

“Vigilancia integrada de la brucelosis - Cochabamba, Bolivia ”

Jean-Jacques Letesson

Plan del estudio de caso

- Las etapas del proyecto de vigilancia de la brucelosis en el valle alto/bajo del Departamento de CBBA
- Brucelosis humana en el Departamento de CBBA
- Brucelosis animal en el Departamento de CBBA

COCHABAMBA



**Región: Amazonia
Valles
Altiplano**

2 millones de personas.
112.000 se dedican a actividades
agrícolas o ganaderas.

1 millón de ovinos,
0,32 millones de porcinos,
0,25 millones de caprinos,
0,12 millones de camélidos

0,45 millones de bovinos,
115.272 hembras lecheras, incluidas 76.000
de más de 2 años.

(INE: Cochabamba en cifras; septiembre de 2021).

Las etapas del proyecto de vigilancia de la brucelosis en el Departamento de CBBA

Un largo camino: paso a paso

Crear un grupo de trabajo

Escribir proyecto

Encontrar recursos



Recoger informaciones

Socializar proyecto

Empezar el trabajo



- Dispuestas a colaborar en la temática
- Multidisciplinaria (Médico, Veterinario, Inmunólogo, Microbiólogo, Epidemiólogo, Sociólogo..)
- *Acostumbradas a trabajar juntas* (Abordaje integral de la salud para reducir el impacto de COVID-19 en los mercados del municipio de Sacaba (Cochabamba, Bolivia) Royal Society of Medicine, UK)

Voluntarios

Un largo camino: paso a paso

Crear un grupo de trabajo

Escribir pre-proyecto

Encontrar recursos



- “sueños” o lo que nos gustaría hacer
 - Promover técnicas **sencillas, fiables, sostenibles**
 - Ajuste local de técnicas serológicas
 - Prevalencia en humanos del Departamento
 - Prevalencia en animales de granja y silvestres del Departamento
 - Ayuda en la escritura de las normativas de un programa de control de la brucelosis humana
 -
 - Aislamiento / tipificación.....
 - Laboratorio de referencia

Un largo camino: paso a paso

Crear un grupo de trabajo

Escribir proyecto(s)

Encontrar recursos



Recoger informaciones

Socializar pre-proyecto

Empezar el trabajo



Un largo camino: paso a paso

Crear un grupo de trabajo

Escribir proyecto

Encontrar recursos



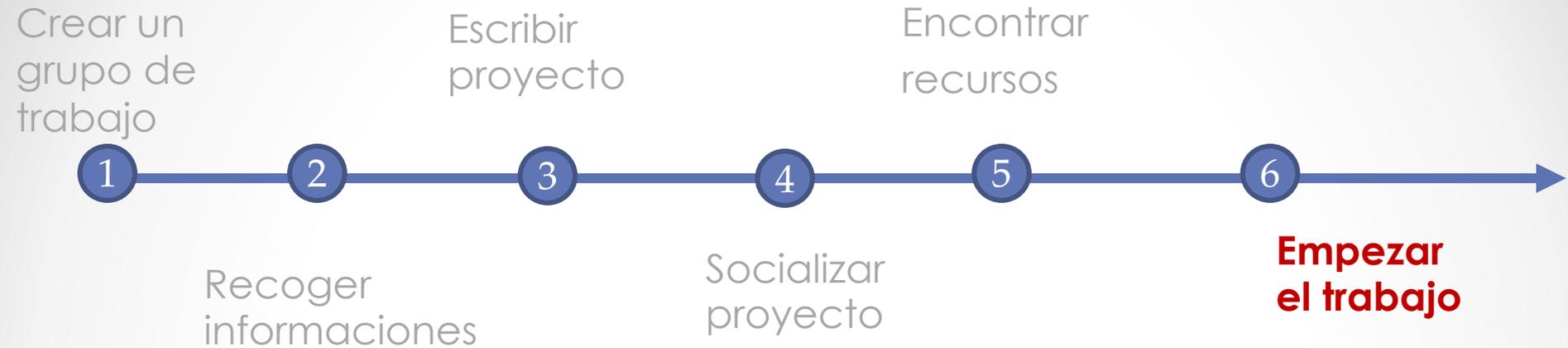
Reactivos recibidos de donación

Ag RBT, LPS purificado, ABTS, sueros controles, placas ELISA, 5kits ELISA IgG(Vircell) , 5 kits ELISA IgM (Vircell), 5 kits Brucella capt (Vircell)

