



Artículo de Divulgación Técnica Nº 2 / 25 de julio de 2013

Brucelosis bovina

Por: Sergio Abate; Vet. Mag. Dr.

La brucelosis es una enfermedad infecciosa producida por diferentes especies pertenecientes al género *Brucella*, que además de producir pérdidas económicas por abortos, muertes en animales jóvenes y problemas de fertilidad en el rodeo, constituye un riesgo para la Salud Pública ya que genera en el hombre la fiebre ondulante, una grave zoonosis de curso crónico y sin cura hasta la fecha. En los bovinos, la infección es producida principalmente por la especie *Brucella abortus*, aunque *B. melitensis* y *B. suis* también pueden causarla cuando los bovinos conviven con otras especies animales.

Fuente de infección:

La fuente de infección la constituyen los animales infectados, que eliminan gran cantidad de bacterias junto con los tejidos y productos del aborto (placenta, líquidos, restos fetales), con la leche, y en menor medida en el resto de secreciones; es probable la eliminación de brucelas a través de la materia fecal, orina y secreciones. Todas estas formas de vehiculización contaminan el suelo, los corrales, la paja de las camas, el pasto, el agua de bebederos, arroyos, canales y pozos. Las brucelas pueden sobrevivir en el medio ambiente por períodos relativamente largos sin perder su infectividad (hasta 3 meses en el suelo y estiércol si están protegidas del sol; hasta 1 mes en fluidos y secreciones de abortos, y hasta 8 meses en fetos mantenidos a la sombra). La infección ocurre generalmente por ingestión oral de materiales contaminados, aunque potencialmente las brucelas podrían atravesar cualquier membrana mucosa, como la conjuntiva ocular.

Toma de muestras:

Para el diagnóstico directo de la brucelosis mediante cultivo, la elección de las muestras depende de los síntomas clínicos observados. Estas muestras deben refrigerarse a temperatura de heladera, NUNCA CONGELARSE, y ser tomadas con envases o instrumentos estériles.

Abortos: las muestras más adecuadas incluyen submuestreo de abortos (contenido estomacal, bazo y pulmones de fetos abortados) y membranas fetales, remitidas en envases estériles. No se recomienda el envío de un feto entero, debido a que es difícil mantener entre 4 y 8 °C un cuerpo de más de 1 kg durante el tiempo que implica el transporte del campo a un laboratorio, que generalmente supera fácilmente las 48hs, descomponiéndose la muestra como resultado de bacterias contaminantes.

Material de necropsia: tejidos del sistema retículo-endotelial (linfonódulos de la cabeza, mamaros y genitales, y el bazo), el útero inmediatamente antes o después del parto, y las ubres.

Descargas vaginales: Una fuente excelente para aislar brucelas es un frotis vaginal con hisopo estéril tomado después del aborto o del parto, y es más seguro de manipular para el personal que la opción de submuestrear un feto, evitando así infecciones como accidente laboral.

Secreciones: Las secreciones de animales infectados no siempre vehiculizan brucelas, por eso los resultados de análisis negativos a partir de estas muestras deben tomarse con relatividad. **Leche:** Antes de muestrear, lavar y secar toda la ubre y desinfectar los pezones. Los primeros chorros se desechan y la muestra se recoge directamente en un recipiente estéril, tomando alícuotas de todas las fracciones del ordeño hasta al menos 10 a 20 ml de cada cuarto mamario. Tener cuidado de evitar el contacto entre la leche y las manos del ordeñador. **Semen, líquido de artritis e higromas,** pueden constituir buenas muestras pero solo si la sintomatología lo sugiere.

Para el diagnóstico indirecto (serológico) Las muestras indicadas son sangre o suero. La calidad del resultado del análisis depende estrechamente de la calidad de la muestra que el laboratorio recibe. Si la sangre es tomada en un tubo con catalizador de la coagulación (pedritas en el fondo del tubo), el tubo no debe agitarse para que la sangre coagule, porque se generaría hemólisis, pero sí se debe asegurar que la sangre tome contacto con las pedritas antes de que comience la coagulación. Es conveniente, además, inclinar la gradilla en un ángulo aproximado de 45° hasta que la sangre coagule, para obtener un suero de mejor calidad. Si la muestra permanecerá más de 24 hs, será expuesta a cambios de temperatura o

...La brucelosis es una enfermedad infecciosa que produce pérdidas económicas y constituye un riesgo para la Salud Pública....

