

BRUCELOSIS PORCINA: UNA ENFERMEDAD IGNORADA

JM BLASCO

jblasco@unizar.es



<http://www.oie.int/wahis/public.php>

Spain / Porcine brucellosis

	2009	2010
ANDALUCIA	+	25
ARAGON	+	1
ASTURIAS	1	
CASTILLA Y LEON		4
CATALUNA	1	
GALICIA		3
LA RIOJA	+	1
MADRID		1

+ Disease present with quantitative data but with an unknown number of outbreaks
0 Continuing previous outbreak(s)

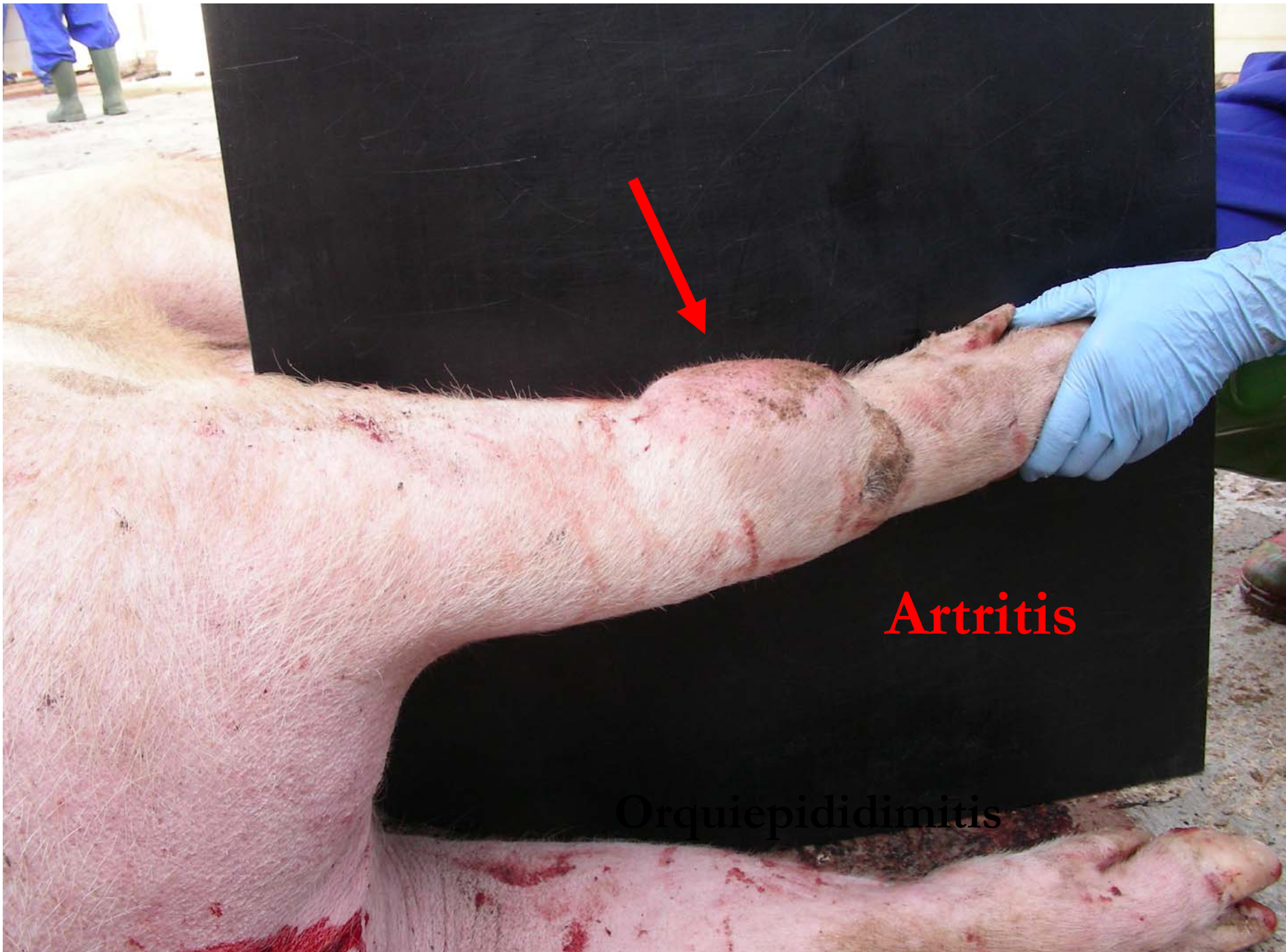
PAISES AFECTADOS: P, IT, F, BE, DE, CH, CkRep, RO, HU, Cro

Brucellosis Porcina

principales signos clínicos

Abortos (5-30%; 70-95 días) y mortalidad perinatal aumentada





Arthritis

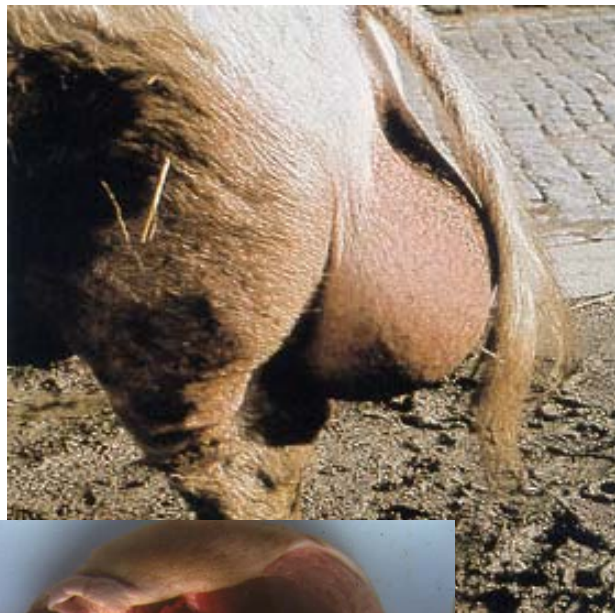
Orchiepididimitis



Endometritis



**Fertilidad
Reducida**



Orquiepididimitis

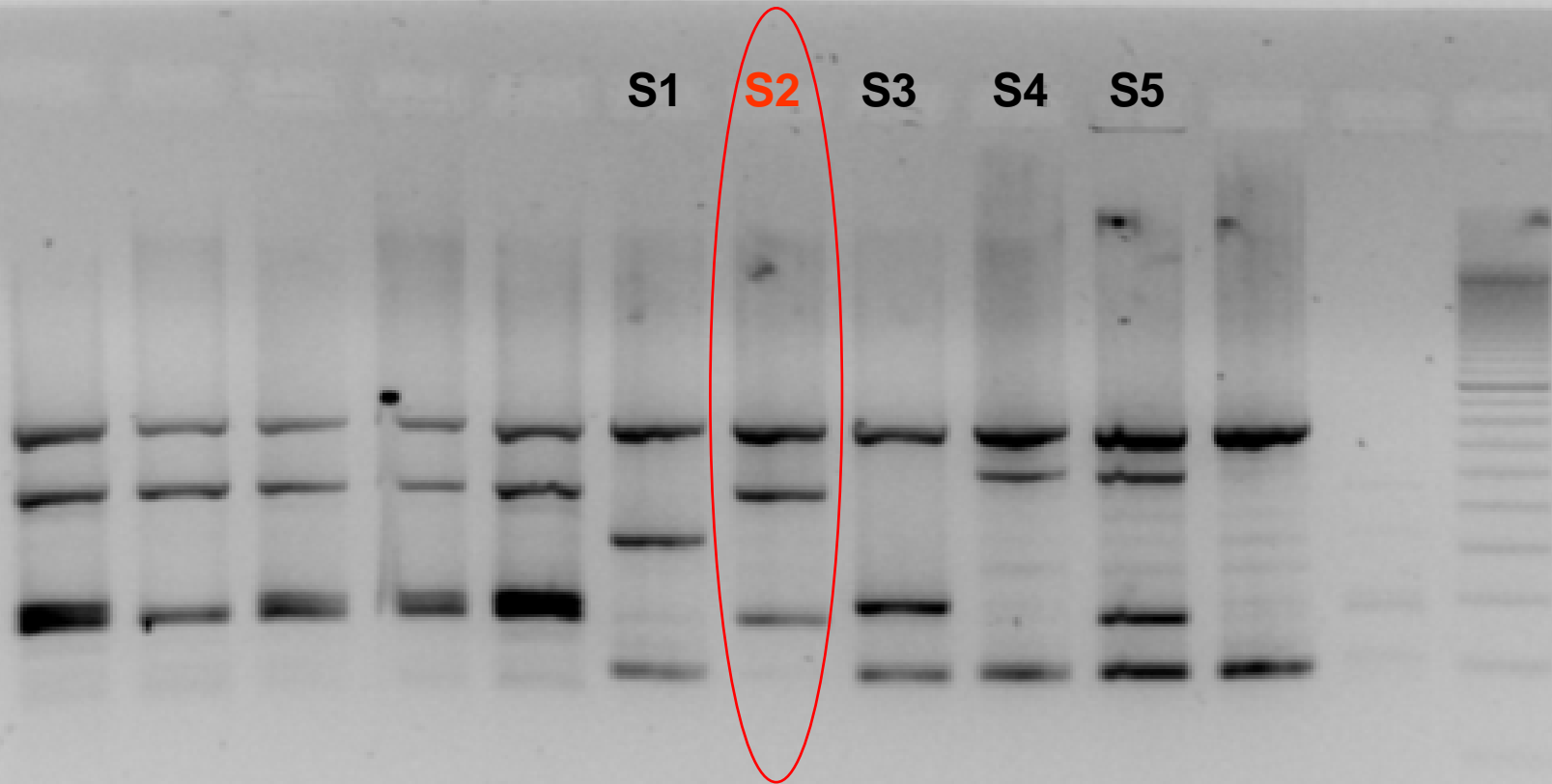


NO PATOGNOMONICOS!!

