

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE RÍO CUARTO
FACULTAD DE AGRONOMÍA Y VETERINARIA**

Trabajo Final presentado para optar al
Grado de Médica Veterinaria
Modalidad: Práctica pre profesional

**Estudio de la prevalencia de Brucelosis bovina en
tambos de pequeños productores de la cuenca de La
Punilla y Villa del Carmen, San Luis, Argentina.**

Alumna: Gianina Antonella Balercia

DNI: 35.597.003

Directora: M.V PhD Analía Florencia Macías

RÍO CUARTO-CORDOBA

Noviembre 2018

UNIVERSIDAD NACIONAL DE RÍO CUARTO
FACULTAD DE AGRONOMÍA Y VETERINARIA

CERTIFICADO DE APROBACIÓN

**Titulo del Trabajo Final: “Estudio de la prevalencia de
Brucelosis bovina en tambos de pequeños productores
de la cuenca de La Punilla y Villa del Carmen, San Luis,
Argentina”.**

Autor: Gianina Antonella Balercia

DNI: 35.597.003

Directora: M.V PhD. Analía Florencia Macías

Aprobado y corregido de acuerdo a las sugerencias de la
Comisión Evaluadora integrada por:

Magnano Gabriel Gustavo _____

Macio Mauro Nahuel _____

Fecha de presentación: 28 de noviembre de 2018

Secretario Académico

Dedicatoria

Dedico este trabajo final de grado a mi mamá, que sin dudas estaría muy orgullosa y que aunque no esté físicamente para verlo, la tengo siempre presente.

Agradecimientos

Agradezco a mi familia que desde lejos me apoyaron incondicionalmente y por hacer un gran esfuerzo para darme esta oportunidad, sin ellos no hubiera llegado hasta acá.

A mi directora de tesis y también docente de la Universidad Nacional de Río Cuarto, MV Analía Macías, que sin su intervención no hubiera sido posible este trabajo y más que nada por el compromiso, dedicación y paciencia admirables, ha sido un placer para mi compartir esta etapa de la carrera con ella. Inmensamente agradecida por todo.

A mis evaluadores, docentes de la Universidad Nacional de Río Cuarto, MV Gabriel Magnano y MV Mauro Mació por su profesionalismo desde la docencia y por su compromiso y tiempo para con mi trabajo.

Al MV Julián Fernández, también docente de la Universidad Nacional de Río Cuarto, gracias a él pude llevar a cabo todo lo realizado en este trabajo.

A los productores dueños de los tambos en los cuales se me permitió hacer la práctica, por su hospitalidad y buena predisposición.

A la Universidad Nacional de Río Cuarto, matriz para que todo esto sea posible, porque gracias a la educación pública pude “creer, crear y crecer” formándome como Médica Veterinaria y dándole la misma oportunidad a muchos más. Eternamente agradecida a mi universidad.

Índice

Introducción	1
Objetivos generales y específicos	9
Materiales y Métodos	10
Resultados	15
Discusión	19
Conclusión	20
Bibliografía	21
CUADROS	
CUADRO 1: “Hembras mayores de 18 meses de edad vacunadas con vacuna Brucella abortus Cepa 19 entre los 3 y 8 meses de edad”	16
CUADRO 2: “Animales no vacunados mayores de 6 meses de edad”	16
CUADRO 3: “Establecimientos muestreados, cantidad de animales, categoría y resultados de la prueba de BPA en Villa del Carmen”	17
CUADRO 4: “Establecimientos muestreados, cantidad de animales, categoría y resultados de la prueba de BPA en Punilla”	17
FOTOS	
FOTO 1 y 2	10
FOTO 3, 4 y 5	11
FOTO 6 y 7	12
FOTO 8 y 9	13
FOTO 10	14
FOTO 11 y 12	15

RESUMEN

La brucelosis bovina es una zoonosis causada principalmente por *Brucella abortus* y usualmente detectada en hembras que abortan. La enfermedad es endémica en la República Argentina, donde la vacunación con *Brucella abortus* cepa 19 es obligatoria en todas las hembras bovinas de 3 a 8 meses.

El objetivo del presente trabajo fue estimar la prevalencia de la brucelosis bovina en vacas de tambo adultas pertenecientes a seis pequeños productores en las zonas de Villa del Carmen y La Punilla, provincia de San Luis, Argentina.

Se realizó el sangrado de la totalidad de las hembras mayores de 18 meses y machos mayores de 6 meses y las muestras fueron procesadas en el laboratorio de la UNRC mediante las técnicas de BPA y sus complementarias SAT y 2ME. Por último se realizó la evaluación y análisis de los datos, resultando todos los animales muestreados negativos para Brucelosis.

SUMMARY

Bovine Brucellosis is a zoonotic disease mainly caused by *Brucella abortus* and usually detected in females who have abortions. The disease is endemic in the Republic of Argentina, where vaccination with *Brucella abortus* strain 19 is compulsory in all the bovine females of 3 to 8 months.

The objective of the present study was to estimate the prevalence of bovine brucellosis in dairy cows belonging to six small producers in the areas of Villa del Carmen and the Punilla, province of San Luis, Argentina.

Bleeding of the animals was performed and the samples were processed in the UNRC laboratory using the BPA techniques and their complementary SAT and 2ME. Finally, the evaluation and analysis of the data was carried out, resulting in all the animals sampled negative for Brucellosis.

INTRODUCCIÓN

La brucelosis es una enfermedad infecciosa altamente contagiosa de curso crónico que afecta tanto al hombre como a los animales domésticos, fauna silvestre y mamíferos marinos. Es de importancia para la salud pública debido a los costos generados por la incapacidad física que produce en el enfermo y a las pérdidas económicas ocasionadas por la afectación del ganado (Giménez, 2016).

