

## REVACUNACION DE BOVINOS GESTANTES CON *BRUCELLA ABORTUS* CEPA 19 EN DOSIS REDUCIDAS\*

Lautaro Pinochet V. (MV), Walter Niemeyer R. (MV), Carlos Neumann W. (MV)

Departamentos de Salud e Higiene Pecuaria y Ciencias Clínicas Pecuarias. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad de Chile. Casilla 2, Correo 15. Santiago, Chile.

### REVACCINATION OF PREGNANT COWS WITH A LOW DOSE OF *BRUCELLA ABORTUS* STRAIN 19 VACCINE

*Two hundred and thirteen pregnant cows, non reactors or reactors only to serum titers of less than 1:50 to the Standard Agglutination test and non-reactors to the Buffered Antigen test (Card test), were vaccinated with Brucella abortus Strain 19 Vaccine, with a dose of  $5 \times 10^9$  viable bacteria, by conjunctival route. A similar group of bovines was maintained as control. All the bovines had been vaccinated when calves with Strain 19 Vaccine, applied in the traditional way. The bovines belonged to 8 dairy herds with high brucellosis prevalence.*

*It was proved that the vaccination plan used did not induce abortions, but the results to the Standard Agglutination and Rose bengal test, performed 8 months after applying the revaccination, resulted in increase in its titers or became significantly positive in relation to the control bovines.*

En Francia, Plommet y Plommet (1975), iniciaron los trabajos sobre vacunación de bovinos adultos con dosis reducida de Cepa 19. Un método similar es empleado por Nicoletti (1976) en la vacunación de grandes masas de bovinos en Florida y posteriormente en Puerto Rico.

Se ha demostrado que las dosis reducidas de vacuna Cepa 19, son capaces de proteger en igual o mejor grado que cuando se emplea la vacuna en forma tradicional. Plommet y Fensterbank (1976) verifican el grado de protección por medio de desafío con brucela patógena. Igualmente comprueban que las respuestas a las pruebas serológicas rutinarias de diagnóstico, tienen muy pocas variaciones y su persistencia es limitada.

En trabajos realizados en Florida y Puerto Rico, empleando la vacunación en dosis reducida, por vía subcutánea y conjuntival, se ha comprobado el efecto protector, aunque se ha verificado también, en algunos casos, la eliminación de la cepa vacunal a través de la leche, por un tiempo prolongado, (Nicoletti y Cols. 1978 a, 1978 b, 1979, 1981).

Crawfords y Cols. (1978), utilizando la vacu-

nación con Cepa 19 con dosis reducida, por vía subcutánea, en bovinos adultos de Texas, concluyen que este sistema reduce la tasa de infección y que el ganado vacunado que ha sido posteriormente infectado, presenta una menor cantidad y diseminación de la brucela infectante en los diferentes tejidos.

Pinochet y Cols. (1978), en Chile, estudian las modificaciones que sufren los títulos de algunas pruebas clásicas para el diagnóstico de brucelosis, luego de vacunar con Cepa 19 en diferentes concentraciones, un grupo de vacas que habían sido previamente vacunadas cuando terneras y otro grupo nunca vacunado. Comprueban además que, las respuestas serológicas post vacunales no son intensas, pero persisten más allá de los 45 días, especialmente en las vacas previamente vacunadas cuando terneras.

Los programas de control de brucelosis, en la mayoría de los países, están basados en la vacunación de terneras de 3 a 8 meses y en la eliminación de los animales reactivos en las pruebas de diagnóstico. La protección otorgada por la Cepa 19 a terneras, no alcanza niveles satisfactorios

\* Trabajo financiado por Proyecto A-148-83 DIB, Universidad de Chile.

cuando éstas llegan a edad adulta, por lo que existiría gran número de animales permanentemente expuestos a adquirir la enfermedad (Nelson, 1977).

Frente a la alternativa de vacunar vacas adultas con Cepa 19, en un medio altamente infectado, deriva nuestro propósito de conocer las modificaciones que sufren los resultados de las pruebas más corrientes de diagnóstico serológico y la posibilidad de producir abortos, cuando se revacunaban bovinos que ya recibieron la aplicación de Cepa 19 cuando terneras.

## MATERIAL Y METODOS.

Se seleccionaron ocho predios lecheros de la X Región, Osorno y Llanquihue, en donde la única vacuna usada en el control de la brucelosis, era la Cepa 19 aplicada según normas oficiales, 3 a 8 meses de edad. Se consideró también, que fuesen predios que mostraran una alta prevalencia de bovinos positivos en las pruebas tradicionales de diagnóstico de brucelosis, con el fin de garantizar la presencia de la infección (entre 14-23% según prueba de seroaglutinación y entre 12 y 35% según prueba de Rosa de Bengala).

