



Seminario:

Programas de Control y Erradicación de Tuberculosis, Brucelosis Bovina y Fiebre Aftosa



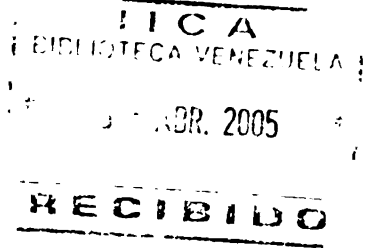
Arequipa - Perú, Setiembre

1989

00007254 ¹¹⁰⁷ 273

36





PRESENTACION

Mediante la acción coordinada entre el Ministerio de Agricultura, con la cooperación técnica y económica de la Organización Panamericana de la Salud (OPS/OMS) y el Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura (IICA), se ha organizado el Seminario "Programas de control y erradicación de la tuberculosis, brucelosis y fiebre aftosa", a realizarse en la ciudad de Arequipa del 26 al 29 de setiembre del - año en curso.

El evento está orientado a analizar, discutir y actualizar conceptos epidemiológicos, de diagnóstico y de vigilancia epidemiológica; así como armonizar criterios para la formulación de un programa debidamente implementado de erradicación de la tuberculosis y brucelosis bovina en la cuenca lechera del sur; del mismo modo, se hará necesario definir y determinar estrategias de prevención y control de la fiebre aftosa, orientadas a establecer en dicha cuenca lechera áreas libres de esta enfermedad.

La formulación y ejecución de estos programas sanitarios harán posible fortalecer y consolidar la encomiable labor que viene realizando en forma coordinada el Ministerio de Agricultura y la actividad privada (FONGALES), con el apoyo de LABVETSUR, en el control de estas enfermedades en la ganadería del sur del país.

Con el fin de que los participantes dispongan de material bibliográfico referencial, se ha efectuado un acopio de trabajos presentados en diversos seminarios y reuniones técnicas; así como transcripcio



nes de publicaciones editadas por la OPS/OMS y la OIE, las que son re-
producidas en este documento con el nombre del autor responsable corres-
pondiente.

Esperamos que el presente compendio sea de utilidad para los Médicos Ve-
terinarios responsables de la ejecución de los programas de control y -
erradicación de las enfermedades en mención.

Ing. Carlos M. Cúneo
Representante OPS/OMS en Perú

Dr. Israel Tineo
Representante IICA en Perú

Lima, setiembre de 1989



ORGANIZADORES Y AUSPICIADORES DEL EVENTO

- Ministerio de Agricultura
 - Dirección General de Ganadería
 - Dirección de Sanidad Pecuaria
 - Unidad Agraria Departamental de Arequipa
 - Unidad Agraria Departamental de Tacna.
- Organización Panamericana de la Salud/Organización Mundial de la Salud OPS/OMS.
- Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura, IICA.

COLABORADORES

- Colegio Médico Veterinario Departamental de Arequipa.
- Fondo de Fomento para el Desarrollo de la Ganadería Lechera de Arequipa, FONGALSUR - Arequipa.
- Fondo de Fomento para el Desarrollo de la Ganadería Lechera de Tacna, FONGAL-TACNA.
- Laboratorio Regional de Sanidad Animal del Sur del Perú - LABVETSUR
- Universidad Católica Santa María de Arequipa, Facultad de Medicina Veterinaria.

COORDINACION GENERAL

Dr. Emilio Matto - IICA
Dr. Alberto Sato - OPS/OMS
Dr. Marco Arbulú - Ministerio de Agricultura.



CONTENIDO

1. TBC ZOONOTICA. Drs. P. Acha y B. Szyfres.
2. EPIDEMIOLOGIA DE LA TUBERCULOSIS BOVINA. Dra. I.E. Sommerfelt.
3. PATOGENESIS DE LA TBC- INMUNIDAD CELULAR E HIPER SENSIBILIDAD TUBERCULINA. Dra. I.N. de Kantor.
4. LA TBC BOVINA EN LAS DISTINTAS ESPECIES ANIMALES DE IMPORTANCIA PECUARIA - ANATOMIA PATOLOGICA. E. de la Vega.
5. SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD DE LOS TESTS. Dr. A. Nader.
6. GUIA TECNICA DE METODOS Y CRITERIOS DE INTERPRETACION DE LA PRUEBA TUBERCULINICA EN BOVINOS. Dr. F. Errico.
7. PRUEBA COMPARATIVA DE LA TBC BOVINA. SU INTERPRETACION EN EL URUGUAY. Dr. L. A. Bolla.
8. PATOLOGIA DE LA TBC BOVINA Y CRITERIOS PARA EL DECOMISO. Dr. A.F. Ranney.
9. LOS SERVICIOS DE INSPECCION DE CARNE COMO AYUDA EN LA ERRADICACION DE LA TBC BOVINA. Dr. A.F. Ranney.
10. LA NECROPSIA. Dr. J. Idiart.
11. ESTUDIO DE ORGANOS BOVINOS DECOMISADOS POR TBC EN MATADEROS DEL GRAN BUENOS AIRES. Dra. I. N. Kantor y Col.
12. PROGRAMAS DE CONTROL DE ERRADICACION DE LA TBC BOVINA. CEPANZP/ OPS/OMS.
13. REGLAMENTO PARA EL CONTROL Y ERRADICACION DE LA TBC BOVINA. Ministerio de Agricultura.
14. BRUCELOSIS. Drs. P. Acha y B. Szyfres.
15. BRUCELOSIS BOVINA, OVINA Y CAPRINA. DIAGNOSTICO, CONTROL, VACUNACION. R. Fensterbank, OIE, Paris.
16. TECNICAS DE SEROAGLUTINACION. CEPANZO - OPS/OMS.



TUBERCULOSIS ZOOTICA *

P. Acha
B. Szyfres

ETIOLOGIA

Los agentes etiológicos de la tuberculosis de los mamíferos son *Mycobacterium tuberculosis* (el principal causante de tuberculosis humana), *M. bovis* (tuberculosis bovina) y *M. africanum* (tuberculosis humana en Africa tropical). Esta última especie tiene características intermedias entre *M. tuberculosis* y *M. bovis*.

El agente principal de la tuberculosis zoonótica es *M. bovis* (La tuberculosis aviar se trata en Enfermedades causadas por micobacterias no tuberculosas).

Numerosos autores prefieren referirse a una sola especie (*M. tuberculosis* y sus variantes o tipos humano y bovino).

DISTRIBUCION GEOGRAFICA

Mundial, con gran variación por región y país.

OCURRENCIA EN EL HOMBRE

La prevalencia de la tuberculosis humana de origen animal ha disminuido mucho en los países donde se impuso la pasteurización obligatoria de la leche y donde se realizaron exitosas campañas de control y erradicación de la infección bovina. Los países anglosajones -con una incidencia de la infección humana por *M. bovis* actualmente baja y limitada

*Tomado del Libro "Zoonosis y Enfermedades Transmisibles comunes al hombre y a los animales", Segunda Edición. Pedro N. Acha y Boris Szyfres. Organización Panamericana de la Salud, Pub. Cient. No. 503, páginas 174-185.

al grupo de edad más avanzada- fueron en un tiempo los más afectados, debido a la costumbre de consumir leche cruda. A pesar de la notoria reducción de la infección humana por cepas bovinas en Gran Bretaña, la tuberculosis de este origen sigue ocurriendo. De 1,977 a 1,979 en el sudoeste de Inglaterra, de 5,021 pacientes tuberculosos se realizaron 63 (1,25%) aislamientos de "cepas bovinas clásicas" (*M. bovis*), 53 de ellas en europeos y 10 en inmigrantes. De acuerdo con las localizaciones, 27 (42,85%) correspondieron a tuberculosis pulmonar y 36 (57,14%) a localizaciones extrapulmonares. Hubo una diferencia marcada en tuberculosis renal debida a *M. bovis* (23,8%) y *M. tuberculosis* (8,2%). Al comentar estos resultados, los autores (Collins et al, 1981) sugieren la posibilidad de transmisión interhumana y para ello se basan en que la TB bovina prácticamente ha desaparecido de Gran Bretaña, la leche que se consume es pasteurizada y algunos casos ocurren en menores de edad. En los Países Bajos, donde se declaró la erradicación de la TB bovina, ocurrieron 125 infecciones humanas por *M. bovis* de 1972-1975 (Schonfeld, 1982). Más de 80% de los pacientes habían nacido en épocas en que la transmisión por la leche de *M. bovis* todavía era posible. Con respecto a 5 pacientes menores de 20 años, que nacieron cuando ya se había erradicado la enfermedad bovina, se presume que contrajeron la infección fuera de los Países Bajos. Si bien la transmisión interhumana de *M. bovis* aún resulta objeto de controversia, es indudable que las campañas de erradicación de la TB bovina han reducido enormemente la incidencia humana de este origen. Así lo atestigua el hecho de que en Gran Bretaña, en 1845, se debían a cepas bovinas el 5% de todos los casos fatales de tuberculosis y el 30% de los casos de enfermedad en niños menores de cinco años de edad (Collins y Granges, 1983).

En los países donde la leche se consume hervida, entre ellos los de América Latina, la incidencia de infección por *M. bovis* ha sido siempre más baja. Sin embargo, tanto las formas pulmonares como extrapulmonares

de la tuberculosis humana de origen animal no dejan de ser un problema en las áreas con alta prevalencia de infección en bovinos. Esto se debe a que no toda la leche se consume hervida, muchos productos se preparan con leche sin pasteurizar y además hay casos de infección por vía aerógena. En el Perú (Fernández Salazar et al., 1983) en un estudio de 853 cepas de tuberculosis pulmonares, se han identificado 38 (4,45%) aislamientos como *M. bovis*. En la Argentina, sobre todo en 1978-1981 en varios laboratorios se estudió un total de 7.195 cepas, en su mayoría aisladas de pacientes adultos pulmonares, y 82 (1,1%) de ellas se clasificaron como *M. bovis* (Comisión Nacional de Zoonosis, 1982).

OCURRENCIA EN LOS ANIMALES

En los países industrializados, la tuberculosis bovina está erradicada o se encuentra en una fase avanzada de control, mientras que en la mayoría de los países en desarrollo la situación no ha mejorado o la prevalencia se encuentra en aumento. En casi todos los países de Europa occidental la prevalencia de la infección bovina es inferior a 0,1%. En el hemisferio occidental, el Canadá y los Estados Unidos de América han reducido la tasa de infección a niveles muy bajos. En 1969, en este último país hubo un 0,06% de reactivos a la tuberculina en 4,5 millones de bovinos examinados (la gran mayoría de los reactivos no presentaban lesiones en el matadero). En América Latina, sólo Cuba y Venezuela tienen programas de control de cobertura nacional. En varios países de Centro América y del Caribe, la tasa de infección es muy baja. Las tasas más altas de infección se encuentran en las cuencas lecheras, alrededor de las grandes ciudades de América del Sur. En los países sudamericanos donde los cerdos se alimentan con subproductos lácteos (no pasteurizados), la tasa de infección en porcinos es similar o aún mayor que en bovinos, a juzgar por los registros de decomisos en mataderos.

La tuberculosis bovina es importante no sólo porque constituye una fuente de infección humana, sino también por las pérdidas económicas que ocasiona.

LA ENFERMEDAD EN EL HOMBRE

M. bovis puede causar las mismas formas clínicas y lesiones patológicas que M. tuberculosis (tipo humano). Históricamente, las formas por M. bovis más prevalentes eran las extrapulmonares, y los niños se contaban entre los más afectados. La localización extrapulmonar del bacilo bovino se debe a su afinidad con otros tejidos, sino a su modo de transmisión más común, por ingestión de leche o productos lácteos crudos. Por tal motivo, en los países donde hubo una alta prevalencia de tuberculosis bovina y se consumía leche cruda, una gran proporción de las tuberculosis extrapulmonares -tales como la adenitis cervical, infecciones genitourinarias, tuberculosis ósea y articular y la meningitis- se debía a M. bovis. Según los datos sobre tipificación de los bacilos tuberculosos en los países anglosajones antes de controlar la infección bovina, un 50% o más de las adenitis cervicales se originaban por M. Bovis. La tuberculosis pulmonar por el bacilo bovino ocurre con menos frecuencia, pero su incidencia no es desdéniable en grupos ocupacionales que están en contacto con vacunos infectados o sus canales, sobre todo en países donde los animales se crían en establo. Esta forma no se distingue clínicamente o radiológicamente de la causada por M. tuberculosis. La transmisión es aerógena (por gotitas de pocos micromilímetros). Se sostiene que en los países donde disminuye la infección humana por M. tuberculosis y no se controla la infección bovina, M. bovis podría adquirir un papel preponderante en la tuberculosis pulmonar del hombre. Si bien se declaró libre de tuberculosis bovina a Dinamarca en 1952, entre 1959 y 1963 se detectaron 127 casos humanos de infección por M. bovis en los grupos de edad mediana y avanzada, 58% de los cuales fueron de tuberculosis pulmonar.

En los países que han logrado un control avanzado de la tuberculosis bovina, se pueden observar casos humanos por M. bovis, sobre todo en personas de edad que han estado expuestas al agente patógeno en su niñez y juventud.

La transmisión interhumana de *M. bovis* es posible, pero hay pocos casos fehacientemente comprobados. En general se puede decir que, como en la mayoría de las zoonosis, el hombre es sólo un huésped accidental de *M. bovis* y su infección depende de la fuente animal. Si bien *M. tuberculosis* y *M. bovis* son muy similares en su efecto patógeno para el hombre, no se entiende por qué motivo la infección bovina no se ha constituido en mayor proporción en una enfermedad transmisible interhumana. Como posible explicación se ha sugerido que en pacientes pulmonares, infectados por *M. bovis*, la eliminación de bacilos en el esputo es menor que en los infectados por *M. tuberculosis* (Griffith, 1937).

En América Latina existe la creencia de que la población está a salvo de la infección por el bacilo bovino, debido a la extendida costumbre de consumir leche hervida. Indudablemente, si no se practicara dicha costumbre, la tasa de infección por *M. bovis* en el hombre sería mucho más alta, considerando la difusión y la tasa de infección del ganado lechero en muchos países latinoamericanos. Sin embargo, hay personas en el medio rural que toman leche cruda, y también es frecuente el consumo de productos lácteos (cremas, mantequilla, quesos blandos) elaborados en las casas con leche cruda. Como ocurre en otras partes del mundo, los niños son las principales víctimas, según lo indican algunos datos sobre tipificación provenientes de Brasil, Perú y México. Estos datos confirman además la alimentación de niños con leche o productos lácteos no tratados por el calor.

Si bien en América Latina no suele estabularse el ganado, se registran casos de tuberculosis pulmonar por *M. bovis*, con los obreros rurales y de mataderos y frigoríficos como los más expuestos. En Argentina se aisló el bacilo bovino de 8% de 85 enfermos pulmonares de área rurales, mientras que entre 55 enfermos de la capital sólo hubo un caso debido a *M. bovis*.

El hombre que sufre de tuberculosis pulmonar debida al tipo bovino puede, a su vez, retransmitir la infección a los bovinos. Este hecho resulta sobre todo evidente en rebaños que fueron saneados y volvieron a infectarse, debido a que una persona tuberculosa de la finca se constituyó en fuente de exposición para los animales. Episodios de esta clase se han producido en los Estados Unidos y en varios países europeos. Entre 1943 y 1952, en Dinamarca se re infectaron 128 rebaños (con más de 1,000 cabezas de ganado) y se encontró que la fuente de infección eran 107 personas tuberculosas. Hasta 1960 siguieron ocurriendo episodios similares en ese país, a pesar del avance logrado en la erradicación de la tuberculosis bovina. En regiones donde se ha erradicado la infección de los rebaños, se considera que los bovinos dejan de ser fuente de infección para el hombre, pero este puede seguir siendo, por muchos años, fuente de infección para los bovinos.

El hombre con tuberculosis pulmonar o genitourinaria debido al tipo específico humano (*M. tuberculosis*) puede infectar y sensibilizar a los bovinos de modo transitorio. El bovino es muy resistente a *M. tuberculosis*; este agente no le ocasiona una tuberculosis evolutiva, pero puede sobrevivir durante un tiempo en sus tejidos, sobre todo en los ganglios, sensibilizando al animal a la tuberculina manífera y confundiendo el diagnóstico. La sensibilización puede persistir por unos 6 a 8 meses después de separar la fuente de infección humana. En pocas ocasiones se ha comprobado la eliminación de *M. tuberculosis* por la leche, con ausencia de lesiones tuberculosas en la ubre. El hombre puede transmitir el bacilo tipo humano a varias especies animales, principalmente monos y perros, en los cuales puede producir una tuberculosis evolutiva.

En muchos países, la exposición del hombre a la tuberculosis bovina, de modo directo o indirecto, es una fuente importante de sensibilización a la tuberculina. Hay una relación entre la prevalencia de la tuberculosis bovina y la tasa de reactores a la tuberculina en la población humana. En Dinamarca se estimó, según datos estadísticos, que un

tercio de la población de 30 a 35 años de edad debía su sensibilidad tuberculínica a la infección por *M. bovis*. En el mismo estudio se sugiere también que el riesgo de contraer una tuberculosis pulmonar tardía es mucho menor en los sensibilizados por el bacilo bovino que por el humano, debido quizás a que la infección por *M. bovis* se adquiere principalmente por vía digestiva y no por vía aerógena. Otra conclusión interesante es que en la tuberculosis pulmonar por *M. bovis* las calcificaciones son mucho menos frecuentes que por el tipo humano (*M. tuberculosis*).

LA ENFERMEDAD EN LOS ANIMALES

Muchas especies de mamíferos son susceptibles a los agentes de la tuberculosis. La tuberculosis bovina es la más importante desde el punto de vista económico y como enfermedad zoonótica. La tuberculosis de los cerdos también ocasiona grandes pérdidas económicas.

Bovinos: El principal agente etiológico para los bovinos es *M. bovis*. Como en el hombre, el bacilo tuberculoso penetra en el organismo principalmente por vía aerógena. La tuberculosis por vía entérica es importante en terneros amamantados con leche que contiene bacilos tuberculosos. La forma clínica y patológica más común es la tuberculosis pulmonar. El agente causal, al penetrar en los pulmones y multiplicarse, forma el foco primario, que está acompañado de una lesión tuberculosa de los ganglios bronquiales del mismo lado, y de esta manera se crea el complejo primario. Estas lesiones pueden permanecer latentes o progresar, de acuerdo con la relación del binomio agente infeccioso-huésped. Si se quiebra la resistencia del animal frente al bacilo tuberculoso, la infección puede difundirse a otros órganos por vía linfohemática o por los conductos naturales, con una generalización precoz. Si el aparato inmunocompetente es incapaz de destruir los bacilos, estos formarán tubérculos en los lugares donde se detienen. Los focos nuevos se producen sobre todo en los pulmones, riñones, hígado, bazo y en sus ganglios correspondientes. La generalización también puede dar lugar a la tuberculosis miliar aguda.

La mayoría de las veces, la tuberculosis tiene un curso crónico y limitado a un solo órgano, el pulmón. El proceso es lento y puede ser clínicamente inaparente por largo tiempo; incluso cierto número de animales pueden pasar toda su vida útil sin sintomatología evidente, pero constituyendo una amenaza potencial para el resto del rebaño. En otros animales se origina una bronconeumonía crónica, con tos y disminución de la capacidad productora. En casos avanzados, cuando gran parte de los pulmones están destruidos, hay una disnea pronunciada.

Otra forma que se observa con cierta frecuencia en rebaños infectados, en países sin control de la enfermedad, es la tuberculosis peritoneal, o sea la peritonitis o pleuresía tuberculosa.

Se estima que cerca de 5% de las vacas tuberculosas, sobre todo en casos avanzados, tienen lesiones del útero o metritis tuberculosas y que 1-2% tienen una mastitis tuberculosa. Esta forma clínica resulta importante no solo desde el punto de vista de la salud pública, sino también como fuente de infección para los terneros que se amamantan con la leche de modo natural o artificial. En la tuberculosis adquirida por vía bucal, uno de los signos principales consiste en la tumefacción de los ganglios retrofaríngeos. En los terneros, la lesión primaria suele asentarse en los ganglios mesentéricos, sin que esté afectada la mucosa intestinal.

La enfermedad es más frecuente a medida que avanza la edad del animal, debido al carácter crónico de la misma y al hecho de que con el transcurso del tiempo hay más oportunidades de que los animales estén expuestos a la infección. La prevalencia de la infección es más alta en vacas lecheras que en animales de carne, porque su vida económica útil es más prolongada, porque es mayor su contacto cuando se les reúne para el ordeño, o por la estabulación o semiestabulación.

Los bovinos son resistentes a *M. avium* y pocas veces sufren una tuberculosis evolutiva debido a este agente. Sin embargo, tienen mucha importancia en los programas de control, porque se sensibilizan para específicamente a la tuberculina mamífera y ocasiona problemas en el diagnóstico. La vía de infección de bovino por *A. avium* es la digestiva. Cuando se encuentran lesiones, en general están limitadas al intestino y a los ganglios mesentéricos, aunque en algunos casos se pueden encontrar en los pulmones y sus ganglios regionales y no en otras partes del organismo, lo que indicaría que a veces la vía de penetración podría ser aerógena. Las lesiones tienden a la curación espontánea. No ocurre transmisión de la infección por *M. avium* de bovinos a bovinos (ver también Enfermedades causadas por micobacterias no tuberculosas).

El bovino es sumamente resistente a *M. tuberculosis*, y este no suele ocasionar lesiones anatomopatológicas. En varios países se ha podido aislar *M. tuberculosis* de los ganglios de algunos reactores positivos a la tuberculina, que no presentaban lesiones en el examen post-mortem. En este caso también la importancia de la infección reside en la sensibilización del animal a la tuberculina.

En un ensayo experimental comparativo entre *M. africanum*, *M. bovis* y *M. tuberculosis* de patogenecidad para terneros por inoculación endovenasa, se demostró que *M. africanum* o por lo menos la cepa usada de esta especie era tan patógena para bovinos como *M. bovis* (Kantor et al., 1979).

Porcinos: Esta especie es susceptible a los siguientes agentes: *M. bovis*, *avium-intracellulare* y *tuberculosis*. *M. bovis* es el más patógeno e invasor para los cerdos, y es causante de la mayor parte de las tuberculosis generalizadas.

La vía principal de infección es la digestiva, por ingestión de leche o productos lácteos contaminados, residuos de cocina y mataderos,

excreta de aves y bovinos tuberculosos. El complejo primario se encuentra en la orofaringe y en los ganglios submaxilares, o en el intestino y en los ganglios mesentéricos. La mayoría de las veces, las lesiones están confinadas en el complejo primario. No se encuentran lesiones de tuberculosis crónica en órganos aislados, como es común en el bovino. La prevalencia es menor en animales jóvenes que en adultos, pero en los primeros se advierte mayor tendencia a la generalización del proceso. Los programas de erradicación de la tuberculosis bovina tienen una influencia directa en la reducción de la tasa de infección en cerdos. En los Estados Unidos, en 1924 se encontraron lesiones tuberculosas en 15,2% de los cerdos sacrificados, mientras que en 1970 sólo se encontraron 1,09%. Los decomisos totales por tuberculosis generalizada se redujeron en forma aún más drástica. En algunos países latinoamericanos *M. bovis* es causa de 80 a 90% de las lesiones tuberculosas del cerdo. La proporción de *M. bovis* y *M. avium-intracellulare* como causa de la tuberculosis porcina se invierte cuando se llega a controlar la infección en los bovinos, según ha sucedido en varios países europeos y en los Estados Unidos.

M. avium-intracellulare causa por lo general una dentis del tracto digestivo y más raramente una generalización de la enfermedad (ver también Enfermedades causadas por micobacterias no tuberculosas).

El cerdo también es susceptible al bacilo humano (*M. tuberculosis*), el cual le produce una infección de los ganglios que drenan el aparato digestivo y muy raramente una tuberculosis generalizada. La fuente principal de la infección son residuos de cocina o de sanatorios para tuberculosos. Esa infección se pudo comprobar en varios países americanos, europeos y africanos.

La transmisión de la infección de un cerdo a otro es dudosa y si ocurre, se considera que es de poca importancia. Las lesiones del intestino son de tipo hiperplástico y no se observan úlceras que permitan la eliminación del agente al exterior.

Ovinos y Caprinos: La tuberculosis en los ovinos es, en general, rara y esporádica. DE los pocos casos descritos hasta 1970, el agente más importante fue *M. avium* y en segundo lugar *M. bovis*. En sólo dos casos se indicó *M. tuberculosis*. En investigaciones realizadas últimamente en Nueva Zelanda, a raíz del programa de erradicación de la TB bovina, se pudieron comprobar casos múltiples de la infección por *M. bovis* en majadas que compartían el pastoreo con bovinos infectados. En un área se sometió a 597 ovinos a la prueba de tuberculina en la cara interna del muslo, y se hallaron 108 (18%) reactivos. De 70 necropsias realizadas, en 43 (61%) se encontraron lesiones, generalmente ganglionares. En 8 ovinos estaban afectados los pulmones (Davidson et. al., 1981)., Una experiencia parecida se observó en otra zona de Nueva Zelanda, en una propiedad con una alta prevalencia de TB en bovinos y en zarigüeyas (*Trichosurus vulpecula*). El 11% de los ovinos tuberculinizados dieron resultados positivos y se adjudicó a la prueba 81,6% de sensibilidad y 99,6% de especificidad (Cordes et al., 1981).

La prevalencia en los caprinos parece ser baja. En los países que han avanzado en la erradicación de la tuberculosis bovina se presta atención a la infección en los caprinos, ya que esta especie es susceptible a *M. bovis*, sufre con cierta frecuencia de tuberculosis pulmonar y puede re infectar a los bovinos. Las cabras también tienen mastitis tuberculosa y su leche puede constituir un peligro para el consumidor. Asimismo, los caprinos son susceptibles a *M. avium* y a *M. tuberculosis*; a veces ocurren procesos generalizados por este último agente. Poco se sabe de la ocurrencia de la enfermedad en los caprinos de América Latina, ya que estos animales suelen sacrificarse en forma domiciliaria.

Equinos: La tuberculosis es poco frecuente en los caballos. En los países con alta tasa de infección bovina, el agente principal de la enfermedad en los equinos es *M. bovis*. La vía de infección es predominantemente digestiva y En general, las lesiones se limitan a los ganglios del

aparato digestivo y producen una reacción tisular, asemejándose a los tumores. Se han descrito algunos casos de generalización de la infección tanto por *M. bovis* como por *M. avium*. En las infecciones por *M. avium* muchas veces no se encuentran lesiones. En Alemania se pudo aislar el bacilo aviar de 30% de 208 caballos sin lesiones aparentes.

M. tuberculosis raramente se aísla del caballo. En un estudio realizado hace algúntiempo, sólo 13 de las 241 cepas tificadas correspondieron al bacilo humano (Francis, 1958).

La enfermedad en asnos y mulas es muy rara.

Es de interés señalar que los caballos son hipersensibles a la tuberculina y que la prueba alérgica no da resultados fidedignos.

Perros y Gatos: Los perros son muy resistentes a la tuberculosis experimental. Los casos registrados en esta especie se deben probablemente a una exposición masiva y repetida, al cohabitar con pacientes humanos o al consumir reiteradas veces productos contaminados. La infección puede producirse por vía aerógena o por ingestión de esputos, leche y vísceras. Cerca de 75% de los casos se deben al bacilo humano y el resto al bovino. El cuadro clínico no es característico. En 8 perros tuberculosos encontrados en la ciudad de Nueva York, los únicos síntomas fueron anorexia, pérdida de peso, letargia, vómitos y leucocitos. En la radiografía se reveló efusión pleural y pericardíaca, ascitis y hepatomegalia. Las lesiones granulomatosas de los tejidos blandos fueron similares a las observadas en neoplasia (Liu et al., 1980). La infección se localiza sobre todo en los pulmones o ganglios mesentéricos y a veces también se encuentran úlceras intestinales y lesiones renales. Por consiguiente, el perro puede eliminar bacilos tuberculosos por la tos, saliva, heces y orina. Asimismo, se ha demostrado que los perros que viven en

casas de pacientes tuberculosos pueden albergar el agente etiológico en su faringe y heces, sin presentar lesiones tuberculosas. Por cierto, son pocos los casos en que se ha podido comprobar la transmisión de la infección del perro al hombre, pero es indudable que el perro tuberculoso (y aún el animal aparentemente sano que cohabita con pacientes tuberculosos) representa un riesgo potencial y debe ser sacrificado. Un perro infectado por *M. bovis* a su vez puede ser una fuente potencial de reinfección para los bovinos.

Los gatos también tienen una gran resistencia natural a las lesiones tuberculosas. El patógeno más común en ellos es *M. bovis*, que se ha aislado en un 90% de los casos. La vía de infección es la difestiva, por consumo de leche o vísceras que contienen bacilos tuberculosos. En época reciente, se ha descrito la transmisión de *M. bovis* entre gatos en una institución científica de Australia (Isaac et al., 1983). En las zonas donde se ha controlado la tuberculosis bovina, la infección en los gatos es rara; los pocos casos registrados se deben a *M. tuberculosis* y ocasionalmente a *M. aviumintracellulare*.

Cuando se encuentran lesiones, son a veces de carácter destructivo; las neumonitis, la tuberculosis de la piel resultan frecuentes. Se han descrito varios casos de reinfección de rebaños bovinos por gatos tuberculosos.

Animales Silvestres: Los animales silvestres que viven en libertad, lejos del hombre y de los animales domésticos, en general no contraen tuberculosis. En cambio, los animales cautivos en zoológicos, granjas de animales pilíferos, colonias de laboratorios, o los mantenidos en casas de familia, tienen oportunidad de ser expuestos a infectarse. Es de interés señalar la susceptibilidad de los monos, tanto a *M. tuberculosis* como a *M. bovis*. Cerca de 70% de las cepas aisladas de estos animales son del tipo humano y el resto del tipo bovino. La vía de

infección es la aerógena o la digestiva. La infección puede propagarse de un mono a otro y constituir un grave problema para las colonias en instituciones científicas y zoológicas. A su vez, estos animales pueden retransmitir la infección al hombre. No es raro encontrar en las casas monos tuberculosos que pudieron haberse infectado antes de su adquisición o por contacto con un miembro de la familia. En Francia, se ha descrito la infección de tres chimpancés y un cercopiteco por *M. africanum*. Tres de estos animales pertenecían a un centro científico y uno de los chimpancés a un zoológico. Es posible que la infección por *M. africanum* no se haya comprobado antes en primates no humanos, porque se trata de una bacteria con propiedades intermedias entre *M. bovis* y *M. tuberculosis* y las cepas aisladas pudieron haberse identificado como una de las dos especies. Aún no se ha determinado si la infección fue transmitida a los primates por el hombre o si la han adquirido en su medio natural selvático (Thorel, 1980).

Se han descrito brotes en explotaciones de animales políferos, tales como visones y zorros plateados, cuya fuente de infección fue la carne o las vísceras de bovinos o de aves tuberculosas. En zoológicos y también en algunas reservas de parques naturales, se han encontrado tanto ungulados como carnívoros silvestres enfermos. En los zoológicos de América Latina, como en otras partes del mundo, se ha comprobado la infección en varias especies de animales.

En el sudoeste de Inglaterra se ha encontrado una alta prevalencia de infección por *M. bovis* en tejones (*Meles meles*) a los cuales se atribuyó la reinfección de rebaños bovinos. La eliminación de la población de tejones de ciertas áreas y la prevención de su repoblación evitó la transmisión a los bovinos, y, de esta manera, se suministró una prueba de la relación causal entre la infección de ambas especies animales (Wilesmith, 1983). Una asociación similar se halló entre la infección de una especie de zarigüeya (*Trichorus vulpecula*) y la de bovinos en Nueva Zelanda.

FUENTE DE INFECCION Y MODO DE TRANSMISION (FIGURA 17)

El reservorio principal de *M. bovis* es el bovino, que puede transmitir la infección a muchas especies de mamíferos, incluido el hombre. Este adquiere la infección debido a dicho agente en primer término por vía digestiva (leche y productos lácteos crudos), y en segundo término, por vía aerógena.

La tuberculosis entre los bovinos se transmite sobre todo por vía aerógena; antes del destete es importante también la vía enterógena.

La tuberculosis de los porcinos, caprinos y ovinos tiene como fuente principal de infección a los bovinos y aves, y a veces al hombre. Los cerdos se infectan por vía digestiva y se considera que rara vez pueden retransmitir la infección entre sus congéneres o a otras especies animales y al hombre. Las cabras pueden constituir una fuente de infección para el bovino y para el hombre.

Los perros contraen la infección muy a menudo del hombre y con menor frecuencia del bovino, y a su vez pueden retransmitirla al hombre y a los bovinos. La transmisión es aerógena y enterógena. Los gatos tienen como fuente principal de infección a los bovinos y en menor grado al hombre. La vía de penetración es principalmente la oral. En ocasiones, a su vez pueden ser fuente de infección para el bovino y el hombre.

Entre los animales silvestres en cautiverio, los monos son de especial interés por su susceptibilidad a *M. tuberculosis* y *M. bovis*. Contraen la infección del hombre por vía aerógena. Los primates no humanos tuberculosos constituyen un riesgo para la salud humana.

PAPEL DE LOS ANIMALES EN LA EPIDEMIOLOGIA

La transmisión interhumana de la tuberculosis animal es excepcional. La infección depende de la fuente animal.

Diagnóstico: Como no se puede diferenciar la infección humana por *M. tuberculosis* de la causada por *M. bovis* sobre la base de criterios clínicos o radiológicos, la única manera de acertar en el diagnóstico es por aislamiento y tificación del agente etiológico. Al respecto, cabe advertir que *M. bovis* se desarrolla mal en los medios de cultivo con glicerina, como el Lowenstein-Jensen, que se usa para *M. tuberculosis*.

Para el diagnóstico de rutina de la tuberculosis bovina el único método disponible es la prueba tuberculínica. La tuberculina más indicada es el derivado proteínico purificado (PPD), ya que es más específica y su producción es de menor costo. Para su elaboración se han usado cepas humanas o bovinas, pero en la investigación de los últimos años se ha demostrado que la tuberculina elaborada con una cepa de *M. bovis* es más específica. En la mayoría de los países sólo se emplea una tuberculina mamífera en las campañas de erradicación, y se reserva la prueba comparativa (con aplicación simultánea de tuberculina mamífera y aviar) para los rebaños problemáticos cuando hay sospecha de sensibilización para-específica. La prueba se realiza por vía intradérmica, inoculando 0,1 ml de tuberculina en el pliegue caudal o en la tabla del cuello, según las normas establecidas en cada país. Debe tenerse en cuenta que la región de la tabla del cuello es mucho más sensible que la del pliegue caudal. El número de unidades de tuberculina inyectada varía de 2.000 a 10.000 UI, según los países. A mayor dosis de unidades internacionales de tuberculina, la prueba será generalmente más sensible pero menos específica. La eficacia de la prueba depende no sólo de la tuberculina y su correcta aplicación, sino de la capacidad de respuesta del animal infectado. En algunos rebaños se encuentran sujetos anérgicos, que suelen ser animales viejos con una tuberculosis muy avanzada. Un examen clínico y la historia del rebaño pueden ayudar para completar el diagnóstico.

La prueba de la tuberculina se puede aplicar también con resultados satisfactorios a caprinos, ovinos y porcinos. En los cerdos, el lugar

preferido de inoculación es la base de la oreja, utilizándose 2.000 UI de tuberculina mamífera y aviar; en caprinos y ovinos se puede usar la prueba intrapalpebral, el pliegue de la cola o la cara interna del muslo.

En equinos, perros y gatos la prueba tuberculínica es poco satisfactoria. En algunos trabajos se sugiere que la prueba con BCG podría dar mejores resultados en perros. En los monos se recomienda la prueba intrapalpebral y el examen radiológico en casos avanzados.

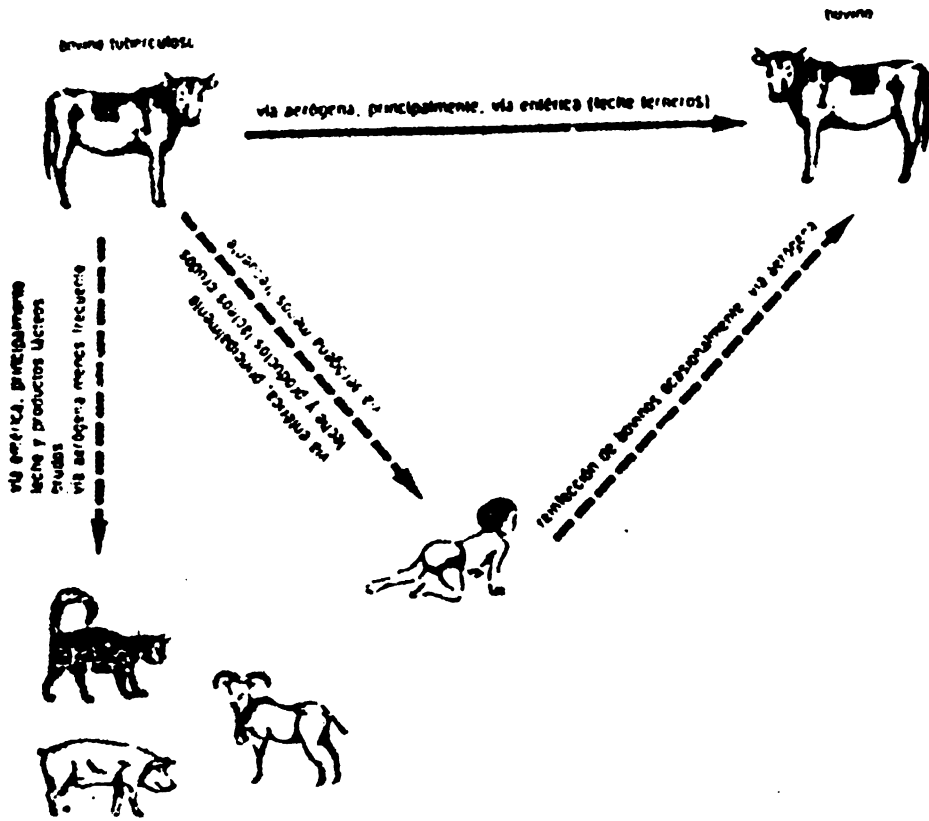
Control: En el hombre, la prevención de la infección por *M. bovis* radica en la pasteurización de la leche, la vacunación con BCG y, principalmente, en el control y la erradicación de la tuberculosis bovina.

El único enfoque racional para reducir y eliminar las pérdidas ocasionadas por la infección en el ganado y prevenir los casos humanos por *M. bovis* consiste en el establecimiento de un programa de control y erradicación de la tuberculosis bovina. Las campañas de erradicación se basan sobre todo en la realización de pruebas tuberculínicas repetidas, hasta eliminar por completo los animales infectados de un rebaño. La aplicación de la prueba tuberculínica y el sacrificio de los reactores han dado excelentes resultados en todos los países que han emprendido campañas de erradicación. En la actualidad, muchos de los países desarrollados están libres o prácticamente libres de tuberculosis bovina. En los países en desarrollo, la imposibilidad de los gobiernos de indemnizar por el sacrificio de los reactores impide emprender programas de erradicación y obliga a buscar otros incentivos para los ganaderos, tales como un sobreprecio para la leche. Las campañas deben iniciarse en regiones de baja prevalencia, donde será más fácil el reemplazo de los animales reactores, incorporando luego al programa las áreas de prevalencia más alta. Para la adecuada marcha de un programa, es indispensable que colaboren los servicios de inspección de carnes,

a fin de proceder a una correcta certificación de los rebaños libres, evaluar las actividades y mantener una vigilancia epidemiológica apropiada. Asimismo, es importante la cooperación de los servicios de salud para evitar que las personas con tuberculosis trabajen con animales u los sensibilicen a la prueba tuberculínica.

El control de la tuberculosis por *M.bovis* en su reservorio principal -el bovino- es la mejor manera de prevenir la transmisión a otras especies animales, incluido el hombre.

Figura 17. Tuberculosis (*Mycobacterium bovis*). Modo de transmisión.



BIBLIOGRAFIA

Argentina, Comisión Nacional de Zoonosis, Subcomisión de Tuberculosis Bovina. La tuberculosis bovina en la República Argentina. Buenos Aires, Centro Panamericano de Zoonosis, 1982.

Centrángelo, A., L.S. de Marchesini, C. Isola, I.N. de Kantor y M. Di Lorenzo. El mycobacterium bovis como causa de tuberculosis humana. Actas 13er. Congreso Argentino de Tisología. Mar del Plata, 1973.

Collins, C.H., M.D. Yates y J.M. Granges, A study of bovine strains of *Mycobacterium tuberculosis* isolated from humans in South-east England, 1977-1979. *Tubercle* 62: 113-116, 1981.

Collins, C.H. y J.M. Granges. The bovine tubercle bacillus. *J. Appl Bact* 55: 13-29, 1983.

Cordés, D.O., J.A. Bullians, D.E. Lake y M.E. Carter. Observations on tuberculosis caused by *Mycobacterium bovis* in sheep. *N Z Vet J* 29: 60-62, 1981.

Davidson, R.M., M.R. Alley y N.S. Beatson, Tuberculosis in a flock of sheep. *N Z Vet J* 29: 1-2, 1981.

Feldman, W.H. Tuberculosis. En: Hull, T.G. (Ed.), *Diseases Transmitted from Animals to Man* 5a. Ed. Springfield, Illinois, Thomas, 1963.

Fernández Salazar, M., V. Gómez Pando y L. Domínguez Paredes. *Mycobacterium bovis* en la patología humana en el Perú. *Bol Inf. Colegio Med. Vet. Perú* 14: 16-18, 1983.

Francis, J. Tuberculosis in Animals and Man. A Study in Comparative Pathology. Londres, Cassel, 1958.

Francis, K., C.L. Choi y A.H. Frost. The diagnosis of tuberculosis in cattle with special reference to bovine PPD tuberculin. *Aust Vet J* 49: 246-251, 1973.

García Carrillo, C. y B. Szyfres. La tuberculosis animal en las Américas y su transmisión al hombre, Roma, Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, 1963.

Griffith, A.S. bovine tuberculosis in man. *Tubercle* 18: 528-543, 1937. Cit Collins y Granges 1983.

Hawthorne, V.M. e I.M. Lauder. Tuberculosis in man, dog and cat. *Am Rev Resp Dis* 85: 858-869, 1962.

Horsburgh, C.R., U.G. Mason III, D.C. Farhi y M.D. Iseman. Disseminated infection with *Mycobacterium avium-intracellulare*. A report of 13 cases and a review of the literature. *Medicine* 64, 1985.

Huitema, H. Development of a comparative test with equal concentrations of avian and bovine PPD tuberculin for cattle. *T. Diergeneeskd* 98: 394-407, 1973.

Isaac, K., J. Whitehead, J.W. Adams, M.D. Barton y P. Coloe. An outbreak of *Mycobacterium bovis* infection in cats in an animal house. *Aust Vet. J* 60: 243-245, 1983.

Kantor, I.N. de, K. Pereiray R. Rovère. Pouvoir pathogène experimental de *Mycobacterium africanum* pour les bovins. *Bull Acad Vet Fr* 52: 499 - 503, 1979.

Karlson, A.G. Tuberculosis En: Dunne, H.W. (Ed.), *Diseases of Swine*, 3a. ed. Ames, Iowa State University Press, 1970.

Kleeborg, H.H. Tuberculosis and other mycobacterioses. En: Hubbert, W.T., W.F. McCulloch y P.R. Schnurrenberg (Eds.), *Diseases transmitted from animals to man*, 6a. ed. Springfield, Illinois, Thomas, 1975.

Konyha, L.D. y J.P. Kreier. The significance of tuberculin test in the horse. *Am Rev Resp Dis* 103: 91-99, 1971.

Liu, S., I. Weitzman y G.G. Johnson. Canine tuberculosis. *J Am Vet Med Ass* 177: 164-167, 1980.

Magnus, K. Epidemiological basis of tuberculosis eradication. 3. Risk of pulmonary tuberculosis after human and bovine infection. *Bull WHO* 35: 483-503, 1966.

Magnus, K. Epidemiological basis of tuberculosis eradication. 5. Frequency of pulmonary calcification after human and bovine infections. *Bull WHO* 36: 703-718, 1967.

Matthias, D. Vergleichende Pathologie der Tuberkulose der Tiere. En: Meissner, G. y A. Schmiedel (Eds.), *Mykobakterien und Mykobakterielle Krankheiten*. Teil VII. Jena, República Democrática Alemana, Fischer 1970.

Myers, J.A. y J.H. Steele. *Bovine Tuberculosis Control in Man and Animals*. St. Louis, Missouri, Green, 1969.

Organización Mundial de la Salud. Comité Mixto FAO/OMS de Expertos en Zoonosis. Tercer Informe. Ginebra, OMS. 1969. (Serie de Informes Técnicos 373).

Organización Panamericana de la Salud. Primer Seminario Internacional sobre Tuberculosis Bovina para las Américas. Santiago, Chile, 21-25 de septiembre de 1970. Washington, D.C., OPS, 1972 (Publicación Científica 258).

Patterson, A.B., J.T. Stamp y J.N. Ritchie. Tuberculosis: En: Estableforth, A.W. e I.A. Galloway (Eds.), *Infectious Diseases of Animals*. Londres, Butterworths, 1959.

Roswurm, J.D. y L.K. Konyha. The comparative-cervical tuberculin test an aid to diagnosing bovine tuberculosis. *Proc Ann Mtng US Anim Hlth Ass* 77: 368-389, 1973.

Ruch, T.C. *Diseases of Laboratory Primates*. Filadelfia y Londres, Saunders, 1959.

Schliesser, T. Epidemiologie der Tuberkulose der Tiere. En: Meissner, G. y A. Schmiedel (Eds.), *Mykobakterien und Mykobakterielle Krankheiten*, Teil VII. Jena, República Democrática Alemana, Fischer, 1970.

Schmiedel, A. Erkrankungen der Menschen durch *Mycobacterium bovis*. En: Meissner, G. y A. Schmiedel (Eds.), *Mykobakterien und Mykobakterielle Krankheiten*. Teil VII. Jena, República Democrática Alemana, Fischer.

Schonfeld, J.K. Human-to-human spread of infection by *Mycobacterium bovis*. *Tubercle* 63: 143-144, 1982.

Sjorgen, E. e I. Sutherland. Studies of tuberculosis in man in relation to infection in cattle. *Tubercle* 56: 133-127, 1974.

Thorol, M.F. Isolation of *Mycobacterium africanum* form monkeys. *Tubercle* 61: 101-104, 1980.

Vestal, A.L. *Procedures for the isolation of Mycobacteria*. Atlanta, Georgia, Centros para el Control de Enfermedades de EUA, 1969 (Public. Health Publication 995).

Wiessmann, J. Die Rindertuberkulose beim Menschen und ihre epidemiologische Bedeutung fur die Veterinarmedizin. *Schweiz Arch Tierhenk* 102: 467-471, 1960.

Wilesmith, J.W. Epidemiological features of bovine tuberculosis in cattle herds in Great Britain *J Hyg (Camb.)* 90: 159-176, 1963.

Winkler, W.C. y N.B. Gale. Tuberculosis. En: Davis, J.W. Karstad y D. O. Trainer (Eds.), *Infectious Diseases of Wild Mammals*, Ames, Iowa University Press, 1970.

EPIDEMIOLOGIA DE LA TUBERCULOSIS BOVINA

Dra. Irma Estela Sommerfelt
República Argentina

Ciertamente la frecuencia y distribución de la Tuberculosis bovina no es uniforme en todo el mundo; hay zonas donde su prevalencia ya no constituye un problema de salud; y otros donde sí lo es. Esta diferencia de distribución está asociada con el grado de desarrollo del país.

Sabido es que la frecuencia y distribución de una enfermedad es la resultante de múltiples factores y que los mismos se encadenan de manera cambiante a través del tiempo. Llegar a identificarlos, favorece la aplicación de medidas de prevención y control. Para analizar los factores que determinan una cierta situación epidemiológica es necesario conocer como se relacionan e interactúan los elementos de la tríada ecológica: el agente, el huésped y el ambiente.

LA RELACION AGENTE-HUESPED-MEDIO AMBIENTE, EN LA PRESENTACION Y DESARROLLO DE LA ENFERMEDAD. CONCEPTO DE MULTICAUSALIDAD Y CADENA EPIDEMIOLOGICA

En primer término se considerarán cada uno de los elementos de la tríada y sus principales características.

Agente causal: *Mycobacterium bovis*

Es un agente biológico y existen ciertas variables del mismo que interesa considerar:

Morfología, infectividad, patogenicidad, virulencia, variabilidad, viabilidad, inmunogenicidad.

El *M. bovis* es infectivo con una patogenicidad considerable, siendo su virulencia variable en función de la edad y del estado fisiológico y nutricional del huésped, siendo en algunos casos baja al principio, para incrementarse en la fase final de la enfermedad.

En cuanto a su variabilidad existe una teoría del posible cambio del tipo bovino al bacilo tuberculoso humano o viceversa; pero modernos estudios establecieron que no existen dudas de la estabilidad de ambas especies.

Su viabilidad varía según donde se encuentre en el medio ambiente: suelo, agua, leche, alimentos, etc. Su relativo poder inmunológico resulta de gran valor para los tests diagnósticos.

HUESPED:

Bovino, hombre, porcinos, ovinos, caprinos, perro, gatos, animales silvestres. Es diferente la importancia epidemiológica de cada uno de estos posibles huéspedes.

Interesa analizar aspectos del huésped, que son motivo de variación en la presentación de la enfermedad: Especie, raza, sexo, edad, susceptibilidad individual, estado fisiológico, utilización, densidad.

Existe una gran variedad de especies que son capaces de contraer la tuberculosis bovina; y en el caso particular de los bovinos existe una mayor resistencia a la tuberculosis en las razas indicadas que en las razas europeas.

La propagación de la enfermedad es mayor y más rápida dentro del ganado lechero que dentro del ganado de carne y se incrementa aún más si el mismo está estabulado o semiestabulado.

La tuberculosis bovina se difunde con mayor rapidez en aquellos animales exigidos en su producción, pero su presentación no es la misma en cada sujeto a igualdad de condiciones y ello se debe a una susceptibilidad individual.

MEDIO AMBIENTE:

Existen variables dentro del ambiente que facilitan la difusión de la tuberculosis bovina como son el clima húmedo, las condiciones sanitarias del medio, sistema de manejo del ganado, la tecnificación, el sistema de comercialización (remates, ferias, acopio de ganado por intermediarios) el personal, según sean sus hábitos sanitarios.

El tipo de manejo a que esté sujeta la población animal que determinará en gran parte la densidad animal, contactos periódicos, vida media del ganado según sea el tipo de explotación, etc.

El nivel socioeconómico y cultural de la comunidad determinará que la misma esté alertada sobre los riesgos de la enfermedad y sobre las medidas sanitarias adecuadas a implementar para prevenirla o controlarla.

FUENTE DE INFECCION:

El principal reservorio de *M. bovis* es el bovino que puede transmitir la infección a otros bovinos, al hombre y a muchas otras especies de mamíferos.

Existen variaciones en la fuente de infección según sea la especie considerada. En el hombre la infección depende de la fuente animal, es muy rara la infección interhumana.

MECANISMOS DE TRANSMISION:

Para que la enfermedad se propague de unos a otros individuos, es necesario que el agente emerja de la fuente de infección, pueda alcanzar el medio ambiente y mantenerse en él hasta penetrar en un nuevo huésped susceptible.

La transmisión de *M. bovis* es en algunas circunstancias en forma directa por secreciones nasofaríngeas y en otras indirecta por medio de vehículos como: leche, alimentos, agua, etc. y según sea la especie, ambos mecanismos de transmisión tendrán diferente importancia.

El *M. bovis* sale del bovino infectado por vía respiratoria, digestiva y otras. Las secreciones del aparato respiratorio se evaporan en el ambiente y permanecen en suspensión en el aire, para luego por vía aerógena, penetrar en el sistema respiratorio de otro animal; esta ruta es la de mayor importancia en los bovinos, quedando en segundo término la vía enterógena.

El hombre adquiere la infección primordialmente por vía digestiva y en segundo lugar por vía aerógena; este orden se invierte cuando la leche y sus derivados sufren un proceso de pasteurización adecuado.

INTERACCIONES AGENTE-HUESPED:

La interacción del agente con el huésped da lugar por un lado, a que el agente pueda penetrar o no, multiplicarse y difundirse dentro del organismo del huésped ocasionándole lesiones de distinta intensidad, pudiendo las mismas quedar latentes o progresar según sea la interacción del agente con el huésped, siendo que éste reacciona frente a la agresión desarrollando procesos de defensa específicos. El primer proceso constituye la patogenia de la infección y el segundo la respuesta inmunitaria.

INTERACCIONES AGENTE-AMBIENTE:

Según sean las características del ambiente al cual el agente es eliminado, este podrá sobrevivir o no fuera del huésped. El *M. bovis* es eliminado por diferentes vías, en el caso de la vía respiratoria, el agente se mantendrá en el ambiente, en gotitas de aerosol

o disecado en el polvo. Al eliminarse por vía enterógena se mantendrá en la leche, agua, suelo, herramientas, etc.

SUS CARACTERISTICAS ZONOTICAS Y SU IMPORTANCIA EN LA SALUD PUBLICA GRUPOS HUMANOS EXPUESTOS AL RIESGO:

El hombre es un huésped accidental de *M. bovis* y se produce la infección por ingestión de leche o productos lácteos crudos, que se hallan contaminados o en forma directa por aerosoles.

El factor de riesgo más importante para el hombre es la presencia de animales afectados de la enfermedad. La tuberculosis humana debida a *M. bovis* ocurre en forma paralela con la tuberculosis en el bovino, y es así que cuando está decrece también lo hace aquella, lo cual demuestra que la mayoría de los casos se deben al bovino, como fuente de infección y muy pocos por contagio entre hombres.

Los niños constituyen un grupo expuesto al riesgo juntamente con los trabajadores rurales; en el primer caso, debido a la costumbre de ingerir leche y sus derivados en forma cruda, también la leche infectada por gotitas y polvo en la sala de ordeño. El personal que trabaja en contacto directo con bovinos enfermos puede adquirir la tuberculosis por vía aerógena y más aún si los animales están estabulados o durante el ordeño.

El hombre puede a su vez transmitir la infección al bovino y a otras especies animales. Cuando un rodeo de animales se halla sano la presencia de una persona tuberculosa actúa como fuente de infección para esos bovinos.

REFERENCIAS:

- Diseases transmitted from animals to man. Chapter XX. Tuberculosis and other Mycobacterioses (H.H. Kleeberg).

- La epidemiología de la tuberculosis bovina (J.D. Roswurm, D.V.M., M.P.H.) CEPANZO.
- Epidemiología general - José Aranda Pastor.
- Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. Pedro N. Acha y Boris Szyfres - OPS/OMS.
- Tuberculosis bovina. Situación en las Américas y aspectos epidemiológicos. Dr. James D. Roswurm. CEPANZO.

PATOGENESIS DE LA TUBERCULOSIS - INMUNIDAD CELULAR E HIPERSENSIBILIDAD TUBERCULINICA

Dra. Isabel N. de Kantor
CEPANZO

Agente etiológico

El principal para el hombre es el *Mycobacterium* aislado por R. Koch en 1882, su virulencia para otros mamíferos, salvo para primates no humanos, es menor.