La Brucelosis es una zoonosis de distribución mundial, su presentación en los humanos está relacionada con la enfermedad en los animales domésticos. Se la asocia más frecuentemente al sexo masculino y a la población rural, también a diferentes grupos de riesgo como veterinarios, laboratoristas y trabajadores de frigoríficos. Presenta dos patrones epidemiológicos:

- Patrón urbano-alimentario, por consumo de leche y quesos no pasteurizados.
- Patrón rural-laboral, por exposición profesional al ganado infectado o sus productos (Giménez, 2016).

La Brucelosis es causada por una bacteria gram negativa perteneciente al género *Brucella*. Existen 6 especies de *Brucella*: *Brucella abortus* (*B. abortus*), *B. suis*, *B. melitensis*, *B. canis*, *B. ovis* y *B. neotomae*. De estas, las 4 primeras infectan al hombre. Excepto *B. ovis* y *B. canis*, el resto son cepas lisas, característica de importancia fundamental para el diagnóstico ya que los antígenos utilizados en bovinos se elaboran a partir de cepas lisas. En el país, se han aislado *Brucella abortus*, *Brucella melitensis*, *Brucella suis*, *Brucella ovis* y *Brucella canis*. No han sido aisladas *Brucella neotomae* y *Brucella maris* (Bérgamo y col, 2013b).

El principal reservorio lo constituyen especies domésticas de ganado vacuno, porcino, caprino y ovino. *B. abortus* primariamente afecta al ganado bovino pero puede transmitirse a los porcinos, caninos y caprinos. Lo mismo sucede con las otras especies de *Brucellas* que pueden afectar a otros huéspedes diferentes del específico (Bérgamo y col, 2013b). Los animales infectados pueden eliminar *Brucella spp.* durante toda la vida y son reservorio y principal fuente de contagio para el ser humano (Giménez, 2016).

Estos microorganismos son cocobacilares, no presentan cápsula y carecen de flagelos. Son aerobios y parásitos intracelulares facultativos, propiedad que las mantiene protegidas de la acción de los antibióticos y de los mecanismos dependientes de anticuerpo. Esta capacidad de supervivencia intracelular determina el curso ondulante de la enfermedad, su tendencia a presentar recaídas y evolucionar a formas crónicas (Giménez, 2016).

Sintéticamente se puede señalar que *B. abortus* desde afuera hacia adentro tiene:

- Pared celular
- Capa de peptidoglicano

- Membrana citoplasmática
- Citosol
- Lipopolisacárido, el cual está presente en cepas lisas y rugosas y es el complejo inmunodominante. Este posee una Cadena O, un Core y Lípido A.

Es en la cadena O donde se diferencian los antígenos de las cepas de campo y la cepa vacunal C19 (Bérgamo y col., 2013b).

Para el caso de *B. abortus*, cuyo huésped principal es el ganado vacuno, cobra importancia la presencia de diferentes biotipos (1, 2, 4 y 6). El predominante en Argentina es el biotipo 1, aislado en más del 95% de los casos, pero el biotipo 2, menos frecuente, es más virulento, y la vacuna con Cepa 19 provee escasa cobertura sobre este biotipo (Bérgamo y col, 2013b). *Brucella spp.* tiene afinidad por los tejidos de los órganos reproductivos, en consecuencia, los mamíferos sexualmente maduros o en estado de preñez son más susceptibles a la infección. Los bovinos infectados eliminan las bacterias después de un aborto o de un parto, así como también por la leche, secreciones vaginales, semen, sangre, orina y heces, contaminando pastos, agua y el medio ambiente. De esta forma se completa el ciclo infeccioso, asegurando la infección de otros animales y la persistencia de *Brucella* en la naturaleza (Giménez, 2016).

En el ambiente, puede sobrevivir y mantener la capacidad infectante durante periodos variables de acuerdo con las condiciones del medio en el que sean eliminadas (Giménez, 2016).

Normalmente, en bovinos, la enfermedad es asintomática en hembras no gestantes.

Después de la infección por *B. abortus* o por *B. melitensis*, las hembras adultas en gestación desarrollan una placentitis que conduce al aborto entre el quinto y el noveno mes de gestación. Aunque este signo puede no producirse en cierto porcentaje de los animales (SENASA, 2014).

En el útero preñado las *Brucellas* proliferan en el epitelio que reviste las vellosidades embrionarias del corion produciendo una necrosis con exudado fibrino-purulento. Estas lesiones producen una relajación entre placenta materno-fetal que altera la nutrición del feto. Las *Brucellas* llegan al feto por vía sanguínea y por deglución del líquido amniótico. El lapso que transcurre entre la infección y el aborto es muy variable, dependiendo principalmente de la resistencia de la madre (vacunal o natural) (Bérgamo y col, 2013b).

Aún en ausencia de aborto se produce en el parto gran excreción de microorganismos a través de la placenta, los líquidos fetales y las descargas vaginales. Las mamas y los ganglios linfáticos asociados también pueden infectarse y los microorganismos pueden aparecer en la leche. Las gestaciones posteriores llegan por lo general a término, pero la infección uterina y la mamaria se repiten, con un número reducido de microorganismos en los productos del parto y en la leche (SENASA, 2014).

En las infecciones agudas, el microorganismo está presente en la mayoría de los ganglios linfáticos. Los machos adultos pueden desarrollar orquitis, y la brucelosis puede causar esterilidad en ambos sexos (SENASA, 2014).

La forma principal de contagio es por vía digestiva, esta se produce cuando los animales lamen fetos abortados, terneros recién nacidos y/o los genitales de otros animales. También es importante la ingestión de alimentos y bebidas contaminadas con secreciones vaginales y leche de hembras enfermas. La vía genital puede ser importante solo si se realiza inseminación artificial con semen infectado, de lo contrario, la brucelosis bovina no es una enfermedad venérea. El semen de un toro infectado puede contener grandes cantidades de *Brucellas* pero sin embargo no contagia a la vaca, debido a que la acidez de la vagina contribuye a destruirlas (SENASA, 2014).

El período de incubación de este microorganismo en los bovinos es uno de los problemas para el saneamiento porque es prolongado y variable (Bérgamo y col, 2013b).

