectos (diagnóstico inmunológicos-serológicos)

Métodos Directos: Para llevar a cabo el **aislamiento bacteriológico**, es muy importante la toma de muestra que debe ser de elección el material proveniente del aborto (cotiledones placentarios, líquido amniótico, exudado vaginal o uterino y

contenido gástrico, hígado y bazo fetales), material de necropsia: médula ósea y ganglios linfáticos (mandibulares, parotideos, retrofraringeos, mesentéricos, supramamarios, inguinales e ilíacos), bazo, útero, ubre. Leche (de los cuatro cuartos). En machos: testículos, próstata, epidídimo, vesículas seminales y semen.

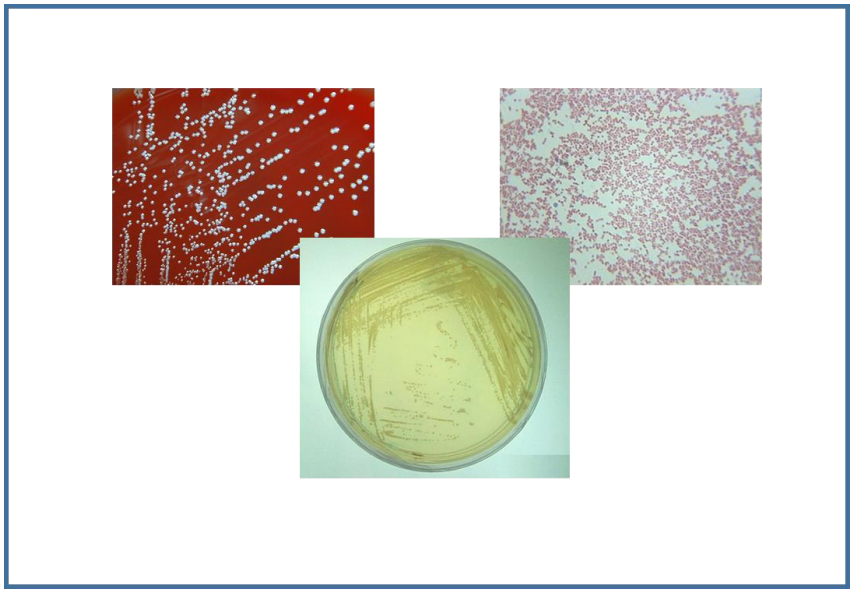
El material puede recolectarse en frascos o bolsas estériles, teniendo la precaución de sellarlo bien para evitar derrames, manteniéndolo refrigerado si se va a procesar dentro de las 24 hs. o se puede congelar si su procesamiento no será inmediato. En el caso de hisopos, sumergirlos en un tubo con solución fisiológica estéril.

Si bien el diagnóstico bacteriológico es de carácter definitivo, no es posible realizarlo con gran cantidad de muestras, es laborioso, costoso, lento y requiere personal debidamente capacitado para realizarlo, además de Buenas prácticas y procedimientos y, condiciones de bioseguridad.

Es importante poder realizarlo para

- Confirmar un diagnóstico serológico controversial
- Realizar estudios epidemiológicos de distribución geográfica de cepas
- Definir un estatus epidemiológico

Fig 5: Diagnóstico bacteriológico



El diagnóstico directo con técnicas de biología molecular como PCR (reacción en cadena de la polimerasa) es hoy también muy utilizado, aunque no es aplicable a gran número de muestras y su utilidad está asociada a la confirmación de la bacteriología y la serología. Se puede realizar a partir del cultivo o a través de muestras de campo como leche, semen, sangre entera, suero y tejidos.

