



EVALUACIÓN DE UNA NUEVA VACUNA CONTRA MASTITIS EN VACAS DESAFIADAS EXPERIMENTALMENTE CON STAPHYLOCOCCUS AUREUS: RESULTADOS PRELIMINARES

Juan Kruze^{1*}, Armin Mella^{1,2}, Iván Valdés³, Fernando Ulloa^{4,5},
Nicolás Olivares¹, Alejandro Ceballos-Márquez⁵

¹ Laboratorio de Mastitis, Instituto de Bioquímica y Microbiología, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile, Casilla 167, Valdivia, Chile. *Autor de correspondencia: jkruze@uach.cl - ² Programa de Doctorado en Ciencias Veterinarias, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile - ³ Veterquímica S.A., Santiago, Chile - ⁴ Programa de Magister en Ciencias M/Microbiología, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile - ⁵ Departamento de Ciencias Agrarias, Universidad de Caldas, Manizales, Caldas, Colombia

RESUMEN

El objetivo de este estudio fue evaluar la eficacia de una nueva vacuna (MASTI-VAC®) para el control de mastitis por *S.aureus*. La vacuna fue elaborada con cepas virulentas de *S.aureus* aisladas de casos clínicos de mastitis en Chile, y fue desarrollada por investigadores nacionales de Veterquímica S.A. El ensayo se realizó en un rebaño experimental usando 15 vaquillas preñadas, 10 de las cuales fueron inmunizadas con 4 dosis de la vacuna y las restantes 5 vaquillas fueron usadas como grupo control. Diez días después de la última inmunización, todas las vaquillas (vacunadas y controles) fueron desafiadas por vía intramamaria con 1000 ufc/mL de una cepa virulenta de *S.aureus* en dos cuartos mamarios de cada vaquilla. La evaluación de la respuesta inmune se realizó mediante parámetros clínicos, bacteriológicos, citológicos, inmunológicos y producción diaria de leche. Para el análisis de los datos se emplearon modelos de regresión mixtos. En ninguna de las vaquillas (vacunadas o controles) se observaron efectos sistémicos. Con los resultados analizados hasta ahora es posible concluir que la vacunación ha demostrado ser una herramienta efectiva para reducir la severidad de la infección intramamaria en vaquillas experimentalmente desafiadas con *S.aureus*.

SUMMARY

The main objective of this study was to evaluate the efficacy of a new vaccine (MASTI-VAC®) to control *S.aureus* mastitis. This vaccine was prepared with virulent field strains of *S.aureus* isolated from mastitis in dairy cows of Chile, and was developed by national researchers at Veterquímica S.A. The trial was conducted in an experimental dairy herd using 15 pregnant heifers, 10 of which were vaccinated with four doses of

the vaccine and the other 5 heifers were used as controls. Ten days after last immunization, all heifers (vaccinated and controls) were intramammary challenged with 1000 cfu/mL of a virulent strain of *S.aureus* administered into two quarters of each heifer. The evaluation of the immune response was based on clinical signs, shedding of *S.aureus*, SCC, anti-*S.aureus* serum antibodies, and daily milk yield. Data analysis was conducted using regression mixed models. No systemic effects were observed in any of the heifers, vaccinated or control. Although statistical analyses are still underway, with the results obtained so far vaccination has demonstrated to be an effective tool to control the severity of IMI in heifers experimentally challenged with virulent field strains of *S.aureus*.

INTRODUCCIÓN

Entre los múltiples agentes etiológicos causantes de mastitis bovina destaca *S.aureus*, un patógeno altamente contagioso, ampliamente distribuido en el medio ambiente, y difícil de controlar con las actuales medidas preventivas de manejo. En Chile, y particularmente en la zona sur del país, no se conoce con exactitud la etiología de la mastitis pero estudios recientes realizados por Kruze y col. (2012) demostraron que *S.aureus* continúa siendo el patógeno mamario más importante en los rebaños lecheros en el sur de Chile. Por su parte, un estudio más reciente realizado en la zona central del país revela que los patógenos aislados con mayor frecuencia son los estafilococos coagulasa negativo, seguido de *Strep.uberis* y *S.aureus* (Céspedes 2014). Por muchos años la estrategia del control de mastitis se ha basado en medidas de manejo tendientes a evitar las neoinfecciones (higiene) y en acortar o eliminar las infecciones pre-existentes (terapia antibiótica) (Philpot y Nickerson, 2000). En los últimos años se ha introducido la inmunización como una nueva