Insumos plásticos y reactivos: fundación Patiño

Contactos con la OPS (Bolivia) la cooperación española (Bolivia)

Un largo camino: paso a paso



1- Brucelosis humana

2- Brucelosis en animales

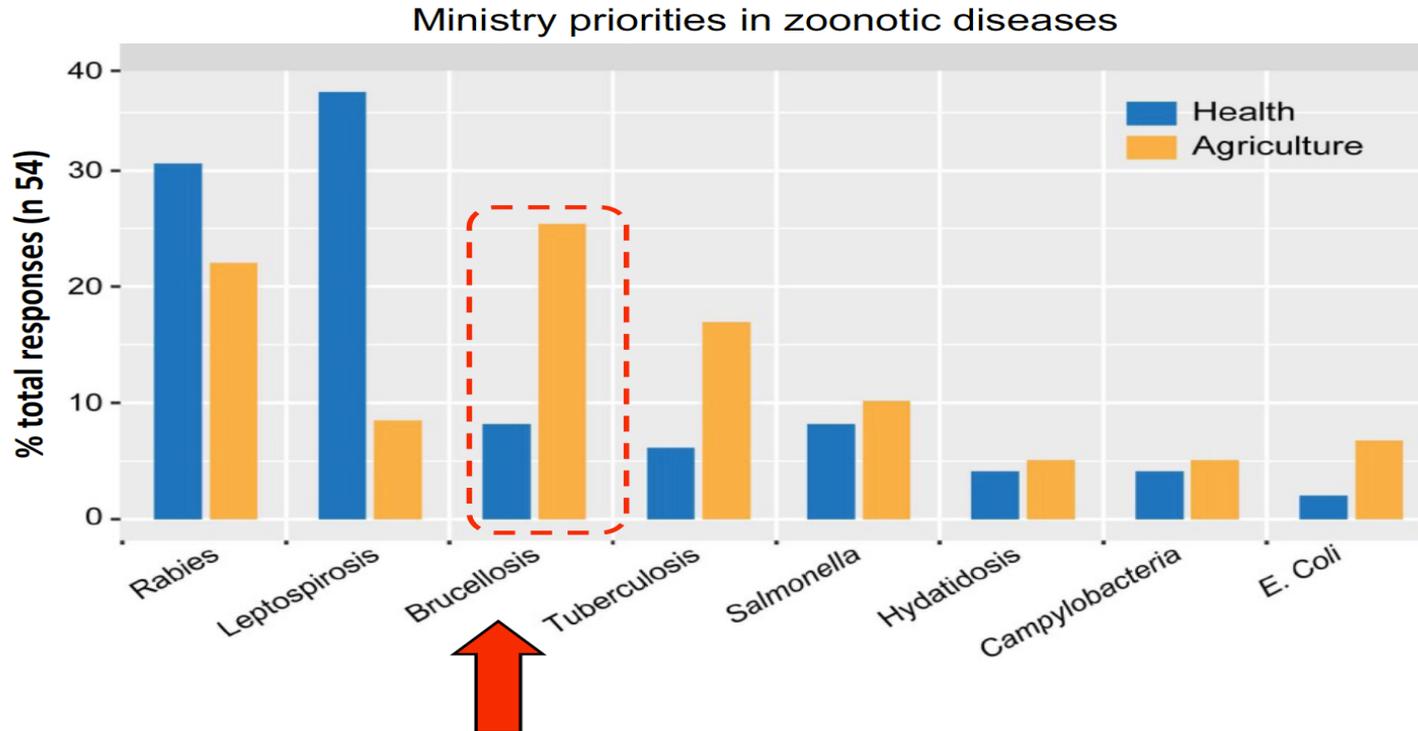
Brucellosis humana

EN BOLIVIA NO EXISTE PROGRAMA NACIONAL NI NORMATIVA DE DIAGNOSTICO O TRATAMIENTO

- invisibilización de esta zoonosis por los establecimientos de salud.
- no se realiza la vigilancia epidemiológica
- ausencia de VERDADEROS laboratorios de referencia nacional y departamental.
- Los pacientes no pueden beneficiarse de tratamientos específicos estandarizados a nivel internacional

Brucellosis humana

PANAFTOSA survey in Iberian America (n 18) and Caribbean (n 15) countries



Adapted from Maxwell et al, 2017. PLoS One 12, e0174175. doi:10.1371/journal.pone.0174175.s001

No parece prioritario por los Ministerios de salud

America del sur / Bolivia

Laine CG, Scott HM, Arenas-Gamboa AM (2022) Human brucellosis: Widespread information deficiency hinders an understanding of global disease frequency. PLoS Negl Trop Dis 16(5): e0010404.

