

**PROYECTO: BRUCELOSIS PORCINA PRODUCIDA POR B. SUIIS  
BIOVARIEDAD 2: DESARROLLO DE TÉCNICAS ESPECÍFICAS DE  
DIAGNÓSTICO INDIRECTO Y ESTRATEGIAS DE CONTROL Y  
ERRADICACIÓN. ESTUDIO DE LAS RELACIONES EPIDEMIOLÓGICAS  
ENTRE LAS GRANJAS DE PORCINO Y LA FAUNA SILVESTRE**

ORGANISMO FINANCIADOR



CONVOCATORIA

Recursos y tecnologías agrarias en coordinación con las Comunidades Autónomas

<https://www.boe.es/boe/dias/2011/12/31/pdfs/BOE-A-2011-20866.pdf>

REFERENCIA

RTA2011-00103-00-00

INVESTIGADOR PRINCIPAL

Pilar María Muñoz Álvaro

EQUIPO DE TRABAJO



- José María Blasco Martínez
- Clara M<sup>a</sup> Marín Alcalá
- M<sup>a</sup> Jesús de Miguel López
- Lucía Dieste Pérez



- M<sup>a</sup> Montserrat Barberán Pelegrín

FECHA INICIO

Noviembre 2011

FECHA FINAL

Diciembre 2014

## RESÚMEN DEL PROYECTO

Este proyecto nos ha permitido profundizar en la etiología, patología e inmunología de la brucelosis porcina y al mismo tiempo desarrollar herramientas para aportar soluciones concretas a dos problemas presentes en Europa: la infección eventual por *B. suis* bv. 2 en granjas de porcino y la presencia de Reacciones Serológicas Positivas Falsas (RSFP) en granjas libres de infección, de las que pueden derivarse importantes restricciones comerciales y pérdidas económicas.

Las RSFP representan un grave problema en países libres de brucelosis, o durante las fases finales de su erradicación. Entre el 7 y 10% de los cerdos libres de *Brucella* (la UE está considerada oficialmente libre) presentan RSFP. Al utilizar antígenos (proteínas citosolubles) totalmente específicos del género *Brucella*, la prueba alérgica cutánea (skin test) es la mejor alternativa diagnóstica en caso de RSFP [6]. Para aplicar esta prueba cutánea solo existe un alérgeno comercial (Brucelergene OCB), cuyo uso en porcino no se ha registrado. Este alérgeno se obtiene de la cepa *B. melitensis* B115, que se ha demostrado que expresa Cadena O en el citoplasma [20], lo que puede causar interferencias diagnósticas. La prueba cutánea con los alérgenos libres de perosamina (precursor de la Cadena O) desarrollados en este proyecto, proporcionó resultados equivalentes a los obtenidos con B115, resultando 100% específica para discriminar RSFP en porcino [6]. A lo largo del proyecto se han aplicado miles de dosis en distintas granjas (algunas afectadas por la enfermedad y otras con problemas de RSFP). La sensibilidad y especificidad diagnósticas de esta prueba son muy satisfactorias. Además, se ha comprobado que las inoculaciones repetidas del alérgeno en granjas libres de infección no inducen positividad en las pruebas serológicas oficiales, no interfieren en el diagnóstico de otras enfermedades de seguimiento obligatorio y no provocan efectos secundarios indeseables. En definitiva, la prueba cutánea con el nuevo alérgeno libre de perosamina constituye una herramienta práctica, sencilla y efectiva para diagnosticar la brucelosis porcina y discriminar entre brucelosis y RSFP.

Por otra parte, hemos demostrado que existen combinaciones de pruebas serológicas útiles para el diagnóstico diferencial de la brucelosis porcina en presencia de RSFP y también, para la aplicación de estrategias de control y erradicación en granjas infectadas. La inmunodifusión en gel con proteínas citosólicas y S-LPS, aunque presentan una sensibilidad moderada a nivel individual, pueden ser útiles a nivel de rebaño para discriminar entre la infección por *Brucella* y las RSFP. En granjas infectadas, el uso combinado del RB, el iELISA "I.B. Porcine" (un ELISA adecuadamente validado) y la prueba alérgica cutánea permite identificar eficazmente los animales positivos y estimar la prevalencia de la infección. Tanto las pruebas serológicas (RB / ELISA "I.B. Porcine") como la prueba alérgica desarrollada son herramientas útiles a la hora de aplicar estrategias de erradicación por diagnóstico y sacrificio. Por el contrario, hemos comprobado que los iELISA con R-LPS o con proteínas citosólicas carecen de valor diagnóstico.

El tratamiento antibiótico combinado oxitetraciclina-tildipirosina desarrollado en este proyecto está siendo utilizado con éxito en varias granjas afectadas por *B. suis* bv. 2.

### PARTICIPACIÓN EN PROYECTOS DEL PROGRAMA DE I+D DE LA UE Y/O EN OTROS PROGRAMAS INTERNACIONALES EN TEMAS RELACIONADOS CON ESTE PROYECTO

Durante la última anualidad de proyecto, a nuestro grupo de investigación le fue concedido el Proyecto titulado "Brucellosis in wildlife and domestic animals: development of a direct diagnostic method and assessment of genetic diversity of *Brucella melitensis* and *B. suis* biovar 2 strains in the EU (Bru-EPIDIA), presentado a la convocatoria ERA-Net ANIHW de 2013. Se trata de un proyecto coordinado en el que participan la Agence Nationale de Sécurité Sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (ANSES-Francia), el Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Abruzzo e del Molise G. Caporale (Italia) y el CITA de Aragón.