El diagnóstico de Brucelosis se divide en el clínico (por circunstancias epidemiológicas, manifestaciones clínicas, lesiones anatomopatológicas macroscópicas) y de laboratorio que incluye lo siguiente (Bérgamo y col, 2013b):

- Bacteriológico
- Serológico (o presuntivo):
 - Pruebas tamiz (BPA)
 - Prueba básicas operativa (SAT)
 - Pruebas complementarias (2-ME y Rivanol)
 - Pruebas de vigilancia epidemiológicas (Anillo en Leche y ELISA en Leche)
 - Pruebas definitivas (Fijación del Complemento)
 - Otras Pruebas aprobadas por SENASA (ELISA indirecta en suero y Luz Polarizada en suero) (Bérgamo y col, 2013b).

Los principales factores que influyen, tanto para el diagnóstico serológico como clínico, son:

- Dosis de exposición
- Virulencia de la cepa
- Tiempo de preñez
- Resistencia individual del animal (Szyfres, 2015).

Debido a la gran importancia del impacto productivo y zoonótico de la brucelosis, la misma se encuentra bajo plan nacional de control y erradicación en la República Argentina. El Programa de Brucelosis Bovina define las estrategias y acciones a desarrollar en todo el territorio nacional, en el marco del Programa de Control y Erradicación de la Brucelosis Bovina (Resolución Senasa N° 150/2002), con el objetivo de consolidar en forma progresiva

la condición de áreas libres de la enfermedad y permitir en forma coordinada su control y posterior eliminación (SENASA, 2016).

Las actividades bajo Programa incluyen:

VACUNACIÓN

La vacunación antibrucélica es obligatoria al cien por cien (100%) de las terneras de tres (3) a ocho (8) meses de edad con vacuna *Brucella abortus* Cepa 19, en simultáneo con las campañas de vacunación antiaftosa y bajo una estrategia regional. Se exceptúa de la medida a la "Zona libre de brucelosis y tuberculosis bovina", comprendida por la provincia de Tierra del Fuego, Antártida e Islas del Atlántico Sur (SENASA, 2016).

CONTROL DE EGRESOS

Hacienda de carne: Todo animal susceptible a la enfermedad (machos enteros mayores de seis (6) meses y hembras mayores de dieciocho (18) meses en la categoría reproductores, deberá contar con las pruebas serológicas realizadas en un laboratorio de la Red Nacional de Laboratorios dependiente de la Dirección de Laboratorios y Control Técnico (Dilab) del Senasa y el sangrado deberá ser realizado por un médico veterinario acreditado.

Hacienda de tambo: Todo movimiento de bovinos en las categorías susceptibles a la enfermedad (machos enteros mayores de seis (6) meses y hembras mayores de dieciocho (18) meses que tengan un destino distinto al de faena, deberán contar con un certificado de seronegatividad emitido por un laboratorio de la Red (SENASA, 2016).

VIGILANCIA EPIDEMIOLOGICA

Como componente de la vigilancia, se establece que todos los establecimientos procesadores de leche y fabricantes de productos lácteos deberán realizar seis (6) monitoreos anuales a sus tambos proveedores, mediante pruebas del Anillo en Leche (PAL) en laboratorios de la Red. Aquel que detecte una prueba PAL positiva, deberá en forma inmediata comunicarle al productor y a su veterinario acreditado. Asimismo, a través de la Resolución Senasa N° 79/2003 se incorporó la técnica de I-ELISA en Leche, aplicada sobre las muestras de leche extraídas de la leche total del tambo. Dicha técnica podrá ser aplicada de manera conjunta con la prueba PAL o por los laboratorios que estén habilitados por la Red Nacional (SENASA, 2016).

ESTATUS SANITARIO DE LOS ESTABLECIMIENTOS

La normativa vigente establece que todos los establecimientos lecheros, las cabañas y/o los establecimientos dedicados a la comercialización de reproductores machos, deberán estar incluidos en alguna de las categorías de estatus sanitario que se describen a continuación:

Establecimiento en saneamiento: aquel que ha realizado un sangrado inicial a la totalidad de la hacienda en las categorías susceptibles con pruebas serológicas en laboratorios de la Red.

Establecimiento saneado: aquel que ha alcanzado dos (2) sangrados totales consecutivos negativos con sesenta (60) a ciento veinte (120) días de intervalo, con pruebas serológicas en laboratorios de la Red.

Establecimiento oficialmente libre: aquel que ha alcanzado tres (3) sangrados totales consecutivos negativos en las categorías susceptibles, realizando los dos (2) primeros con sesenta (60) a ciento veinte (120) días de intervalo y el tercero en un plazo no mayor a trescientos sesenta y cinco (365) días, con pruebas serológicas en laboratorios de la Red. La recertificación, que permite a los establecimientos oficialmente libres continuar con el estatus sanitario adquirido, será realizada anualmente mediante una serología aplicada a la totalidad de los animales susceptibles (SENASA, 2016).

PLANES SUPERADORES

El Programa de Control y Erradicación de la Brucelosis Bovina faculta a las Comisiones Provinciales de Sanidad Animal (Coprosas) a presentar planes que superen las exigencias mínimas establecidas en la normativa vigente, a fin de lograr la erradicación definitiva de la enfermedad, de acuerdo a ciertos requisitos (SENASA, 2016).

En la actualidad son dos los planes vigentes:

- ✓ Plan Superador de Control y Erradicación de la Brucelosis Bovina de la provincia de Santa Fe (Resolución Senasa N° 497/2002).
- ✓ Plan Superador de Control y Erradicación de la Brucelosis Bovina en el departamento de San Justo (Freyre-Devoto) de la provincia de Córdoba (Resolución SAGPyA N° 905/2004) (SENASA, 2016).