herramienta para el control de mastitis (Ruegg, 2005; Bradley y col. 2015). En USA existen varias vacunas comerciales para combatir las mastitis por *S.aureus* (Leitner y col. 2011) y *E.coli* (Hogan y col. 1995). Recientemente en España se desarrolló una nueva vacuna contra *S.aureus* (StartVac-HIPRA) que ha sido aprobada por la Comunidad Europea (Schukken y col. 2014). Sin embargo, la efectividad de estas vacunas es variable según la situación específica de cada rebaño lechero. En Chile actualmente sólo se comercializa una vacuna aprobada contra *E.coli* (Enviracor®), vacuna que no previene las neoinfecciones pero reduce la severidad de los signos clínicos de los animales infectados. El objetivo de este estudio es dar a conocer resultados preliminares de la evaluación de la eficacia de una nueva vacuna (MASTI-VAC®) contra *S.aureus* desarrollada en Chile por Veterquímica S.A. con cepas autóctonas de *S.aureus* aisladas de casos clínicos de mastitis en el sur de Chile, aplicada en animales desafiados experimentalmente con una cepa virulenta de *S.aureus*.

MATERIALES Y MÉTODOS

El ensayo se realizó en un rebaño experimental usando 15 vaquillas preñadas, 10 de las cuales fueron inmunizadas con 4 dosis de la vacuna 45 y 15 días antes del parto, y 15 y 25 días después del parto. Las restantes 5 vaquillas fueron usadas como grupo control. Diez días después de la última inmunización, todas las vaquillas (vacunadas y controles) fueron desafiadas por vía intramamaria con 1000 ufc/mL de una cepa virulenta de *S.aureus* en dos cuartos mamarios de cada vaquilla. Dos días previos al desafío y posteriormente diariamente durante 14 días, todos los cuartos mamarios fueron examinados para detectar y evaluar la severidad de los signos clínicos de acuerdo con la pauta descrita por Wenz y col (2006), excreción de *S.aureus* por la leche, recuento de células somáticas (Fossomatic), anticuerpos séricos anti-*S.aureus*, y producción diaria de leche. Para el análisis de los datos se emplearon modelos de regresión mixtos.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Aunque en ninguna de las vaquillas (vacunadas o controles) se observaron efectos sistémicos, los animales del grupo control desarrollaron cuadros severos de mastitis clínica, mientras que los animales inmunizados, como era lógico de esperar, también desarrollaron cuadros clínicos de mastitis pero éstos fueron leves o moderados. Aunque los análisis estadísticos

se encuentran aún en proceso, la vacunación produjo una reducción de los recuentos de células somáticas en las vaquillas vacunadas (1.567.000 cél/mL) comparado con el grupo control (2.491.000 cél/mL) ($P < 0.001$). Estos resultados demuestran que la inmunización con MASTI-VAC® fue capaz de proteger a la glándula mamaria contra la infección por *S.aureus*, reflejado por una menor respuesta inflamatoria medida a través del recuento de células somáticas en la leche. Del mismo modo, como era lógico de esperar, los cuartos mamarios desafiados del grupo control no inmunizado arrojaron los más altos promedios de recuentos bacterianos de *S.aureus* (80.000 ufc/mL) comparado con el grupo inmunizado (26.000 ufc/mL); sin embargo, estas diferencias no fueron significativas ($P = 0.76$). Al igual que en el caso de las células somáticas, estos resultados podrían sugerir que la inmunización con MASTI-VAC® otorga un cierto grado de protección contra la infección intramamaria por *S.aureus*. La detección de los títulos séricos de anticuerpos contra *S.aureus* reveló que, contrariamente a lo esperado, todos los animales (vacunados y controles) presentaron títulos séricos > 16000 antes de la primera inmunización, debido probablemente a una alta exposición natural a este patógeno en el rebaño experimental; no obstante, y como era de esperar, los títulos séricos aumentaron considerablemente después de las inmunizaciones en los animales vacunados mientras que en el grupo control los títulos séricos se mantuvieron relativamente estables hasta el término del período observacional. Finalmente, la producción diaria de leche posterior al desafío comparada con la producción previo al desafío fue sólo un 12,1% menor en los animales inmunizados con MASTI-VAC® comparado con un 30,8% de reducción en los animales no vacunados, demostrándose el efecto positivo de la vacuna sobre la reducción de pérdidas por menor producción en los animales infectados con *S.aureus*.

CONCLUSIONES

Con los resultados analizados hasta ahora es posible concluir que la vacunación ha demostrado ser una herramienta efectiva para reducir la severidad de la infección intramamaria en vaquillas experimentalmente desafiadas con una cepa virulenta de *S.aureus*.