Métodos Indirectos: En los bovinos el diagnóstico de rutina se basa en métodos indirectos como la **serología**. En la actualidad se dispone de un gran número de diferentes pruebas serológicas. Todas ellas pueden ser útiles cuando se emplean con criterio epidemiológico. Las muestras para realizar este ensayo es sangre entera (mantener refrigerada) sin anticoagulantes para la extracción del suero (mantener congelado) que se someterá a los ensayos, también leche refrigerada sin congelar para la prueba de anillo en leche (PAL) o congelada para la técnica de ELISA.
En el diagnóstico de la brucelosis bovina resulta de especial interés conocer la evolución de las inmunoglobulinas en la infección y en la vacunación; en ambas aparecen primero las IgM y luego las IgG. La diferencia es que, mientras en la infección por cepas de campo las IgG tienden a incrementarse y a persistir, en terneras vacunadas entre los 3 y 8 meses de edad, las IgG post vacunales tienden a desaparecer entre los tres a los seis meses después de la vacunación.

Las pruebas serológicas se pueden clasificar como:

1) Pruebas tamiz (operativas y de rutina)
2) Complementarias/confirmatorias
3) De vigilancia epidemiológica

Una misma prueba puede servir como operativa en un programa y ser definitiva para el diagnóstico o ser la prueba tamiz o complementaria en otro programa.
Un número considerable de componentes antigénicos de *Brucella* han sido caracterizados. Sin embargo, el antígeno que domina la respuesta de anticuerpos es el lipopolisacárido (LPS).

La estructura antigénica del LPS es compartida con otras bacterias Gram negativas (*Yersinia enterocolítica, Salmonella* serotipo O:9, *E. coli* (serotipo 0175:h7),

Pseudomona maltophila), lo que puede generar reacciones cruzadas con las técnicas serológicas convencionales.

Las pruebas de aglutinación con el antígeno elaborado con células enteras de cultivos de *Brucella* pueden dar reacciones inespecíficas, y como resultado numerosas modificaciones de la prueba de aglutinación fueron ideados. Mientras que la aglutinación se ha utilizado con éxito en varios países para la erradicación de la brucelosis en animales, estas pruebas tienen como desventaja una alta sensibilidad y por lo tanto baja especificidad y su incapacidad para distinguir anticuerpos post vacunales de los inducidos por la infección con cepas de campo.

La prueba de Fijación de complemento (FC), es considerada la prueba estándar, mientras que la sensibilidad y la especificidad de la FC son excelentes, su principal inconveniente radica en que es una técnica laboriosa y requiere de diferentes reactivos, equipamiento y personal capacitado para su ejecución. En consecuencia, se han desarrollado otras pruebas con alta sensibiidad y especificidad, incluyendo enzimoinmunoensayos (ELISA indirecto y ELISA competitivo), Polarización Fluorescente (FPA).

Las prueba de BPA (antígeno buferado en placa) o RB (Rosa de Bengala) con antígeno amortiguado son técnicas rápidas, de 4 a 8 minutos, Son pruebas cualitativas que clasifican los animales en positivos y negativos.
Los animales con resultado negativo son clasificados como tales y los de resultado positivo son sometidos a otras pruebas confirmatorias.

Las pruebas de seroaglutinación (BPA, Seroaglutinación en tubos –SAT-) son de fácil ejecución y permiten el procesamiento de un gran número de muestras por día. No obstante, cuando la proporción de establecimientos infectados y la prevalencia global llegan a una tasa reducida, sus limitaciones resultan evidentes en los llamados "*Establecimiento problema*".