Por Resolución Senasa N°100/2011, del 1 de marzo de 2011, se declaró a la provincia de Tierra del Fuego, Antártida e Islas del Atlántico Sur como "Zona libre de brucelosis y tuberculosis bovina". La norma prohíbe la vacunación contra la brucelosis bovina en el ámbito provincial, regulando de este modo la condición de área/zona sin vacunación que siempre tuvo. Establece, además, que todos los productores, médicos veterinarios y demás profesionales de la salud tienen la obligación de denunciar cualquier sospecha o indicio de presencia de brucelosis y tuberculosis bovina, en línea con otras normas sobre la enfermedad (SENASA, 2016).

Cuatro aspectos merecen destacarse en el estudio de esta enfermedad:

- **Sanitario:** debido a los trastornos reproductivos antes mencionados en los animales así como también la esterilidad en ambos sexos, aunque con mayor frecuencia en los machos (Bérgamo y col, 2013b).

- **Económico:** las pérdidas ocasionadas por esta enfermedad son numerosas, si consideramos algunos factores como los abortos, la disminución de la producción de leche y carne, imposibilidad de usar el semen de animales de alto valor reproductivo y la contaminación de potreros donde hubo animales infectados que abortaron y/o parieron (Bérgamo y col, 2013b).

- **Social:** esta enfermedad es una ZOONOSIS, la cual causa una dolencia llamada a menudo fiebre ondulante o fiebre de Malta en el ser humano, pues fue descrita por primera vez en Malta en el decenio de 1850. Produce síntomas tales como fiebre intermitente o irregular, cefalea, debilidad, sudor abundante, escalofríos, artritis, pérdida de peso y dolor general. También puede producirse la infección de órganos como el hígado o el bazo (SENASA, 2014). Por lo tanto debe considerarse para las personas enfermas los gastos que se originan por consultas médicas, medicamentos, internación en los casos graves y además la imposibilidad del enfermo de trabajar, dejando muchas veces secuelas importantes (Bérgamo y col, 2013b).

- **Político:** un concepto mundial es que la brucelosis es una enfermedad política. La mayoría de los países inclusive el nuestro tiene dificultades con el cumplimiento de sus reglamentaciones, diversos grupos que a su vez tienen distintos intereses deben coincidir para conformar una regulación sobre el control y erradicación de la enfermedad. Por otra parte, la restricción del mercado internacional de carnes es otro de los prejuicios que ocasiona la presencia de la enfermedad en nuestros rodeos (Bérgamo y col, 2013b).

El Cuarto Informe de Expertos en Brucelosis Ginebra 1964 Comité Mixto FAO/OPS aconseja que la lucha contra la Brucelosis bovina y su erradicación puede emprenderse teniendo en cuenta el nivel de prevalencia de los rebaños y animales para definir las estrategias. El primer paso para definir la estrategia de elección debe estar basado en función de los niveles de enfermedad, el conocimiento de los niveles de prevalencia de brucelosis es el indicador de importancia para sentar las bases de las estrategias elegidas como también para evaluar los avances en los planes, verificar el estado sanitario del país e identificar zonas afectadas (SENASA, 2014).

En base a esto, en nuestro país en el año 2010 se realizó un muestreo financiado por el Ministerio del Campo de la provincia de San Luis y el SENASA, cuyo objetivo fue estimar la prevalencia y la distribución espacial de la brucelosis bovina en vacas de cría adultas de las provincias de La Pampa y San Luis. El mismo arrojó valores de prevalencia del 2.3 % de los animales y el 26 % de los predios positivos en La Pampa y 1.4 % de los animales y el 15.5 % de los predios positivos en San Luis (SENASA, 2014).

Por otra parte, mediante una encuesta epidemiológica por muestreo realizada en el año 2006 a nivel nacional, sobre 18.471 hembras bovinas mayores de 2 años pertenecientes a 1.847 establecimientos, obtuvieron una prevalencia de brucelosis del 2,15% y 12,5%

respectivamente. La misma encuesta arrojó para la provincia de Córdoba, un 2,57% de animales positivos y el 15,5% de campos infectados (De la Sota, M. y col, 2006).

En la provincia de Santa Fe, Vanzini, V. y col. (2010) evaluaron 270.265 sueros bovinos pertenecientes a 2.404 establecimientos para el diagnóstico de brucelosis. Los resultados arrojaron un 0,7% de animales positivos y el 12% de los campos presentaron al menos un animal positivo. Al analizar los establecimientos por departamentos, observaron diferencias en la proporción de predios infectados que fue del 5% al 30%.

En establecimientos de cría del norte de la provincia de Córdoba, Piscitelli, H. y col. (2010), hallaron un 2,3% de establecimientos positivos.

Magnano y col. (2012) analizaron 4.361 animales para brucelosis pertenecientes a 71 establecimientos de las siguientes provincias: CÓRDOBA (Río Cuarto: 33, Juárez Celman: 5, Calamuchita: 3, Cruz del Eje: 1, Roque Sáenz Peña: 5, San Alberto: 1, General Roca: 4, Unión: 2, Marcos Juárez: 2, Río Segundo: 1); SAN LUIS (Gobernador Gálvez: 7, Chacabuco: 2, La Capital: 2); SANTA FE (General López: 2); SANTIAGO DEL ESTERO (Juan Felipe Ibarra: 1). El 4,9% de los animales y el 40,9% de los establecimientos fueron positivos al diagnóstico de dicha enfermedad.

Al hablar de la producción lechera, puntualmente en la provincia de San Luis, Argentina, se producen 100 mil litros diarios de leche y hay aproximadamente 4000 vacas para ordeño. Del total de la producción diaria, el 95% se vende a las empresas lácteas que operan en la región y el restante 5% se destina a la elaboración de quesos artesanales. El departamento que concentra la mayor producción es Ayacucho, le siguen Pueyrredón y Chacabuco. En el primero se localizan los tres tambos más grandes de la provincia y en el último la mayor cantidad de pequeños y medianos productores que se dedican a la elaboración de quesos (Trombotto, 2015).

