

BRUCELOSIS OVINA. VACUNACION CON CEPA 45/20 ADYUVANTE

Lautaro Pinochet V. (MV), Andrés Pinto D'A. (MV),
María L. Sánchez Ch. (MV), Mario Bertolino R. (MV)

OVINE BRUCELLOSIS. USE OF S 45/20 ADYUVANT VACCINE

Upon challenge with B. ovis, the organism was re-isolated in 6 out of 13 unvaccinated rams and in none of 12 rams previously vaccinated with B. abortus 45/20 adjuvant strain. Only 3 of the vaccinated rams had macroscopic unilateral testicular lesions, while 10 of the controls had bilateral lesions. The vaccine produced transitory superficial reactions and occasionally abscesses (5 mm diameter) at the inoculation site. The vaccinated rams became positive to the gel immunodiffusion test.

La brucelosis ovina, causada por *Brucella ovis*, ha sido descrita prácticamente en todos los países donde se explota esta especie animal. En Latinoamérica se le ha comprobado en Perú, Uruguay, Argentina, Brasil y Chile (Alegria y Cols., 1968).

Se la describe principalmente como una enfermedad en los machos. Las pérdidas se expresan por eliminación de carneros con epididimitis u orquitis.

Las vacunaciones preventivas han sido preconizadas por varios autores. Inicialmente, Buddle (1958) recomienda la aplicación de *B. abortus* Cepa 19 más una bacterina de *B. ovis* en medio oleoso, procedimiento que tenía los inconvenientes de mantener la Cepa 19 por períodos prolongados en los genitales de los carneros, como así también de provocar epifisitis. Estos problemas se han presentado con otras vacunas similares (West y Cols., 1978).

Biberstein y Cols. (1962) emplean *B. ovis* absorbida en hidróxido de aluminio, bacterina que llegó a producirse a nivel comercial. MacGowan (1979), obtuvo resultados favorables en el uso de este producto.

Otras vacunas han sido ensayadas, sin éxito (Malaski, 1978; Brooks, 1979; McGowan y Harold, 1979).

Depto. Medicina Preventiva Animal.
Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias.
Universidad de Chile. Casilla 2, Correo 15.
Santiago, Chile.

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

En Chile, Pinochet y Cols. (1980) utilizan Cepa 45/20 adyuvante en la vacunación de perros contra la brucelosis canina, obteniendo resultados con un aceptable valor protector. Lamentablemente el perro resultó ser susceptible al efecto irritante de los adyuvantes, produciéndose lesiones en el sitio de inoculación.

Estos antecedentes dieron base para estudiar el efecto protector de la vacuna 45/20 adyuvante en carneros y las reacciones secundarias por ella provocada.

MATERIAL Y METODOS

Se seleccionaron 25 carneros de 1-1,5 años de edad, raza Merino y de una misma procedencia, sanos al examen clínico y libres de brucelosis clásica y ovina, lo que se determinó mediante las pruebas de seroaglutinación estándar (Alton y Cols., 1976) e inmunodifusión en gel de agar (Myers y Cols., 1972), respectivamente.

Los animales se separaron en dos grupos que se mantuvieron en un mismo ambiente e igual sistema de manejo.

Un grupo recibió la aplicación de vacuna *Brucella abortus* Cepa 45/20 adyuvante*, en dosis equivalente a 1/3 de aquella indicada por el productor para el bovino (1×10^{10} bacterias aproximadamente). La aplicación se hizo por vía intramuscular profunda en la zona posterior del muslo. El otro grupo fue considerado como control.

Cuarenta y cinco días posvacunación los gru-

*Abortox^R. Rhodia Merieux. Francia.

posvacunado y control fueron desafiados por aplicación vía conjuntival, de una dosis de 1×10^9 *Brucella ovis*, y además mediante la instilación uretral de una suspensión de 1×10^7 del mismo microorganismo. La Cepa *B. ovis* usada para el desafío procedía de un proceso agudo de epididimitis.