El agente etiológico más importante de la tuberculosis para el ganado bovino es el *M. Bovis*, aislado por T. Smith en 1898. Es patógeno para otros mamíferos, incluido el hombre.

Si se trata de la tuberculosis aviar es el *M. avium*, que también es capaz de producir lesiones en mamíferos incluido el hombre, aunque con menor virulencia que en el huésped primario.

Existen otras especies de micobacterias, denominadas en general "no tuberculosas", o "atípicas", algunas de ellas potencialmente patógenas para el hombre y los animales. Las micobacterias son parásitos intracelulares facultativos.

Vía de entrada

En general la infección tanto en el hombre como en los bovinos, tiene vía de entrada aerógena. Las pequeñas gotitas con bacilos penetran hasta el alvéolo, allí los bacilos se implantan y comienzan a reproducirse, forman la lesión primaria, por vía linfática llegan al ganglio linfático regional donde continúan reproduciéndose. Se forma el complejo primario. En esta etapa aparece la resistencia adquirida junto con la hipersensibilidad retardada de tipo tuberculínico (fenómenos paralelos, ambos mediados por células), y comienzan a encapsularse las lesiones.

Aspecto de la lesión primaria:

Se sitúa en cualquier parte del tejido pulmonar, generalmente cercano a la pleura. Una característica de las lesiones primarias es su importante compromiso ganglionar. En el hombre es típico de la tuberculosis infantil.

El nódulo presenta tejido necrótico central con caseosis, tejido de granulación vascular, capilares, e infiltración de células monoculares. Los nódulos de primoinfección varían en tamaño de 1mm a varios centímetros.

Desde el ganglio regional, los bacilos pueden pasar por el conducto torácico, a la vena subclavia y de ahí producir una diseminación hematogena. Ella puede dar lugar a la siembra de nódulos con igual característica. Hay bacilemia pasajera, los bacilos llegan a cualquier tejido y pueden formar nódulos que evolucionarán de acuerdo a la resistencia del organismo, encapsulándose y clasificándose, o aumentando y dando nuevas siembras (tuberculosis miliar primaria).

La diferencia macroscópica entre el nódulo de primoinfección y el de reinfección reside en el grado de compromiso ganglionar. En el segundo, éste es muy escaso o no se observa. También la localización: la tuberculosis por reinfección se sitúa en el ápice o zona subapical del pulmón, en el hombre.

La diseminación aerógena se hace por aspiración desde tubérculos miliares localizados en el tejido pulmonar adyacente a pequeños bronquiolos que por caseificación, descargan bacilos a la luz bronquial, originando focos de neumonía aspirativa en los alvéolos tributarios. Estos focos neumónicos generalmente se detienen y encapsulan mostrando células gigantes, células epiteliocidas y tejido conectivo, pues el número de bacilos es menor.

La siembra aerógena puede dar nuevos nódulos en todo el pulmón esparcidos más irregularmente, que cuando se hace por vía hematógena.

La tuberculosis miliar caseificante aguda es una forma de evolución muy rápida, cuando aún no se ha instalado la resistencia adquirida, se caracteriza por nódulos "blandos", con células mononucleares que sufren necrosis laxa (neumonía caseosa aguda), contienen numerosos bacilos.

Al aparecer la resistencia adquirida, el organismo se torna capaz de destruir los bacilos, impidiendo su proliferación. Las lesiones tienden a encapsularse, el nódulo se torna "duro", compacto, con abundantes células epitelioides, gigantes y tejido conectivo.

La tuberculosis pulmonar del adulto, en la cual hay resistencia adquirida, presenta lesiones fibrocaseosas. Cuando en ellas son importantes y se produce la evacuación del material reblandecido, se crean las condiciones para una caverna: ésta puede ser pequeña y rodeada de tejido fibroso, o agrandarse.

Histológicamente la lesión tuberculosa y la reacción tuberculífrica tienen muchas semejanzas.

Las observaciones cuando se inoculan bacilos tuberculosos, desde la primera hora son:

- a) exudación de líquido inflamatorio.
- b) aparición de leucocitos polimorfonucleares
- c) aparición de leucocitos mononucleares
- d) necrosis del tejido conectivo
- e) aumento de permeabilidad de vasos sanguíneos
- f) ordenamiento de fagocitos mononucleares en empalizada y formación del tubérculo.

Evolución posterior según la resistencia:

La reacción de hipersensibilidad retardada por inoculación de tuberculina en un organismo sensibilizado comprende las siguientes etapas:

a) a las 2-3 horas, respuesta inflamatoria moderada con migración de polimorfonucleares, desde los vasos hacia los tejidos (aumento de permeabilidad vascular. eritema).

b) a las 5-6 horas, los polimorfonucleares desaparecen de las áreas perivasculares, y éstas son ocupadas por las células mononucleares (infiltrado de células mononucleares).

c) 8 horas, Edema, con reaparición de polimorfonucleares. Aspecto de inflamación aguda.

d) 24 horas, los polimorfonucleares se alejan de la zona perivascular hacia los tejidos y en esta área, quedan inmovilizados los mononucleares.

En la reacción tuberculínica hay 2 fases: un primer pico a las 3-4 horas, no específico, y otro después, debido a la sensibilidad específica.

Se ha encontrado correlación entre la reacción leída a las 6-8 horas y el nivel de IgG y anticuerpos específicos antimicrobianos.

Se halló correlación entre el resultado de la prueba a las 48 horas, y el nivel de inmunidad celular.

Mecanismo de la inmunidad antituberculosa:

El conocimiento de este mecanismo, que aún hoy es incompleto, comenzó con la descripción que hizo Koch de un fenómeno que lleva su

nombre, en cobayos infectados por vía sistémica con *M. tuberculosis*: después de 3 semanas aplicaba una nueva dosis de bacilos por vía intradérmica, y observaba que en el lugar de la segunda inoculación, después de producirse un nódulo que alcanzaba su mayor tamaño a las 72 horas, se curaba espontáneamente, aunque el cobayo moría por la tuberculosis debida a la primera inoculación. Esta inmunidad de manifestación local, tiene un carácter diferente de la inmunidad por anticuerpos circulante, y por el papel fundamental desempeñado en ella por los leucocitos mononucleares se ha denominado "inmunidad celular" o "medicína por células".

También Koch mostró que la misma reacción local se podía producir por inoculación intradérmica de tuberculina, un extracto libre de bacilos, y ello constituye la manifestación de la hipersensibilidad retardada, cuya aparición en el animal y en el hombre infectado, se produce luego de un período aproximado de tres semanas post-infección, coincidente con la aparición de inmunidad específica.

La transferencia pasiva de la hipersensibilidad tuberculínica mediante células linfoides y no mediante suero fue demostrado en 1945 por M.W. Chase, en el cobayo. Muchos autores confirmaron posteriormente ese hecho. La transferencia de la inmunidad antituberculosa nunca se ha obtenido por suero de sujetos inmunes. Lurie, en 1942 observó que transfiriendo células linfoides de conejos inoculados con BCG a la cámara anterior del ojo de conejos normales, se lograba la inhibición del desarrollo de *M. tuberculosis* inoculado en esa cámara.

Lefford y Mckaness (1973) lograron la transferencia de la inmunidad antituberculosa en ratas, por pasaje de linfocitos del conducto torácico de animales inmunes. Posteriormente Lefford (1975) demostró el mismo fenómeno en el ratón: transfiriendo linfocitos de ratones inmunizados con BCG a recipientes singéncicos (genéticamente semejantes).

Cómo se manifiesta la inmunidad celular ante el antígeno bacilar?

La respuesta inmunitaria es el granuloma, que se puede definir como la colección circunscripta de células inflamatorias, principalmente de tipo mononuclear, que se agregan alrededor del antígeno insoluble o particulado. Hay granulomas de otros orígenes además del tuberculoso. El antígeno puede o no ser conocido, pero siempre existe, para que haya reacción granulomatosa. La característica común de todos los granulomas, ya sean a cuerpo extraño o inmunológicos, es la participación del macrófago, y la característica común, sólo de los inmunológicos es la participación del linfocito T.

Entre los antígenos productores de granulomas, además de las micobacterias se hallan: *Listeria*, *Salmonella*, *Brucella*, *Treponema*, hongos como *Histoplasma*, *Coccidioides*, *Cándida* y parásitos como el huevo del *Schistosoma mangonii*. Algunos materiales inanimados, actuando haptenes (Silicio, Zirconio, Berilio) producen granulomas inmunológicos. En el granuloma tuberculoso, se halla un centro caseoso con necrosis, donde está el bacilo, luego la primera línea de defensa: los macrófagos activados que rodean al centro caseoso y fagocitan las células gigantes, relacionadas con los macrófagos, y más atrás los linfocitos T.

El linfocito T es el director de orquesta. Inicialmente es el del fenotipo LITL: helper. Existe colaboración entre linfocitos T y B.

Una célula de intervención tardía en el granuloma es el fibroblasto. Los granulomas muy pequeños pueden ser reabsorbidos, pero en general hay reparación tisular a cargo de los fibroblastos, quedando una cicatriz: la fibrosis.

Las células de granuloma vienen de la sangre. Las células mononucleares en el granuloma tienen una capacidad limitada de multiplicación in situ: 10 ciclos mitóticos. Su vida media es de 7 días. La reacción granulomatosa persiste mientras exista el antígeno.

Hay una activación bidimensional entre el linfocito T y el macrófago. En el primer sentido actúa el Factor de activación de macrófago que hoy se sabe casi exclusivamente es interferón. Del macrófago al linfocito el Factor de activación linfocitaria: es la Interleukina 1.

El macrófago del granuloma debe estar en presencia del linfocito y del antígeno, entonces se produce la presentación del antígeno. Se necesitan los tres componentes, y los linfocitos T comienzan a proliferar. Los macrófagos encargados de la presentación del antígeno tienen una sub-región receptora IA () que codifica el antígeno IA y otro que codifica el antígeno IE ().

Esto se ha determinado mediante anticuerpos monoclonales anti IA y anti IE. Si se agregan estos anticuerpos el cultivo de macrófagos se bloquea la presentación de los antígenos correspondientes.

Un 75% de los macrófagos expresan IA y están organizados en la periferia del granuloma. En el centro están las células IA (antígenos).

El monocito es la célula que migra desde la médula ósea al granuloma, vía sanguínea (no expresa receptor IA). Llega y se sitúa en la periferia del granuloma. Allí se baña de interferón (linfokina) y comienza a expresar receptor IA por 2-3 días, y luego va avanzando al centro del granuloma perdiendo la expresión de IA.

La cronología de la acción sería como sigue:

Antígeno + Macrófago IA: procesamiento del antígeno

Presentación del Antígeno - IA: reacción granulomatosa con activación bidimensional linfocito vs. macrófago.

El linfocito sufre una activación específica transformándose en un blasto y empieza a producir factores.

Algunos de los receptores del macrófago, diferentes del IA, podrían además tener actividad reguladora sobre el linfocito.

Los linfocitos T sensibilizados pasan al flujo sanguíneo y circulan por largos períodos de tiempo (meses, años). La estimulación por el antígeno bacilar o la tuberculina reproduce la reacción.

Dentro de este contexto existen diferencias en el grado de inmunidad alcanzable por cada especie animal, en relación con cada micobacteria patógena. Ello establece un equilibrio huésped-parásito, que es diferente por ejemplo en el hombre vs. *M. tuberculosis* que en el bovino vs *M. bovis*.

El hecho de que la virulencia del bacilo y la inmunidad del huésped lleguen a un cierto equilibrio, hace posible la cronificación de la enfermedad y ello a su vez el mantenimiento de las fuentes de infección y el pasaje del bacilo de un huésped a otro (cadena de transmisión).

La rotura de esa cadena mediante la localización de casos y el tratamiento de tuberculosis humana, o mediante el sacrificio de los animales infectados con tuberculosis bovina, es el mecanismo para el control y erradicación de la tuberculosis.

LA TUBERCULOSIS BÓVINA EN LAS DISTINTAS ESPECIES ANIMALES DE IMPORTANCIA PECUARIA - ANATOMIA PATOLOGICA

Elmo de la Vega
CEPANZO

Bovinos

El *Mycobacterium bovis* es casi exclusivamente el agente causal de la tuberculosis bovina.

La infección por *M. avium* puede no dejar lesiones visibles, pero si éstas desarrollan, se localizan en los ganglios retrofaríngeos o mesentéricos, siendo su tamaño no mayor de 2 cm de diámetro. Por lo general, estas lesiones son encapsuladas y calcificadas, no observándose diseminación de la lesión, pero si ocurre, son las membranas serosas las más afectadas. Ocasionalmente pueden encontrarse lesiones en pulmón, riñón, hígado o bazo. El aspecto histológico de estas lesiones se caracteriza por abundantes células epitelioideas y bacilos pleomórficos ácido-resistentes.

En general, la infección de los bovinos por el *M. tuberculosis* produce lesiones no progresivas en ganglios faríngeos, mesentéricos o torácicos.

Vías de Infección

Las más comunes son las vías respiratoria y digestiva; las menos frecuentes, las vías cutánea, congénita y genital.

Lesión Primaria

La lesión primaria en bovinos se presenta en el pulmón y puede describirse como lesión o múltiple; se presenta en cualquier lóbulo, pero generalmente se encuentra en la porción dorsocaudal del lóbulo diafragmático. Casi siempre se observa lesión del ganglio regional.

El proceso comienza como una bronquiolitis terminal con compromiso alveolar, de tal modo que la lesión inicialmente es sublobular o lobular.

Puede haber más de un foco primario dentro de un lóbulo, la lesión tiene el aspecto de una hoja de trébol. En algunos casos, más de un lóbulo puede estar comprometido.

El cuadro histológico es el conocido como granuloma tuberculoso.

Evolución del complejo primario

Tanto la lesión parenquimatosa como la secundaria ganglionar pueden curar completamente. La enfermedad puede permanecer latente o generalizarse. En general, y con muy raras excepciones, la tuberculosis bovina progresa y se generaliza.

Luego de la infección primaria, los bovinos desarrollan resistencia e hipersensibilidad.

La resistencia adquirida puede retardar el progreso (la evolución) de la lesión, pero no la detiene. Una de las razones de este progreso o evolución es que generalmente en el foco primario se presentan pequeñas cavidades que comunican con los bronqueolos y permiten la diseminación intracanalicular, vía importante en la diseminación local en el pulmón de los bovinos.

Aspecto de la lesión primaria pulmonar

Es muy variable y depende de la edad de la lesión y del ritmo de avance.

La lesión reciente no se halla encapsulada, es pequeña y está rodeada por tejido alveolar condensado.

Como la tuberculosis bovina se caracteriza por su rápida caseificación y calcificación, estos dos aspectos pueden ya apreciarse en los primeros estudios de la lesión primaria.

La caseificación y calcificación pueden estar rodeadas por una cápsula fibrosa, pero esto no indica curación.

Los nódulos primarios, cuando son múltiples, pueden confluir y presentar el aspecto de grandes nódulos de neumonía caseosa. Esta lesión puede estar también encapsulada y calcificada, como así también representar cavidades pequeñas, debido a que se hallan delimitadas por los septos intralobulares del pulmón del bovino.

Generalización Precoz

Este proceso ocurre frecuentemente. El tejido pulmonar es más o menos denso y se halla sembrado de nódulos pequeños translúcidos al comienzo del proceso y amarillo grisáceos, cuando ha transcurrido algún tiempo.

Los tubérculos no se hallan distribuidos uniformemente, siendo más numerosos en las porciones menos ventiladas del parénquima. Los ganglios regionales presentan casi siempre lesiones tuberculosas. Los cambios tisulares generalmente son de naturaleza exudativa con caseificación, pero pueden ser también productivos y determinar la formación de nuevos tubérculos. Otra característica importante es que las lesiones ganglionares son extensas, presentando linfopatías exuberantes. La calcificación es notable y ocurre tempranamente en los ganglios comprometidos.

En el caso de la generalización retardada, el desarrollo de tubérculos es menor que en la precoz; las lesiones se encuentran en diferente estado de evolución, se observa calcificación y caseificación

en el centro del tubérculo y los ganglios también se hallan afectados.

En terneras, ocasionalmente se observa una tercera forma de generalización: la llamada acinosa galopante y la neumonía lobular-caseosa. En esta forma anatómica, el pulmón presenta un aspecto lardáceo, con focos de caseificación de forma irregular.

También menos frecuentemente se observa la llamada tuberculosis infiltrante lobular, que es otra forma de generalización caracterizada por la presencia de grandes focos productivos, sin tendencia a la caseificación, siempre con compromiso de los ganglios.

Periodo post-primario de infección

Tuberculosis pulmonar crónica: Es una forma anatómica de la enfermedad, bien definida, que se presenta en individuos que han sufrido una infección previa y, por lo tanto, tienen aumentada su resistencia orgánica.

Las características más importantes de este tipo de la enfermedad es que la lesión se extiende sólo por vía intracanalicular. No se observan compromiso de ganglios regionales ni metástasis hematógenas a otras partes del cuerpo y predominio de procesos de reblandecimiento con muy poca calcificación.

Las siguientes son las principales lesiones que presenta la tuberculosis crónica:

- a) Focos acinosos
- b) Foco acinoso-nodular o acino-nodoso
- c) Caverna tuberculosa
- d) Úlcera tuberculosa

Tuberculosis de los porcinos

El cerdo es susceptible a los tres tipos principales de micobacterias: bovis, aviar y humana (Tuberculosis).

La incidencia de infección con cualquier tipo, depende de la oportunidad de exposición de los animales, es decir, la convivencia de los cerdos con bovinos, aves u hombre que padecen la enfermedad.

El *M. bovis* es más capaz de producir tuberculosis generalizada en el porcino, la sigue el aviar y rara vez el humano, pues este último da origen a lesión localizada en la puerta de entrada.

La principal puerta de infección es la digestiva, aunque pueda ser también la respiratoria o a través de heridas (por ejemplo contracción).

A simple vista el complejo primario completo es difícil de observar, pero se encuentra en la mucosa intestinal, ganglios retrofaríngeos, mesentéricos o portal.

Hay ciertas diferencias entre las lesiones producidas por *M. bovis* y *M. avium*. El bovino da lugar a lesiones similares a las que se observan en el vacuno, es decir, son lesiones caseificadas calcificadas con una cápsula fibrosa. El *M. avium* en cambio produce lesiones proliferativas por tanto el cuadro histológico está dominado por tejido de granulación, la caseificación en general no es un aspecto dominante aunque pueden encontrarse pequeños focitos en los tubérculos que se localizan en el hígado. Los ganglios son muy grandes y de aspecto lardáceo. La tuberculosis pulmonar del cerdo en general es hematógena y rara vez se presenta como primo-infección. En el primer caso, las lesiones son similares, pero puede presentarse consolidación de grandes áreas de los lóbulos anteriores, lo que recuerda en su aspecto a la bronconeumonía caseosa del bóvido. En estos casos también existe traqueitis tuberculosa. La tuberculosis miliar del pulmón por *M. avium*

tiene el aspecto de pequeñas perlas subpleurales, debido a pequeños tubérculos de las paredes de los linfáticos a través de los que difunde el proceso.

En el hígado, el *M. bovis* produce tuberculosis miliar o grandes nódulos por confluencia de los tubérculos pequeños. El *M. avium* produce en el hígado lesiones distintas, pero son tubérculos miliares con lenguetas interseptales que recuerdan las lesiones producidas por larvas de *Ascaris* o *Staphanurus dentatus*. Asimismo es difícil, a simple vista diferenciar tuberculosis aviar de las infiltraciones linfoides en caso de linfomas del cerdo.

En el bazo las lesiones de tuberculosis se observan en caso de generalización del proceso, sobresalen de la superficie del órgano y su aspecto varía de acuerdo con el tipo de micobacteria.

La tuberculosis de las serosas es rara en los porcinos, sin embargo, son frecuentes las lesiones del esqueleto axial.

La meningitis tuberculosa es frecuente en caso de generalización del proceso causado por *M. bovis*, siendo de carácter miliar y tiende a ser una inflamación exudativa aguda.

Puede encontrarse también lesiones en la piel, genitales y en los ojos.

Tuberculosis de ovinos y caprinos

Estas dos especies también son susceptibles a los *Mycobacterium*, especialmente el *bovis* y *avium*, siendo más resistentes a la tuberculosis.

La ruta de infección más común en cabras y también en ovinos parece ser la aerógena ya que las lesiones primarias se encuentran casi siempre en el pulmón.

En general, la tuberculosis de los rumiantes pequeños es muy semejante a la de los bovinos, tanto en lo referente a la anatomía patológica, como a su evolución.

La tuberculosis pulmonar en caprinos es de carácter marcadamente exudativa, siendo su aspecto principal la neumonía caseosa. Otra característica es su tendencia a su temprana diseminación broncógena.

Las lesiones que pueden distinguirse en caprinos son: el foco primario, las formas de generalización y menos frecuentemente, tuberculosis pulmonar crónica.

La enfermedad en ovinos en general es semejante a los caprinos.

Tuberculosis en los equinos

Los equinos aparentemente tienen una alta e innata resistencia al bacilo tuberculoso, ya que esta enfermedad es rara en esta especie.

El *M. bovis* es el que principalmente produce la enfermedad en equinos, sin embargo, el *M. avium* y el *M. tuberculosis* pueden provocar enfermedad local o generalizada.

La vía de infección al parecer es exclusivamente la digestiva y el complejo primario incompleto, localizándose en los ganglios mesentéricos o retrofaríngeos, casi nunca se encuentran huellas a nivel de mucosa digestiva, sin embargo, cuando el *M. avium* es el involucrado se encuentra lesión proliferativa en intestino que recuerda a la paratuberculosis de los bovinos.

Las lesiones pueden radicarse exclusivamente en el tracto digestivo, pero cuando el proceso se generaliza se observa siembra miliar o conglomerados de tubérculos.

Las lesiones de generalización se localizan en el hígado, membranas serosas, bazo, piel y glándulas mamarias.

Se han descrito lesiones tuberculosas en las vértebras cervicales sin embargo, no se señalan alteraciones en médula espinal porque ésta no se examina prolijamente, de cualquier manera parecería que la tuberculosis del SNC y órganos genitales, es rara en esta especie. El cuadro anátomo-patológico de la tuberculosis en equinos es distinto, al descrito pues mientras los procesos exudativos, caseificación y calcificación dominan el cuadro en los bovinos, en los equinos la lesión macroscópica tiene un aspecto lardáceo uniforme o semejando a un sarcoma, puede ocurrir una ligera caseificación que se observa como pequeños puntos en el centro de la lesión y la calcificación, si existe, es difícil visualizarla al examen macroscópico. El cuadro histológico se caracteriza por infiltración de células mononucleares, células epitelioides y en mayor o menor número células gigantes multinucleadas, pero hay ausencia de infiltración linfocítica.

La tuberculosis pulmonar en equinos es hematógena y puede ser miliar o de grandes nódulos. La lesión progresa por expansión, la diseminación bronquial, importante en bovinos, no se produce en equinos, los ganglios regionales están siempre comprometidos.

Si la lesión primaria es visible en el intestino, toma la forma de úlcera y es más común en el intestino grueso que en el delgado.

En el hígado y bazo las lesiones son de aspecto nodular y los órganos se presentan hipertrofiados, el bazo es más frecuentemente afectado y la lesión se confunde con un sarcoma.

Son frecuentes lesiones sobre las membranas serosas, son de aspecto nodular y generalmente se acompañan con colección de fluido en las cavidades.

SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD DE LOS TESTS

Dr. Alfredo Nader
República Argentina

Los estudios de prevalencia de distintas enfermedades del ganado, también denominadas relevamientos, están siendo cada vez más comúnmente utilizados en práctica sanitaria a distintos niveles. El propósito de su aplicación no es solamente conocer la magnitud del fenómeno o frecuencia de la enfermedad en la población en estudio, sino también poder cuantificarlo en términos del daño económico que produce.

Si bien los resultados muestrales nos permitirán inferir, con determinados niveles de confianza, cuales serán los parámetros poblacionales de una determinada enfermedad, debemos tener presente que esos valores absolutos estarán influenciados por factores, y errores, no solamente propios del muestreo sino también por otras condiciones que dependen exclusivamente del test utilizado. De éstas trataremos de analizar dos, la sensibilidad y la especificidad, no siempre bien comprendidas o interpretadas.

Para numerosas enfermedades los test serológicos o inmunológicos constituyen el instrumento diagnóstico de elección. Ellos determinan la frecuencia y distribución de un agente infeccioso en determinada población a través de la detección de anticuerpos específicos en el suero sanguíneo o de reacciones inmunitarias en los animales de estudio. Los resultados de estos tests expresan la capacidad del animal para producir defensas detectables y mensurables contra un agente específico.

Un resultado positivo sólo indicaría entonces la exposición del animal en cuestión al agente en algún momento de su vida previo al estudio, pudiendo encontrarse en ese momento en período de incubación, enfermo, recuperándose o inclusive sano. Una vacunación con organismos muertos, atenuados o modificados también puede dar un resultado positivo, lo mismo que cuando ha recibido anticuerpos contra el agente, maternos o por antisueros.

Por otra parte siempre alguna proporción de los resultados de los test serológicos pueden deberse meramente a errores como la existencia de mecanismos de defensa contra un agente distinto al que se está investigando pero que tiene alguna semejanza antigénica y produce reacciones cruzadas. Positividad no es sinónimo de enfermedad en la totalidad de los casos. Un animal puede resultar negativo cuando realmente está infectado o viceversa si lo reciente de la infección no ha permitido el adecuado desarrollo de anticuerpos o lo crónico de la enfermedad lo ha hecho pasar a un estado de energía. El test en ambos casos no podría clasificarlo correctamente.

Siendo la sensibilidad de un test su capacidad de identificar correctamente como positivos a los animales infectados y la especificidad de correctamente identificar como negativos a los animales no infectados, si en una tabla de 2 x 2 donde las columnas representan el verdadero estado de los animales y las filas al resultado del test.

		REAL ESTADO DE LOS ANIMALES		
Resultado del test	POSITIVOS	NEGATIVOS		
Positivos	a	b	a + b	
Negativos	c	d	c + d	
	a + c	b + d	total	

La sensibilidad (S_p) será igual a $S: \frac{a}{a + c}$, la probabilidad de encontrar animales positivos al test sobre el total de animales infectados; La especificidad (E_p) será igual a $E: \frac{d}{b + d}$, la probabilidad de clasificar como negativos a los animales libres de la enfermedad.

Cuando uno de estos tests se aplica sobre una población animal, digamos de 1,000 individuos, de los que asumimos el 10% o sea 100 animales están infectados si arbitrariamente fijamos la sensibilidad en 90% y la especificidad en 85%; los resultados expresados en una tabla de 2 x 2 serían los siguientes:

		REAL ESTADO DE LOS ANIMALES		
		Enfermos	Sanos	Total
Resultados de Test	Positivos	90	135	225
	Negativos	10	765	775
	Total	100	900	1,000

En la práctica rural los valores de $a + c$ (100) y $b + d$ (900) no se conocen ni se pueden determinar con exactitud, obteniéndose sólo los correspondientes $a + b = (225)$ y $c + d (775)$ que surgen directamente de la práctica diagnóstica.

Por consiguiente el profesional actuante deberá estar prevenido sobre la inclusión de posibles falsos positivos (135) y falsos negativos (10) en la clasificación, producto de la sensibilidad y especificidad de cada test en particular, que no siempre son conocidas. De la sensibilidad del test elegido dependerá la mayor o menor proporción de enfermos detectados, mientras que la especificidad determinará la proporción de falsos positivos que formarán parte de la tasa de prevalencia de la enfermedad que será simplemente igual a: $\frac{a + b}{\text{Total}}$

Si bien existen trabajos de determinación de sensibilidad y especificidad de algunos tests, debe tenerse presente que estos valores deben tomarse sólo como estimativos ya que los mismos variarán con cada población animal, con cada investigador.

Los tests no son 100% precisos en su capacidad de identificar correctamente animales infectados y sanos. Su sensibilidad y especificidad deben mensurarse a través del estudio de una cantidad de animales de condición sanitaria que sea perfectamente conocida y confirmada por otro tipo de estudios como por ejemplo anatómo-patológicos, cultivos o inoculación a animales de laboratorio y comparada con los resultados recogidos en el test.

Si mediante una investigación se determinaran la sensibilidad y especificidad de un test, puede llegar a calcularse la real prevalencia de la enfermedad mediante la aplicación de la siguiente fórmula:

$$P \text{ (real prevalencia)} = \frac{P(T+) + E_p - 1}{E_p + S_b - 1}$$

o puesto de otra forma:

$$\text{Real prevalencia: } \frac{\text{Prevalencia encontrada (total de positivos)} \\ \text{más especificidad} - 1}{\text{Especificidad más Sensibilidad} - 1}$$

Para el ejemplo anterior

$$\text{Real Prevalencia } \frac{.225 + .85 - 1}{.85 + .90 - 1} = \frac{.225 + .85 - 1}{.85 + .90 - 1} = \frac{.75}{.75} = .1$$

Esta proporción, 0.1, corresponde exactamente al 10% de prevalencia inicialmente establecido y no coincide con el resultado del muestreo (22.5%).

Cabe entonces considerar otras condiciones de los tests que son el valor predictivo y el valor predictivo negativo. El primero también denominado diagnósticoabilidad cuando el test se emplea para muestreos, es la proporción de animales positivos realmente infectados

$\frac{(a)}{(a + b)}$, mientras que el valor predictivo negativo es la proporción

de animales sanos que no reaccionan al test: $\frac{d}{c + d}$

Si la sensibilidad y especificidad de un test no se modifican el resultado del valor predictivo positivo varía directamente con la prevalencia de la enfermedad. A mayor prevalencia corresponderá un valor predictivo positivo más elevado.

Cuando la prevalencia de una enfermedad disminuye, el valor predictivo positivo del test se irá reduciendo y aumentará consecuentemente la eliminación de falsos positivos.

Es por eso que para sanear un rodeo infectado deberá recurrir a pruebas lo más sensibles posibles que no deberán utilizarse en casos de rastreos o de recheques de rodeos libres, considerando la posibilidad de cambiar de prueba, pasando a una menos sensible cuando se ha logrado alcanzar una prevalencia muy baja digamos menor del 1%.



GUIA TECNICA DE METODOS Y CRITERIOS DE INTERPRETACION DE LA PRUEBA TUBERCULINICA EN BOVINOS

F. Errico *

INTRODUCCION

La prueba tuberculínica, de una u otra forma, es la principal herramienta para la detección y eliminación de la tuberculosis en los animales.

Dentro de los métodos de control o erradicación de la tuberculosis bovina, las pruebas tuberculínicas desempeñan un rol importantísimo cuando son aplicadas con criterios definidos y objetivos claros.

Las pruebas tuberculínicas, como todas las pruebas biológicas, no son perfectas. Afortunadamente, el grado de resultados falso - positivos no es elevado. El uso adecuado de varios procedimientos para la prueba tuberculínica, exámenes post - mortem y pruebas de laboratorio, pueden reducir estos errores a niveles muy bajos.

Solamente por medio de un conocimiento completo de la enfermedad, una exacta visión de la situación, tanto particular como general, y criterios justos, se puede lograr el control satisfactorio o la erradicación de la tuberculosis bovina.

No podemos esperar que la prueba tuberculínica piense por nosotros. Dentro de la dinámica de la tuberculosis en una población bovina, debemos tener en cuenta varios puntos:

- a. La propia característica de la enfermedad en cada país, en la que influyen: el medio en que viven los animales, las prácticas de su manejo y comercialización, los métodos empleados para detectar y eliminar la enfermedad y las precauciones adoptadas para proteger los animales sanos.
- b. No se pueden separar los aspectos técnicos de los políticos y económicos, ya que las repercusiones de la tuberculosis bovina en la Salud Animal y en la Salud Pública serán cada vez más serias, a medida que progrese la industria ganadera de un país.

* Médico Veterinario, Técnico del Centro de Investigaciones Veterinarias "Miguel C. Rubino", Uruguay.

- c. La índole crónica de la tuberculosis induce a la gente a aceptarla como algo inevitable y no hacer todo lo necesario para eliminarla. También es causa de que los Médicos Veterinarios olviden que la enfermedad se puede propagar rápidamente en determinadas condiciones.
- d. Debemos tener siempre en cuenta que ningún animal que haya estado en contacto con ganado tuberculoso puede ser considerado totalmente a salvo de la enfermedad mientras viva.

Antes de decidir qué procedimientos utilizar para realizar la prueba tuberculínica, debemos considerar lo siguiente:

- ¿Por qué debe aplicarse la prueba tuberculínica?
- ¿Qué se conoce de los animales a examinar?
- ¿Qué deseamos lograr con dicha prueba?

A continuación se describe una guía general de las tuberculinas, métodos y criterios de interpretación de las pruebas tuberculínicas en el ganado bovino. Son criterios generales que se han tomado de países con una vasta experiencia en control o erradicación de la tuberculosis bovina. Posteriormente, tanto las dosis de tuberculina como los criterios de interpretación de los resultados, podrán ir variando de acuerdo a la experiencia propia adquirida y a la evolución de la enfermedad.

TUBERCULINAS

Es cualquier mezcla de tubérculo - proteína derivada de un filtrado de cultivo de *Mycobacterium* para ser utilizado con el propósito de medir la hipersensibilidad retardada, causada por la infección con micobacterias.

Existen diferentes tipos:

a. Tuberculina vieja de Koch (KOT):

Actualmente se prepara concentrando por calor los filtrados de cultivos de micobacterias en medio sintético (HCSM).

b. Tuberculina PPD o Derivado Proteico Purificado:

Se prepara por precipitación de las proteínas a partir de los filtrados de cultivos de micobacterias en medios sintéticos.

En la tuberculina HCSM, la concentración por calor produce desnaturalización de algunas proteínas; este inconveniente ha sido solucionado separando las proteínas por precipitación en lugar de hacerlo por calor (PPD). Hasta no hace mucho tiempo el PPD empleado para la prueba tuberculínica era preparado de *M. tuberculosis* y no de *M. bovis*, debido al mayor rendimiento de antígeno obtenido a partir del primero. Pero en los últimos años se pudo obtener PPD bovino con buenos rendimientos en la producción, por lo que ya no se justifica el empleo de PPD de cenizas humanas. En la actualidad el PPD bovino constituye el mejor reactivo con que se cuenta para detectar la infección tuberculosa en los bovinos.

Tanto la tuberculina HCSM como la PPD pueden prepararse de otras micobacterias, como por ejemplo:

- Tuberculina PPD aviar de *M. avium*
- Tuberculina PPD de John o Johnina de *M. johnei*

La tuberculina a utilizar deberá ser siempre de potencia controlada, de acuerdo al patrón internacional.

- PPD bovino 1 ml (1 mg/ml)
- PPD aviar 1 ml (0,5 mg/ml) = 25.000 UI

LAS PRUEBAS TUBERCULINICAS Y SU INTERPRETACION

Las pruebas tuberculínicas son de tres tipos:

- La prueba caudal simple
- La prueba cervical simple
- La prueba cervical comparativa

Todos los animales sometidos a pruebas tuberculínicas deberán estar identificados en forma indeleble, tanto para la inoculación como para la lectura.

1. La prueba tuberculínica caudal simple

Es la prueba de rutina que se aplica en los rebaños cuyo estado de infección es desconocido o negativo a la prueba tuberculínica realizada como mínimo con tres meses de antelación.

Es aplicada en el tercio posterior del pliegue ano - caudal, izquierdo o derecho, a unos 6 cm de la base de la cola y en el centro del pliegue. La inyección se hará con 0,1 ml de tuberculina PPD bovino (1 mg/ml), previa limpieza y desinfección de la región con alcohol. (Figura 1).

FIGURA 1: PRUEBA CAUDAL SIMPLE

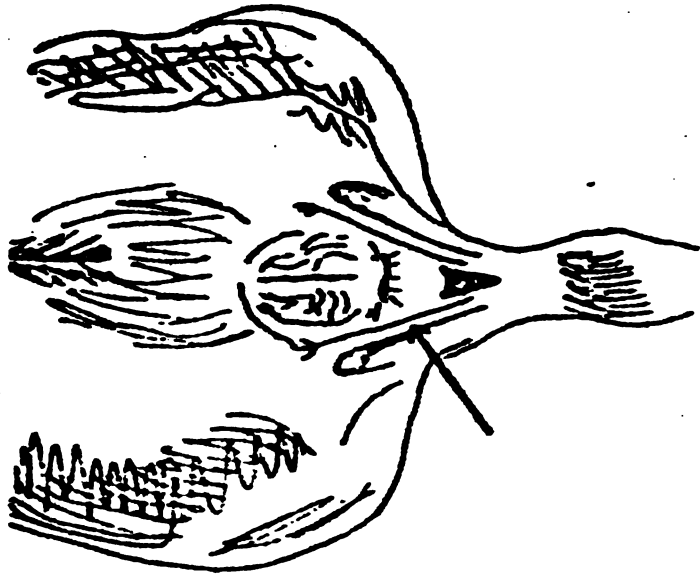
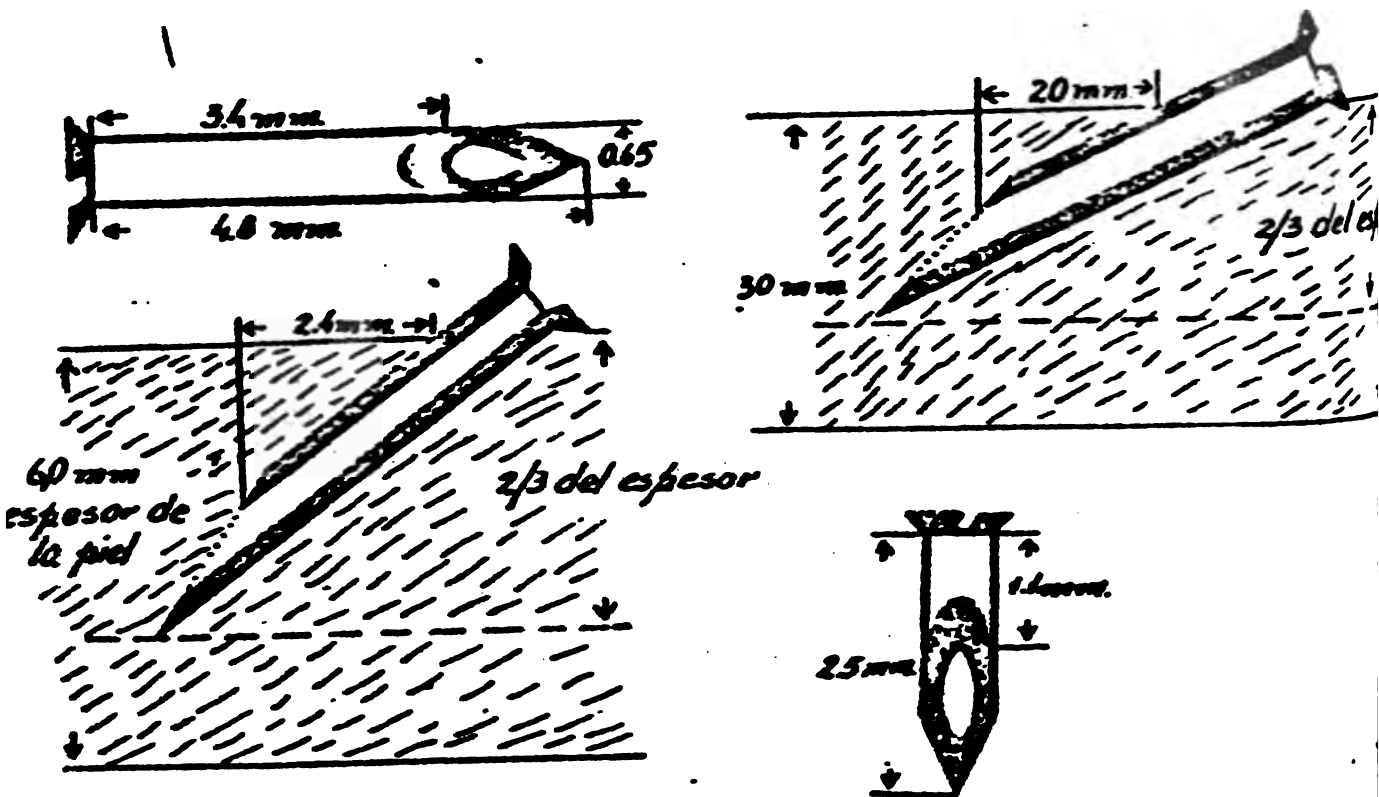


FIGURA 2: AGUJAS DE VARIOS TAMAÑOS RECOMENDADAS PARA UTILIZARSE EN LAS PRUEBAS TUBERCULÍNICAS



La aguja (calibre 25 ó 26 y de 3/8 pulgadas (+ 9,5 mm)) de exposición, debe insertarse intradérmicamente en toda su longitud, en las capas superficiales de la piel, luego retirarla un poco e inyectar la tuberculina. En una inyección bien aplicada aparecerá una pápula en el sitio inculado (Figura 2).

La lectura de las reacciones se hacen a las 72 (+ 6) horas después de la inyección de tuberculina, levantando con una mano la cola hasta estirar ligeramente el pliegue ano - caudal. Con el índice y pulgar de la otra mano se palpa el pliegue para comprobar si hay engrosamiento.

En cada animal que se observe una reacción, lo más apropiado es medirlo con un calibre y anotar el engrosamiento de la piel en un formulario, sustrayéndole el grosor del pliegue opuesto no inculado, ya que de esta manera las mediciones serán objetivas y no subjetivas en base a la palpación y observación visual, las que inducen a errores en su interpretación (Figura 3).

1.1. Interpretación de la prueba tuberculínica caudal simple

Positivos	Un engrosamiento de la piel de 5 mm o más
Dudosos	Un engrosamiento de la piel entre 3 y 4 mm
Negativos	Un engrosamiento de la piel menor de 3 mm

En esta prueba se admite también estimar el engrosamiento por palpación, signándose convencionalmente a:

P	Un engrosamiento circunscripto de 5 mm de diámetro
P P P	Indican engrosamiento 2, 3, 4 veces mayores a P
2X	Una tumefacción difusa; el pliegue caudal inyectado es dos veces más grueso que el opuesto no inyectado
3X, 4X, 5X	Tumefacciones difusas del pliegue caudal inyectado 3, 4, 5 veces más gruesos que el no inyectado.

En un rebaño se pueden dar las siguientes situaciones:

- a. Si el profesional comprueba que no hay animales con una reacción mayor de 5 mm y sí reacciones de 3-4 mm, se deberá clasificar al rebaño como "problema" y a los 7 días realizar la prueba comparativa cervical en los animales con esos engrosamientos.

FIGURA 3: CALIBRE RECOMENDADO PARA LAS PRUEBAS TUBERCULINICAS

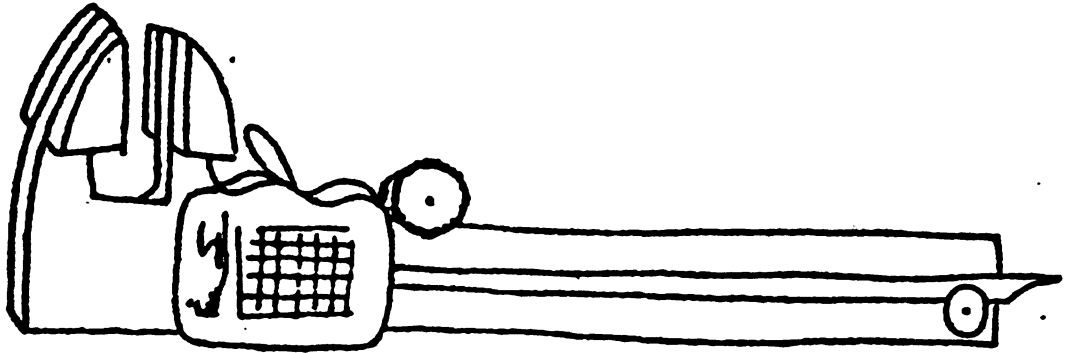
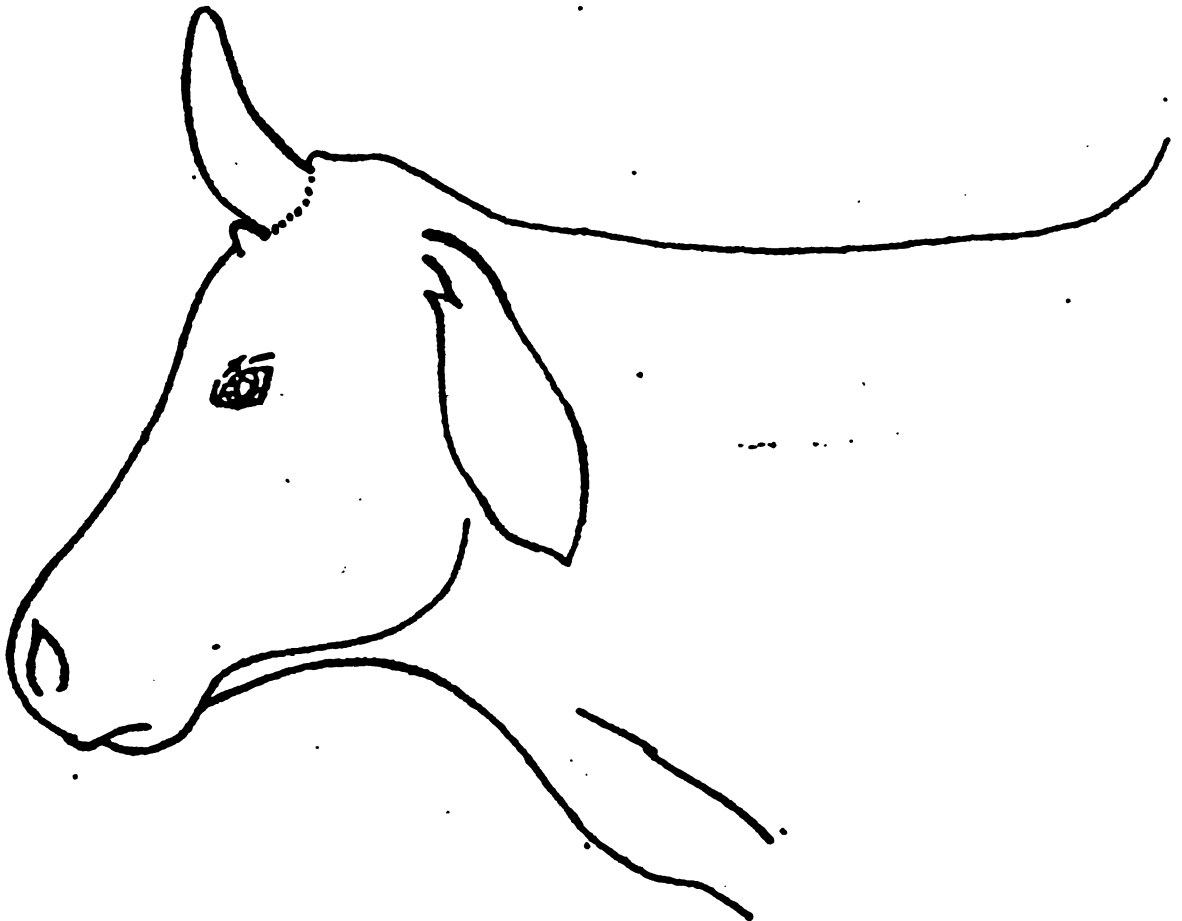


FIGURA 4: PRUEBA CERVICAL SIMPLE



- b. Si se encontrasen animales con reacciones de 5 mm o más o una tumefacción difusa dos veces mayor que el pliegue normal (2X) o más, se considerará a todo el rebaño como infectado y se les practicará una minuciosa inspección post-mortem. De constatarse, en el laboratorio, infección a *M. bovis*, a los 60 - 90 días se realizarán nuevas pruebas tuberculínicas, ya sea inoculando 0,2 ml. (1 mg/ml) en lugar de 0,1 ml (1 mg/ml) de tuberculina en el pliegue ano - caudal o recurriendo a la prueba cervical simple. Tanto la mayor cantidad de tuberculina inoculada en el pliegue ano - caudal, como la aplicación en una región del cuerpo como la tabla del cuello, aumentan la sensibilidad de la prueba.
- c. Si en los animales se observaron reacciones menores de 3 mm, se considerará al rebaño como no infectado.

2. La prueba tuberculínica cervical simple

Es la prueba empleada para la limpieza de rebaños infectados con *M. bovis*. Constituye la prueba tuberculínica de mayor sensibilidad, cuando se realiza con tuberculina PPD de *M. bovis* de potencia controlada. El empleo de la tabla del cuello en lugar del pliegue ano - caudal como sitio de reacción, tiene el mismo efecto que si se aumentara 10 veces la dosis de tuberculina. El lugar de la inculación es el tercio medio de la tabla del cuello (Figura 4).

Se corta el pelo en el lugar de la inyección (aproximadamente una superficie de 3 cm de diámetro) y se mide, con un calibre, el espesor de la piel, anotándose en un protocolo.

Previa limpieza con alcohol se incula intradérmicamente 0,1 ml de tuberculina PPD bovina (1mg/ml) y se hace la lectura a las 72 (+ 6) horas de la inyección, midiendo con un calibre el incremento del espesor de la piel, anotándolo en el protocolo.

2.1. Interpretación de la prueba tuberculínica cervical simple

Todo incremento en el espesor de la piel del lugar inoculado, en 3 mm o más, hará que se considere al animal, reaccionante positivo.

Un engrosamiento menor de la piel, se considera negativo.

Existe un criterio más estricto, que es el empleado en EE.UU., para rebaños con infección comprobada a *M. bovis* y que consiste en considerar positiva toda reacción de cualquier tamaño. Si bien es posible que con este procedimiento se aumente el número de animales "falsos

positivos" (animales reaccionantes que no están infectados), se logra poner en evidencia un mayor número de animales "falsos negativos" (animales reaccionantes que no están infectados), se logra poner en evidencia un mayor número de animales "falsos negativos" (animales infectados que no reaccionan), los cuales son el mayor obstáculo en el control o erradicación de la tuberculosis.

3. La prueba tuberculínica cervical comparativa

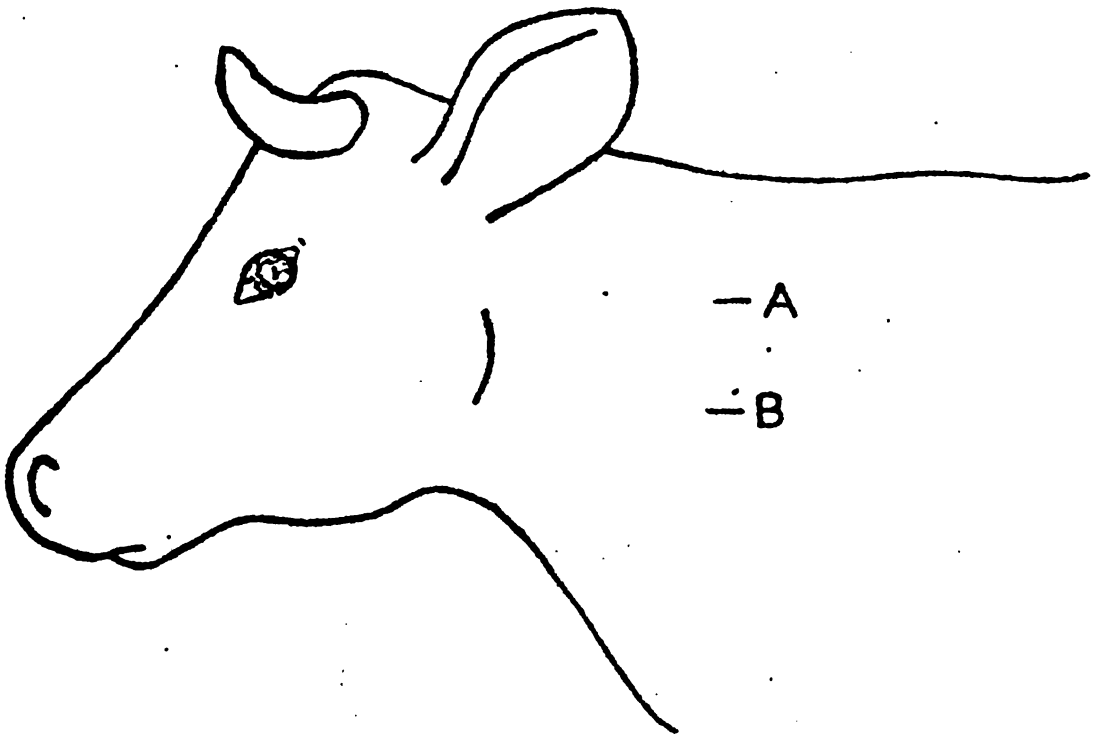
Se utiliza para aclarar la situación de un rebaño donde aparecen animales con reacción positiva a la prueba ano - caudal y no se comprueba infección a *M. bovis*, o como prueba de elección para tuberculinizar los animales que dieron reacciones "dudosas" (3-4 mm) a la prueba ano - caudal. Permite determinar si la reacción observada anteriormente era debida a infección por *M. bovis* o a sensibilización por otras micobacterias como *M. avium*, *M. paratuberculosis* u otros diferentes de *M. bovis*.

En algunos casos especiales se puede usar la prueba comparativa en un rebaño con tuberculosis bovina comprobada, pero solamente en el que existan serios problemas de sensibilización paraespecífica.

Para realizar la prueba se utilizan dos tipos de tuberculinas PPD: la tuberculina bovina (1 mg/ml) y la tuberculina aviar (1 ml - 25.000 UI). Las tuberculinas se aplican intradérmicamente a la dosis de 0,1 ml en el tercio medio de la tabla del cuello. La tuberculina aviar se inyecta aproximadamente unos 10 cm por debajo de la cresta del cuello y la tuberculina bovina a 12 cm por debajo del punto de inoculación de la aviar (Figura 5). En este caso se deben utilizar dos jeringas de tuberculina bien marcadas una para la tuberculina aviar y otra para la bovina. Antes de proceder a la inoculación, se corta el pelo de las dos áreas de inoculación (cada una de unos 3 cm de diámetro) y se mide con calibre el espesor de la piel, lo que luego se registra en un protocolo. La lectura de la prueba se efectúa 72 (+ 6) horas después de la inyección y se mide de nuevo con el calibre el grosor de la piel de los dos lugares inyectados, anotándose el incremento del espesor de la piel de cada uno.

Ejemplo:	Espesor de la piel sin inocular	6 mm
	Espesor de la piel a las 72 (+ 6) horas post-inoculación	10 mm
	Incremento del espesor de la piel	4 mm

FIGURA 5: SITIOS PARA PRUEBA CERVICAL COMPARATIVA



3.1. Interpretación de la prueba tuberculínica cervical comparativa

La interpretación se hace sobre la base de la situación del rebaño:

- a. Si en la prueba caudal simple se han encontrado sólo a animales con reacciones dudosas.
- b. En la prueba cervical simple se encontraron animales reaccionantes positivos pero no se pudo constatar, en el Laboratorio, infección a *M. bovis* en ninguno de los animales reaccionantes sacrificados.