En cada uno de estos predios, se seleccionó hembras adultas que estuviesen preñadas (3 a 7 meses de gestación) y que no fuesen rectoras en la prueba de Seroaglutinación Estándar con títulos mayores de 1:50, ni en la prueba de Rosa Bengala Antígeno Tamponado). Estas pruebas se realizaron según normas oficiales (Alton y Cols., 1976).

En cada predio, los animales seleccionados fueron divididos al azar en dos grupos. Los bovinos de un grupo recibieron por medio de un cuenta gotas, la administración conjuntival de una suspensión de *Brucella abortus* Cepa 19, que contenía  $5 \times 10^9$  bacterias viables por dosis. Los animales del otro grupo fueron mantenidos como controles, conviviendo en el mismo medio y bajo idénticas condiciones de manejo.

El total de animales vacunados ascendió a 213, frente a un número similar de bovinos controles.

Durante el desarrollo de la experiencia, se consideró la presentación de aborto en ambos grupos de animales.

Doscientos cuarenta días después de la vacunación, se estudió las modificaciones de los resultados de las pruebas de diagnóstico serológico, en los animales de ambos grupos de cada predio.

## RESULTADOS.

Ocho meses después de emplear este esquema de vacunación en hembras bovinas preñadas, se

encuentra en algunos animales la persistencia de títulos serológicos detectables por las pruebas de Seroaglutinación Estándar y Rosa de Bengala.

Fueron reactivos en la prueba de Seroaglutinación Estándar con un título al 1:50, el 22,06% de los bovinos de los Grupos Vacunados, mientras que en los Grupos Controles, sólo un 7,65% fue reactor con el mismo título. Estas diferencias fueron altamente significativas ( $p < 0,005$ ).

Igualmente se encuentran diferencias significativas en los resultados de la prueba con títulos de 1:100 o mayores, entre bovinos de los Grupos Vacunados y Controles.

En cuatro predios, los Grupos Vacunados poseían animales reactivos con títulos 1:100 o superiores. Los Grupos Controles de los predios D y E presentaron un caso cada uno de reactivos 1 : 100 (cuadro 1).

La prueba de Rosa de Bengala resultó positiva en el 24% de los bovinos de los Grupos Vacunados y en el 10,36% de los bovinos de los Grupos Controles. Estas diferencias también fueron altamente significativas ( $p < 0,005$ ). Se encontraron animales reactivos con esta prueba en los Grupos Vacunados de los ocho predios incluidos en la experiencia.

Según la prueba de Seroaglutinación Estándar, el porcentaje de nuevos casos de reaccionantes en los Grupos Controles (sumados los con títulos de 1:50 y 1:100 o mayores) fue de 8,56%, mientras que según la prueba de Rosa de Bengala éste fue de 10,36%. La distribución de estos resultados a niveles prediales se presentan en el cuadro 1 y los resultados generales en el cuadro 2.

Durante el período de 240 días que duró la experiencia, sólo se produjo un caso de aborto en los animales de los Grupos Vacunados. Se trataba de una vaca que tenía un título 1:200 en la prueba de Seroaglutinación Estándar y era positiva en la Prueba de Rosa de Bengala. El aborto se produjo a los 6 meses de gestación aproximadamente.

En los Grupos Controles se produjeron dos abortos. Ninguno de éstos fue debido a brucelosis, según los resultados de las pruebas serológicas; pues los bovinos afectados, eran y permanecieron negativos a las pruebas empleadas.

## DISCUSION

La vacunación de vacas adultas con dosis reducida de *Brucella abortus* Cepa 19, no provocaría abortos al ser aplicada en hembras con 4-7 meses de gestación y que han sido vacunadas con Cepa 19 cuando terneras. El único caso de aborto pro-

CUADRO 1. RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE SEROAGLUTINACION ESTANDAR Y DE ROSA DE BENGALA, REALIZADA EN BOVINOS ADULTOS, 8 MESES DESPUES DE LA VACUNACION CON CEPA 19 EN DOSIS REDUCIDA Y POR VIA CONJUNTIVAL (DISTRIBUCION PREDIAL)