Durante las etapas de trabajo, se sometió a los carneros de ambos grupos a la prueba de inmunodifusión en gel de agar, la que se realizó 45 días posvacunación y 44 días posdesafío. Igualmente se comprobó periódicamente el grado de reacción local provocado por la inoculación de la vacuna (3-12-30 y 89 días).

A los 44 días posdesafío los carneros de ambos grupos fueron sacrificados, obteniéndose muestras de ganglios retrofaríngeos laterales y submaxilares, hígado, bazo y testículos, que sirvieron para aislar *B. ovis*. Como métodos de cultivo se utilizaron los recomendados por Brown y Cols. (1971) y por Alton y Cols. (1976). Los resultados bacteriológicos fueron analizados estadísticamente, según la prueba de hipótesis de independencia de χ^2 corregido.

En la necropsia, se realizó también, examen macroscópico de testículos, para comprobar la presencia de orquitis y epididimitis, uni o bilaterales.

RESULTADOS

La prueba de inmunodifusión, practicada en el grupo vacunado 45 días posaplicación de la Cepa 45/20 adyuvante, como también en el grupo control 44 días posdesafío, ofreció siempre un resultado positivo.

La vacunación provocó en el sitio de inoculación lesiones que variaron desde simple descamación epidérmica, hasta la formación de un nódulo de 4 a 8 mm de espesor, palpable desde el exterior. Sólo en 2 de 12 casos se observó un pequeño absceso de 4-5 mm al momento del sacrificio. En ningún caso se observó cojera en los carneros vacunados (cuadro 1).

Las lesiones testiculares encontradas consistieron en inflamación del testículo y epidídimo con adherencias y engrosamiento de las tunicas. Las lesiones se presentaron mono y bilateralmente. En el cuadro 2, estas observaciones se complementan con los resultados del examen bacteriológico posdesafío.

Al estudio bacteriológico no fue posible recuperar *B. ovis* posdesafío de las muestras de ninguno de los carneros vacunados (0/12), hecho que sucedió en las muestras de seis carneros del grupo control (6/13) (cuadro 3). Estadísticamente se encontró una asociación entre la aplicación de la vacuna y la no recuperación de *B. ovis* ($p < 0,05$).

CUADRO 1
ALTERACIONES PRESENTADAS EN EL SITIO
DE INOCULACION, EN CARNEROS VACUNADOS
CON CEPA 45/20 ADYUVANTE

Carneros N°	Días Posvacunación			
	3	12	30	89
1	0	0	0	0
2	N	N	0	0
3	N	N	D	0
4	N	N	0	0
5	N	N	N	A
6	D	N	0	0
7	D	D	D	0
8	0	0	0	0
9	N	N	0	0
10	N	N	N	A
11	N	N	0	0
12	0	N	D	0

0 = Ausencia de reacción

D = Descamación

N = Nódulo de 4-8 mm de diámetro aproximado.

A = Absceso de 4-5 mm de diámetro aproximado.

DISCUSION

Una brucela originalmente S, mutada en el laboratorio, y preparada para prevenir brucelosis de tipo S, como es la Cepa 45/20, demostró efecto protector frente a infecciones por brucela naturalmente de tipo R, hecho que se puede explicar por la existencia de algunos antígenos protectivos comunes que poseerían ambos agentes.

En el ensayo se empleó, arbitrariamente, dosis de vacuna equivalente a $\frac{1}{3}$ de la empleada para el vacuno, desconociéndose si ésta es suficiente. A diferencia del trabajo anterior, realizado en perros, se usó solamente una aplicación de vacuna y por los resultados obtenidos, pareciera ser satisfactoria por lo menos para la temporada estudiada, desconociéndose cuál sería la duración de este estado de protección.

Las reacciones locales en el sitio de inoculación de la vacuna fueron en general de carácter leve, sin cojera ni manifestaciones de fistulación y los pequeños absesos fueron escasos y encontrados solamente en la necropsia. El adyuvante que incluye la vacuna pareciera tener efectos diferentes según la especie en que se aplique, ya que en perros la reacción fue muy rápida e intensa (Pinochet y Cols., 1979).