Se consideran:

- Negativos - Los animales sin reacción a la tuberculina bovina; los animales que tengan una reacción a la tuberculina aviar igual o mayor que a la tuberculina bovina.
- Dudosos - Los animales que tengan una reacción a la tuberculina bovina de hasta 4 mm mayor que la reacción a la tuberculina aviar.
- Positivos - Los animales que tengan una reacción a la tuberculina bovina de 5 mm o más que la reacción a la tuberculina aviar.

Cuando en un rebaño se dan reacciones dudosas a dos pruebas comparativas consecutivas y practicadas con un intervalo no menor de 60 días, los animales reaccionantes serán clasificados como positivos y se esperará el resultado del Laboratorio para conocer si esa sensibilidad es debida a *M. bovis* o a sensibilización paraespecífica.

BIBLIOGRAFIA

- (1) First International Seminar on Bovine Tuberculosis for the Americas. Santiago, Chile, 21 - 25 September, 1970.
- (2) Francis, J.; Choi, C.L. and Frost, A.J. The diagnosis of tuberculosis in cattle with special reference to bovine PPD tuberculin. *Austr. Vet. J.* 49:246 - 251, 1983.
- (3) Lesslie, I.W. et al. Comparison of the specificity of human on bovine tuberculin PPD for testing cattle. *Vet. Rec.* 96:332-341, 1975.
- (4) Roswurm, J.D. and Konyha, L.D. The comparative cervical tuberculin test as an aid to diagnosis bovin tuberculosis. *Proceedings of the 77 Annual Meeting of the USAHA, Kansas City, Missouri, October 1983.*
- (5) United States Department of Agriculture, AN. & Plant Health. Inspection Service. Instructions and procedures for conducting tuberculin tests in cattle. *Veterinary Services, Memorandum 552 - 15, December 31, U.S.A., 1973.*
- (6) ----- Inspection Service. Instructions and procedures for conducting tuberculin tests in cattle. *Veterinary Services, Memorandum 552 - 15, Supplement No. 1, April 14, U.S.A., 1975.*
- (7) Worthington, R.W. and Kleeburg, H.H. Practical problems in tuberculine testing cattle. *J.S. Afr. Vet. Med. Assoc.* 36:191 - 196, 1965.

PRUEBA COMPARATIVA DE LA TUBERCULOSIS BOVINA,
SU INTERPRETACION EN EL URUGUAY

Dr. Luis Alberto Bolla Collazo
Enc. Depto. Campañas Sanitarias
de Dirección de Sanidad Animal
Montevideo, Uruguay

La pretensión que tenemos con esta comunicación es de ayudar en la interpretación de los resultados de las pruebas tuberculínicas comparativas en el bovino.

Esta prueba no la vamos a considerar independiente de una campaña sanitaria que es donde realmente presta utilidad. Esto nos lleva a recordar algunas nociones sobre epidemiología.

Epidemiología

El objetivo de la medicina veterinaria preventiva es la promoción de la salud y productividad, constituyendo la epidemiología su base principal (1).

"Mientras la epidemiología de una enfermedad no es por lo menos parcialmente comprendida, las medidas de control no pueden ser inteligentemente proyectadas".

Definición: "la epidemiología es el estudio científico de todos los factores involucrados en la ocurrencia distribución de una condición médica en una población".

Quando hablamos de "ocurrencia y distribución" nos referimos a la frecuencia de los hechos en el tiempo y en el espacio. Presentamos los datos en forma de varios tipos de tasas de incidencia prevalencia.

Incidencia: "número de casos nuevos que ocurren en una población bajo riesgo en un intervalo de tiempo dado".

Prevalencia: es el recuento del número de individuos con una condición particular de iniciación reciente o antigua en un punto determinado del tiempo, (punto de prevalencia) o durante un período dado (período de prevalencia).

La última parte de la definición "...en una población" determina la unidad de estudio y es la más importante.

Propósitos de la epidemiología:

- 1) definir la extensión del problema: ¿cuál es su magnitud?, ¿dónde de ocurre?, ¿cuándo ocurre?, ¿qué animales se ven afectados?
- 2) buscar los factores de causa y distribución.
- 3) sugerir las medidas de control en base a las causas antes mencionadas.
- 4) evaluar la efectividad del control.

Métodos epidemiológicos:

1) Epidemiología descriptiva: es la primera etapa en una investigación y consiste en la colección de datos en cuatro ítems:

- enfermedad: síntomas-lesiones.
- animal: edad-sexo-raza-uso de los animales.
- lugar: distribución geográfica de la enfermedad a escala nacional o local o dentro del establecimiento.
- tiempo: graficado de los datos sobre tiempo, enfermedades cíclicas, estacionales, etc.

2. Epidemiología analítica: surgen las investigaciones y acciones analíticas de las hipótesis sugeridas por los estudios descriptivos.

Los estudios analíticos pueden ser transversales, es decir, toman de una muestra de todos los individuos que serán estudiados en un punto temporal; o longitudinales, por muestreo repetido de los mismos animales durante un período de tiempo.

3) Epidemiología experimental: es el último método a ser considerado, a diferencia de los dos anteriores el ambiente es manipulado o controlado con el propósito de probar una hipótesis particular.

Aplicación de la Medicina Preventiva

Para aplicar estos métodos a la medicina preventiva debemos considerar algunos principios:

- 1) **Prevención:** proteger a los animales sanos de los enfermos.
- 2) **Erradicación:** las actividades tendientes a hacer desaparecer una enfermedad que ya existe.
- 3) **Control:** las medidas tomadas para mantener una enfermedad confinada a constituir un problema menor.

En todos los casos debemos tener en cuenta la tríada epidemiológica: reservorio-huésped-agente y el papel que juega el medio ambiente. La contribución de la epidemiología a la medida preventiva reside en la determinación del eslabón más débil de la cadena epidemiológica para posibilitar el establecimiento de medidas prácticas que pueden concentrarse en tres áreas:

- 1) el reservorio: a través de procedimientos como erradicación de especies por sacrificio, limitación de razas, de multiplicación de reservorios, cuarentena y detección de portadores.
- 2) el ambiente: higiene ambiental.
- 3) el huésped: inmunización masiva, quimioprofilaxis.

Nociones generales sobre Tuberculosis (2)

Definición: Es una enfermedad infecciosa que, en los casos típicos, evoluciona en forma crónica y se acompaña de procesos inflamatorios específicos, puede infectar al hombre, al igual que a todos los mamíferos y a las aves.

Historia: En el hombre se conoce desde la más remota antigüedad en su forma más presente, la tisis.

En vacunos la descripción más antigua es la de Columela en el año 40. Pero hasta mediados del siglo XIX no se relacionó la Tuberculosis humana a la bovina.

Receptividad: No hay diferencias entre razas y las autóctonas, como las de alto rendimiento, puestas en las mismas condiciones, se infectan igual.

Factores Orgánicos: Los órganos huecos con superficies abiertas favorecen procesos tuberculosos exudativos.

Etiología: El agente de la Tuberculosis bovina es el M. bovis que se presenta como infeccioso también para el hombre, perro, gato, cerdo, oveja, cabra y caballo.

Son muy resistentes al medio ambiente, permanecen vivas hasta 13 días en heces bovinas en los pastos. (3)

hasta 10 días en estiércol desecado
hasta 30-40 días incluidos en mucosidad pulmonar
hasta 15 días en la leche a pesar del ácido
mueren a 65°C durante 30 minutos

Por interesar en nuestra comunicación transcribimos un trabajo sobre Identificación y Tipificación de las Micobacterias.

IDENTIFICACION Y TIPIFICACION DE LAS MICOBACTERIAS (4)

Las micobacterias están ubicadas taxonómicamente en la familia Mycobacteriaceae, género Mycobacterium. Son bacilos cortos, aerobios, no móviles, no esporulados, no capsulados, no flagelados. El género incluye parásitos, saprofitos y formas intermedias. La mayor parte de las especies que lo constituyen pueden cultivarse in vitro; una excepción notable es el M. Leprae. Dentro de este género los tiempos necesarios para una división celular son muy variables (desde 2 a 3 horas para el M. Phlei y hasta 14 días para el M. Leprae).

DIVISION CELULAR

Las micobacterias se multiplican comúnmente por división binaria que comienza con una elongación intracitoplasmática de la membrana.

CLASIFICACION DE LAS MICOBACTERIAS

Históricamente, la primera especie descrita fue el M. Leprae (1870), luego el M. tuberculosis (1882), el M. Phlei, M. bovis, M. paratuberculosis y M. avium. Pero más del 50% de las especies del género no eran conocidas antes de 1950. Sin duda, las especies importantes desde el punto de vista de la salud pública humana y veterinaria son aquellas patógenas para el hombre y/o los animales. Su número es reducido, y el laboratorista debe diferenciarlas de otras especies saprofitas y de las que sólo ocasionalmente son causantes de enfermedad. Por otra parte, el conocimiento de que ciertas micobacterias diferentes del bacilo tuberculoso humano o bovino pueden dar origen a lesiones semejantes a las de

la tuberculosis en el hombre, ha provocado un verdadero alud de trabajos de investigación en este campo.

Estas micobacterias han recibido la denominación conjunta de "atípicas", "no clasificadas", "anónimas", "MOTT (mycobacteria other than tubercle) y "no tuberculosas". Si bien llamarlas "atípicas" no es correcto, ya que cada una de ellas es típica dentro de su especie, este nombre se ha popularizado y constituye la denominación más corriente.

Runyon propuso en 1959 una división de las micobacterias aisladas más comúnmente en un laboratorio basada en caracteres sencillos de observar: el tiempo de crecimiento y la cromogenicidad. Esa primera clasificación, aunque superada en profundidad y detalle, tiene gran utilidad como guía, en especial para el bacteriólogo clínico y el médico. Consta de cuatro grupos y no incluye las especies típicas y las no cultivables: M. tuberculosis, M. bovis, M. avium, M. Leprae, M. Lepraemurium, M. microti y M. paratuberculosis.

CUADRO 4

CLASIFICACION DE LAS MICOBACTERIAS "ATIPICAS" SEGUN RUNYON

GRUPO	DESCRIPCION
I. Fotocromógenas	Crecimiento lento. Colonias no pigmentadas en la oscuridad, los cultivos jóvenes adquieren color amarillo al exponerlos a la luz.
II. Escotocromógenas	Crecimiento lento. Colonias pigmentadas, amarillentas o anaranjadas, aunque desarrollan en oscuridad.
III. No cromógenas	Crecimiento lento. Colonias no cromógenas generalmente. En algunos casos los cultivos viejos adquieren color amarillento.
IV. De crecimiento rápido	Desarrollan colonias en los medios de cultivo en menos de una semana

En 1965 se constituyó una Comisión Internacional para el Estudio de La Taxonomía de las Micobacterias (International Working Group on Mycobacterial Taxonomy, IWGMT). Este grupo ha preparado una serie de publicaciones, de gran utilidad para el especialista, en las que se ha clarificado gradualmente este complejo problema. El Subcomité de Micobacterias, del Comité Internacional de Bacteriología Sistemática participará, en 1985, en la publicación de una lista aprobada de nombres bacterianos, es probable que se introduzcan en ella algunas modificaciones a la última lista de especies micobacterianas (1977) que se presenta a continuación:

<u>M. africanum</u>	<u>M. gordonae</u>	<u>M. phlei</u>
<u>M. aurum</u>	<u>M. intracellulare</u>	<u>M. scrofulaceum</u>
<u>M. avium</u>	<u>M. kansasii</u>	<u>M. simiae</u>
<u>M. bovis</u>	<u>M. Leprae</u>	<u>M. smegmatis</u>
<u>M. chelonae</u>	<u>M. lepraemurium</u>	<u>M. szulgai</u>
<u>M. chitae</u>	<u>M. marinum</u>	<u>M. terrae</u>
<u>M. duvalii</u>	<u>M. microti</u>	<u>M. thermoresistible</u>
<u>M. falvescena</u>	<u>M. nonchromogenicum</u>	<u>M. tiviale</u>
<u>M. fortuitum</u>	<u>M. necaurum</u>	<u>M. ulcerans</u>
<u>M. gadium</u>	<u>M. paraafortuitum</u>	<u>M. vaccae</u>
<u>M. gilvum</u>	<u>M. paratuberculosis</u>	<u>M. xenopi</u>
<u>M. gastri</u>		

Independientemente del interés que presentan para el investigador las 34 especies incluidas en esta lista, son las especies patógenas o potencialmente patógenas para el hombre las que el bacteriólogo clínico debe saber caracterizar y diferenciar del resto. El objeto de su trabajo es el diagnóstico. El mismo criterio es aplicable al laboratorista en veterinaria. Cuando el objetivo no es sólo el diagnóstico clínico bacteriológico, sino el análisis epidemiológico -por ejemplo-, el estudio de los agentes sensibilizantes paraespecíficos a la tuberculina mamífera en una región en el hombre o en los animales- entonces sí se hace necesaria una tipificación más detallada de las cepas micobacteriana aisladas, ya que ella permitirá establecer "mapas" de zonas de influencia. Lo mismo, por supuesto, se aplica a un estudio puramente taxonómico de micobacterias aisladas en una determinada región.

Considerando el primer objetivo señalado -el diagnóstico de enfermedad- Runyon publicó en 1974 la lista de "patógenos micobacterianos" para el hombre, que se transcribe a continuación:

<u>M. leprae</u>	<u>M. simiae</u>
<u>M. ulcerans</u>	<u>M. szulgai</u>
<u>Complejo M. tuberculosis</u>	<u>Complejo M. avium-scrofulaceum</u>
<u>M. kansasii</u>	<u>M. xenopi</u>
<u>M. marinum</u>	<u>Complejo M. fortuitum</u>

Estas especies o complejos son responsables de las 10 micobacteriosis reconocidas hasta ese momento. Dejando aparte el M. Leprae, no cultivable, la importancia relativa de cada una de estas micobacterias es muy variable en América Latina; en algunos casos (M. azulgai, M. simiae) son prácticamente desconocidas hasta el momento, lo cual no significa que no existan. Por razones epidemiológicas, el M. tuberculosis en salud pública y el M. bovis en sanidad animal, deben seguir siendo las "estrellas" de las micobacterias en América Latina.

PATOGENIA (5)

Las reacciones tisulares que se originan en un organismo virgen a la tuberculosis en el punto en que se asentó el bacilo de esta enfermedad constituyen el foco PRIMARIO, cuya localización informa sobre la vía seguida por el contagio; si las lesiones también aparecen en los ganglios linfáticos regionales, entonces existe Complejo Primario.

Si se atiende a la edad de las lesiones aparecidas tras el contagio primario, en la tuberculosis digestiva experimental del ternero aparecen las primeras reacciones apreciables en los ganglios retrofaríngeos a los 22 días; se evidencian macroscópicamente a los 29 días; las calcificaciones a los 51 días, que sin embargo sólo se ven macroscópicamente a los 88 días. La encapsulación del foco tuberculoso se inicia no antes de los 136 días. La difusión del bacilo tuberculoso a partir del foco primario se realiza sobre todo por vía linfógena y a continuación por vía hematógena y linfo-hematógena allí donde los gérmenes se asientan y no son aniquilados se forman nuevos focos tuberculosos.

De acuerdo con el grado de modificación alérgica del organismo ocasionado por el contagio primario y con la inmunidad y sensibilización que esto lleva implícito se originan diversos cuadros de manifestaciones.

Tuberculosis miliar, con la formación de tubérculos semejantes en diversos órganos.

Grandes focos en los pulmones de las vacas debido a un alto estado inmunitario de estos animales.

TRANSMISION AL HOMBRE (6)

La transmisión del contagio mediante pequeñas gotas en suspensión en el aire se la denomina transmisión directa. Cuando la leche es el principal vehículo, la transmisión se dice indirecta. La leche es el vehículo ideal. Los bacilos se comportan individualmente; se ponen en

emulsión en la grasa y queda facilitada su migración a través de la mucosidad y del tejido linfóide pues los alimentos son digeridos al mismo tiempo. Un número considerable de bacilos tuberculosos pueden ser excretados por una sola vaca afectada de mastitis tuberculosas. Una sola vaca puede excretar la cantidad suficiente de bacilos viables para contaminar la leche de mezcla producida por 100 vacas. El transporte en camión cisterna puede culminar en la contaminación de importantes cantidades de leche. El tratamiento industrial y el acondicionamiento de productos lácteos va parejo con la pasterización, lo que detuvo el contagio de *M. bovis* al hombre y niños especialmente. La legislación fue más eficiente que las costosas campañas de erradicación. Se demostró que no siempre es eficiente la pasterización rápida a alta temperatura. La elevada tasa celular en la leche y la incompleta clarificación disminuyen la eficiencia de la pasterización rápida a alta temperatura. Los productos tales como yogur y quesos de pasta fresca, fabricados a partir de leche sin pasterizar, a veces contienen bacilos tuberculosos, 14 días después de su preparación y la mantequilla hasta 100 días después de la fabricación.

La transmisión de vaca a vaca se ha principalmente por las vías respiratorias. En un 75% a un 90% de los animales, se sitúa el foco primario a nivel de pulmón y se infecta el hombre más a menudo en los establos que en los centros hospitalarios. El animal, como el hombre, expulsa el bacilo en una pequeña gotecita de secreción que se evapora, formando un núcleo de gotecita (droplet nucleus) de menos de 5 micras de diámetro. Este núcleo es lo bastante pequeño para permanecer en suspensión indefinidamente en el aire. Su pequeña dimensión le permite penetrar en el aparato respiratorio mucho más allá del epitelio ciliado (Riley y col, 1959). Por lo general, la incidencia de la tuberculosis humana por *M. bovis* evoluciona paralelamente a la de la tuberculosis bovina. En el hombre como en los vacunos, la tuberculosis bovina regresa con bastante rapidez. Magnus explicó por qué los daneses infectados por *M. bovis* eran poco sensibles a la enfermedad: no dependía de la inmunidad adquirida sino de que se contraía la infección por vía digestiva. Otros autores estimaron que la infección por la tuberculosis bovina era un problema no específico. En los vacunos, *M. tuberculosis* no es muy peligrosa para los vacunos. En la mayoría de los vacunos, se conduce como un sensibilizador no específico. Son posibles otras formas de transmisión: la carne de los animales infectados, los perros, los gatos y demás animales de compañía; los animales de los parques zoológicos infectados, los monos y los primates de las crías de laboratorio. No se posee ninguna prueba de que los animales salvajes y de caza sean contagiosos para el hombre (Koralev, 1980).

No se ha estimado el peligro vinculado al consumo de carne de animal tuberculoso mal cocida. Se han registrado casos de carniceros y de veterinarios que se hirieron durante el transcurso de la matanza y de la inspección de carnes y cuyas heridas se infectaron. La carne de vacunos

afectados de tuberculosis generalizada contiene ciertamente bacilos tuberculosos. Los países más adelantados prohíben el consumo de carne de vacunos tuberculosos, pero la venta de canales que sólo presentan lesiones localizadas sigue estando permitida en algunos países.

En cuanto a los animales de compañía, principalmente el perro y gato son los más a menudo puestos en causa, pero son muchas más veces víctimas del contagio por el hombre que a la inversa. La tasa de morbilidad, especialmente en los gatos, prácticamente debe ser mucho más baja que las cifras publicadas pues únicamente los animales enfermos son los que llaman la atención de los veterinarios. Los gatos y perros probablemente son muy resistentes a M. tuberculosis y a M. bovis. Sin embargo, conviene ser sumamente vigilante dado el número considerable de perros, incluidos perros vagabundos que en la actualidad viven en las poblaciones. Los parques zoológicos son un lugar de elección para la tuberculosis y así lo fue siempre. En la actualidad se adoptan medidas de prevención en la mayoría de estos establecimientos, pero siempre será muy difícil aportar la prueba de la tuberculosis espontánea en monos y primates, pero normalmente se debe a M. tuberculosis (Fouri y col., 1978).

DIAGNOSTICO DE LA TUBERCULOSIS:

La prueba de la tuberculina es la única prueba confiable para detectar animales tuberculosos; con miras de erradicar la enfermedad.

BREVE HISTORIA (7)

En 1891, Koch dió a conocer un producto obtenido cultivando bacilos tuberculosos en un medio de caldo glicerinado y luego esterilizado por calor concentrado al 1/10 y filtrado. Este producto es conocido como tuberculina vieja de Koch (O.T.), a la cual su autor le atribuyó cualidades terapéuticas para la tuberculosis. Si bien las propiedades curativas de la tuberculina no fueron confirmadas, las observaciones de Koch sobre las diferencias en la reacción de sujetos tuberculosos y no tuberculosos a la inoculación subcutánea del producto, pusieron las bases para una de las pruebas diagnósticas más ampliamente usadas y de más valor en medicina veterinaria y humana, y en el campo de salud pública.

A los pocos meses del anuncio de Koch, la profesión veterinaria reconoció las grandes posibilidades que ofrecía la tuberculina como medio diagnóstico. Fue Guttman de la Universidad de Dorpat, Estonia, que aplicó en 1891 por primera vez la tuberculina al ganado; por vía subcutánea. Poco después el método fue introducido en Dinamarca, Alemania, E.U.A. y Gran Bretaña. Es interesante que en los primeros ensayos hechos en Alemania con la prueba de tuberculina, por vía subcutánea, el 85% de los

animales reactivos mostraban lesiones en la autopsia, mientras el 89% de los animales negativos no tenían lesiones. Así desde un principio, se pudo visualizar tanto el gran valor de prueba como sus limitaciones, es decir que no todos los animales tuberculosos reaccionan a la tuberculina (falsos negativos) y no todos los reaccionantes son tuberculosos (falsos positivos).

La prueba subcutánea provocaba no solamente una reacción local, sino también sistemática en el organismo tuberculoso. Además, la prueba era muy trabajosa. Con el fin de eliminar la reacción sistemática en el hombre, que muchas veces era muy fuerte y provocaba la reactivación de focos tuberculosos, se elaboraron pruebas localizadas en la piel o conjuntiva. La prueba intracutánea de Mantoux en el hombre es la que más aceptación recibió. En medicina veterinaria la prueba intradérmica, ya sea en el pliegue ano-caudal, o tabla del cuello, es la que se usa hoy casi exclusivamente, por sus ventajas prácticas.

LA TUBERCULINA (8)

Se conocen tres tipos de tuberculina: a) la tuberculina vieja, O.T., elaborada en medio proteico glicerinado; b) la HCSM (heat concentrated synthetic medium) en la cual el cultivo se hace en un medio sintético y c) PPD. En medicina veterinaria, se han obtenido buenos resultados en el control de la tuberculosis bovina, con los tres tipos de tuberculina como lo demuestran los exitosos programas de erradicación llevados a cabo en varios países. La O.T. tiene además de las proteínas de origen bacteriano, proteínas de origen animal procedentes del medio de cultivo. Solamente una pequeña parte del producto final es activa, el resto, que constituye la mayor parte de esa tuberculina es -en el mejor de los casos- inerte; ya que no se puede asegurar que no contribuya a reacciones paraespecíficas. El contenido en sólidos activos e inactivos en esta tuberculina varía de un lote a otro. Este tipo de tuberculina fue completamente abandonado en medicina humana y es muy poco usado actualmente en medicina veterinaria. La HCSM se diferencia de OT de Koch, en que el cultivo se hace en medio sintético, eliminando de esta manera proteínas no derivadas del bacilo tuberculoso. Este tipo de tuberculina contiene aún todos los productos metabólicos del bacilo tuberculoso y cantidades variables de proteína, polisacáridos, ácido nucleico y glicerol. El nitrógeno proteico es alrededor de 1/10 del nitrógeno total. Si la concentración se hace en recipientes abiertos hay una pérdida de proteína activa, que se puede evitar haciendo esta operación bajo vacío. El agregado de fenol también hace perder una parte de las proteínas. La tuberculina HCSM si bien no contiene los derivados de la carne del caldo nutritivo como la OT, contiene aún muchas impurezas. No obstante estos defectos la HCSM ha prestado y sigue prestando grandes servicios en las campañas

de erradicación de EUA. y Canadá como de varios otros países. La PPD (purified protein derivative) o Derivado Proteínico Purificado se obtiene por cultivo en medio sintético, los bacilos tuberculosos son eliminados por filtración una vez inactivado el cultivo por calor y al resto del líquido se agrega sulfato de amonio o ácido tricloroacético para precipitar la proteína. Después del lavado de la proteína precipitada se la redisuelve, se ajusta al tenor deseado (basándose en la potencia biológica); se filtra por filtros de Seitz y se envasa. Además de proteína, la PPD contiene polisacáridos y ácido nucleico. Recientemente se han podido separar la cromatografía tres fracciones de la PPD y demostrado que una de las fracciones contenía material inespecífico, mientras que las otras dos fracciones eran específicas. Estos estudios permitirán en el futuro obtener productos más puros, excluyendo las fracciones que dan más reacciones cruzadas con otras micobacterias.

La tuberculina HCSM y PPD mamífera para uso animal era elaborada con el cultivo de tres cepas de M. tuberculosis, pero actualmente se está usando en lugar de bacilos humanos, una cepa de M. bovis con buen éxito en las campañas de erradicación de tuberculosis bovina. En la práctica, tanto la HCSM como la PPD, cuando se las estandariza adecuadamente, dan resultados excelentes, la PPD es más económica en la elaboración y es más fácil de estandarizar. Por otra parte, la PPD elaborada con M. bovis es más específica para bovinos que la producida con M. tuberculosis.

Para pruebas comparativas se pueden usar tuberculinas PPD, elaboradas con cultivos de M. Avium y sensitinas con otras micobacterias. Las pruebas comparativas pueden ser de gran ayuda para establecer, rodeos de clasificación dudosa, si la sensibilidad a la tuberculina mamífera se debe a infección por M. bovis (sensibilidad homóloga, específica) o a otras micobacterias (sensibilidad heteróloga, para-específica).

MECANISMO (9)

La reacción a la tuberculina es el prototipo de la hipersensibilización retardada y el agente inmunológicamente activo es el linfocito. Respuestas al antígeno en los fenómenos inmunológicos mediados por células se desarrollan lentamente, ya que se necesita tiempo para que los linfocitos sensibilizados acudan y se acumulen en el lugar donde fue inoculado el antígeno, tal como la tuberculina. En el lugar de inoculación hay un espesamiento de la piel, debido a la infiltración de un gran número de linfocitos y macrófagos como también de líquido de edema.

SENSIBILIDAD, ESPECIFICIDAD Y POTENCIA (10)

Entendemos por sensibilidad de una prueba tuberculínica, el grado de capacidad de detectar animales infectados por una micobacteria específica (*M. bovis*, por ej.), para la cual fue diseñada la prueba. De esta manera, si con una dosis de 10.000 UT en el pliegue caudal se obtienen en 80 animales reacciones positivas de 100 bovinos infectados por *M. bovis*, la prueba tiene 80% de sensibilidad, el 20% restante son "falsos negativos". En el caso de tuberculosis bovina, una tuberculina altamente sensible será aquella que descubra el mayor número de animales infectados por *M. bovis* y con la cual se obtenga el menor grado de error por falsos negativos. Al respecto debe tomarse en cuenta, que ninguna tuberculina es capaz de descubrir el 100% de bovinos tuberculosos, en todos los rodeos infectados. La prueba tuberculínica depende no solamente de la tuberculina sino también de la capacidad de respuesta del animal infectado. En algunos rodeos nos vamos a encontrar con sujetos anérgicos. Si bien esta falta de respuesta puede presentarse en cualquier estado de la infección, la anergia de a la tuberculina prevalece en vacas viejas con lesiones tuberculosas muy avanzadas. Como es sabido, la sensibilidad de la prueba tuberculínica es influenciada por el lugar de aplicación de la tuberculina, siendo la tabla del cuello más sensible para el pliegue ano-caudal. La dosis de tuberculina en unidades internacionales y el lugar de aplicación, deben ser siempre señalados, cuando se habla de la sensibilidad de la prueba.

Por especificidad, entendemos el grado de capacidad de la tuberculina de detectar el mayor número de infecciones homólogas. En el caso de tuberculosis bovina, una tuberculina altamente específica es la que descubra el mayor número de animales infectados por *M. bovis* y la que cause el menor número de reacciones positivas en animales sensibilizados por otras micobacterias. Ninguna tuberculina es completamente específica y según las circunstancias habrá un error mayor o menor por falsos positivos.

Por potencia de una tuberculina, entendemos la cantidad de ingredientes activos al reactivo, expresada en unidades internacionales. Cuando hablamos de unidades internacionales nos referimos a una medida de potencia biológica, en cambio cuando nos expresamos en unidades de peso de tuberculo-proteína nos referimos a una medida química que es menos precisa que la anterior. Con un cambio de la potencia de una tuberculina, es decir de la dosis de ingredientes activos, cambiamos tanto la sensibilidad como la especificidad de la prueba tuberculínica. A mayor dosis de unidades internacionales de tuberculina, la prueba va a ser generalmente más sensible pero menos específica.

En otras palabras, a mayor sensibilidad se obtiene generalmente menor especificidad. Tal fenómeno está mejor ilustrado en el hombre en el caso de grandes dosis de tuberculina. Hay una diferencia muy grande en

la especificidad, si inyectamos 15 U.I. o 100 U.I. ya que en ciertas regiones geográficas, mucha gente va a reaccionar positivamente a las dosis grande sin tener evidencia de tuberculosis.

INTERPRETACION DE LA PRUEBA TUBERCULINICA (11)

La prueba intradérmica en bovinos se aplica en el Uruguay en el pliegue ano-caudal.

Se inocula 0.1 ml. de PPD bovino con 5.000 U.I. y se hace su interpretación a las 72 horas.

Dos menciones importantes: 1ra.) la zona de inoculación debe intentarse limpiarla lo mejor posible pasándole un algodón con alcohol, que puede ser usado en cinco o más animales, en animales muy sucios el peón que levanta la cola y la sostiene efectúa una primera limpieza con un trozo de lienzo; y 2da.) debe realizar la inoculación intradérmica, hecho éste que no se realiza muchas veces concretamente por el apuro en el trabajo.

Pasando a la interpretación de la lectura de la tuberculina digamos que es imprescindible recorrer el pliegue ano-caudal entre los dedos pulgar e índice y mayor. La reacción de hipersensibilidad es generalmente notoria ya a simple vista o a la palpación notando la deformación del pliegue frente al otro.

Aquí queremos establecer que las reacciones de hipersensibilidad tienen una consistencia particularmente blanda de forma globulosa o alargada en todo o parte del pliegue ano-caudal.

Siempre la interpretación está referida a una campaña sanitaria y a un determinado conjunto de animales, donde se deben tener muy en cuenta los antecedentes del establecimiento con respecto a tuberculosis.

Sería un éxito seguro y a corto plazo en una erradicación de tuberculosis si todos los reaccionantes positivos fueran realmente tuberculosos.

Pero si consideramos los resultados de un país como Cuba que erradicó la tuberculosis y vemos la relación entre la prevalencia de la enfermedad y las lesiones macroscópicas encontradas en los animales faenados, tenemos:

AÑO 1964	prevalencia 3,4%	lesiones macroscópicas 90%	de los faenados
AÑO 1963	prevalencia 1,2%	lesiones macroscópicas 55.60%	de los faenados
AÑO 1973	prevalencia 0,5%	lesiones macroscópicas 10-13%	de los faenados

Es evidente y bien conocido que a medida que baja la prevalencia aumentan los animales sin lesiones macroscópicas. Se podría sostener que muchos animales reaccionantes podrían estar, y se ha establecido por parte del laboratorio, enfermos de tuberculosis sin presentar lesiones visibles.

Pero vamos a historiar lo que ha sucedido en el Uruguay y que gestó esta publicación.

A partir del año 1964 y con una prevalencia alrededor del 10% de tuberculosis en el ganado lechero de la cuenca que abastece a Montevideo. Se legisla estableciendo un precio diferencial para aquellos establecimientos que se encuentran libres de tuberculosis y brucelosis, entre otras exigencias sanitarias e higiénicas.

La evolución de la prevalencia en las tuberculinizaciones realizadas por el autor desde 1964 a 1968 son las siguientes:

AÑO 1964 - 9,23%, AÑO 1965 - 3.50%, AÑO 1966 - 1.73%, AÑO 1967 - 0.97%, y AÑO 1968 - 0.06%.

A partir del año 1969 se continuó con las tuberculinizaciones anuales de establecimientos que habrían quedado libres de la enfermedad.

Comenzaron a aparecer en estos establecimientos animales fuertemente reaccionantes positivos a la prueba anc-caudal. Este hecho significa una "tragedia" para la campaña sanitaria que pretendía erradicar la tuberculosis ya que los veterinarios perdieron la confianza en la prueba y dejaron de marcar las reaccionantes positivas en forma general.

Nos sucedió en el año 1973 en un tambo que hacía cinco años que no aparecían reaccionantes a la prueba y que tácitamente se declara libre, por parte del técnico y el productor, al hacer la prueba, de un total de 30 vacas en ordeño, 10 secas y 40 terneras y vaquillonas, resultaron positivas 7 vacas y 23 vaquillonas y terneras. Evidentemente aquí ya no se necesitan ni faena ni laboratorio para afirmar racionalmente que las reacciones no correspondían a tuberculosis.

Se hizo un estudio exhaustivo y se comprobó que había existido una invasión masiva de Saguapé en todos estos animales que permanecieron juntos en un potrero muy infestado del establecimiento.

Esto llevó a que suspendieramos en el año 1976 las tuberculinizaciones oficiales por las injusticias que se podían cometer.

Nos pusimos de inmediato a tratar de encontrar la forma de recuperar la confianza de los técnicos y productores en la campaña sanitaria.

Tratamos entonces de poner a punto la prueba comparativa PPD bovino-PPD aviar, como medio de establecer reacciones paraespecíficas.

En la literatura mundial encontramos que en Holanda los trabajos del Dr. H. Huitema (12) que considera:

Los animales infectados con bacilos tuberculosos de tipo mamífero reaccionan con más fuerza a la tuberculina mamífera, pero los animales con sensibilización debida a otras causas a menudo reaccionan más a la tuberculina aviaria o muestran reacciones de tamaño casi igual con ambas tuberculinas. En consecuencia, el uso simultáneo de más de una tuberculina puede procurar una indicación eficaz respecto de si la reacción a la tuberculina mamífera se debe realmente a tuberculosis o a reactividad cruzada.

Hasta hace poco tiempo la prueba comparativa se efectuaba en los Países Bajos, como casi en todas partes, con tuberculinas de diferentes concentraciones, por ej.: 0,4 mg/ml. de PPD de tuberculina aviaria y 1,5 mg/ml. de PPD de tuberculina bovina. Esto se debió a que las pautas de interpretación de la prueba se habían establecido cuando se usaba tuberculina HCSM. Debido a las características de las cepas y al método de preparación, la tuberculina HCSM mamífera contiene de 3 a 4 veces más principio activo que la aviar. De manera que las pautas de interpretación establecidas para la tuberculina HCSM aviaria igualmente aplicarse a las preparaciones de PPD en las concentraciones antes citadas. Por otra parte, no se aprovechaban totalmente las posibilidades ofrecidas por el método de producción de PPD, es decir, el empleo de las tuberculinas en cualquier concentración u con prescindencia del rendimiento de sustancia activa por volumen del medio nutritivo. Las cantidades desiguales de las tuberculinas requerían el empleo de un criterio de interpretación bastante complicado, posibilitando equívocos debido al error humano.

En las diversas áreas del diagrama (Fig. 1) se señalan los puntos que indican las reacciones a las tuberculinas aviar y bovina. Se advertirá que las áreas son bastante arbitrarias; las reacciones de naturaleza biológica rara vez pueden clasificarse según pautas geométricas.

A pesar de sus limitaciones, esta clave fue de valor considerable para la interpretación de la prueba comparativa con tuberculina aviar y bovina, en concentraciones de 0,4 mg/ml. y 1,5 mg/ml. respectivamente. De este modo se ha evitado el sacrificio prematuro de miles de animales. Sin embargo, cuando la erradicación de tuberculosis en los Países Bajos llegó a su etapa final, había muchos animales en los cuales la relación entre las reacciones a la prueba comparativa no indicaban con claridad la inespecificidad de la sensibilidad. La razón estriba en que los animales infectados con un microorganismo relacionado alérgicamente en forma tan estrecha con los bacilos tuberculosos tanto aviarios como bovinos, reaccionarán en mayor grado a la tuberculina bovina que a la aviaria, simplemente porque la concentración de la primera es casi cuatro veces superior a la de la última.

Por otra parte, cuando se aplica a estos animales la prueba con tuberculinas aviar y bovina de igual potencia, las reacciones son casi del mismo tamaño. Este puede ser el caso, por ej: en animales con "tuberculosis de la piel" o en aquellos infectados con los microorganismos causantes de actinobacilosis y actinomicosis. Después de cuidadosos experimentos, entre otras cosas para establecer la dosis adecuada, se decidió adoptar una prueba comparativa con tuberculinas aviar y bovina, ambas con una concentración de 0,4 mg/ml. En las tuberculinas aviar y bovina preparadas en Rotterdam, a un peso proteico igual corresponde una potencia igual, estimada en animales sensibilizados homóloga y heterológamente.

La prueba comparativa se lleva a cabo después de un intervalo de por lo menos seis semanas, en los animales que no reaccionaron en forma clara a la prueba simple, con una concentración de 1,0 mg/ml. de tuberculina bovina y sólo cuando los antecedentes del rebaño hacen improbable que la reacción se deba realmente a tuberculosis bovina. Debí establecerse una nueva pauta de interpretación, en base a los datos obtenidos en animales afectados con tuberculosis bovina (Fig. 2).

CAUSAS Y RECONOCIMIENTO DE LA SENSIBILIDAD PARAESPECIFICA EN EL GANADO(13)

Ante todo debemos tratar de definir lo que es sensibilidad paraespecífica; las reacciones a la tuberculina mamífera no ocasionadas por *M. bovis*. Esta definición implica que toda sensibilización o aún infección por otras micobacterias, que no sea *M. bovis*, generalmente no debe producir una tuberculosis progresiva y no debe transmitirse de un bovino a otro. Si no fuera así, esta definición o concepto sería peligroso desde el punto de vista económico y de salud pública.

La importancia y también la causa de la sensibilización paraespecífica, varía en diferentes países y dentro los mismos en diferentes zonas ecológicas. Es por esta razón que cada país que lleva a cabo un programa de erradicación de la tuberculosis bovina, debe dedicar parte de sus recursos a investigaciones epidemiológicas con apoyo del mata-dero y del laboratorio para aclarar su problema. No todas las causas de sensibilización inespecífica o mejor dicho paraespecífica son conocidas. En muchas regiones del mundo, un papel importante en esta sensibilización juega el *M. avium* y a las micobacterias de este grupo, como *M. intracellulare*. El bovino es poco susceptible a *M. avium* y rara vez tiene una tuberculosis pasajera, caracterizada sobre todo por la sensibilización a la tuberculina pero sin lesiones anatómo-patológicas. La sensibilización desaparece generalmente a los 6-8 meses. La reacción a la tuberculina mamífera en los bovinos sensibilizados por *M. Avium*, es sobre todo intensa poco tiempo después de la infección. La sensibilidad paraespecífica es reconocida aplicando la prueba comparativa simultáneamente con tuberculina mamífera y tuberculina aviar. En cada región geográfica, la dosis de tuberculina aviar para uso en la prueba comparativa debe ser establecida no sólo por ensayos biológicos en el laboratorio,

FIGURA N° 1.

CLAVE PARA LA INTERPRETACION DE LA PRUEBA CON DOSIS DISTINTAS DE TUBERCULINA AVIAR Y BOVINA.

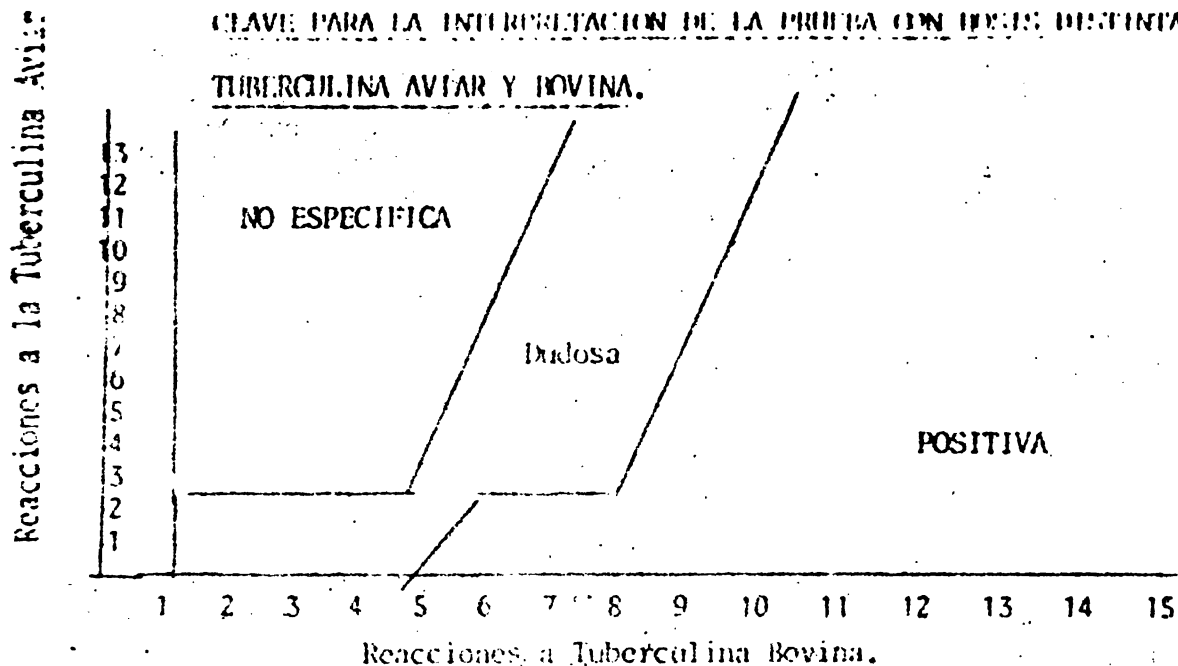
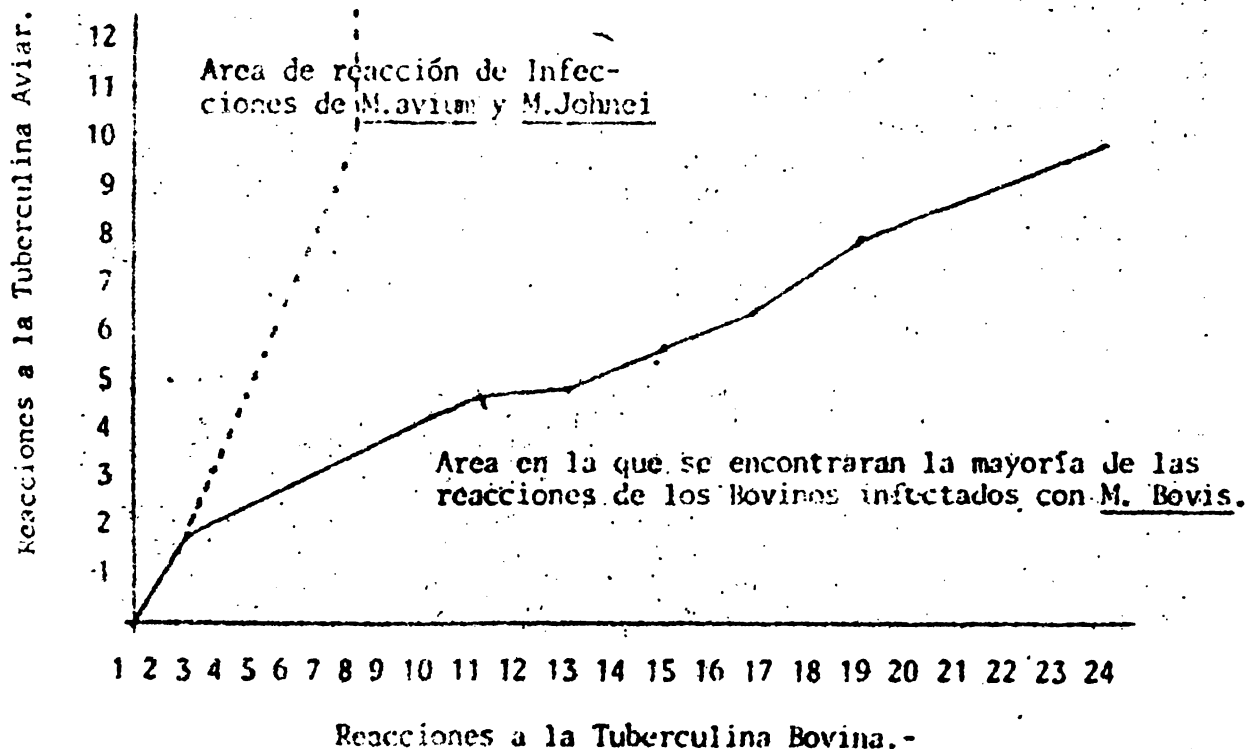


FIGURA N° 2.

CLAVE PARA LA INTERPRETACION DE LA PRUEBA CON DOSIS IGUALES DE TUBERCULINAS AVIAR Y BOVINA.



sino también en grupos de bovinos tuberculosos y grupos de animales sensibilizados paraespecíficamente. Estos ensayos tienen por objeto determinar las dosis relativas de ambas tuberculinas que darán reacciones más grandes a la mamífera que a la aviar en animales tuberculosos y reacciones biológicas y no en el peso comparativo de ambas PPD, ya que este puede ser diferente para las dos tuberculinas.

Una reacción positiva a la tuberculina aviar, no quiere significar que el bovino fue sensibilizado necesariamente como *M. avium*, ya que pudo haberlo sido por otras micobacterias antigénicamente cercanas tales como *M. paratuberculosis* o *M. intracellulare* o cualquiera del grupo Runyon.

Un animal va a reaccionar más frecuentemente a la tuberculina que corresponde a su sensibilización homóloga que a la heteróloga.

El empleo de la prueba comparativa varía con los países. En Gran Bretaña, se la aplica rutinariamente en todos los animales. Sin embargo, en la mayor parte de los países se recurre a ella para aclarar reacciones dudosas a la tuberculina mamífera, sobre todo en rebaños problema.

En cuanto al empleo de la prueba comparativa, son necesarias algunas palabras de cautela. La utilidad de la prueba comparativa difiere, cuando se la aplica a animales de rebaños con alta tasa de tuberculosis bovina o a animales de rebaños de los cuales la tuberculosis bovina fue eliminada, pero se presentan reactores a la tuberculina mamífera con LNV. En el primer caso, la prueba comparativa puede encubrir animales infectados con *M. bovis*. En tal rebaño, si hay sensibilización paraespecífica, puede haber animales infectados por *M. bovis* y al mismo tiempo sensibilizados por micobacterias heterólogas. En la primera fase de sensibilización paraespecífica puede darse el caso que la reacción a la tuberculina aviar sea más fuerte que a la mamífera, en un animal infectado por *M. bovis*, y a la vez sensibilizado paraespecíficamente. En cambio, en un rebaño que haya sido saneado y originariamente libre la prueba comparativa puede ser de gran utilidad para el diagnóstico diferencial. El apoyo de un examen minucioso post-mortem y del laboratorio, es siempre importante.

Los animales con reacciones paraespecíficas pueden ser dejados en el rebaño, ya que si la infección es debida a *M. avium*, ésta no se transmitirá de bovino a bovino. Si en la investigación epidemiológica, se encuentran aves tuberculosas en la finca, la indicación es clara, que la acción debe dirigirse a la eliminación de esa infección y a un mejor manejo del rebaño. Desafortunadamente la causa de la sensibilización a *M. avium* no es siempre aparente. La colaboración del laboratorio para aislar el agente causal de la sensibilización en reactores sacrificados,

es de gran valor. La tasa de aislamiento de M. avium de reactores, aumenta con el progreso de la campaña de erradicación de tuberculosis bovina.

Otra causa de la sensibilización paraespecífica es la infección por M. paratuberculosis, agente causal de la paratuberculosis o enfermedad Johnne. La paratuberculosis se caracteriza por una enteritis crónica en bovinos, ovinos y caprinos. Las lesiones se encuentran sobre todo en las últimas partes del ileo y ciego; los ganglios mesentéricos están infiltrados y con focos de apariencia sarcomatosa, y sin pus. El M. paratuberculosis está estrechamente relacionada antigénicamente a M. avium. Según la tabla de Green, la diferencia sería de 1 a 3 en la sensibilidad homóloga y heteróloga entre ambas micobacterias. Animales infectados por M. paratuberculosis darán por consiguiente, una reacción positiva a la tuberculina aviar en la prueba comparativa. Una segunda prueba a los 3 a 6 meses con tuberculina aviar será generalmente negativa o de un nivel bajo. Cuando se trata de infección por M. avium la desaparición de la sensibilización se puede explicar, ya que la infección se elimina y con ella la sensibilización. No hay una explicación fácil para la desaparición de la sensibilización en animales infectados por M. paratuberculosis, ya que la infección persiste. Según Doyle, el nivel alérgico en la enfermedad de Johnne es bajo y la primera prueba con tuberculina aviar o johnina agota posiblemente la capacidad de respuesta del organismo.

M. tuberculosis es importante desde el punto de vista de sensibilización paraespecífica. El bovino es sumamente resistente al tipo humano del bacilo tuberculoso. La mayoría de las infecciones no se traducen por lesiones anatómo-patológicas, y cuando ocurren, regresan y curan rápidamente. No se observan procesos evolutivos por M. tuberculosis en el bovino. En varios países se ha podido aislar M. tuberculosis de ganglios de reactores positivos, que no presentaban lesiones en el post-mortem. El número de aislamientos sin embargo, es en general bajo. La fuente de sensibilización es siempre un paciente humano que está en contacto con los animales, ya que M. tuberculosis no se transmite de bovino a otro. La tasa de esta sensibilización paraespecífica es más o menos importante de acuerdo a la prevalencia de tuberculosis humana en el medio rural y al grado de cooperación entre los servicios de salud pública y salud animal en el programa de erradicación. La prueba comparativa en este caso no es de ninguna utilidad, ya que la sensibilización es a la tuberculina mamífera. Tampoco es posible diferenciar la sensibilización de PPD humano y PPD elaborado con M. bovis. La sensibilización es en general pasajera y no dura más de 7-9 meses si se retira el foco de infección.

La cooperación entre los servicios de salud pública y de salud animal es sumamente importante. Todos los tamberos comprendidos en el programa de erradicación deben ser sometidos a examen médico. Personas que

tengan lesiones tuberculosas deben ser alejados del manejo de los animales hasta tanto no estén totalmente curadas. El hombre no solamente puede sensibilizar el ganado por M. tuberculosis sino que puede infectar por M. bovis y a su vez infectar el ganado. En rebaños libres de tuberculosis bovina donde aparecen reactores a la tuberculina mamífera mayores que a la aviar, se debe sospechar la sensibilización con M. tuberculosis y todo el personal debe ser reexaminado por los servicios de salud.

Una mención aparte merecen las micobacterias "atípicas" de los 4 grupos de Runyon, a muchas de las cuales se han dado últimamente nombres específicos. Este grupo de bacterias es motivo de un estudio intensivo en los últimos años. En cada uno de los grupos de Runyon, se han encontrado especies que tienen significación patológica para el hombre, produciendo procesos tuberculosos pulmonares, ganglionares o de la piel. Las micobacterias son bacterias del suelo o del agua, que parecen ser fuente común de infección para el hombre y los animales. No hay transmisión interhumana de la infección, como parece no haberla entre los animales. Se ha aislado M. intracellulare y M. xenopi de ganglios y de procesos tuberculosos de cerdos y bovinos. Estas dos especies micobacterianas pertenecen al grupo III de Runyon, al cual se ha incluido últimamente el M. avium, por lo que se explicaría la sensibilización del animal a la tuberculina aviar. M. xenopi que fue aislado de bovinos, en pocas ocasiones podría tener las mismas propiedades, M. kansasii de grupo I y M. fortuitum del grupo IV que fueron aislados también de bovinos, están más relacionados antigénicamente con M. tuberculosis o M. bovis.

Cuan importante es el papel de las micobacterias atípicas en la sensibilidad paraespecífica no está aún bien definido. Lo que no hay duda es que cuando se implantan y multiplican en el organismo animal producen sensibilidad a la tuberculina, de la misma manera como la producen en el hombre. En algunas situaciones como las descritas por Waddington en Kenya, donde hay poca tuberculosis bovina, se encuentran reactores a la prueba comparativa de los cuales se han aislado micobacterias atípicas de animales, con y sin lesiones. El autor atribuye a la subnutrición, intenso parasitismo intestinal y a otros factores de "stress", comunes en el trópico, a que las micobacterias atípicas puedan implantarse y multiplicarse en los bovinos, originando incluso algunos procesos patológicos. Waddington infectó artificialmente con 4 cepas de micobacterias atípicas a cuatro grupos de bovinos. Los bovinos infectados mostraron sensibilidad a la tuberculina mamífera. La reacción alcanzó el pico a las 48 horas y luego empezó a decrecer. El investigador propone diferenciar la reacción específica de la paraespecífica, haciendo lecturas a las 72 a 96 horas. Si entre las dos lecturas hay una diferencia de 25 a 30% en menos, propone clasificar la reacción como paraespecífica. Este criterio para ser aceptado debe ser apoyado en más investigaciones, ya que (14) nosotros realizando tuberculinas comparadas en animales tuberculosos confirmados por autopsia y aislamiento del mycobacterium bovis, haciendo lecturas a las 55 horas y 140 horas de inoculadas

tuvimos los siguientes resultados:

LECTURA A LAS 55 hs

Aviar

Bovino

5
3
5
4
6
2
9

4
6
18
43
9
16
23

LECTURA A LAS 140 hs

Aviar

Bovino

2
0
.2
0
3
0
0

0
1
6
13
5
6
10

En la campaña de erradicación del Canadá se interpretó la prueba comparativa de acuerdo a la siguiente representación gráfica (2A)

De acuerdo a todo lo expuesto resulta evidente que la interpretación de la prueba comparativa en la tuberculosis debe ser realizada de acuerdo a los datos obtenidos en el país donde se aplicará. En base a esto nos propusimos determinar que recta dividiera los resultados positivos y negativos en la interpretación de la prueba.

Se computaron un total de 140 resultados, 81 animales provenientes de establecimientos infectados de tuberculosis y 59 animales de establecimientos que se consideraban libres ya que en los 3 últimos años no habían resultados positivos a la tuberculina. Estos 140 animales fueron sacados por haber reaccionado positivamente a la intradérmica, reacción en el pliegue ano-caudal.

Realizada la prueba comparativa en la tabla del cuello del lado izquierdo, los animales provenientes de los establecimientos infectados fueron sacrificados y enviados los materiales de autopsia al laboratorio.

Los resultados fueron interpretados por la gráfica usada por los canadienses en su lucha por erradicar la enfermedad.

Un porcentaje importante de animales hallados positivos al *Mycobacterium bovis*, por autopsia y laboratorio quedaba en la zona de sospechosos los que nos indujo a formular el trabajo para hallar una curva más ajustada a nuestro resultado.