El acceso de la población a alimentos saludables y de calidad es una demanda insoslayable, a la cual los productores, a través de los profesionales veterinarios, deben responder. En la actualidad, la concientización de los productores sobre la responsabilidad social de su rol como proveedores de alimentos saludables, traslada esta demanda al veterinario. En la figura de los profesionales, recae por lo tanto esta responsabilidad.

En el ámbito productivo de la zona de nuestro estudio, (La Punilla y Villa del Carmen, San Luis), existen pequeños productores dedicados a la explotación lechera bovina que cuentan con escasos recursos económicos para acceder a un asesoramiento veterinario adecuado tendiente a controlar y mejorar la sanidad de sus rodeos y con ello la calidad de los productos que ofrecen. A esa escasez de recursos se suman otras condiciones internas (modo de producción, idiosincrasia del productor) y externas (precio de la leche, escaso financiamiento, poca presencia de veterinarios en la zona) que aumentan la desprotección de esos productores para enfrentar situaciones adversas.

Actualmente existe la intención de conformar un grupo de cambio rural lechero en la zona, (dentro de los Programas de Cambio rural del INTA), lo que constituye un plan superador y un cambio de escenario favorable para estos pequeños productores lecheros; además, resulta en un aliciente a la aplicación de nuevas tecnologías tanto sanitarias, como reproductivas o nutricionales. Entre las medidas sanitarias a ejecutar, la concientización de la importancia del saneamiento de tuberculosis y brucelosis en sus rodeos, se ve plasmada en la alta demanda de los productores por aplicar planes de diagnóstico y control como medidas prioritarias.

La conjunción de una necesidad evidente por parte de los pequeños productores y la participación activa de alumnos en actividades de terreno que contribuyan a la formación técnica y social del futuro profesional, permitirá dar una importante respuesta a dos sectores que se necesitan e interactúan mutuamente.

El objetivo del presente trabajo fue evaluar la prevalencia de Brucelosis bovina en seis tambos pertenecientes a pequeños productores de la cuenca de La Punilla y Villa del Carmen, San Luis, Argentina y acercar el servicio y asesoramiento veterinario a zonas marginales.

OBJETIVOS GENERALES

- Evaluar la prevalencia de Brucelosis bovina en seis tambos pertenecientes a pequeños productores de la cuenca de La Punilla y Villa del Carmen, San Luis, Argentina.
- Acercar el servicio y asesoramiento veterinario a zonas marginales de la cuenca de La Punilla y Villa del Carmen, San Luis, Argentina.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Adquirir destreza en la realización de las técnicas indicadas para el diagnóstico de Brucelosis bovina.
- Identificar el status sanitario en cuanto a brucelosis de los establecimientos abordados.
- Diagramar un plan estratégico para el control de la enfermedad.
- Apoyar a pequeños productores mediante un servicio sanitario en sus rodeos lecheros a través del diagnóstico y control de la brucelosis.
- Desarrollar herramientas prácticas y ampliar los conocimientos técnicos para el trabajo en terreno a desarrollar en un futuro como médica veterinaria.

MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo se realizó en seis tambos pertenecientes a los Municipios de Villa del Carmen y de La Punilla (Pcia. de San Luis). Allí existen aproximadamente 15 pequeños productores que se dedican a la producción lechera contando aproximadamente con un promedio de 40 vacas (Fotos 1 y 2). El acceso al diagnóstico veterinario de sus rodeos se hace muy dificultoso especialmente por la escasez de recursos económicos.

En cada establecimiento se tomaron muestras de sangre a la totalidad de las hembras mayores de 18 meses y machos mayores de 6 meses para realizar el diagnóstico de brucelosis. Cada muestra fue identificada con el número de caravana del animal. En el caso de que algún animal no poseía caravana con la correspondiente identificación se procedió a colocarle una antes del muestreo.



Fotos 1 y 2: tambos en los que se realizó parte del trabajo.

Toma de muestra

Se muestrearon 140 animales pertenecientes a 6 establecimientos. Tres establecimientos de la zona de Villa del Carmen visitados en Junio del 2016, donde se muestrearon 55 animales en total (n=14, n=23 y n=18 respectivamente). Los otros tres establecimientos pertenecen a la zona de La Punilla visitados en Marzo del 2017, donde se muestrearon 85 animales en total (n=33, n=20 y n=32).

La sangre fue extraída de vena coccígea o en su defecto de vena yugular para lo que se utilizaron agujas descartables calibre 25:12 y jeringas de 5ml. Una vez extraída la sangre, los tubos se mantuvieron durante una o dos horas a temperatura de 32-37°C hasta la retracción del coágulo y luego se conservaron refrigerados hasta su traslado al laboratorio en no más de 48hs (Fotos 3, 4 y 5). Una vez allí se extrajo el suero mediante centrifugación y se procedió a realizar las pruebas diagnósticas abajo detalladas indicadas para la enfermedad.

Las mismas se llevaron a cabo en los laboratorios de docencia del Departamento de Patología Animal, FAV, UNRC.



Foto 3: Ingresando animales a la manga para la extracción de sangre.



Foto 4: Materiales utilizados para la toma de muestras.



Foto 5: Tubos de hemólisis con la sangre de los animales muestreados.

Pruebas diagnósticas

➤ **Prueba del antígeno bufferado en placa (BPA):** todos los sueros recolectados fueron sometidos a la prueba de BPA (Fotos 6 y 7).

Esta prueba se basa en la inhibición de las aglutininas inespecíficas a bajo pH. Detecta anticuerpos Ig G y también algunos Ig M específicos. Por su gran sensibilidad y buena especificidad permite descubrir con alta probabilidad los animales infectados de una población (Bérgamo y col. 2013b).

Se describe a continuación el desarrollo de la técnica.

- a) Colocar la placa de vidrio limpia y seca sobre el aglutinoscopio.
- b) Con micropipeta automática apoyada sobre el vidrio depositar 80ul de suero.
- c) Con micropipeta automática descargar 30ul del antígeno de BPA próximo a la gota del suero.