Los animales vacunados dieron una respuesta positiva en la prueba de inmunodifusión a los 45 días, lo que pudiera constituir un inconveniente por entorpecer el diagnóstico de la enfermedad por esta

CUADRO 2
PRESENCIA DE LESIONES TESTICULARES MACROSCOPICAS
EN CARNEROS DE LOS GRUPOS VACUNADOS CON CEPA 45/20
ADYUVANTE Y CONTROL, 44 DIAS DESPUES DEL DESAFIO
Y SU RELACION CON LA RECUPERACION DE *B. ovis*

Grupo	Carneros Nº	Lesiones testiculares y epididimarias		Cultivo <i>B. ovis</i> posdesafio
		unilateral	bilateral	
Vacunados	1	—	—	Negativo
	2	—	—	Negativo
	3	+	—	Negativo
	4	—	—	Negativo
	5	—	—	Negativo
	6	—	—	Negativo
	7	+	—	Negativo
	8	—	—	Negativo
	9	—	—	Negativo
	10	+	—	Negativo
	11	—	—	Negativo
	12	—	—	Negativo
Control	14	—	+	Negativo
	15	—	+	Negativo
	16	—	+	Positivo
	17	—	+	Positivo
	18	—	+	Positivo
	19	—	+	Positivo
	20	—	—	Negativo
	21	—	+	Positivo
	22	—	+	Positivo
	23	—	—	Negativo
	24	—	—	Negativo
	25	—	+	Negativo
	26	—	+	Negativo

CUADRO 3
RECUPERACION DE *Brucella* DESDE MUESTRAS DE
ORGANOS DE CARNEROS DE LOS GRUPOS VACUNADO
CON CEPA 45/20 ADYUVANTE Y CONTROL,
SACRIFICADOS 44 DIAS DESPUES DEL DESAFIO

Grupo	Total de carneros	Positivos <i>B. ovis</i>	Negativos <i>B. ovis</i>
Vacunado	12	0	12
Control	13	6	7

prueba. Desconocemos por cuánto tiempo perdura esta circunstancia.

Los animales controles también se hicieron reaccionantes a la prueba de inmunodifusión, 44 días después del desafío, situación que permitió comprobar la efectividad de éste, ya que los desafíos se hicieron por instilación vía ocular y uretral y no por inoculación parenteral.

La dosis de desafío recomendada por Biberstein y Cols. (1964), más la uretral, resultaron ser superiores a las recomendadas por otros autores (Brown y Cols., 1971, García-Carrillo y Cols., 1974) y ofrecieron buenos resultados. Este desafío por dos vías de infección, permitió aislar *B. ovis* en 6 de 13 carneros controles, proporción que si se la compara con otros trabajos, se considera bastante aceptable (Brown y Cols., 1971).

Los carneros fueron sacrificados 44 días posdesafío, período que de acuerdo con Biberstein y Cols. (1964) permitía constatar la presencia de *B. ovis* en diferentes ganglios y órganos, aunque no en testículos.

El hecho de que se aislara el agente a partir de testículos en el mismo período de 44 días, podría atribuirse el uso de la vía uretral como una de las vías de infección utilizada.

La vacunación con Cepa 45/20 adyuvante puede constituir un recurso de valor práctico, para la prevención de la brucelosis ovina causada por *B. ovis*,

recomendándose esta vacuna especialmente en carneros pertenecientes a rebaños que muestran una alta prevalencia de la infección.

La presencia de animales con epididimitis, como la de animales positivos a la prueba de inmunodifusión en gel (Sánchez y Cols., 1979), puede servir como antecedente en la decisión que conlleve a la aplicación de este tipo de vacunas.

Finalmente se admite que es necesario realizar experiencias con un número mayor de animales para determinar la dosis a emplear y la posibilidad de recurrir a la repetición de la vacunación para aumentar su poder protectivo.