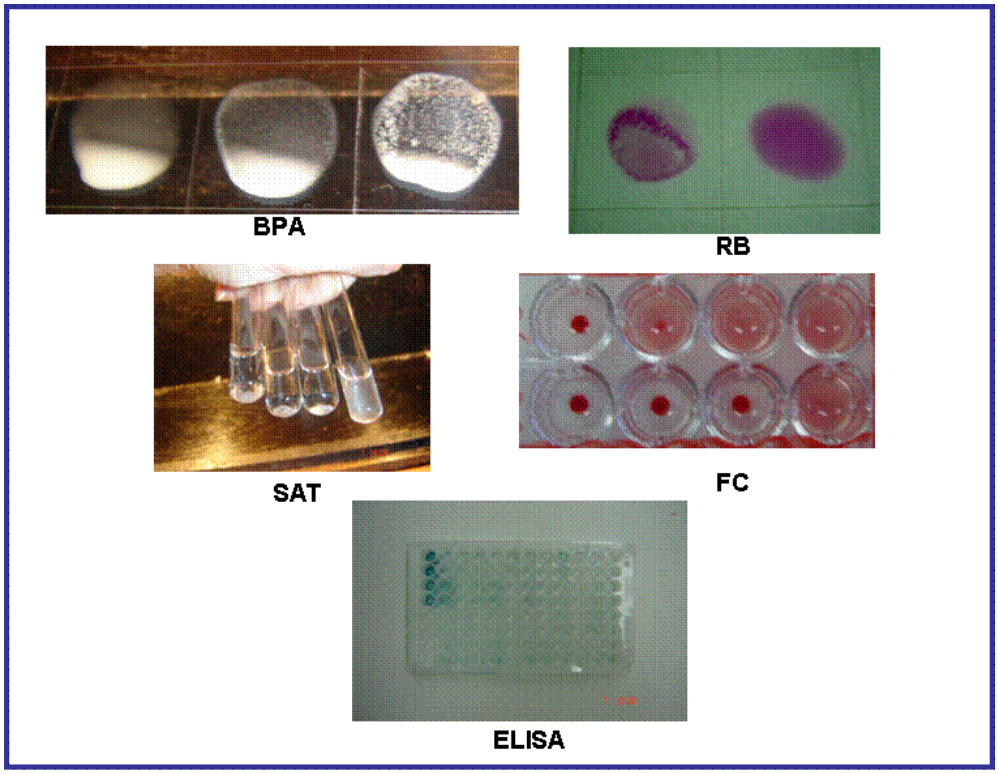
Se clasifican como *establecimientos problemas* aquellos en los cuales la infección persiste a pesar de la rigurosa aplicación de exámenes serológicos y eliminación de reaccionantes, generalmente existe algún animal portador de *Brucella* que

permanece "oculto" para el diagnóstico de rutina y se deberá recurrir a otras técnicas complementarias.

Este tipo de establecimiento problema exige un **estudio epidemiológico** que incluye diversos aspectos como condiciones ambientales, límites, composición del rodeo, movimientos, contacto con animales de la misma y de otras especies, estudios serológicos y bacteriológicos, etc.

Cuando la prevalencia de la enfermedad cae a niveles bajos, la mayoría de las reacciones observadas en proyección sin duda caerá en la categoría de falsos positivos. Esto pone un mayor énfasis en la necesidad de pruebas con mayor especificidad. Para aumentar la especificidad diagnóstica, pueden aplicarse dos (o más) pruebas confirmatorias convencionales.