Predios	Bovinos Vacunados	Reactores Prueba Seroagl. Estándar		Reactores Prueba Rosa de Bengala
		1:50	≥1:100	
A	12	4	2	7
B	15	4	2	6
C	44	9	3	13
D	17	5	0	5
E	40	4	0	5
F	9	3	0	4
G	19	7	0	4
H	57	11	3	9
TOTALES	213	47	10	53
Bovinos Controles				
A	6	0	0	2
B	19	1	0	1
C	45	3	0	2
D	15	4	1	5
E	39	2	1	4
F	15	1	0	2
G	15	2	0	5
H	68	4	0	2
TOTALES	222	17	2	23

CUADRO 2. RESUMEN DE RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE SEROAGLUTINACION ESTANDAR Y DE ROSA DE BENGALA EN BOVINOS ADULTOS, 8 MESES DESPUES DE LA VACUNACION CON CEPA 19 EN DOSIS REDUCIDA Y POR VIA CONJUNTIVAL

Pruebas Serológicas	Bovinos Vacunados	Bovinos Controles
Seroagl. Estándar: No reactor	156 (73,23%)	203 (91,44%)
Seroagl. Estándar: 1:50	47 (22,06%)	17 ( 7,65%)
Seroagl. Estándar: ≥ 1:100	10 ( 4,69%)	2 ( 0,90%)
Rosa de Bengala: Negativo	160 (75,11%)	199 (89,63%)
Rosa de Bengala: Reactor	53 (24,88%)	23 (10,36%)
Total Bovinos	213	222

ducido no permitió realizar los exámenes bacteriológicos, en forma oportuna, para dar la certeza de la causa del mismo. Sin embargo, esta hembra fue uno de los animales que dio un alto título post vacunación a la prueba de Seroaglutinación y también fue positiva a la Prueba de Rosa de Bengala. Queda también la posibilidad que este bovino hubiese estado incubando brucelosis en el período de selección de animales, sin evidenciar aún títulos serológicos diagnosticables.

Este resultado está de acuerdo con los obtenidos por Nicoletti y Cols. (1978), aunque estos autores utilizaron en sus experiencias, bovinos adultos sin considerar sus antecedentes de vacunación previa con Cepa 19 cuando terneras. Alton y Cols. (1980) igualmente comprobaron al vacunar dos grupos de vacas de nueve animales cada uno, no vacunadas anteriormente, que las dosis de 1/20 y de 1/400 de la tradicional de Cepa 19, no produjeron aborto al aplicarla al principio de la preñez.

Al igual que en todos los trabajos anteriores sobre vacunación de hembras adultas, la respuesta serológica en las pruebas tradicionales, aumenta luego de la aplicación de la vacuna. En nuestra experiencia, la persistencia de los títulos de la prueba de Seroaglutinación Estándar y de reactores en la prueba de Rosa de Bengala se hizo notoria, con valores significativos, más allá de los 8 meses post vacunación. Se estima que uno de los factores que ha intervenido en la mayor sensibilidad de estas pruebas, especialmente la de Rosa de Bengala, es el hecho de tratarse de vacas que recibieron un segundo estímulo vacunal. Menos sensible se comportó la prueba de Seroaglutinación Estándar, que demostró gran cantidad de bovinos con títulos 1:50, pero escasos al 1:100 o mayores. Queda en claro entonces, la imposibilidad de usar la prueba de Rosa de Bengala si se pretende emplear este sistema de vacunación en vacas adultas previamente vacunadas cuando terneras.

Una de las recomendaciones emitidas por Desmettre y Cols. (1981), para hembras adultas en medio infectado, es aplicar por dos veces Cepa 19 vía conjuntival, con un intervalo de 4 meses. Este esquema podría significar también, al igual que en nuestra experiencia, el obtener repercusiones serológicas inadecuadas.

La incidencia de brucelosis en los rebaños utilizados fue extraordinariamente alta. En los Grupos Controles se encontraron 17 animales con títulos 1:50 (7,66%) y 2 (0,90%) con título  $\geq$  1:100 en la Prueba de Seroaglutinación y 23 (10,36%) de nuevos positivos en la Prueba de Rosa de Bengala, durante los 8 meses que duró la experiencia.

Lamentablemente para este estudio, la alta incidencia existente, no se reflejó en la presentación de abortos, hecho que hubiese complementado los antecedentes existentes sobre protección, en el empleo de este esquema de vacunación.

Las bondades que pueda presentar el sistema de revacunación de vacas adultas con dosis reducida de Cepa 19, considerando que ya recibieron la primo-vacunación cuando terneras y que pertenecen a predios de alta prevalencia de la enfermedad, deben ser sopesadas con cautela. Hasta no contar con nuevos antecedentes, no sería recomendable usar este esquema de vacunación ya que las respuestas serológicas en las pruebas de diagnóstico más comunmente empleadas, podrían entorpecer los planes nacionales de control.