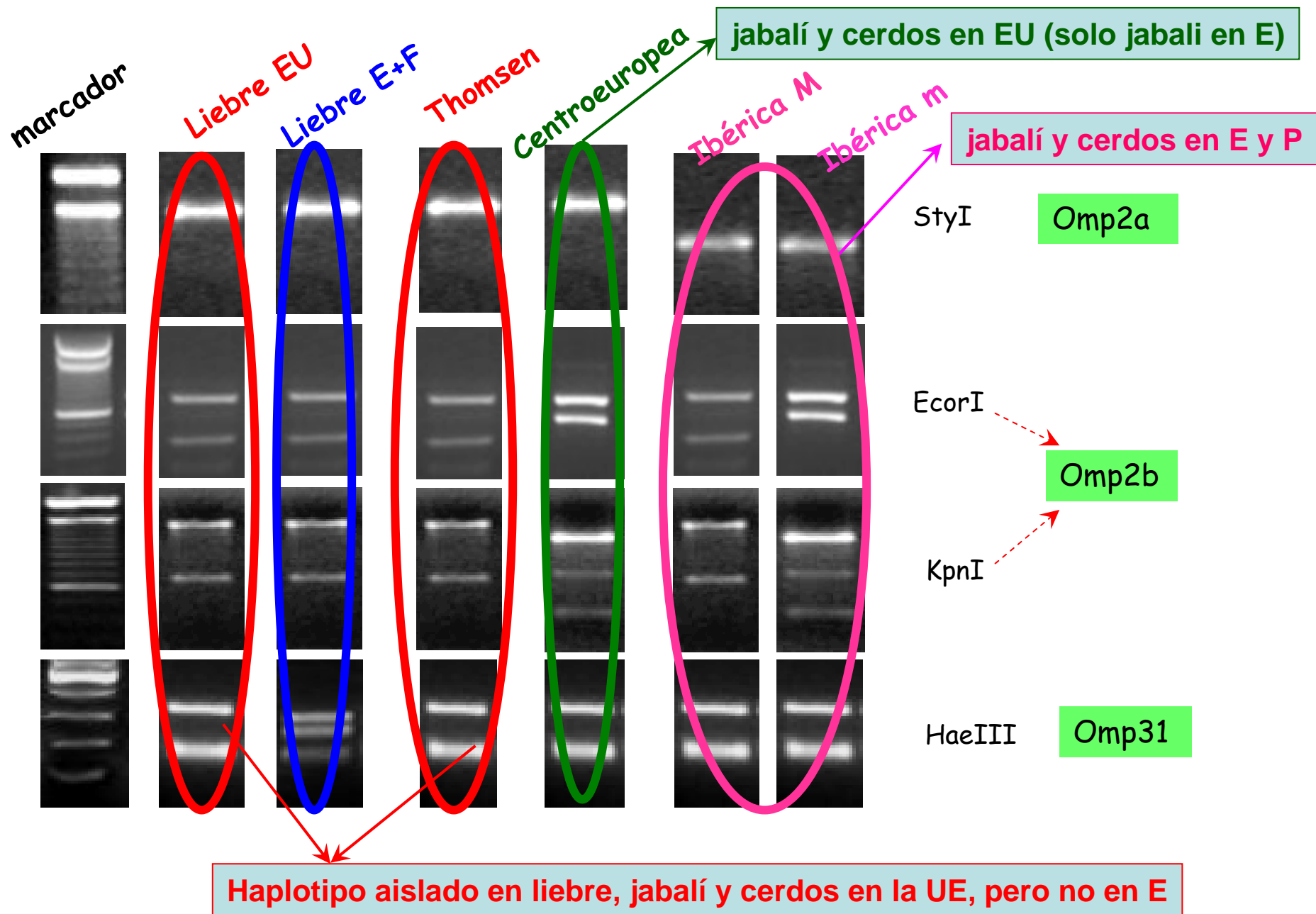
ETIOLOGIA DE LA BRUCELOSIS PORCINA

Species	Biovars	preferential Host	Affected Region	Human Pathogenicity
<i>B.melitensis</i>	1, 2, 3	sheep&goats, wild ungulates	Mediterranean Bassin Middle-East	High
<i>B.abortus</i>	1, 2, 3, 4, 5, 6, 9	Bovines, wild ungulates	Europe, America, Africa Asia	Moderate
<i>B. suis</i>	1	Swine	America, Asia, Oceania	High
	2	Pig, wild boar, hare	Europe	Low
	3	Swine	USA, China	High
	4	Reindeer	USA, Canada, Russia	Moderate
	5	wild rodents	Russia	Unknown
<i>B.neotomae</i>		<i>Neotoma lepida</i>	USA	unknown
<i>B.ovis</i>		sheep	Universal	Null
<i>B.canis</i>		dogs	Etats-Unis, Amérique du Sud Europe centrale	Moderate
<i>B. ceti</i>		Cetaceans	Universal	High
<i>B. pinnipedialis</i>		Pinnipeds	Universal	High

PCR-Multiplex diferenciando biovars de *B. suis*

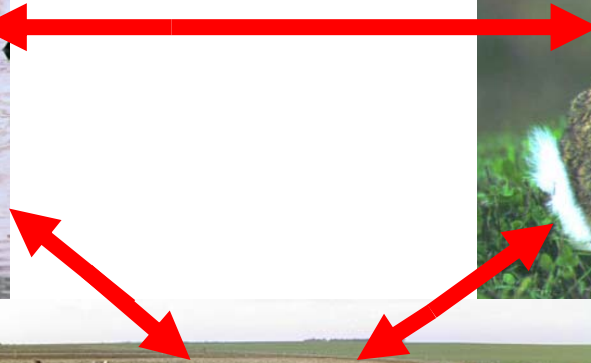


100% de las cepas aisladas en España y la UE
(excepto Croacia donde también S1 esta presente)



Haplotipos (OMP PCR-RFLP) de *Brucella suis* bv. 2 en la UE

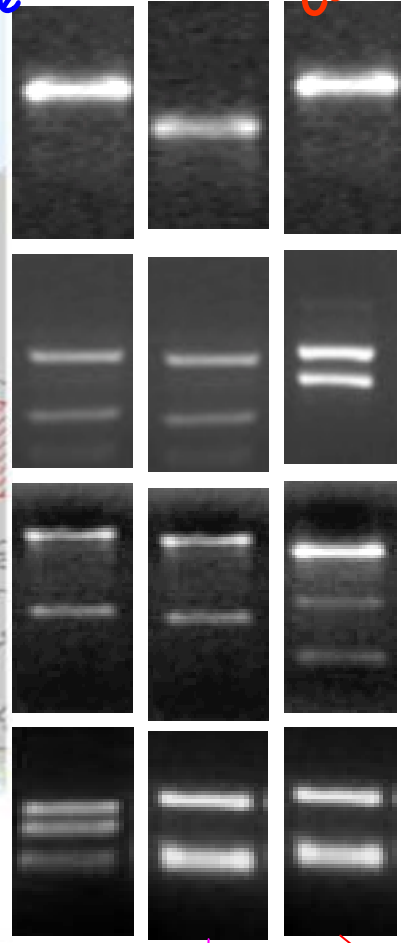
EPIDEMIOLOGIA de la infección por *B. suis* biovar 2



LA LIEBRE EUROPEA (*Lepus europaeus*) ¿JUEGA UN PAPEL EN ESPAÑA?

creemos que NO.....pero hay que estudiarlo mejor

Liebre ES Francia
Ibérica
Centroeuropa



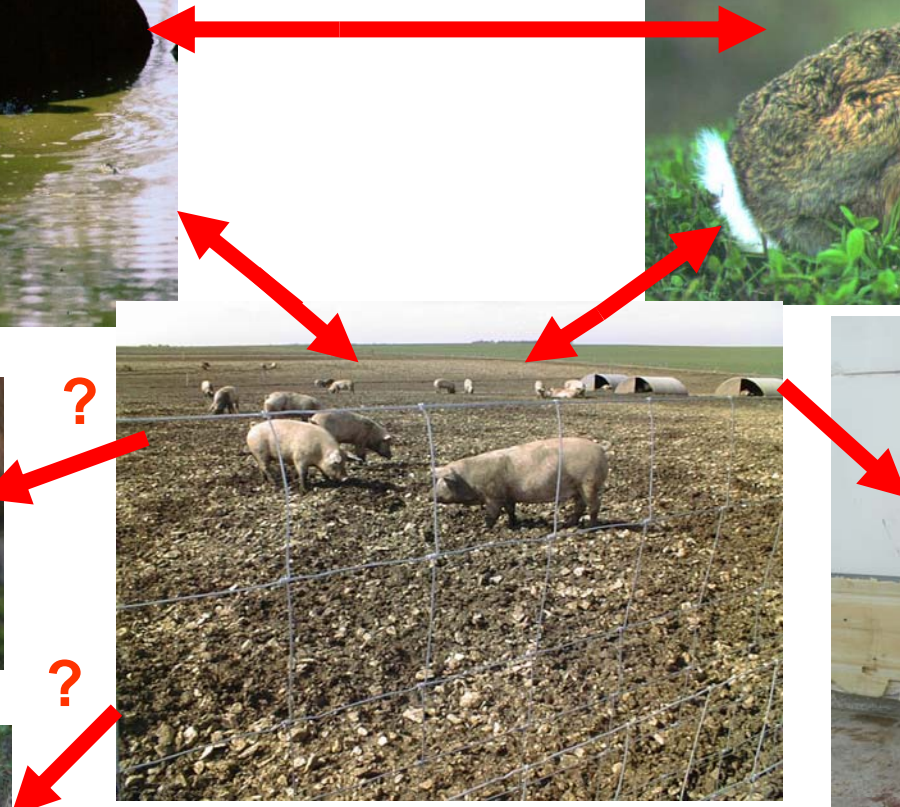
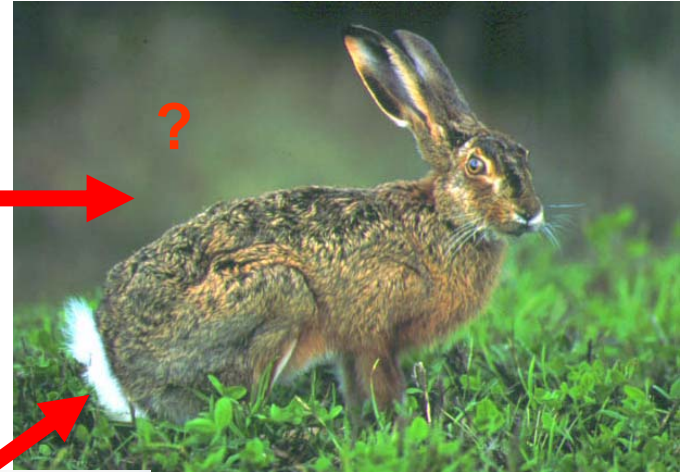
cerdo+jabalí

jabalí

Lepus europaeus
total range area = 10,680,712 km²
range type

- Native Extant
- Introduced
- Native Reintroduced
- Probably Extinct
- Native - Possibly Present
- Prehistorically Introduced

EPIDEMIOLOGIA de la infección por *B. suis* biovar 2



El JABALI es nuestro RESERVORIO PRINCIPAL



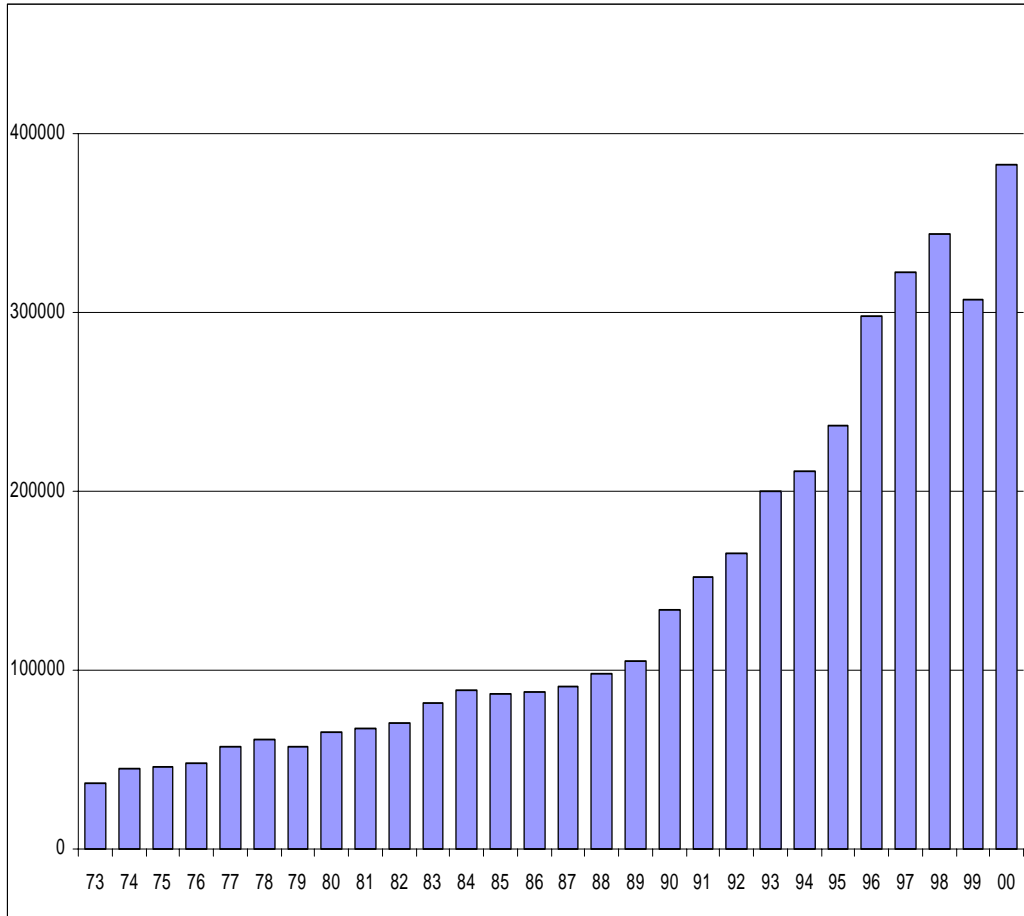
+

3 factores de relevancia epidemiológica

constituyen la explicación del aumento de la frecuencia de brotes de brucelosis porcina en España