Este proyecto nos está permitiendo complementar los estudios de epidemiología y tipificación molecular de las cepas de *B. suis* bv. 2 aisladas en nuestro país y compararlas con los aislamientos realizados en el resto de Europa

## DIFUSIÓN DE LOS RESULTADOS DEL PROYECTO

### PATENTES, OBTENCIONES Y OTROS TÍTULOS DE PROPIEDAD INDUSTRIAL

La empresa AQUILÓN CYL S.L ha adquirido los derechos relativos al nuevo alergeno desarrollado y está realizando los trámites correspondientes para su Registro Oficial como paso previo a su comercialización

### PUBLICACIONES CIENTÍFICO-TÉCNICAS

Dieste-Pérez, L.; Blasco, J. M.; De Miguel, M. J.; Marín, C. M.; Barberán, M.; Conde-Álvarez, R.; y otros, "Performance of skin tests with allergens from *B. melitensis* B115 and rough *B. abortus* mutants for diagnosing swine brucellosis", *Veterinary Microbiology*, vol. 168, n.º 1, 2014, pp. 161-168, fecha de consulta 10 marzo 2014. <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetmic.2013.10.024>

Dieste-Pérez, L.; Fraile, L.; de Miguel, M. J.; Barberán, M.; Blasco, J. M.; Muñoz, P. M., "Studies on a suitable antibiotic therapy for treating swine brucellosis", *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 2014. <http://dx.doi.org/10.1111/jvp.12189>

Dieste-Pérez, L.; Barberán, M.; Muñoz, P. M.; Moriyón, I.; Blasco, J. M., "Clinical and histological features of brucellin skin test responses in *Brucella suis* biovar 2 infected pigs", *Veterinary Immunology and Immunopathology*, vol. 163, n.º 1-2, 2015, pp. 77-85.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.vetimm.2014.11.009>

Dieste-Pérez, L.; Blasco, J. M.; de Miguel, M. J.; Moriyón, I.; Muñoz, P. M., "Diagnostic performance of serological tests for swine brucellosis in the presence of false positive serological reactions", *Journal of Microbiological Methods*, vol. 111, 2015, pp. 57-63 <http://dx.doi.org/10.1016/j.mimet.2015.02.001>

### PUBLICACIONES: LIBROS, CAPÍTULOS DE LIBROS Y MONOGRAFÍAS

Olsen, S.; Garin-Bastuji, B.; Blasco, J. M.; Nicola, A. M.; Samartino, L., "Diseases of Swine", en Jeffrey J. Zimmerman, L.A. Karriker, A. Ramirez, K.J. Schwartz, G.W. Stevenson (eds.) *Diseases of swine*, 10th ed, Wiley-Blackwell, Chichester, West Sussex, 2012, pp. 698-709.

### TRABAJOS PRESENTADOS EN CONGRESOS, CONFERENCIAS O WORKSHOPS RELACIONADOS CON EL PROYECTO

#### DE CARÁCTER NACIONAL

Blasco, J.M. Brucelosis porcina. FORO PORCINO Pfizer. Pfizer Salud Animal Madrid, Madrid, 2011.

Blasco, J.M. Patología bacteriana asociada a la reproducción: Brucelosis porcina. VII Congreso de la AVPA, Facultad de Veterinaria, Zaragoza, 2011. <http://hdl.handle.net/10532/1755>

Dieste-Pérez, L., De Miguel, M.J., Marín, C.M., Barberán, M., Blasco, J.M., Muñoz, P.M. Eficacia de diversas pruebas serológicas para el diagnóstico de la Brucelosis porcina. XV Jornadas sobre Producción Animal-AIDA, Zaragoza (Spain), 2013. <http://hdl.handle.net/10532/2289>

Muñoz, P.M. Brucelosis porcina ¿mito o realidad? III Jornada Internacional Científico-Técnica de Reproducción Porcina de HUMECO, Huesca, 2013.

---

#### DE CARÁCTER INTERNACIONAL

Dieste, L.; De Miguel, M.J.; Mainar, R.C.; Marín, C. M.; Barberán, M.; Moriyón, I.; Blasco, J.M.; Muñoz, M.P. Diagnostic Performance of Skin Test for Swine Brucellosis. Comunicación oral. International Research Conference. Buenos Aires (Argentina). 2011

Dieste-Pérez, L.; Muñoz, P.M.; De Miguel, M.J.; Blasco, J.M.; Fraile, L. Susceptibility of *Brucella suis* biovar 2 to antibiotics of current use in pigs. Poster. 23 International Pig Veterinary Society Congress, 2014.

---

#### TESIS DOCTORALES Y OTROS TRABAJOS ACADÉMICOS RELACIONADOS CON EL PROYECTO

Dieste Pérez, L. Brucelosis porcina producida por *Brucella suis* biovariedad 2: desarrollo de técnicas específicas de diagnóstico indirecto y estrategias de control y erradicación. Tesis doctoral. Directores: Pilar M<sup>a</sup> Muñoz Álvaro y José M<sup>a</sup> Blasco. Facultad de Veterinaria, Universidad de Zaragoza. 16 de febrero de 2015.

Dieste Pérez, L. Contribución al Diagnóstico y Tratamiento de la Brucelosis Porcina. Trabajo final del Master. Directora: Pilar M<sup>a</sup> Muñoz Álvaro. Facultad de Veterinaria, Universidad de Zaragoza, 2010.