Se utilizó un programa para análisis discriminante entre poblaciones. Dicho programa discrimina en base a la mayor de dos funciones; si para un mismo dato la función 1 era mayor que la función 2, el mismo se clasificaba como positivo; si la función 2 era mayor que la función 1, era clasificado como negativo. A su vez mediante la integración de las dos funciones se puede obtener la fórmula de la recta que separa las poblaciones.

En una primera oportunidad, el programa se corrió con la totalidad de los datos disponibles, (140), divididos en positivos (81) y negativos (59). La recta obtenida se observa en la planilla 1.

La frecuencia observada de errores fue de 27/81 para los positivos (0.33) y de 16/59 para los negativos (0.27). La frecuencia global de errores es de 43/140, es decir (0.307).

Esto quiere decir, que, de trabajarse a campo con esta recta discriminante el 33% de animales efectivamente tuberculosos será considerado negativo; mientras que el 27% de los animales sanos sometidos a esta prueba será considerado enfermo.

Para un segundo análisis se dividieron las dos poblaciones en incrementos menores de 6.5 mm (tanto a *T. boyis* como a *T. aviar*) a incrementos mayores de 6.5 mm.

Se corrió el programa para los dos grupos obteniéndose sendas rectas que figuran unidas en la planilla 2. En este caso la frecuencia de errores por datos mal adjudicados fue de 18/81 para los positivos (0.22) y de 19/59 para los negativos (0.32), siendo la frecuencia global de 37 datos mal clasificados (0.264).

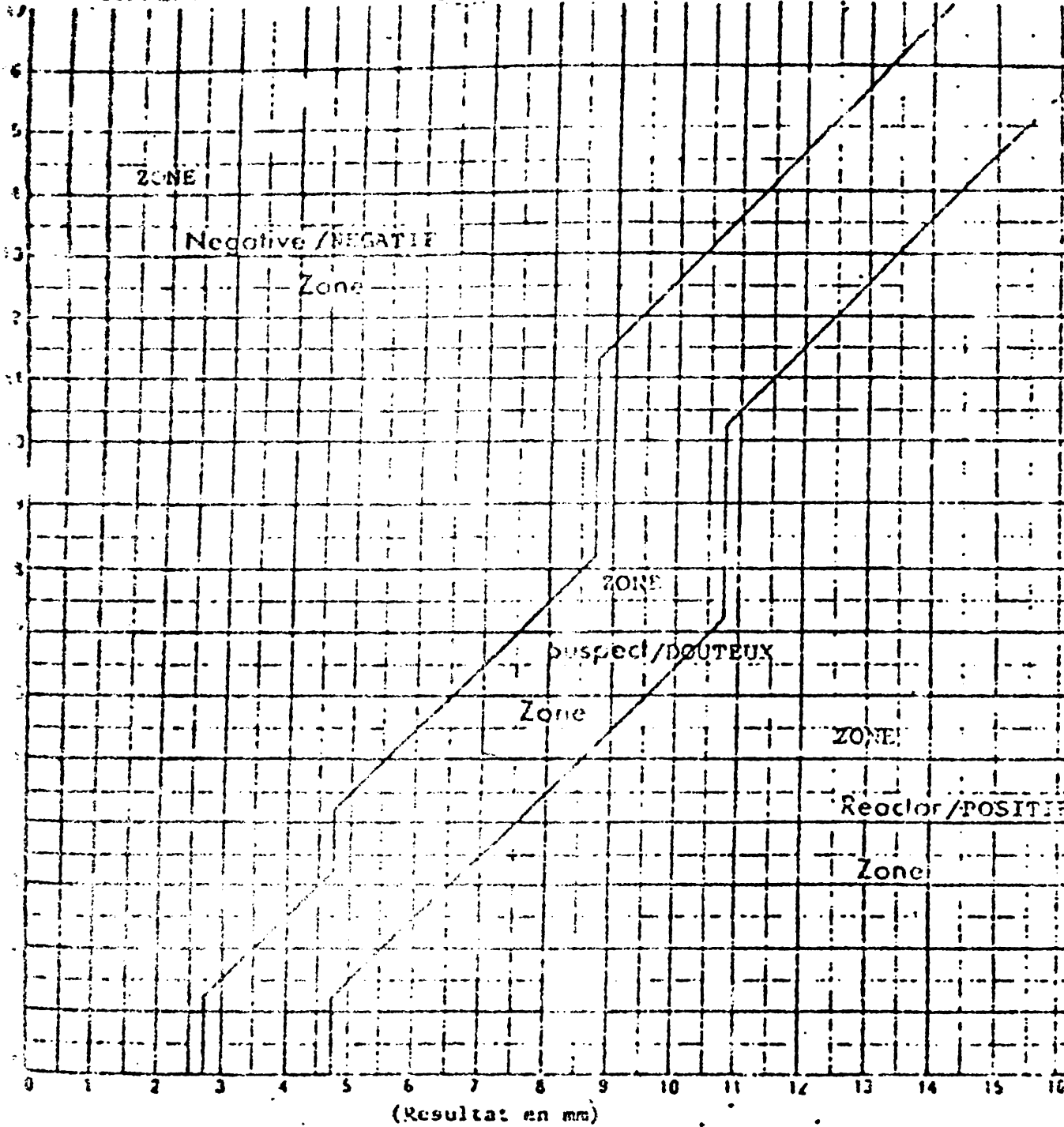
En relación con la recta anterior se logra bajar la frecuencia de animales enfermos que se "escapan" (de 1/3 a 1/5), pero se aumenta en un 5% la frecuencia de animales sanos a los que se consideraría enfermos. En un programa de erradicación parecería preferible la segunda pues es más severa con los animales realmente enfermos.

F I G U R A " 2 A "

APPENDIX 10

SECTION 11

ANNEXE 10



BOVINE

(Tuberculin Response in Millimeters)

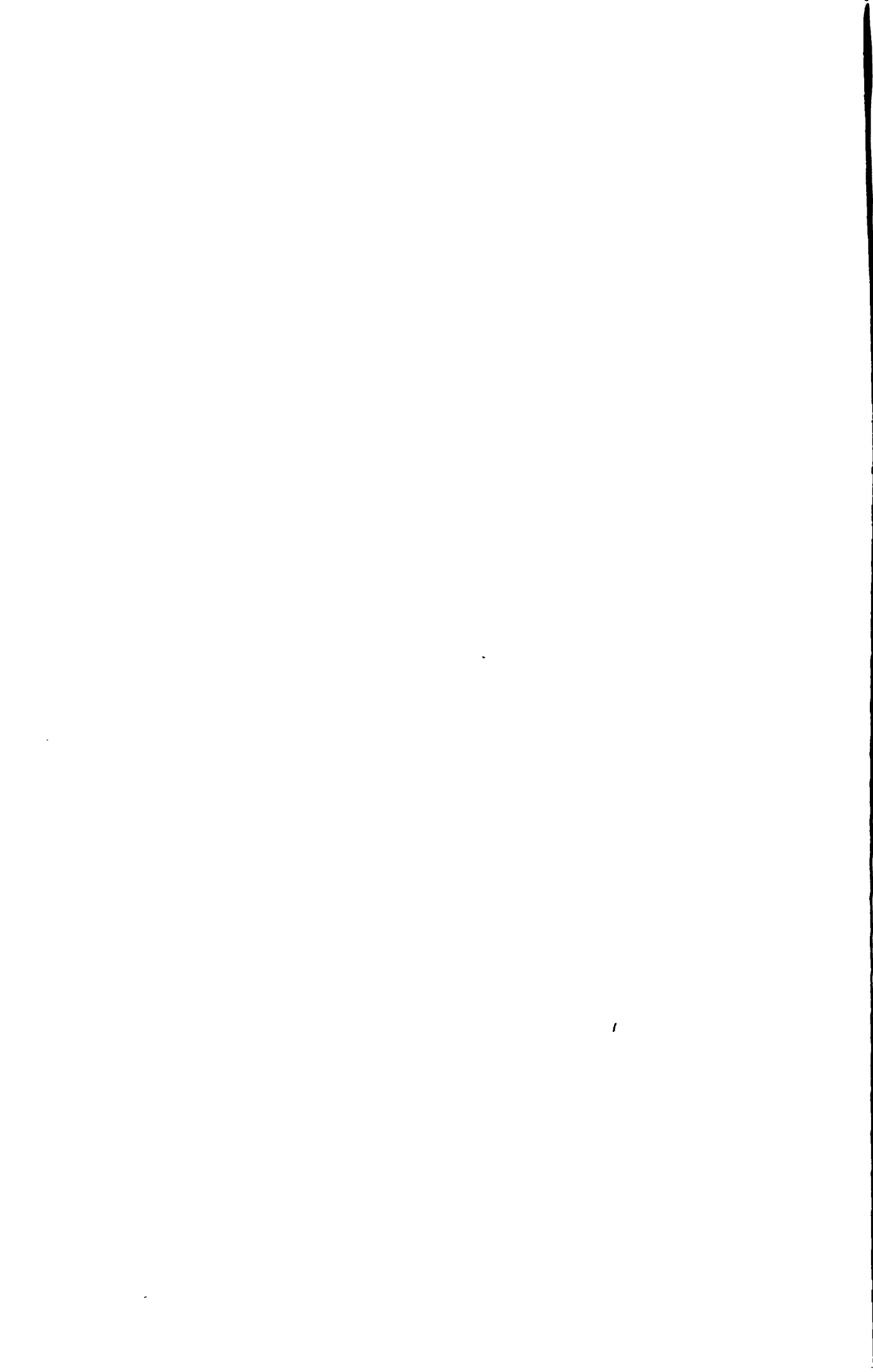
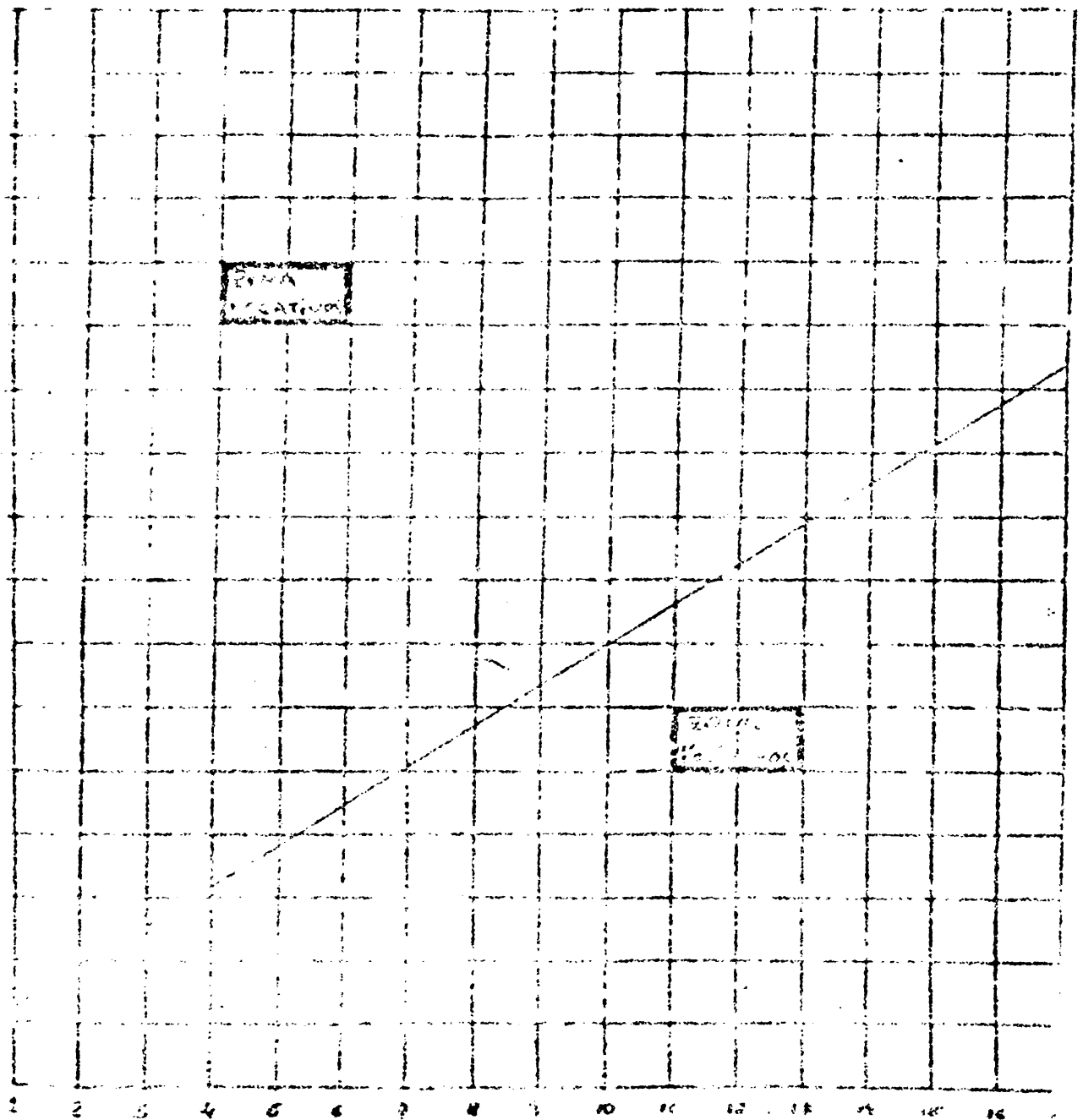


FIGURA Nº 3.

COEFICIENTE DE PERDA; ANTER 0.5717 = 0.6125 (por.)

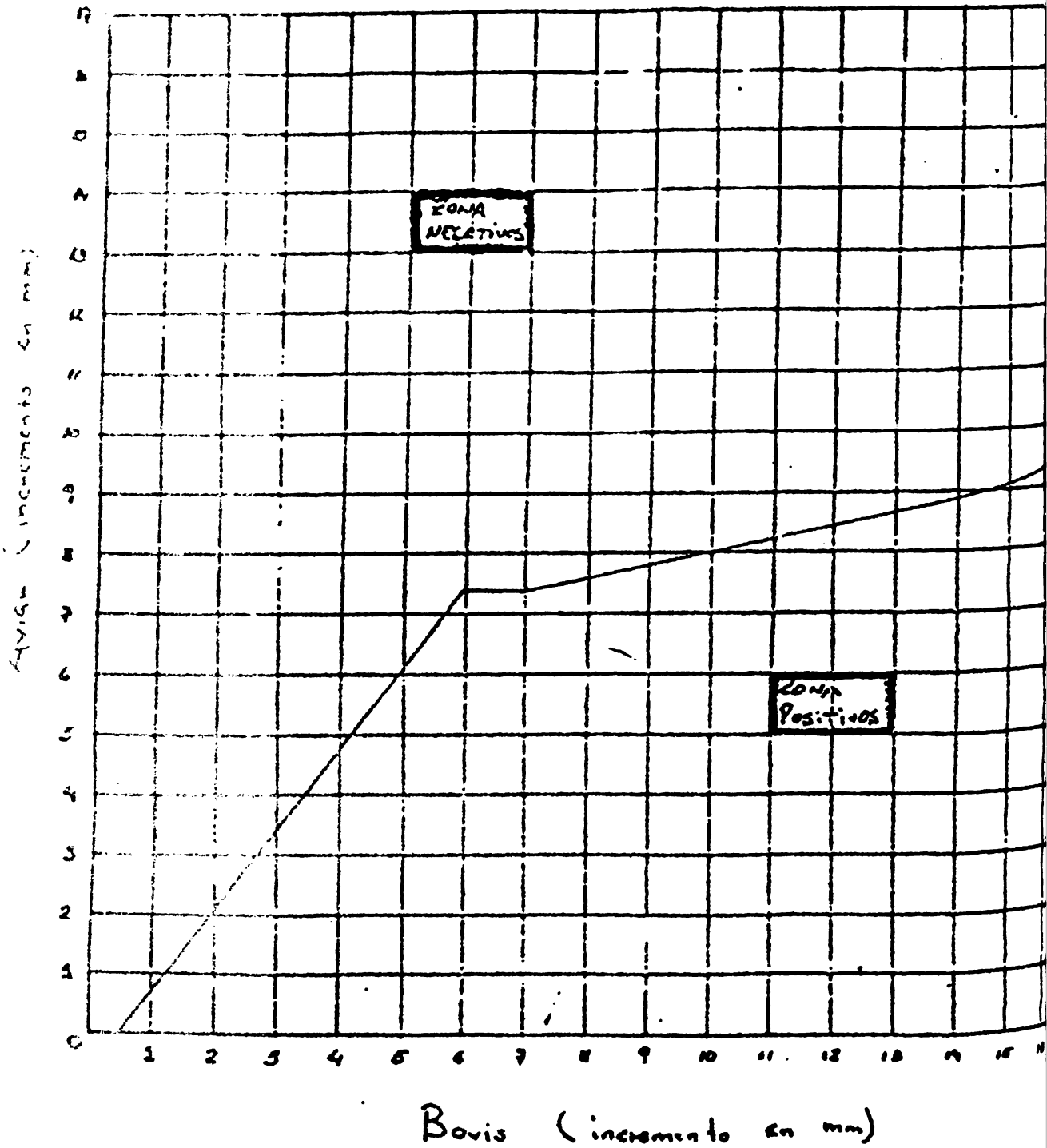


Base (centímetros en mm)

FIGURA Nº 4.

CALCULO DE RECTA; DATOS 6,S: AVIAR 0.57 + 1.3195 (bov.)

DATOS 6,S: AVIAR 5.67 + 0.2273 (bov.)



COMENTARIOS

La técnica estadística utilizada para el análisis a los datos demostró ser la correcta, así como es clara la conveniencia de analizar los datos divididos en sectores a efectos de conseguir mejores ajustes.

A efectos de proseguir el estudio de los resultados de la prueba intradermo cervical doble comparativa se deben dar los siguientes pasos:

- a) estudiar (lo que ya se está haciendo) un programa que permita estimar un intervalo de confianza la recta discriminante, cálculo lo que el empleado en la oportunidad no permitía.
- b) implementar a nivel oficial una medida que permita disponer de mayor cantidad de datos (por lo menos 300). Esto es imprescindible por dos razones. Por un lado tenemos, como se dijo al principio, que se mejora sustancialmente el ajuste de la recta, dividiendo los datos por sectores. Con la actual disponibilidad de datos, existen sectores que quedan con demasiado pocos datos como para que las estimaciones realizables sean de confiar.

Asimismo, con un mayor número de datos sería factible la aplicación de otro tipo de técnicas que aportarían mayores elementos de juicio (técnicas de simulación).

CONCLUSIONES

- 1) La prueba comparativa sin ser una solución absoluta, es de gran valor para culminar con la erradicación de la tuberculosis.
- 2) Su valor es indiscutible mientras se realice dentro de una campaña sanitaria.
- 3) Es imprescindible conocer los antecedentes en materia de tuberculosis del rodeo problema.
- 4) En el Uruguay debería interpretarse la prueba por la figura "4" anteriormente descrita, y hallada con los resultados nacionales obtenidos hasta el momento.
- 5) Se deben seguir haciendo pruebas comparativas y sus resultados suministrados a la computadora para establecer una zona de animales dudosos.

BIBLIOGRAFIA

- 1) D. Cohem. Primer Seminario sobre Tuberculosis (Chile, 1970).
- 2) J. Beer. Enfermedades Infecciosas de los Animales Domésticos (1981).
- 3) OPS/OMS: Uruguay (1976).
- 4) OPS Dra. Isabel N. de Kantor (1979).
- 5) J. Beer: Enfermedades Infecciosas de los Animales Domésticos (1981).
- 6) H.H. Kleeberg: Tuberculosis Bovina y Salud Pública.
- 7) Doyle, T.M. John's Disease; en A.W. Stableforth and IA, Galloway, Infectious Diseases of Animal, v.1. Academic Press Inc., N. York, (1959).
8. Edwards, Phyllis, Q. and Edwards, Lydia B. Torg of the Tuberculina Test from an Epidemiological Viewpoint. *Amer. Rev. Resp.Dis.* 8 (1960).
- 9) Francis, J. Tuberculosis in Animal an Ma. Cassel and Co., Ltd, London, (1958).
- 10) Green, H.H. Wybridge PPD tuberculins, *Vet. J.* 102 267, (1946).
- 11) Luis Alberto Bolla Collazo (Uruguay).
- 12) H. Huitema: Primer Seminario sobre Tuberculina (Chile) (1970).
- 13) Palmer, C.E. Tuberculin sensitivity and contact with tuberculosis: Further evidence of nonspecific sensitivity. *Am.Rev.Tuberc.* 68:678 (1953).
- 14) Luis Alberto Bolla Collazo (Uruguay).

PATOLOGIA DE LA TUBERCULOSIS BOVINA Y CRITERIOS
PARA EL DECOMISO

Dr. A.F. Ranney

Animal Health Division, Agricultural Research Service
U.S. Department of Agriculture, Estados Unidos

La diagnosis diferencial de la tuberculosis por el examen macroscópico es frecuentemente muy difícil, aún para el patólogo experimentado y bien entrenado. De esta forma, el inspector veterinario que debe efectuar el adecuado decomiso de una canal o parte de ella en base sólo al examen macroscópico, frecuentemente encuentra considerable dificultad.

De acuerdo a Davis y Anderson¹: "Los laboratorios comprometidos en la diagnosis por inspección de carne saben que algunas lesiones granulomatosas halladas en el ganado bovino son a veces indistinguibles de aquellas debidas a tuberculosos y requieren examen diagnóstico diferencial de laboratorio. En la experiencia de los autores, lesiones caseo-calcáreas o calcificadas de actinobacilosis, actinomicosis, granuloma coccidídeo, otras infecciones micóticas y por *Corynebacterium pyogenes*, muchas veces tienen un aspecto granuloso amarillento muy parecido a las lesiones macroscópicas de tuberculosis. Ocasionalmente algunas lesiones carcinomatosas y estados parasitarios, tales como pentastomiasis de los ganglios linfáticos, también se asemejan a la tuberculosis".

Muchos textos proveen un cuadro descriptivo de las lesiones tuberculosas. Brandly y col.² dicen: "el tubérculo es la lesión característica de la tuberculosis. En los estados iniciales consiste en un nódulo gris, transparente. Al desarrollarse la lesión, la degeneración caseosa comienza en el centro dando al tubérculo un tinte amarillento. La coloración es debida al crecimiento de microorganismos y a

la producción de una sustancia tóxica que causa necrosis de las células de los tejidos adyacentes. Los tubérculos se fusionan para formar nódulos de tamaño creciente. Los nódulos se combinan formando grandes masas caseosas amarillas que tienden a calcificarse. El tamaño de estas masas varía considerablemente. La consistencia del centro de una masa tuberculosa puede ser desde caseo-purulenta hasta caseosa o caseocalcárea. Histológicamente, las lesiones muestran por lo general áreas centrales de necrosis caseosa conteniendo depósitos calcificados y rodeados por una zona de linfocitos, células epitelioides, fibroblastos y células gigantes. En las lesiones se encuentran microorganismos ácido-resistentes.

"Actualmente está bien establecido que la tuberculosis es esencialmente una afección del sistema retículo endotelial. El bacilo tuberculoso, una vez introducido en el cuerpo del animal, por lo general es rápidamente localizado por el sistema retículo-endotelial".

En animales adultos, la tuberculosis es considerada generalmente como enfermedad pulmonar. Las lesiones primarias involucran con mayor frecuencia los pulmones y los ganglios linfáticos asociados. Al ser una enfermedad crónica progresiva, pueden desarrollarse lesiones en casi cualquier tejido. La complicación del músculo voluntario ha sido observada pocas veces. Los autores mencionados anteriormente también dicen: "Los resultados de estudios recientes justifican la conclusión de que el poder del bacilo para atacar el tejido muscular es extremadamente bajo".

Para el inspector veterinario experimentado, la localización y extensión de las lesiones en la res, la prevalencia de condiciones de enfermedad en la población inspeccionada y su propio juicio personal, son factores que pueden influenciar su habilidad para hacer una diagnosis diferencial por examen macroscópico.

Según Davis y Anderson³, las siguientes son algunas de las características por las que ciertos estados patológicos pueden diferenciarse de la tuberculosis en el examen macroscópico. Al encontrar condiciones indistinguibles de tuberculosis, se recomienda el examen de laboratorio para una mayor exactitud.

"La diagnosis "post mortem" de tuberculosis en los bovinos se basa habitualmente sobre el aspecto amarillento de un proceso necrobiótico, ya sea la lesión caseosa, caseo-calcárea o calcificada. Es esta una característica bastante constante de la lesión tuberculosa, y aún el exudado purulento en una lesión grande que sufre necrosis liquefaciente permanece amarillo.

"El tejido canceroso (carcinoma) es comúnmente amarillo y no es raro que se confunda con tuberculosis. Las lesiones metastáticas de carcinoma del ojo o del útero pueden confundirse con tejido granulomatoso si la localización primaria se pasa por alto".

"A medida que el contenido purulento de los granulomas no tuberculosos se reemplaza por tejido de granulación, su brillo verdoso desaparece gradualmente; las lesiones se convierten en tejido amarillento caseo-calcáreo o calcificado que se parece mucho a un proceso tuberculoso. Aún los nódulos verdosos en los ganglios linfáticos, causados por larvas migratorias parasitarias pueden eventualmente tornarse grises o amarillo claro y ser confundidas con tuberculosis".

De acuerdo con Hutya y Marek⁴, "el bacilo tuberculoso aparece en la sangre sólo en algunos casos de tuberculosis miliar aguda y a veces en la tuberculosis crónica acentuada, especialmente en la etapa final. En los demás casos sólo se lo encuentra excepcionalmente y únicamente por periodos. Evidentemente el organismo animal tiene el poder de sobreponerse a la infección por número limitado de bacilos. La tuberculosis miliar parece desarrollarse sólo después de una invasión de

grandes masas de gérmenes. Nocard y Mac Fadyean observaron que los bacilos tuberculosos inoculados por vía endovenosa desaparecen de la sangre en el término de varias horas y, de acuerdo a Titze, aún considerables cantidades de bacilos introducidos en la sangre sólo permanecen allí entre 7 y 9 días".

Meyn y Schliesser⁵ comunicaron que, sobre la base de los datos de la inspección de carnes en Alemania, los porcentajes siguientes de ganado bovino tenían bacilos tuberculosos demostrables en la carne:

de 248 aprobados sin restricción	11,7%
de 17 aprobados con restricciones	35,3%
de 35 decomisados	62,8%

Todas las demostraciones de bacilos tuberculosos fueron hechas por aislamiento del microorganismo en medios artificiales o en cobayos. Se encontró que los cobayos eran mucho más eficaces que los medios artificiales utilizados.

Hay cuatro formas principales de diseminación de la infección en el animal: a) por contiguidad local, como en la infección peritoneal a partir de un hígado tuberculoso; b) por conductos o tubos naturales, como en la propagación de la infección del riñón a la vejiga por vía de los uréteres; c) por el sistema linfático; d) por la circulación sistémica.

Una lesión proliferativa es aquella que crece y en la cual las micobacterias se diseminan para formar nuevos tubérculos adyacentes al más viejo o en algún lugar distante del cuerpo. Los tubérculos pueden variar en número, tamaño y tipo dentro del huésped animal.

La tuberculosis puede considerarse como localizada si se limita a uno o varios órganos del cuerpo. Un ejemplo de la localización es

la propagación de los bacilos a los ganglios linfáticos mesentéricos a través de la mucosa intestinal y al hígado y ganglios linfáticos portales por vía de la vena porta.

El término "múltiple" denota la presencia de lesiones en varios órganos. Las lesiones pueden clasificarse como agudas o activamente progresivas si hay evidencia de congestión del tejido circundante y los ganglios linfáticos asociados están aumentados de tamaño y edematosos, o diversas lesiones pequeñas distribuidas alrededor de un foco caseoso tuberculoso más antiguo.

En el decomiso de animales sacrificados para consumo humano, el veterinario oficial debe considerar la extensión, desarrollo, edad y naturaleza de las alteraciones tuberculosas y el estado del animal. Las reglamentaciones del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos, que gobiernan la inspección de carnes para la disposición de reses afectadas de tuberculosis (Parte 311, Sección 311.3, revisión del 1º de octubre, 1965) dicen:

311.3 Tuberculosis; disposición de canales y partes. Con los canales de animales infectados de tuberculosis deberá procederse como sigue:

- a) Canales decomisados. La res íntegra debe ser decomisada en los casos indicados a continuación:
 - 1) Cuando se trata de lesiones tuberculosas generalizadas. Se considera tuberculosis generalizada cuando las lesiones están distribuidas de manera tal que sólo haya sido posible por la entrada de bacilos a la circulación sistémica.
 - 2) Cuando se había observado en la inspección "pre-mortem" que el animal tenía fiebre, asociada con una lesión tuberculosa activa descubierta en el examen microscópico.

- 3) Cuando haya caquexia asociada.
 - 4) Cuando se encuentren lesiones tuberculosas en los músculos o tejidos intermusculares, o huesos, o articulaciones, o en los ganglios linfáticos del cuerpo como resultado del drenaje de músculos, huesos o articulaciones.
 - 5) Cuando las lesiones son extensivas en órganos y tejidos de la cavidad torácica o abdominal.
 - 6) Cuando las lesiones son múltiples, agudas y activamente progresivas.
 - 7) Cuando las lesiones son más extensivas que aquellas descritas en el párrafo c) de esta sección y el carácter o extensión de las lesiones no son indicativos de una condición localizada.
- b) Disposición de órganos o partes. Un órgano comestible u otra parte afectada de tuberculosis localizada debe ser decomisada cuando contenga lesiones tuberculosas o cuando las tenga el ganglio linfático correspondiente.
- c) Canales aprobados para consumo. Los siguientes principios deben aplicarse a la disposición de reses para consumo que no se requiere sean decomisadas según el párrafo a) de esta sección. Debido a que hay diferencias en la patogénesis de la tuberculosis en los suinos y bovinos, también será diferente la disposición de reses de animales afectados de tuberculosis de estas dos especies.
- 1) En los porcinos la enfermedad por lo general afecta primariamente el sistema digestivo. La canal puede ser aprobada para consumo después de la destrucción de las partes afectadas según lo requiere el párrafo b) de esta sección,

cuando las lesiones son localizadas y limitadas a los sitios primarios de infección, tales como los ganglios linfáticos cervicales, mesentéricos y hepáticos.

- 2) En bovinos, la enfermedad por lo general afecta primariamente el sistema respiratorio. La canal puede ser aprobada para consumo después de la eliminación de las partes afectadas según lo requiere el párrafo b) de esta sección, cuando las lesiones son localizadas y limitadas a los sitios primarios de infección, tales como los ganglios linfáticos cervicales, bronquiales y mediastinales y si no ha progresado más allá de los ganglios linfáticos mesentéricos.
- 3) En el caso de otros animales, las reses que demuestran lesiones de tuberculosis no deben ser aprobadas para consumo.
- d) Canales aprobados para cocción. Las reses que revelan lesiones más severas o más numerosas que aquellas descritas en los subpárrafos 1) y 2) del párrafo c) de esta sección, pero no tan numerosas como las lesiones descritas en el párrafo a), pueden ser aprobados para cocción de acuerdo con la Parte 315 de este subcapítulo, si el carácter o la extensión de las lesiones son indicativos de una condición localizada y son calcificadas o encapsuladas y el órgano o parte afectada es decomisado.

La parte 315 de este subcapítulo especifica que las reses y partes aprobadas para cocción deben calentarse a 77°C (170°F) durante 30 minutos. Se ha hecho una propuesta para cambiar esta reglamentación por la de que las reses aprobadas para cocción se derritan a grasa, sebo y residuo protéico no comestible.

Para salvaguardar la salud del consumidor y ayudar a medir el éxito de un programa de erradicación, es imperioso que la inspección y los procedimientos de decomiso estén a cargo de inspectores veterinarios conscientes y especialmente entrenados.

REFERENCIAS

1. Davis, C.L., Anderson, W.A. Postmortem and laboratory diagnosis of bovine granulomas encountered in meat inspection with special reference to tuberculosis. Proc. Ann. Meet. U.S. Liv. Sanit. Ass (55th), Kansas City, 1951. p. 282-285.
2. Brandly, P.J., Migaky, G., Taylor, K.E. Meat hygiene. 3 ed. Philadelphia Lea & Febiger, 1966.
3. Davis, C.L., Anderson, W.A. Pathology and the differential diagnosis of tuberculosis. Proc. Tuberc. Eradic. Conf., East Lansing, Mich., 1958.
4. Hutyra, F., Marek, J. Pathology and therapeutics of the diseases of domestic animals. 3. amer. ed., 1926, Vol. I.
5. Meyn, A., Schliesser, T. Weitere Untersuchungen über das Vorkommen von Tuberkelbakterien in Fleisch Tuberkulöser Rinder. Rindertuberculose, 3: 105-124, 1954.

LOS SERVICIOS DE INSPECCION DE CARNE COMO AYUDA EN LA ERRADICACION DE LA TUBERCULOSIS BOVINA

Dr. A.F. RANNEY

Animal Health Division, Agricultural Research Service
United States Department of Agriculture, Estados Unidos de América

Los servicios de inspección de carnes, supervisados por veterinarios competentes, son de incalculable valor para los funcionarios de sa lud animal encargados de la administración de programas de erradicación de la tuberculosis bovina. Considero conveniente dividir la presentación de este tema en cuatro partes principales:

1. Examen de los canales de los reactores y determinación científica de su aptitud para el consumo humano.

Una razón fundamental para el establecimiento de un programa de erradicación de la tuberculosis bovina es la protección de la sa lud pública. Sería un desatino clasificar a los animales como re actores a la prueba de tuberculina y no poner atención al destino posterior de sus canales. Los animales conocidos como reactores deben ser sometidos a un examen más minucioso que aquellos provenientes de áreas libres de infección.

2. Detección en el matadero de animales infectados no descubiertos por los exámenes de rutina, su identificación y rastreo del rebaño de origen, a fin de aplicar las correspondientes medidas de control y erradicación.

Se ha señalado en innumerables oportunidades que no se puede confiar solamente en la prueba de tuberculina para la diagnosis de la tuberculosis bovina. Es posible encontrar sensibilidad a la tuberculina bastante tiempo después que la enfermedad ha sido erradicada y beneficiar animales no infectados. Otro aspecto de la situación es, tal vez, más serio. La prueba de la tuberculina puede fallar en la detección de algunos casos de tuberculosis.

A medida que reducimos la enfermedad a un nivel bajo, el costo del hallazgo de un animal infectado mediante las pruebas de rutina va aumentando progresivamente. Es bien sabido que cuanto más pronto se puede detectar la infección y aplicar las medidas de control y erradicación, tanto más eficaz será el programa. La investigación retrospectiva para descubrir el rebaño de origen de un animal hallado tuberculoso en el matadero es un poderoso auxiliar del programa de pruebas. Los procedimientos para el hallazgo de rebaños tuberculosos deben ser desarrollados en la forma más completa posible.

La erradicación de la tuberculosis puede alcanzarse sólo después de haber sido descubiertos todos los animales infectados. El veterinario inspector de carnes que detecta una lesión tuberculosa o sospechosa y envía la muestra al laboratorio para verificación de la diagnosis adjuntando la identificación completa del animal, contribuye en forma muy valiosa a los esfuerzos de erradicación. Luego es responsabilidad de los funcionarios encargados de la erradicación de la enfermedad, aplicar el procedimiento epidemiológico adecuado para localizar el rebaño infectado y establecer las medidas de control y erradicación pertinentes.

3. Medida de la disminución en la incidencia de la tuberculosis

Si bien es cierto que hay otros medios, como por ejemplo la prueba de tuberculina, que permiten medir el progreso hacia la erradicación, la disminución continua del porcentaje de lesiones tuberculosas entre los animales sacrificados regularmente en el matadero constituye una verificación del grado de éxito logrado. La detección de tuberculosis en el momento de la matanza, junto con un minucioso examen de laboratorio, son esenciales para un programa eficaz, particularmente cuando se ha alcanzado una baja incidencia.

La notificación de casos de lesiones en animales provenientes de áreas que supuestamente están libres de infección, constituye un alerta sobre la necesidad de una aplicación más drástica de las medidas de control y erradicación. Esto es particularmente cierto cuando se trata de zonas en las que las pruebas tuberculínicas se aplican a intervalos considerables.

4. Evaluación de los resultados de procedimientos tales como la prueba de tuberculina para la detección de la tuberculosis.

La prueba tuberculínica se evalúa, generalmente, en base a su eficacia para detectar un alto porcentaje de los animales infectados y un mínimo de reacciones entre los animales sanos. No es posible esperar que se descubran lesiones de tuberculosis en todos los animales infectados; este punto frecuentemente se pasa por alto. Un cuidadoso análisis estadístico provee las bases para determinar la eficacia de la prueba, incluyendo la evaluación de la tuberculina y las técnicas empleadas.

Se debe tener presente que el inspector de carnes necesita un continuo apoyo histopatológico y bacteriológico para la diagnosis de la tuberculosis. La experiencia ha demostrado que un servicio eficiente de inspección de carnes de vez en cuando encuentra un animal enérgico, que aparentemente ha estado infectado con *M. bovis* durante un período de tiempo considerable y en repetidas oportunidades ha resultado negativo a la prueba de tuberculina.

También se pueden detectar animales con un grado de reactividad tan bajo como para haber sido considerado no insignificante por el veterinario que realizó la prueba.

Desde el punto de vista epidemiológico, el servicio de inspección de carnes puede ser un elemento valioso para el hallazgo de casos a un costo relativamente bajo. En una comunidad donde la

infección está ampliamente dispersada, la notificación de un animal tuberculoso por un inspector puede ahorrar miles de dólares. Hay un caso, seleccionado por lo representativo, que puede ilustrar la importancia del método epidemiológico y las consecuencias de la dispersión de un rebaño aparentemente muy infectado en el momento de la venta, en septiembre de 1965 (Fig. 1).

Varios puntos importantes pueden mencionarse en relación a este caso:

- a. Los funcionarios realizaron el estudio epidemiológico en forma rápida.
- b. Dos animales de un mismo punto de origen se encontraron al mismo tiempo mediante dos procedimientos distintos. El animal del rebaño A, que fué hallado con lesiones por la inspección de carnes el 18 de enero de 1966, y el animal del rebaño B, que reaccionó en una prueba de área dos días después, el 20 de enero de 1966, fueron identificados como pertenecientes a un rebaño de 91 animales, disgregados 4 meses antes.
- c. Los 91 animales del hato disgregado se vendieron y pasaron a integrar otros 24 rebaños.
- d. En 11 rebaños se encontraron animales tuberculosos provenientes del hato en cuestión. Esta cifra incluye los rebaños A y B, que fueron los que originaron el estudio, y otros 9 en los que se encontró la infección gracias a la investigación epidemiológica.
- e. Hubo 9 rebaños a los que se habían agregado 11 animales provenientes del hato en cuestión, donde no se notificó infección alguna.

- f. Diez animales introducidos en 5 rebaños habían sido enviados al matadero antes de que se efectuaran investigaciones retrospectivas y exámenes. No se informó de lesiones en esos bovinos.
- g. Ocho animales se vendieron en otro Estado y no pudieron ser identificados posteriormente.

En base a las infecciones halladas mediante las investigaciones retrospectivas, podemos especular con respecto a:

- a. Número de animales tuberculosos entre los 8 vendidos en otro Estado.
- b. Número de rebaños entre los cuales pueden haber propagado la infección.
- c. Número de meses o años que pasarán antes de que los rebaños adicionales infectados puedan ser descubiertos como resultado de la venta de esos 8 animales expuestos.
- d. Grado de peligro para la salud humana.
- e. Pérdida económica para los propietarios de ganado cuyos rebaños podrán llegar a infectarse.
- f. Costo que debe agregarse al programa como resultado de la amenaza potencial de infección.

En este caso el servicio de inspección de carnes y el veterinario que efectuó las pruebas de área detectaron cada uno, un animal infectado que condujo con bastante rapidez hacia el rebaño tuberculoso. Con la reducción en la frecuencia de los muestreos de área, se hace más importante contar con la ayuda del servicio de inspección de carnes.

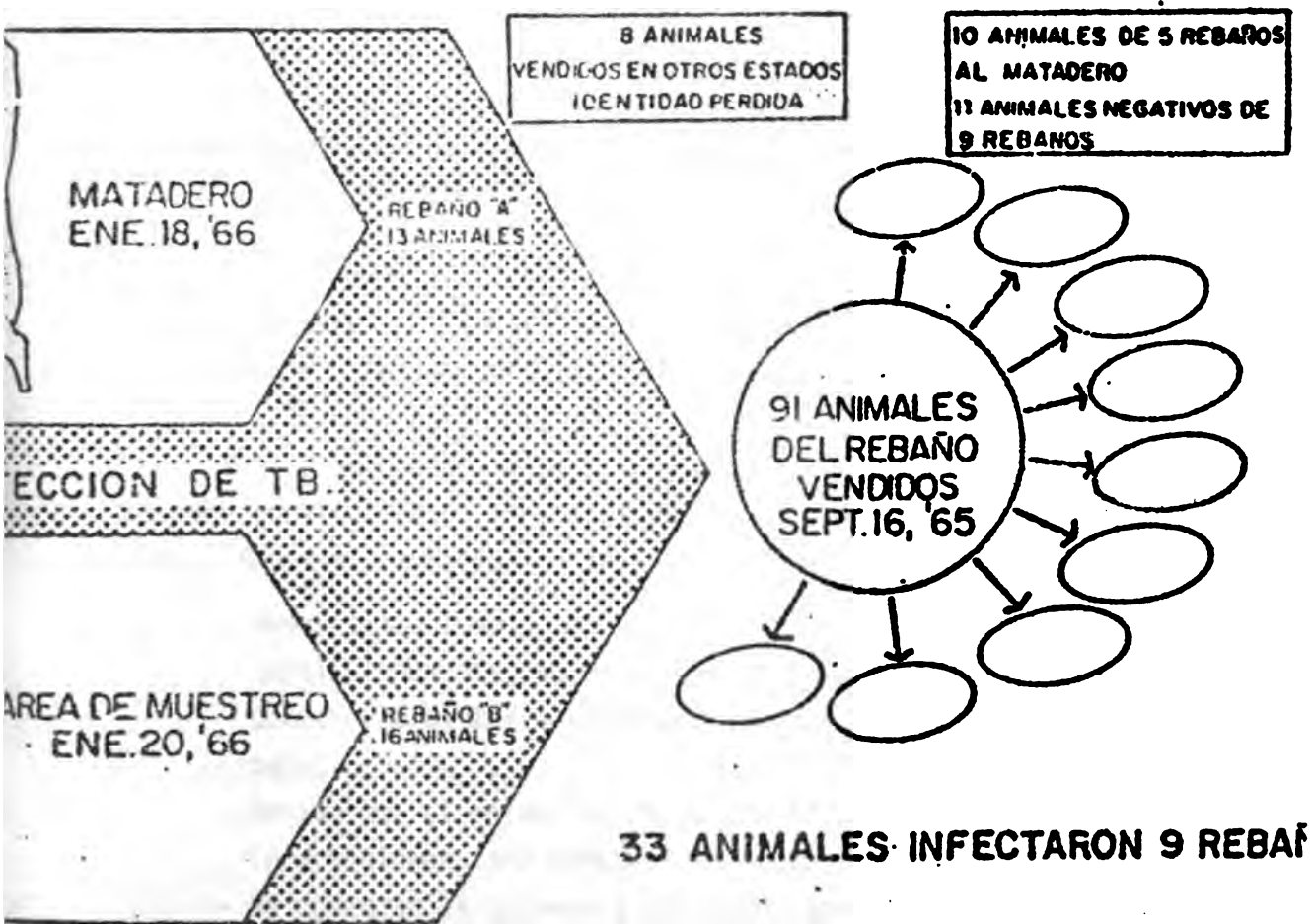
Más de 10 años atrás, Feldman afirmó¹: "Estamos frente a una enfermedad versátil y sujeta a notables variaciones. La tuberculosis es única por su sintomatología variable, su patogénesis impredecible y las varias alteraciones micro y macroscópicas de los tejidos".

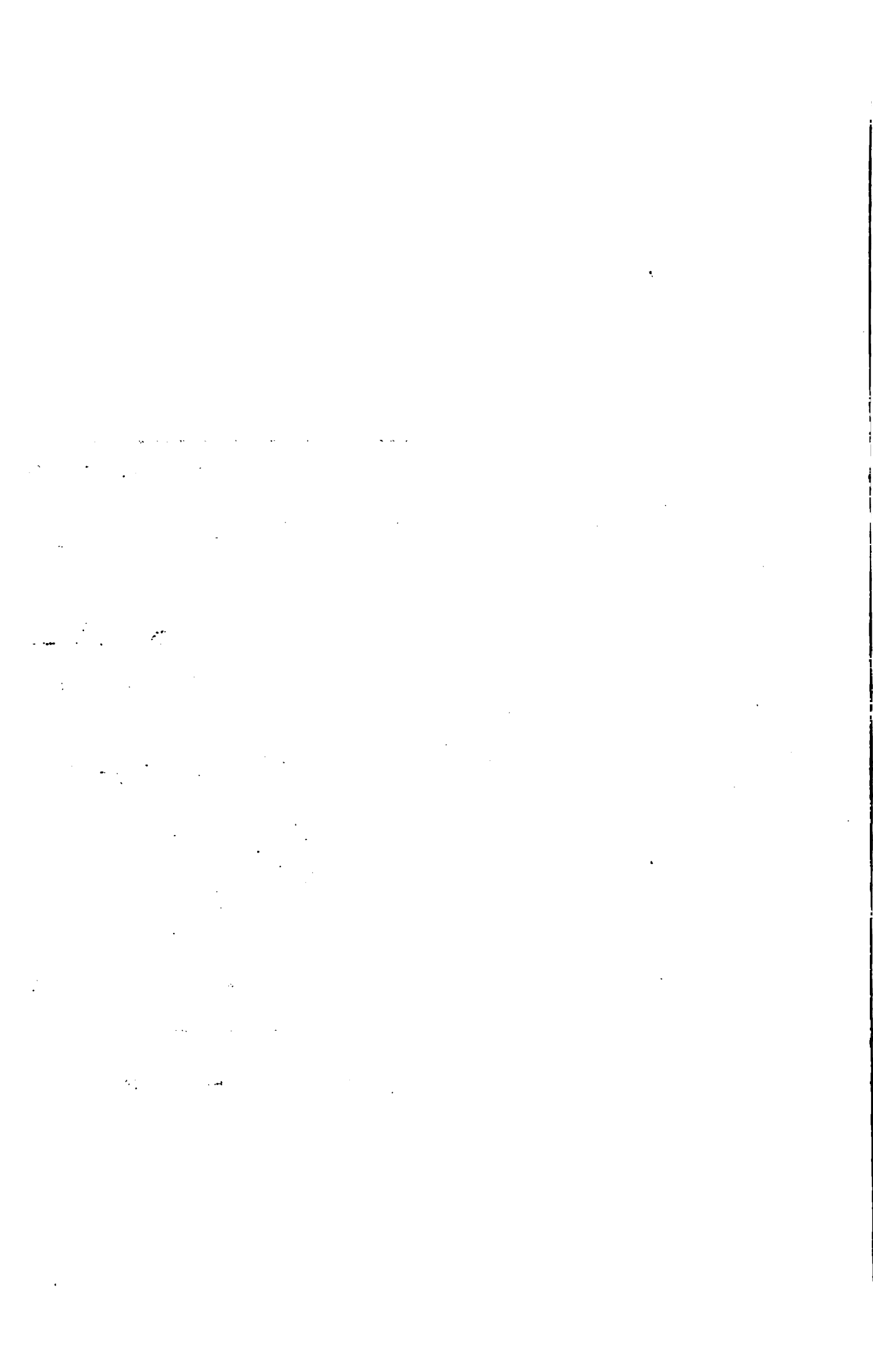
La erradicación de la tuberculosis bovina requiere un verdadero enfoque táctico. El servicio de inspección de carnes, por lo menos en los Estados Unidos, ha demostrado ser una parte vital del equipo de erradicación de la tuberculosis bovina y del cual dependemos cada vez más para la detección y notificación de los casos de tuberculosis. Puede descubrir y reportar las lesiones tuberculosas que nos lleven al último rebaño infectado de los Estados Unidos.

REFERENCIA

Feldman, W.H. Avian tuberculosis and its relationship to bovine tuberculosis eradication. En: Tuberculosis Eradication Conference, East Lansing, Mich., 1958. Proceedings. U.S. Department of Agriculture (ARS 91-15), 1959.

FIG. 1
INVESTIGACION RETROSPECTIVA DE T. B.





LA NECROPSIA

Dr. Julio Idiart

Los objetivos que se perciben al realizar una necropsia pueden ser varios:

- Determinar la causa de la muerte.
- Confirmar o rectificar un diagnóstico clínico.
- Obtener muestras.
- Diagnosticar una enfermedad en un grupo de animales a partir de un animal representativo.
- Determinar si existe un problema de Salud Pública.
- Colectar órganos con lesiones de interés didáctico.
- Entrenamiento constante para aumentar la habilidad y eficiencia profesional.

Por lo tanto, puede apreciarse claramente, que la necropsia desempeña un papel de indiscutible valor, en los programas de prevención y control de las Zoonosis.

Existe una serie de normas, premisas o procedimientos generales que conviene tener en cuenta cuando se cumple este tipo de tareas. Podemos resumirlas de la siguiente manera:

- Tener listo todo antes de comenzar la necropsia (equipo, personal, indumentaria, etc.).
- Conocer la historia clínica o todos los datos posibles del caso.
- Pensar que el animal murió de una enfermedad transmisible (precauciones para prevenir infección o injurias).
- No comenzar la necropsia con un diagnóstico preconcebido.
- Documentar los hallazgos (escribir, grabar y/o fotografiar. No confiar en la memoria.
- Hacer un examen sistemático siguiendo un procedimiento ordenado lógico y conociendo (técnicas de necropsias).

- Extraer muestras, aún aquellas que parecieran innecesarias (mejor desechar luego, que arrepentirse).
- Conocer los deseos del dueño, con respecto a la recuperación del cadáver.
- Averiguar de antemano las posibilidades de connotaciones legales.

Recomendamos la lectura de la Nota Técnica No. 23 "La autopsia. Su aplicación en el campo", del Centro Panamericano de Zoonosis (Ramos Meifa, 1981), en la que se detallan las técnicas de necropsias en las diferentes especies, así como la recolección, preparación y envío de muestras para examen de laboratorio.

A lo allí expuesto, cabe agregar que en la necropsia de animales tuberculosos, o sospechosos de serlo, se torna indispensable la exploración de los ganglios linfáticos, incluyendo el corte foliado de los mismos y, fundamentalmente, de los ganglios traqueo-bronquiales, habida cuenta de las dos puertas de entrada comunes del bacilo.

Para esto hay que tener presente no sólo sus ubicaciones en el cadáver, sino también los territorios anatómicos de donde proviene en cada caso la linfa (región tributaria). También son de interés recordar las conexiones linfáticas directas entre las cavidades abdominal y torácica. Valga como ejemplo el drenaje linfático del hígado, bazo y peritoneo, parte del cual, atravesando el diafragma, llega al ganglio mediastínico posterior.

ESTUDIO DE ORGANOS BOVINOS DECOMISADOS POR
TUBERCULOSIS, EN MATADEROS DEL GRAN BUENOS AIRES (1)

I.N. de Kantor *
E. de la Vega *
P. Caballero **
D. Piñanez **

Resumen

Para confirmar el origen tuberculoso de las lesiones en órganos se efectuó un estudio histopatológico y bacteriológico de muestras de decomisos por tuberculosis, en bovinos provenientes de 3 mataderos del Gran Buenos Aires. Sobre 349 muestras estudiadas, se pudo confirmar tuberculosis en 188 (53,9%).

En la Argentina, entre el 5 y 6% de los bovinos faenados sufren decomisos por tuberculosis. De acuerdo con los resultados de este estudio, existe un considerable error por exceso en el decomiso. Aunque en ciertos casos ese error es muy difícil de evitar por el aspecto macroscópico similar que presentan las lesiones de otras etiologías, en otros podría ser disminuido si el personal de inspección recibiera un adiestramiento específico.

Introducción

Los porcentajes de bovinos faenados en la República Argentina en los que se efectuaron decomisos totales o parciales por tuberculosis fueron en los años 1973, 1975 y 1977 de 6,0%; 5,0 y 5,6%, respectivamente.

* Centro Panamericano de Zoonosis (OPS/OMS), Casilla de Correos Central 3092, (1000) Buenos Aires.

** Becarios de la República del Paraguay en el Centro Panamericano de Zoonosis (1978-1979).

(1) Rev. Med. Vet. (Bs.As.) Vol. 62, No. 4, 1981.

En estudios realizados por el Servicio Nacional de Sanidad Animal en esos mismos años, los porcentajes de bovinos reactivos a la prueba tuberculínica fueron 3,0; 2,1 y 3,9 por ciento ¹.

La relación entre ambos índices (bovinos tuberculino (+)/bovinos con lesiones tuberculosas) fue por lo tanto de 0,5 en 1973, 0,4 en 1975 y 0,7 en 1977. Esa misma relación era en 1973 de 116 (0,07/0,0006) en EUA y de 18,3 (3,57/0,19) en el Brasil. En este último país posteriormente, en 1974 y 1977, los valores fueron de 3,1 (1,36/0,44) y de 5,9 (2,6/0,44) ¹.

Las condiciones, en cuanto a infección tuberculosa bovina se refiere, son diferentes en estos países: en EUA existe un programa nacional de erradicación iniciado en 1917, que se halla actualmente en las últimas fases de ejecución. En el Brasil y la Argentina, en cambio, al igual que en otros países del sur del continente, existe una infección tuberculosa en el ganado bovino y si bien se efectúan acciones de control, no se desarrollan programas nacionales de erradicación.

Las relaciones antes mencionadas indican que en la Argentina la cantidad de decomisos por tuberculosis es alta con respecto a los índices de infección determinados por las pruebas tuberculínicas, si se comparan con los de Brasil y, desde luego, con los de EUA. El hecho de que las cifras argentinas de faenamiento corresponden sobre todo a ganado de carne, mientras que los de reactivos tuberculínicos son de rebaños lecheros, hace aún más notable la relación entre ambos términos. Por tal razón, consideramos que sería de utilidad investigar uno de los términos que componen la relación antes citada; los bovinos con lesiones tuberculosas. Con ese fin se realizó un estudio histopatológico y bacteriológico sobre muestras de decomisos por tuberculosis, procedentes de mataderos del Gran Buenos Aires.

Materiales y Métodos

Recolección de las muestras:

Se efectuó en 3 mataderos del Gran Buenos Aires seleccionados por SIPOA (Servicio de Inspección de Productos de Origen Animal), uno de ellos (A) de exportación y otros dos (B y C) con faena predominantemente para consumo interno.

Los órganos decomisados en la matanza de una semana eran conservados y transportados congelados a CEPANZO (Centro Panamericano de Zoonosis, OPS/OMS), donde después de hacerles una inspección macroscópica, se seleccionaban los tejidos con lesiones, de haberlos, y se fraccionaban para el estudio histopatológico y bacteriológico. Se estudiaron 349 muestras: 14 provenientes del matadero A y 185 de B y C.

Para el estudio histológico, las muestras fueron fijadas en formal al 10%, incluidas en parafina y las secciones histológicas fueron colocadas con H.E.; Ziehl Neelsen y Grieley.