- d) Mezclar con mezclador de alambre o acrílico el antígeno y el suero, haciendo movimientos circulares hasta acabar una superficie aproximada de 3cm de diámetro.
- e) Tomar la placa con las dos manos y realizar tres movimientos rotatorios para homogeneizar la muestra.
- f) Colocar la placa sobre el aglutinoscopio y tapar permaneciendo con la luz apagada.
- g) Se efectúa una nueva rotación pasados los 4 minutos repitiendo lo indicado en el punto e y f.
- h) La lectura se realiza a los 8 minutos rotando de nuevo la placa con la luz encendida (Bérgamo y col. 2013a) (foto 8).



Foto 6 y 7: Actividades en el laboratorio donde se procesaron las muestras.

Interpretación

Las reacciones se clasifican en:

REACCION NEGATIVA (-), si la mezcla del suero-antígeno es de turbidez homogénea y sin grumos (foto 9).

REACCION POSITIVA (+), si la mezcla suero-antígeno forma grumos (Bérgamo y col, 2013b) (foto 9).

Los animales que resultaron positivos a BPA deben examinarse mediante las pruebas complementarias de seroaglutinación en tubo (SAT) y 2 mercaptoetanol (2ME) (Bérgamo y col, 2013b).



Foto 8: placa finalizada para la lectura de BPA



Foto 9: reacción BPA negativa (izquierda) y positiva (derecha)

➤ **PRUEBAS COMPLEMENTARIAS DE CONFIRMACIÓN SAT Y 2ME**

Los sueros que resultaron positivos a la técnica de BPA fueron sometidos a las pruebas complementarias de confirmación que se detallan a continuación.

Seroaglutinación en tubo (SAT): detecta anticuerpos aglutinantes IgM e IgG, en término de unidades internacionales por ml de suero (UI/ml). Los anticuerpos IgM aglutinan más intensamente que los IgG ya que, al ser moléculas pentavalentes, poseen un mayor número de uniones. El título de un suero se determina por la más alta dilución que presenta aglutinación (Bérgamo y col, 2013a).

Prueba de aglutinación del 2 Mercaptoetanol (2ME): es una prueba selectiva que detecta solamente la presencia de IgG. El fundamento se basa en que los anticuerpos IgM, por su configuración de pentámero, se degradan en 5 subunidades semejantes por la reducción de enlaces disulfuro, debido a la acción de 2 ME. De esta manera se altera su capacidad de combinarse con el antígeno. Las moléculas de IgG, en cambio no sufren el mismo fenómeno manteniendo su capacidad al unirse al antígeno presentando reacciones objetivas tales como la aglutinación. La prueba se usa, por lo tanto, como evidencia presuntiva de la presencia de anticuerpos de la clase IgG (Bérgamo y col, 2013a).

Método para las pruebas de SAT y 2ME:

La prueba de 2-ME se realiza simultáneamente con la prueba de SAT, procediendo de la siguiente manera:

- a) Por cada muestra de suero problema, colocar en una gradilla 2 hileras de 4 tubos cada una.
- b) Identificar el primer tubo de cada hilera con el número correspondiente al suero problema.
- c) Una de las hileras se destina a la prueba de 2ME y se marca con una M. La otra hilera, en la que se hará la prueba de SAT, se marca con una T.

d) Por cada muestra de suero debidamente identificada, se utilizan tubos en los cuales se descarga con pipeta automática 0,08 ml de suero en el fondo del primer tubo, retirando la pipeta a lo largo de las paredes del tubo para permitir que se deposite el suero detenido en la punta de la pipeta. 0,04 ml se distribuyen en el segundo tubo, 0,02 ml en el tercero y 0,01 ml en el cuarto. Repetir el procedimiento descrito para depositar las mismas cantidades de suero en la segunda fila (SAT) (Foto 10).

e) Pipetear las muestras sucesivas en forma similar en cada 2 hileras de tubos adecuadamente identificados.

f) Incluir un suero control conocido con un alto contenido de IgM anti-brucella y que no contenga IgG detectable en la prueba.

g) Con una pipeta agregar 1 ml de solución de 2ME (0,1M) en cada tubo de hileras M y mezclar muy bien agitando la gradilla.

h) Agregar 1 ml de solución salina fenolada al 0,5% a cada uno de los tubos de las hileras T (solamente)

i) Dejar las gradillas con las mezclas durante 1 hora a temperatura ambiente y agregar a cada tubo 1 ml de "antígeno de tubo" diluido al 2% (0,09%) en solución salina fisiológica.

Mezclar bien agitando la gradilla y cada tubo por separado.

Incubación: Se realiza a 37°C durante 42-48 hs (Bérgamo y col, 2013a).



Foto 10: realización de las técnicas de SAT y 2ME.

Lectura de las pruebas

La lectura de las pruebas se realiza después de 42 a 48hs de incubación a 37°C. La aglutinación del antígeno bajo la forma de grumos y su depósito en el fondo del tubo por gravedad determina la clarificación del líquido en el tubo, manteniéndose los grumos firmes después de una leve agitación del tubo. La aglutinación es el resultado directo de la acción específica de los Ac del suero con las brucellas del antígeno (Bérgamo y col, 2013a).

La lectura debe hacerse contra un fondo negro opaco con una fuerte luz que atraviese los tubos, para esto se recomienda utilizar el aglutinoscopio (Bérgamo y col, 2013a) (Foto 11).

El grado de aglutinación en cada una de las distintas diluciones puede clasificarse como completo (+), incompleto (I) o negativo (-) (Bérgamo y col, 2013a) (Foto 12).

AGLUTINACIÓN COMPLETA: es aquella cuya mezcla del suero problema con el antígeno aparece límpida, translúcida y la agitación suave no rompe los grumos.

AGLUTINACIÓN INCOMPLETA: el aspecto de la mezcla entre el suero y el antígeno es parcialmente turbio y una suave agitación rompe los grumos.