CASOS HUMANOS REPORTADOS DATOS OIE/WAHIS

	2 0 1 4	2 0 1 5	2 0 1 6	2 0 1 7	2 0 1 8	2 0 1 9
Argentina	157	184	210	89	118	235
Bolivia (Plurinational State of)	No Report	No Count	1	1	1	No Report
Brazil	No Count	149	184	215	232	237
Chile	2	3	1	8	3	No Report
Colombia	No Report	25	0	0	0	0
Ecuador	11	13	6	20	28	45
Guyana	No Report	0	0	No Report	0	No Report
Paraguay	No Report	No Report	No Count	22	8	11
Peru	No Count	133	534	447	110	No Report
Uruguay	3	3	0	3	7	4
Venezuela (Bolivarian Republic of)	4	10	No Report	7	6	No Report

Durante la gestión 2012 - 83 casos positivos, gestión 2015 - 150 casos positivos 2019 haciendo un total de 291 paciente humanos afectados y confirmados mediante laboratorio con diagnósticos positivos a brucelosis según reportes del Centro de Salud de Cotagaita, C.I.S. Cotagaita, C.N.S, estos datos son mayores, porque en algunos casos son diagnosticados incorrectamente o no son reportados.

SEROPREVALENCIA DE BRUCELOSIS EN LA POBLACIÓN HUMANA A RIESGO DE LA ZONA LECHERA DE LA PROVINCIA CERCADO DE COCHABAMBA

Aprobación por el comité “científico”

Aprobación por el comité de ética

Se recogieron y analizaron unas 450 muestras de sangre que se dividen en dos grupos: casos clínicamente sospechosos (9+ 38), población de riesgo (405)

ENCUESTA SOCIO-epidemiológica (en población a riesgo)

Grupo 1: 9 personas con sospecha clínica de brucelosis (febrero- marzo 2022)

Cod. Lab	ELISA	RBT	RBT 8 dil	BrucellaCapt VIRCELL	
	Lab. Privado	4 minutos	8 minutos	> 1/320 Pos	>1/160 Pos
BRU-1	POSITIVO	POSITIVO	POS 1/32	>1/5120	>1/5120
BRU-2	POSITIVO	Negativo	Negativo	1/40	Negativo
BRU-3	POSITIVO	Negativo	Negativo	1/40	Negativo
BRU-4	POSITIVO	POSITIVO	POS 1/4	1/320	1/320
BRU-5	dudoso	Negativo	Negativo	1/40	Negativo
BRU-6	POSITIVO	Negativo	Negativo	1/40	Negativo
BRU-7	Sin datos	Negativo	Negativo	1/40	Negativo
BRU-8	Sin datos	Negativo	Negativo	1/40	Negativo
BRU-9	POSITIVO	Negativo	Negativo	1/40	Negativo
positivo	7	2	2	1	2
%	78	22	22	11	22

iELISA comercial (varias marcas) :

¿Se puede confiar en el punto de corte utilizado?

Buena correlación entre RBT y Brucelacapt (>1/160)●14

Grupo 1: 47 personas con sospecha clínica de brucelosis (febrero- diciembre 2022)

N° Labo	Resultado RBT 4min	Resultado RBT 8min	Dilucion	Resultado BRUCELLA CAPT	Dil. BRUCELLA CAPT (>1/160)
BRU-1	POSITIVO	POSITIVO	1/32	POSITIVO	1/5120
BRU-4	POSITIVO	POSITIVO	1/4	POSITIVO	1/320
BRU-19	POSITIVO	POSITIVO	1/128	POSITIVO	1/2560
BRU-16	POSITIVO	POSITIVO	1/2	NEGATIVO	1/40
BRU-26	POSITIVO	POSITIVO	1/2	NEGATIVO	1/80
BRU-17	POSITIVO	POSITIVO	1/32	POSITIVO	1/640
BRU-18	POSITIVO	POSITIVO	1/32	POSITIVO	1/2560
BRU-28	POSITIVO	POSITIVO	1/4	POSITIVO	1/320
BRU-20	POSITIVO	POSITIVO	1/64	POSITIVO	> 1/5120