1. Aumento de la población de jabalí

Evolución del no. de jabalís cazados en Francia



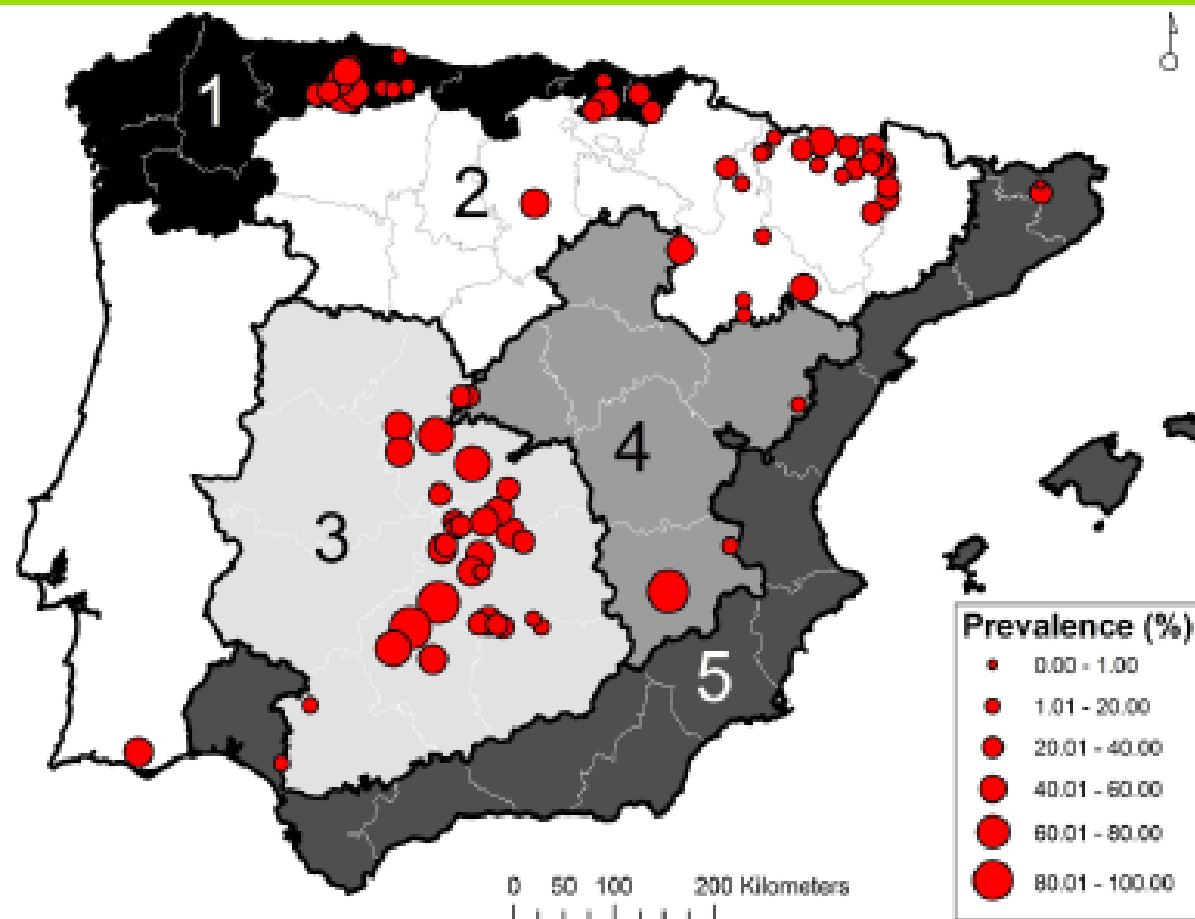
2. la existencia de cerdo Ibérico criado ancestralmente en sistemas extensivos



3. Aumento significativo de sistemas de producción porcina al aire libre



DISTRIBUCION DE LA BRUCELOSIS PRODUCIDA POR *B. suis* biovar 2 EN JABALI (*Sus scrofa*) EN ESPAÑA

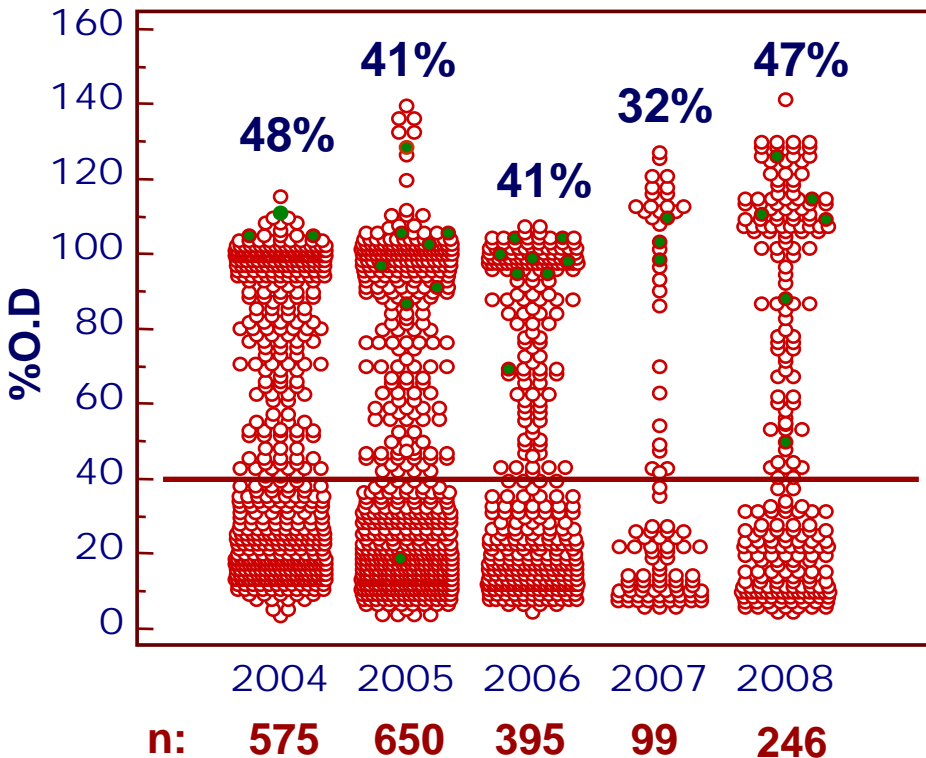


Muñoz et al. *BMC Infectious Diseases* 2010, **10**:46
<http://www.biomedcentral.com/1471-2334/10/46>