Bacteriología:

Las suspensiones de los tejidos, previamente decontaminadas por el método de Petroff, se inocularon en los medios de Löwenstein-Jensen y de Stonebrink para cultivo de micobacterias. En los cultivos se observó el tiempo de desarrollo, el aspecto de las colonias, la inhibición por el glicerol, la presencia de niacina, la actividad nitrato reductasa y la sensibilidad al TCH (hidracida del ácido tifenocarboxílico), a fin de diferenciar el *Mycobacterium bovis* de otras micobacterias.

Resultados

En el cuadro 1 se presentan los resultados obtenidos en ambos estudios, histopatológico y bacteriológico. De las 349 muestras, 188 fueron positivas por uno u otro método. De los 184 cultivos obtenidos, 181 fueron de *M. bovis* y los 3 restantes (de tantas muestras de ganglios) fueron tipificados como *M. avium-intracellulare-scrofulaceum* (complejo MAIS). En los 3 casos se observaron lesiones granulomatosas, producidas por esos bacilos. Estas lesiones de micobacteriosis "atípicas" son indistinguibles macro y microscópicamente de las de tuberculosis y sólo se puede diferenciar su origen por el estudio bacteriológico.

CUADRO 1

RESULTADOS DE LA INVESTIGACION DE LA PRESENCIA DE TUBERCULOSIS POR ESTUDIO HISTOPATOLOGICO Y BACTERIOLOGIA EN MUESTRAS DE ORGANOS BOVINOS DECOMISADOS EN MATADEROS

Histopatología	M. bovis (+)	Bacteriología M. bovis (-)	Total
Granuloma tuberculoso +	180	2	182
BAAR -	6	161	167
Total	186	163	349

En el Cuadro 2 se presentan los órganos y tejidos estudiados y los casos de tuberculosis confirmados por histopatología y/o cultivo.

CUADRO 2

ESTUDIO BACTERIOLOGICO E HISTOPATOLOGICO DE ORGANOS BOVINOS
DECOMISADOS POR TUBERCULOSIS EN MATADEROS DEL GRAN BUENOS AIRES

	Muestras estudiadas	Confirmación Bact.	Confirmación Histopat.
Hígado	84	20	19
Ganglios	158	114	111
Pulmón	75	37	36
Pleura	1	0	0
Riñón	2	1	1
Diafragma	7	5	5
Intestino	2	1	1
Proventrículo y corazón	9	3	3
Bazo	5	2	2
Mesentérico	1	0	1
Peritoneo	3	2	2
Rabo	1	-	0
No Identificado	1	1	1
Total	349	186	182

En el Cuadro 3 se presentan los porcentajes de positividad de las muestras, distribuidas según el matadero de origen.

CUADRO 3

PORCENTAJE DE POSITIVIDAD DE MUESTRAS DE DECOMISOS POR
TUBERCULOSIS, SEGUN EL TIPO DE MATADERO

Origen	Muestra (+)	Muestra (-)	Total	% (+)
Mataderos exportación (A)	108	56	164	65,9
Mataderos (B y C)	80	105	185	43,2

Otras patologías observadas en el estudio histopatológico fueron actinomicosis, micosis diversas, granulomas parasitarios, linfadenitis crónica, bronconeumonía inespecífica e hidatidosis.

Discusión y Conclusiones

En el presente estudio sólo se ha investigado el error por exceso en el decomiso de órganos bovinos debido a falsa positividad. La investigación de la existencia de error por defecto (falsos negativos) exigiría el estudio de muestras de material no decomisado.

De acuerdo con los resultados obtenidos, se puede afirmar que el error por exceso en el decomiso por tuberculosis existe en los mataderos del Gran Buenos Aires y que su magnitud es considerable (34 a 56% en la muestra aquí estudiada). En ciertos casos este error es muy difícil de evitar, por el aspecto macroscópico muy semejante a la tuberculosis que presentan algunas lesiones debidas a otras etiologías; y en otros casos el error se podría disminuir con un adiestramiento especial del personal (ejemplo, casos de hidatidosis).

Considerando la cantidad de muestras estudiadas y el porcentaje de concordancia hallado entre decomiso por tuberculosis y diagnóstico de laboratorio, los ganglios del tracto respiratorio: pulmonares, mediastínicos y traqueobronquiales son las muestras más representativas para la investigación de tuberculosis en bovinos.

Bibliografía

1. Centro Panamericano de Zoonosis (OPS/OMS). Boletines Informativos de Tuberculosis Bovina. Vol. I, III y IV, (1974, 1977, 1978).
2. Organización Panamericana de la Salud (OPS/OMS). La inspección post-mortem de bovinos reactivos a la prueba tuberculínica. Publicación Científica No. 68. (1962).
3. Brandly, P.J.; Migani, G.; Taylor, K.F.: Meat Hygiene, Sea and Febiger, Philadelphia (1966), pág. 121-127.

PROGRAMAS DE CONTROL Y ERRADICACION DE LA TUBERCULOSIS BOVINA

Dr. José Germán Rodríguez Torres
Centro Panamericano de Zoonosis

I. GUIA PARA LA FORMULACION DE LOS PROGRAMAS

1. INTRODUCCION

En los países americanos, la tuberculosis bovina es una enfermedad de reconocida importancia económica. Su difusión entre los bovinos es directamente proporcional a la densidad de la población del rebaño y al volumen de intercambio de animales entre rebaños. Los métodos modernos de explotación intensiva de los establecimientos productores de leche y carne favorecen la propagación de esta zoonosis, que tiene también considerables repercusiones en la salud pública.

Tanto porque su presencia limita significativamente el desarrollo de la industria ganadera y el comercio internacional de animales y productos animales, como por los peligros que entraña para la salud pública, es fundamental que las medidas y técnicas aplicadas para lograr el control y, finalmente, la erradicación de la tuberculosis bovina sean de reconocida eficacia. En muchos países se ha demostrado que, cuando se cuenta con un programa efectivo, una administración eficiente y recursos humanos y financieros adecuados, la tuberculosis bovina es una enfermedad erradicable y que el rendimiento financiero del programa no se hace esperar. Las autoridades de los países encargados del desarrollo pecuario y de la salud pública y animal deben hacer cuanto esté a su alcance para que los métodos de lucha se apliquen en la forma debida.

La planificación de un programa nacional para controlar y erradicar la tuberculosis bovina requiere un cuidadoso estudio de su factibilidad técnica, administrativa, económica y financiera. En las solicitudes de préstamo, el diagnóstico de la situación y el inventario de las instalaciones y recursos, tanto de los disponibles como de los que haya que adquirir, deben presentarse con arreglo a ciertas normas. Las pautas que siguen han sido preparadas con el propósito de que sirvan de guía a los países americanos para elaborar y evaluar los programas nacionales de erradicación de la tuberculosis bovina.

2. RESUMEN DEL PROYECTO

Elaborar un resumen de las finalidades y características del programa, que incluya los datos siguientes:

- a) La definición de los propósitos y la estrategia elegida
- b) plazos fijados para la ejecución de las distintas etapas
- c) cobertura geográfica
- d) organización administrativa
- e) aspectos básicos del plan de acción
- f) costo del programa
- g) fuentes de financiamiento
- h) justificación económica
- i) organismos cooperadores

En el caso de que el programa se realice con el aporte de organismos financieros internacionales, el resumen deberá incluir también:

- j) la denominación del organismo prestatario
- k) el importe del préstamo que se solicitará
- l) las condiciones de reembolso del préstamo

3. DIAGNOSTICO DE SITUACION

3.1 Diagnóstico general del país

3.1.1 Descripción geográfica y política

Para la mejor comprensión del diagnóstico de situación de la tuberculosis bovina y la planificación geográfica de las operaciones, se requiere una descripción breve de la topografía, el clima y las regiones políticas (estados o provincias y departamentos, distritos o municipios) (incluir mapas).

3.1.2 Aspectos institucionales

3.1.2.1 Servicios de salud animal

Describir la organización de los servicios de salud animal y señalar su distribución geográfica (incluir organigramas y mapas).

3.1.2.2 Organización de los productores

Resumir brevemente la organización y las funciones de las entidades de productores que podrían colaborar en la ejecución de los programas de salud animal.

3.1.3 Aspectos sociales

3.1.3 Aspectos sociales

3.1.3.1 Demografía

Indicar la distribución geográfica, las tasas de crecimiento y de alfabetismo de la población y su clasificación en urbana y rural, prestando especial atención a las zonas donde la tuberculosis ha sido detectada.

3.1.3.2 Situación sanitaria de la población humana

Señalar los principales indicadores de la situación sanitaria de la población humana, tales como las tasas de mortalidad general, morbilidad y mortalidad específica por tuberculosis, y principalmente causas de muerte. Indicar los niveles de consumo por habitante de carne y leche por año. Señalar los principales centros de consumo y la proporción de leche que es pasteurizada para el abastecimiento de centros urbanos.

3.1.4 Aspectos económicos

3.1.4.1 Importancia de la actividad ganadera

Describir la participación de la ganadería en la generación del Producto Bruto Interno; la magnitud de los recursos dedicados a esta actividad y la contribución de los productos pecuarios (carne y leche, principalmente) a las exportaciones, o la cuantía de las importaciones.

3.1.4.2 Industria de la carne

Detallar el número de mataderos y frigoríficos, indicando su ubicación geográfica, si cuentan con inspección veterinaria y si están bajo la jurisdicción del Ministerio (o Secretaría) de Agricultura o de otro organismo oficial; la cantidad anual de animales sacrificados durante los últimos años clasificados por especie, edad promedio y peso vivo de bovinos y cerdos al sacrificio. Incluir datos sobre el peso promedio de las carcasas y su rendimiento.

3.1.4.3 Industria de la leche

Detallar el número de plantas productoras de leche en polvo, plantas pasteurizadoras, fábricas de queso y de mantequilla y señalar su ubicación geográfica.

3.1.5 Población animal

3.1.5.1 Dinámica de la población

Indicar el número de cabezas de ganado bovino, clasificado por edades y razas predominantes. Incluir también los parámetros correspondientes a la producción y productividad animal, tales como: tasas de crecimiento anual, de reproducción, mortalidad y extracción, producción promedio de leche por vaca y por lactación. Indicar el número de otras poblaciones animales económicamente importantes (porcinos, ovinos y caprinos).

3.1.5.2 Explotaciones ganaderas

Detallar el número de establecimientos ganaderos, clasificados por tamaño y por ubicación geográfica. Indicar los métodos de manejo en relación con la alimentación del ganado bovino.

3.1.5.3 Movimiento de animales

Describir las rutas más importantes y los principales medios utilizados para la movilización del ganado en el país (incluir mapa). Indicar el número de ganado en pie y su lugar de destino.

3.1.6 Programas de desarrollo ganadero

Describir de manera resumida todos los programas que se estén ejecutando para promover el desarrollo ganadero.

3.1.7 Organismos cooperadores

Indicar de qué manera se establecerá la coordinación con otros organismos interesados. Definir claramente el enlace de coordinación con el servicio de salud pública.

3.1.8 Situación de la salud animal

Resumir la información sobre las enfermedades animales que en mayor medida afectan a la ganadería e indicar los principales factores que obstaculizan la producción y productividad ganaderas.

3.2 Diagnóstico de la situación de la tuberculosis bovina

3.2.1 Situación de la tuberculosis bovina en el país

Resumir sucintamente la historia de la tuberculosis bovina en el país. Hacer referencia a los datos disponibles sobre tipificación de

micobacterias de pacientes humanos, y a las consecuencias de la enfermedad para la salud pública.

3.2.2 Prevalencia de la tuberculosis bovina

Suministrar información detallada sobre la prevalencia de la tuberculosis bovina dando referencias completas sobre las fuentes, en la que se incluya información, tanto sobre las reacciones a la tuberculina como sobre las inspecciones regulares de los mataderos y frigoríficos. Es esencial que se especifique en detalle el tipo de tuberculina en uso, su origen, los métodos de aplicación y los criterios para su clasificación.

3.2.3 Actual situación de riesgo

Describir la actual situación de riesgo de infección tuberculosa para la ganadería bovina del país teniendo en cuenta la formación o posible creación de nuevos polos de desarrollo.

3.2.4 Importancia de la tuberculosis bovina para la salud pública

Exponer lo más fielmente posible, el problema de la infección humana por el bacilo tuberculoso bovino, particularmente en el caso de los países en los que no se pasteuriza la leche.

3.2.5 Significado socioeconómico de la actual situación sanitaria

Calcular las pérdidas en la producción que pueden ser atribuidas a la tuberculosis bovina teniendo presente que no constituyen un hecho aislado y que deben ser consideradas dentro del marco nutricional y sanitario de los animales productores. (Otras enfermedades concomitantes y la mala nutrición pueden incrementar las pérdidas ocasionadas por la enfermedad). Efectuar una estimación de las pérdidas directas para:

Todo el ganado

- a) Costo adicional del procesamiento del ganado tuberculoso
- b) Pérdida resultante del decomiso total de reses
- c) Pérdida resultante del decomiso parcial de reses
- d) Pérdida por eliminación (como resultado del incremento de la tasa anual de descarte).

(Con referencia a los puntos b) y c), si las reses o partes decomisadas son sometidas a algún tipo de procesamiento que permita su uso posterior, la pérdida consistirá en la diferencia entre el valor de la carne o víscera disponible para consumo humano y el valor de la carne o víscera decomisada para uso industrial.

Con referencia al punto d), la pérdida será la diferencia en el valor de una vaca o toro aptos para la reproducción habida cuenta de su edad y raza, y el valor obtenido por el animal sacrificado para carne.

Ganado de leche

- e) Pérdidas por leche no obtenida (en EUA y en la mayoría de los países de la Mancomunidad Británica se estima una disminución del 10% en la producción anual de las vacas enfermas).

Ganado de engorde

- f) Pérdida por disminución en la producción: se calcula como la diferencia entre el peso vivo de los animales sanos y el de los animales enfermos, siendo ambos de edad y tipo similares (en EUA se estima en un 20% la pérdida de valor del ternero de engorde destetado).

3.2.5.1 Pérdidas indirectas

Si bien son difíciles de cuantificar, se deben tener en cuenta los efectos de la presencia de la enfermedad, tales como costos adicionales por administración y salubridad, menor valor de los animales vivos infectados, dificultad para su venta, pérdida de reproductores valiosos, alteración del ciclo productivo del establecimiento, la pérdida de mercados potenciales; la pérdida socioeconómica resultante de precios más altos de la carne y las pérdidas por disminución del ritmo de incorporación de ganado mejorador.

3.2.6 Evaluación de la infraestructura de los servicios de lucha

Describir las funciones y la organización del organismo encargado de la lucha contra la tuberculosis bovina. Incluir datos sobre su personal, desagregado según sus calificaciones.

Resumir la información sobre instalaciones, vehículos y equipos disponibles, indicando su distribución geográfica; hacer especial referencia a los laboratorios de diagnóstico y de control de calidad de las tuberculinas.

3.2.7 Evaluación de las acciones en curso para el control de la tuberculosis bovina

Reseñar la legislación, reglamentos, disposiciones y manuales de operación vigentes sobre la lucha contra la tuberculosis bovina. Indicar especialmente si se paga indemnización por el sacrificio de los

reaccionantes y si existen incentivos para que el productor se adhiera al programa.

Detallar el presupuesto de gastos aplicado a las acciones de lucha, según los rubros principales.

Resumir las acciones en ejecución, indicando las finalidades perseguidas, la estrategia elegida, las normas básicas, el grado de cobertura y las metas alcanzadas en cada una de las principales acciones, las dificultades encontradas en lo que respecta a la organización, la planificación, los recursos humanos y materiales.

4. FORMULACION DEL PROGRAMA

4.1. Evaluación de la situación actual y pronóstico

Sobre la base de la información contenida en el punto 2 (Diagnóstico de Situación), evaluar el grado de difusión y la prevalencia de la tuberculosis bovina, su importancia para la ganadería y la salud pública, las características básicas del proceso epidemiológico y la validez de las acciones en ejecución para modificar ese proceso con vistas a reducir o eliminar esta zoonosis. Incluir también un pronóstico de la probable evolución de la situación de la tuberculosis bovina, su poniendo que no se modificaran las medidas en ejecución. (Se estima que en ausencia de un programa adecuado, la prevalencia de la tuberculosis se duplica cada quince años).

La necesidad de introducir cambios importantes en los métodos de lucha se debe basar en los resultados de esta evaluación.

4.2 Propósito y estrategia

El programa debe fijar con precisión los resultados que se pretenden lograr mediante su ejecución. Estos resultados se referirán a los cambios esperados en la incidencia de la infección en el ganado bovino a lo largo del período establecido para la ejecución del programa.

Asimismo, se deberá indicar y justificar la estrategia de lucha elegida. Los elementos de esa estrategia que han resultado más efectivos son:

- a) la aplicación repetida de la reacción intradérmica de tuberculina y la eliminación de todos los reaccionantes positivos, enviándolos lo antes posible directamente a un matadero aprobado.

- b) el servicio de inspección de carnes supervisado por médicos veterinarios especializados.
- c) la vigilancia epidemiológica y el control del movimiento del ganado bovino.

4.3 Plan de acción

El programa puede iniciarse con rebaños individuales, bien a título voluntario (el dueño incluye voluntariamente su rebaño dentro de los alcances del programa oficial, a cuyas disposiciones se cife), o a título obligatorio, en cuyo caso se irá cumpliendo gradualmente, en etapas sucesivas, hasta que se elimine la tuberculosis en todo el ganado de la zona afectada, ya sea ésta una región o todo un país.

4.3.1 Fase preparatoria

4.3.1.1 Organización administrativa

Detallar la organización del órgano encargado de la ejecución del programa, indicando:

- a) su estructura administrativa;
- b) su ubicación dentro de la estructura de gobierno;
- c) la relación con otras entidades nacionales oficiales y/o privadas e internacionales.

4.3.1.2 Instrumentos legales y reglamentaciones

Resumir los principios más importantes en que se basará la legislación y disposiciones complementarias que servirán de apoyo a la ejecución del programa.

Resumir las nuevas leyes y disposiciones cuya aprobación se propone en el programa, así como las modificaciones a las existentes. Preparar un manual de normas y procedimientos.

4.3.1.3 Adiestramiento de personal y cooperación técnica

Detallar las necesidades de adiestramiento de personal, indicando los campos y el tipo de adiestramiento (individual o colectivo, en centros de enseñanza o en servicio dentro del propio organismo).

Detallar la cooperación técnica requerida, indicando las especialidades y el tiempo de participación de cada asesor.

4.3.1.4 Política de incentivo

Indicar la política de incentivo que se usaría para alentar a los productores a que colaboren con el programa.

4.3.1.5 Organización del sistema de información

Describir la estructura del sistema de información, indicando el recorrido seguido por el flujo de la información desde donde ésta se origina hasta las unidades centrales de elaboración de datos. Este sistema deberá cubrir las siguientes áreas:

- a) características de la población afectada;
- b) prueba tuberculínica;
- c) inspección de carne
- d) indicadores para la evaluación del progreso del programa, tales como:
 - i. indicadores de los efectos socioeconómicos de la enfermedad
 - ii. indicadores del cumplimiento de las acciones previstas en el programa.

4.3.1.6 Educación sanitaria

Exponer los lineamientos en los cuales se basarán las acciones destinadas a producir los cambios de conducta propuestos por el programa. Detallar las principales acciones y los medios que se utilizarán, indicando la vinculación de éstas con otras medidas programadas.

4.3.2 Fase de ejecución

4.3.2.1 Producción de tuberculina

Indicar si la tuberculina que se empleará en el programa se produce o producirá en el país, o si se importará el tipo de tuberculina, el nombre y dirección del laboratorio productor (nacional o extranjero) y, si es nacional, su capacidad de producción.

4.3.2.2 Control de la tuberculina

Indicar el laboratorio encargado de controlar la calidad de la tuberculina y detallar las normas de control.

4.3.2.3 Distribución de la tuberculina

Detallar el o los mecanismos que se usarán para distribuir la tuberculina, así como el sistema que se usará para supervisar esa distribución y para garantizar la correcta conservación de la tuberculina.

Indicar si la tuberculina será de venta libre o estará destinada exclusivamente para uso del programa.

4.3.2.4 Tuberculinización

Detallar el o los métodos de aplicación de la tuberculina, así como los criterios de interpretación de los resultados y las responsabilidades asignadas a los veterinarios y ayudantes. Indicar las medidas que se adoptarán con los animales reaccionantes y cómo se señalarán los animales positivos.

4.3.2.5 Inspección de carne

Indicar los mataderos a los que se destinarán los animales positivos, el organismo que tendrá a su cargo la inspección de carnes y los funcionarios encargados del registro y envío de la información sobre decomisos a la unidad de estadística del programa.

4.3.2.6 Movimiento del ganado

Indicar el sistema que se empleará para el control sanitario de los animales en tránsito con el fin de evitar la difusión de la enfermedad.

4.3.2.7 Laboratorio de diagnóstico

Indicar el laboratorio que tendrá a su cargo el diagnóstico bacteriológico e histológico, cuando se necesite confirmación del resultado de la prueba de campo y de la inspección post-mortem en mataderos. (Además, el laboratorio servirá de apoyo para controlar la eficiencia de la reacción de la tuberculina, y para la vigilancia epidemiológica del programa.)

Es recomendable que el número de laboratorios de diagnóstico sea limitado y que dichos laboratorios trabajen en colaboración con el de salud pública para la clasificación de micobacterias aisladas de diferentes fuentes.

4.3.2.8 Investigación

Indicar los campos en que se harán investigaciones y detallar su vinculación con el programa.

4.3.2.9 Vigilancia epidemiológica

Indicar el sistema que se usará para conocer la ocurrencia y el origen de la enfermedad, los factores que la condicionan y prever la ocurrencia de futuros casos, a los efectos de adoptar las medidas oportunas para su prevención y/o control.

4.4 Cálculo de los recursos

Sobre la base de lo establecido en el plan de acción, calcular los recursos humanos y físicos necesarios.

Incluir un detalle del personal requerido, sus calificaciones y el tiempo durante el cual cumplirá sus funciones, así como de las construcciones, instalaciones, equipos y útiles, que serán necesarios.

Señalar los materiales que habrá que importar.

4.5 Cronograma de los gastos de inversión y de operación

Incluir un cronograma que indique i) los gastos en inversiones, clasificados en construcciones, instalaciones, vehículos y equipos y ii) los gastos de operación, clasificados en personal, reparaciones y mantenimiento, útiles y materiales, servicios y costos financieros.

4.5.1 Financiamiento

Describir las fuentes de financiamiento; incluir cuadros financieros en los que se indique cómo se atenderán los gastos de inversión y de operación en cada uno de los años de ejecución del programa.

Si se utilizan créditos externos como fuente de financiamiento, indicar separadamente la forma en que se pagarán los servicios de esta deuda.

4.7 Justificaciones socioeconómicas

Incluir algunos indicadores que justifiquen el programa desde el punto de vista económico-financiero.

Entre estos indicadores se encuentran, en primer término, los que permiten relacionar las pérdidas directas atribuibles a la tuberculosis bovina con los costos del programa. Para calcular las pérdidas, que el programa se propone evitar y que, por tanto representan los beneficios directos del mismo, se comparará el número probable de animales enfermos en ausencia del programa con los que se espera evitar como resultado de su ejecución. Estas estimaciones se basarán en el análisis epidemiológico, cuyos detalles deben incluirse, y en parámetros establecidos a partir de los datos sobre pérdidas observadas, conforme con lo indicado en la sección 2.2.5. Los costos del programa están dados por la suma de los gastos en concepto de sueldos y salarios, adquisición de equipos y materiales de laboratorio y oficina, construcciones, mantenimiento de las instalaciones y equipos, becas y asistencia técnica.

Para que las comparaciones sean válidas, los beneficios y los costos deben actualizarse, habida cuenta de que se producen a lo largo del tiempo. La relación beneficio/costos se obtiene comparando las cifras actualizadas de ambos rubros. El programa será económicamente aconsejable cuando esta relación sea mayor que uno.

En segundo lugar, se consignarán los beneficios no cuantificables, entre los que se destacan los efectos indirectos del mejoramiento de la salud pública y de la mayor disponibilidad de productos pecuarios.

4.3 Normas para la evaluación administrativa

Describir las normas a las que se ajustará la evaluación administrativa. Estas normas incluirán los indicadores de evaluación y la periodicidad de su medición; se deben distinguir los correspondientes a la evolución de la enfermedad y los que se refieren al cumplimiento de las actividades previstas en el plan de acción del programa.

II. GUIA PARA LA EVALUACION DE LOS PROGRAMAS

1. INTRODUCCION

La evaluación de un programa es un proceso dinámico y permanente cuyo propósito es determinar la medida en que se han alcanzado los objetivos mediante la comparación de los indicadores de situación en el momento inicial con los indicadores de la situación en el curso y al término del mismo; así como establecer las causas de las diferencias significativas que surjan de esa comparación con el fin de proponer los cambios necesarios para resolver los problemas encontrados.

2. COMPONENTES DE EVALUACION DE UN PROGRAMA DE CONTROL Y ERRADICACION DE LA TUBERCULOSIS BOVINA

Un programa de control y erradicación de la tuberculosis bovina causa un efecto directo contra la enfermedad pero, además, tiene efectos indirectos importantes sobre otros sectores. En consecuencia, al evaluar un programa de esta naturaleza, no sólo hay que medir sus efectos sobre la enfermedad en sí, sino también los que de resultados de su ejecución, se produzcan en otros sectores.

Entre los efectos directos están los que atañen a la consecución del propósito del programa, a las actividades específicas y de apoyo

y al uso de los recursos. Los efectos indirectos, incluyen aquellos de repercusión en la producción y productividad animal, la salud pública y la economía en general, así como en las instituciones de salud animal.

Los aspectos que componen la evaluación pueden resumirse así:

A. Efectos directos

1. Cumplimiento del propósito

- a. Detacción de los rebaños positivos
- b. Aislamiento de los rebaños positivos
- c. Destrucción de los rebaños positivos
- d. Declaración de rebaños libres

2. Ejecución de actividades

2.1 Actividades específicas

- a. Producción de tuberculina
- b. Control de la tuberculina
- c. Tuberculinización
- d. Identificación de positivos
- e. Identificación del agente
- f. Control del tránsito

2.2 Actividades de apoyo

- a. Información
- b. Adiestramiento
- c. Educación
- d. Investigación
- e. Legislación
- f. Organización técnicoadministrativa
- g. Coordinación nacional e internacional

3. Aplicación de los recursos

- a. Manejo
- b. Rendimiento físico
- c. Costos

B. Efectos indirectos

1. Repercusión económico-social

- a) Beneficio económico

- b. Beneficio social
- c. Perjuicios

2. Repercusión en la salud animal

- a. Producción y productividad
- b. Tecnología pecuaria

3. Repercusión en la salud pública

- a. Morbilidad específica por M. bovis en el hombre

4. Repercusión institucional

- a. Organización
- b. Recursos humanos
- c. Métodos y técnicas
- d. Legislación

C. Indicadores de evaluación

1. Cumplimiento del propósito

1.1 Presencia de la enfermedad

1.1.1 Ubicación geográfica de los rebaños positivos

1.1.2 Tipo de explotación a que se dedican los rebaños positivos (carne, leche, mixtos)

1.1.3 Prevalencia por grupo de edad en los rebaños positivos

1.1.4 Población bovina total y por grupo de edad en los rebaños positivos

1.1.5 Proporción de rebaños positivos detectados:

$$\frac{\text{Total de rebaños positivos}}{\text{Total de rebaños examinados}}$$

1.1.6 Proporción de rebaños positivos cuarentenados:

$$\frac{\text{Total de rebaños positivos cuarentenados}}{\text{Total de rebaños positivos detectados}}$$

1.1.7 Proporción de rebaños positivos eliminados:

$$\frac{\text{Total de rebaños positivos enviados al matadero}}{\text{Total de rebaños positivos detectados}}$$

1.1.8 Proporción de animales positivos sacrificados:

$$\frac{\text{Total de animales positivos sacrificados}}{\text{Total de animales de los rebaños positivos}}$$

1.1.9 Proporción de animales positivos segregados:

$$\frac{\text{Total de animales positivos segregados}}{\text{Total de animales positivos del rebaño}}$$

1.1.10 Proporción de rebaños positivos:

$$\frac{\text{Total de rebaños positivos detectados en el país o en la región}}{\text{Total de rebaños del país o región}}$$

1.1.11 Proporción de rebaños declarados libres:

$$\frac{\text{Total de rebaños negativos en seis pruebas tuberculínicas consecutivas}}{\text{Total de rebaños negativos}}$$

2. Ejecución de actividades

2.1 Actividades específicas

2.1.1 Producción de tuberculina

2.1.1.1 Disponibilidad de tuberculina, según tipo (bovina, mamífera, aviaria):

$$\frac{\text{No. de dosis aprobadas según tipo}}{\text{No. de dosis necesarias según tipo}}$$

2.1.2 Control de la tuberculina

2.1.2.1 Prueba de identidad:

$$\frac{\text{No. de lotes sometidos y aprobados en las pruebas de identidad}}{\text{No. de lotes producidos}}$$

2.1.2.2 Prueba de esterilidad:

$$\frac{\text{No. de lotes sometidos y aprobados en la prueba de esterilidad}}{\text{No. de lotes reproducidos}}$$

2.1.2.3 Prueba de potencia:

$$\frac{\text{No. de lotes sometidos y aprobados en las pruebas de potencia}}{\text{No. de lotes producidos}}$$

2.1.2.4 Prueba de inocuidad

$$\frac{\text{No. de lotes sometidos y aprobados en las pruebas de inocuidad}}{\text{No. de lotes producidos}}$$

2.1.2.5 Prueba del poder sensibilizante:

$$\frac{\text{No. de lotes sometidos y aprobados en la prueba de poder sensibilizante}}{\text{No. de lotes producidos}}$$

2.1.2.6 Cobertura del control:

$$\frac{\text{No. de lotes controlados aprobados}}{\text{No. de lotes producidos}}$$

2.1.3 Tuberculinización

2.1.3.1 Proporción de animales examinados:

$$\frac{\text{Total de animales examinados en los rebaños}}{\text{Total de animales de los rebaños}}$$

2.1.3.2 Proporción de rebaños examinados:

$$\frac{\text{Total de rebaños examinados}}{\text{Total de rebaños existentes en el país o en la región}}$$

2.1.4 Identificación de los positivos

2.1.4.1 Proporción de animales positivos identificados:

$$\frac{\text{Total de positivos marcados a fuego}}{\text{Total de positivos detectados}}$$

2.1.5 Identificación del agente

2.1.5.1 Proporción de animales en los que se identificó el agente:

$$\frac{\text{Total animales positivos sacrificados en los que se efectuó estudio bacteriológico}}{\text{Total de animales positivos sacrificados}}$$

2.1.5.2 Grado de positividad:

$$\frac{\text{Total de muestras en las que se aisló Mycobacterium bovis}}{\text{Total de muestras recibidas}}$$

2.1.6 Control de tránsito

2.1.6.1 Grado de fiscalización:

$$\frac{\text{No. de tropas fiscalizadas}}{\text{No. de tropas cuyo tránsito se autorizó}}$$

Grado de fiscalización:

$$\frac{\text{No. de animales controlados}}{\text{No. de animales cuyo tránsito se autorizó}}$$

2.1.6.2 Grado de fiscalización:

$$\frac{\text{No. de animales positivos marcados controlados}}{\text{No. de animales positivos marcados cuyo tránsito se autorizó}}$$

Grado de fiscalización:

$$\frac{\text{No. de animales positivos marcados faenados}}{\text{No. de animales positivos marcados cuyo tránsito se autorizó}}$$

2.2. Actividades de apoyo

2.2.1. Información

2.2.1.1. Cobertura:

$$\frac{\text{Unidades ejecutoras* informantes}}{\text{Unidades ejecutoras existentes}}$$

* Todo grupo que esté autorizado a aplicar tuberculina en el campo.

3. Aplicación de los recursos

3.1 Manejo

3.1.1 Adecuación:

Juicio sobre la cantidad de recursos disponibles

3.1.2 Oportunidad:

Juicio entre el tiempo transcurrido entre la disponibilidad de los recursos y la necesidad de aplicarlos

3.1.3 Flexibilidad:

Juicio sobre la facilidad para transferir recursos

3.1.4 Capacidad de aplicación:

Juicio respecto de la capacidad de uso efectivo de los recursos

3.2 Rendimiento físico de los recursos

3.2.1 Rendimiento físico:

$$\frac{\text{Cantidad de una actividad determinada}}{\text{Unidades de recursos empleadas}}$$

3.3. Costo de los recursos

3.3.1 Costo por actividad:

Cantidad de recursos empleados en cada unidad de actividad

**REGLAMENTO PARA EL CONTROL Y ERRADICACION
DE LA TUBERCULOSIS BOVINA**

D.S. 122-85-AG del 31.12.85 -

CAPITULO I

DE LOS OBJETIVOS DE LA CAMPAÑA

- Artículo 1º** El objetivo de la Campaña de Control y Erradicación, es liberar y mantener extenta de la infección tuberculosa a todo el ganado bovino del territorio nacional, mediante el sacrificio de los animales afectados; así como evitar toda fuente capaz de causar la infección, en base a un control permanente.

CAPITULO II

**DE LAS CONDICIONES Y OBLIGACIONES PARA
PARTICIPAR EN LA CAMPAÑA**

- Artículo 2º** Con el fin de dar cumplimiento al Artículo anterior, y dada la responsabilidad del Ministerio de Agricultura para cautelar la salud humana, impidiendo la producción y consumo de productos y sub-productos de origen animal que atentan contra ella, fijase un plazo de tres años, a partir de la promulgación del presente Reglamento, para que, las Regiones Agrarias en actual Campaña "obligatoria" de Erradicación de la Tuberculosis y Brucelosis consignan su objetivo (Prevalencia del 0.0%).
- Artículo 3º** Las Regiones Agrarias en las que la Campaña se viene realizando en forma "opcional" o "voluntaria", pasarán a convertirse en Regiones Agrarias de erradicación "obligatoria" a partir del año 1988, dándoseles un plazo de cinco años a partir de dicho año para lograr la erradicación de esta zoonosis.
- Artículo 4º** Las Regiones Agrarias en las que en la actualidad no se ha realizado la prueba diagnóstica ni en forma obligatoria ni voluntaria, procederán a realizar la prueba en hatos o establos de crianza intensiva, especialmente de bovinos lecheros o de doble propósito a objeto de conocer la prevalencia de la Tuberculosis.

Artículo 5º Requiriéndose de recursos económicos para dar cumplimiento a lo especificado en los Artículos anteriores el Ministerio de Agricultura en coordinación con el Ministerio de Economía, Finanzas y Comercio normará el aumento de la bonificación que se viene otorgando a los propietarios de establos con certificación de "Libre de Tuberculosis y Brucelosis".

Artículo 6º Los establos infectados con una incidencia mayor al 10% de su población total, quedan obligados a formar centros de cría particulares, a objeto de que puedan contar a corto plazo con animales libres de Tuberculosis (maternidades alejadas del establo o centros aislados de cría).

El Banco Agrario les proporcionará préstamos en condiciones especiales, que les sirvan para financiar sus establecimientos de cría.

El Ministerio de Agricultura dispondrá lo conveniente a fin de que estos propietarios reciban cuotas especiales de sub-productos ya sean de origen animal o vegetal, que cubran sus necesidades.

Artículo 7º En armonía con lo dispuesto en el Artículo 9º del Decreto Ley No. 2, sólo se permitirá la formación de nuevos centros de explotación lechera y/o carne en el territorio nacional, si los animales a constituirlos proceden de predios libres de Tuberculosis y cumplan con lo que dispone el Artículo 34º del presente Reglamento. La autorización será otorgada por la Dirección Regional correspondiente.

Artículo 8º Durante el período de participación opcional en la Campaña, se permitirá a los establos proveer de terneros recién nacidos a los centros de cría dando cumplimiento a lo dispuesto en el Art. 61º.

CAPITULO III

DE LAS ZONAS DE TRABAJO

Artículo 9º La Campaña abarca todo el territorio nacional, dándose preferente atención a las áreas de crianza de ganado lechero.

- Artículo 10º** La Campaña en las Regiones Agrarias declaradas obligatorias, será programada para su ejecución siguiendo un proceso sistemático, tendente a lograr la liberación de la Tuberculosis por áreas. Esto no se opone a la ejecución de la Campaña, en forma simultánea en varias áreas.
- Artículo 11º** Los propietarios de establos escritos en la Campaña identificarán a sus animales por medio de silueta, fotografía o tatuaje, incluyendo el número de registro y código de identidad individual.

CAPITULO IV

DEL PERSONAL DE LA CAMPAÑA

- Artículo 12º** La Dirección de Sanidad Pecuaria de la Dirección General de Agricultura y Ganadería del Ministerio de Agricultura, es responsable de la Campaña a nivel nacional y tendrá las siguientes funciones: planificación, dirección, supervisión, evaluación y control de la misma.
- Artículo 13º** Los Directores Regionales son responsables directos de la ejecución de la Campaña en el ámbito de su jurisdicción, debiendo designar a un Médico Veterinario especialista como encargado de la misma. De igual manera designará a los Médicos Veterinarios auxiliares y personal de mando medio, que sea necesario.
- Artículo 14º** Los Médicos Veterinarios de práctica privada a título personal o de empresas privadas, podrán ser inscritos por las Regiones Agrarias a fin de participar en la ejecución de la Campaña, previa calificación realizada por una comisión de especialistas nombrados por el Colegio Médico Veterinario Regional, la Facultad de Medicina Veterinaria si la hubiera, el Fongal respectivo y el Ministerio de Agricultura.

Los Directores Regionales coordinarán acciones con el responsable de la Campaña a nivel nacional, a fin de garantizar que todos los Médicos Veterinarios involucrados con la Campaña reciban una capacitación de unificación de criterios técnicos a fin de que la aplicación e interpretación de la pruebas sea uniforme.

Artículo 15º Los Médicos Veterinarios del Ministerio de Agricultura, adscritos a la Campaña supervisarán el cumplimiento de lo dispuesto en el presente Reglamento, en relación con las labores que lleven a cabo los profesionales de práctica privada.

CAPITULO V

DE LA PRUEBA DE TUBERCULINA

Artículo 16º La prueba de tuberculina constituirá el método oficial para el diagnóstico de la tuberculosis y se utilizará para detectar a los animales que deben ser eliminados en la Campaña de Erradicación, a los animales importados que resultaren positivos a ella, y servirá además para acreditar a los hatos o establos como "Libres" de la enfermedad.

Artículo 17º La prueba diagnóstico rutinaria de tuberculinización, se realizará mediante el procedimiento de la intradermorreacción en el pliegue sub-caudal. En los bovinos a importarse se realizará la prueba en la tabla del cuello, al igual que en los animales pertenecientes a hatos que aún no han conseguido la Certificación Oficial de libres de Tuberculosis.

En casos especiales y previa fundamentación del responsable de la Campaña se podrá realizar la prueba doble comparativa.

Conseguida la acreditación de "Libre de Tuberculosis", se mantendrá la vigilancia epidemiológica usando la prueba en el pliegue sub-caudal.

Artículo 18º Para las pruebas oficiales de tuberculinización se utilizará tuberculina del tipo PPD bovino (derivado de Proteína Purificada), recomendada por la Organización Panamericana de la Salud y aprobada por la Dirección General de Agricultura y Ganadería y deberá conservarse en refrigeración ($4-8^{\circ} C +$) y preservada a la luz solar directa.

Artículo 19º La aplicación de tuberculina comprenderá a la totalidad de los animales del hato o establo mayores de cuatro semanas y será repetida en los lapsos que fija el presente Reglamento, no debiendo efectuarse a intervalos menores de 60 días. Deberá realizarse en forma simultánea con la extracción de sangre para el diagnóstico de la Brucelosis.

- Artículo 20º Todo animal que se someta a la Campaña quedará inmobilizado y a disposición de las autoridades de la Campaña, hasta que se efectúe la lectura respectiva y se emita el resultado de laboratorio referente a Brucelosis.
- Artículo 21º Ante la presencia de animales reactivos a la prueba de tuberculina, el Médico Veterinario responsable de la Campaña procederá inmediatamente a la identificación de los mismos, para lo cual recabará la documentación señalada en el artículo 11º del presente Reglamento, la misma que será integrada con el informe respectivo a la Dirección Regional correspondiente.
- Artículo 22º Los animales declarados como definitivamente positivos serán aislados inmediatamente y remitidos directamente al matadero dentro de un plazo que no excederá los 10 días.
- Artículo 23º Queda terminantemente prohibido el uso de pruebas susceptibles de causar períodos prolongados de insensibilidad a la tuberculina. La prueba doble comparativa sólo podrá usarse en casos aislados en animales sospechosos de presentar reacciones inespecíficas, previa autorización oficial.
- Artículo 24º La dosis de Tuberculina será de 0.1 ml. de PPD bovina de un miligramo por mililitro (1,0 mg/ml.) de concentración.
- Artículo 25º La lectura de la prueba de tuberculina se efectuará a las 72 horas de aplicación.
- Artículo 26º Para la interpretación de la lectura se procederá al examen de la zona de inoculación, apreciando las reacciones relativas a tumefacción, consistencia y dolor. Interpretación de la prueba en el pliegue sub-caudal.
- a) Negativos (N): aquellos animales que no muestren reacción alguna.
 - b) Positivos (p): o simplemente reactivos a la prueba de tuberculina a los que presenten en el lugar de la inoculación, alteraciones circunscritas a difusas.

Interpretación de la prueba en la tabla del cuello:

- a) Negativo (N): Incremento en el espesor del pliegue cutáneo hasta 2 mm y sin edema
- b) Positivo (P): Incremento en el espesor del pliegue cutáneo mayor de 2 mm tumefacción edematosa y dolor.

Artículo 27º La prueba intradérmica doble comparativa se realizará de preferencia en el lado izquierdo, en el límite del tercio anterior y el tercio medio en un punto equidistante de la cresta y el surco yugular.

Artículo 28º En los animales que no reaccionen en forma clara a la prueba simple y sólo cuando los antecedentes del rebafío hagan improbable que la reacción se debe realmente a la Tuberculosis Bovina, se podrá llevar a cabo la prueba de doble comparativa.

En esta prueba comparativa, se inyectará la tuberculina aviar unos 10 cm por debajo de la cresta del cuello y la tuberculina mamífera por lo menos 12 cm más abajo de esta última.

Artículo 29º La aplicación y lectura de la prueba de tuberculina será efectuada por el mismo Médico Veterinario.

CAPITULO VI

DEL SACRIFICIO E IMPORTACION PARA EL REEMPLAZO DE ANIMALES POSITIVOS

Artículo 30º El beneficio de los animales a que se refiere el Artículo 22º será centralizado en los mataderos que señalare la Dirección de la Región Agraria correspondiente, deberán reunir los requisitos mínimos de seguridad e higiene. El ganadero e intermediario, transportará al matadero por su cuenta y riesgo los animales destinados al beneficio.

- Artículo 31º** El propietario e intermediario de los animales reactivos, recabará de la Región Agraria, la orden de beneficio y las respectivas fichas de identificación, las que serán entregadas al administrador del camal, para poder dar cumplimiento a lo prescrito en el Artículo 22º del presente Reglamento. Efectuado el Sacrificio - el que deberá ser constatado por el Médico Veterinario responsable de la Campaña el administrador devolverá al propietario intermediario del ganado la orden de beneficio, la que deberá llevar el sello del matadero y las firmas del administrador y del Médico Veterinario inspector del camal.
- Artículo 32º** Beneficiado el animal, el administrador del matadero, previo informe del Médico Veterinario Inspector, hará constar en la Ficha de Beneficio las partes utilizables del animal, incluyendo piel y demás apéndices, así como también las partes condenadas por Tuberculosis. Una copia de esta ficha sellada y firmada por el administrador y el Médico Veterinario Inspector será remitida al propietario del animal, otra se enviará a la Oficina del Ministerio de Agricultura de la Región Agraria y una tercera copia será remitida a la Dirección General de Agricultura y Ganadería. La ficha de identificación de los animales deberán adjuntarse a la copia destinada a la Región Agraria correspondiente.
- Artículo 33º** El Médico Veterinario encargado de la Campaña, utilizando la firma de identificación del animal sacrificado, verificará mensualmente con ayuda de las plantillas respectivas, el beneficio de los animales reactivos.
- Artículo 34º** El reemplazo de los animales positivos podrá hacerse:
- a. Con animales del país, provenientes de establos o centros de cría declarados oficialmente libres de Tuberculosis.
 - b. Con animales importados, siempre y cuando vengan acompañados del certificado oficial que acredite que proceden de hatos libres de Tuberculosis, y además, que la prueba de tuberculina haya sido supervisada por el Médico Veterinario que para tal fin designe el Ministerio de Agricultura.
 - c. Que hayan sido negativos a la prueba de tuberculina realizada durante el periodo de cuarentena en nuestro país.

- Artículo 35º Los animales importados que resulten positivos serán beneficiados de inmediato sin lugar a reprobación o reclamo por parte del interesado.
- Artículo 36º Si fuera indispensable importar de países donde no existen normas de erradicación similares a los del país, el Gobierno del Perú previo acuerdo con el país exportador, exigirá que se cumpla lo estipulado en el inciso b) del Artículo 34º.
- Artículo 37º Se permitirá el ingreso de nuevos animales de reemplazo, de acuerdo a lo señalado en el Artículo 34º solamente cuando los animales positivos a la prueba de tuberculina hayan sido conducidos al matadero, de conformidad con lo establecido en el Artículo 22º del presente Reglamento, y las instalaciones desinfectadas, de acuerdo a lo establecido en el Artículo 51º.

CAPITULO VII

DE LOS ESTADOS ACREDITADOS COMO LIBRES DE TUBERCULOSIS

- Artículo 38º Un hato acreditado como "Libre de Tuberculosis" es aquel que entre sus animales no se encuentra ninguno positivo a la prueba de tuberculina, y ha cumplido además con todos los requisitos que establece el presente Reglamento.
- Artículo 39º Para conseguir la acreditación oficial de un hato o establo como "Libre de Tuberculosis", su población total bovina mayor de cuatro semanas debe haber pasado por tres pruebas sucesivas realizadas con un intervalo mínimo de 90 días, sin que haya resultado ninguno positivo. Estas pruebas deben haber sido practicadas por personal oficial de la Campaña o por Médicos Veterinarios colegiados de práctica privada, registrados en las Direcciones Regionales del Ministerio de Agricultura.
- Además todo el personal que trabaja en él, deberá ser sometido periódicamente a los controles señalados en el inciso a) del Artículo 5º del presente Reglamento. Ninguna persona infectada por Tuberculosis tendrá contacto con los animales.

Artículo 40º Para hacerse acreedor al pago de la bonificación establecida en el Artículo 71º, la acreditación oficial respectiva, se realizará mediante un certificado expedido por la Dirección Agraria correspondiente.

Artículo 41º El certificado oficial declarando a un hato o establo como "Libre de Tuberculosis" tendrá una validez de doce meses en las Regiones Agrarias con Campaña de Erradicación obligatoria y de seis meses en las Regiones Agrarias declaradas en Campaña de Erradicación opcional o voluntaria.

Artículo 42º La fecha inicial de vigencia del certificado de renovación corresponderá a las del día siguiente de la fecha en que termina la vigencia del anterior Certificado.

Artículo 43º La prueba biológica para obtener la renovación oficial deberá realizarse con la anticipación adecuada con el objeto de que la certificación oficial no se vea interrumpida.

Artículo 44º Para "renovar" el certificado de acreditación, la totalidad de los animales de un hato o establo, deberán pasar la prueba respectiva cada doce (12) meses en las Regiones Agrarias declaradas en Campaña de Erradicación obligatoria y cada seis (6) meses en las de Campaña de Erradicación opcional, sin que se hallare ningún animal positivo.

Artículo 45º Pierde su acreditación en forma temporal, el hato o establo que después de haberla logrado ocurra cualquiera de las siguientes situaciones:

- a. Que se halle uno o más animales positivos a las pruebas de tuberculina.
- b. Cuando se introduzcan uno o más animales procedentes de uno o más hatos o estables que carezcan de acreditación oficial de "Libre de Tuberculosis".
- c. Cuando se hallare entre el personal, uno o más trabajadores afectados por Tuberculosis.

Artículo 46º Podrá recobrar su acreditación oficial de hato o establo "Libre de Tuberculosis" - ocasionada por cualquiera de las causas anteriores - previa prueba a realizarse a los 60 días, utilizándose exclusivamente la tabla del cuello, a todo el ganado del hato, con resultado negativo.

- Artículo 47º Para el causal c) del Artículo 45º será indispensable además, acreditar que él o los trabajadores enfermos no estén vinculados con el establo ya sea en forma directa o indirecta. Además mensualmente y en el lapso comprendido entre la 1ra. y 2da. prueba, el establo deberá cumplir con lo prescrito en el Artículo 50º del presente Reglamento y el inciso a) del Artículo 55º.

CAPITULO VIII

DE LAS INSPECCIONES, DESINFECCIONES Y DISPOSICIONES SANITARIAS

- Artículo 48º El personal de la Campaña previa identificación, podrá ingresar en cualquier momento a los establecimientos ganaderos, con el fin de inspeccionar y verificar que se cumplan las normas establecidas en el presente Reglamento.
- Artículo 49º Para el cumplimiento de las desinfecciones que establece el presente Reglamento, el propietario o persona responsable del manejo del hato o establo, proporcionará el personal auxiliar que deberá efectuar la limpieza.
- Artículo 50º El personal de la Campaña, efectuará la desinfección utilizando desinfectantes recomendados para tal fin por la Organización Panamericana de la Salud y aprobados por el Ministerio de Agricultura.
- Artículo 51º Las instalaciones, salas de ordeño, corrales, etc. serán sometidas a desinfección por el personal de la Campaña, después de que se retire a los animales positivos a la prueba de tuberculina, otorgándose el certificado de desinfección correspondiente.
- Artículo 52º El ganado que se importe no podrá ser transportado en barcos, vagones o aviones que no hayan sido desinfectados rigurosamente antes del embarque ni podrá hacer escalas durante su viaje en corrales que no hayan sido preparados para tal fin.
- Artículo 53º Todas las instalaciones del establo tendrán la suficiente ventilación e iluminación. Las paredes, techos, pisos, comedores, bebederos, divisiones, columnas y

otras instalaciones del establo, serán de material de fácil limpieza y deberán mantenerse en buen estado de conservación e higiene.

Artículo 54º Las instalaciones de los establos deberán estar aisladas de explotaciones avícolas y porcinas, en un radio mínimo de 200 mts permitiéndose exclusivamente ganado bovino en el establo.

Artículo 55º Los trabajadores así como los familiares que habiten en el establecimiento ganadero, cumplirán los siguientes requisitos:

- a. Tener "certificado de salud" válido y otorgado por la autoridad sanitaria del Ministerio de Agricultura. Dicho Certificado deberá ser renovado cada 12 meses.
- b. El personal de ordeñadores y operarios que presten servicios directos a la atención del ganado e instalaciones, deberán usar durante las horas de trabajo, una vestimenta de tela limpia y fácilmente higienizable.
- c. El resto de servidores de la empresa que en forma indirecta tenga que ver con el cuidado y atención de los animales, como son los que cortan y transportan el pasto, los que acarrean y manipulan la leche, deberá someterse a lo dispuesto en los incisos a) y b) del presente Artículo.

CAPITULO IX

DEL TRANSITO INTERNO DE GANADO

Artículo 56º Ningún animal podrá movilizarse si no está amparado por el correspondiente Certificado Sanitario de Tránsito (Reglamento Sanitario para el Tránsito Interno de Animales, Productos y Sub-Productos y Sub-Productos de Origen Pecuario).

Artículo 57º Los animales hallados positivos en la prueba de tuberculina, sólo podrán ser movilizados a los mataderos autorizados, de conformidad con lo establecido en el Artículo 22º.

Artículo 58º Los terrenos procedentes de los establos que proveen de animales a los centros de cría considerados en el Artículo 18º, sólo podrán movilizarse con autorización escrita otorgada por el Jefe de la Oficina Agraria correspondiente.

Artículo 59º Para la expedición del Certificado Sanitario de Tránsito Interno se requiere dar cumplimiento a lo establecido en los Artículos correspondientes del Reglamento Sanitario para el Tránsito Interno de Animales, Productos y Sub-Productos de Origen Pecuario, no permitiéndose el paso de ningún animal que no esté amparado por dicho documento.

En caso de que el ganado no contara con el Certificado Sanitario de Tránsito correspondiente será inmovilizado para deslindar responsabilidades y se aplicarán las acciones que señala el Artículo 75º.

CAPITULO X

DE LOS CENTROS DE RECRÍA

Artículo 60º Se entiende por centro de cría al establecimiento separado distante de los establos o hatos dedicados a la producción lechera, donde se recepiona a terneros y se les mantiene durante varios meses, con el fin de abastecer las necesidades de nuevos animales a los centros de producción.

Artículo 61º Los terneros con que se abastece a los centros de cría podrán provenir:

- a. De hatos o establos acreditados oficialmente como Libres de Tuberculosis.
- b. De los hatos o establos no acreditados como Libres de Tuberculosis, siempre y cuando se cumplan los siguientes requisitos:
 - Que sean separados de sus madres tan pronto como ocurra el parto y aislados en un recinto individual debidamente higienizado.
 - Que no reciban leche de vacas no declaradas oficialmente libres de Tuberculosis.
 - Que su traslado a los centros de cría se efectue a más tardar hasta el tercer día de ocurrido el parto.

Artículo 62º Para verificar el cumplimiento de los requisitos establecidos en el inciso b) del Artículo anterior, el personal de la Campaña inspeccionara en cualquier momento los establos o hatos que provean o vendan terneros a los centros de recría.

Artículo 63º En los centros de recría, el personal de Campaña practicará la prueba de tuberculina cada 90 días a la población total. Si se hallare positivos éstos serán identificados de acuerdo a las normas establecidas en el Artículo 13º y eliminados.

La recepción de nuevos terneros será suspendida hasta que los animales positivos hayan sido sacrificados y las instalaciones desinfectadas. La salida de animales se suspenderá hasta que la totalidad de los animales del centro de recría pasen una nueva prueba de tuberculina con resultados negativos.

Artículo 64º En los centros de recría los terneros serán alojados individualmente, hasta que pasen la primera prueba de tuberculina con resultado negativo, la misma que se realizará a partir de los 30 días de ocurrido el nacimiento.

Artículo 65º Los terneros no podrán salir de los centros de recría antes de haber sido sometidos a tres pruebas de tuberculización separadas por un intervalo de 3 meses cada una, con resultados negativos.

CAPITULO XI

DE LAS FERIAS, REMATES Y EXPOSICIONES

Artículo 66º El Ministerio de Agricultura, en cumplimiento a lo establecido en la legislación vigente, sólo permitirá participar en ferias y exposiciones de ganado para cría a los animales que procedan de hatos o establos oficialmente acreditados como Libres de Tuberculosis.