15% de POSITIVOS

Grupo 2: 76 veterinarios

			RBT POS	IgM POS	IgG POS	BRUCAPT POS
"Veterinarios"	n°	76	12	5	27	12
	%		16%	7%	36%	16%
VT UMSS	n°	28	RBT POS	IgM POS	IgG POS	BRUCAPT POS
			1	ND	ND	ND
	%		4%			
Asociacion lechera	n°	48	RBT POS	IgM POS	IgG POS	BRUCAPT POS
			11	5	27	12
	%		23%	10%	56%	25%

En el momento de la toma de muestra, ninguno de los participantes reportó síntomas que pudieran sugerir brucelosis.

Cinco de los participantes mencionaron haber tenido brucelosis hace entre 2 y 10 años

COMENTARIOS SOBRE LOS RESULTADOS DE ELISA

- **LOS PARÁMETROS DE ESPECIFICIDAD Y SENSIBILIDAD NO SON INVARIANTES** sino que dependerán de factores técnicos y factores biológicos
- **Factores técnicos**, competencia del laboratorio, calidad de la muestra, qué "estándar de oro" se elige
- **Factores biológicos**: reacciones cruzadas, factor reumatoide, tipo de población, si la enfermedad es endémica o no, fase de la enfermedad, estado inmunitario de la población

La consecuencia de que la especificidad y sensibilidad de la prueba dependa de la población hace que **NO SE PUEDA APLICAR UN "PUNTO DE CORTE" PREDEFINIDO QUE NO SE HAYA ESTABLECIDO EN LAS CONDICIONES LOCALES.**

Grupo 2: 330 personas en riesgo (agricultores, lecheros, ganaderos)

		RBT POS			N° seguimiento (6 semanas despues)		RBT POS
N°	330	42			11		9
%		13			26		81,8
	1/16	2			1		
	1/8	4			2		1
	1/4	11			5		
	1/2	25			3		8

	Molestia el dia de la muestra	síntomas compatibles con brucelosis en los últimos meses				
		dolor articular	sudoracion	fiebre	fatiga	
RBT. POS	0/42	7/42 (16%)	3/42 (7%)	3/42 (7%)	3/42 (7%)	
RBT. NEG	4/288	55/288 (20%)	13/288 (4%)	13/288 (4%)	30/288 (10%)	