EVOLUCION DE LA PREVALENCIA DE BRUCELOSIS EN JABALI EN ESPAÑA



área Central y S

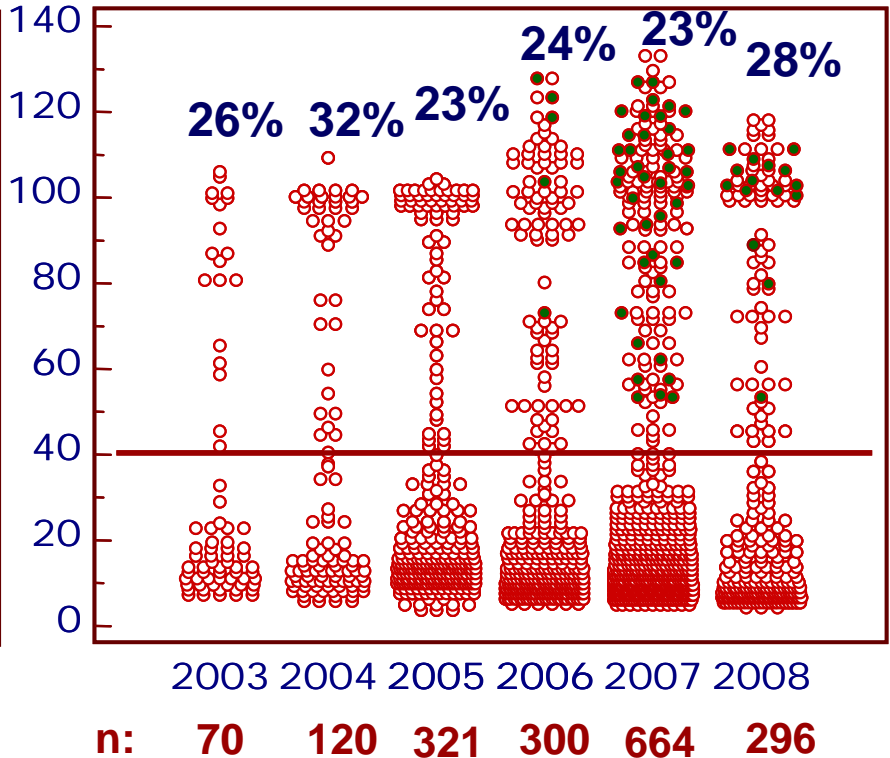


28 *B. suis biovar. 2*



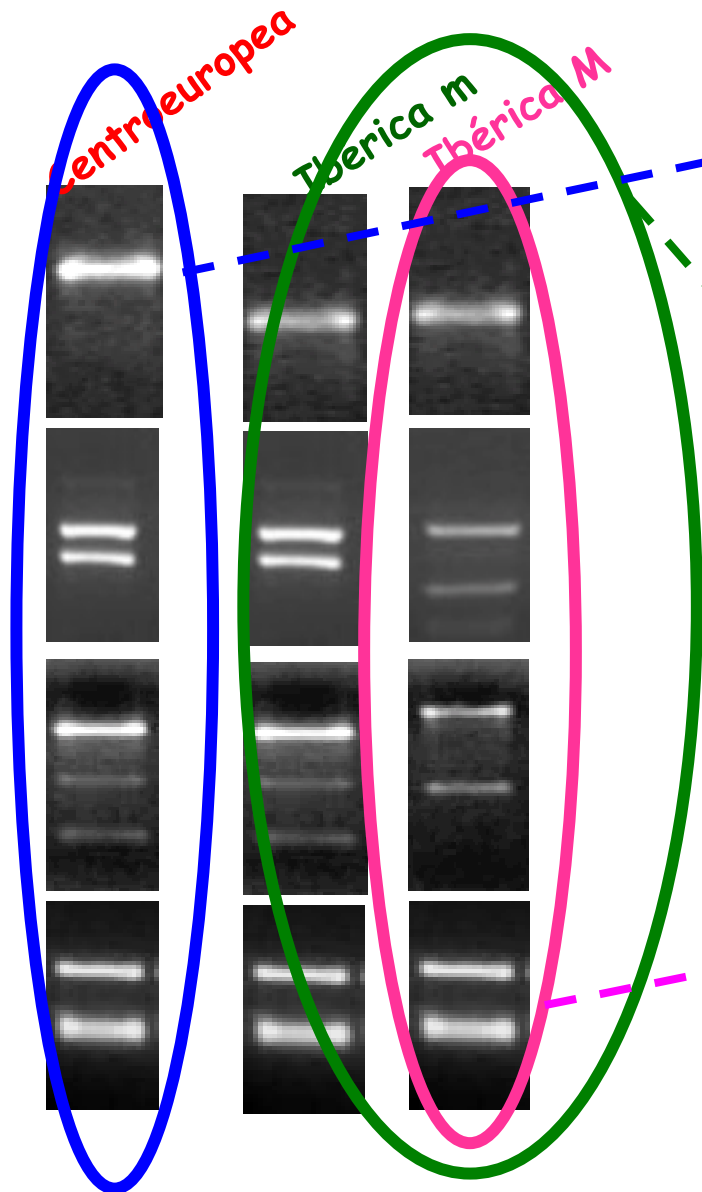
Brucella cultivo positivo

área NE



59 *B. suis biovar. 2*

Haplotipos de *Brucella suis* bv. 2 aislados en cerdo y jabalí en España

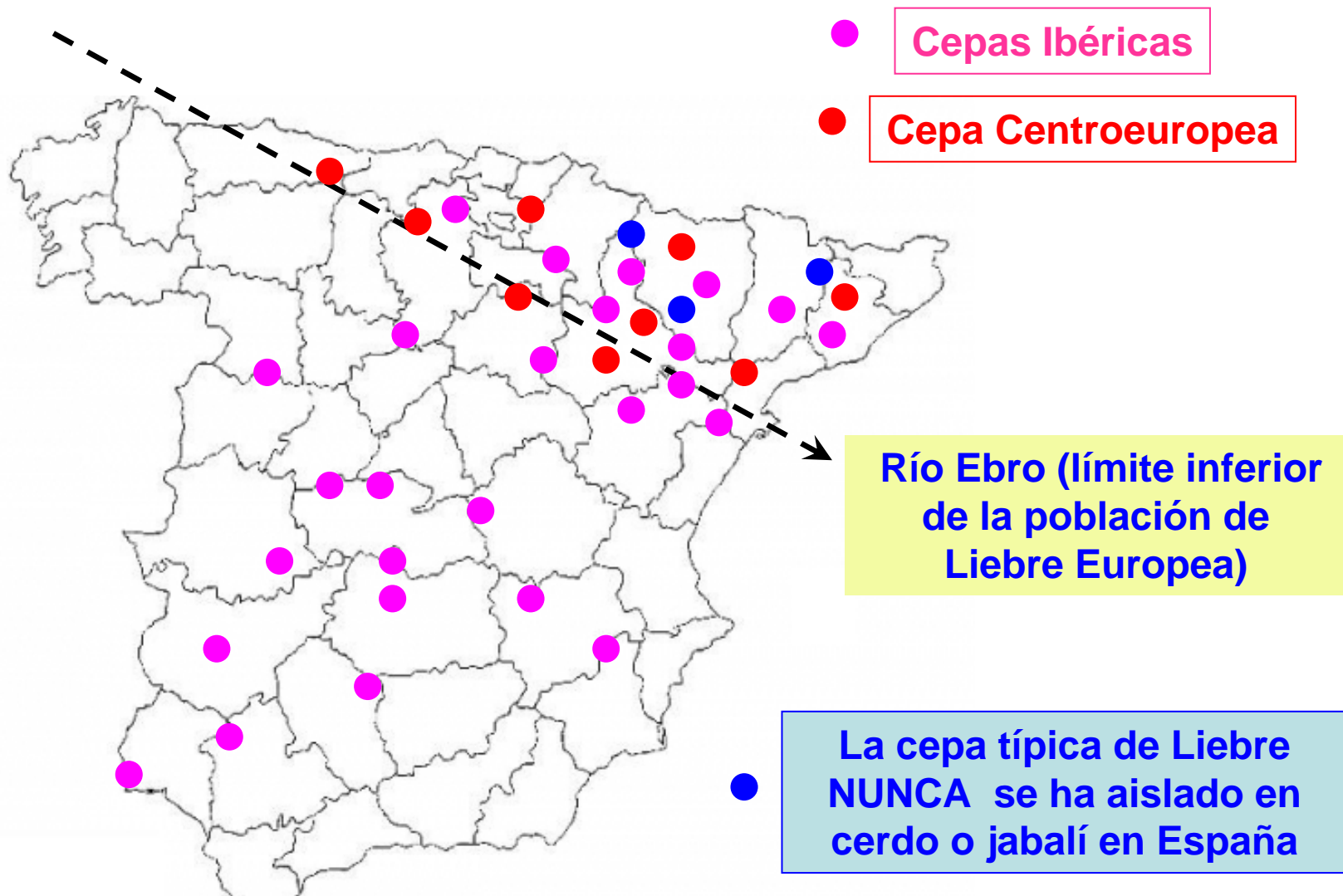


Típica en cerdo y jabalí en Europa pero **NUNCA** aislada en cerdo en España (solo presente en **jabalí** y **exclusivamente** por encima del río Ebro)

Características de cerdo y jabalí en España pero **NUNCA** aisladas en el resto de Europa (con la excepción de algún caso reciente pero relacionado epidemiológicamente con España)

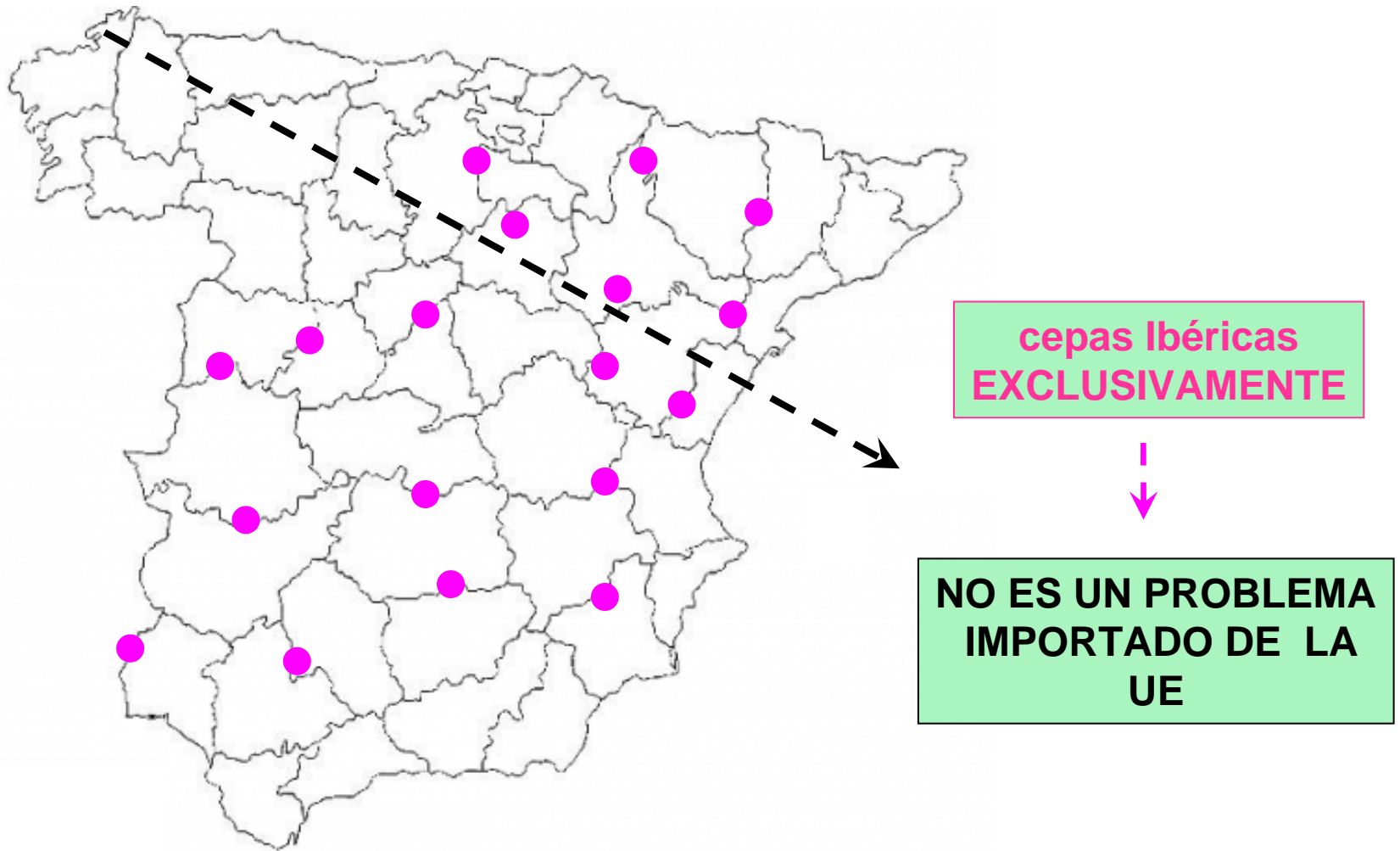
responsable **EXCLUSIVA** de los actuales brotes de brucelosis en porcino intensivo en España (su escaso polimorfismo genético - VNTR- sugiere un origen epidemiológico común)

DISTRIBUCION DE LOS HAPLOTIPOS DE *B. suis* biovar 2 EN JABALI (*Sus scrofa*) Y LIEBRE (*L. europaeus*) EN ESPAÑA



Nota: los puntos no se corresponden necesariamente con localizaciones geográficas precisas

DISTRIBUCION DE LOS HAPLOTIPOS DE *B. suis* biovar 2 EN GANADO PORCINO EN ESPAÑA



Nota: los puntos no se corresponden necesariamente con localizaciones geográficas precisas. La información es relativa a cepas aisladas por nuestro laboratorio desde el año 1997.

¿ES UNA ZONONOSIS?



SOLO 2 CASOS se han diagnosticado (Francia 2004 y 2005)

- Minero jubilado de 69 años con **silicosis**, **diabetes**, hipertensión, dislipidemia, **gran cazador**, y que realizaba el despiece de **más de 100 canales de jabalí** por temporada de caza (Octubre-Marzo)
- Paciente de 42 años afectado de **Lupus Eritematoso** desde 1981 y sometido a tratamiento de larga duración con **dosis elevadas de corticosteroides**

Séroprévalence humaine autour des foyers porcins de brucellose à *Brucella suis* biovar 2, France, 1993-2003



Liberté • Égalité • Fraternité
RÉPUBLIQUE FRANÇAISE

MINISTÈRE DE L'AGRICULTURE,
DE L'ALIMENTATION, DE LA PÊCHE ET DES AFFAIRES RURALES



CHU MONTPELLIER
CENTRE HOSPITALIER UNIVERSITAIRE



INSTITUT DE
VEILLE SANITAIRE

Les résultats de cette étude suggèrent donc que :

- la pathogénicité pour l'homme des souches de *Brucella suis* 2, responsables des foyers porcins inclus dans cette étude, est vraisemblablement très faible en comparaison de celle classiquement observée pour *Brucella abortus* et surtout *Brucella melitensis* ou les biovars 1 et 3 de *Brucella suis* ;
- l'un des deux cas ayant présenté une sérologie évocatrice étant une enfant de 10 ans (au moment du foyer), il est possible qu'à l'instar des infections dues à *Brucella abortus* et surtout *Brucella melitensis* ou les biovars 1 et 3 de *Brucella suis*, celle due à *B. suis* 2 soit favorisée par le jeune âge ou l'immunodépression des personnes exposées. Chez ces personnes la survenue d'une forme clinique de brucellose ne peut être exclue ;
- le risque de transmission de *B. suis* 2, à l'homme par contact avec des porcs infectés, des produits d'avortement ou de mise-bas contaminés ou après exposition aux aérosols de *Brucella* produits par l'avortement ou la mise-bas de truies infectées apparaît très limité. Ceci est corroboré par les données de la littérature internationale [9] et nationale [8] et l'absence de cas de brucellose humaine à *B. suis* 2 déclaré depuis plus de 20 ans en France, alors que de nombreux éleveurs, employés d'abattoir et chasseurs, ont été exposés au moins pendant ces dix dernières années, et certainement fortement pour certains d'entre eux ;
- le risque de transmission par la consommation de viande, déjà notablement faible avec les souches les plus virulentes de *Brucella* (*B. melitensis* et *B. suis* biovars 1 et 3) peut, quant à lui, être considéré comme nul avec *B. suis* 2.