RESUMEN

Luego de la infección experimental con *B. ovis*, se recuperó el agente desafiante en 6 de 13 carneros controles y en ninguno de los 12 carneros vacunados previamente con *B. abortus* Cepa 45/20 adyuvante. Los carneros vacunados presentaron sólo tres casos de lesiones testiculares macroscópicas unilaterales, mientras que el grupo control presentó 10 bilaterales. La vacunación provocó en el sitio de inoculación reacciones superficiales y pasajeras y excepcionalmente un absceso de 5 mm de diámetro. Los carneros vacunados se hicieron reaccionantes a la prueba de inmunodifusión en gel de agar.

REFERENCIAS

- ALEGRÍA, G., M. RIVAS, B. MUÑOZ, N. CRUZ. Aislamiento de *Brucella ovis* en Chile. *Zoología*. 9: 8-12, 1968.
- ALTON, G.G., L.M. JONES, DE PIETZ. Las técnicas de laboratorio en la brucelosis. Organización Mundial de la Salud. Serie Monográfica N° 55. Ginebra 1976.
- BIBERSTEIN, E.L., B. MCGOWAN, E.A. ROBINSON, D.R. HARROLD. Epididimitis in rams. *Studies on immunity*, Cornell Vet. 52: 214-227, 1962.
- BIBERSTEIN, E.L., B. MCGOWAN, H. OLANDER, D.C. KENNEDY. Epididymitis in rams. *Studies on pathogenesis*. Cornell Vet. 54: 27-41, 1964.
- BROOKS, H.V. Intraperitoneal vaccination of rams against *Brucella epididymitis* (Correspondence). *N.Z. vet. J.*, 27: 105, 1979.
- BROWN, G.C., C.R. RANGER, D.J. KELLY. Selective media for the isolation of *B. ovis* infection in rams. *Cornell Vet.* 61: 265-267, 1971.
- BUDDLE, M.B. Vaccination in the control of *Brucella ovis* infection in sheep. *N.Z. vet. J.*, 6: 41-46, 1958.
- GARCÍA-CARRILLO, C., A. CUBA-CAPARO, D.M. MYERS. Susceptibilidad de cabritos y carneros a la infección causada por *B. ovis*: estudios serológicos, bacteriológicos y patológicos. *Gac. Vet. (B. Aires)*, 36: 355-374, 1974.
- MALASKI, N. Vaccination of rams against infectious epididymitis. *Vet. dit. Nanki*. 15: 31-37, 1978.
- MCGOWAN, B. Epididymitis in rams: Effect of vaccination and culling on the clinical incidence of disease. *Cornell Vet.* 69: 67-72, 1979.
- MCGOWAN, B., D.R. HARROLD. Epididymitis in rams. *Studies on vaccine efficacy*. *Cornell Vet.* 69: 73-76, 1979.
- MYERS, D.M., L.A. JONES, M. VARELA-DÍAZ. Studies of antigens for complement fixation and gel diffusion test in the diagnosis of infection caused by *Brucella ovis* and other *Brucella*. *Microbiol.* 23: 894-902, 1972.
- PINOCHET, L., A. PINTO, D'A., P. ABALOS, L. FIGUEROA. Vacunación con Cepa 45/20 adyuvante, en la protección de brucelosis canina experimental. III Congreso Nac. Med. Vet. Santiago. Chile. 1980.
- SÁNCHEZ, M.L., E. SILVA, J. BELLO, L. PINOCHET. Epididymitis in rams. Response of rams with and without testicular lesions to a gel diffusion technique. *Zoonoses*, 2: 17-19, 1979.
- WEST, D.M., A.C. JOHNTONE, A.U., BRUERE, H.M. CHAMPMAN. Epididymitis in rams, following vaccination against *B. ovis* infection. *N.Z., Vet. J.* 26: 133-134, 1978.

Recibido marzo 1987, aprobado mayo 1987.