



**UNIVERSIDAD DE CHILE**  
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y PECUARIAS  
ESCUELA DE CIENCIAS VETERINARIAS

**EFICACIA DE LA VACUNACIÓN EN TERNERAS CON LA CEPA  
*Mycobacterium bovis* BCG PARA LA PREVENCIÓN DE LA  
TUBERCULOSIS BOVINA EN PREDIOS LECHEROS DE LA  
REGIÓN METROPOLITANA**

**Camila Jesús Ortega Espinoza**

Memoria para optar al Título  
Profesional de Médico Veterinario  
Departamento de Medicina  
Preventiva Animal

PROFESOR GUÍA: Dr. PATRICIO RETAMAL MERINO  
Universidad de Chile

FINANCIAMIENTO: CONVENIO SAG-FAVET

SANTIAGO, CHILE  
2018- 2019



**UNIVERSIDAD DE CHILE**  
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y PECUARIAS  
ESCUELA DE CIENCIAS VETERINARIAS

**EFICACIA DE LA VACUNACIÓN EN TERNERAS CON LA CEPA  
*Mycobacterium bovis* BCG PARA LA PREVENCIÓN DE LA  
TUBERCULOSIS BOVINA EN PREDIOS LECHEROS DE LA  
REGIÓN METROPOLITANA**

**Camila Jesús Ortega Espinoza**

Nota: \_\_\_\_\_

Profesor Guía::	Dr. Patricio Retamal Merino	_____
Profesor Corrector:	Dr. Pedro Ábalos Pineda	_____
Profesor Corrector:	Dr. Dr. Ulises Vergara Castillo	_____

SANTIAGO, CHILE  
2018- 2019

## AGRADECIMIENTOS

*A mi familia, que me apoyó en este largo proceso, que a pesar de la distancia siempre estuvieron presente.*

*Y a mi pareja, que me ayudó a estudiar muchas noches y que me acompañó en esta aventura.*

*Mis compañeras de estudio y de proyecto, que siempre estuvieron para responder una duda y apoyar en una salida a terreno complicada.*

## RESUMEN

La tuberculosis bovina (TB) es una enfermedad crónica y zoonótica que es producida por *Mycobacterium bovis*. Afecta a varias especies, siendo el principal hospedero el ganado bovino. El impacto económico mundial de la enfermedad se estima en 3 mil millones de dólares anuales, debido a la reducción de la producción de carne, leche y decomisos. La TB en Chile existe con su forma clínica demostrada en animales domésticos y no presente en animales silvestres y respecto a las campañas de control y erradicación incluyen la identificación de los animales reactivos y el beneficio de estos, junto con la zonificación de país. Se ha demostrado que los programas de control no se pueden basar solo en prueba y sacrificio de animales reactivos, es fundamental complementar con otras estrategias de control, una de ellas es la vacunación del ganado contra la TB.

En Chile existe un proyecto para evaluar el uso de la vacuna cepa *M. bovis* BCG en predios bovinos de la zona central, tema estudiado en otros países pero en ambientes controlados. Por esto es que se crea el objetivo de este trabajo, evaluar la eficacia de la vacunación con la cepa *M. bovis* BCG para la prevención de la TB un año post inoculación en terneras en predios lecheros de la Región Metropolitana.

Se vacunaron 355 terneras y 285 fueron el grupo placebo. Un año posterior a la inoculación se les extrajo una muestra de sangre de la vena coccígea, se estimulan con diversos antígenos específicos, posteriormente se realizó un ensayo de ELISA INF-  $\gamma$  para medir la liberación de INF-  $\gamma$  de parte de la muestra y determinar infección por *M. bovis*.

Los resultados demostraron que al año post inoculación existe una eficacia de la vacuna de un 31.16%, nivel intermedio según estudio previos. La vacuna sería una buena herramienta para utilizar en un programa nacional de control de la TB en predios con alta prevalencia debido su protección y por la reducción de los animales infectados y la diseminación de la enfermedad.

## ABSTRACT

Bovine tuberculosis (TB) is a chronic and zoonotic disease that is caused by *Mycobacterium bovis*. It affects several species, the main host being cattle. The global economic impact of TB is estimated at US\$300 million annually, due to the reduction in the production of meat, milk and seizures. The TB in Chile exist with its clinical form demonstrated in domestic animals and not present in wild animals and regarding the control and eradication campaigns it includes the identification of the reactive animals and the benefit of these, together with the zoning of the country. It has been detected that control programs cannot be based solely on testing and slaughter of reactive animals, it is fundamentally complementary to other control strategies, one of them is the vaccination of cattle against TB.