Estudio piloto en la cuenca lechera de CBBA

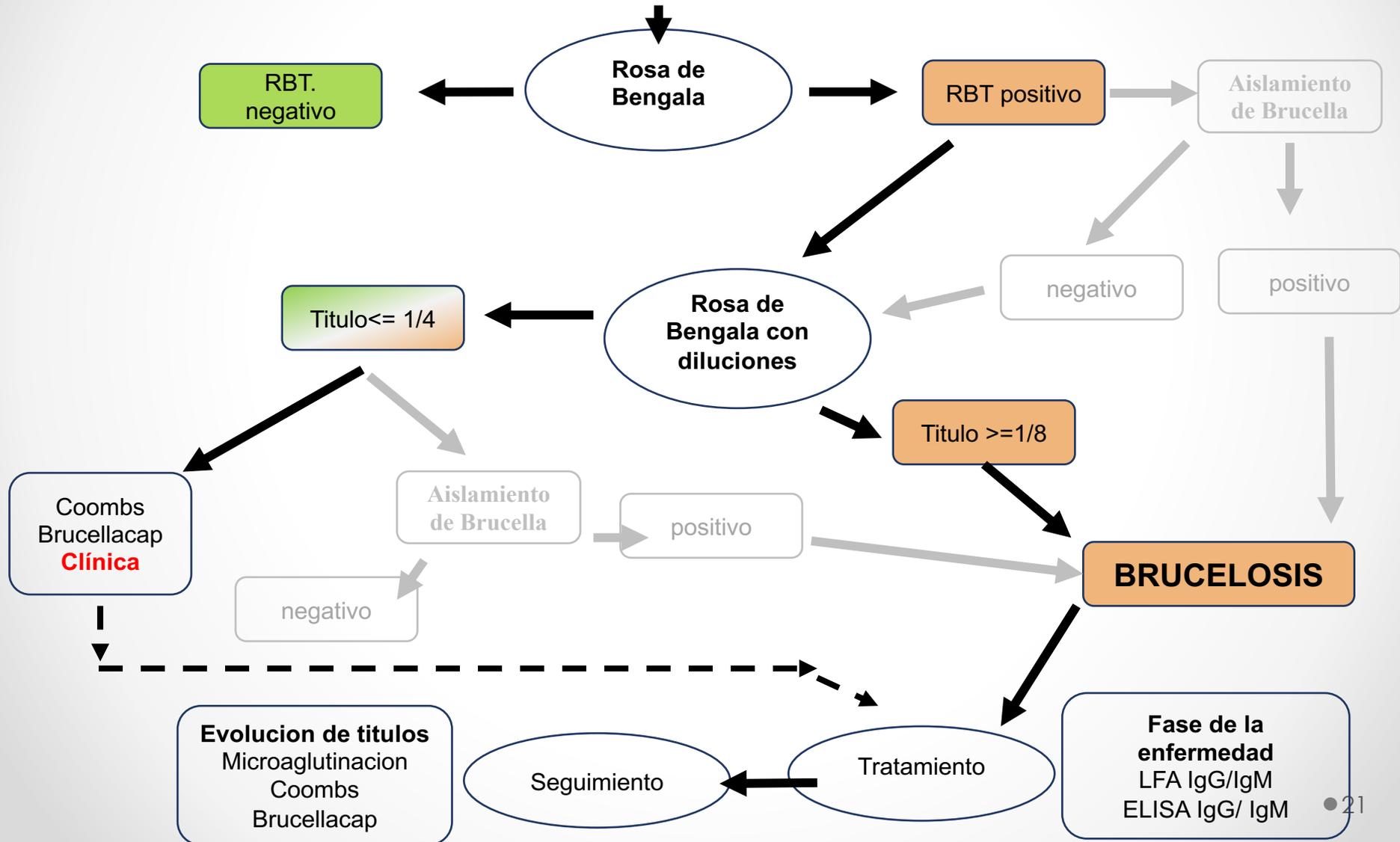
resultados socio-epidemiológicos

característica investigada	% respuestas positivas (CBBA)	% respuestas positivas (resultados combinados 22 países)*
naturaleza zoonótica	39,3	37,6
modo de transmisión	25,9	35,9
signos de enfermedad	12,6	41,6
existencia de una vacuna animal	73,3	26,1

UNA FALTA CRUCIAL DE INFORMACIÓN Y CONCIENCIA.

Propuesta del grupo de trabajo para la futura normativa

CASOS CLÍNICAMENTE SOSPECHOSOS Y EPIDEMIOLOGIA COMPATIBLE



“take home” mensajes

- Las pruebas modernas y sofisticadas no son mejores que las pruebas clásicas en términos de especificidad o sensibilidad.
- **EL ROSA DE BENGALA ES LA PRUEBA DE ELECCIÓN**
- **NO SE NECESITA PRUEBAS CONFIRMATORIAS** (pero si complementarias)
- **“CUT-OFF”** de las pruebas cuantitativas debe **AJUSTARSE LOCALMENTE**
- Debemos prohibir las pruebas de
 - Huddleson
 - antígeno febril
 - antígeno azul
- **Un programa de control de la brucelosis humana es urgente**

Diagnostico serologico en humano

La obsesión infundada por las pruebas confirmatorias en medicina humana

DEFINICIONES DE CASOS

•Caso sospechoso

Caso compatible con la descripción clínica y que epidemiológicamente puede estar vinculado principalmente al consumo de productos lácteos no pasteurizados de origen animal (queso, leche) o a casos en animales.

•Caso probable

Caso sospechoso con resultado positivo a la Prueba Rosa de Bengala.

•Caso confirmado

Caso probable positivo a: pruebas serológicas (Prueba de Aglutinación en Tubo y 2 Mercapto-etanol, ELISA), o aislamiento del agente o su demostración por pruebas moleculares (Prueba de Reacción de la Cadena de Polimerasa PCR).

El siguiente es el esquema de las definiciones de caso

CASO	CUADRO CLÍNICO	ANTECEDENTES EPIDEMIOLÓGICOS	PRUEBA ROSA DE BENGALA	PRUEBA CONFIRMATORIA
Sospechoso	X	X		
Probable	X	X	X	
Confirmado	X	X	X	X

Cuando la "llamada" prueba de confirmación no confirmada, entonces, ¿qué hacemos?