1. tras introducir animales de reposición con una carta sanitaria expedida inadecuadamente

basada en resultados serológicos individuales (problemas!!) que identifican (+) el estado sanitario del animal pero no de la unidad epidemiológica de procedencia

2. Tras inseminar con semen infectado: los ATB en los diluyentes de semen pueden disminuir el riesgo pero no lo anulan

BASE ELEMENTAL DE LA PROFILAXIS: EVITAR la introducción de animales “de riesgo”

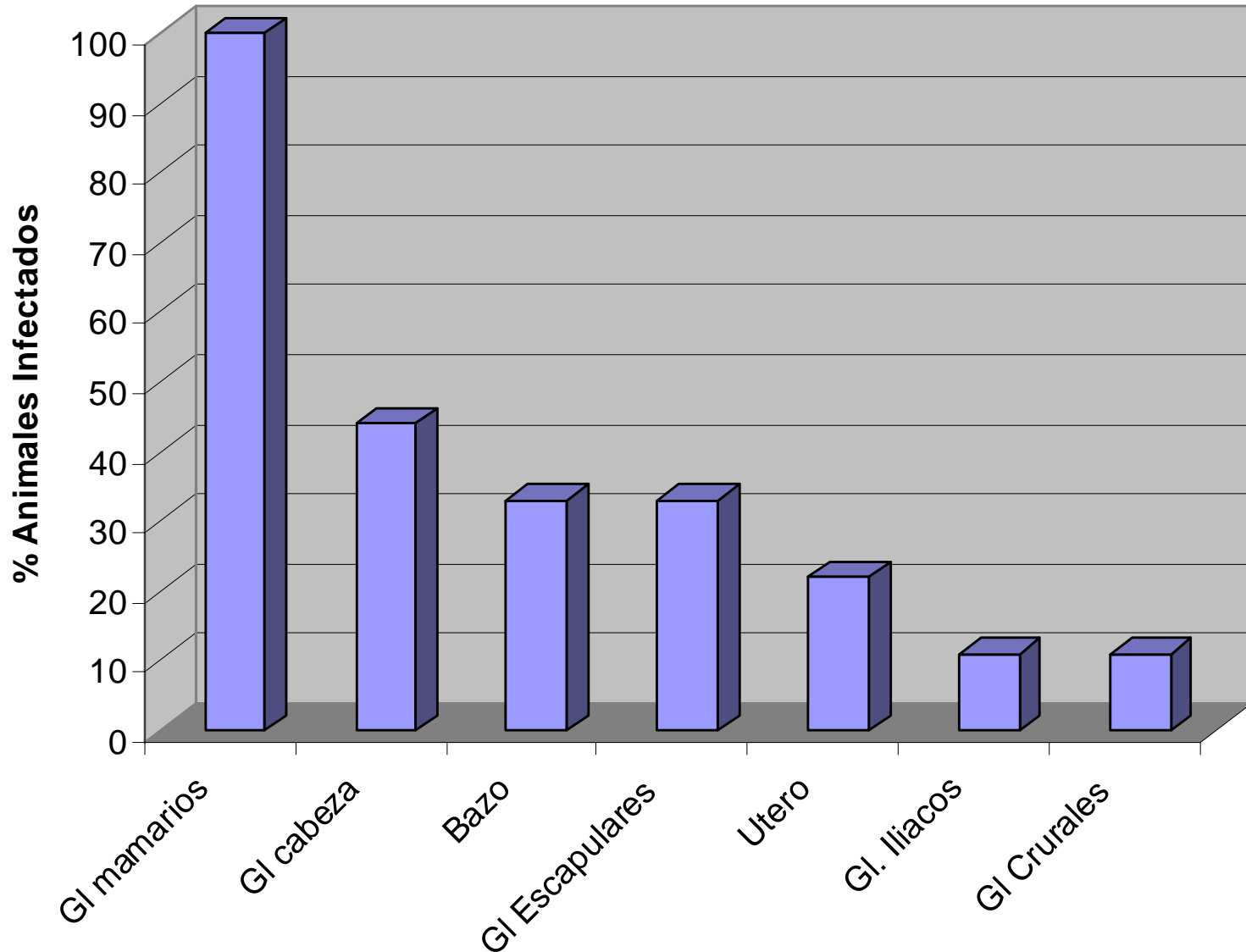
PRIMERA APARICION EN PORCINO EXTENSIVO

Idénticas causas: semen contaminado o reposición infectada

sin embargo, el contacto directo con JABALIS es, sin ninguna duda, la causa principal



Distribución de la infección por *B. suis* biovar 2 en cerdas con infección natural (*Dieste et al, resultados no publicados*)



VIAS DE EXCRECION

VAGINAL tras abortos o partos

- muy **importante** (10^{10} /ml)
- larga **duración** (2 meses o más)

LECHE ⇒ aprox. **100 %** de las cerdas tienen infectados los ganglios mamarios



facilita transmisión de las cerdas a los lechones

SEMEN

solo cuando los animales excretan son peligrosos para el resto de animales

VIAS DE TRANSMISION



sexual



congenita ("in utero") y/o **perinatal** (leche) ⇒ **Portador Latente** 10% de hijos de madres infectadas (no demostrado en porcino)

▶ **CLINICO**

signos clínicos orientativos ⇒ **no patognomónicos!!**

▶ **DIRECTO Bacteriológico** ⇒ **ESENCIAL para confirmación!!**
(hisopos vaginales de cerdas abortadas; semen)

▶ **INDIRECTO**

- Detección de Anticuerpos (**SEROLOGICO**)

- Detección de la respuesta inmune celular

- **in vivo (Prueba cutánea)** ⇒ **BRUCELLINA**

- **in vitro:**

- Blastogénesis

- detección IL / IFNg

PROBLEMAS DEL DIAGNOSTICO SEROLOGICO

RBT → *tests oficiales en la UE*

CFT

⇒ *tests oficiales OIE para comercio*

cellosis in diagnosis and the consequent effect on the export trade. Great Britain has always been free from *B. suis* infection and enjoys a thriving export trade as a result of the generally high health status of its stock. During the 7 years prior to 1988, the number of pigs tested for export certification giving a CFT reaction of greater than 20 international complement-fixation test units (icftu) never exceeded 0.004%, whereas the figures for 1988, 1989, and 1990 were 0.42%, 0.70%, and 1.5%, respectively. Since 1988, at least 4% of exporting herds have had more than 5% CFT positive reactions, with some herds reaching levels of more than 50% of animals tested failing at this level. *Y. enterocolitica* O:9 has been isolated from many herds involved, and despite extensive investigation, *B. suis* has not been recovered (Wrathall et al. 1991).

Diseases of swine, 9th
Edition, Chapter 35 p609

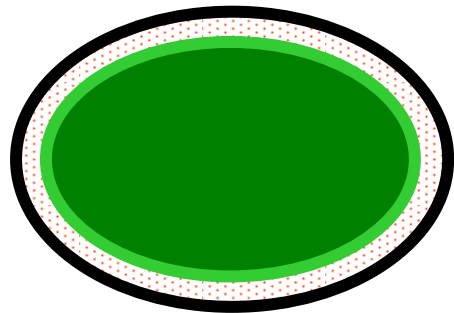
el problema de las reacciones serológicas positivas falsas

debidas a infecciones producidas por varias bacterias gramnegativas:

Escherichia coli O157
Salmonella N (O:30)
Vibrio cholerae O:1
Stenotrophomonas maltophilia
Escherichia hermani

Y. enterocolitica O:9

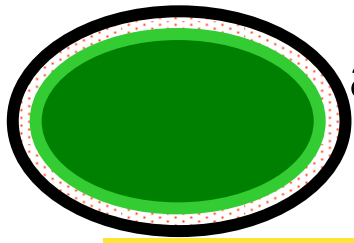
epitopos comunes
en S-LPS (O-PS)



B. suis



FPSR



antígenos para RB y FC = **bacterias completas**

estos tests NO SON ESPECIFICOS en caso de FPSR

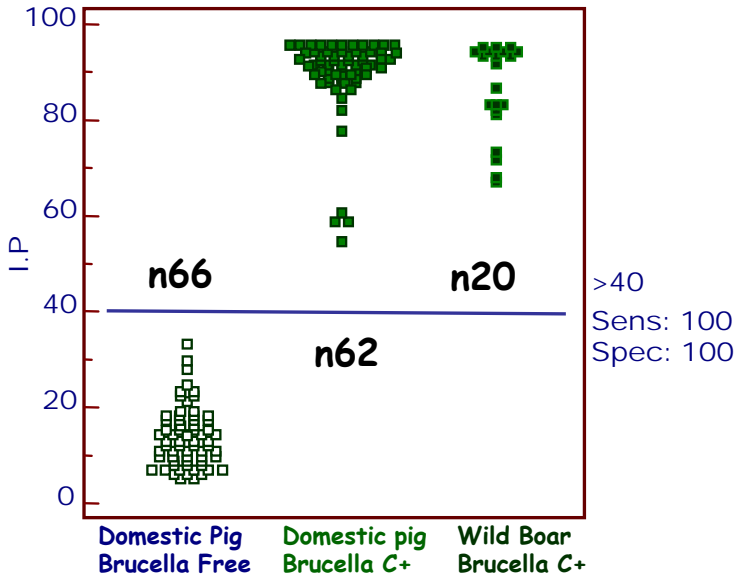
Especificidad de RB en regiones indemnes de Francia

- **1.017 granjas**
- **7.814 cerdos**
 - **Cerdos + : 2.77%**
 - **Granjas + : 13.3%**

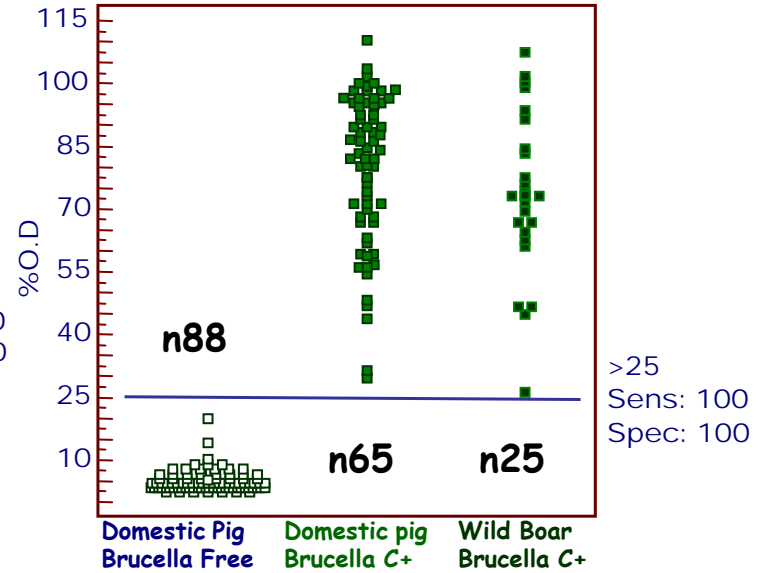
¿los tests ELISA resuelven el problema?

EFICACIA DIAGNOSTICA DE LOS TESTS ELISA COMERCIALIZADOS PARA LA BRUCELOSIS PORCINA

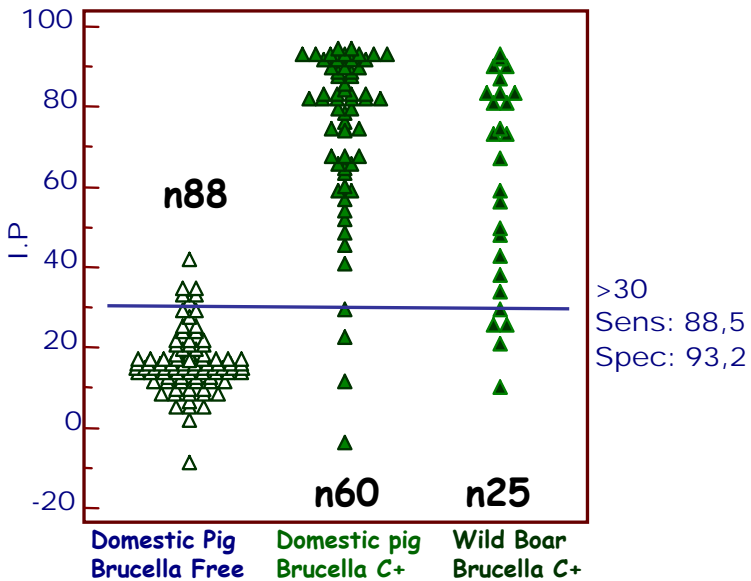
INGEZIM BRUCELLA COMPAC (INGENASA)



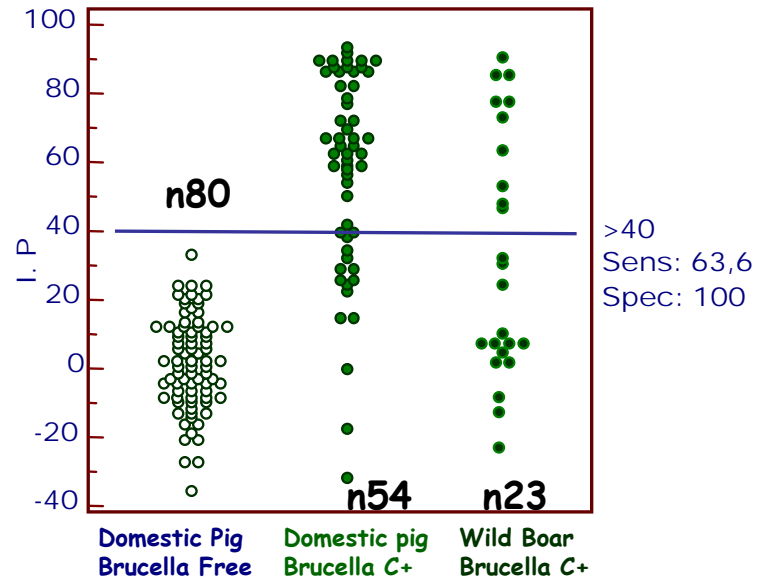
INGEZIM BRUCELLA PORCINA I-ELISA (INGENASA)