In Chile, there is a project to evaluate the use of the vaccine strain *M. bovis* BCG in bovine farms in the central area, topic studied in other countries but in controlled environments. This is why the objective of this work is created, to evaluate the efficacy of vaccination with the *M. bovis* BCG strain for the prevention of TB one year post inoculation in calves in dairy farms in the Metropolitan Region.

355 calves were vaccinated and 285 were the placebo group. A year after inoculation a blood sample was taken from the coccygeal vein, they were stimulated with various specific antigens and then an INF- $\gamma$  ELISA test was performed to measure the release of INF- $\gamma$  from part of the sample.

The results showed that a year after inoculation there is a vaccine efficacy of 31.16%, intermediate level according to previous studies. The vaccine would be a good tool to use in a national TB control program in areas with high prevalence due to its protection and the reduction of infected animals and spread of the disease.

## INTRODUCCIÓN

La tuberculosis bovina (TB) es una enfermedad crónica provocada por una bacteria llamada *Mycobacterium bovis*, que guarda estrecha relación con las bacterias causantes de las tuberculosis humana y aviar. Puede afectar a prácticamente todos los mamíferos, en los que provoca un deterioro del estado general de salud y la muerte. La TB es de notificación obligatoria a la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE) (conforme al Código Sanitario para los Animales Terrestres de la OIE). La vía de infección de *M. bovis* generalmente es aerógena, aunque también se transmite por el calostro o leche de madre infectada y por heces contaminadas. El ganado doméstico es el grupo más afectado, pero se puede transmitir a un gran número de especies (domésticas y silvestres) y también a los humanos.

La pérdida económica debido a la disminución de productividad, eliminación de animales positivos, el menor valor de la leche y los decomisos durante la inspección de matadero, es un incentivo para el control de la enfermedad. En Chile esta situación afecta mayormente a la zona central del país por la alta prevalencia que existe en los planteles de este sector. Es por esto que se plantea la vacunación como un método complementario de control de la TB.

La vacuna en uso contra la tuberculosis humana es la cepa *M. bovis* BCG, bacilo Calmette Guérin, una vacuna económica que en Chile se aplica a todo recién nacido. Esta cepa no ha sido utilizada oficialmente para la prevención de la enfermedad en bovinos y este es el primer proyecto que se efectuará en condiciones de campo. La eficacia de la vacuna debe ser evaluada y el resultado de este estudio puede ser relevante para la decisión de la implementación del programa a nivel nacional de la vacuna.

## **REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA**

### **Características microbiológicas de la bacteria**

Las especies de micobacterias que causan tuberculosis en humanos y animales se agrupan en el complejo *Mycobacterium tuberculosis*, que está compuesto por *M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. caprae*, *M. africanum*, *M. pinnipedii*, *M. microti*, *M. orygis*, *M. mungi*, *dassie bacillus* y *M. canettii* (Rodríguez-Campos *et al.*, 2014 y Forbes *et al.*, 2018).

*Mycobacterium* spp. son bacilos aerobios, no formadores de esporas, Gram-positivos, ácido-alcohol resistentes (por el alto contenido de ácido micólico), no móviles y la mayoría de ellos son rectos o ligeramente curvos. Crecen lentamente, requieren al menos 5 días de incubación y muchos requieren 1 o más semanas para el crecimiento visible; y algunas no crecen en absoluto en medios sólidos (Forbes *et al.*, 2018).

*M. bovis* tiene como principal hospedero al ganado doméstico, aunque también puede afectar a los cerdos domésticos o jabalíes, equinos, perros y gatos. En las especies de vida silvestre en donde se ha encontrado son: ciervos, alces, jabalíes, zorros, tejones, mapaches, liebres, entre muchos otros. Los seres humanos también son susceptibles a *M. bovis* debido a su potencial zoonótico (Rodríguez-Campos *et al.*, 2014). Es importante destacar que la presentación clínica en humanos causada por *M. bovis* y *M. tuberculosis* es casi idéntica y en consecuencia, la diferenciación solo es posible por métodos bacteriológicos y moleculares (Vazquez-Chacon *et al.*, 2015).

### **Vía de infección**

La vía de infección generalmente es aerógena aunque la transmisión oral por calostro o leche de madre infectada es muy importante para la contaminación de los terneros. La transmisión también puede ser realizada por las heces contaminadas (Gil y Samartino, 2001).