...La fuente de infección y transmisión la constituyen los animales infectados, que pueden tener apariencia de animales sanos....

...Para el diagnóstico directo por cultivo, no se recomienda el envío del feto entero porque es difícil mantenerlo bien conservado hasta que llega al laboratorio; es más fácil, seguro y práctico, el envío de submuestras fetales (ej.: líquido del estómago tomado con jeringa estéril)....

...Para el diagnóstico serológico, si las muestras demorarán en ser remitidas al laboratorio, o serán expuestas a cambios de temperatura o vibraciones extremas, es preferible separar el suero del coágulo y enviar solo el suero....



Laboratorio Patagónico de Diagnóstico Agroalimentario

transportada por medios que generen agitación (ej: camino de tierra muchos kilómetros) se aconseja separar el suero y remitir al laboratorio el suero libre de coágulos y glóbulos rojos en tubo limpio.

Diagnóstico:

Pueden realizarse análisis directos o indirectos.

Métodos directos: se basan en el cultivo y aislamiento de las brucelas, con posterior identificación bacteriana mediante pruebas metabólicas y genéticas. Para ello el laboratorio debe contar con condiciones de contención (cabinas de bioseguridad, sistema de calidad, etc.) debido al riesgo de infección del personal del laboratorio. Por esta razón, y porque el cultivo demanda entre 7 y 10 días, la mayoría de los laboratorios solo realizan métodos indirectos (serológicos). Las muestras deben haber sido tomadas en envases estériles, llegar al laboratorio refrigeradas (NUNCA CONGELADAS) y en el menor lapso posible desde que han sido tomadas, con un doble envase para evitar contaminar el ambiente así como las personas que manipulen la muestra hasta que lleguen al laboratorio.

Métodos indirectos: consisten en demostrar una alta cantidad de anticuerpos específicos contra brucelas en la sangre de los animales. Como en el país se está aplicando un plan de control de brucelosis, que adoptó la vacunación obligatoria de terneras, en ocasiones ciertas técnicas diagnósticas podrían encontrar limitaciones para diferenciar anticuerpos vacunales de aquellos producidos por la infección, pudiendo por ello arrojar resultados falsos positivos. Esta dificultad se puede minimizar mediante la:

- Vacunación de terneras a la edad reglamentada (no superar la edad máxima de vacunación).
- Información al laboratorio de la edad de cada animal muestreado.
- Muestreo de animales mayores a los 18 meses.
- Procesamiento de muestras en laboratorios que garanticen trazabilidad mediante un sistema de gestión acreditado.
- Utilizar métodos modernos capaces de discernir entre anticuerpos vacunales y anticuerpos generados por una infección, con el menor error posible.

Para el diagnóstico, se realiza una primera prueba de rastrillaje poblacional, con el objeto de identificar a los animales NEGATIVOS a brucelosis, que son aquellos que carecen de anticuerpos aglutinantes contra brucelas. Esta prueba, rápida y sencilla, es conocida como BPA (aglutinación en placa con antígeno tamponado ácido). Aquellos animales negativos a esta prueba, son considerados negativos a brucelosis y pueden venderse, trasladarse, llevarse a ferias, remates, usarse como reproductores, etc. Pero... *¿Qué significa que un animal es BPA positivo?* Significa que el animal tiene anticuerpos y resulta crucial identificar si esos anticuerpos son consecuencia de una infección o constituyen un remanente de la vacunación.

Los métodos disponibles para realizar esta confirmación son ELISA, Polarización y Fijación de complemento, La aglutinación lenta en tubo (con y sin 2 mercapto etanol) ya ha sido descartada por los referentes expertos de la OIE según las últimas versiones del Manual de Enfermedades de los Animales Terrestres, y tiende a dejarse de usar en el mundo debido a que insume mucho tiempo (demora 48 hs en obtener un resultado), genera residuos químicos tóxicos, y es poco específica ya que posee al menos un 5% de resultados falsos positivos: de cada 100 vacas, 5 son diagnosticadas falsamente como positivas con este método.

ELISA es una combinación de un método enzimático con una reacción antígeno-anticuerpo: es sensible y precisa. No obstante su buena performance, una limitante radica en que requiere personal entrenado, sobre todo para la preparación de las placas de ELISA. Un aspecto cuestionable es que, por razones prácticas y de costos, se suelen requerir varias muestras para procesar una tanda, y ello dificulta la obtención de resultados en el día cuando el usuario requiere analizar un bajo número de muestras. En la provincia de Río Negro, el INTA de Bariloche constituye un centro de referencia en este tipo de análisis.