CAPITULO XII

DE LA COLABORACION CON OTRAS ENTIDADES

- Artículo 67º Las Instituciones para-estatales y privadas, relacionadas con la campaña, así como las Universidades con Facultad de Medicina Veterinaria, por ser una Campaña de bien público, prestarán las facilidades y colaboración necesarias cuando éstas les sean solicitadas.
- Artículo 68º El Ministerio de Salud deberá colaborar a través de sus dependencias en las oportunidades en que lo solicite el Director Regional correspondiente, y en forma especial, cuando se trate de realizar los exámenes para la detección de la Tuberculosis a los trabajadores de los establos.
- Artículo 69º El Ministerio de Trabajo resolverá, teniendo en consideración los fines de la Campaña, los casos necesarios de traslados, ceses o liquidaciones de los servidores afectados por Tuberculosis en los establecimientos agropecuarios.

CAPITULO XIII

DE LOS ESTIMULOS

- Artículo 70º Cada Región Agraria dará a publicidad semestralmente una relación de los hatos que hayan logrado su acreditación oficial como "LIBRES DE TUBERCULOSIS Y BRUCELOSIS".
- Artículo 71º Los establos con certificación oficial de "Libre de Tuberculosis y Brucelosis" gozarán de la bonificación específica que fije por este concepto el Ministerio de Agricultura en coordinación con el Ministerio de Economía, Finanzas y Comercio, la misma que será abonada por cada kilo de leche fresca que recepcionen las Plantas procesadoras, previo cumplimiento de lo normado en el presente Reglamento.
- Artículo 72º Los propietarios cuyos establos se hallen inscritos en la Campaña ya sea en forma obligatoria u opcional, se harán acreedores a los beneficios crediticos que otorgue el Estado a objeto de proporcionar la adquisición de vientres de reemplazo.

CAPITULO XIV

PROHIBICIONES Y SANCIONES

Artículo 73º En las cuencas lecheras donde exista Plantas procesadoras queda prohibida la venta directa al público de leche de establos sin acreditación oficial de "Libre de Tuberculosis". La infracción de esta disposición se sancionará la primera vez con una multa, equivalente a diez sueldos mínimos vitales, vigente para la actividad de la Industria y Comercio de la provincia de Lima.

En caso de reincidencia se duplicará la multa, pudiéndose llegar posteriormente a solicitar por parte del Ministerio de Agricultura ante la Municipalidad respectiva, la cancelación de la licencia.

Artículo 74º El incumplimiento de los Médicos Veterinarios de práctica privada de cualquiera de los requisitos o normas del presente Reglamento dará motivo a la suspensión temporal de hasta un (1) año en su intervención en la Campaña, o a la cancelación definitiva de su inscripción, de acuerdo a la gravedad de la infracción cometida, sin perjuicio de ser comunicado al Colegio Médico Veterinario Departamental o Nacional a sus efectos.

Artículo 75º Los que se negaren a someter a sus animales a la prueba que se establece en este Reglamento, las que faltsen los resultados, los que permitieran o facilitasen la salida o introducción indebida de animales en un hato, o permitan su ilícito traslado de un lugar a otro, así como los que no reunieron a todos los animales para la verificación de las pruebas y escondieron a los animales en el momento que deba realizarse la lectura de los resultados, y en general todos aquellos que en alguna forma infrinjan las disposiciones del presente Reglamento, serán sancionados con una multa de cinco (5) sueldos mínimos vitales y será impuesta por la Dirección Regional correspondiente.

DISPOSICIONES COMPLEMENTARIAS

- PRIMERA:** Las multas serán impuestas por las Regiones Agrarias respectivas mediante Resolución Directoral. Dichas Resoluciones serán objeto de recursos impugnativos señalados por Ley, los que serán absueltos en última instancia administrativa por la Dirección General de Agricultura y Ganadería del Ministerio de Agricultura.
- SEGUNDA:** El monto de la multa será depositado por el infractor en el Banco de la Nación dentro de los quince días de haber sido notificado de la Resolución consentida o ejecutoriada, bajo apercibimiento de hacerse efectiva por la vía coactiva.
- El Comprobante que otorgue el Banco de la Nación por el empoce, deberá entregarla el obligado a la Región Agraria correspondiente.
- TERCERO:** Corresponde a las Regiones Agrarias velar por el cumplimiento del presente Reglamento dentro del ámbito de su competencia.

**REGLAMENTO PARA EL CONTROL Y ERRADICACION DE LA
BRUCELOSIS BOVINA**

D.S. 121-85-AG del 31.12.85

CAPITULO I

DE LOS OBJETIVOS DE LA CAMPAÑA

Artículo 1º El objetivo que persigue la Campaña, es la de prevenir, controlar y erradicar la Brucelosis Bovina del territorio nacional, estableciendo progresivamente áreas libres de la enfermedad.

CAPITULO II

DE LA EJECUCION DE LA CAMPAÑA

Artículo 2º La extracción de sangre para la ejecución de las pruebas biológicas (Placa o Tubo) será realizada en forma simultánea y por el mismo Médico Veterinario que realice la prueba de tuberculina, de tal manera que, la certificación de "Libre" de Tuberculosis y Brucelosis tenga el mismo tiempo de duración y la misma validez para el pago de la bonificación por parte de las Plantas Procesadoras.

Artículo 3º A las Regiones Agrarias en actual Campaña de Erradicación obligatoria, se les concede un plazo de tres años a partir de la promulgación del presente Reglamento, para conseguir la erradicación de la Brucelosis Bovina.

Artículo 4º A partir de 1988 las campañas que vienen realizando las Regiones Agrarias en forma opcional se convertirán en obligatorias, otorgándoseles un plazo de cinco años para cumplir con su objetivo.

Artículo 5º Las Regiones Agrarias que en la actualidad no se hallan sometidas a la Campaña, procederán a partir de la promulgación del presente Reglamento, a realizar un estudio para determinar la prevalencia de la enfermedad. Los

resultados obtenidos serán puestos en conocimiento de la Dirección General de Agricultura y Ganadería, la misma que, de acuerdo al porcentaje obtenido, determinará la ejecución de la Campaña en forma obligatoria o voluntaria.

- Artículo 6º Se permitirá la formación de nuevos Centros de explotación lechera y/o carne en el territorio nacional, si los animales a constituirlos proceden de predios libres de Tuberculosis y Brucelosis. La autorización será otorgada por la Dirección Regional correspondiente.

CAPITULO III

DE LAS ZONAS DE TRABAJO

- Artículo 7º La Campaña, abarca todo el territorio nacional, dando se preferente atención a las áreas de crianza intensiva de ganado lechero o de doble propósito, debiéndose identificar los animales mediante silueta, fotografía o tatuaje.
- Artículo 8º La Campaña en las Regiones Agrarias declaradas obligatorias, será programada para su ejecución siguiendo un proceso sistemático tendente a alcanzar la liberación de la infección por áreas. Esto no se opone a la ejecución de la Campaña en forma simultánea en varias áreas.

CAPITULO IV

DEL PERSONAL DE LA CAMPAÑA

- Artículo 9º Los Directores Regionales son responsables directos de la ejecución de la Campaña en el ámbito de su jurisdicción, debiendo designar a un Médico Veterinario especialista como responsable de la misma. De igual manera designará a los Médicos Veterinarios auxiliares y personal de mando medio que sea necesario.

- Artículo 10º** Los Médicos Veterinarios de práctica privada a título personal o a través de los Fongales o Empresas Privadas, podrán participar en la Campaña de Erradicación de la Brucelosis, previa inscripción en la Región Agraria, para la cual acreditarán su colegiatura del Colegio Médico Veterinario del Perú, obligándose a cumplir el presente Reglamento y a informar al responsable de la Campaña de la Región Agraria en forma mensual y en formularios ad-hoc, el resumen de las actividades desarrolladas en apoyo de la Campaña.
- Artículo 11º** Los Médicos Veterinarios del Ministerio de Agricultura, adscritos a la Campaña supervisarán el cumplimiento de lo dispuesto en el presente Reglamento, en relación con las labores que lleven a cabo los profesionales de práctica privada.
- Artículo 12º** El responsable de la Campaña a nivel nacional, tendrá las siguientes funciones: planificación, dirección, supervisión, evaluación y control de la misma.

CAPITULO V

DE LA VACUNACION DE TERNERAS

- Artículo 13º** Como medida profiláctica en la lucha contra la Brucelosis Bovina se establece en las Regiones Agrarias que no se hallan en Campaña "obligatoria" la vacunación de las terneras cuya edad se halle comprendida entre los 3 y 6 meses, empleando la vacuna Brucella abortus Cepa 19, elaborada por el Centro Productor de Insumos del Ministerio de Salud, u otra similar recomendada por la Organización Panamericana de la Salud y aprobada por el Ministerio de Agricultura.
- Artículo 14º** En casos excepcionales se autorizará la vacunación de las terneras mayores de 8 meses de edad al igual que la del ganado adulto. Dicha autorización será otorgada por el Director Regional, previa fundamentación del Médico Veterinario responsable de la Campaña. Los animales machos no deberán vacunarse cualquiera que fue re su edad.

- Artículo 15º Las vacunaciones serán efectuadas exclusivamente por Médicos Veterinarios Oficiales o Médicos Veterinarios de práctica privada, habilitados, siempre y cuando cumplan con lo estipulado en el Artículo 10º del presente Reglamento.
- Artículo 16º Los vientres que se importen y que en su país de origen hayan sido vacunados empleando vacuna "Cepa 19", deberán venir acompañados además de los documentos exigidos por la Dirección General de Agricultura y Ganadería, de un Certificado otorgado por las autoridades sanitarias respectivas debidamente legalizadas por el Cónsul del Perú, en el que se certifique:
- a) Que los bovinos han acusado título de aglutinación negativa de acuerdo a lo estipulado en el inciso b) del Art. 25º.
 - b) Que la vacunación ha sido efectuada y controlada oficialmente por las autoridades respectivas.
 - c) Que los bovinos han sido vacunados antes de los 8 meses de edad con vacuna "Cepa 19", controlada y a probada por el país de procedencia, indicándose además la fecha de vacunación y la fecha de nacimiento de cada animal.

CAPITULO VI

DE LA PRUEBA DE SERO - AGLUTINACION

- Artículo 17º Para la detección de los animales positivos a la Brucelosis se utilizará la prueba de sero-aglutinación en Placa o prueba rápida o la prueba de tubo que se realizará en forma simultánea a la prueba de tuberculina) debiendo utilizarse antígeno oficial (Brucella abortus de elaboración nacional, u otro similar que cumpla con los requisitos exigidos por el Ministerio de Agricultura.
- Artículo 18º En casos de animales problema é investigaciones especiales, se utilizarán otras pruebas diagnósticas, incluyendo la de Fijación del Complemento, siguiendo las técnicas que recomienda el Centro Panamericano de Zoonosis.

Artículo 19º La prueba del Anillo en Leche (Ring Test), podrá emplearse al inicio para la detección rápida de establos con re-actores positivos.

Asimismo, será empleada para mantener la vigilancia epidemiológica de la Brucelosis en áreas o establos con certificación oficial de "Libre". 3 pruebas con 4 meses de intervalo.

Artículo 20º La interpretación de la prueba de sero aglutinación depende de que el animal haya sido vacunado o no con la vacuna Cepa 19 a la edad de TRES (3) a OCHO (08) meses y haya sido debidamente identificado de acuerdo al Artículo 7º.

Se eximirán de la prueba diagnóstica de sero-aglutinación, a los animales oficialmente reconocidos como vacunados hasta que cumplan los veinticuatro (24) meses de edad.

CUADRO No. 1

Interpretación de los resultados de la Prueba de sero-aglutinación para hembras bovinas no vacunadas o vacunadas sin registro o identificación.

<u>1/25</u>	<u>1/50</u>	<u>1/100</u>	<u>1/200</u>	<u>Interpretación</u>
-	-	-	-	Negativo
1	-	-	-	Negativo
+	-	-	-	Negativo
+	1	-	-	So specho so
+	+	1	-	So specho so
+	+	+	-	Positivo
+	+	+	1	Positivo
+	+	+	+	Positivo

CUADRO No. 2

Interpretación de los resultados de la Prueba de sero-aglutinación, para hembras bovinas reconocidas oficialmente como vacunadas entre los 3 y 8 meses al cumplir los 24 meses de edad.

<u>1/25</u>	<u>1/50</u>	<u>1/100</u>	<u>1/200</u>	<u>Interpretación</u>
-	-	-	-	Negativo
1	-	-	-	Negativo
+	-	-	-	Negativo
+	1	-	-	Negativo
+	+	-	-	Negativo
+	+	1	-	So specho so
+	+	+	-	So specho so
+	+	+	1	So specho so
+	+	+	+	Positivo

CAPITULO VII

DEL SACRIFICIO E IMPORTACION

- Artículo 21º El sacrificio de los animales positivos, será centralizado en los mataderos que señalará el organismo ejecutivo regional de la Campaña, los que deberán reunir los requisitos mínimos de seguridad e higiene.
- Artículo 22º El ganadero o intermediario transportará al matadero por su cuenta y riesgo los animales destinados al beneficio, siguiendo las normas que señale la Dirección Regional correspondiente.
- Artículo 23º El encargado del transporte de los animales al matadero, entregará al administrador del mismo, la ficha de identificación y la orden de beneficio. Esta última será devuelta al propietario del animal una vez que el Médico Veterinario responsable de la Campaña constate el beneficio, y llevará el sello del matadero y las firmas del administrador y del Médico Veterinario, Inspector del camal.
- Artículo 24º Una vez beneficiado el animal, el administrador del matadero, previo informe del Médico Veterinario Inspector entregará una copia de esta ficha sellada y firmada por el Médico Veterinario Inspector, al propietario del animal incluyendo las fichas de identificación, otra se enviará a la Oficina del Ministerio de Agricultura de la Región Agraria y una tercera copia será remitida a la Dirección de Sanidad Pecuaria.

- Artículo 25º** El reemplazo de los animales positivos podrá hacerse:
- a) Con animales del país, provenientes de establos o centros de cría declarados oficialmente libres de Brucelosis, y
 - b) Con animales importados, siempre y cuando vengan acompañados de un Certificado Oficial, que acredite que proceden de hatos libres de Brucelosis, y además, hayan sido negativos a la prueba de la Placa realizada en el país de origen y a la realizada durante el período de cuarentena en nuestro país.
- Artículo 26º** Si fuera indispensable importar de países donde no existen normas de erradicación similares a las nuestras, el Gobierno del Perú, previo acuerdo con el país exportador, exigirá que se cumpla lo estipulado en el inciso b) del artículo anterior.
- Artículo 27º** Sólo cuando los animales positivos a la prueba de la Placa hayan sido conducidos al matadero, de conformidad con lo establecido en el Artículo 21º de este Reglamento y las instalaciones desinfectadas de acuerdo con lo establecido en el Artículo 39º se permitirá el ingreso de nuevos animales de reemplazo que señala el Artículo 25º.

CAPITULO VIII

DE LOS ESTABLOS ACREDITADOS COMO LIBRES

- Artículo 28º** Un hato acreditado como "Libre de Brucelosis" es aquel que entre sus animales no se encuentra ninguno positivo a la prueba de sero-aglutinación en Placa, y ha cumplido además con todos los requisitos que establece el presente Reglamento.
- Artículo 29º** Para conseguir la acreditación oficial de un hato o establo como "Libre de Brucelosis", su población bovina adulta debe haber pasado por TRES pruebas sucesivas realizadas con un intervalo de 4 meses, sin que haya resultado ninguno positivo. Estas pruebas deben haber sido practicadas por personal oficial de la Campaña o por Médicos Veterinarios colegiados de práctica privada, registrados en las Direcciones Regionales del Ministerio de Agricultura.

- Artículo 30º Para hacerse acreedor el pago de la bonificación establecida en el Artículo 50º, la acreditación oficial respectiva se realizará mediante un certificado expedido por la Dirección Agraria correspondiente.
- Artículo 31º El Certificado Oficial declarado a un hato o establo como "libre de Tuberculosis y Brucelosis", tendrá una validez de doce meses en las Regiones Agrarias con erradicación obligatoria y de seis meses en las Regiones Agrarias declaradas en erradicaciones opcional o voluntaria.
- Artículo 32º La fecha inicial de la validez de la certificación corresponderá a la del día en que se realice la lectura de la prueba de la tuberculina, motivo por el cual se dará cumplimiento a lo dispuesto en el Artículo 2º.
- Artículo 33º Vencida la vigencia del Certificado a que se refiere el Artículo precedente, será renovado por un plazo igual y así sucesivamente previo cumplimiento de todas las pruebas y requisitos que determina el presente Reglamento. La fecha inicial de vigencia del Certificado de renovación, será la correspondiente a la del siguiente día en que termina la vigencia del anterior Certificado.
- Artículo 34º Para renovar el certificado de acreditación, la totalidad de los animales adultos de un hato o establo, deberán pasar la prueba respectiva cada doce (12) meses en las Regiones Agrarias declaradas en erradicación obligatoria y cada seis (6) meses en las de erradicación opcional, sin que se hallare ningún animal positivo.
- Artículo 35º Pierde su acreditación en forma temporal, el hato o establo que después de haberlo logrado, ocurra cualquiera de las siguientes situaciones:
- a) Que se halle uno o más animales positivos a la prueba de la placa.
 - b) Cuando se introduzca uno o más animales procedentes de uno o más hatos o establos que carezcan de acreditación oficial de "libre".

- Artículo 36º Podrá recobrar su acreditación oficial de hato o estable "Libre de Brucelosis", previa prueba de la Placa a realizarse a los 60 días, a todo el ganado adulto del hato con resultado negativo. Además mensualmente y en el lapso comprendido entre la 1ra. y 2da. prueba el estable deberá cumplir con lo prescrito en el Artículo 39º del presente Reglamento.

CAPITULO IX

DE LAS INSPECCIONES - DESINFECCIONES Y DISPOSICIONES SANITARIAS

- Artículo 37º El personal de la Campaña previa identificación, podrá ingresar en cualquier momento a los establecimientos ganaderos, con el fin de inspeccionar y verificar que se cumplan las normas establecidas en el presente Reglamento.
- Artículo 38º Para el cumplimiento de las desinfecciones que establece el presente Reglamento, el propietario o personal responsable del manejo del hato o estable, proporcionará el personal auxiliar que deberá efectuar la limpieza.
- Artículo 39º El personal de la Campaña, efectuará la desinfección utilizando desinfectantes recomendados por la Organización Panamericana de la Salud y aprobados por el Ministerio de Agricultura.
- Artículo 40º Las instalaciones de los establos, deberán estar aislados de explotaciones avícolas y porcinos, en un radio mínimo de 200 metros, permitiéndose exclusivamente ganado bovino en el estable.

CAPITULO X

DEL TRANSITO INTERNO DE GANADO

- Artículo 41º Ningún animal podrá movilizarse si no está amparado por el correspondiente Certificado Sanitario de Tránsito (Reglamento Sanitario para el Tránsito Interno de Animales, Productos y Sub-Productos de Origen Pecuario).

Artículo 42º Los animales hallados positivos en la prueba de la Placa, sólo podrán ser movilizados a los mataderos autorizados, de conformidad con lo establecido en el Artículo 21º.

Artículo 43º Los terneros procedentes de los establos que proveen de animales a los centros de recría, sólo podrán movilizarse con autorización escrita otorgada por el Jefe de la Oficina Agraria correspondiente.

Artículo 44º Para la expedición del Certificado Sanitario de Tránsito Interno se requiere dar cumplimiento a lo establecido en los artículos correspondientes del Reglamento Sanitario para el Tránsito Interno de Animales, Productos y Sub-Productos de Origen Pecuario, no permitiéndose el paso de ningún animal que no esté amparado por dicho documento.

En caso de que el ganado no contara con el Certificado Sanitario de Tránsito correspondiente, será inmovilizado para deslindar responsabilidades y se aplicarán las sanciones que señala el Artículo 53º.

CAPITULO XI

DE LOS CENTROS DE RECRÍA

Artículo 45º Se entiende por centro de recría al establecimiento separado y distante de los establos o hatos dedicados a la producción lechera donde se receptiona a terneros y se les mantiene durante varios meses, con el fin de abastecer las necesidades de nuevos animales a los centros de producción.

Artículo 46º Los terneros con que se abastece a los centros de recría podrán provenir:

- a) De hatos o establos acreditados oficialmente como "Libres".
- b) De los hatos o establos no acreditados como "Libres", siempre y cuando se cumplan los siguientes requisitos:

1. Que sean separados de sus madres tan pronto como ocurra el parto y aislados en un recinto individual debidamente higienizado.
2. Que no reciban leche de vacas no declaradas oficialmente libres de Brucelosis.
3. Que su traslado a los centros de cría se efectúe a más tardar hasta el tercer día de ocurrido el parto.

Artículo 47º Para verificar el cumplimiento de los requisitos establecidos en el inciso b) del Artículo anterior, el personal de la Campaña inspeccionará en cualquier momento los establos o hatos que provean o vendan terneros a los centros de cría.

Artículo 48º Las terneras no podrán salir de los centros de cría antes de haber sido vacunadas contra la Brucelosis (Vacuno Cepa 19), en las Regiones Agrarias con erradicación voluntaria.

CAPITULO XII

DE LOS ESTIMULOS

Artículo 49º Cada Región Agraria dará a publicidad semestralmente una relación de los hatos que hayan logrado su acreditación oficial como "LIBRES DE TUBERCULOSIS Y BRUCELOSIS".

Artículo 50º Los establos con Certificación Oficial de "Libre de Tuberculosis y Brucelosis", gozarán de la bonificación específica que fije por este concepto el Ministerio de Agricultura en coordinación con el Ministerio de Economía, Finanzas y Comercio, la misma que será abonada por cada kilo de leche fresca que recepcionen las Plantas Procesadoras, previo cumplimiento de lo especificado en los Artículos Nos. 33º y 34º del presente Reglamento.

Artículo 51º Los propietarios cuyos establos se hallen inscritos en la Campaña, ya sea en forma obligatoria u opcional, se harán acreedores a los beneficios crediticios que otorgue el Estado a objeto de propiciar la adquisición de vientres de reemplazo.

CAPITULO XIII

PROHIBICIONES Y SANCIONES

- Artículo 52º El incumplimiento de los Médicos Veterinarios de práctica privada a cualquiera de los requisitos o normas del presente Reglamento dará motivo a la suspensión temporal de hasta un (1) año en su intervención en la Campaña, o a la cancelación definitiva de su inscripción, de acuerdo a la gravedad de la infracción cometida, sin perjuicio de ser comunicado al Colegio Médico Veterinario Departamental o Nacional, a sus efectos.
- Artículo 53º Los que se negaren a someter a sus animales a la prueba que se establece en este Reglamento, los que falseen los resultados, los que permitieran o facilitasen la salida o introducción indebida de animales en un hato, o permita su ilícito traslado de un lugar a otro, así como los que no reunieran a todos los animales que fueron sometidos a la prueba de la Placa y en general todos aquellos que en alguna forma infrinjan las disposiciones del presente Reglamento, serán sancionados con una multa de cinco (5) sueldos mínimos vitales mensuales, y será impuesta por la Dirección Regional correspondiente.

DISPOSICIONES COMPLEMENTARIAS

- PRIMERA.- Las multas serán impuestas por las Regiones Agrarias respectivas mediante Resolución Directoral, dichas resoluciones serán objeto de recursos impugnativos señalados por Ley, los que serán absueltos en última instancia administrativa por la Dirección General de Agricultura y Ganadería del Ministerio de Agricultura.
- SEGUNDA.- El monto de la multa será depositada por el infractor en el Banco de la Nación dentro de los quince días de haber sido notificado por la Resolución consentida o ejecutoriada, bajo apercibimiento de hacerse efectiva por vía coactiva. El Comprobante que otorgue el Banco de la Nación por el Empece, deberá entregarlo el obligado a la Región Agraria correspondiente.
- TERCERA.- Corresponde a las Regiones Agrarias velar por el cumplimiento del presente Reglamento dentro del ámbito de su competencia.

BRUCELOSIS *

P. Acha
B. Szyfres

Infección por *B. melitensis*
Infección por *B. abortus*
Infección por *B. suis*
Infección por *B. canis*

Sinonimia: Melitococia, fiebre ondulante, fiebre de Malta, fiebre del Mediterráneo (en el hombre); aborto contagioso, aborto infeccioso, aborto epizootico (en animales), enfermedad de Bang (en bovinos).

Etiología: En el género *Brucella* se reconocen actualmente seis especies: *B. melitensis*, *B. abortus*, *B. suis*, *B. neotomae*, *B. ovis* y *B. canis*.

Las tres primeras especies (denominadas como "brucelas clásicas") se han subdividido a su vez en biotipos, que se distinguen por diferentes características bioquímicas y/o comportamiento frente a los sueros monoespecíficos A. (*abortus*) y M. (*melitensis*). De esta manera, *B. melitensis* se subdivide en tres biotipos (1-3), *B. abortus* en ocho (1-9, ya que se suprimió el biotipo 8) y *B. suis* en cuatro (1-4). En esta última especie se ha propuesto un nuevo biotipo para cepas aisladas de roedores en la URSS, con características que difieren de los cuatro biotipos mencionados. Por otra parte, desde el punto de vista epidemiológico, el sistema taxonómico del género *Brucella* ha permitido eliminar la confusión originada por las designaciones de nuevas especies o subespecies que no estaban de acuerdo con la realidad epidemiológica. Además, la tipificación en biotipos constituye una herramienta útil en la investigación en ese campo.

Distribución geográfica: Mundial. La distribución de las diferentes especies de *Brucella* y sus biotipos presenta variaciones geográficas. *B. abortus* es la más ampliamente difundida; *B. melitensis* y *B. suis* tienen una distribución irregular; *B. neotomae* se aisló de ratas del desierto (*Neotoma lepida*), en Utah, Estados Unidos de América, y su distribución se limita a los focos naturales, sin haberse comprobado la infección en el hombre o en animales domésticos. La infección por *B. canis* se ha comprobado actualmente en muchos países de varios continentes, y puede afirmarse que su distribución es universal. *B. ovis* parece estar distribuida en todos los países donde la cría de ovinos es importante.

* Tomado del Libro "Zoonosis y Enfermedades Transmisibles comunes al hombre y a los animales". Segunda Edición. Pedro N. Acha y Boris Szyfres. Organización Panamericana de la Salud. Pub. Cient. 503 pág. 14-36.

Ocurrencia en el hombre: Cada año se producen alrededor de medio millón de casos de brucelosis humana en el mundo (Organización Mundial de la Salud, 1975). Las pautas de ocurrencia de la infección humana están dadas por la prevalencia de la infección en los reservorios animales. Las infecciones por *B. abortus* y *B. suis* suelen afectar mayormente a grupos ocupacionales, mientras que la causada por *B. melitensis* ocurre con más frecuencia que las anteriores en la población general. La prevalencia más alta en el hombre se encuentra en los países con tasas elevadas de brucelosis por *B. melitensis*, en caprinos u ovinos o en ambas especies. En América Latina los países en donde se registra el mayor número de casos son Argentina, México y Perú. Lo mismo sucede -entre otros- en los países que bordean el Mar Mediterráneo, y en el Irán, el sudeste de la URSS y Mongolia.

Los programas de control y erradicación de la brucelosis bovina tienen un marcado efecto sobre la reducción de la incidencia de la infección humana. Así, por ejemplo, en los Estados Unidos se registraron 6.321 casos en 1947, mientras que en el período 1972-1981 el promedio anual fue de 224 casos (Centros para el Control de Enfermedades de EUA, 1982). En Dinamarca, donde se notificaban unos 500 casos por año entre 1931 y 1939, la brucelosis humana desapareció a partir de 1962 como consecuencia de haber erradicado la infección en los animales. En el Uruguay, donde no hay un reservorio animal de *B. melitensis* y los focos de *B. suis* han sido eliminados, la enfermedad humana casi ha desaparecido luego de iniciarse en 1964 la vacunación obligatoria de las terneras.

Ocurrencia en los animales: La brucelosis bovina existe en todo el mundo pero, entre otros países, ha sido erradicada en Finlandia, Noruega, Suecia, Dinamarca, Países Bajos, Bélgica, Suiza, República Federal de Alemania, Austria, Hungría, Checoslovaquia, Rumania y Bulgaria (Timm, 1982; Kasyancv y Aslanyan, 1982). Asimismo, Gran Bretaña, Irlanda, Polonia, Canadá, Estados Unidos de América, Cuba, Panamá, Australia y Nueva Zelanda han liberado la gran mayoría de sus rebaños y grandes extensiones de su territorio de la infección brucélica, y están próximos a alcanzar el objetivo de la erradicación. En el resto del mundo, las tasas de infección son muy variables de un país a otro y en las diferentes regiones de un país. La prevalencia más alta se observa en el ganado lechero. En muchos países, incluida la mayoría de los de América Latina que no tienen programa de control, los datos no son fidedignos. Sin embargo, de acuerdo con la información disponible, se trata de una de las enfermedades más importantes tanto en América Latina como en otras zonas de desarrollo preindustrial. Las estimaciones oficiales sobre las pérdidas anuales por brucelosis bovina en América Latina son de aproximadamente EUA\$600 millones, lo cual explica la prioridad otorgada al control de esta infección en las actividades de los servicios de salud animal.

La brucelosis porcina es poco frecuente en gran parte de Europa, Asia y Oceanía, y se presenta con ocurrencia esporádica. En muchos países europeos la brucelosis porcina tiene una relación epidémica con la brucelosis por *B. suis*, biotipo 2 de la liebre (*Lepus europaeus*). En Finlandia, Noruega, Gran Bretaña y Canadá, la enfermedad nunca se presentó. Es probable que muchos de los países predominantemente musulmanes estén libres de la infección por *B. suis*, ya que la cría de cerdos es limitada debido a motivos religiosos (Timm, 1982).

En América Latina la brucelosis porcina es enzootica en la mayoría de los países y, si bien los datos disponibles son de escaso valor estadístico, se considera que esta es la zona con más alta prevalencia en el mundo. Sin embargo, sobre la base de las encuestas realizadas últimamente en la Argentina y en Río Grande do Sul, Brasil, en explotaciones de reproductores de pura sangre o puros por cruce, se demostró que el porcentaje de hatos infectados es bajo. Posiblemente, el problema radica en las explotaciones comerciales, donde se reúnen animales de distintos orígenes. Canadá siempre ha estado libre de brucelosis porcina, y, al parecer, Uruguay pudo erradicar los pocos focos que se han originado por la importación de cerdos. Hasta ahora, en América Latina sólo se pudo comprobar el biotipo 1 de *B. suis*, que predomina en la mayor parte del mundo. El biotipo 2 está limitado a los cerdos y liebres de Europa central y occidental, mientras que el biotipo 3 se aísla en el cinturón más cercano de Estados Unidos y en algunas áreas de Asia y África. Estados Unidos y Cuba tienen exitosos programas nacionales de erradicación.

La brucelosis caprina y la ovina constituyen un problema de magnitud en la cuenca mediterránea de Europa y África, en el sudeste de la URSS, en Mongolia y en el Medio Oriente. En América Latina la prevalencia de la infección del ganado caprino por *B. melitensis* es alta en México, Perú y Argentina. La infección en ovinos por *B. melitensis* hasta ahora sólo se ha comprobado en hatos que convivían con caprinos infectados. En la región de cría de caprinos en Venezuela, la infección no ha sido fehacientemente investigada; en Brasil, que tiene un número apreciable de caprinos, la brucelosis no parece existir, y en Chile, donde en apariencia la enfermedad había sido erradicada, hace pocos años se aisló *B. melitensis*. Actualmente, los otros países de las Américas, incluidos los Estados Unidos, al parecer están libres de la brucelosis caprina.

La epididimitis del carnero por *B. ovis* está ampliamente difundida. Fue comprobada en Nueva Zelanda, Australia, África y Europa. Está presente en Argentina, Brasil (Río Grande do Sul), Chile, Perú, Uruguay y Estados Unidos, es decir, en todos los países del continente donde la explotación ovina tiene importancia. La prevalencia es alta.

La infección de perros por *B. canis* se ha encontrado en prácticamente todos los países donde se la ha investigado. La prevalencia es variable según la región y el método de diagnóstico empleado. La infección

constituye un problema en algunos criaderos de perros, por los abortos e infertilidad que ocasiona, pero también se la encuentra en perros de familia y callejeros; en estos últimos la tasa de infección generalmente es más alta. Así, por ejemplo, en un estudio realizado en la ciudad de México, 12% de 59 perros callejeros resultaron positivos en el aislamiento del agente etiológico (Flores-Castro et al., 1977).

La enfermedad en el hombre: El hombre es susceptible a la infección por *B. melitensis*, *B. suis*, *B. abortus* y *B. canis*. No se han comprobado casos humanos por *B. ovis* o *B. neotomae*. La especie más apatógena e invasora para el hombre es *B. melitensis*, seguida en orden decreciente por *B. suis*, *B. abortus* y *B. canis*.

El período de incubación en general dura de una a tres semanas, pero a veces puede prolongarse por varios meses. Es una enfermedad septicémica de principio repentino o insidioso, con fiebre continua, intermitente o irregular. La sintomatología de la brucelosis aguda, como la de muchas otras enfermedades febriles, consiste en escalofríos, sudores profusos y elevación de temperatura. Un síntoma casi constante es la astenia y cualquier ejercicio produce una pronunciada fatiga. La temperatura puede variar de normal en la mañana hasta 40°C en la tarde; los sudores se presentan durante la noche y se caracterizan por un olor particular. Los síntomas comunes son insomnio, impotencia sexual, constipación, anorexia, cefalalgia, artralgias y dolores generalizados. La enfermedad produce un fuerte impacto sobre el sistema nervioso, que se traduce por irritación, nerviosismo y depresión. Muchos pacientes tienen los ganglios periféricos aumentados de volumen o esplenomegalia y con frecuencia hepatomegalia, pero raramente ictericia. Las brucelas se localizan intracelularmente en los tejidos del sistema reticuloendotelial, tales como los ganglios, la médula ósea, el bazo y el hígado. La reacción tisular es del tipo granulomatoso. La duración de la enfermedad puede variar desde pocas semanas o meses a varios años. La terapéutica actual ha permitido reducir en forma considerable la duración de la enfermedad, como también las recaídas. A veces se producen complicaciones serias, tales como encefalitis, meningitis, neuritis periférica, espondilitis, artritis supurativas y endocarditis vegetativa. En cierto número de pacientes la brucelosis tiene un curso crónico que puede durar muchos años, con o sin presencia de focos de infección localizada. Los síntomas están asociados con un estado de hipersensibilidad. El diagnóstico de la brucelosis crónica es difícil.

En áreas de brucelosis enzootica, en especial la bovina, hay muchas infecciones que transcurren de modo asintomático.

La enfermedad en los animales: El síntoma principal en todas las especies es el aborto o la expulsión prematura de los fetos.

Bovinos: El patógeno principal es *B. abortus*. El biotipo 1 es universal y el predominante de los ocho que ocurren en el mundo. La distribución de los diferentes biotipos presenta variaciones geográficas. En América Latina se han comprobado los biotipos 1, 2, 3 y 4; más de 80% de las cepas correspondían al biotipo 1. En los Estados Unidos se han aislado los biotipos 1, 2 y 4. En África oriental predomina el biotipo 3 que afecta tanto al ganado indígena como también al búfalo (Timm, 1982). El biotipo 5, que ocurre en bovinos en Gran Bretaña y Alemania, tiene características bioquímicas y serológicas similares a *B. melitensis* y fue motivo de confusión durante años, hasta que se pudo establecer por los nuevos métodos de identificación de especie (metabolismo oxidativo y fagolisis) que es *B. abortus*. Los demás biotipos tienen también una distribución geográfica más o menos marcada. Asimismo, los bovinos pueden infectarse por *B. suis* y *B. melitensis*, cuando comparten el pastoreo o las instalaciones con cerdos, cabras u ovejas infectados. La infección en bovinos por especies heterólogas de *Brucella* suele ser más transitoria que por *B. abortus*, pero acarrea un grave peligro para la salud pública, ya que las hembras pueden excretar por la leche estas brucelas que son más patógenas para el hombre. La infección por *B. suis* es poco frecuente; en cambio, en varios países se han observado infecciones por *B. melitensis* con un curso parecido -según algunos autores- al causado por *B. abortus*.

En infecciones naturales es difícil medir el período de incubación (desde la infección hasta el aborto o nacimiento prematuro), porque no se puede determinar el momento de la infección. Por experimentación se ha demostrado que el período de incubación es sumamente variable e inversamente proporcional al desarrollo del feto. Cuanto más adelantada está la preñez, más corto será el período de incubación. Si la hembra se infecta por vía oral en la época del servicio, el tiempo de incubación puede prolongarse unos 200 días, mientras que si se la expone seis meses después de la monta, es de cerca de dos meses. El período de "incubación serológica" (desde la infección hasta la aparición de anticuerpos) dura de varias semanas a varios meses. Factores tales como la virulencia y la dosis de la bacteria, la vía de infección y la susceptibilidad del animal hacen variar el período de incubación.

El signo predominante en hembras preñadas es el aborto, o bien el nacimiento prematuro o a término de terneros muertos o débiles. En general el aborto se produce en la segunda mitad de la preñez, a veces con retención placentaria, y, en consecuencia, una metritis que puede ser causa de infertilidad permanente. Se estima que la infección ocasiona una pérdida de 20 a 25% en la producción de leche, por la interrupción del período de lactancia debido al aborto y a la concepción demorada. En la vaca inseminada artificialmente con semen infectado, los calores pueden volver repetidas veces, como en el caso de vibriosis o tricomoniasis. Las hembras no preñadas no muestran síntomas clínicos y cuando se infectan con anterioridad al servicio muchas veces no abortan.

En los toros las brucelas pueden localizarse en los testículos y las glándulas genitales anexas. Cuando la enfermedad se manifiesta clínicamente, uno o ambos testículos pueden aumentar de volumen, con disminución de la libido e infertilidad. A veces puede haber atrofia del testículo debido a adherencias y fibrosis. Son frecuentes la vesiculitis seminal y la ampulitis. Ocasionalmente, en los bovinos se pueden observar higromas y artritis.

Las brucelas que penetran en el organismo animal se multiplican primero en los ganglios regionales y luego son conducidas por la linfa y la sangre a diferentes órganos. Unas dos semanas después de una infección experimental se puede comprobar bacteriemia y es posible aislar al agente de la corriente sanguínea. Las localizaciones más frecuentes se hallan en ganglios linfáticos, útero, ubre, órganos genitales del toro, bazo e hígado. En la placenta de la vaca se ha podido demostrar la existencia de una gran cantidad de eritrol, un hidrato de carbono que estimula la multiplicación de las brucelas, lo que explicaría la gran susceptibilidad de los tejidos fetales del bovino.

Los diferentes animales de un rebaño manifiestan distinto grado de susceptibilidad a la infección, según la edad y el sexo. Los terneros y terneras de hasta seis meses de edad son poco susceptibles a la infección y en general se infectan sólo en forma transitoria. Un ternero alimentado con leche que contiene brucelas puede albergar el agente en sus ganglios, pero a las 6-8 semanas de suspender el alimento contaminado, el animal suele liberarse de la infección.

Las vaquillonas que se mantienen separadas de las vacas, como es costumbre en el manejo de los rebaños, presentan con frecuencia una tasa de infección más baja que las vacas. Las vaquillonas expuestas a la infección antes del servicio son susceptibles, se infectan, pero generalmente no abortan. Teniendo en cuenta este dato, a principios de siglo se inocularon vaquillonas antes del servicio con cepas virulentas o de virulencia desconocida para prevenir el aborto. Sin embargo, esta práctica tuvo que ser abandonada, al comprobarse que gran número de animales quedaban infectados.

Las vacas constituyen la categoría más susceptible y más aún cuando están preñadas; en ellas la infección es común y el aborto, frecuente.

El toro es también susceptible, aunque algunos investigadores sostienen que es más resistente a la infección que la hembra. Sin embargo, es posible que se haya llegado a esta conclusión por observaciones que se deben más al manejo de un rebaño que a la susceptibilidad natural del macho, pues, en efecto, se suele mantener a los toros separados de las vacas. Por otra parte, los machos y las hembras castradas no desempeñan un papel en la epizootiología de la brucelosis, ya que no pueden eliminar brucelas al medio exterior.

Además de la edad y el sexo, es importante tener en cuenta la susceptibilidad individual. Aún en las categorías más susceptibles -vacas y vaquillonas- hay animales que nunca se infectan o, cuando eso ocurre, la infección es transitoria. Algunas vacas son poco susceptibles, tienen una infección generalizada, sufren en su función reproductiva y en la producción de leche durante uno o más años, pero se recuperan gradualmente; el título aglutinante resulta negativo, puede interrumpirse la eliminación de brucelas, y se normaliza tanto su función reproductora como la producción de leche. Sin embargo, la mayoría de las vacas se infectan y se mantienen con títulos aglutinantes positivos por muchos años o por toda la vida y, si bien después de uno o dos abortos paren normalmente y vuelven a su producción normal de leche, muchas son portadoras y eliminadoras de brucelas. Asimismo, otras vacas quedan totalmente inútiles para fines reproductivos y de producción láctea.

Cuando la brucelosis penetra en un rebaño antes libre, la infección se difunde con rapidez de uno a otro animal, y durante uno o dos años se producen grandes pérdidas por abortos, infertilidad, merma en la producción de leche e infecciones genitales secundarias. Esta fase aguda o activa de la enfermedad se caracteriza por un gran número de abortos y una alta tasa de reaccionantes en la prueba de aglutinación. Debido a la desigual susceptibilidad individual a la infección, no todos los animales se infectan y no todos los reaccionantes abortan. Después de uno o dos años, la situación se estabiliza y el número de abortos disminuye. Se estima que sólo abortan por segunda vez entre 10 y 25% de las vacas. En esta fase de estabilización son sobre todo las vaquillonas -anteriormente no expuestas a la infección- las que se infectan y pueden abortar. Asimismo, hay una última fase en que declina la infección, si el rebaño es cerrado y pequeño. Entonces, la tasa de infección disminuye paulatinamente, la mayoría de las vacas vuelven a tener una función reproductora normal y también se normaliza la producción de leche. Sin embargo, puede ocurrir un segundo brote, cuando se acumulan animales susceptibles, ya sea vaquillonas del propio establecimiento o nuevos animales introducidos en el hato. En los rebaños grandes siempre existe un número suficiente de animales susceptibles que mantienen la infección y los abortos siguen produciéndose. El intercambio y tránsito de animales también contribuyen a mantener la infección en forma activa.

Porcinos: El agente etiológico principal de la brucelosis porcina es *B. suis*. En América Latina se ha comprobado la infección sólo por el biotipo 1 y en los Estados Unidos, por el 1 y el 3. En Europa, el biotipo 2 desempeña un papel importante. En el caso de los biotipos 1 y 3, la infección se propaga directa o indirectamente de cerdo a cerdo; en cambio, el biotipo 2 (o danés) es transmitido muchas veces al cerdo por la liebre europea (*Lepus europaeus*). También *B. abortus* puede infectar al cerdo, pero es menos patógena, aparentemente no se transmite de uno a otro animal y la infección es por lo general asintomática, limitándose a los ganglios de la cabeza y el cuello.

Cuando la brucelosis se introduce en una piara indemne, adquiere la forma de una enfermedad aguda: hay abortos, infertilidad, nacimiento de lechones débiles, orquitis, epididimitis y artritis. En piaras pequeñas, la infección tiende a extinguirse o a disminuir de gravedad por falta de animales susceptibles, tanto por la venta normal de animales al mercado como por la curación espontánea de otros. En las piaras grandes, la infección es persistente y se transmite de una generación a otra.

Los abortos tempranos, que ocurren cuando la hembra se infecta durante el coito, por lo general pasan desapercibidos en las condiciones de campo. Los fetos abortados son ingeridos por los cerdos y la única anomalía que puede poner sobre aviso al propietario es la repetición del celo en las cerdas. Los abortos se producen en la segunda mitad de la gestación, cuando las hembras se infectan después de un mes o más de estar preñadas. Los abortos rara vez se repiten y las cerdas que se infectan antes de la madurez sexual raramente abortan.

La infección de los lechones suele ser de naturaleza temporaria. Sin embargo, algunos pocos pueden mantener la infección y convertirse en portadores. Es raro que la infección se exprese en forma clínica. En ocasiones, se observa artritis, pero se puede encontrar una bacteriemia transitoria y bajos títulos aglutinantes.

En los cerdos infectados se suelen producir abscesos de diferentes tamaños en órganos y tejidos. A menudo se encuentra espondilitis.

La infección de los órganos genitales es menos duradera en la hembra que en el macho, y en este puede persistir toda la vida.

Caprinos: El agente etiológico principal de la brucelosis caprina es *B. melitensis* con sus tres biotipos. Ocasionalmente se ha encontrado infección por *B. suis* y *B. abortus*.

La sintomatología es similar a la observada en otras especies animales y el signo principal es el aborto, que ocurre con más frecuencia en el tercero o cuarto mes de la preñez. También se pueden observar higromas, artritis, espondilitis y orquitis. A diferencia de lo que sucede con las hembras de otras especies domésticas infectadas por brucelas, en las cabras la mastitis es común y en un ható puede ser el primer signo que llame la atención. Se pueden observar coágulos en la leche, así como pequeños nódulos en la glándula mamaria. En hatos crónicamente infectados los signos de la enfermedad son, en general, poco notables. Las lesiones anatómicas también resultan poco evidentes, a pesar de que con frecuencia se puede aislar el agente etiológico de un gran número de tejidos y órganos.

Varios investigadores han observado que los cabritos pueden nacer infectados o infectarse poco después de nacer. La mayoría de ellos se curan en forma espontánea antes de llegar a la edad de reproducción, pero en algunos la infección puede persistir durante más tiempo.

Las condiciones primitivas en las que se desarrolla la explotación del ganado caprino constituyen uno de los factores más importantes en el mantenimiento y difusión de la infección en América Latina (México, Perú, Argentina y probablemente Chile) y en el resto del mundo. En las áreas de cría de caprinos es frecuente encontrar pastoreos comunes, falta de higiene en corrales rudimentarios, nomadismo y propietarios que carecen de la más mínima instrucción.

Ovinos: Dos entidades mórbidas se distinguen en esta especie: la brucelosis clásica y la epididimitis del carnero. La brucelosis clásica es causada por *B. melitensis* y constituye un problema tan o más importante que la brucelosis caprina en las áreas de distribución de este agente fuera del continente americano. En América Latina se ha podido comprobar esta infección sólo en algunos hatos mixtos de cabras y ovejas, alejados de las áreas de explotación ovina.

La brucelosis ovina es similar en su sintomatología a la caprina. Sin embargo, el ovino parece más resistente a la infección y en hatos mixtos se encuentran infectados menos individuos de esta especie que de la caprina. Los abortos son también menos frecuentes. La infección tiende a curarse de modo espontáneo y la alta prevalencia de la enfermedad en algunas zonas se explica sobre todo por las prácticas deficientes en el manejo de los hatos.

En ocasiones se ha encontrado infección de ovinos por *B. suis* (biotipo 2 en Alemania) y por *B. abortus* (en varias partes del mundo). Estos agentes resultan poco patógenos para el ovino, son adquiridos por promiscuidad con animales infectados de otras especies y no se transmiten de ovino a ovino.

La epididimitis del carnero es causada por *B. ovis*. Las manifestaciones clínicas consisten en lesiones de los órganos genitales del carnero, asociadas con diferentes grados de esterilidad. A veces la infección de ovejas gestantes puede provocar el aborto y también una mortalidad neonatal. La epididimitis es por lo común unilateral, pero puede ser bilateral y la cola del órgano es la que suele estar más afectada. La túnica vaginal puede tener adherencias y el testículo puede estar atrofiado con diferentes grados de fibrosis. En una apreciable proporción de carneros infectados no se observan lesiones, ni visualmente ni por palpación, si bien se puede aislar *B. ovis* de su semen. Algunos de estos animales muestran lesiones cuando el proceso de la enfermedad está más avanzado. Al principio de la infección, el semen contiene muchas brucelas, luego el número disminuye y finalmente aquel puede estar libre del agente infeccioso. Cuando hay localización renal, *B. ovis* se elimina también por la orina.

Equinos: De esta especie se han aislado *B. abortus* y *B. suis*. La enfermedad se manifiesta habitualmente por una bursitis fistulosa, "mal de nuca" y "mal de cruz". Los abortos son raros. Se ha aislado *B. abortus* de materias fecales de caballo, pero este hecho es poco frecuente. Los caballos adquieren la infección de bovinos o porcinos, pero en ocasiones también se ha podido constatar la transmisión del caballo a los bovinos. El hombre puede contraer la infección de equinos con lesiones abiertas. El caballo, en general, es más resistente a la infección. No se conocen casos de transmisión de uno a otro caballo. En áreas donde hay una alta tasa de infección en los bovinos es común encontrar caballos con altos títulos aglutinantes.

Perros y Gatos: En el perro ocurren casos esporádicos de brucelosis debido a *B. abortus*, *B. suis* y *B. melitensis*. El perro adquiere la infección sobre todo por ingestión de materiales contaminados, especialmente fetos, envolturas fetales y leche. La infección suele transcurrir en forma subclínica, pero a veces la sintomatología puede ser severa, con fiebre, emaciación, orquitis, anestro, artritis y ocasionalmente aborto. La enfermedad es autolimitante y los casos de transmisión de perro a perro son raros. Se han descrito varios casos humanos cuya fuente de infección fueron los perros (especialmente fetos).

Una enfermedad de los perros de proporciones endoepizooticas y de ocurrencia cosmopolita es la causada por *B. canis*. La brucelosis por *B. canis* se caracteriza por una prolongada bacteriemia sin fiebre, muerte embrionica, abortos, prostatitis, epididimitis, dermatitis del escroto, linfadenitis y esplenitis. El aborto ocurre aproximadamente a los 50 días de la gestación. Los cachorros pueden nacer muertos, a término, o morir a los pocos días. Los que sobreviven suelen tener los ganglios linfáticos aumentados de volumen y con frecuencia son bacteriémicos.

El hombre es susceptible a la infección por *B. canis* aunque en menor grado que a las brucelas clásicas y se han comprobado varios casos en Estados Unidos, México, Brasil y Argentina, en personal de laboratorio y de perreras, así como en miembros de familias que posean perros infectados.

Los gatos son resistentes a la *Brucella* y no se conocen casos de ocurrencia natural de la enfermedad.

Otros mamíferos domésticos: La brucelosis por *B. abortus* ocurre en el búfalo doméstico (*Bubalus bubalis*) y en los yaks (*Bos grunniens*), con sintomatología similar a la de los bovinos. También se ha observado la enfermedad en camellos del Viejo Mundo (*Camelus bactrianus*) y en dromedarios, como también en camélidos americanos. En una finca del altiplano del Perú dedicada a la cría de alpacas (*Lama pacos*) se presentó un

brote de brucelosis por *B. melitensis* biotipo 1, con abortos y mortalidad neonatal, así como también un grave brote en la población humana de la finca (Acosta et al., 1972).

Animales silvestres: La infección natural por *Brucella* ocurre en una amplia gama de especies silvestres. Hay focos naturales de infección, como por ejemplo entre las ratas del desierto de los Estados Unidos (*Neotoma lepida*), que son el reservorio de *B. neotomae*. En Kenya se ha aislado *B. suis* biotipo 3 de dos especies de roedores (*Arvicanthis niloticus* y *Mastomys natalensis*). En Australia y en la URSS ocurren biotipos de *Brucella* aún no clasificados en varias especies de roedores. En Europa la infección de la liebre (*Lepus europaeus*), que es el reservorio de *B. suis* biotipo 2, se transmite a los cerdos domésticos. El caribú (*Rangifer caribou*), que es reservorio de *B. suis* biotipo 4 en Alaska, puede transmitir la infección al hombre y a los perros de tiro. También ocurre a la inversa, que los animales domésticos transmitan la infección a animales silvestres. Tal es el caso, en Argentina, de la infección de los zorros (*Dusicyon gymnocercus*, *D. griseus*) y del hurón (*Galictis furax-huronax*) por *B. abortus* biotipo 1, de la liebre europea (*Lepus europaeus*) por *B. suis* biotipo 1 y de la zarigüeya (*Didelphis azarae*) por *B. abortus* biotipo 1 y *B. suis* biotipo 1. En los carnívoros, la infección se adquiere por la ingestión de fetos y en volturas fetales. No se ha comprobado la transmisión de un individuo a otro entre estos carnívoros y es probable que la infección se extinga al controlarse la brucelosis en los animales domésticos. La situación es diferente cuando los animales domésticos transmiten la infección a bóvidos silvestres, tales como el antilope de las estepas (*Saiga tatarica*) o el bisonte americano (*Bison bison*), en los cuales la brucelosis se perpetúa.

Los animales cuya piel se usa en peletería, como los visones y los zorros plateados, pueden contraer la infección al ingerir vísceras de animales infectados y, a su vez, transmitir la infección al hombre.

El agente etiológico ha sido aislado de muchas especies de artrópodos. La garrapata puede albergarlo durante mucho tiempo y transmitir la infección por picadura; también elimina la bacteria por la secreción de las glándulas coxales. Sin embargo, el número de garrapatas que albergan brucelas es insignificante (en la URSS, en uno de los estudios se aislaron 8 cepas de *Brucella* spp de 20.000 garrapatas), y también el número de brucellas por garrapata es bajo. Las especies que se han aislado de artrópodos fueron *B. melitensis* y *B. abortus*. Recientemente, en Brasil se pudo aislar (Perez et al., 1981) *B. canis* de especímenes de *Rhipicephalus sanguineus* que parasitaban una perra enferma de brucelosis. Hay consenso general de que los artrópodos desempeñan un papel insignificante, si es que tienen alguno, en la epidemiología de la brucelosis.

Aves: En pocos casos se han aislado *Brucella* de aves domésticas naturalmente infectadas. La sintomatología descrita es muy polimorfa y no hay

seguridad de que siempre haya correspondido a la brucelosis. La infección puede transcurrir en forma inaparente, con síntomas tales como pérdida de peso, disminución de la postura y diarrea, e incluso la enfermedad puede tener un curso agudo. Las aves no desempeñan papel alguno en el mantenimiento de las brucelas en la naturaleza. Se ha aislado *Bruce*lla de algunas especies de vida libre, como el cuervo (*Corvus corvix*) y la corneja (*Tripanoscorax fragilecus*).

Fuente de infección y modo de transmisión: Los reservorios naturales de *B. abortus*, *B. suis* y *B. melitensis* son los bovinos, los porcinos, los caprinos y ovinos respectivamente. El huésped natural de *B. canis* es el perro y el de *B. ovis*, el ovino.

Infección humana: El hombre se infecta de los animales por contacto o indirectamente por ingestión de productos de origen animal, como también por la inhalación de aerosoles infectantes. La importancia relativa del modo de transmisión y de las puertas de entrada del agente etiológico varía con el área epidemiológica, los reservorios animales y los grupos ocupacionales expuestos al riesgo. Los quesillos frescos y la leche cruda de cabra u oveja infectada por *B. melitensis* son los vehículos más frecuentes de infección y pueden originar múltiples casos de brucelosis humana. A veces estos brotes se extienden por la mezcla de leche de cabra con la de vaca. También se conocen brotes epidémicos originados por leche de vacas infectadas por *B. suis*. La leche de vaca y los productos lácteos que contienen *B. abortus* pueden dar origen a casos esporádicos. En leches acidificadas, cremas y mantequilla ácidas y quesos fermentados (y estacionados por más de tres meses) las brucelas rara vez sobreviven.