### **Situación mundial**

A la fecha, 53 países han notificado a la OIE la “enfermedad clínica demostrada”, incluido Chile; 11 países como “enfermedad limitada a cierta(s) zona(s)/región del país”, en esta categoría se encuentran Argentina, Canadá, Estados Unidos, Francia, Italia, México, entre otros; y 60 países son los que no han presentado la enfermedad en los últimos años, algunos son Australia, Alemania y Japón (OIE, 2018).

Los EE.UU comenzaron la campaña de erradicación en 1917 y con ello disminuyó la prevalencia de un 5% a <0,001% en 2009 (Bezoz *et al.*, 2014). El programa fue obligatorio y con indemnización, retiro de los animales reactivos, sacrificio y desinfección de las instalaciones para su posterior re-población, zonificación del país y restricción en el movimiento de animales. En el caso de Australia, fue declarado libre de TB en el año 1997, el programa iniciado en 1970 se establecieron diversas estrategias, como un sistema dinámico de rebaños y clasificación de áreas basadas en el riesgo a nivel de individuo, rebaño o área (Carneiro y Kaneene, 2018).

La enfermedad tiene un importante impacto económico al reducir la producción de carne y leche, pérdidas de carcasas y las partes afectadas que no son aptas para consumo humano; además crea obstáculos al comercio internacional. En África y Asia meridional el impacto directo de esta enfermedad se estima en 300 millones de dólares anuales, mientras que a nivel mundial la enfermedad cuesta 3.000 millones de dólares anuales (Vordermeier *et al.*, 2016).

### **Situación en Chile**

La TB fue diagnosticada en Chile hace más de 100 años (Max *et al.*, 2011). Según la OIE la TB está presente con su forma clínica demostrada en animales domésticos y no presente en silvestres (OIE, 2018).

El "Programa nacional de certificación de rebaños libres de tuberculosis bovina, brucelosis y leucosis" que se implementó en el año 1982 logró una disminución importante de la prevalencia animal y de rebaño (específicamente en la Región de Los Lagos, 21.4% a 7.7%.) (Max *et al.*, 2011). Luego el Servicio Agrícola y Ganadero (SAG) oficializó el “Plan Nacional de Control y Erradicación de Tuberculosis Bovina”, el 2011. El objetivo general

del plan fue “mejorar la competitividad internacional del sector pecuario nacional”. Los ejes estratégicos son: creación de compartimentos, detección de los rebaños infectados, saneamiento de rebaños infectados y prevención de la transmisión de *M. bovis* hacia los rebaños lecheros libres y negativos (SAG, 2011).

Según la modificación de la resolución n° 2.762 exenta, de 2011, el control obligatorio de la tuberculosis se aplicarán, considerando las siguientes zonas epidemiológicas en el territorio nacional: zona de erradicación norte: predios bovinos ubicados entre la Región de Arica-Parinacota hasta Antofagasta; zona de control: entre la Región de Atacama hasta la del Biobío, exceptuando la Provincia de Arauco; y zona de erradicación sur: desde la Región de La Araucanía hasta la Antártica Chilena y de la Provincia de Arauco, de la Región del Biobío (Chile, 2011; SAG, 2011).

Los programas de control no pueden basarse solo en pruebas y sacrificio de animales reaccionantes y es fundamental complementar con nuevas estrategias de control, incluida la vacunación del ganado contra la TB (Vordermeier *et al.*, 2016). Complementando lo anterior, el que no exista compensación financiera que reduzca la pérdida económica debido a la eliminación de animales positivos se adicionan a las limitaciones para la erradicación de la TB (López-Valencia *et al.*, 2010).

### **Vacuna *M. bovis* BCG**

Dos científicos franceses, Calmette, un médico y Guérin, un veterinario, seleccionaron una cepa de *M. bovis* aislada de una vaca con mastitis tuberculosa en 1908. El aislado se cultivó en un medio que contenía glicerol, rodajas de patata y bilis de res (Hanekom *et al.*, 2018). Calmette y Guérin informaron en 1911 que la cepa *M. bovis* BCG indujo protección en el ganado contra el desafío experimental con *M. bovis* (Vordermeier *et al.*, 2016). La mutación principal que tuvo *M. bovis* BCG fue la deleción de la “región de diferenciación 1” (RD1) que codifica para las proteínas ESAT-6 (Early Secretory Antigenic Target-6) y CFP-10 (Culture Filtrate Protein-10) que actúan en la disrupción de la membrana celular del hospedero y facilitan la propagación bacteriana (Vordermeier *et al.*, 2016).