AGLUTINACIÓN NEGATIVA: es aquella mezcla de suero y antígeno con apariencia turbia y una suave agitación no revela grumos (Bérgamo y col, 2013a).

El título de aglutinación del suero está dado por la dilución del último tubo en el que se presenta una disminución de la turbidez evidente, manteniéndose los grumos firmes a pesar de una agitación leve. Si esto ocurre, por ejemplo, en los primeros 3 tubos solamente, el título del suero (recíproco de la dilución 1/100) es de 100UI de aglutinación (Bérgamo y col, 2013a).

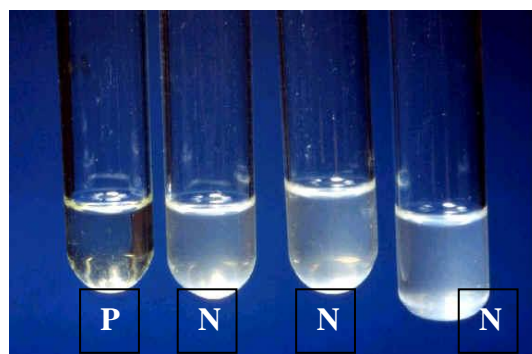


Foto 11 y 12: lectura e interpretación de las pruebas complementarias P= positivo (aglutinación completa), N=negativo.

Los resultados se interpretaron según lo establecido por el SENASA en el Plan Nacional de Control y erradicación de la Brucelosis Bovina Resol. 150/2002 tal como se detalla a continuación.

Cuadro 1: hembras mayores de 18 meses de edad vacunadas con *Brucella abortus* cepa 19 entre los 3 y 8 meses de edad (Bérgamo y col, 2013a)

BPA	SAT	2-ME	INTERPRETACION
-	NH *	NH	NEGATIVO
+	≤ 50	-	NEGATIVO
+	I 100	-	SOSPECHOSO
+	100	-	SOSPECHOSO
+	I 200	-	SOSPECHOSO
+	200	-	POSITIVO
+	25 a 50	I 25	NEGATIVO
+	≤ 25	≤ 25	NEGATIVO
+	≥ I 50	≥ I 50	POSITIVO

* NH: No se hace

Cuadro 2: animales no vacunados mayores de 6 meses de edad (Bérgamo y col, 2013a)

BPA	SAT	2-ME	INTERPRETACION
-	NH	NH	NEGATIVO
+	25	-	NEGATIVO
+	I 50	-	SOSPECHOSO
+	50	-	SOSPECHOSO
+	I 100	-	SOSPECHOSO
+	100	-	POSITIVO
+	200	-	POSITIVO
+	≥ 25	≥ 25	POSITIVO

Una vez finalizadas las pruebas y en base a los resultados obtenidos se elaboró un plan sanitario acorde a la necesidad de cada productor para poder llevarlo a cabo en cada establecimiento.

RESULTADOS

La totalidad de los animales analizados (n=140) resultaron negativos para Brucelosis mediante las técnicas realizadas. Por esto, podemos decir, que la prevalencia de Brucelosis en los establecimientos abordados es nula.

Todos los establecimientos de la zona de Villa del Carmen resultaron negativos a la prueba de BPA (Cuadro 3). En tres establecimientos de la zona de Punilla se obtuvieron un total de 13 sueros positivos a la prueba tamiz BPA (Cuadro 4); a dichas muestras se les realizaron las pruebas complementarias de SAT Y 2 ME arrojando las mismas resultado negativo.

Cuadro 3: establecimientos muestreados, cantidad de animales, categorías y resultados de la prueba de BPA en **Villa del Carmen**

ESTABLECIMIENTO	TOTAL ANIMALES	CATEGORIA	BPA	
			Positivo	Negativo
1	23	VO	0	23
2	14	VAQ-VO	0	14
3	18	VO	0	18

*VO: vaca en ordeño; VAQ: vaquillona

Cuadro 4: establecimientos muestreados, cantidad de animales, categorías y resultados de la prueba de BPA en **La Punilla**

ESTABLECIMIENTO	TOTAL ANIMALES	CATEGORIA	BPA	
			Positivo	Negativo
4	33	VO	5	28
5	20	VO	5	15
6	32	VO	3	29

La totalidad de las pruebas complementarias realizadas a los animales BPA positivos de los establecimientos de La Punilla arrojaron resultados negativos.

Sobre la base de estos resultados se elaboró el siguiente plan sanitario para aplicar en los establecimientos.

- Vacunación obligatoria con Cepa 19 a todas las terneras entre los 3 y 8 meses de vida.
- Diagnóstico anual de brucelosis a todas las hembras mayores de 18 meses y machos mayores de 6 meses.
- En caso de incorporar animales de otros establecimientos realizarles cuarentena y las pruebas diagnósticas para la enfermedad antes de juntarlos con el resto del rodeo.
- Entrenar al personal en el manejo de los abortos, si los hubiera, para poder realizar un diagnóstico posterior por parte del veterinario y resguardar la salud de los empleados ya que es una enfermedad zoonótica.
- Control de los cercos perimetrales del establecimiento.

DISCUSION

Como podemos observar, a pesar de la falta de asesoramiento veterinario, la totalidad de los establecimientos abordados resultaron negativos para la enfermedad en estudio. Al indagar con los pequeños productores sobre el manejo de sus animales resaltamos en todos los casos la realización de la vacunación obligatoria a todas las terneras entre los 3 y 8 meses de vida con la Cepa 19, uno de los pilares fundamentales para el control de la enfermedad. Por otra parte, en todos los casos la reposición de animales era interna por lo que se disminuye considerablemente el riesgo de ingreso de la enfermedad a partir de la compra de animales que puedan estar infectados.

Los resultados positivos a BPA de los 13 animales podrían deberse principalmente a reacciones cruzadas ya que las pruebas complementarias resultaron negativas en su totalidad. Descartamos que sean títulos debido a remanentes de la vacunación ya que eran todas vacas, no había ninguna vaquillona o animales vacunados a mayor edad que nos pudiera hacer pensar en algún remanente vacunal sumado a la ausencia de títulos detectada.