## RESUMEN

Se vacunó con Cepa 19, por vía conjuntival en dosis de  $5 \times 10^9$  bacterias viables, a 213 vacas preñadas, negativas o reaccionantes con títulos menores de 1:50 en la prueba de Seroaglutinación Estándar y negativas en la prueba del Antígeno Tamponado (Rosa de Bengala), manteniendo un grupo similar como control. Todos los bovinos habían recibido cuando terneras, la aplicación de Cepa 19 en forma tradicional. Pertenecían a ocho rebaños lecheros con alta prevalencia de brucelosis.

Se comprobó que el esquema de vacunación usado, no indujo a producir abortos, pero los resultados de las pruebas de Seroaglutinación Estándar y de Rosa de Bengala, realizadas 8 meses después de esta vacunación, indican que sufrieron un aumento en sus títulos o se hicieron positivos en forma significativa, en relación a los bovinos controles.

## REFERENCIAS

- ALTON, G.G.; L.A. CORNER; P. PLACKETT. Vaccination of pregnant cows with low doses of *Brucella abortus* S. 19 vaccine. Aust. Vet. 56 : 369-372. 1980.
- ALTON, G.G.; L.M. JONES; D.A. PIETZ. Las técnicas del laboratorio en la brucelosis. Serie Monográfica N° 55. O.M.S. Ginebra. 1976.
- CRAWFORD, R.P.; F.C. HECK; J.D. WILLIAMS. Experiences with *Brucella abortus* Strain 19 Vaccine in adult Texas cattle. J. Am. Vet. Med. Assoc. 173: 1457-1461. 1978.
- DESMETTRE PH.; L. JOUBERT; L. VALETTE. Vaccin antibrucelique a bactéries vivantes préparé a partir de la souche *Brucella abortus* B 19, administré par voie conjuntivale. Bull. Soc. Sci. Vét. et Méd. comparée, Lyon. 83 : 17-24. 1981.
- NELSON, C. Immunity to *Brucella abortus*. In: Crawford R.P., Hidalgo, R.J. Ed. Bovine Brucellosis: An International Symposium. College Station. Texas. A & M. University Press. 1977. 175-188.
- NICOLETTI, P. A preliminary report on the efficacy of adult cattle vaccination using Strain 19 in selected dairy herds in Florida. Proc. 80 th. Annual Meeting. U.S. Animal Health Association. 1976.
- NICOLETTI, P.; L.M. JONES; D.T. BERMAN. Adult vaccination with Standard and Reduced Doses of *Brucella abortus* Strain 19 vaccine in dairy herd infected with Brucellosis. J. Am. Vet. Med. Assoc. 173: 1445-1449. 1978.
- NICOLETTI, P.; L.M. JONES; D.T. BERMAN. Comparison of the subcutaneous and conjunctival route of vaccination with *Brucella abortus* Strain 19 vaccine in adult cattle. J. Am. Vet. Med. Assoc. 173: 1450-1456. 1978.
- NICOLETTI, P. The effects of adult cattle vaccina-

- tion with Strain 19 on the incidence of brucellosis in dairy herds in Florida and Puerto Rico. Proc. 83 th. Annual Meeting U.S. Animal Health Association 1979. 75-80.
- NICOLETTI, P. Prevalence and persistence of *Brucella abortus* Strain 19 infection and prevalence of other biotypes in vaccinated adult dairy cattle. J. Am. Vet. Med. Assoc. 178: 143-145. 1981.
- PLOMMET, M.; A.M. PLOMMET. Vaccination against bovine brucellosis with a low dose of Strain 19 administered by the conjunctival route. I. Protection demonstrated in guinea pigs. Ann. Rech. Vét. 6 : 345-356. 1975.
- PLOMMET, M.; R. FENSTERBANK. Vaccination against bovine brucellosis with a low dose of Strain 19 administered by the conjunctival route. III. Serological response and immunity in the pregnant cow. Ann. Rech. Vét. 7 : 9-23. 1976.
- PINOCHET, L.; M.L. DENTONE; I. PALAVICINO. Vacunación de bovinos adultos con Cepa 19, por vía conjuntival. Primer Cong. Nac. Med. Vet. Chillán. Chile. 1978. 011. 7-8.

Aceptado para su publicación. 12 Diciembre 1985.