Respecto a las cepas de *M. bovis* BCG se demostró su seguridad en diversas especies hospedadoras, incluido el ganado vacuno (cepas Danesa, Pasteur, Rusa, Glaxo, Goteborg) (Ray *et al.*, 2012). Para ocupar la vacuna en un programa de control de la TB se debe considerar que la inoculación de terneros muy jóvenes (<1 mes de edad) induce niveles más altos de protección que la vacunación a los 6 meses de edad (Vordermeier *et al.*, 2016). Se ha demostrado que la vacunación con *M. bovis* BCG induce niveles significativos de protección en bovinos en un gran número de estudios experimentales y ensayos de campo desde 1912. Estudios de laboratorio más recientes han demostrado reducciones significativas en el desarrollo y presentación de lesiones visibles después del desafío con *M. bovis* (Conlan *et al.*, 2015). Los ensayos de campo en México y Etiopía demostraron que la vacunación con *M. bovis* BCG puede proteger al ganado contra la exposición natural a *M. bovis*. También se encontró una reducción significativa en la severidad y distribución de la patología visible y microscópica en terneros vacunados, lo que generaría una probable reducción de la transmisión posterior a otros animales (un efecto llamado vacuna indirecta o inmunidad de masa). Esto tendría un impacto beneficioso en el control de la enfermedad en granjas vacunadas (Ameni *et al.*, 2017 y López-Valencia *et al.*, 2010).

El problema con el uso de *M. bovis* BCG en el ganado es que los puede sensibilizar a la prueba de la tuberculina, lo que compromete el diagnóstico y el comercio internacional, los animales vacunados que reaccionen a la prueba de la tuberculina deben ser tratados como positivos y beneficiados (Buddle *et al.*, 2011, Conlan *et al.*, 2015). Por ello, se ha desarrollado una prueba de sangre diferencial basada en respuestas de Interferón gamma (IFN- $\gamma$ ) a antígenos micobacterianos seleccionados (ESAT-6, CFP10 y Rv3615 no presentes en la vacuna *M. bovis* BCG). Esta prueba puede distinguir entre ganado vacunado con *M. bovis* BCG y aquellos infectados con tuberculosis (DIVA - *Differentiating Infected from Vaccinated Animals*) (Buddle *et al.*, 2011).

Considerando que no es viable el manejo de la TB con la estrategia de diagnóstico y beneficio en la zona de control en Chile, se desarrolla este estudio que se enfoca en evaluar la eficacia un año post inoculación de la vacuna *M. bovis* BCG en terneras, en condiciones de campo, ya que estudios existentes son en ambientes controlados.

## **HIPÓTESIS**

La vacunación con la cepa *M. bovis* BCG en terneras genera una protección significativa a los 12 meses posteriores a la inoculación.

## **OBJETIVO GENERAL**

Evaluar la eficacia de la vacunación con la cepa *M. bovis* BCG para la prevención de la tuberculosis bovina un año post-inoculación en terneras en predios lecheros de la región Metropolitana

## **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

1. Determinar la eficacia de la vacunación con la cepa *M. bovis* BCG en bovinos un año post-inoculación.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

### **Trabajo en terreno**

Este estudio se realizó en el marco del proyecto “Evaluación de la aplicación de la vacuna BCG y el test DIVA para la prevención y diagnóstico de la infección por *M. bovis* en plantales bovinos de la zona central de Chile”. El financiamiento es obtenido por el SAG. Las vacunaciones se iniciaron en el mes de abril del año 2017.

El estudio se realizó en predios lecheros que presentan prevalencias de TB superiores al 15% de su ganado, ubicados en la Región Metropolitana.

Se utilizó la vacuna viva atenuada *M. bovis* BCG que se utiliza actualmente en el Programa Nacional de Inmunizaciones del Ministerio de Salud (MINSAL) y que se aplica en lactantes de 1 día de edad.

Se inocularon 355 terneras por vía subcutánea (SC) con 0,1 mL de la vacuna ( $1 \times 10^5$  UFC) y a 285 con 0,1 mL de suero fisiológico, solución placebo. Los animales tenían entre 1 y 42 días de edad (0 a 6 semanas). Este tamaño muestral considera una diferencia de un 20%, con un intervalo de confianza de un 95% y un error estadístico de un 0,1%. El estudio es doble ciego, controlado, randomizado por individuos. Los animales ingresaron gradualmente al estudio ya que los predios se visitaban de forma mensual. Así se fueron vacunando todas las terneras que nacían entre la visita del mes anterior y la actual.

En una planilla se registró cada ternera con su DIIO (Dispositivo de Identificación Individual Oficial), el número de inyección utilizada y cualquier tipo de observación con respecto al animal muestreado.