Ejemplo N°1

Table 1. Results of SAT and RBT in patients (n = 208) with brucellosis proved by bacteriological culture.¹

SAT		N° of positive sera using the standard RBT protocol (%)	N° of RBT positive (%) at titers: ²	
Titer	N° of sera		≤4	≥8
≤1:20	6	6 (100)	2 (0,96)	4 (1,92)
≥1:40	202	202 (100)	26 (12,5)	176 (85,5)
≥1:80	201	201 (100)	25 (12,0)	176 (85,0)
≥1:60	185	185 (100)	13 (6,20)	172 (83,0)

¿De qué sirve confirmar con pruebas que a menudo son menos sensibles?

SAT tiene una sensibilidad de 89%
RBT tiene una sensibilidad de 100%

Ejemplo N°2

Patient N°	RBT	SAT		pH 5 ⁶	Brucellacapt	Coombs-IgG	LFiC ²		CIEP-proteins ³
		pH 7 ⁴	pH 7, IgA-absorbed ⁵				IgM	IgG	
1.	4	<20	40	160	640	1280	0	2	4 (3)
2.	16	<20	160	640	5120	10240	0	3	64 (4)
3.	16	<20	40	640	5120	20480	0	4	32 (5)
4.	2	<20	20	160	640	2560	0	3	16 (3)
5.	32	<20	ND ⁷	1280	10240	40960	0	4	64 (8)
6.	8	<20	320	ND ⁷	ND ⁷	20480	0	ND ⁷	8 (3)

Díaz R, Casanova A, Ariza J, Moriyón I. The Rose Bengal Test in human brucellosis: a neglected test for the diagnosis of a neglected disease. PLoS Negl Trop Dis. 2011 Apr 19;5(4):e950.

Prueba confirmatoria **NO**

Prueba complementaria **SI**

**EVOLUCION DE
TITULOS**

Microaglutinacion

Coombs

Brucellacap

**FASE DE LA
ENFERMEDAD**

LFA IgG/IgM

ELISA IgG/ IgM

EN UN PAÍS COMO BOLIVIA CON POCO RECURSOS HUMANOS O FINANCIEROS EL MOTIVO PRINCIPAL DEBE SER ADAPTAR Y NO ADOPTAR

SISTEMA DE SALUD DEBERIA ELIGIR Y PROMOVER LAS PRUEBAS QUE SON FIABLES, SENCILLAS, SOSTENIBLES Y QUE SE PUEDEN UTILISAR EN CUALQUIER CENTRO DE SALUD

PRUEBA	PH	PROZONA	PROBLEMA DE BLOQUEO DE ANTICUERPOS	PUNTO DE CORTE	TIEMPO	COSTO	FACILIDAD	DISPOSITIVO
RBT	3.65	NO	NO	NO	4-8 MIN.	BAJO	FÁCIL	NO
SAT	7	SÍ	SÍ	SÍ	1 NOCHE	BAJO	FÁCIL	NO
SAT-ME	7	SI	SI	SI	1 NOCHE	BAJO	INTERMEDIO	NO
CFT	7	SI	NO	SI	HORAS	ELEVADO	DIFICIL	NO
ELISA	7	NO	NO	SI	HORAS	ELEVADO	INTERMEDIO	SI
BRUCELACAPT	3,65	NO	NO	SI	NOCHE	ELEVADO	FACIL	NO
LFA	7	NO	NO	NO	15 MIN.	ELEVADO	FACIL	NO

Paso a paso

Crear un grupo de trabajo

Escribir proyecto

Encontrar recursos

Empezar el trabajo



ASPECTO ANIMAL

DIAGNÓSTICO DE BRUCELOSIS EN ANIMALES EN LA VALLE ALTO DE COCHABAMBA

Hasta ahora solo bovinos

Se planifica mostrear Ovinos, caprinos, cerdos, camelidos y perros

Brucelosis en animales

- Hay un programa de control en bovinos
- No hay un “programa de control” en cabras, ovejas