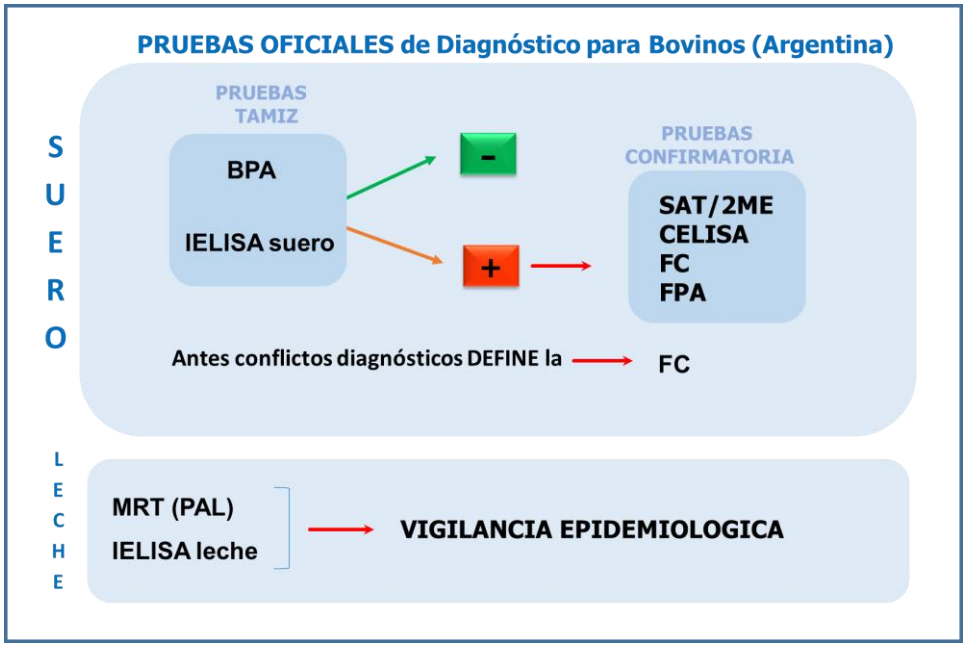
Fig 7: Pruebas diagnósticas



El diagnóstico para la vigilancia epidemiológica de la brucelosis se lleva a cabo por separado en animales lecheros y en los de carne, en puntos estratégicos y por pruebas diagnósticas diferentes. El objetivo principal es ubicar rodeos infectados y mantener la supervisión sobre rodeos indemnes. Para el ganado de carne se usan pruebas tamiz o presuntivas de gran sensibilidad, tales como la BPA, y el punto estratégico para recolectar las muestras son los mercados de ganado y los mataderos. Los sueros que resultan positivos se someten luego a pruebas confirmatorias y los animales se rastrean hasta su establecimiento de origen.

Para el ganado lechero se dispone de la prueba de anillo en leche (PAL), de gran sencillez y que permite el examen, en poco tiempo, de un gran número de rebaños. Las muestras compuestas de tachos o tanques se recogen en las receptorías de leche y usinas lácteas o en el propio tambo. Al hallar una muestra positiva es necesario realizar el examen serológico individual de los animales del establecimiento de origen.

Fig. 8 Pruebas oficiales de diagnóstico para Bovinos en Argentina



La estrategia diagnóstica y la elección de las técnicas a utilizar en un rodeo, área o región serán definidas por el Programa de Brucelosis junto al productor y al

veterinario acreditado y **siempre asociadas al criterio epidemiológico de la enfermedad.**

No hay ninguna prueba serológica que, aplicada aisladamente, permita detectar la totalidad de los animales infectados, por eso es muy importante que un programa de control y erradicación se base en el diagnóstico de rebaño.

Vacunación

Para el control de la brucelosis bovina en áreas enzoóticas se recomienda la vacunación. La vacuna de elección es la cepa viva atenuada *B. abortus* S 19, consagrada por su uso universal, la protección que confiere durante toda la vida útil del animal y su bajo costo. La vacuna *B. abortus* S 19 es considerada la vacuna de referencia con la cual otras nuevas vacunas deben ser evaluadas. Para evitar su interferencia con el diagnóstico, se recomienda limitar (por legislación) la vacunación a animales de poca edad (terneras de 3 a 8 meses) con una sola dosis, que permite rápidamente la disminución de los anticuerpos originados por la vacuna. Se estima que del 65 al 80% de los animales quedan protegidos contra la infección. El efecto antiabortivo de la vacuna es muy importante, reduciéndose así una de las fuentes principales de la infección. En un programa de vacunación sistemática, los mejores resultados se obtienen cuando se logra una cobertura anual de 80 a 90% de las terneras en edad de ser vacunadas. No deben vacunarse los machos, ni tampoco las hembras de más de 8 meses e incluso, donde fuera posible, de más de **6 meses** de edad. Tampoco se recomienda la revacunación.
Una dosis reducida se puede administrar por vía subcutánea para bovinos adultos en casos particulares cuando el Programa de Brucelosis lo defina según la situación epidemiológica de la enfermedad.

El objetivo principal de un programa de vacunación sistemática y obligatoria de terneras en una zona o país es reducir la tasa de infección y obtener rebaños resistentes a la brucelosis, para luego emprender la erradicación. El lapso necesario para lograr ese objetivo se estima entre 7 y 10 años de vacunación sistemática.