### *Toma de muestra*

Se recolectaron muestras de sangre periférica de la vena coccígea a las vaquillas que fueron inoculadas un año antes (cuando eran terneras), cada muestra se identificó con el número DIIO de cada individuo. Se utilizaron tubos para extracción de sangre al vacío con sistema BD Vacutainer®, con anticoagulante Heparina de Litio pulverizada.

## **Trabajo de laboratorio**

Ya obtenidas las muestras en terreno estas se mantenían a temperatura ambiente ( $22 \pm 3$  °C) hasta llegar al laboratorio de enfermedades infecciosas de FAVET, de la Universidad de Chile y fueron procesadas el mismo día del muestreo.

Se colocaron 6 alícuotas de 250  $\mu$ L de sangre de cada muestra en una placa estéril que posee 96 pocillos con fondo plano. Luego a cada alícuota se le adicionaron 25  $\mu$ l de cada antígeno estimulador o reactivo.

Los antígenos de estimulación y reactivos utilizados en el estudio fueron:

- PPD b 3000: Tuberculina bovina, antígeno de estimulación Prionics®.
- PPD a 2500: Tuberculina aviar, antígeno de estimulación Prionics®.
- PC-EC®: Cóctel de péptidos Prionics ®, antígeno de estimulación.
- Rv3615v: Cóctel de péptidos UK, antígeno de estimulación.
- PBS (NIL): Tampón Solución Fosfato Salina como control basal del estado sanitario de los animales muestreados.
- Pokeweed (PW): Mitógeno, control de estimulación que evalúa la viabilidad de las células.

Ya estando dispuestas las muestras de sangre junto con los antígenos y reactivos correspondientes se mezclaron en el agitador por 1 minuto a 600 rpm. Luego se incubaron las placas a 37°C por 16 – 24 hrs. en cámara húmeda.

### *Cosecha de plasmas*

Las placas se centrifugaron a 2000 r/m y por 10 min a temperatura ambiente ( $22 \pm 3$  °C) para separar el detritus celular del plasma. Se extrajo 100  $\mu$ L de plasma para transferirlo a las placas de almacenamiento. Estas placas se pueden almacenar hasta por 7 días en un refrigerador a  $5 \pm 3$  °C o congeladas (-20°C) por varios meses.

### *Ensayo Elisa IFN $\gamma$*

Su realización e interpretación fue siguiendo las instrucciones del fabricante.

Con el kit BOVIGAN 2G®: se determinó la liberación de IFN  $\gamma$  por la estimulación de los antígenos específicos PPD<sub>b</sub>, PPD<sub>a</sub>, ESAT-6, CFP-10 y Rv3615.

### *Análisis de los datos*

Se entendió como eficacia de la vacuna al porcentaje de reducción en la incidencia de la infección en el grupo vacunado atribuible a la vacunación respecto al grupo placebo.

El cálculo se realizó mediante la siguiente fórmula:

$$EV (\%) = (R_n - R_v) / R_n \times 100$$

Donde  $R_n$  es la tasa de incidencia de la infección en el grupo placebo y  $R_v$  es la tasa de incidencia en el grupo vacunado (Knight-Jones *et al.*, 2014).

Se utilizó la prueba de independencia asociada a la distribución de  $X^2$  para establecer diferencias estadísticamente significativas entre los vacunados y el grupo control.

La eficacia total es resultado de un promedio de una eficacia considerando animales positivos solo a los antígenos DIVA y otro considerando animales positivos a antígenos DIVA y a PPD<sub>b</sub>.

Los animales considerados como positivos a antígenos DIVA son:

- Aquellos que tuvieron diferencias de densidades ópticas (DO) entre PC-EC – PBS > 0.1
- Aquellos que tuvieron diferencias de DO entre Rv3615 – PBS > 0.1

Los animales considerados como positivos a PPD<sub>b</sub> son:

- Aquellos que tuvieron diferencias de DO entre PPD<sub>b</sub> – PPD<sub>a</sub> > 0.05 y diferencias de DO entre PPD<sub>b</sub> – PBS > 0.05 (solo los animales grupo placebo, no considera a los animales vacunados).

Los animales positivos a TB a las pruebas diagnósticas a los 6 meses fueron eliminados del estudio.

### *Bioseguridad y bioética*

Todas las acciones realizadas tanto con los animales como en el trabajo de laboratorio se ajustaron a las normas de la bioseguridad y bioética. Las actividades se realizaron con una correcta sujeción de los animales y con el equipamiento adecuado para el trabajo en terreno y posteriormente en el laboratorio, para realizar la toma de muestra y el análisis de estas.

Respecto al bienestar animal se realizaron todas las actividades del estudio bajo las indicaciones del documento por la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA) y además existía un consentimiento informado de cada dueño del predio que nos autorizaba a trabajar con sus animales.