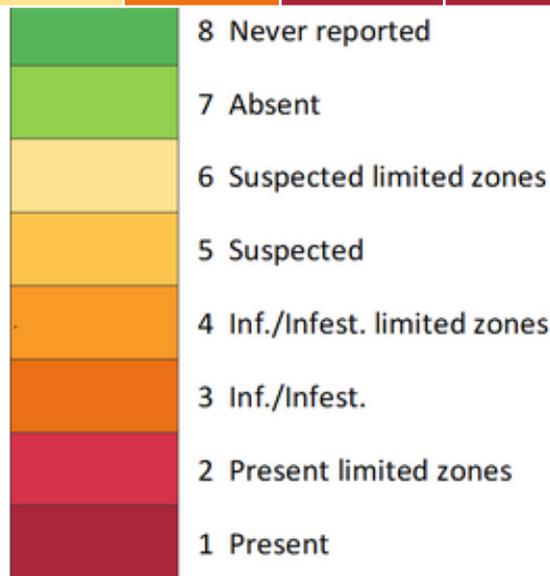
La R.A. N° 089/2014 del 21 de Julio del 2014 establece el PROGRAMA NACIONAL DE CONTROL Y ERRADICACION DE BRUCELOSIS-TUBERCULOSIS BOVINA Y BUBALINA.

La ejecución del componente de **vacunación** en el programa de Prevención y Control de la Brucelosis Bovina, **se realizará de forma « obligatoria en todas las hembras de 3 a 8 meses de edad ».**

« Los animales positivos son marcados y deben ser eliminados »

Informe de Bolivia a la OIE

<i>Brucella</i>	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019	2020	2021
<i>abortus</i>	1	3	3	3	3	3	3	4	3	3
<i>melitensis</i>	5	5	5	7	6	7	7	7	7	7
<i>suis</i>	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7
<i>ovis</i>	5	5	5	6	3	1	1	7	7	7



<https://wahis.woah.org/#/dashboards/country-or-disease-dashboard>

REPORTE DE BOLIVIA A LA OIE

brucelosis bovina (10 ANOS)

YEAR	New outbreaks	Cases	Susceptible	%	Deaths	Killed and disposed of	Slaughtered / killed for commercial use	Vaccinated in response to the outbreak(s)
2020	266	315	38385	0,8	0	0	169	0
2019	206	903	14131	6,4	0	0	153	0
2018	517	3388	58355	5,8	0	0	0	0
2017	392	2384	34627	6,9	0	0	0	0
2016	463	3034	53198	5,7	0	0	0	0
2015	413	3945	35007	11,3	0	0	0	0
2014	333	1454	0		0	0	47	0
2013	485	2297	56156	4,1	430	67	137	4923
2012	84	651	98750	0,7	0	0	238	50103
2011	118	1541	19695	7,8	0	0	382	12438
2010	4	74	1325	5,6	0	0	72	524
TOTAL	3281	19986	409629	55,0327	430	67	1198	67988
				6,1				

<https://www.senasag.gob.bo/index.php/reportes-epidemiologicos-semanales/category/5437-2022>

2022	SANTA CRUZ	CBBA	BENI	PANDO	LA PAZ	ORURO	TARIJA	POTOSI	TOTAL
	2032	62	94	12	73	23	9	6	2311

SEROPREVALENCIA DE LA BRUCELOSIS EN BOVINOS LECHEROS DE COCHABAMBA

Aprobación por el comité “científico”

Aprobación por el comité de ética

Las zonas seleccionadas para el muestreo fueron Carrasco, Cercado, Mizque, Punata y Quillacollo, **zonas que representan el 68% de las vacas lecheras y el 85% de la producción diaria de leche del departamento.**

Se muestrearon **33 unidades de producción**. En estas unidades de producción el muestreo de sangre fue de casi el 100% de sus vacas en lactancia, excepto en una finca considerada grande, en la que se tomó una muestra representativa y aleatoria. Finalmente se procesaron **523 muestras de suero** de estas granjas

ENCUESTA FACTORES DE RIESGO

Estudio piloto en Bovinos de mas de 2 años (RBT)

Provincias	N° Unidades UP*	N° Granjas positivas	% de granjas positivas	Total de animales	Total animales positivos	% de animales positivos
Carrasco	2	1	50,0	69	1	1,4
Cercado	12	7	58,3	332	17	5,1
Mizque	16	2	12,5	91	2	2,2
Punata	1	0	0,0	14	0	0,0
Quillacollo	2	2	100,0	17	2	11,8
Total	33	12	36,4	523	22	4,2

Tamaño	Granja No. (%)	Numero de granja positive	% de granja positive	Promedio de animales por granja	Gama de animales /granja	Gama de animales positivos /granja
Pequeña	22 (66,6)	4	18.2	7	1-13	0-1
Mediana	3 (9)	1	33.3	14	-	0-1
Grande	8 (24,2)	7	87.5	47	30-102	1-8
Total	33	12	36.4			

89% no utilizan sala de parto.