Otra prueba es la Fijación de Complemento, considerada la prueba de referencia, pero requiere un alto grado de especialización del operario, y demanda mucho tiempo la preparación de todos los reactivos, que a su vez deben estar rigurosamente estandarizados.

Otra prueba, la polarización de luz fluorescente ó FPA, tiene una sensibilidad y especificidad similar al resto de las mejores pruebas disponibles, con la ventaja de ser robusta (resistente a variaciones producidas

...para muestras de sangre, procurar que el tubo esté inclinado a 45 ° antes de coagular, de manera que pueda liberar suero de mejor calidad...



...en caso de usar tubos con facilitador de coagulación, asegurarse que la sangre tome contacto con las partículas del fondo del tubo, aplicando movimientos suaves, antes que la sangre coagule, pero con cuidado de no agitar vigorosamente para no generar hemolisis.

...No colocar más sangre de la capacidad máxima, especialmente en tubos con facilitador de la coagulación...



Laboratorio Patagónico de Diagnóstico Agroalimentario

por diferencias entre operarios), rápida (se obtienen resultados en unos minutos) y económica.

El Laboratorio Patagónico de Diagnóstico Agroalimentario es el único en Patagonia que ofrece el análisis de brucelosis bovina por el método FPA, asegurando la calidad de los resultados al disponer un sistema de gestión de la calidad basado en la norma ISO 17025 que se encuentra acreditado por el Organismo Argentino de Acreditación según LE:161. Además, en la región de Viedma y Carmen de Patagones (y hasta 300 km de distancia) es el único que pertenece a la Red Nacional de Laboratorios del SENASA, y por lo tanto el único que emite certificados de análisis oficiales.

Reglamentaciones:

En Argentina se está aplicando un Plan Nacional de Control y Erradicación de la Brucelosis y Tuberculosis bovina, de carácter oficial. La Res 259/95 creó el registro de veterinarios acreditados según el cual se establecen las responsabilidades de aquellos veterinarios y laboratorios que participan en el plan. La Res 115/99 aprobó el plan para todo el país, y la Res. 150/02 establece las condiciones a cumplir para el movimiento de animales: estar vacunados y con certificado de análisis de laboratorio negativo emitido por laboratorio oficial. Los laboratorios tienen la obligación de informar al SENASA los resultados de los análisis completos, incluyendo las pruebas confirmatorias.

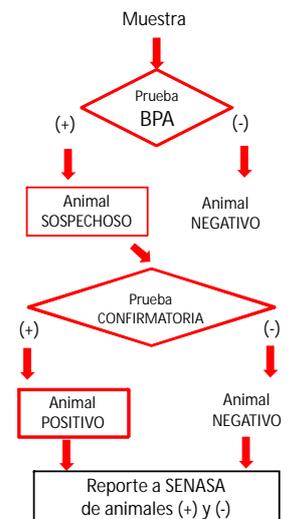
Fuentes:

OIE: Manual de la OIE sobre animales terrestres (2008): Cap. 2,4,3 Brucelosis bovina

Castro, H. y col. (2005): Brucelosis: una revisión práctica Acta bioq. clín. latinoam. v.39 n.2

Infoleg: <http://www.infoleg.gov.ar/>

...El método de FPA tiene una sensibilidad y especificidad homologables a las pruebas de referencia, pero es más rápido, más económico, y más robusto...



Sergio D. Abate se graduó de veterinario en la UBA en 1997, donde desarrolló una beca de investigación trabajando con campylobacterias, cuyos resultados fueron presentados en congresos nacionales y del exterior, y publicados en revista científica con referato. Realizó una carrera de posgrado en docencia universitaria (UBA: 2001), una maestría en salud animal (UBA 2001) y recibió el título de Dr. de la UBA en el área microbiología en 2011. Realizó más de 60 cursos de posgrado, colaboró en el dictado de cursos de posgrado pertenecientes a las maestrías en biotecnología y en salud animal (UBA). Escribió trabajos en revistas científicas, presentó más de 50 trabajos en congresos de alcance nacional e internacional, participó de 18 proyectos de investigación en diversas universidades. Actualmente dirige el Laboratorio Patagónico de Diagnóstico Agroalimentario de la Funbapa (Red Nacional de Laboratorios del SENASA LA: 0016, acreditado por el OAA LE: 161) y desarrolla tareas de docencia e investigación en la UNRN sede Atlántica como Profesor Adjunto en Microbiología.