En la zona de estudio, en el año 2010 se realizó un muestreo financiado por el Ministerio del Campo de la provincia de San Luis y el SENASA, cuyo objetivo fue estimar la prevalencia y la distribución espacial de la brucelosis bovina en vacas de cría adultas de las provincias de La Pampa y San Luis. El mismo arrojó valores de prevalencia del 2.3 % de los animales y el 26 % de los predios positivos en La Pampa y 1.4 % de los animales y el 15.5 % de los predios positivos en San Luis. Podemos decir entonces que la enfermedad está presente en áreas vecinas por lo que respetar las medidas sanitarias y de manejo recomendadas resulta imprescindible para continuar manteniendo este estatus sanitario.

CONCLUSION

La Brucelosis es una enfermedad difícil de erradicar. Uno de los principales problemas en la erradicación reside en la correcta eliminación de los positivos y en el control de las fuentes de infección como son la compra de animales y las terneras que son dejadas para futuras madres con infección en latencia. La tecnología para el control y la erradicación está disponible, se cuenta con pruebas diagnósticas confiables y validadas internacionalmente como así también vacunas. Es por esto que manteniendo determinadas condiciones sanitarias, de manejo y educación del personal se puede continuar manteniendo los rodeos sin la enfermedad.

También resulta de suma importancia poder desde la Universidad dar respuesta a estas necesidades de los pequeños productores ya que el beneficio es mutuo tanto para el productor como para nosotros los alumnos que podemos acercarnos a una práctica profesional real con todo lo que ello implica antes de recibirnos.

BIBLIOGRAFIA

- BÉRGAMO, E. J. GIRAUDO, G.MAGNANO, A.MACÍAS, M.MACIÓ, M. SCHNEIDER, E.STICOTTI y H.LOVERA, Colaborador JM. RAVIOLO, 2013 a. *Enfermedades Transmisibles y Toxicas de los Rumiantes (3085)* FAV-UNRC; Guía de actividades practicas obligatorias. Practico N°2 Diagnostico de Brucelosis y técnicas serológicas. P: 17-26
- BÉRGAMO, E. J. GIRAUDO, G.MAGNANO, A. MACÍAS, M. MACIÓ, M. SCHNEIDER y E.STICOTTI, 2013 b. *Enfermedades Transmisibles y Toxicas de los Rumiantes (3085)* FAV-UNRC UNIDAD 1 Enfermedades que impactan en la reproducción. Venéreas y abortivas. Toma y remisión de muestras para fallas reproductivas. P: 15-46
- MAGNANO, G. M. SCHNEIDER, E. BÉRGAMO, H. LOVERA, F. NAVARRO, A. MACÍAS, E. STICOTTI, M. MACIÓ y J. GIRAUDO. 2012. *Evaluación de brucelosis y tuberculosis bovina en establecimientos de cría y tambo de la región centro de Argentina. Vet. Arg. – Vol. XXIX – N° 290*
- SZYFRES, B. 2015. BRUCELOSIS - INTERPRETACIÓN DEL DIAGNÓSTICO SEROLÓGICO Tomado y adaptado del Boletín Técnico N° 2 - IICA/SENASA
Consultado: 1-11-2016
- DE LA SOTA. M, E. BAGNAT, B. CONSENTINO y A. NICOLA. 2006. Revista del Colegio de Médicos Veterinarios de la provincia de Buenos Aires, Argentina. 11(35):31-35. Aproximación a la determinación de la prevalencia nacional de brucelosis bovina.
- SENASA. 2014. Dirección de Programación Sanitaria Dirección de Epidemiología y Análisis de Riesgo Dirección Nacional de Sanidad Animal. *Informe del muestreo para determinación de prevalencias de brucelosis bovina en la zona de mayor producción bovina en la República Argentina.*
En:http://www.senasa.gov.ar/sites/default/files/ARBOL_SENESA/ANIMAL/BOVINOS_BUBALINOS/PROD_PRIMARIA/SANIDAD/ENF_Y ESTRAT/BRUCELOSIS/15_d_informe_final_muestreo_brucelosis_bovina_ano_2014_10-12-15.pdf
Consultado: 1-11-2016.
- GIMÉNEZ, M. P. ZIMMER, G. BIOTTI y JM. MARELLI. 2016. INTA ediciones. *Control de brucelosis en tambos de pequeños productores en Santo Tomé.* En: http://inta.gob.ar/sites/default/files/inta_control_de_brucelosis_en_tambos_de_pequenosproductores.pdf Consultado: 24-10-2016

- PISCITELLI, H. y C. GAITÁN. 2010. Estudio de dos períodos en el programa de control y erradicación de la brucelosis bovina en tambos de Villa María, provincia de Córdoba.
- SENASA. 2016. *Brucelosis Bovina* En:<http://www.senasa.gob.ar/cadena-animal/bovinos-y-bubalinos/produccion-primaria/sanidad-animal/enfermedades-y-estra-sani/brucelosis-bovina> Consultado: 1-11-2016
- TROMBOTTO, F. 2015. Entrevista en Agencia de Noticias San Luis. *En San Luis se producen 100 mil litros diarios de leche*. Prensa Ministerio de Industria, Comercio, Minería y Transporte de la provincia de San Luis, Federico Trombotto. En:<http://agenciasanluis.com/notas/2015/09/12/en-san-luis-se-producen-100-mil-litros-diarios-de-leche/>
- VANZINI, V. A. SODIRO, S. TORIONI DE ECHAIDE, N. AGUIRRE, A. CANAL, J. CARBAJALES, M. BERGAMASCO, G. DE LUCA y J. GRAMALIA. 2010. Situación epidemiológica de la brucelosis bovina en ganado de cría de la provincia de Santa Fe. En:https://inta.gob.ar/sites/default/files/inta_resena_epidemiologica_de_la_brucelosis_en_sta_fe_vanzini_et_al