En las regiones árticas y subárticas se han comprobado casos debidos al hábito de ingerir médula ósea o carnes crudas de reno o de caribú que están infectadas con *B. suis* biotipo 4. Las brucelas resisten a la salazón y el ahumado, por tanto es posible que algunos productos cárnicos preparados en esta forma puedan originar la infección humana, si bien este hecho nunca se ha comprobado.

También es posible que las verduras crudas y el agua contaminadas con excreta de animales infectados sirvan de fuente de infección.

En las áreas enzooticas de brucelosis bovina y porcina, predomina el modo de transmisión por contacto. La brucelosis humana es, en gran parte, una enfermedad ocupacional de obreros pecuarios, personal de mataderos, matarifes, carniceros y médicos veterinarios. La infección se contrae generalmente al manipular fetos y envolturas fetales o al entrar en contacto con secreciones vaginales, excrementos y canales de animales infectados. El microorganismo penetra por abrasiones de la piel, pero también puede ser llevado por las manos a la conjuntiva. En los mataderos, la tasa de casos de enfermedad es más alta en el personal obrero con poco tiempo de empleo. Es errónea la práctica de algunas empresas de emplear

obreros serológicamente negativos, ya que un individuo asintomático pero serológicamente positivo es menos propenso a enfermarse.

La transmisión por contacto ocurre también, desde luego, en áreas endémicas de brucelosis caprina y ovina, donde los pastores manejan animales recién paridos o abortados. En algunos países de inviernos rigurosos, las cabras comparten los lechos de los pastores y sus familiares con el fin de cobijarse contra el frío, con la consiguiente infección de toda la familia (Elberg, 1981).

La transmisión por aerosoles se demostró por experimentación e investigación. En los laboratorios, un riesgo especial lo representan las centrifugaciones de suspensiones brucelares en centrifugas no herméticamente cerradas. En 1938-1939 ocurrió un brote epidémico con 45 casos en la Universidad Estatal de Michigan, Estados Unidos. Los 45 estudiantes cursaban estudios en el segundo y tercer piso de un edificio, en cuyo sótano se alojaba un laboratorio de investigaciones en brucelosis. En la investigación se señaló que el único modo posible de transmisión fue por vía aerógena. En investigaciones epidemiológicas realizadas durante los últimos años también se han aportado pruebas de que la transmisión por aerosoles es muy importante en frigoríficos y mataderos, y quizás más frecuente que por contacto directo con tejidos infectados. El aire de la playa de matanza, diseminado en secciones contiguas, da lugar a altas tasas de ataque entre los operarios de esas áreas. La dosis mínima infectante para el hombre por vía respiratoria parecer ser baja. Al efectuar la completa separación de la playa de matanza, o al dotarla de presión negativa a la misma, se ha observado una reducción del riesgo para los demás departamentos (Kaufmann et al., 1980; Buchanan et al., 1974).

Infeción bovina: (Figura 3) La fuente principal de la infección son los fetos, las envolturas fetales y las descargas vaginales que contienen gran número de brucelas. En menor grado, pueden contribuir a la contaminación del campo las materias fecales de terneros que se alimentan de leche contaminada, ya que no todas las brucelas se destruyen en el tracto digestivo.

La vía de invasión más frecuente es el tracto gastrointestinal, por ingestión de pastos, forrajes y agua contaminadas por brucelas. Además, las vacas tienen la costumbre de lamer membranas fetales, fetos y terneros recién nacidos, que contienen todos ellos gran número de brucelas y constituyen una fuente de infección muy importante. El hábito de las vacas de lamer los órganos genitales de otras vacas contribuye también a la transmisión de la infección.

En forma experimental se ha demostrado que las brucelas pueden penetrar a través de la piel lesionada o aun intacta, pero se desconoce el grado en que interviene esta vía de invasión en la infección natural.

La vía vaginal fue usada por Bang y otros para reproducir experimentalmente la infección y la enfermedad. Según las experiencias realizadas, al parecer se necesitaría un número grande de brucelas para infectar una vaca por este medio. Por otra parte, no hay dudas de que la vía intrauterina que se emplea en la inseminación artificial es muy importante en la transmisión de la infección. El uso de toros infectados para inseminación artificial constituye un peligro importante, ya que así puede difundirse la infección en muchos rebaños.

En ambientes cerrados es probable que la infección se transmita por aerosoles. La vía aerógena de invasión se ha demostrado experimentalmente.

Un nuevo conocimiento cuya magnitud se evalúa en la actualidad es el de la infección congénita y del fenómeno llamado de latencia. En Francia se realizó una experiencia (Plommet et al., 1973), separando terneras nacidas de madres infectadas en forma artificial con una dosis alta de *B. abortus* y criándolas en unidades de aislamiento. A los 16 meses de edad se las inseminó artificialmente. Según los resultados obtenidos en seis ensayos (Fenslerbank, 1980) de 55 vaquillonas, originadas en vacas infectadas, 5 estaban infectadas, y se aislaron brucelas durante el parto y/o sacrificio, seis semanas después del parto. A los 9 y 12 meses de edad, 2 de estos animales tenían títulos serológicos que fueron inestables hasta llegar a la preñez, mientras que las restantes 3 vaquillonas infectadas no acusaron reacciones serológicas hasta la mitad o al término de la preñez (latencia). Los autores de esta experiencia admiten que en las condiciones naturales de campo la frecuencia de este fenómeno de latencia puede ser mucho menor. En rebaños donde se practica la vacunación sistemática de las terneras, este fenómeno puede pasar desapercibido. Asimismo, se han realizado otras investigaciones (Lapraik et al., 1975; Wilesmith, 1978) sobre la transmisión vertical de la brucelosis acompañada de una prolongada fase serológicamente inaparente de la infección. En un estudio retrospectivo (Wilesmith, 1978) de rebaños muy infectados, se encontró que 8 de 317 vaquillonas (2.5%), nacidas de vacas reaccionantes, daban resultados positivos a las pruebas serológicas. No se conoce todavía el alcance del fenómeno de latencia, pero se sabe que no ha impedido la erradicación de la brucelosis bovina en vastas áreas y países. Sin embargo, no se puede negar que en algunos rebaños pudo haber retrasado la eliminación de la infección.

Infección Porcina (Figura 4): En los cerdos las fuentes de infección son las mismas que en los bovinos. Las vías principales de transmisión son la digestiva y la venérea. Al contrario de lo que ocurre en los bovinos, en los cerdos la monta natural es un modo común e importante de transmisión de la infección. En múltiples ocasiones se ha comprobado que la infección se había introducido en una piara por la adquisición de un verraco infectado. Los porcinos, a causa de sus hábitos alimentarios, y

Figura 3. *Brucella abortus* (*Brucella abortus*).
Modo de transmisión.

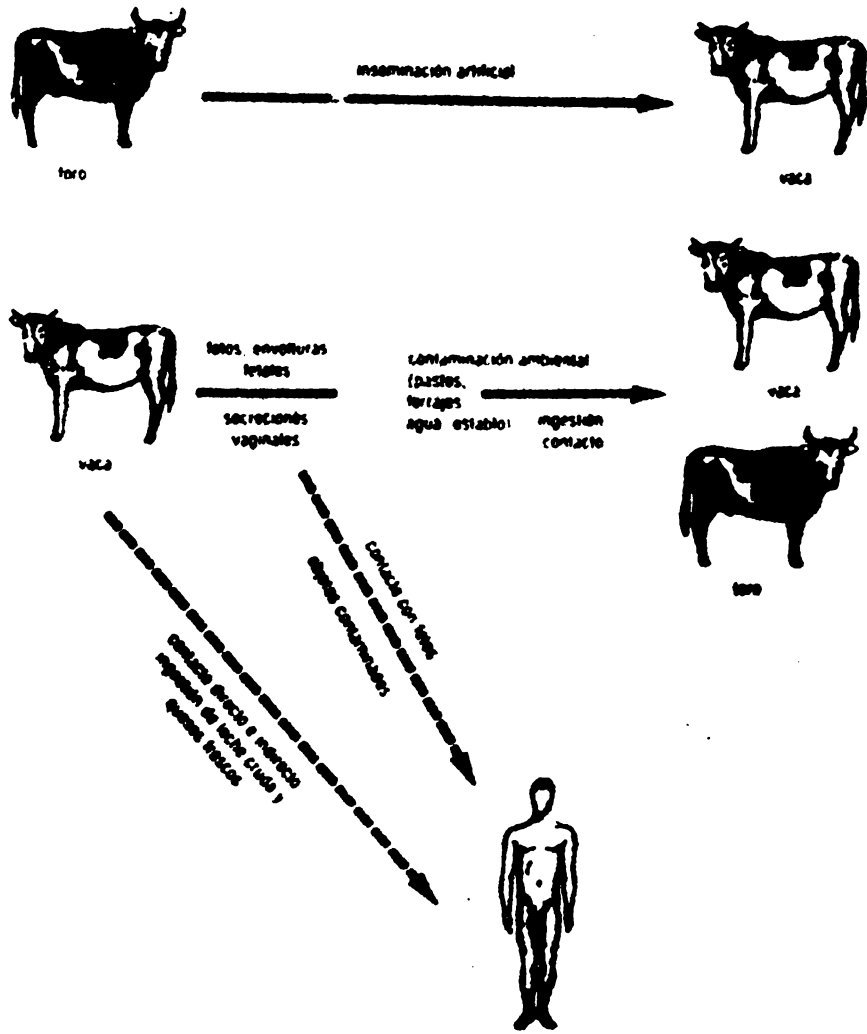
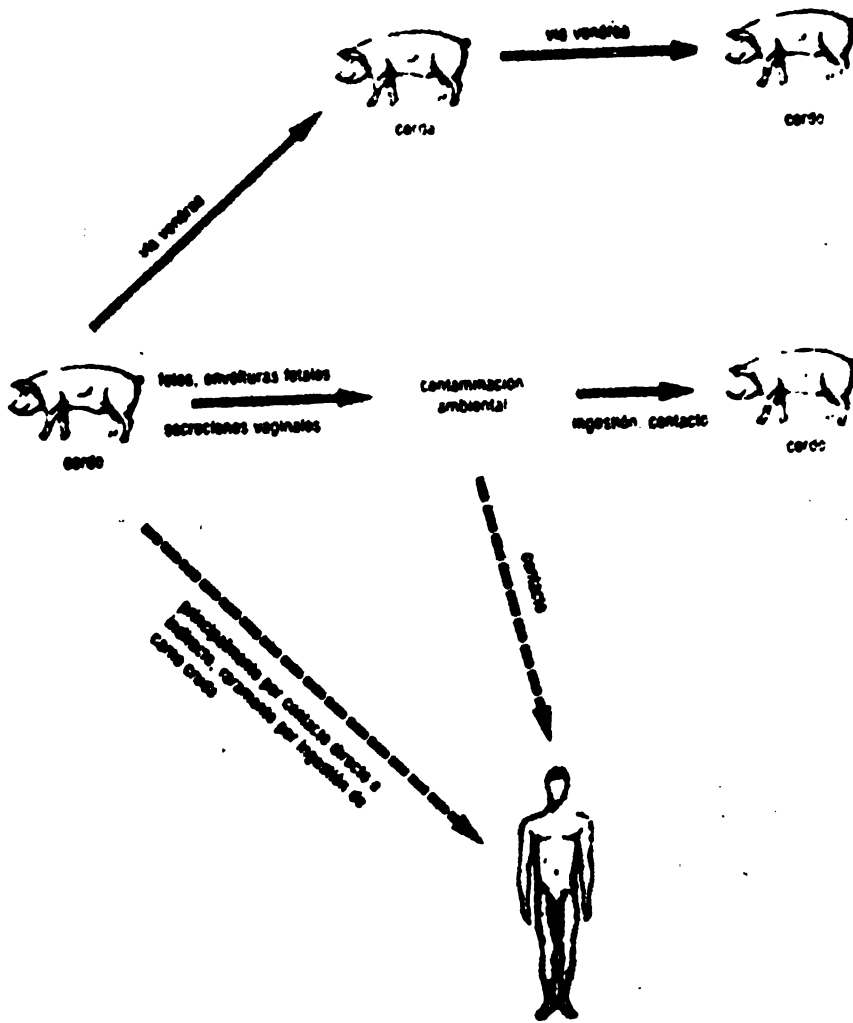


Figura 4. Brucella porcina (*Brucella suis*).
Modo de transmisión.



por las condiciones de su explotación, tienen grandes posibilidades de infectarse por vía oral. También es muy probable que se infecten mediante aerosoles por vía conjuntival y por el tracto respiratorio superior.

Infección caprina y ovina (figura 5): Los caprinos y ovinos se infectan con *B. melitensis* de un modo similar a los bovinos. El papel del macho en la transmisión de la infección no está bien establecido. No es rara la infección de los cabritos in utero, como tampoco durante el amantamiento; en algunos, la infección puede persistir.

En la epididimitis del carnero por *B. ovis* el semen es la principal y quizás la única fuente de infección. La infección se transmite comúnmente de un macho a otro por contacto rectal o prepucial. La transmisión puede producirse también a través de una hembra, cuando un carnero infectado deposita su semen y otro macho la sirve. En la hembra la infección es poco frecuente y cuando ocurre, se contrae por vía venérea. *B. ovis* persiste poco tiempo en la oveja y suele eliminarse antes de la parición siguiente.

Infección canina: La transmisión de *B. canis* se produce por contacto con secreciones vaginales, fetos y envolturas fetales. Los machos infectados pueden transmitir la infección a las hembras durante el coito. La leche de perras infectadas es otra posible fuente de infección. Los casos humanos registrados en la bibliografía suman alrededor de 30. Muchos de estos casos se deben a la exposición de perras con aborto reciente.

Papel de los animales en la epidemiología: Es esencial. Los casos de transmisión interhumana son excepcionales. La brucelosis es una zoonosis por excelencia.

Diagnóstico: En el hombre, el diagnóstico de la brucelosis basado sobre sintomatología y antecedentes epidemiológicos debe confirmarse siempre en el laboratorio. El aislamiento y tipificación del agente causal es una prueba definitiva y puede indicar además la fuente de infección. En el período febril del enfermo se recurre a la siembra de sangre o médula esternal en medios de cultivo adecuados. También se puede usar material de ganglios, del líquido cefalorraquídeo y de abscesos. Es recomendable repetir las siembras varias veces, sobre todo en áreas endémicas de *B. abortus*. Debido al amplio uso de los antibióticos en los estados febriles con anterioridad al diagnóstico, el examen bacteriológico da muchas veces un resultado negativo y se depende cada vez más de las pruebas serológicas. La seroaglutinación es la prueba más sencilla y de uso más amplio. Un título alto (más de 100 unidades internacionales, UI) y títulos crecientes en muestras repetidas de suero constituyen una buena base

para el diagnóstico. Se han observado reacciones cruzadas de seroaglutinación en casos de cólera o tularemia (o por vacunación contra estas enfermedades) y en infecciones por *Yersinia enterocolitica* tipo 9. La prueba de seroaglutinación pone al descubierto tanto las inmunoglobulinas M como las G. Se acepta generalmente que en un proceso activo de brucelosis la IgG está siempre presente. Por esta razón, cuando se encuentran títulos bajos de seroaglutinación, es necesario recurrir a pruebas que descubran la presencia de IgG, tales como la de mercapto-2-etanol y la de fijación del complemento (en el hombre las IgG fijan el complemento, pero con frecuencia están desprovistas de poder aglutinante). Estas pruebas son de especial interés en la brucelosis crónica, en la que el título aglutinante pudo haber retrocedido a niveles bajos, pero la infección puede seguir activa. La prueba intradérmica con alérgenos no celulares es útil para estudios epidemiológicos, pero no para el diagnóstico clínico.

La prueba de mercapto-2-etanol (ME) también es útil para seguir el tratamiento y la curación del paciente. En un estudio (Buchanan y Faber, 1980) se siguieron durante 18 meses los títulos de 92 pacientes con brucelosis en las pruebas de aglutinación en tubo y ME. La prueba de aglutinación en tubos se mantuvo positiva por 18 meses en 44 (48%) de los pacientes, a pesar del tratamiento con antibióticos, pero los títulos a ME fueron positivos al año sólo en 8 (9%) de los pacientes y en 4 (4% a los 18 meses. Ninguno de los 84 pacientes negativos a la prueba de ME al año del tratamiento tuvo signos ni síntomas de brucelosis y ninguno adquirió una brucelosis crónica. En cambio, 4 de los 8 pacientes con títulos positivos a ME al año continuaron con síntomas de brucelosis y debieron seguir con tratamiento. Se concluye que un resultado negativo a la ME es una buena prueba de que el paciente no tiene brucelosis crónica e indica que el tratamiento antibiótico tuvo éxito. Si se instituye un tratamiento eficaz y precoz es posible que los anticuerpos IgG (resistentes a ME) no se desarrollen nunca. Probablemente, tal fue el caso de 3 pacientes que adquirieron brucelosis en el laboratorio y cuya infección se confirmó por hemocultivo. Tanto el diagnóstico como el tratamiento fueron muy precoces en estos pacientes que en ningún momento, durante los dos años de seguimiento, mostraron tener anticuerpos resistentes a ME (García Carrillo y Coltorti, 1979).

Otras pruebas útiles para el diagnóstico de la brucelosis humana son la de rosa de Bengala y la contraelectroforesis. En un estudio de 222 casos (Díaz et al., 1982), la prueba de rosa de Bengala fue la más sensible, con positividad de 98,3%, y la contraelectroforesis lo fue en 84,9% en casos agudos y en 91,6% en casos crónicos.

En el diagnóstico serológico, tanto humano como animal, es necesario tener en cuenta que al principio de la infección sólo se originan anticuerpos IgM; por tanto, la prueba de aglutinación dará la mejor pauta

en el diagnóstico, ya que la ME resultará negativa. Al progresar el proceso de la infección aparecerán los anticuerpos IgG resistentes a la prueba de ME, que irán en aumento si no se trata al paciente en forma adecuada.

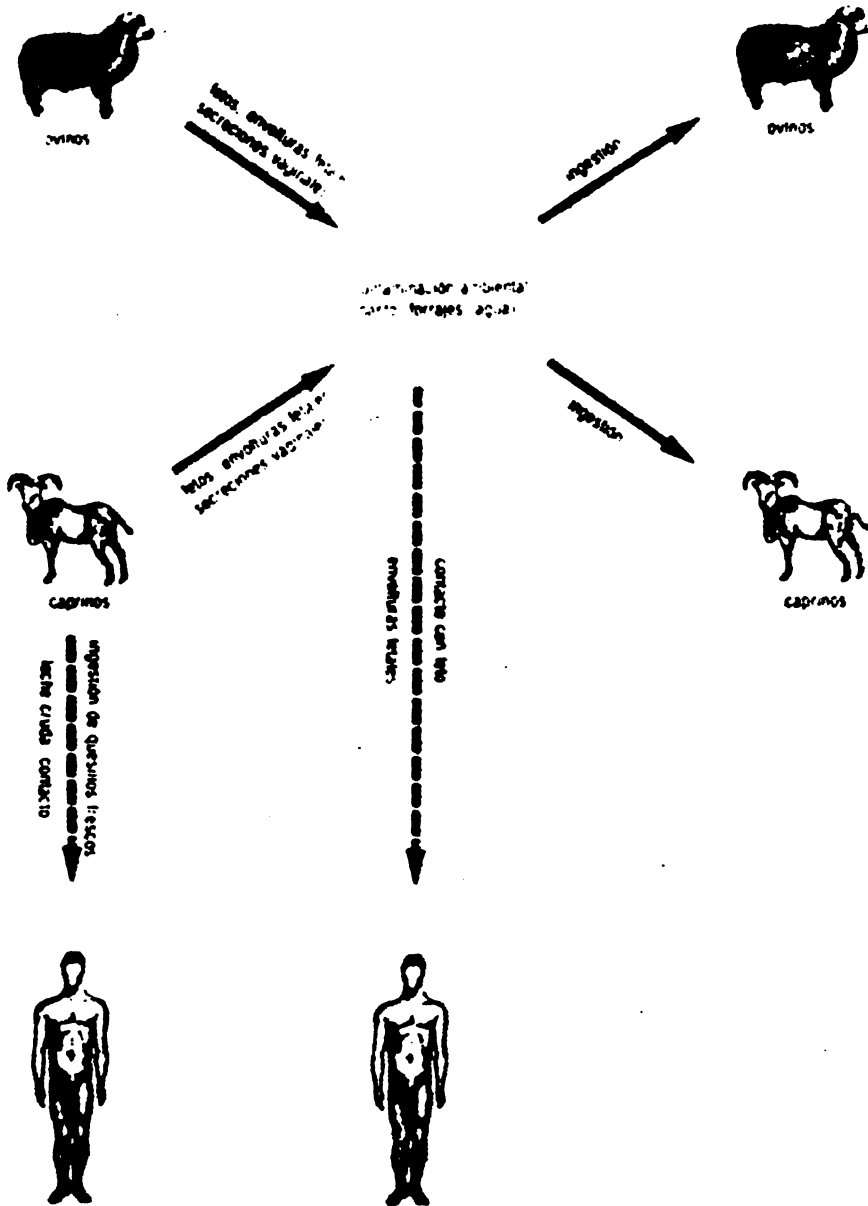
El diagnóstico de infección por *B. melitensis*, *B. suis* y *B. abortus* se efectúa con un antígeno de *B. abortus* debidamente estandarizado (Alton et al., 1976). Es necesario tener en cuenta que este antígeno no permite hacer el diagnóstico de una infección por *B. canis*, ya que esta especie de *Brucella* (como asimismo *B. ovis*) se encuentra en una fase rugosa (R), privada del antígeno superficial de naturaleza lipopolisacárida que caracteriza las "brucelas clásicas" (para el diagnóstico de *B. canis* y *B. ovis*, véase más adelante).

En los bovinos el diagnóstico se basa sobre todo en la serología. En la actualidad se dispone de un gran número de diferentes pruebas serológicas. Todas ellas pueden ser útiles cuando se emplean con criterio. Tanto la reacción de una prueba serológica como su utilidad en cada circunstancia se basan en la sensibilidad que tiene para los anticuerpos de las diferentes clases de inmunoglobulinas y por la concentración sérica del anticuerpo de cada clase (Chappel et al., 1973). Las inmunoglobulinas mejor estudiadas en brucelosis bovina son IgM, e IgG₁ a IgG₂. Si bien las pruebas disponibles no son cualitativas para reconocer una sola inmunoglobulina, dan la pauta del predominio de una de ellas. En el diagnóstico de la brucelosis bovina resulta de especial interés conocer la evolución de las inmunoglobulinas en la infección y en la vacunación; en ambas aparecen primero las IgM y luego las IgG. La diferencia es que mientras en la infección las IgG tienden a incrementarse y a persistir, en terneras vacunadas entre los 3 y 8 meses de edad, las IgG tienden a desaparecer alrededor de los seis meses después de la vacunación. Sobre este conocimiento se basan las pruebas complementarias para distinguir los títulos aglutinantes que pueden persistir después de la vacunación con la cepa 19 o también para distinguir reacciones heteroespecíficas, originadas por bacterias que tienen antígenos de superficie comunes con las brucelas y que originan anticuerpos que en general son de la clase IgM.

Según su uso en diferentes países, las pruebas serológicas se pueden clasificar como: 1) de rutina u operativas, 2) complementarias, 3) de vigilancia epidemiológica y 4) pruebas tamiz. Una misma prueba puede servir como operativa en un programa y ser definitiva para el diagnóstico o ser la prueba tamiz o complementaria en otro programa.

Las pruebas de seroaglutinación (en tubo y en placa) fueron y son muy usadas y contribuyeron grandemente a reducir las tasas de infección en Europa, Australia y las Américas. No obstante, cuando la proporción

Figura 5. Brucelosis caprina y ovina (*Brucella melitensis*). Modo de transmisión.



de rebaños infectados y la prevalencia global llegan a una tasa reducida, sus limitaciones resultan evidentes en los llamados "rebaños problema", y hay que recurrir a otras pruebas para poder erradicar la infección. Son pruebas estandarizadas en el nivel mundial, de fácil ejecución, que permiten el examen de un gran número de muestras. En las pruebas de aglutinación predomina la reacción con las IgM. En animales clasificados como sospechosos y marginalmente positivos se recurre a las pruebas complementarias para dilucidar su situación. Sin embargo, es necesario tener en cuenta que títulos bajos a la aglutinación pueden deberse a una infección que recién se inicia y, por tanto, es conveniente repetir la prueba.

La prueba de rosa de Bengala (con antígeno amortiguado) es rápida, de fácil ejecución, y permite el procesamiento de un gran número de muestras por día. Es una prueba cualitativa que clasifica los animales en positivos y negativos. En regiones de baja prevalencia de infección o donde se practica la vacunación sistemática de terneras, la de rosa de Bengala es poco específica e indica muchos "falsos positivos", si se usa como prueba única y definitiva. En varios países, entre ellos Gran Bretaña y Australia, se usa como prueba previa o tamiz: los animales con resultado negativo son clasificados como tales y los de resultado positivo son sometidos a otras pruebas confirmatorias. En regiones de alta prevalencia da resultados muy satisfactorios. También puede ser usada a su vez como una prueba complementaria para animales que se clasifican como sospechosos por la prueba de aglutinación. De esta manera muchos sueros sospechosos resultan negativos a la rosa de Bengala y como esta prueba es muy sensible (deja pocos "falsos negativos") y precoz en detectar la infección, hay es caso riesgo de no detectar animales infectados.

Las principales pruebas complementarias son la de fijación del complemento, la mercapto-2-etanol y la de rivanol. Ultimamente, se han desarrollado también nuevas pruebas, como la de hemólisis indirecta, inmunoenzimática (ELISA) para las diferentes clases de inmunoglobulinas y la de inmunodifusión radial con un antígeno polisacárido. Todas ellas tienen por objeto distinguir anticuerpos debidos a la infección, de los que pueden persistir por la vacunación o por el estímulo de bacterias heteroespecíficas.

Se considera que la prueba de fijación del complemento es la más específica, pero resulta muy laboriosa, complicada, e intervienen muchos elementos y variantes. Además no está estandarizada en el nivel internacional. Esta prueba puede suplantarse por otras más sencillas como la de mercapto-2-etanol y la de rivanol, que miden los anticuerpos IgG.

La vigilancia epidemiológica de la brucelosis se lleva a cabo por separado en animales lecheros y en los de carne, en puntos estratégicos y por pruebas diagnósticas diferentes. El objetivo principal es ubicar rebaños infectados y mantener la supervisión sobre rebaños indemnes. Para

el ganado de carne se usan pruebas tamiz o presuntivas de gran sensibilidad, tales como la de rosa de Bengala y sus modificaciones, y el punto estratégico para recolectar las muestras son los mercados de ganado y los mataderos. Los sueros que resulten positivos se someten luego a pruebas estándar y los animales se rastrean hasta su establecimiento de origen. Para el ganado lechero se dispone de la prueba de anillo en leche, de gran sencillez y que permite el examen, en poco tiempo, de un gran número de rebafios. Las muestras compuestas de tarros o tanques se recogen en las receptorías de leche y usinas lácteas o en el propio tambo. Al hallar una muestra positiva es necesario realizar el examen serológico individual de los animales del establecimiento de origen.

Los exámenes bacteriológicos son de uso más restringido. Los materiales que más se prestan para esos exámenes son los fetos, envolturas fetales, secreciones vaginales, leche y semen. Las vacas infectadas pueden abortar o no abortar, pero un alto porcentaje de ellas elimina brucelas del tracto genital desde unos días antes del parto hasta unos 30 días después. Se estima que un 85% de las vacas recientemente infectadas y más de 15% de las vacas crónicamente infectadas eliminan brucelas durante las pariciones. La eliminación de brucelas a través de la leche es constante o intermitente y esta secreción es un material excelente para el aislamiento de *Brucella* si los exámenes se repiten en varias ocasiones. En toros las pruebas serológicas deben hacerse con el suero sanguíneo y con el plasma seminal. El examen bacteriológico del semen debe repetirse si resulta negativo, ya que la eliminación puede ser intermitente.

En porcinos las pruebas serológicas no son indicadas para el diagnóstico individual, sino para revelar la presencia de la infección en la pira. Se pueden usar las pruebas de aglutinación (en tubo y en placa), fijación del complemento y antígeno ácido buferado (rosa de Bengala). Esta última es la preferible, pues tiene la ventaja de que en piras donde hay sólo títulos bajos e inespecíficos a la aglutinación (en tubo o en placa) los resultados son negativos. Para clasificar una pira como positiva con la prueba de aglutinación (en tubo o en placa), debe haber uno o más animales con 100 UI o más.

En los caprinos las pruebas serológicas también son aplicables a todo el rebaño y no en forma individual. Cuando hay infección en el rebaño, se encuentra uno o más individuos con títulos de 100 UI o más; en tal caso es prudente adoptar títulos de 50 UI como significativos de infección. Se considera que la prueba de fijación del complemento es superior a la aglutinación y es especialmente indicada para uso en rebafios vacunados con *B. melitensis* Rev. 1, donde los anticuerpos aglutinantes persisten largo tiempo. También la prueba de mercaptoetanol ha dado muy buenos resultados en hatos vacunados. La prueba con antígeno ácido buferado (rosa de Bengala) ha dado resultados promisorios, pero la experiencia es limitada y aún no permite llegar a conclusiones definitivas.

En ovinos, en el diagnóstico de la infección por *B. melitensis*, la prueba de Coombs (prueba de la antiglobulina) modificada por Hajdú, permite descubrir un 70% de animales infectados. Las otras pruebas (aglutinación, fijación del complemento) dan resultados inferiores. En las pruebas de aglutinación y de fijación del complemento se recomienda adoptar títulos más bajos que en otras especies animales. La prueba de electrosinéresis (contraímmunoelectroforesis) detectaría anticuerpos contra antígenos intracelulares, que aparecen tardíamente en el suero, pero permanecen durante largo tiempo; por tanto, sería apropiada para ovinos con brucelosis crónica que dan reacciones negativas a las pruebas de aglutinación, rosa de Bengala y fijación del complemento (Trap y Goumont, 1982). Para el diagnóstico de la epididimitis del carnero por *B. ovis* se debe emplear antígeno elaborado con este agente; las pruebas preferidas son la difusión en gel y la de fijación del complemento. El examen bacteriológico del semen es un método adecuado de diagnóstico, pero se debe tener en cuenta que la eliminación de brucelas puede ser intermitente.

En perros infectados por *B. canis* el diagnóstico más certero es el aislamiento del agente etiológico de la sangre, descargas vaginales, leche o semen o de tejidos fetales y placentas. La bacteriemia es de larga duración, de 1 a 2 años, pero después de la fase inicial puede volverse intermitente, por lo que un hemocultivo negativo no excluye la posibilidad de brucelosis.

Las pruebas serológicas de empleo más común son la de aglutinación en placa y tubos con antígeno de *B. canis* y la prueba de inmunodifusión en agar gel con antígenos extraídos en la pared celular. En menor o mayor grado, todas estas pruebas sufren de reacciones inespecíficas. Recientemente (Zoha y Carmichael, 1982) se demostró que la prueba de inmunodifusión con antígenos sonicados (antígenos celulares internos) es satisfactoria al poco tiempo de iniciarse la bacteriemia y que puede detectar animales infectados por lo menos seis meses después de cesar la bacteriemia, es decir, cuando las otras pruebas dan resultados equívocos.

Control: En el hombre, el enfoque más racional para prevenir la brucelosis consiste en el control y la eliminación de la infección de los reservorios animales, tal como se ha demostrado en varios países europeos y americanos. Parte de la población puede ser protegida mediante la obligación de pasteurizar la leche. La prevalencia de la infección en grupos ocupacionales (ganaderos, obreros de mataderos, veterinarios y otros en contacto con animales o sus canales) es más difícil, y debe basarse en la educación para la salud, el uso de ropa protectora cuando sea posible, y la supervisión médica.

Reviste especial interés la protección contra la brucelosis de los obreros de frigoríficos y mataderos -un grupo ocupacional expuesto al más alto riesgo- mediante la separación de la playa de matanza de las demás secciones y el cuidado en la circulación de aire. En los países con programas de erradicación, se designan uno o más mataderos (frigoríficos) con inspección veterinaria oficial por región, para el sacrificio de los animales reaccionantes. Estos se sacrifican al final de la faena del día, con precauciones especiales y con la supervisión debida para proteger a los operarios. Se debe instruir a los obreros sobre las prácticas de higiene personal y se les debe proveer de desinfectantes y ropa protectora. Los desinfectantes recomendados (Elberg, 1981) son una solución de cloramina al 5% o una de 8-10% de soda cáustica para la desinfección de las instalaciones después del sacrificio. Los instrumentos deben pasarse por autoclave o deben hervirse durante 30 minutos en una solución de 2% de soda. La ropa se desinfecta en una solución al 2% de cloramina o de una solución al 3% de un jabón fenólico y luego se lava. Las manos se desinfectan durante 5 minutos en una solución al 1% de cloramina ó 0,5% de soda cáustica y luego se lavan con jabón y agua.

La inmunización de grupos ocupacionales expuestos a alto riesgo se practica en la URSS y en China. En la URSS se ha empleado la vacuna cepa 198A de *B. abortus* (derivada de la cepa 19 que se usa en brucelosis bovina), aplicada por escarificación de la piel y aparentemente con buenos resultados (Organización Mundial de la Salud, 1971). La revacunación es anual en individuos no reaccionantes a las pruebas serológicas o alérgicas. En China también se usa una vacuna viva atenuada de la cepa *B. abortus* 104 M, por vía percutánea. Estas vacunas no se utilizan en otros países por los posibles efectos secundarios. En la URSS y Francia se han realizado ensayos promisorios con fracciones antigénicas de *Brucella*.

Para el control de la brucelosis bovina en áreas enzoóticas con alta prevalencia se recomienda la vacunación. La vacuna de elección es la *B. abortus* cepa 19, consagrada por su uso universal, la protección que confiere durante toda la vida útil del animal y su bajo costo. Para obviar su interferencia con el diagnóstico, se recomienda limitar (por legislación) la vacunación a animales de poca edad (terneras de 3 a 8 meses) que pierden rápidamente los anticuerpos originados por la vacuna. Se estima que del 65 al 80% de los animales quedan protegidos contra la infección. El efecto antiabortivo de la vacuna es muy pronunciado, reduciéndose de tal manera una de las fuentes principales de la infección. En un programa de vacunación sistemática, los mejores resultados se obtienen cuando se logra una cobertura anual de 70 a 90% de las terneras en edad de ser vacunadas. No deben vacunarse los machos, ni tampoco las hembras de más de 8 meses e incluso, donde fuera posible, de más de 6 meses de edad. Tampoco se recomienda la revacunación. El objetivo principal de un programa de vacunación sistemática y obligatoria de terneros en una zona o país es

reducir la tasa de infección y obtener rebaños resistentes a la brucelosis, para luego emprender la erradicación. El lapso necesario para lograr ese objetivo se estima entre 7 y 10 años de vacunación sistemática.

En zonas o países con baja prevalencia se puede proceder a un programa de erradicación, que consiste principalmente en aplicar al rebaño repetidas pruebas serológicas de diagnóstico, y eliminar los animales re-actores hasta la desaparición completa de los focos de infección. Este procedimiento se puede usar sólo (en países de muy baja prevalencia) o en combinación con la vacunación de terneras. En tales programas son muy importantes el control del tránsito de animales y la vigilancia epidemiológica.

Hasta hace pocos años la vacunación de hembras adultas con la cepa 19 resultaba contraindicada por la persistencia prolongada de los anticuerpos que pueden interferir con el diagnóstico. En el decenio de 1950, varios investigadores demostraron que la aplicación de una dosis reducida de la vacuna en animales adultos puede conferir una inmunidad comparable a la dosis completa, como también que los títulos aglutinantes eran más bajos y desaparecían más rápidamente. En 1975, en los Estados Unidos se inició (Nicoletti, 1976) una serie de estudios con dosis reducida en rebaños muy infectados, y se concluyó que la vacunación disminuye la propagación de la infección en el rebaño, los anticuerpos desaparecen aproximadamente en seis meses y que menos del 1% de las hembras quedan infectadas por la cepa vacuna de 3 a 6 meses después de la administración de la vacuna. En los animales vacunados las pruebas complementarias fueron de gran utilidad para discriminar entre las reacciones debidas a la infección y a la vacunación. Estas conclusiones se confirman con otros estudios, tanto experimentales como en condiciones de campo (Nicoletti et al., 1978; Alton et al., 1980; Viana et al., 1982; Alton et al., 1983). La vacunación de hembras adultas se puede contemplar en rebaños con brucelosis aguda con abortos y una infección que se propaga rápidamente, como asimismo en rebaños grandes con brucelosis crónica que presentan problemas en la erradicación. La dosis recomendada es de mil millones a tres mil millones de células brucélicas cepa 19, por vía subcutánea. Se vacunan solamente los bovinos negativos y se los identifica en forma indeleble, con supervisión gubernamental. Al iniciarse la operación, deben eliminarse los reactores a la brevedad y a los seis meses debe someterse a examen serológico a los animales vacunados, por pruebas tales como las de rivanol, mercaptoetanol y fijación de complemento para remitir al sacrificio los vacunados que hayan podido infectarse. Se estima que en 18 a 24 meses puede liberarse de la infección a esta clase de rebaños, con repetición periódica de las pruebas serológicas (Barton y Lomme, 1980). Por otra parte, se abre una nueva perspectiva con la posibilidad de proteger a los bovinos con cepa 19 por vía oral (Nicoletti y Milward, 1983).

El control de la brucelosis porcina consiste en el reconocimiento y certificación de piaras libres. Si se diagnostica la infección en un establecimiento donde se crían animales para el consumo, lo más conveniente es remitir toda la existancia al matadero para su sacrificio y efectuar una repoblación con animales procedentes de una piara indemne. Cuando se trata de un establecimiento infectado donde se crían animales de alto valor zootécnico, se recomienda destetar los lechones a las cuatro semanas de edad y criarlos en instalaciones separadas de la piara principal; practicar en forma periódica una prueba serológica (como la de rosa de Bengala); eliminar los eventuales reaccionantes y, cuando se obtenga cría del núcleo separado, eliminar la piara original. No se dispone de una vacuna eficaz para porcinos.

El control de la infección por *B. melitensis* en caprinos y ovinos se basa sobre todo en la vacunación. La vacuna de elección es la *B. melitensis* Rev. 1, que se aplica a hembras de 3 a 6 meses de edad. En hembras adultas se puede usar la misma vacuna, pero con una dosis menor (20.000 veces menos de células bacterianas que en la dosis para hembras jóvenes). Como la cría de caprinos se hace generalmente en áreas marginales y en condiciones socio-económicas de muy bajo nivel, resulta difícil realizar programas de erradicación. En esas áreas, la infección es constante, muchos rebaños son nómadas y las prácticas de crianza impiden el control sanitario. La experiencia de los últimos con la vacuna Rev. 1 en Italia, Turquía, Irán, Mongolia, Repúblicas Caucásicas de la URSS y Perú ha demostrado que es un excelente elemento de control. Sin embargo, en zonas de baja prevalencia donde se ha empleado el procedimiento de diagnóstico y sacrificio de animales reactores, se han obtenido resultados satisfactorios.

El control de la epididimitis del carnero se puede lograr por el conjunto de las siguientes medidas: eliminación de reproductores con lesiones reconocibles clínicamente; eliminación de los reproductores clínicamente normales que resulten positivos a la prueba de difusión en gel o la de fijación del complemento, y separación de los carneros jóvenes, que aún no entraron en servicio, de los machos adultos. En algunos países, como Nueva Zelanda y los Estados Unidos, se usa una bacterina preparada sobre la base de *B. ovis* con adyuvantes. La vacunación se hace en el destete, se revacuna al mes o dos meses y luego anualmente. Esta vacuna no produce anticuerpos para el antígeno de *B. abortus*, pero sí para *B. ovis*. La vacuna *B. melitensis* Rev. 1 es eficaz contra la epididimitis, pero produce anticuerpos para el antígeno de *B. abortus*.

La brucelosis por *B. canis* en establecimientos de cría de perros puede ser controlada por pruebas serológicas repetidas y hemocultivos, con la consiguiente eliminación de los animales positivos. No se dispone de vacunas contra ella. Las clínicas veterinarias deben llamar la atención del dueño sobre el riesgo de mantener un perro con brucelosis y recomendar su eutanasia.

BIBLIOGRAFIA

Acosta, M., H. Ludueña, D. Barreto y M. Moro. Brucelosis en alpacas. *Rev Invest Pec (Lima)* 1:37-49, 1972.

Alton, G.G., L.M. Jones y D.E. Pietz. Las técnicas de laboratorio en la brucelosis, 2ª ed. Ginebra, Organización Mundial de la Salud, 1976. (Serie de Monografías 55).

Alton, G.G., L.A. Corner y P.P. Plackett. Vaccination of pregnant cows with low doses of *Brucella abortus* strain 19 vaccine. *Aust Vet J* 56:369-372, 1980.

Alton, G.G., L.A. Corner y P.P. Plackett. Vaccination of cattle against brucellosis. Reduced doses of strain 19 compared with one and two doses of 45/20 vaccine. *Aust Vet J* 60:175-177, 1983.

Anczykowski, F. Further studies on fowl brucellosis. II. Laboratory experiments. *Pol Arch Wet* 16:271-292, 1973.

Asociación Americana de Salud Pública. El control de las enfermedades transmisibles en el hombre, 13ª ed. (1980). Benenson, A.S. (Ed.). Traducción al español publicada por la Organización Panamericana de la Salud. Washington, D.C., 1983. (Publicación Científica 442).

Barg, L. Isolamento de *Brucella canis* em Minas Gerais, Brasil. Pesquisa de aglutininas em soros caninos e humanos. Tesis. Universidad Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Brasil, 1975.

Barton, C.E. y J.R. Lomme. Reduced-dose whole herd vaccination against brucellosis: A review of recent experience. *J Am Vet Ass* 177:1218-1220, 1980.

Buchanan, T.M., S.L. Hendricks, Ch.M. Patton y R.A. Feldman. Brucellosis in the United States. An abattoir-associated disease. III. Epidemiology and evidence for acquired immunity. *Medicine* 53:427-439, 1974.

Buchanan, T.M. y L.C. Faber. 2-mercaptoethanol brucella agglutination test: Usefulness for predicting recovery from brucellosis. *J Clin Microbiol* 11:691-693, 1980.

Centers for Disease Control. Annual Summary 1981: Reported morbidity and mortality in the United States. *Morb Mort Wkly Rep* 30:14, 1982.

Corbel, M.J. The serological relationship between *Brucella* spp., *Yersinia enterocolitica* serotype IX and *Salmonella* serotypes of Kauffman-White group. *J. Hyg (Camb)* 75:151-171, 1975.

- Chappel, R.J., D.J. Mc Naught, J.A. Bourke y G.S. Allen. Comparison of the results of some serological tests for bovine brucellosis. *J Hyg (Camb)* 80:365-371, 1973.
- Díaz, R., E. Maravi-Poma, J.L. Fernández, S. García-Merlo y A. Rivero-Puente. Brucelosis: Estudio de 222 casos. Parte IV: Diagnóstico de la brucelosis humana. *Rev Clin Esp* 166:107-110, 1982.
- Elberg, S.S. The Brucellae. En: Dubos, R.J. y J.G. Hirsch (Eds), *Bacterial and Mycotic Infections of Man*, 4ª ed. Filadelfia y Montreal, LIppincott, 1965.
- Elberg, S.S. Immunity to Brucella infection. *Medicine* 52:339-356, 1973.
- Elberg, S.S. A Guide to the diagnosis, treatment and prevention of human brucellosis. Organización Mundial de la Salud, 1981. VPH/81.31 Rev 1. (Documento inédito).
- Fensderbank, R. Congenital Brucellosis in Cattle. Organización Mundial de la Salud, 1980. WHO/BRUC/80.352. (Documento inédito).
- Flores-Castro, R., F. Suárez, C. Ramírez-Pfeiffer y L.E. Carmichael. Canine brucellosis: bacteriological and serological investigation of naturally infected dogs in Mexico City. *J. Clin Microbiol* 6:591-597, 1977.
- Fredrickson, L.E. y C.E. Barton. A serologic survey for canine brucellosis in a metropolitan area. *J Am Vet Med Ass* 165:987-989, 1974.
- García Carrillo, C. Métodos para el diagnóstico de la brucelosis. *Gac. Vet (B Aires)* 32:661-667, 1970.
- García Carrillo, C. Programa de erradicación de la brucelosis en California. Buenos Aires, Centro Panamericano de Zoonosis, 1975. (Monografías Científicas y Técnicas 9).
- García Carrillo, C., Brożyfes y J. González Tomé. Tipificación de brucelas aisladas del hombre y los animales en América Latina. *Rev. Latinoam Microbiol* 14:117-125, 1972.
- García Carrillo, C. y E.A. Coltorti. Ausencia de anticuerpos resistentes al 2-mercaptoetanol en tres pacientes de brucelosis. *Medicina (B Aires)* 39:611-613, 1979.
- George, L.W. y L.E. Carmichael. A plate agglutination test for the rapid diagnosis of canine brucellosis. *Am J Vet Res* 35:905-909, 1974.

Gilman, H.L. Brucellosis. En: Gibbons, W.J. (Ed) Diseases of Cattle. Santa Bárbara, California, American Veterinary Publication, 1963.

Hendricks, S.L. y M.E. Meyer. Brucellosis. En: Hubbert, W.T., W.F. McCulloch, y P.R. Schnurrenberger (Eds.), Disease transmitted from animals to man. 6ª ed. Springfield, Illinois, Thomas, 1975.

Kasyanov, A.N. y R.G. Aslanyan. Epizootiology and clinical appearance of animal brucellosis. En: A. Lisenko (Ed.), Zoonoses Control. VII Centre Int Projects. Moscú, 1982.

Kaufmann, A.F., M. D. Fox, J.M. Boyce, D.C. Anderson, M.E. Potter, W.J. Martone y C.M. Patton. Airborne spread of brucellosis. Ann NY Acad Sci 353:105-114, 1980.

Lapraik, R.D., D.D. Brown y H. Mann. Brucellosis. A study of five calves from reactor dams. Vet Rec 97:52-54, 1975.

Manthei, C.A. Brucellosis as a cause of abortion today. En: Faulkner, L.C. (Ed.), Abortion Diseases of Livestock, Springfield, Illinois, Thomas, 1968.

Manthei, C.A. Brucellosis. En: Dunne, H.W. (Ed.) Diseases of Swine, 3ª ed. Ames, Iowa State University Press, 1970.

McCaughy, W.J. Brucellosis in wildlife. En: Diamond, A. (Ed.), Diseases in Free-living Wild Animals. Nueva York, Academic Press, 1969.

McCullough, N.B. Microbial and host factors in the pathogenesis of brucellosis. En: Mudd, S. (Ed.), Infectious Agents and Host Reactions. Filadelfia, Saunders, 1970.

Myers, D.M., L.M. Jones y V.M. Varela-Díaz. Studies of antigens for complement fixation and gel diffusion tests in the diagnosis of infections caused by *Brucella ovis* and other *Brucella*. Appl Microbiol 23:894-902, 1972.

Nicoletti, P.A. preliminary report on the efficacy of adult cattle vaccination using strain 19 in selected dairy herds in Florida. Proc Ann Mtg US Liv Sanit Ass 80:91-106, 1976.

Nicoletti, P., L.M. Jones y D.T. Berman. Adult vaccination with standard and reduced doses of *Brucella abortus* strain 19 in a dairy herd infected with brucellosis. J Am Vet Med Ass 173:1445-1449, 1978.

Nicoletti, P. y F.W. Milward. Protection by oral administration of *Brucella abortus* strain 19 against an oral challenge exposure with a pathogenic strain of *Brucella*. Am J Vet Res 44:1641-1643, 1983.

Organización Mundial de la Salud. Comité Mixto FAO/OMS de Expertos en Brucelosis. Quinto Informe. Ginebra, OMS, 1971. (Serie de Informes Técnicos 464).

Organización Mundial de la Salud. Quinto Informe sobre la Situación Sanitaria Mundial, 1969-1972. Ginebra, OMS, 1975. (Boletines Oficiales 225).

Organización Panamericana de la Salud. Guía para la preparación y evaluación de proyectos de lucha contra la brucelosis bovina. Buenos Aires, Centro Panamericano de Zoonosis, 1972. (Nota Técnica 14).

Pacheco, G. y M.T. De Mello. Brucelose. Rio de Janeiro, Brasil, Serviço Gráfico, Instituto Brasileiro de Geografia y Estadística 1956.

Peres, J.N., A.M. Godoy, L. Barg y J.O. Costa. Isolamento de *Brucella canis* de carrapatos (*Rhipicephalus sanguineus*). Arq Esc Vet UFMG (B Horizonte) 33:51-55, 1981.

Plommet, M., R. Fensderbank, G. Rendux, J. Gestin y A. Philippon. Brucellose bovine expérimentale. XII. Persistencee a l'age adulte de l'infection congénitale de la génisse. Ann Rech Vét 4:419-435, 1973.

Plommet, M. y R. Fensderbank. Vaccination against bovine brucellosis with a low dose of strain 19 administered by the conjunctival route. Ann Rech Vét 7:9-23, 1976.

Ramacciotti, F. Brucelosis. Córdoba Argentina, Edición del Autor, 1971.

Schwabe, C.W. Veterinary Medicine and Human Health, 2ª ed. Baltimore, Maryland, Williams and Wilkins, 1969.

Spink, W. W. The Nature of Brucellosis. Minneapolis, Minnesota, University of Minnesota Press, 1956.

Spink, W. W. Brucellosis (Undulant fever, Malta fever). En: Wyugaarden, I.B., L.H. Smith Jr. (Eds.), Cecil Textbook of Medicine, 16ª ed. Filadelfia, Saunders, 1982.

Szyfres, B. Taxonomía del género *Brucella*. Gac Vet (B Aires) 33:28-40, 1971.

Timm, B.M. Brucellosis. Distribution in Man, Domestic and Wild Animals. Berlin, Springer, 1982.

Trap, D. y R. Gaumont. Comparaison entre électrosynerése et épreuves sérologiques classiques dans la diagnostic de la brucellose ovine. Ann Rech Vét 13:33-39, 1982.

Van der Hoeden, J. Brucellosis. En: Van der Hoeden, J. (Ed)., Zoonoses. Amsterdam, Países Bajos, Elsevier, 1964.

Viana, F.C., J.A. Silva, E.C. Moreira, L.G. Villela, J.G. Mendes y T.O. Dias. Vacinação contra brucelose bovina com dose reduzida (amostra B₁₉) por via conjuntival. Arq Esc Vet UFMG (B Horizonte) 34:279-287, 1982.

Wilesmith, J.W. The persistence of Brucella abortus infection in calves: A retrospective study of heavily infected herds. Vet Rec 103:149-153, 1978.

Witter, J.F. y D.C. O'Meara. Brucellosis. En: Davis, J.W., L.H. Kars- tady y D.O. Trainer, Infectious Diseases of Wild Mammals, Ames, Iowa State University Press, 1970.

Zcha, S.J. y L.E. Carmichael. Serological responses of dogs to cell wall and internal antigens of Brucella canis (B. canis). Vet Microbiol 7:35-50, 1982.

BRUCELOSIS BOVINA, OVINA Y CAPRINA
DIAGNOSTICO, CONTROL, VACUNACION

R. Fensterbank *

RESUMEN

Los informes recibidos de 39 países constituyen un muestreo representativo que pone en evidencia la universalidad de los problemas planteados por la brucelosis y la diversidad de sistemas de lucha que se aplican.

Once países han conseguido la erradicación de la enfermedad, 17 se encuentran en proceso de saneamiento más o menos avanzado, 5 poseen un plan de vacunación destinado en una primera etapa a reducir los índices de prevalencia de la enfermedad y 6 carecen todavía de planes de control definidos o en aplicación.

Para el diagnóstico, las dos pruebas serológicas más empleadas son el test de Rosa de Bengala y el Ring Test, recurriéndose a la fijación de complemento o a la seroaglutinación, en caso de duda. En los países ya saneados donde se producían reacciones serológicas cruzadas ha habido que recurrir a pruebas serológicas complementarias más sensibles y específicas e incluso a exámenes bacteriológicos.

Diecisiete países practican el control sanitario estricto y 16 el control mixto médico-sanitario. Para la vacunación prácticamente se emplea sólo la cepa B19, ya sea únicamente en las terneras o también sobre animales adultos, utilizando dosis reducidas de vacunas por vía subcutánea o conjuntival.

La brucelosis de los pequeños rumiantes, menos extendida geográficamente, pero al mismo tiempo más contagiosa que la brucelosis bovina, se combate en 13 países mediante el sacrificio de animales y vacunación con la cepa Rev. 1, con la excepción de un país que se encuentra a punto de conseguir la erradicación por aplicación estricta de una política de sacrificios.

La epididimitis contagiosa de los ovinos producida por B. ovis, que no supone peligro para el hombre, se ha diagnosticado en 8 países, en los que se aplica un control, bien sanitario estricto o bien mixto.

* I.N.R.A., Centre de Recherches de Tours, Station de Pathologie de la Reproduction, Nouzilly, 37380 MONNAIE, Paris, 26-30 de Mayo de 1986, 54a. Sesión General, Office International des Epizooties.

INTRODUCCION

La brucelosis bovina se encuentra ampliamente difundida en todo el mundo, salvo en algunos países que han conseguido erradicarla. Sin embargo, estos países deben estar alertas ya que el peligro de recontaminación les acecha. La brucelosis ovina y caprina, si bien es habitual en la cuenca mediterránea, Asia, Africa y América Central y del Sur, se encuentra menos difundida que la primera.

La brucelosis plantea un problema mundial de salud pública. El hombre se infecta por contacto con los animales o mediante el consumo de alimentos de origen animal. La brucelosis humana constituye un problema particularmente grave, ya que con frecuencia produce invalidez cuando no se trata de forma correcta desde su inicio. La brucelosis animal también constituye un serio problema económico, ocasionando pérdidas importantes y causando alteraciones en el comercio internacional de animales.

Estas razones han llevado a todos los países del mundo a luchar contra este azote, o al menos a reflexionar acerca de sus posibilidades de erradicación en función de los medios disponibles. Como resultado de ello, varios países se encuentran en la actualidad indemnes de brucelosis o en proceso de erradicación de la misma, mientras que otros, si bien son conscientes del problema, aún no han podido emprender una acción coherente. Hay que reconocer que se trata de una tarea a la vez difícil, debido a las dificultades en el diagnóstico, larga a causa de las recontaminaciones y costosa por las medidas que hay que aplicar y los sacrificios de animales que acarrea.

Somos conscientes de las lagunas todavía existentes en nuestros conocimientos básicos sobre las Brucellas y la enfermedad que ocasionan. La investigación se esfuerza en superarles. Pese a ello, nuestro conocimiento y nuestra experiencia ante la brucelosis de la que dan cuenta infinidad de publicaciones, deben permitir que nos enfrentemos a la enfermedad con serias posibilidades de éxito. El éxito conseguido por los países declarados indemnes es suficiente para convencernos.