79% no desinfectan las instalaciones

76% dan los desechos del parto a los perros

54% han presenciado al menos un aborto

26% han presenciado más de 2 abortos

38% participan en programas de educación

73% trabajan con veterinarios acreditados

54% No vacunan terneros (80% de cobertura animal)

88% no controlan por serologia los adultos

87%. No controlan por serologia las entradas de nuevos animales

A la pregunta “¿Considera su rebaño libre de brucelosis?”, 92,8% se consideran libres

La situación es caótica

- **Falta de recursos humanos y financieros.**
- Sin monitoreo activo
- Sin identificación o control de movimiento efectivo
- Vacunación asistemática
- **Sin verdadero laboratorio de referencia**
- Sin control de calidad de vacunas y antígenos
- Pruebas serológicas mal adaptadas a la situación local
- No eliminación de animales positivos
- Falta de información de los criadores.
- Falta de coordinación entre la salud humana y la sanidad animal

OIE PVS (Performance of Veterinary Services) Pathway

Table 2. PVS average scores for three areas of Veterinary Services activities relevant in One Health ¹

COUNTRY	RECURSOS HUMANOS, FÍSICOS Y FINANCIEROS	AUTORIDAD TÉCNICA Y CAPACIDAD	IIINTERACCIÓN CON INTERESADOS
CANADA	4.9	4.3	5
JAPAN	4.8	4.7	4.3
CHILE	4.4	3.9	3.0
URUGUAY	4.4	3.9	3.0
BRASIL	4.0	3.2	4.5
PARAGUAY	3.3	2.4	3.3
INDIA	3.2	2.7	3.0
PANAMA	2.8	3.1	2.8
REP. DOMINICANA	2.3	2.5	2.5
BOLIVIA	1.8	2.6	2.5

¹ From 5, fully developed, to 1, not developed

Food for thought....

¿Por qué parece que la mayoría de las administraciones y burócratas no pueden solucionar estos zoonosis problemas

La administración y la burocracia son para gente que tiene tiempo y no para gente con talento

¿Por qué la gente con talento están tan ocupada?

Están tratando de arreglar los problemas hechos por personas que tienen tiempo.



Adaptado de © Scott Adams, Inc./Dist. by UFS, Inc.

Via. I. Moriyon

Conclusions

Necesitamos un verdadero laboratorio de referencia (por lo menos al nivel departamental) que

- hace aislamiento/ tipificación
- valida y controla las pruebas, los antígenos y las vacunas

*“Particularmente en regiones endémicas, **el aislamiento y cultivo debe ser una prioridad para asegurar un diagnóstico clínico**, porque la interpretación de los títulos de anticuerpos puede confundirse por la presencia de títulos elevados en la población.”* Expert Rev. Anti Infect. Ther. 9(7), (2011)

*“El problema es la creencia falsa de que pruebas sofisticadas, descritas por aquellos que trabajan en países donde la brucelosis ya no es relevante son mejores. Como resultado, se descuidan pruebas simples relativamente baratas asignando así recursos a pruebas costosas y sofisticadas. **En cambio, sería más sensato invertir en laboratorios locales de referencia para armonizar, validar y controlar las pruebas**, que actualmente son inexistente en la mayoría de los países de bajos ingresos”. (Microorganisms 2022, 10, 942)*

Necesitamos recursos

Gracias a los que participaron a este estudio y a los talleres de sensibilización



“El mayor enemigo del conocimiento no es la ignorancia sino la ilusión del conocimiento”
(Kcrucoff).

“La ayuda mutua es un factor de evolucion”
P. Kropotkine

Personas involucradas

Patricia Rodriguez
Tamia Vargas
Rocio Quinto
Rose Mary Yanez
Ernesto Rojas
Daniel Eid
Rosario Castro
Jean-jacques Letesson

Donaciones y/o consejos



« Aquellos que se olvidan las lecciones del pasado están condenados a repetirlos »

George Santayana

Muchas gracias para su
atención