BRUCELLA Ab-C-ELISA SVANOVIR



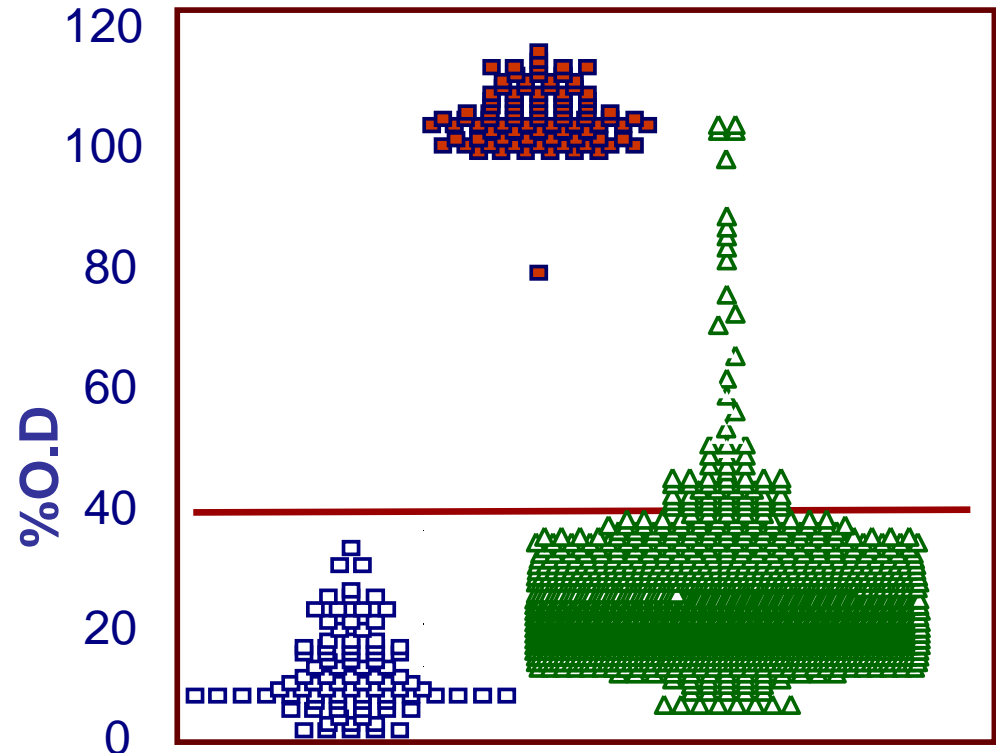
COMPELISA VLA



Los iELISA y cELISA usan S/LPS o O/PS como antígeno

por tanto, **NO SON** totalmente específicos para resolver el problema de las FPSR

POLIESTIRENO



- Cerdos cultivo positivo
- *Cerdos libres de Brucella*
- △ *Cerdos infectados con Y. enterocolitica* O:9

CONSECUENCIAS

interpretación inadecuada POR DEFECTO
infravaloración de los resultados
positivos



Aumento del
riesgo de
diseminación de la
Brucelosis



Diseminación del
problema de las
FPSR

CONSECUENCIAS

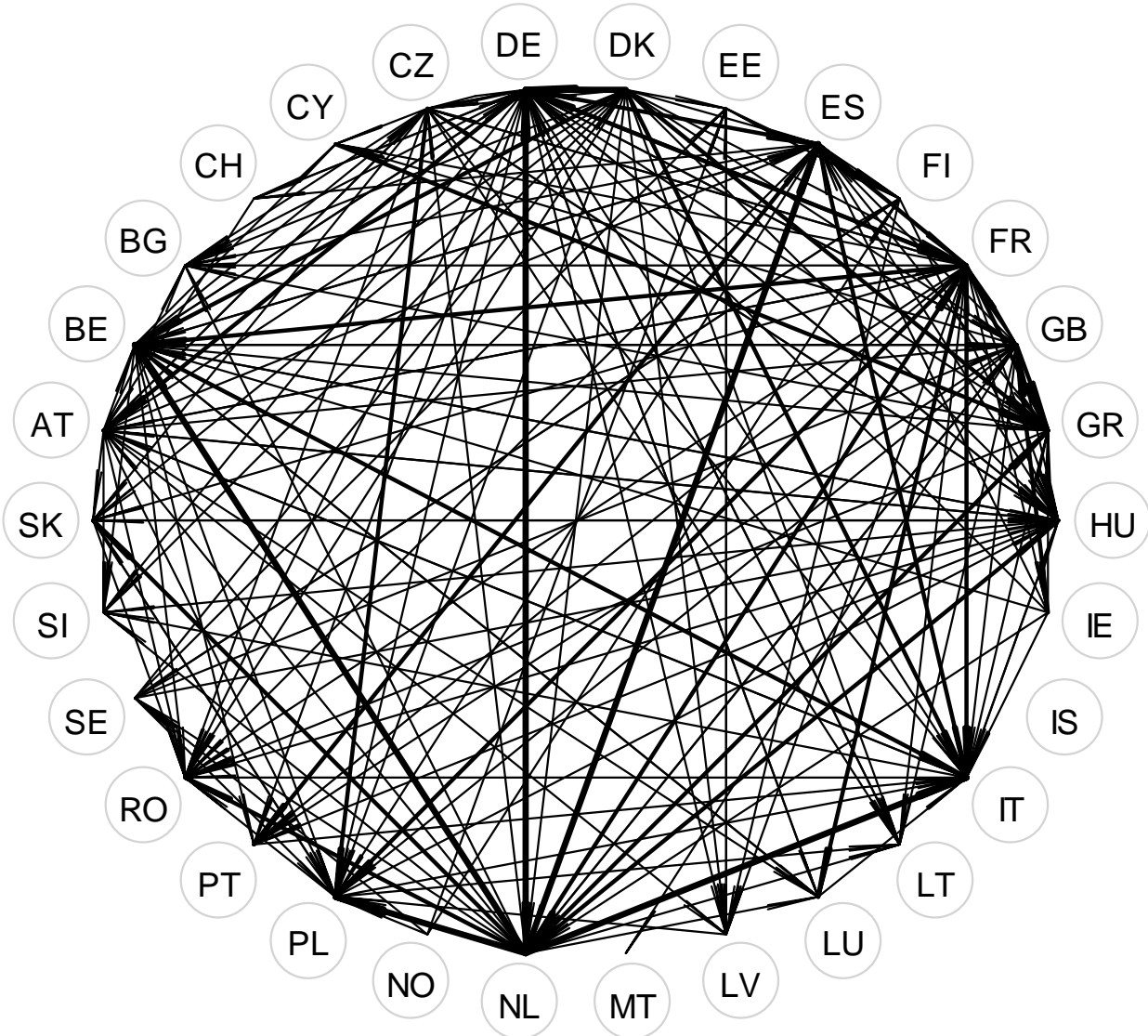
**interpretación inadecuada POR EXCESO
de los resultados serológicos**



**Declaración falsa y
problemas
garantizados**

**EU-Trade
2007- today**

Breeding pigs



Data source
COM Traces

**Each arrow represents a trade link
Line thickness proportional to $\log_{10}(\text{\#consignments})$**

¿SOLUCION?

sentido común

Apoyar **SIEMPRE** los resultados serológicos con la información **clínica y epidemiológica**:

algún RB + que tienden a negativizar



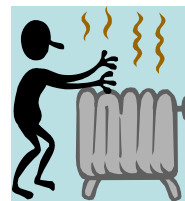
pocos RB + pero persistentes



varios RB + e **iELISA +**



varios RB +, **iELISA + e cELISA+**



varios RB +, **iELISA +, cELISA+ y FC +**



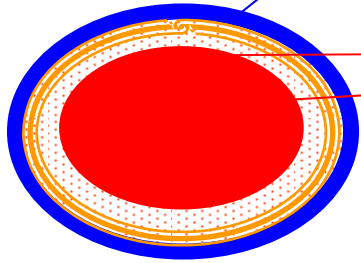
-

+

usar Bacteriología o BRUCCELLINA, como únicas pruebas diagnósticas totalmente confirmatorias

BRUCELLINA

S-LPS/OPS epitopos comunes con *Y. enterocolitica* O:9



B. suis

PROTEINAS CITOSOLICAS-PERIPLASMICAS
(BRUCELLINA)

compartidas por todas especies de *Brucella*
a diferencia del S-LPS, inducen hipersensibilidad (DTH)

Son totalmente (mayoritariamente) específicas de *Brucella*
y no son compartidas por *Y. enterocolitica* O:9

test
serológicos
(CIE, RID)

RESUELVEN el
problema de las FPSR

tests de CMI *in vitro*
IL/IFNg

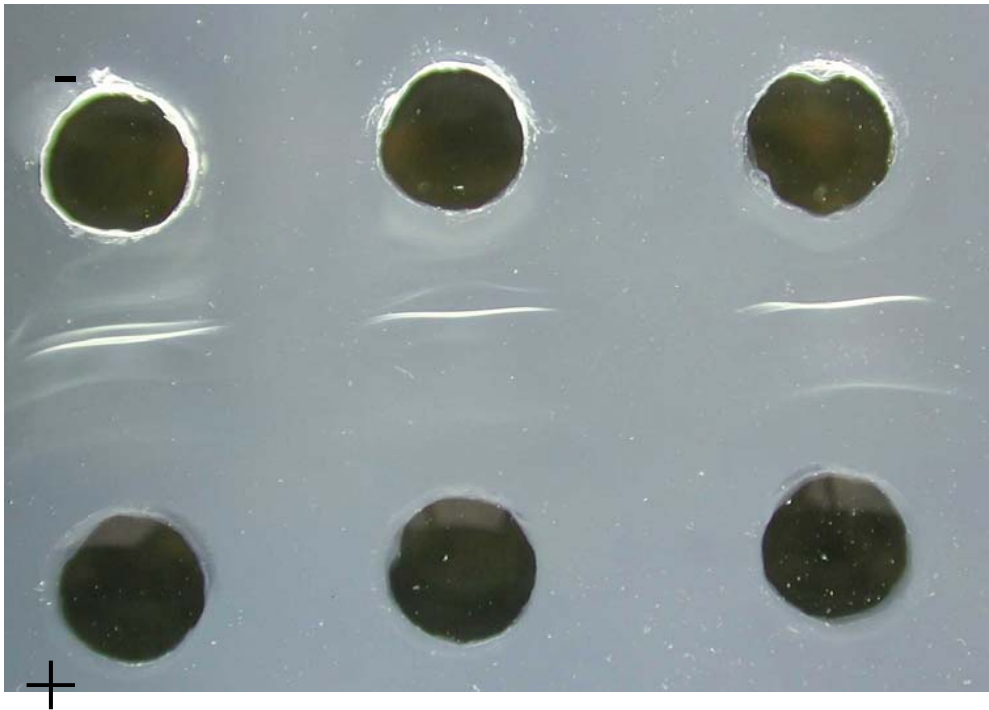
mal resultado

CMI *in vivo*
Prueba cutánea (DTH)
(OK a nivel de rebaño)

Tests de precipitación en gel con Proteínas citosólicas

Fundamento: las proteínas citosólicas son solubles en agua y pueden difundir en geles. Algunas tienen carga neta negativa y migran al ánodo en CIE

CIE



IDR



LA PRUEBA CUTANEA CON BRUCELLINA

- Excelente relación Sensib./Espec. en rumiantes
- Diferencia la brucelosis de las infecciones por *Y. enterocolitica* O:9
- No disponible comercialmente
- No existe un registro específico para su uso en porcino

Estudio preliminar de su eficacia diagnóstica en ganado porcino

Resultados muy prometedores!