## RESULTADOS

Los animales que ingresaron al estudio fueron 640, de los cuales se vacunaron con la cepa *M. bovis* BCG 355 y 285 fueron del grupo placebo. La eficacia de la vacuna fue de un 11.11% considerando el resultado DIVA y de un 51.21% cuando se considera el resultado DIVA más PPD<sub>b</sub> en el grupo placebo. En promedio la eficacia de la vacuna cepa *M. bovis* BCG en terneras un año post inoculación es 31.16% (Tabla 1).

Tabla 1: Eficacia vacunal (EV) un año post inoculación de terneras.

Grupo	Positivo (DIVA)	Negativo	Positivo (DIVA y PPD <sub>b</sub> )	Negativo
Vacunado	33	276	25	264
Placebo	31	227	43	176
	64	503	68	440
EV (%)	11.11		51.21	
EV total (%)	31.16			

Considerando solo a los animales positivos a DIVA el  $X^2$  es 0.135 con un valor de  $p=0.7134$ , sugiriendo que las variables no están asociadas.

Y considerando el resultado DIVA más PPD<sub>b</sub> el  $X^2$  es 12.035, con un valor de P de 0.0005, sugiriendo que existe una asociación entre las variables analizadas.

En la Tabla 2 se muestra la eficacia de la vacuna *M. bovis* BCG un año post inoculación en terneras por predios y total, con todos los animales. Se realiza distinción respecto a la consideración de animales positivos al igual que en la Tabla 1.

Tabla 2: Eficacia de la vacuna por predio.

Predio	EV% (DIVA)	EV% (DIVA/PPD-b)	EV total %
TA1	53.46	75.65	64.55
ME1	15.95	44.39	30.17
ME2	Indeterminado	70.58	Indeterminado

<b>ME3</b>	48.14	74.07	61.11
<b>ME4</b>	Indeterminado	Indeterminado	Indeterminado
<b>ME5</b>	0	0	0
<b>PH1</b>	0	0	0
<b>Total</b>	<b>17.08</b>	<b>55.94</b>	<b>36.51</b>

Indeterminado: Hasta el momento de finalizar los análisis de muestras no existían animales positivos y la fórmula no es posible de calcular.

En la Tabla 3 se observan la incidencia de la presentación de condición de infección de *M. bovis* un año post inoculación en el grupo placebo y en el vacunado. Se logra ver una disminución de la incidencia en la mayoría de los predios por la vacunación. Desde un 16.86% (incidencia grupo placebo) desciende a un 10.63% (incidencia grupo vacunado).

Tabla 3: Incidencia de la infección de *M. bovis* un año post inoculación con la cepa *M. bovis* BCG en terneras.

<b>Predio</b>	<b>Incidencia grupo placebo (%)</b>	<b>Incidencia grupo vacunado (%)</b>
<b>TA1</b>	13.52	4.31
<b>ME1</b>	17.83	11.89
<b>ME2</b>	10.00	5.88
<b>ME3</b>	32.14	11.11
<b>ME4</b>	0	7.14
<b>ME5</b>	26.66	33.90
<b>PH1</b>	9.09	15.00
<b>Total</b>	<b>16.86</b>	<b>10.63</b>

## DISCUSIÓN

En Chile los programas de control de la TB que han existido se basan en diagnóstico, eliminación y restricción de movimiento de los animales (Max *et al.*, 2011), pero éstas medidas no son suficientes para la disminución de la infección. Es fundamental complementar con nuevas estrategias, como la vacunación del ganado contra la TB (Vordermeier *et al.*, 2016). Por esto se evaluó la eficacia un año post inoculación de la cepa *M. bovis* BCG, en condiciones de campo, para lograr decidir como estrategia para el programa nacional en la zona de control es viable, en base a los resultados obtenidos en este estudio.

En este estudio la eficacia un año post inoculación en terneras fue de un 36.51%, un valor intermedio respecto de lo reportado anteriormente (Ameni *et al.*, 2017 y López-Valencia *et al.*, 2010). La eficacia de esta vacuna en humanos varía entre un 0% a un 80% (Nugent *et al.*, 2017). Respecto a la duración de la inmunidad, a los 12 meses aún persiste pero ésta desaparece a los 24 meses post vacunación, aunque realizando un desafío intratraqueal con *M. bovis*, que es más agresivo que la condición natural. Esto sugiere que la eficacia podría extenderse más que lo indicado (Thom *et al.*, 2012).