BIBLIOGRAFÍA

- Bradley AJ, JE Breen, B Payne, V White, MJ Green. 2015. An investigation of the efficacy



of a polyvalent mastitis vaccine using different vaccination regimens under field conditions in the United Kingdom. *J Dairy Sci* 98, 1-15

Céspedes W. 2014. Diagnóstico de patógenos mamarios en lecherías de la zona central de Chile. *DLECHE* 76,54-55

Hogan JS, Weiss WP, Smith KL, Todhunter DA, Schoenberger PS. 1995. Effects of an *Escherichia coli* J5 vaccine on milked clinical coliforms mastitis. *J Dairy Sci* 78,285- 290

• Kruze J, G Monti, A Mella. 2012. Asociación entre niveles de células somáticas en leche de estanque y la incidencia de mastitis clínica en rebaños lecheros del sur de Chile. En: Informe Finales Proyectos FIA del Consorcio Lechero, Chile, vol. 2, Subproyecto M3P4

• Leitner G, O Krifucks, MD Kiran, N Balaban. 2011. Vaccine development for the prevention of staphylococcal mastitis in dairy cows. *Vet Immunol Immunopathol* 142, 25-35

• Philpot WN, SC Nickerson. 2000. Winning the fight against mastitis. Westfalia-Surge, Inc., Naperville, IL., USA

Ruegg P. 2005. Evaluating the Effectiveness of Mastitis Vaccines. *Res. Milk Money* 3, 21-27

• Schukken YH, V Bronzo, C Locatelli, C Polle- ra, N Rota, A Casula, F Testa, L Scaccabarozzi, Ricard March, Daniel Zalduendo, Roger Guix, P Moroni. 2014. Efficacy of vaccination on *Staphylococcus aureus* and coagulase-negative staphylococci intramammary infection dynamics in 2 dairy herds. *J Dairy Sci* 97, 5250-5264

• Wenz JR, FB Garry, GM Barrington. 2006. Comparison of disease severity scoring systems for dairy cattle with acute coliform mastitis. *J Amer Vet Med Ass* 229, 259-262

Investigación financiada por CONICYT - Proyecto FONDEF IDEa N° IT13I10025 y Veterquímica S.A.

LEUCOSE MEDULAR EM BOVINO LEITEIRO

Rosimeri Zamboni¹, Daniel Machado Alves¹, Pablo Estima-Silva¹, Luísa Grecco Corrêa², Kayane R. Molarinho², Margarida B. Raffi³, Eliza Simone V. Sallis³

¹ Pós-graduação (PPGVET) Faculdade de Veterinária, UFPel, *Autor para correspondência rosi_zamboni@yahoo.com.br.

² Graduandos, Medicina Veterinária UFPel - ³ Professor Associado do Departamento de Patologia, Faculdade de Veterinária, (DPA/UFPel)

RESUMO

Descreve-se um caso de leucose em um bovino da raça holandesa na região sul do Rio Grande do Sul (RS). O animal apresentava paresia dos membros pélvicos há aproximadamente um mês e este sinal neurológico foi atribuído a compressão medular em decorrência de uma massa no canal medular de consistência macia, branco acinzentada, localizada na última vértebra lombar. O diagnóstico de leucose enzoótica bovina foi realizado através dos dados epidemiológicos e achados de necropsia, sendo confirmado através do exame histopatológico e na imunohistoquímica houve marcação para linfócitos T.

SUMMARY

It is described a case of leukemia in cattle in Southern of Rio Grande do Sul (RS). The animal had paresis of the hind limbs about a month ago and this neurological sign was attributed to spinal cord compression due to a mass in the spinal canal of soft consistency, grayish white, locate at the last lumbar vertebra. The diagno-

sis of enzootic bovine leukemia was performed using epidemiological data and necropsy findings, and confirmed by histopathology and immunohistochemistry detecting T lymphocytes.

INTRODUÇÃO

A leucose enzoótica bovina (LEB) é uma doença viral infecciosa, de evolução crônica com distribuição mundial, que acomete bovinos, principalmente o rebanho leiteiro, causando sérios prejuízos econômicos. Sua transmissão se dá principalmente de forma horizontal, podendo, também, ser transmitida através de exame retal, insetos hematófagos, inseminação artificial e de forma iatrogênica (RADOSTITS et al. 2012). Segundo Barros (2007) cerca de 30% dos animais infectados pelo vírus da leucemia bovina (BLV), desenvolvem linfocitose persistente (LP) e apenas 0,1 a 0,5% dos infectados, com idade de 4 a 8 anos, desenvolvem linfomas. Ao contrário de outras espécies de mamíferos, os bovinos possuem uma classificação diferente para os linfomas, sendo divididos em: linfomas enzoóticos (forma mais prevalente) e linfomas esporádicos (FIGHERA & GRAÇA 2010).