PRUEBA CUTANEA CON BRUCELLINA

Inocular ID (50 μ g/0.1 ml)
(procurando ser
higiénicos)



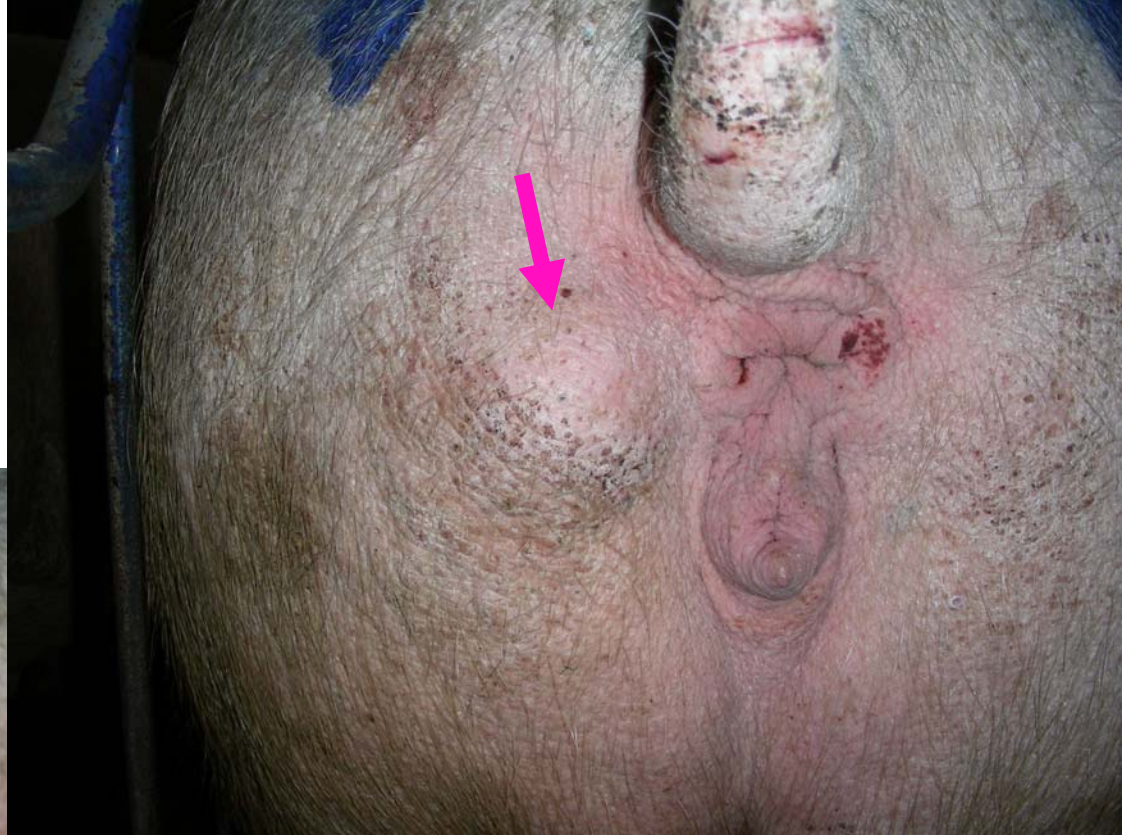
leer a las 48 h. de la
inoculación

(palpar siempre para
observar la inflamación)

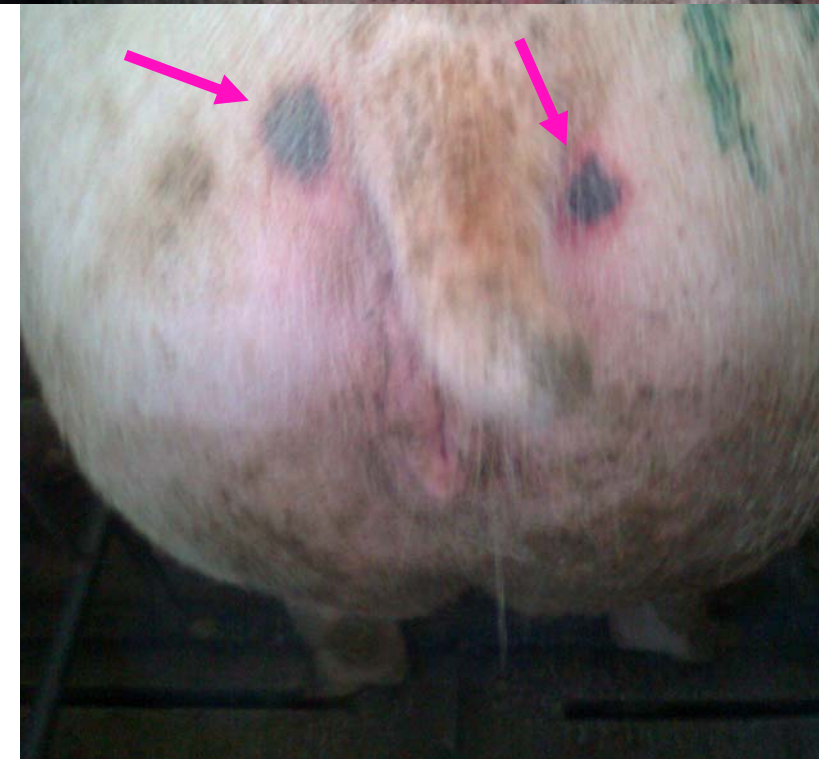
diversos grados de inflamación de leve a moderada con hiperemia



**inflamación
severa**



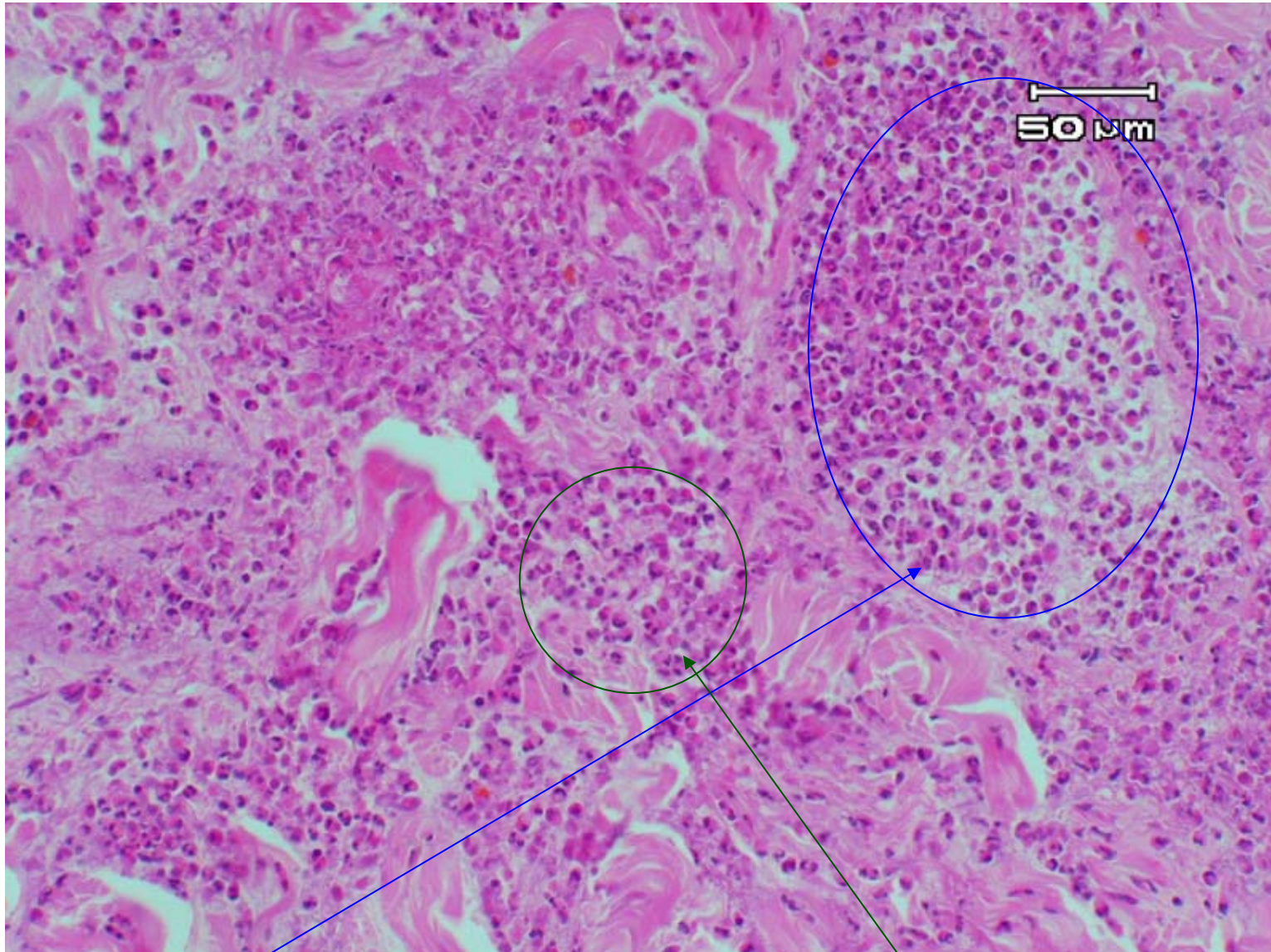
**inflamación severa
con hemorragia**



CARACTERISTICAS ANATOMOPATOLOGICAS

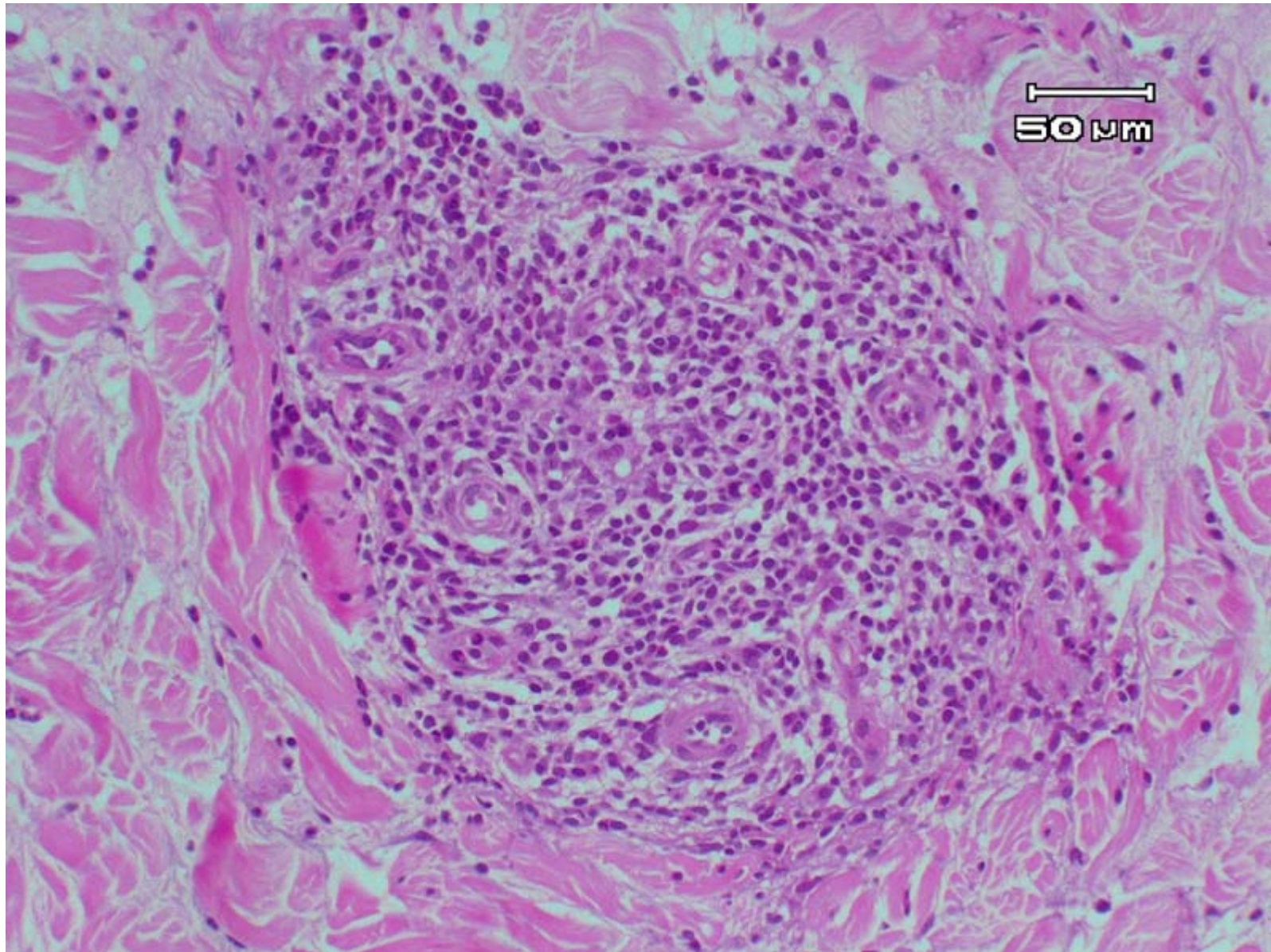
Las lesiones en el punto de inoculación se corresponden con reacciones de Hipersensibilidad de tipo III (Arthus) y tipo IV (Hipersensibilidad Retardada -DTH-) y que son, generalmente, mixtas.