La baja eficacia en algunos planteles se puede deber a la exposición a *M. bovis* previo a la vacunación (consumo de calostro o leche de madre positiva a tuberculosis), exposición de micobacterias ambientales o helmintos ambientales (Buddle *et al.*, 2018).

Diversos estudios demuestran la reducción del número lesiones en tejidos y gravedad de granulomas, lo que conduciría a la reducción de la tasa de transmisión posterior de los animales vacunados a otros susceptibles (Ameni *et al.*, 2017).

Es importante considerar que la vacuna no previene el contagio, sino que reduce la gravedad de la enfermedad (Thom *et al.*, 2012). Esto se plasmó en estudios *post-mortem* relacionando las lesiones en animales vacunados versus la situación en un grupo placebo (Ameni *et al.*, 2017). También se observó que las secreciones nasales positivas a *M. bovis* mediante Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) solo se identificaron en animales no vacunados (5/44, 11.3%), lo que sugiere que la vacuna es capaz de prevenir que los

animales vacunados diseminan bacilos en sus secreciones nasales, disminuyendo el contagio por la vía de transmisión más importante de la tuberculosis (López-Valencia *et al.*, 2010).

La vacuna es una herramienta que ayudaría sustancialmente en un proyecto en la zona de control de Chile, hay una reducción de los animales infectados, de la gravedad y número de lesiones patológicas y disminuye la diseminación de la enfermedad; mejora la productividad de los animales y disminuye los decomisos por canales con lesiones.

## **CONCLUSIÓN**

La eficacia de la vacuna *M. bovis* BCG un año post inoculación aún persiste y la condición de vacunación y protección tiene valores estadísticamente significativos, hipótesis planteada en este estudio.

## **BIBLIOGRAFÍA**

**AMENI, G.; TAFESS, K.; ZEWDE, A.; EGUALE, T.; TILAHUN, M.; HAILU, T.; SIRAK, A.; SALGUERO, F.; BERG, S.; ASEFFA, A.; HEWINSON, R.; VORDERMEIER, H.** 2017. Vaccination of calves with Mycobacterium bovis Bacillus Calmette–Guerin reduces the frequency and severity of lesions of bovine tuberculosis under a natural transmission setting in Ethiopia. *Transbound Emerg Dis.* 65: 96-104

**BEZOS, J.; ÁLVAREZ, J.; ROMERO, B.; DE JUAN, L.; DOMÍNGUEZ, L.** 2014. Bovine tuberculosis: Historical perspective. *Res Vet Sci.* 97: 3-4

**BUDDLE, B.; VORDERMEIER, M.; CHAMBERS, M.; DE KLERK-LORIST, L.** 2018. Efficacy and Safety of BCG Vaccine for Control of Tuberculosis in Domestic Livestock and Wildlife. *Front. Vet. Sci.* 5:259.

**BUDDLE, B.; WEDLOCK, D.; DENIS, M.; VORDERMEIER, M.; HEWINSON, R.** 2011. Update on vaccination of cattle and wildlife populations against tuberculosis. *Vet Microbiol.* 88:14-22

**CARNEIRO, P.; KANEENE, J.** 2018 Bovine tuberculosis control and eradication in Brazil: Lessons to learn from the US and Australia. *Food Control.* 93:61-69.

**CHILE. MINISTERIO DE AGRICULTURA.** 2015. Modifica Resolución nº 2.762 Exenta, de 2011, que establece control obligatorio y medidas sanitarias para el control y erradicación de la tuberculosis bovina. 29 Abril 2015.

**CONLAN, A.; BROOKS, E.; MCKINLEY, T.; MITCHELL, A.; JONES, G.; VORDERMEIER, M.; WOOD, J.** 2015. Potential Benefits of Cattle Vaccination as a Supplementary Control for Bovine Tuberculosis. *PLoS Comput Biol.* 11:1-26

**EFSA. EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY.** 2013. Scientific Opinion on field trials for bovine tuberculosis vaccination. *EFSA Journal* 11: 3475-3509.