Desde 1996, *B. abortus* cepa RB51 es una vacuna oficial para la prevención de la brucelosis en el ganado en otros países. Sin embargo existe un desacuerdo en

cuanto a la eficacia de la cepa RB51 comparada a la protección inducida por S19 en el ganado vacuno. En la República Argentina el SENASA ha realizado una prueba de eficacia a campo en la cual se demostró y concluyo que la protección inducida por esta vacuna es muy inferior a la conferida por la cepa 19 en bovinos. Por lo cual no se ha autorizado su uso.

¿Cómo es la transmisión al hombre?

Es una enfermedad ocupacional, afecta con más frecuencia a las personas que están en exposición directa con el agente como trabajadores rurales, veterinarios, matarifes, ganaderos, técnicos de laboratorios, etc.

Las vías de transmisión al humano pueden resumirse en:

- **Contacto:** de piel o mucosas con tejidos de animales infectados o sus productos como ganglios, sangre, orina, semen, secreciones vaginales, fetos abortados y en especial placentas. Este mecanismo es el más frecuente en el medio rural y puede llegar a ser el responsable del 60%-70% de todos los casos registrados.
- **Ingestión:** de alimentos no pasteurizados de origen animal, como leche y sus derivados (quesos, crema, manteca, helados).
- **Inhalación**: de polvo en los lugares contaminados donde hay animales infectados, como establos, mataderos, salas de recepción de leche, camiones jaula para transporte de ganado, en el laboratorio por procedimientos de centrifugación, etc.
- **Inoculación accidental** con material infectado-contaminado por *Brucella* spp. Este tipo de transmisión afecta fundamentalmente a veterinarios, matarifes y personal de laboratorio.
- **Perinatal**: por vía transplacentaria, por la ingestión de leche materna o por la exposición a sangre, orina o las heces de la madre infectada durante el parto.

La transmisión interhumana es excepcional, aunque se ha informado posterior a una transfusión de sangre, trasplante de médula ósea y se han descrito casos ocasionales en los que se sospecha transmisión sexual.

Fig 4. Algunas fuentes de infección para el hombre

La enfermedad en el hombre.

El hombre es susceptible a la infección por *Brucella* sp. La especie más patógena para el hombre es *B. melitensis*, seguida en orden decreciente por *B. suis, B. abortus* y *B. canis.*

El período de incubación en general dura de una a tres semanas, pero a veces puede prolongarse por varios meses. Es una enfermedad septicémica, de principio repentino o insidioso, con fiebre continua, intermitente o irregular. La sintomatología de la brucelosis aguda, como la de muchas otras enfermedades febriles, consiste en escalofríos, sudores profusos y elevación de temperatura. Un síntoma casi constante es la astenia y cualquier ejercicio produce una pronunciada fatiga. La temperatura puede variar desde normal en la mañana hasta 40 °C en la tarde; los sudores se presentan durante la noche y se caracterizan por un olor particular. Los síntomas comunes son insomnio, impotencia sexual, constipación, anorexia, cefalalgia, artralgias y dolores generalizados. La enfermedad produce un fuerte impacto sobre el sistema nervioso, que se traduce en irritación, nerviosismo y depresión. Muchos pacientes tienen los ganglios periféricos aumentados de volumen o esplenomegalia (inflamación del bazo) y con frecuencia hepatomegalia (inflamación del hígado).

La duración de la enfermedad puede variar desde pocas semanas o meses hasta varios años. La terapéutica con antibióticos ha permitido reducir en forma considerable la duración de la enfermedad, como también las recaídas. A veces se producen complicaciones serias, tales como encefalitis, meningitis, neuritis periférica, espondilitis, artritis supurativas, endocarditis vegetativa, orquitis, vesiculitis seminal y prostatitis. En cierto número de pacientes la brucelosis tiene un curso crónico que puede durar muchos años, con o sin presencia de focos de infección localizada.