HIPERSENSIBILIDAD TIPO III - ARTHUS



Neutrófilos en el interior de vasos y con **migración** al espacio perivascular en DS. 200x

HIPERSENSIBILIDAD TIPO IV - DTH



Infiltrados de mononucleares y algunos neutrófilos en DP. 200x

OBSERVACIONES

(tras varios miles de animales inoculados con brucellina)

- 1. no ha habido mortalidad por choque anafiláctico**
- 2. no se han producido reacciones dérmicas de naturaleza indeseable fuera de las esperadas**
- 3. no se ha producido un aumento de reacciones inespecíficas en las campañas rutinarias de diagnóstico serológico que se están realizando frente a otros patógenos (Aujeszky, Peste, Enf. vesicular y PRRS)**

CORRELACION ENTRE DTH Y TESTS SEROLOGICOS EN PORCINO

Granja infectada	DTH P	DTH N	Total
B-ELISA P	80	44	124
B-ELISA N	8	181	189
Total	88	225	313

Granja <i>Brucella free</i>	DTH P	DTH N	Total
RBT P	0	6	6
RBT N	0	124	124
Total	0	130	130

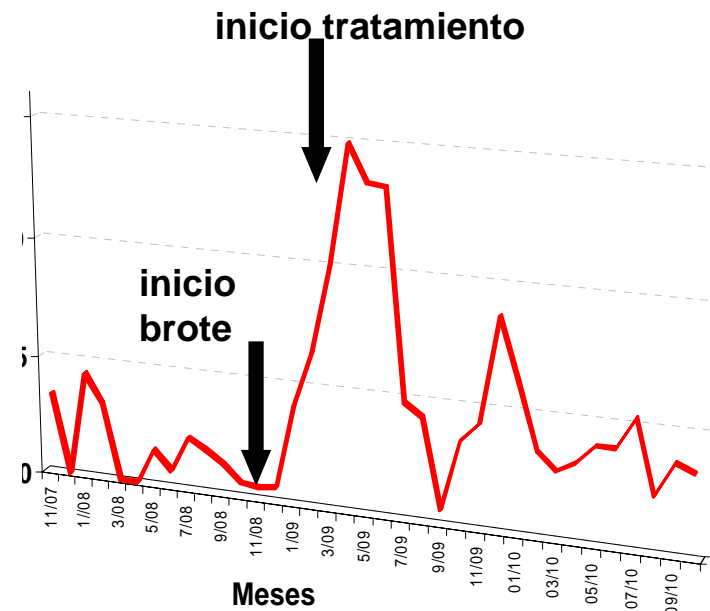
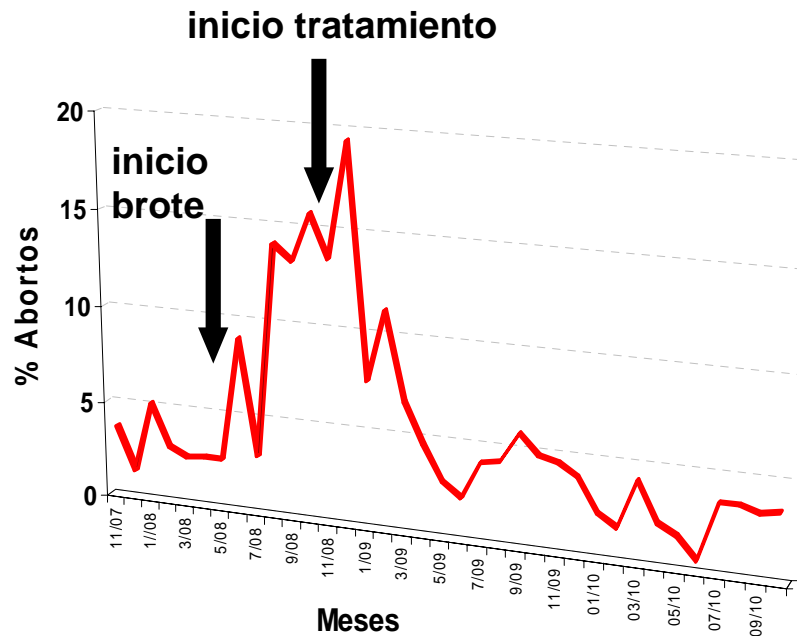


¿COMO ABORDO EL PROBLEMA EN MIS GRANJAS?

- NO PUEDO HACER MUCHO RUIDO
- NO PUEDO HACER VACIADO SANITARIO
- NO HAY VACUNAS

¿PODEMOS TRATAR LA BRUCELOSIS PORCINA?

Oxitetraciclina (OTC): 20 mg/Kg PV/día **durante 1,5-2 años!!**
(coste = 19.5 €/año)



Evolución del % de abortos en dos granjas infectadas

(Dieste et al., resultados no publicados)

Tratamiento de la infección por *B. suis* biovar 2 en cerdas

Combinado: OTC (20 mg/Kg/día durante 45 días)
+ Sulfato de Gentamicina (20 mg/Kg/día, 15 días)
(coste de la gentamicina = 34€)

Tratamiento	No. cerdas curadas/tratadas	Órganos infectados	CFU por órgano infectado
OTC	0/9	Pocos (Infección restringida)	Recuentos bajos
OTC + Gentamicina	9/9	ninguno	0

(Dieste et al., resultados no publicados)

¿Podemos erradicar?

ESCENARIO 1, PORCINO INTENSIVO: SOLO 1 ò POCAS GRANJAS AFECTADAS

VIA 1



Vacio total
(ideal para
C.I.A. y nucleos
genética)

VIA 2



tratamiento ATB + vacio
parcial, creando núcleos +y -
(Brucellina + serología), usando
solo el núcleo - para reposición



NUNCA usar como fuente de
reposición para otras granjas hasta
erradicar y dejar pasar al menos 2
ciclos generacionales

ESCENARIO 2, PORCINO INTENSIVO: MUCHAS GRANJAS INFECTADAS

1. Confirmación y vaciado total C. I.A. y núcleos de genética

3. identificación del estado individual de cada granja: invest. epidemiológica + Brucellina + serología

2. Tratamiento ATB en TODAS granjas

negativa SIN riesgo suprimir ATB y evitar fuentes de entrada

negativa CON riesgo continuar tratam. con ATB + monitoreo regular (Brucellina + serol.) hasta pasar 1 AÑO sin casos

infectada
Tratamiento ATB + aumento de tasa de reposición + vaciado parcial al destete (Brucellina + serol.)

USAR como fuente de reposición

NUNCA usar para reposición de otras granjas

ESCENARIO 3, PORCINO EXTENSIVO:

VIA 1

Identificar fuente de infección

Es posible evitar nuevos contagios?

SI

Vacío TOTAL y reponer con ganado de garantía?

NO

tratamiento ATB + vacío parcial, creando lotes + y - (Brucellina + serología), usando solo el lote - para reponer

POR TANTO, aprender a vivir con la enfermedad TRATANDO DE MINIMIZAR su efecto
NUNCA usar estas granjas para reposición externa

PROFILAXIS

ir a la raíz: reducir prevalencia en jabalí

- No existen vacunas **(y aunque las hubiese....)**
- Erradicación (test & slaughter) **imposible** (ética y prácticamente)

- **Limitar la densidad poblacional** (*evitar alimentación suplementaria e incrementar presión de caza*)

- **Limitar la posibilidad de contactos** entre jabalí y cerdo (*bioseguridad y vallados*)

PROFILAXIS EN GANADO PORCINO

No hay VACUNAS

GRANJAS INTENSIVAS : bioseguridad, bioseguridad y bioseguridad.... RESPETAR SIEMPRE la informacion epidemiologica e INTERPRETAR ADECUADAMENTE los resultados diagnosticos

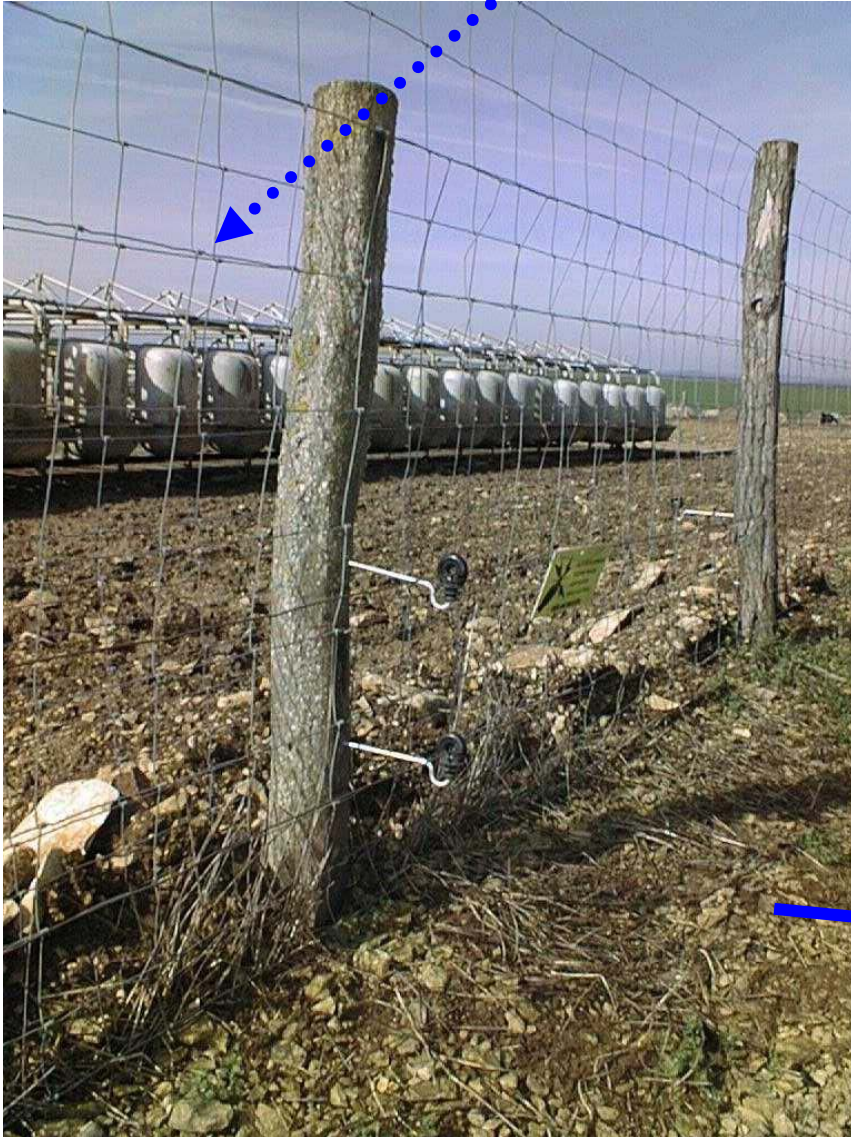
.....y EVITAR RECIBIR Y ENVIAR MISILES.....

GRANJAS EN EXTENSIVO: LO MISMO

+

VALLADO ADECUADO para IMPEDIR contactos con fauna silvestre

cercado eléctrico (mínimo = 1.70 cm alto)



**malla fina en la parte inferior
(liebres)**

**idealmente enterrada
(50cm) para evitar
escarbado**

BRUCELOSIS PORCINA EN ESPAÑA

Antonio Callén 2004

Alguien tiene que poner el cascabel al gato en este tema, porque:

- Al estar teóricamente libres de *B. suis* **nadie se enfrenta** al problema con seriedad
- La situación actual es de un **verdadero descontrol**
- El ganadero está **desamparado**
- Este es el **talón de Aquiles** para el cerdo de raza ibérica

¿Demasiada Teoría?



Mi sincero agradecimiento a muchos veterinarios que han trabajado “en la sombra”, y cuyos nombres no pueden ser mencionados en esta charla