**FORBES, B.; HALL, G.; MILLER, M.; NOVAK, S.; ROWLINSON, M.; SALFINGER, M.; SOMOSKÖVI, A.; WARSHAUER, D.; WILSON, M.** 2018. Practice guidelines for clinical microbiology laboratories: mycobacteria. *Clin Microbiol Rev.* 31:1-66

**GIL, A.; SAMARTINO, L.** 2001. Zoonosis en los sistemas de producción animal de las áreas urbanas y periurbanas de América Latina. FAO. [en línea] <[http://www.fao.org/ag/againfo/resources/en/publications/sector\\_discuss/PP\\_Nr2\\_Final.pdf](http://www.fao.org/ag/againfo/resources/en/publications/sector_discuss/PP_Nr2_Final.pdf)> [consulta: 16-04-2018]

**HANEKOM, W.; HAWN, T.; GINSBERG, A.** 2018. Tuberculosis Vaccines. **In:** Plotkin, S. Orenstein, W. Offit, P. Edwards, K. 7° ed. Elsevier. 1095-1113

**KNIGHT-JONES, T.; EDMOND, K.; GUBBINS, S.; PATON, D. J.** 2014. Veterinary and human vaccine evaluation methods. *Proc. R. Soc. B.* 281

**LÓPEZ-VALENCIA, G.; RENTERIA-EVANGELISTA, T.; WILLIAMS, J.; LICEA-NAVARRO, A.; DE LA MORA-VALLE, A.; MEDINA-BASULTO, G.** 2010. Field evaluation of the protective efficacy of *Mycobacterium bovis* BCG vaccine against bovine tuberculosis. *Res Vet Sci.* 88: 44-49

**MAX, V.; PAREDES, L.; RIVERA, A.; TERNICIER, C.** 2011. National control and eradication program of bovine tuberculosis in Chile. *Vet Microbiol.* 151: 188-191

**NUGENT, G.; YOCKNEY, I.; CROSS, M.; BUDDLE, B.** 2018. Low-dose BCG vaccination protects free-ranging cattle against naturally-acquired bovine tuberculosis. *Vaccine.* 36:7338-7244

**NUGENT, G.; YOCKNEY, I.; WHITFORD, J.; ALDWELL, F.; BUDDLE, B.** 2017. Efficacy of oral BCG vaccination in protecting free-ranging cattle from natural infection by *Mycobacterium bovis*. *Vet Microbiol.* 208:181-189

**OIE.** 2018. Lista de países según la situación sanitaria de la enfermedad. [en línea] <[http://www.oie.int/wahis\\_2/public/wahid.php/Diseaseinformation/statuslist/index/newlang/es](http://www.oie.int/wahis_2/public/wahid.php/Diseaseinformation/statuslist/index/newlang/es)> [consulta: 17-04-2018]

**RAY, W.; PALMERA, M.; BUDDLE, B.; VORDERMEIER, M.** 2012. Bovine tuberculosis vaccine research: Historical perspectives and recent advances. *Vaccine*. 30: 2611-2622.

**RODRIGUEZ-CAMPOS, S.; SMITH, N.; BONIOTTI, M.; ARANAZ, A.** 2014. Overview and phylogeny of *Mycobacterium tuberculosis* complex organisms: Implications for diagnostics and legislation of bovine tuberculosis. *Res Vet Sci*. 20: 5-19.

**SAG.** 2011. Proyecto nacional de control y erradicación de tuberculosis bovina a partir de compartimentos de proveedores de la industria láctea. [en línea] <[http://www.sag.gob.cl/sites/default/files/proyecto\\_TB\\_compartimentos\\_ind\\_lactea\\_20-6-2011.pdf](http://www.sag.gob.cl/sites/default/files/proyecto_TB_compartimentos_ind_lactea_20-6-2011.pdf)> [consulta: 17-04-2018]

**THOM, M.; McAULAY, M.; VORDERMEIER, H.; CLIFFORD, D.; HEWINSON, R.; VILLARREAL-RAMOS, B.; HOPE, J.** 2012. Duration of immunity against *Mycobacterium bovis* following neonatal vaccination with bacillus Calmette-Guerin Danish: significant protection against infection at 12, but not 24. *Clin. Vaccine Immunol*. 19: 1254-1260.

**VAZQUEZ-CHACON, C.; MARTÍNEZ-GUARNEROS A.; COUVIN, D.; GONZÁLEZ-Y-MERCHAND, J.; RIVERA-GUTIERREZ, S.; ESCOBAR-GUTIERREZ, A.; DE-LA-CRUZ LÓPEZ, J.; GOMEZ-BUSTAMANTE, A.; GONZALEZ-MACAL, G.; GONÇALVES ROSSI, L.; MUÑIZ-SALAZAR, R.; RASTOGI, N.; VAUGHAN, G.** 2015. Human multidrug-resistant *Mycobacterium bovis* infection in Mexico. *Tuberculosis*. 95: 802-809.

**VORDERMEIER, M.; JONES, G.; BUDDLE, B.; HEWINSON, G.; VILLARREAL-RAMOS, B.** 2016. Bovine Tuberculosis in Cattle: Vaccines, DIVA Tests, and Host Biomarker Discovery. *Annu. Rev. Anim. Biosci*. 4: 87-109.