Como cualquier enfermedad infecciosa, la brucelosis presenta características propias. La más importante nos parece ser su contagiosidad. El aborto provoca la excreción de un elevado número de bacterias, 10^{15} (diez billones), y por otro lado 15 millones de Brucellas depositadas sobre la conjuntiva infectan al 95% de terneras gestantes. El parto a término de una vaca infectada, a veces no diagnosticada por serología, puede producir la eliminación de numerosas Brucellas. Existen otras contaminaciones más veladas, como las Brucellas que eliminadas por las heces o la orina van vehiculadas con el estiércol, la cama y los aerosoles. También las terneras nacidas de madres afectadas de brucelosis plantean un grave problema ya que a veces, tras una fase prolongada de serología negativa, pueden infectarse y por tanto transmitir la enfermedad.

Este poder de contagiosidad explica las recontaminaciones observadas en rebaños que se estimaban sanados. Sin estas recontaminaciones, el control mediante el sacrificio de los reaccionantes sería altamente eficaz. Por el contrario, si la vacunación fuera eficaz al 100%, la erradicación se conseguiría de forma muy rápida mediante la aplicación de vacuna a todos los animales. Esto no ocurre en la realidad ya que una campaña de erradicación de brucelosis es una carrera entre la eliminación de animales por sacrificio y la propagación de la enfermedad que puede eventualmente frenarse mediante la vacunación.

En el momento de la redacción de esta síntesis (fines de noviembre de 1985) habíamos recibido los informes de 39 países (Cuadro I), es decir, un poco más de un tercio de los Países Miembros de la O.I.E. Este muestreo nos ha parecido representativo de las diferentes situaciones que pueden darse relativas a la prevalencia de la enfermedad y a los sistemas de control aplicados. Desde el punto de vista geográfico, se encuentran representados los cinco continentes (África: 7 países, América: 7; Asia: 6; Europa: 16 y Oceanía: 3).

Los sistemas de lucha contra la enfermedad consisten en el diagnóstico de los animales enfermos y el control con vacunación o sin ella. A continuación se examinarán estos tres puntos, incluyendo la información aportada por los diferentes informes y cotejándolos con los datos científicos más recientes.

CUADRO I

Lista de los Países Miembros de la O.I.E.
de los que se han recibido y analizado los informes

Africa del Sur	Cuba	Nueva Zelanda
Alemania, Rep. Democrática	Estados Unidos	Polonia
Arabia Saudita	Etiopía	Portugal
Argentina	Finlandia	Rumanía
Australia	Francia	Sudán
Austria	Gran Bretaña	Sri Lanka
Burkina Faso	Grecia	Suiza
Canadá	Italia	Taiwan
Checoslovaquia	Japón	URSS
Chile	Malasia	Uruguay
Chipre	Malawi	Vanuatu
Colombia	Nigeria	Yugoslavia
Corea Rep. (Sur)	Noruega	Zambia

I. BRUCELOSIS BOVINA

1. Diagnóstico

Tiene como finalidad descubrir los animales infectados, conocer la prevalencia y distribución y además, en los países donde se han conseguido la erradicación, vigilar que no haya recontaminaciones. Para ello se emplean pruebas serológicas y alérgicas y la investigación del agente por bacteriología.

1.1. Diagnóstico serológico

Se utilizan pruebas destinadas al control colectivo, asociadas a pruebas complementarias, en el caso de que se presenten reacciones dudosas. Las muestras empleadas son la sangre, extraída del animal vivo y en matadero (Canadá), y la leche. Las pruebas ponen en evidencia los anticuerpos indicativos de la enfermedad. La infección aparece después de un período variable de incubación, y luego tiende a volverse crónica, presentándose anticuerpos de los tipos IgG_1 , IgG_2 e IgM (32) en proporciones relativamente diferentes según el momento del ciclo evolutivo de la enfermedad. Por otro lado, la propia vacunación, muchas veces empleada, induce a la formación de anticuerpos de los mismos tipos. La prueba serológica ideal sería aquella que permitiera un diagnóstico precoz, identificara a los infectados crónicos y diferenciara los anticuerpos vacunales de los de infección. Además debería ser económica, sencilla y rápida ya que debe realizarse en muchas muestras. No existe prueba serológica alguna que posea todas las cualidades enumeradas.

La seroaglutinación lenta en tubos (SLT), precursora de las pruebas serológicas actuales, todavía se sigue empleando y constituye la prueba base en 10 países. Como prueba complementaria se usa en otros 15. Su eficacia es corroborada por el hecho de que la mayoría de los países actualmente declarados indemnes la han utilizado, asociada, desde luego, a la fijación de complemento o al Ring Test. La SLT pone en evidencia los anticuerpos de los tipos IgG_2 y IgM (32). Se le reprocha una detección a veces tardía de los animales infectados recientemente, la imposibilidad de diferenciar los anticuerpos vacunales de los de infección y el no detectar eficazmente la infección crónica o solamente a titulaciones bajas y difíciles de interpretar (26, 39). Este último defecto aparece particularmente grave, habida cuenta de la cronicidad habitual de la enfermedad.

La fijación del complemento (FC) se utiliza como reacción de base en dos países (Malasia y Nueva Zelanda, habiéndose automatizado en este último) y como reacción complementaria prácticamente en todos los demás. Detecta los anticuerpos de los tipos IgG_1 e IgM por lo que se le considera la prueba más sensible y precisa, permitiendo una relativa diferenciación entre anticuerpos vacunales e infecciosos (2, 39). La FC

presenta el inconveniente de ser delicada y larga de efectuar y precisa ser efectuada por personal técnico competente, lo que desgraciadamente impide su utilización regular como prueba de base.

El test de Rosa de Bengala (TRB) consiste en una aglutinación rápida en placa con suero puro y un antígeno coloreado y a pH 3,6. Esta constituye la prueba de base en 21 de los 26 países que dicen utilizarla (5 países parecen no utilizarla y 8 no dan información precisa). Así pues se observa un consenso acerca de la utilización de dicha prueba, que se explica por el hecho de que el TRB es económico, sencillo y rápido, y ocasiona pocas respuestas dudosas tanto positivas como negativas que obliguen a una FC de control (o ALT + FC) (13). Las inmunoglobulinas responsables de la reacción son las IgG1 (9), como en el caso de la FC, e incluso las IgM, según la forma de preparación del antígeno (D. Leveaux, Comunicación personal). Esta prueba detecta la enfermedad en estadios más precoces que la ALT (13) e incluso que la FC (20) o al mismo tiempo que la FC (39).

La prueba del anillo o Ring Test (RT) también es utilizada con frecuencia. Detecta las inmunoglobulinas existentes en la leche, ya sea procedentes de la sangre por filtración (IgM) o bien producidas localmente en la mama (IgA), que es uno de los órganos que se infectan con mayor frecuencia. Se trata de una prueba muy eficaz (35, 48), sencilla de realizar y económica. El RT puede efectuarse en forma frecuente (cada mes) tanto para el control de rebaños lecheros infectados (concretamente el RT ha constituido el método de diagnóstico de base en Suiza) como para el seguimiento continuo de los rebaños saneados. El éxito que se atribuye a esta prueba parece más ligada a la frecuencia de su realización que a su sensibilidad (Gran Bretaña) ya que ésta disminuye con el tamaño del rebaño. Es un test de alerta precoz ya que no se puede recurrir con tanta frecuencia a controles serológicos. La adición de formol (concentración final 0,2%) a la leche permite conservarla durante 14 días y parece aumentar su sensibilidad a la prueba RT más que reducirla (Gran Bretaña). Finalmente, el RT puede utilizarse a nivel individual.

Quando se inicia un plan de control, el diagnóstico de los rebaños con serología positiva resulta fácil. A medida que el proceso de saneamiento avanza o una vez conseguida la erradicación aparecen nuevos problemas que deben tratarse de forma más precisa, y a menudo a nivel individual. Además de las pruebas clásicas al rivanol, al mercaptoetanol (39, 42) y a la antiglobulina de Coombs, otras nuevas se encuentran en estudio (16, 44, 51). Entre estas nuevas pruebas aún en estudio se encuentra el ELISA, que practicado en el suero sanguíneo o bien en el lacto (Gran Bretaña), parece muy prometedor.

La ALT y la FC traen también aparejadas otras dificultades, debidas a las reacciones cruzadas que se producen entre Brucellas y otros gérmenes tales como Yersinia enterocolitica serogrupo 09, diferentes Salmonellas, Escherichia coli... (11). El TRB parece más específico debido al pH de 3,6 (13). La adición de EDTA (43) parece evitar este inconveniente de la ALT (Gran Bretaña).

1.2. Diagnóstico por pruebas alérgicas.

La infección por Brucellas crea un estado de sensibilización que se puede poner en evidencia mediante reacciones de hipersensibilidad de tipo retardado provocadas por la inyección de alérgenos extraídos de Brucellas. Comparados con otros muchos, los alérgenos extraídos según el procedimiento de Bhonghibat et al. (6) presentan la ventaja de no provocar la formación de anticuerpos que se evidencien por las pruebas serológicas de rutina y de no producir sensibilización. Así pues se puede repetir este diagnóstico sin perturbar los diagnósticos serológicos o alérgicos posteriores. Se ha propuesto este método (21) para el control de rutina y como prueba suplementaria en los rebaños donde existan problemas. Se emplea en tres países (Nueva Zelanda, Checoslovaquia y URSS). Nueva Zelanda le otorga una especificidad del 100% y una sensibilidad del 60-68% y prevé su utilización para un diagnóstico conjunto de tuberculosis y brucelosis.

1.3. Diagnóstico por bacteriología

La mayoría de los países realizan la investigación bacteriológica de Brucellas. La investigación generalmente se origina en los abortos, cuya declaración suele ser obligatoria. La descarga vaginal, el calostro, el feto y la placenta contiene gran cantidad de Brucellas en los animales infectados. La excreción con la leche se investiga bien a nivel individual (vaca con serología negativa y RT positivo) o bien de forma colectiva como complemento de otros exámenes (Estados Unidos). La investigación de Brucellas puede también efectuarse a partir de ganglios y órganos extraídos en el matadero (Canadá) o del líquido de punción de higromas, frecuentes (15) en animales africanos infectados (Burkina Faso). La ventaja de esta prueba es que permite evidenciar directamente el agente causal de la enfermedad cuando se le aísla, pero igualmente necesita buen equipo laboratorial y personal bien preparado. De forma sistemática se utilizan medios selectivos. Sin embargo conviene recordar que el biovar 2 de B. abortus precisa la adición de suero en el medio. El medio de Kuzdas y Morse así como el ME de Renoux, aunque a veces se han descrito para esta finalidad no contienen suero, y por lo tanto no permiten el aislamiento de este biovar. Por ello es preferible el medio de Farrel (19) que sí contiene este elemento. La investigación y la identificación bacteriológica de Brucellas es un complemento necesario de los métodos inmunológicos, y resulta indispensable

en lo que se refiere a la evaluación acertada del status epidemiológico del ganado o de los grupos humanos. La identificación de las Brucellas, especies y biovars, ha progresado sobremanera gracias a la utilización de una serie de bacteriófagos estudiados en diversos países. Ello ha permitido realizar identificaciones correctas incluso en laboratorios no especializados. La información brindada por la tipificación o la puesta en evidencia de determinadas características particulares permite conocer y rastrear el origen de la infección.

2. Control

El diagnóstico es obligatorio bien en todo el territorio o de forma parcial en determinadas zonas (provincias, regiones naturales) en 27 países. Por el contrario, el diagnóstico es parcial y con carácter voluntario o a petición y fijado a zonas determinadas (zonas lecheras próximas a las grandes ciudades, granjas del Estado o experimentales) en los otros 12 países. En 23 países existe un criterio de valoración en el que se fijan los criterios que deben cumplir las explotaciones para ser consideradas indemnes. Prácticamente en todos los países el aborto está sometido a declaración obligatoria y pone en marcha una serie de diagnósticos y de medidas de policía sanitaria.

En función de los sistemas de control que son o han sido empleados y de la situación sanitaria actual, se pueden clasificar los 39 países en 5 grandes grupos (Cuadro II).

Se observa que 11 países se encuentran declarados oficialmente indemnes de brucelosis (columna 1). En éstos, la vacunación está prohibida o no se realiza, aunque al menos en 5 de ellos la utilizaron en las primeras fases de la erradicación. Se siguen aplicando los métodos de diagnóstico de forma continuada para la vigilancia de la enfermedad, salvo en algunos países donde el desplazamiento de los animales se encuentra controlado o está geográficamente protegido (Noruega), en los que se practica un sistema de control más suave. En otros 7 países (columna 2), algunos de los cuales están a punto de conseguir la erradicación, tampoco se procede a la vacunación, salvo en Grecia de forma excepcional.

En 15 países se practica un control mixto, con sacrificio obligatorio en todo el territorio en 10 países (columna 3) o por zonas en los 5 restantes (columna 4). Con excepción de Arabia Saudita que utiliza la vacuna H38, la cepa B19 es la empleada en la vacunación; ya sea de terneras por vía subcutánea o por vía conjuntival (Francia, Italia) en algunos casos, o bien de vacas adultas por inyección subcutánea de una dosis reducida en los otros (Cuba, Nueva Zelanda, República Sudafricana, Estados Unidos). En los 5 países de la columna 4, el control se basa esencialmente en la vacunación de terneras e incluso de animales adultos

CUADRO II
Sistemas de control de la brucelosis en los diferentes países

SISTEMA DE CONTROL	SANTARPIO		MIXTO		SIN DETERMINAR
	Obligatorio	Recomendada según zonas	Obligatorio según zonas	Puro	
SACRIFICIO DE INOCUANTES	No	Recomendada según zonas	Obligatorio según las zonas o en todo el territorio	Iniciativa de ganaderos o responsables	
VACUNACION	No	Muy débil a media	Variable según el país y zonas	Sin determinar totalmente	
PREVALENCIA	Mula	Muy débil a media	Muy débil a media	Sin determinar totalmente	
	Austria Canadá Checoslovaquia Finlandia Gran Bretaña Japón Noruega Polonia R.D.A. Rumanía Suiza	Australia Chipre Corea Grecia Taiwan Vanuatu Yugoslavia	Africa del Sur Chile Cuba Francia Italia Malasia Nueva Zelanda Portugal URSS USA	Arabia Saudita Argentina Colombia Sri Lanka Uruguay	Burkina Faso Etiopía Malawi Nigeria Sudán Zambia

11
10

(Sri Lanka), y el sacrificio de los reaccionantes positivos sólo es obligatorio en zonas muy definidas. De este modo se ha vacunado el 23,04% de terneras en Colombia, el 79,4% en Argentina y el 95% en Uruguay.

En los 6 últimos países, la brucelosis muchas veces se diagnostica desde hace mucho tiempo. Todos ellos se enfrentan a una serie de dificultades importantes en medios humanos y/o financieros, y a la presencia de patologías "mayores" como la peste bovina, perineumonía, carbunco... que sitúan a la brucelosis en un segundo plano: ya que no mata a los adultos (Etiopía, Sudán). A menudo el nomadismo (Sudán) hace que sea ilusorio practicar un diagnóstico y control eficaces, aunque fuere por sondeo. La presencia de reservas salvajes (Vanuatu) también presenta problemas aún mal o nada resueltos. En todos estos países la vacunación se efectúa más por iniciativa individual que siguiendo un plan organizado, con vacilaciones sobre la elección de la vacuna a utilizar (Etiopía) o la forma de administración, aceptada por vía conjuntival por Burkina Faso.

Esta clasificación tiene mucho de artificiosa. Existe el interés de poner en evidencia la diversidad de medios empleados y los resultados alcanzados. Es imposible recurrir en todos los casos a un solo y único plan de lucha, en función de las condiciones tan variables que se dan de un país a otro. El plan debe elegirse tras una reflexión profunda y correcta (39), como aparece en muchos informes, y en base a los medios humanos, técnicos y financieros disponibles.

El factor humano es preponderante en esta lucha. Es necesario poder contar con un estado mayor de veterinarios y técnicos capaces de interpretar correctamente los resultados del diagnóstico y de intervenir de forma juiciosa en las operaciones subsiguientes. Los ganaderos sólo soportarán las contrariedades que se les imponen y sólo comprenderán las dificultades de diagnóstico y saneamiento en la medida en que hayan sido suficientemente informados y motivados, hechos sobre los que insisten particularmente Canadá, Chipre y Checoslovaquia.

Los medios técnicos son los laboratorios, por lo que su ausencia o insuficiencia pueden hacer fracasar el plan mejor concebido. En este rubro podemos evocar también estrategias particulares, como es la definición de una zona saneada destinada a suministrar los animales sanos de reemplazo (Chile).

Los medios financieros representan un parámetro muy importante: el costo del control puede ser muy alto, si se extiende a largos periodos. Antes de tomar una decisión debe realizarse un estudio económico basado en un modelo simple (14) o más elaborado (5, 27). En la mayoría de los informes lo que preocupa es obtener la mejor relación costo/beneficio.

Por el contrario, la ausencia de medios suficientes es aducida por varios países en vías de desarrollo para explicar la ausencia actual de planes de lucha.

La prevalencia de la enfermedad es un parámetro primordial que debe orientar el método de control escogido, sólo sanitario, sólo médico, o mixto médico-sanitario. Las diferencias de prevalencia también pueden ser un parámetro para determinar que las operaciones se realicen de forma diferente en distintas zonas en el interior de un mismo país (Chile, Portugal). Los sistemas de explotación, los hábitos comerciales, la concentración o dispersión de las granjas, la dimensión de los rebaños, la proporción de animales vacunados, el aislamiento de las gestantes próximas al parto (RDA) son parámetros muy importantes (27, 30, 40 y 53) que algunos países han tenido en consideración, al igual que el control de las importaciones y movimientos de animales, muy estricto en la mayoría de los países en los que el control es obligatorio. Finalmente existen reservas salvajes que con frecuencia se conocen mal y a veces se desconocen (Vanuatu).

En el transcurso del desarrollo de las operaciones se han introducido diversas modificaciones en función de los avances del proceso de saneamiento (por ejemplo, prohibición de la vacunación) o de la aparición de nuevas técnicas (adopción de TRB, vacunación de adultos, vacunación por vía conjuntiva...). Esta flexibilidad del plan inicial exige una información nueva y en profundidad de quienes intervienen en el plan.

Esta reflexión desemboca en la elección entre 3 formas de intervención:

- a) El control sanitario estricto pretende la erradicación por sacrificio de los animales infectados. Este es el modo más radical y sin duda el más económico cuando la prevalencia es baja y se dan condiciones favorables. Debe ser realizado con un gran rigor y de forma rápida con el fin de disminuir al máximo las posibilidades de recontaminación. La lectura de los informes nos da una respuesta parcial a la cuestión presentada con frecuencia sobre el umbral de prevalencia, por debajo del cual el control sanitario es técnica y económicamente factible: 3 países han conseguido la erradicación según este procedimiento con una incidencia inicial del 10,5 - 11% de rebaños infectados (Finlandia), 20% (Checoslovaquia) y 5% de animales (Suiza). Desgraciadamente en estas indicaciones no se especifica el tamaño de los rebaños, su dispersión, obstáculos geográficos para la dispersión de la enfermedad... que son parámetros que influyen de forma considerable en el desarrollo del saneamiento.

- b) El control médico apunta a una disminución de la prevalencia y a su mantenimiento a nivel mínimo mediante la aplicación de la vacunación generalizada. Si bien constituye la base de acción de varios países Centro y Sudamericanos, ninguno de los 39 países que han mandado informes la utilizan de forma aislada, sin proceder al menos a algunos sacrificios, impuestos o dirigidos, de animales.
- c) El control mixto consiste en la asociación simultánea o sucesiva de las dos precedentes, es decir, el sacrificio de los reaccionantes y la protección de los efectivos sanos mediante la vacunación. La vacunación obligatoria o altamente recomendada se efectúa fundamentalmente en las terneras por inoculación de la cepa B19 a la edad de 3 a 8 meses, salvo en Arabia Saudita donde se emplea la vacuna H38.

Los resultados de la vacunación son claros: en 10 años de vacunación intensiva en determinadas zonas, la prevalencia de la enfermedad ha descendido del 7 al 3% en Chile, con una cobertura máxima de vacunación estimada del 72,9% de las terneras, y del 17 al 3% en Argentina, con una cobertura máxima del 79,4%. En Uruguay, tras 20 años de vacunación intensiva la prevalencia general es del 0,4%. Además añadiremos que en la República Sudafricana "la prevalencia más baja se observó en una provincia donde se había mantenido el control estricto de la vacunación de las terneras durante un gran número de años, lo que corresponde exactamente a lo observado en Estados Unidos (28). Por tanto, la vacunación disminuye la prevalencia de la enfermedad y las recontaminaciones a niveles tales que disminuyen y se hacen más rentables los sacrificios. Respecto de este punto, la vacunación por vía conjuntiva (47) debería permitir resultados aún más favorables, ya que permite la revacunación aumentando así el nivel de protección.

Desde hace algunos años se procede a la vacunación de los adultos a fines de controlar el problema de la recontaminación en los rebaños en vías de saneamiento. En este caso se utiliza una dosis reducida de B19, ya sea por vía subcutánea (42) (Cuba, Estados Unidos, Nueva Zelanda, República Sudafricana, Sri Lanka), o bien por vía conjuntiva (Francia, Italia).

Quando se utiliza el sistema mixto de control, la cuestión que se plantea es saber cuando debe cesar el empleo de la vacunación y se debe concluir la erradicación mediante el sacrificio de los últimos reaccionantes. Existe un umbral de prevalencia por debajo del cual la vacunación, por el sacrificio de terneras indemnes pero que presentan anticuerpos vacunales residuales que implica, es más costosa que el beneficio que se consigue. Este problema se plantea en Gran Bretaña que

piensa que probablemente ha sacrificado un número mayor de terneras que el necesario. Los expertos de la O.M.S. proponen del 1 al 5% de rebafios como umbral de prevalencia, e incluso el 0,5% en condiciones difíciles (grandes rebafios). Una vez más la determinación del umbral debe hacerse en función de las condiciones de explotación.

3. Vacunación

La vacuna 45/20 (37) se utiliza además de la B19 en Etiopía, Francia y Malawi y la vacuna H38 (47) en Arabia Saudita. Estas dos vacunas presentan la ventaja de ser muertas, de mejor conservación, en principio, que una vacuna viva. La vacuna 45/20 es no aglutinógena pero plantea problemas de control y de eficacia, variable en función del modo de preparación. La vacuna H38, muy eficaz, tiene el gran defecto de ser muy aglutinógena, lo que plantea problemas insolubles de diagnóstico.

Por ello, no es sorprendente que se utilice la vacuna B19 (8) en todos los países que realizan la vacunación, salvo en Arabia Saudita. Esta vacuna ha sido objeto, desde los años 30 y todavía en la actualidad, de un gran número de estudios y publicaciones sobre su eficacia (28, 33, 34, 36), modalidades de empleo (42, 46) y control (45), lo cual explica el consenso que suscita.

La resistencia inducida por la B19 no es completa, pero sería constante a lo largo de la vida útil de las vacas (34, 36). Esta opinión se ha puesto en duda posteriormente. Su utilización ha permitido a numerosos países disminuir la prevalencia de la enfermedad hasta niveles en los que la erradicación se hace factible (28), como lo demuestran los resultados obtenidos en Argentina, Chile y Uruguay.

El inconveniente de la utilización de la B19 es la persistencia de anticuerpos vacunales en 1-2% de los animales, aunque hayan sido vacunados muy jóvenes (4 meses). Curiosamente en ningún informe se menciona este inconveniente, salvo en el de Gran Bretaña que estima haber sacrificado más animales de los necesarios, por esta razón.

Dos nuevos procedimientos de vacunación permiten paliar este último inconveniente. La vacunación por vía subcutánea con dosis reducidas (42) se destina principalmente a adultos cuando se producen recontaminaciones muy frecuentes que dificultan la erradicación. Las dosis utilizadas son de 3×10^8 (Nueva Zelanda) o de 5 a 10×10^8 (Estados Unidos). En las terneras, la inyección de las dosis clásicas de 60 a 90×10^8 entre los 4 y 8 meses se convierten en 3×10^8 a 3×10^7 que se inoculan entre los 4 y 12 meses en Estados Unidos y Canadá (en las terneras que han de ser vendidas a Estados Unidos). La respuesta serológica disminuye en intensidad y duración. A veces es necesario recurrir a la prueba

del Rivanol para diferenciar los anticuerpos vacunales de los de infección. La inmunidad obtenida es equivalente a la que se alcanza con la vacunación clásica.

La vacunación conjuntival con 5×10^9 de B19 (47) debe realizarse en dos veces con un intervalo de 6-12 meses. Los anticuerpos vacunales desaparecen completamente en un período de tiempo máximo de 4 meses, con independencia de la edad de los animales y de las vacunaciones anteriores efectuadas con B19. Este procedimiento anula, por tanto, los problemas inherentes a la edad de la vacunación. En caso de urgencia, se puede utilizar como revacunación en animales que han recibido la vacunación clásica a la edad de 4 a 8 meses. Induce una inmunidad superior a la obtenida por la vacunación clásica, cuando con ella se procede a una revacunación.

En todas las enfermedades contagiosas, la protección de un colectivo de animales está en función del porcentaje de animales vacunados, y en algunos casos, un porcentaje del 60 al 80% es suficiente para impedir la difusión de la enfermedad. Esto no parece cumplirse en el caso de la brucelosis, debido al carácter altamente difusivo de la enfermedad. Los estudios de Vandervagen et al. (53) demuestran que una falla aún poco importante en el número de animales vacunados permite un desarrollo rápido de la enfermedad.

Finalmente, la vacunación debe practicarse de forma regular durante un período de tiempo suficientemente largo para obtener una disminución de las tasas de prevalencia tal que permita que el control sanitario, de forma aislada, sea técnica y económicamente factible. Es posible que la vacunación casi exhaustiva de una población bovina por el método conjuntival (por supuesto incluyendo una revacunación que refuerce y prolongue la inmunidad) conduzca, por sí misma, a un control casi total de la enfermedad en los próximos años.

Se tiende a abandonar la bacteria entera, utilizada tanto viva como muerta en la producción de vacunas. La investigación se centra en la actualidad en el aislamiento de la fracción bacteriana e incluso de los antígenos de dicha fracción, responsables de la protección, es decir, la vacuna "química". Yendo más lejos habría que lograr caracterizar los determinantes (epitopos) de estos antígenos protectores. Si son de naturaleza polisacárida, se obtendrá por acoplamiento con una macromolécula, una vacuna semi-sintética. Si son de naturaleza proteica, el conocimiento de la secuencia de aminoácidos en los péptidos obtenidos por fraccionamiento enzimático permitirá conseguir una vacuna "sintética", también por medio del acoplamiento con una macromolécula. Finalmente, se podrían obtener vacunas por ingeniería genética mediante el clonaje de los genes de los antígenos protectores y su inclusión en una bacteria no patógena (*E. coli*). En cualquier caso, se buscará una distinción clara entre anticuerpos vacunales y de infección.

II. BRUCELOSIS DE LOS PEQUEÑOS RUMIANTES PRODUCIDA POR B. MELITENSIS

La infección por B. melitensis se encuentra menos difundida en el mundo que la infección por B. abortus. Se constata su presencia en doce países: Arabia Saudita, Argentina, Chipre, Etiopía, Francia, Grecia, Italia, Nigeria, Portugal, Sudán, URSS y Yugoslavia; once países indican su inexistencia: Australia, Canadá, Cuba, Finlandia, Gran Bretaña, Nueva Zelanda, República Democrática Alemana, República Sudafricana, Suiza, Estados Unidos y Sri Lanka. Dieciséis países no indican la presencia o ausencia de la enfermedad.

El diagnóstico es obligatorio y generalizado en 8 países y parcial en 3. Se utilizan las pruebas ALT, FC y TRB, al igual que para los bovinos. Se considera la FC como la prueba más sencilla y específica, aunque el Rosa de Bengala, que se estima menos sensible, también es de amplia utilización por su sencillez de manejo y su bajo costo. Según los diferentes países, la FC se considera ya sea como método principal de diagnóstico (Chipre) o como método complementario del TRB (Francia). La ALT también se sigue utilizando bastante, aunque se le considera el método menos sensible (41, 54), sobre todo cuando se trata de brucelosis crónicas (31) pese a que en este caso se realiza en solución de NaCl al 5%, en lugar de 0,85% o con un antígeno preparado con B. melitensis(1).

Estos tres métodos empleados individualmente o de manera simultánea dan buenos resultados a nivel de rebaño, pero no permiten identificar individualmente más del 70% de los animales infectados (41). Ello explica las dificultades que presenta el diagnóstico y, como consecuencia, las que presenta la erradicación.

El diagnóstico alérgico (22) se utiliza en 3 países (Chipre, Suiza, URSS). Resulta eficaz para el control colectivo, y permite evitar gran cantidad de tomas de sangre y trabajo laboratorial. Si bien tampoco permite la identificación del total de los animales infectados problema al que se enfrentan también las pruebas serológicas, el diagnóstico alérgico.

El control sanitario estricto, llevado a cabo de forma competente y con diligencia en Chipre, ha dado resultados altamente satisfactorios. Así la infección se redujo desde 1973 a 1984 en un 99,7% en los ovinos y en un 99,4% en los caprinos. Aparentemente se trata de uno de los pocos países que habrá conseguido la erradicación de la brucelosis de los pequeños rumiantes basándose exclusivamente en el control sanitario. También se han alcanzado resultados importantes en determinadas áreas de otros países, con este mismo sistema de control. Pese a ello, la brucelosis de los pequeños rumiantes parece más rebelde a esta forma de intervención, con una contagiosidad más elevada y un control individual de la enfermedad menos satisfactorio que en el caso de los bovinos.

Los demás países en los que se ha puesto en evidencia la infección por B. melitensis practican la vacunación con la cepa Rev. 1 obteniendo muy buenos resultados (Grecia). La cepa vacunal Rev. 1 (18) confiere realmente una inmunidad excelente (3, 17, 31). Su utilización habría permitido la eliminación de la enfermedad en grandes rebaños de ovino existentes en la URSS (52). Sin embargo, la vacunación con Rev. 1 presenta dos inconvenientes (4):

- a) produce sensibilización durante largos períodos de tiempo, lo que dificulta el diagnóstico alérgico posterior.
- b) provoca la formación de anticuerpos que desaparecen generalmente muy rápidamente en la mayoría de los animales, pero que en ocasiones permanecen durante largo tiempo en algunos de ellos. Este último inconveniente se puede paliar mediante la administración de la vacuna por vía conjuntival (24).

III. EPIDIDIMITIS CONTAGIOSA OVINA PRODUCIDA POR BRUCELLA OVIS

Se ha señalado esta enfermedad en ocho países: Australia, Canadá, Estados Unidos, Francia, Nueva Zelanda, República Sudafricana, Rumania y Uruguay. Los informes de los otros países no la mencionan. Hasta este momento no se han constatado casos de contaminación humana, por lo que la lucha contra esta enfermedad está justificada únicamente por la incidencia negativa que tiene sobre el ganado ovino (baja de fertilidad en los machos, algunos abortos).

El diagnóstico se efectúa por FC o inmunodifusión en gel (29). Sin embargo esta prueba parece tener poca sensibilidad, por lo que en la actualidad se investiga para poner a punto la prueba ELISA (50, 55). El diagnóstico clínico por palpación debe ir asociado a pruebas serológicas. La investigación de B. ovis se efectúa fácilmente en medio de Brown (7), a partir del semen o de trozos de órganos y ganglios extraídos en el matadero.

El solo control sanitario se aplica actualmente en Australia, Canadá y Rumania. Resulta difícil, pero es eficaz (49). El resto de los países aplica un control mixto, utilizando vacunas a base de B. ovis muertas (38) (Estados Unidos, Nueva Zelanda) o Rev. 1 (23, 25) (República Sudafricana, Francia).

CONCLUSION

La lectura de los 39 informes nos demuestra la universalidad e importancia de la brucelosis. Todos los países están implicados, los que tienen rebaños infectados y también los que no los tienen, ya que deben mantener una vigilancia ininterrumpida. En estos últimos, la menor falla en el diagnóstico o en el control del movimiento de los animales puede comprometer su estado indemne.

Para el diagnóstico serológico las pruebas más utilizadas son el TRB, el RT y la FC. Esta elección se justifica: los expertos reconocen la eficacia, es decir, la sensibilidad y especificidad de estas tres pruebas y particularmente de la FC. Desgraciadamente, esta última es una prueba delicada y larga que exige laboratorios equipados y personal competente, lo que impide que pueda ser regularmente empleada como prueba de base. Así pues la FC se emplea generalmente como un test complementario, de referencia, utilizado sólo en caso de resultados dudosos en otras pruebas. Por el contrario, el TRB y el RT son muy fáciles de ejecutar, su precio de costo es módico y no precisan equipos sofisticados. Por ende, son las más apropiadas para el diagnóstico preventivo colectivo.

El antígeno del Rosa de Bengala plantea sin embargo algunos problemas. El antígeno actual, preparado a partir de la cepa *B. abortus* 99 (A > M) parece detectar con dificultad los anticuerpos de infección por *Brucella* (M > A) (*B. abortus* biovar 5, *B. melitensis* biovar 1 (12)). Actualmente se investiga el problema de la o las cepas de preparación del (o de los) antígenos, y del suero-patrón de control.

La ALT se va abandonando desde que existe el TRB. Este hecho también parece tener una justificación. La prueba es menos sensible y específica que las tres anteriores. Curiosamente, se observa cierta tendencia a mantenerla, sobre todo en países que han conseguido la erradicación de la enfermedad, y que la emplearon regularmente aunque casi siempre asociada a la FC o RT.

Las otras pruebas (test de Rivanol, EDTA...) o las que se encuentran actualmente en estudio (ELISA, IHLT...) se emplean mucho menos y a menudo sólo en casos particulares (rebaños, animales con problemas). Se destinan sobre todo a diferenciar los anticuerpos vacunales o no específicos de los producidos por la infección y a aumentar la sensibilidad del diagnóstico. Su empleo se debe a nuevas necesidades que aparecen en los estadios finales de la erradicación o una vez lograda ésta.

El diagnóstico alérgico se emplea poco. Sin embargo ha dado buenos resultados en Chipre. Debería utilizarse con mayor frecuencia, sobre todo en los pequeños ruminantes.

La bacterioscopia, demasiado imprecisa, se vuelve cada día más obsoleta. Por el contrario, se utilizan y con mayor frecuencia nuevos medios selectivos y nuevos sistemas de identificación y tipificación de Brucellas, con el fin de llegar a un diagnóstico más preciso que pueda servir de base al desarrollo de investigaciones epidemiológicas.

En espera de la vacunas futuras que ya se han indicado anteriormente y con el abandono casi general de las vacunas muertas 45/20 y H38, prácticamente las únicas que se utilizan son la B19 y Rev. 1. El interés por el empleo de estas vacunas ha aumentado con el desarrollo de métodos modernos de vacunación, a dosis reducidas o por vía conjuntival, que hacen su utilización más compatible con las exigencias diagnósticas y más eficaz para proceder a las posibles inmunizaciones de revacunación por vía conjuntival.

Todavía existen numerosas lagunas en el conocimiento de la brucelosis. Numerosos equipos de científicos continúan investigando en este campo. También se acusan problemas relativos a la estandarización respecto de los antígenos de diagnóstico, de la vacunas, su forma de preparación y de control que es preciso resolver.

Los avances científicos realizados en estos últimos años han mejorado los sistemas de lucha contra la brucelosis. De esta forma cada país se encuentra mejor protegido que antes contra una enfermedad que siempre es difícil de dominar.

BIBLIOGRAFIA

1. ALTON G.G. (1970).- Caprine brucellosis. FAO/WHO expert committee on brucellosis, Doc. BRUC/WP/707.
2. ALTON G.G. (1980).- The use and interpretation of the complement fixation test in the diagnosis of animal brucellosis. Doc. WHO/BRUC. 80.355.
3. ALTON G.G. & ELBERG S.S. (1967).- Rev. 1 Brucella melitensis vaccine. A review of ten years study. Vet. Bull., 37, 793-800.
4. ALTON G.G., FENSTERBANK R., PLOMMET M. & VERGER J.M. (1984). La brucellose de la chèvre. Les maladies de la chèvre. Niort, 9-11 octobre 1984, 69-91, INRA, Paris, France.
5. AMOSSON S.H. (1983).- Economic and epidemiologic implications of national bovine brucellosis programs. A case study. Thesis Ph.D. Texas A.M. University.
6. BHONGBHIBHAT N., ELBERG S.S. & CHEN T.H. (1970).- Characterization of Brucella skin test antigens. J. Inf. Dis., 122, 70-82.
7. BROWN G.M., RANGER C.R. & KELLEY D.J. (1971).- Selective media for the isolation of Brucella ovis. Cornell. Vet., 61, 265-280.
8. BUCK J.M. (1930).- Studies on vaccination during calfhood to prevent bovine infectious abortion. J. Agric. Res., 41, 667-689.
9. CORBEL M.J. (1972).- Identification of the immunoglobulin class active in the Rose Bengal plate test for bovine brucellosis. J. Hyg., Camb., 70, 779-795.
10. CORBEL M.J. (1973).- Studies on the mechanism of the Rose Bengal plate test for bovine brucellosis. Br. Vet. J., 129, 157-166.
11. CORBEL M.J. (1982).- Serological cross-reactions between Bruce - lla species and organisms of other genera. Doc. WHO/BRUC/82.372.
12. CORBEL M.J. (1985).- Comparison of Brucella abortus and Brucella melitensis antigens for the Rose Bengal Plate Test on sera from cattle infected with Brucella abortus biovar 5. Vet. Rec., 117, 385-386.
13. DAVIES G. (1971).- The Rose Bengal test. Vet. Rec., 88, 447-449.

14. DOMENECH J., COULOMB J. & LUCET P. (1982).- La brucellose bovine en Afrique Centrale, IV. Evaluation de son incidence économique et calcul du coût-bénéfice de opérations d'assainissement. Rev. Elev. Méd. Vét. Pays trop., 35, 113-124.
15. DOUTRE M.P., FENSTERBANK R. & SAGNA F. (1977).- Etude de la brucellose bovine dans un village de Basse-Casamance (Sénégal). I. Diagnostic sérologique et bactériologique, Rev. Elev. Méd. Vét. Pays trop., 30, 345-351.
16. DUBRAY G. (1984).- Antigens of diagnosis significance in Brucella. In: Brucella melitensis, Brussels, Seminar in the CEC program of coordination of research on animal pathology, Martinus Nijhoff Pub., 123-138. Dordrecht.
17. ELBERG S.S. (1981).- Rev. I Brucella melitensis vaccine. II. 1968-1980. Vet. Bull., 51, 67-73.
18. ELBERG S.S. & FAUNCE F. (1975).- Immunization against Brucella infection. VI. Immunity conferred on goats by a non-dependent mutant from streptomycin dependant mutant strain of Brucella melitensis. J. Bact., 73, 211-217.
19. FARRELL I.D. (1974).- The development of a new selective medium for the isolation of Brucella abortus from contaminated sources. Res. Vet. Sci., 16, 280-286.
20. FENSTERBANK R. (1973).- Appréciation de la valeur de la réaction au Rose Bengale sur les sérums de génisses infectées expérimentalement avec Brucella abortus. 41ème Session Générale du Comité de l'O.I.E. Rapport No. 109.
21. FENSTERBANK R. (1977).- Diagnostic allergique de la brucellose bovine.
2. Utilisation du test allergique dans les troupeaux infectés. Ann. Rech. Vét., 8, 195-201.
22. FENSTERBANK R. (1982).- Le diagnostic allergique de la brucellose. Bull. Acad. Vét. France, 55, 47-52.
23. FENSTERBANK R., PARDON P. & MARLY J. (1982).- Efficacy of Brucella melitensis Rev. 1 vaccine against Brucella ovis infection in rams. Ann. Rech. Vét., 13, 185-190.
24. FENSTERBANK R., PARDON P. & MARLY J. (1985).- Vaccination of ewes by a single conjunctival administration of Brucella melitensis. Rev. 1 vaccine. Ann. Rech. Vét., 16, 351-356.

25. GARCIA-CARRILLO C. (1981). Protection of rams against *Brucella ovis* infection by *Brucella melitensis* Rev. 1 vaccine. Zentralblat Veterinaer Med., B, 28, 425-431.
26. GAUMONT R. (1965).- Sur le manque de signification des réactions d'agglutination de faible titre en matière de brucellose. Bull. Off. int. Epiz., 63, 1047-1054.
27. HUGH JONES M.E., ELLIS P.R. & FELTON M.R. (1975).- An assessment of the eradication of bovine brucellosis in England and Wales. Department of Agriculture and Horticulture, Early Gate, University of Reading, Reading, U.K.
28. JONES L.M., DUBRAY G. & MARLY J. (1975).- Comparison of methods of diagnosis of *Brucella ovis* in rams. Ann. Rech. Vét., 6, 11-22.
29. JONES L.M. & BERMAN D.T. (1976).- The role of living vaccine in prophylaxis. Int. Symp. Brucellosis, Rabat 1975. Develop. Biol. Standard., 31, 328-334. (S. Karger, Basel).
30. KELLAR J., MARRA R. & MARTIN W. (1976).- Brucellosis on Ontario: a case control study. Can. J. Comp. Med., 40, 119-128.
31. KOLAR J. (1964).- Diagnosis and control of brucellosis of small ruminants. Prev. Vet. Med., 2, 215-225.
32. LEVIEUX D. (1974).- Immunoglobulines bovines et brucellose. II Activité des IgG1, IgG2 et IgM du sérum dans les réactions d'agglutinations, de Coombs, de fixation du complément et dans le test au Rose Bengale. Ann. Rech. Vét., 5, 343-353.
33. MANTHEI C.A. (1968).- Application of research to bovine brucellosis control and eradication programs. J. Dairy Sci., 51, 1115-1120.
34. MANTHEI C.A., MINGLE C.K. & CARTER R.W. (1951).- Duration of immunity to brucellosis induced in cattle with strain 19 vaccine, Proc. Am. Vet. Med. Assoc. 88th Ann. Meet., 128-141.
35. Mc CAUGHEY W.J. (1972).- *Brucella* milk ring test on churn samples: a three-year study. Vet. Rec., 90, 6-10.
36. Mc DIARMID A. (1957).- The degree and duration of immunity in cattle resulting from vaccination with S.19 *Brucella abortus* vaccine and its implication in the future control an eventual eradication of brucellosis. Vet. Rec., 69, 877-879.

37. Mc EWEN A.D. & SAMUEL J. (1955).- Brucella abortus: heat stable protective antigen revealed by adjuvant and present in a rough variant, strain 45/20: immunization experiments in guinea-pigs. Vet. Rec., 67, 546-548.
38. Mc GOWAN B. & HARROLD D.R. (1979).- Epididymitis in rams: studies on vaccine efficacy. Cornell Vet., 69, 73-76.
39. NICOLETTI P. (1969).- Further evaluations of serological test procedures used to diagnose brucellosis. Am. J. Vet. Res., 30, 1811-1816.
40. NICOLETTI P. (1980).- The epidemiology of bovine brucellosis. Adv. Vet. Sci, Comp. Med., 24, 69-98.
41. NICOLETTI P. (1982).- Problems in the control of caprine brucellosis. Proc. 3rd Int. Conf. Goat Prod. Dis. Tucson (U.S.A.), 433-434.
42. NICOLETTI P., JONES L.M. & BERMAN D.T. (1978).- Adult vaccination with standard and reduced doses of Brucella abortus strain 19 vaccine in a dairy herd infected with brucellosis. J. Am. Vet. Med. Assoc., 173, 1445-1449.
43. NIELSEN K. & DUNCAN R.J. (1982). Demonstration that nonspecific bovine Brucella abortus agglutinin is EDTA-labile and not calcium-dependent. J. Immunol., 129, 366-369.
44. PLACKETT P. COTTEW G.S. & BEST S.J. (1976).- An indirect hæmoly-sis test (IHLT) for bovine brucellosis. Austr. Vet. J., 52, 136-140.
45. PLOMMET M. & BOSSERAY N. (1977). Le contrôle des vaccins antibrucelliques par le dénombrement des Brucella dans la rate de souris, vaccinées ou non, inoculées par voie intrapéritonéale. J. Biol. Standard., 5, 261-274.
46. PLOMMET M. & FENSTERBANK R. (1979).- La vaccination antibrucellique des bovins avec la souche B19 administrée par voie conjonctivale. Bull. Group. Tech. Vét., 79 - 68 - 164.
47. RENOUX G., ALTON G.G. & AMARASINGHE A. (1957).- Etudes sur la brucellose ovine et caprine. XI. Comparaison chez la chèvre suédoise de la valeur immunisante d'un vaccin tué en excipient irrésorbable et de deux vaccins vivants. Arch. Inst. Pasteur, Tunis, 34, 3-17.

48. ROEPKE M.H. & STILE F.C. (1970).- Potential efficiency of milk ring test for detection of brucellosis. Am. J. Vet. Res., 31, 2145-2149.
49. RYAN F.B. (1964).- Eradication of ovine brucellosis. Austr. Vet. J., 40, 162-165.
50. SPENCER T.L. & BURGESS G.W. (1984).- Enzyme-linked immunosorbent assay for Brucella ovis specific antibody in ram sera. Res. Vet. Sci., 36, 194-198.
51. STEMSHORN B.W. (1984).- Recent progress in the diagnosis of brucellosis. 3rd. Int. Symp. Brucellosis, Algiers, 1983. Develop. Biol. Standard., 56, 325-340. S. Karger, Basel, 1984.
52. ULASEVITCH P.S., ALIVERDIEV A.A. & YUSUPOV O.Y. (1975).- Immunization of sheep with Brucella melitensis Rev. 1 vaccine. Veterinariya, Moscow, 12, 57-59.
53. VANDERWAGEN L.C., SHARP J. & MEYER M.E. (1977).- A retrospective study on the relationships of vaccination: status of reactor animals management practices at calving and herd size to eradicating brucellosis in 79 dairy herds. Proceedings U.S. Animal Health Assoc., 83-96.
54. WAGHELA S., WANDERA J.G. & WAGNER G.G. (1980).- Comparison of four serological tests in diagnosis of caprine brucellosis. Res. Vet. Sci., 28, 168-171.
55. WORTHINGTON R.W., STEVENSON B.J., DE LISLE G.W. (1985). Serology and semen culture for the diagnosis of Brucella ovis infection in chronically infected rams. N.Z. Vet. J., 33, 84-86.

TECNICAS E INTERPRETACION DE LAS PRUEBAS DE SERO-AGLUTINACION PARA EL DIAGNOSTICO DE LA BRUCELOSIS BOVINA

Nota Técnica No. 2, Rev. 1

Abril de 1968

Centro Panamericano de Zoonosis
Oficina Sanitaria Panamericana

El objeto de esta nota técnica es el de contribuir a la uniformación de los procedimientos de las pruebas de sero aglutinación y su interpretación para el diagnóstico de la brucelosis bovina, de acuerdo a las recomendaciones de los Congresos Interamericanos de Brucelosis y de la Comisión Técnica Regional de Sanidad Animal. El patrón usado en estas técnicas - que tuvo su origen en el Departamento de Agricultura de EE.UU. - conforma el estándar internacional, según la Organización para la Agricultura y la Alimentación (FAO), la Organización Mundial de la Salud (OMS) y la Oficina Internacional de Epizootias (OIE).

Como se sabe, hay dos métodos para realizar la prueba de seroaglutinación: 1) en tubos o prueba lenta, y 2) en placa o prueba rápida. Los antígenos para las pruebas en tubo y en placa se preparan de acuerdo a una técnica standard*, en tal forma que sus resultados concuerden el uno con el otro en las distintas diluciones. Es indispensable que para las pruebas que se describen a continuación se usen solamente antígenos standardizados. Sólo así los resultados de las pruebas tendrán valor. Por otra parte, debe observarse una adherencia completa a todo detalle en el desarrollo de las pruebas.

METODO PARA LA PRUEBA EN TUBO

En el diagnóstico de rutina de sueros bovinos se usa el siguiente sistema de diluciones por medio de una pipeta graduada, se colocan cantidades de suero claro en cada uno de los 4 tubos de aglutinación, agregando luego el antígeno a cada tubo para obtener diluciones de 1/25, 1/50, 1/100 y 1/200, respectivamente.

Si se desea determinar el punto final de aglutinación de un suero, se debe emplear otro sistema de diluciones. Este consiste en establecer series de 10 a 12 tubos, agregando cantidades dobles de suero y de antígeno al primer tubo en una proporción de 1/25 y a los tubos restantes cantidades simples de antígeno; la mitad de la mezcla del primer tubo se traspasa al segundo, del segundo al tercero y así sucesivamente hasta llegar al último tubo, descartándose de éste los 2 ml de mezcla que sobran.

La lectura de las pruebas se hace después de 40 a 48 horas de incubación a 37.5°C. La aglutinación del antígeno bajo la forma de grumos y su

* Esta se describe en la Nota Técnica No. 3.

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 las aglutininas del suero, con las brucelas del antígeno.

El título final de aglutinación del suero es el dado por la dilución del último tubo en el que se presenta una clarificación evidente, manteniéndose los grumos firmes a pesar de una agitación leve. Si esto ocurre por ejemplo, en los 3 primeros tubos solamente, el título del suero es de 1/100.

a) Dilución del antígeno

El antígeno a emplear ha sido standardizado previamente y mantenido en concentración de 4.5% de brucelas. En la prueba se usa al 0.045%, por lo que debe diluirse 100 veces en solución salina al 0.85% que contiene 0.5% de fenol. Se recomienda hacer esta dilución doce horas antes de su uso.

b) Instrumental necesario

Tubos de serología tipo Wassermann de 13 mm por 100 mm, de vidrio claro y completamente limpios.

Gradillas de alambre para sostener tubos: un tamaño conveniente es el que sirve para 15 pruebas de 4 a 6 tubos cada una.

Gradillas para acomodar muestras de sangre: construidas de preferencia para acomodar 15 muestras por hilera. Esta coordinación entre gradillas simplifica el proceso de las pruebas.

Pipetas de 0.2 ml. en graduaciones de 0.01 ml o especialmente graduadas (pipetas de Bang) para 0.08; 0.04; 0.02; 0.01 y 0.005 ml, respectivamente. Si es necesario se puede utilizar una pipeta calibrada para varias pruebas, siempre que se la enjuague y se la seque entre cada prueba tanto como sea posible.

Dosificadores automáticos (aunque no imprescindibles): de 2 cc de capacidad, provistos de una aguja de 2,5 a 3 pulgadas de largo y de calibre 14-16. A falta de éstos se puede hacer la distribución de antígeno con una pipeta de 10 ml de capacidad.

Estufas: para incubar a 37°C.

Refrigeradora: para almacenar muestras de sangre durante las pruebas.

c) Procedimiento de rutina para diluciones

Las muestras de sangre deben ser numeradas claramente. Después de la centrifugación para separar el suero del coágulo, los tubos de sangre se colocan en orden en los soportes. Se numeran los soportes de los tubos para la prueba y el primer tubo de cada hilera, en filas de cuatro, de manera que concuerden con las muestras de suero. Se extrae por succión, una cantidad de suero ligeramente mayor a la que se requiere para la prueba; se deja correr el exceso en el tubo de suero hasta que la base del menisco en la luz de la pipeta toque la línea de la graduación requerida. La pipeta se inserta en el primer tubo y se depositan 0.08 ml del suero en el fondo del mismo tubo, se retira 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. Por este método no se pueden efectuar con exactitud mayores diluciones. Se procede en igual forma con las otras muestras hasta completar la serie. No deben utilizarse pipetas cuyas puntas estén rotas.

Se distribuyen, con pipeta, 2 ml del antígeno (0.045% de brucelas) en cada uno de los tubos con suero*. En esta forma las diluciones del suero corresponden a 1/25, 1/50, 1/100 y 1/200, respectivamente. Los soportes con los tubos se agitan levemente para asegurar la mezcla del suero con el antígeno, y se llevan a la estufa a 37,5°C. Las muestras de sangre se llevan a la refrigeradora hasta que se haga la lectura final de todas las pruebas.

d) Procedimiento de diluciones para obtener título final

Quando se desea obtener títulos finales de muestras de suero, se aplica la siguiente técnica: se preparan soportes porta-tubos sosteniendo filas de 10 a 12 tubos y se numeran debidamente para que concuerden con las muestras de sangre.

Con una pipeta de 0.16 ml (pipeta de Bang) se depositan 0.16 ml de suero claro en el primer tubo, y 4 ml de antígeno para la prueba lenta. En los tubos siguientes se colocan solamente 2 ml de antígeno. Después de mezclar con la pipeta, se retiran del primer tubo 2 ml que se colocan en el segundo tubo, y luego que se han mezclado nuevamente se hace con los tubos siguientes, descartándose los 2 ml que sobran en el último tubo. Se obtienen de esta manera las siguientes diluciones: 1/25, 1/50, 1/100, 1/200, 1/400, 1/800.

* Para esto la pipeta de 10 cc es perfectamente adecuada, pero cuando se examina un número grande de muestras es muy útil el dosificador automático para distribuir el antígeno.

e) Incubación

La incubación tiene por objeto obtener en el tiempo más corto posible el máximo de aglutinación. Se ha determinado que la incubación a 37,5°C durante 40 a 48 horas, es suficiente para obtener el máximo de aglutinación en un suero de bajo contenido de aglutininas, 1/400 ó menos. Este período de incubación es suficiente para el diagnóstico de rutina.

f) Lectura de las pruebas

La lectura debe hacerse contra un fondo negro opaco con una fuerte luz que atraviese los tubos. Las fuentes extrañas de luz se deben reducir. Las determinaciones se deben basar tanto en la claridad de las mezclas como en el grado de aglutinación del antígeno y en la firmeza de los grumos al agitar suavemente el tubo.

El grado de aglutinación en cada una de las distintas diluciones puede clasificarse como completo (+), incompleto (I) o negativo (-). Los límites de exactitud inherentes a la prueba no justifican una clasificación más detallada para el diagnóstico de rutina.

Aglutinación completa es aquella en que el líquido de la mezcla suero-antígeno aparece claro y la agitación suave no rompe los grumos.

Aglutinación incompleta es la que muestra la mezcla suero-antígeno parcialmente clara y una suave agitación no rompe los grumos.

Aglutinación negativa es aquella en que la mezcla suero-antígeno no aparece clara y una suave agitación no revela grumos.

METODO PARA LA PRUEBA EN PLACA

En manos experimentadas, empleando la técnica standard, la prueba en placa proporciona resultados comparables a la de tubo. Ocasionalmente se puede encontrar un suero que no reacciona en el mismo grado en la prueba en tubos o viceversa. La razón de esta variación no es bien conocida. Como el antígeno para la prueba en placa se ha ajustado a una técnica definida, cualquier desviación en el montaje de la prueba dará, naturalmente, resultados inexactos.

a) Instrumental necesario

Caja de lectura de unos 45 cms de largo por 35 cms de ancho y 15 cms de profundidad, provista de una placa de vidrio marcada con 60 cuadrados de 3,5 cm² en cinco filas de 12, que se sostiene cerca de la parte superior

de la caja de manera que pueda quitarse y ponerse fácilmente. La caja debe estar iluminada de modo que la luz incida oblicuamente y por debajo, en la mezcla de suero y antígeno. Esto se consigue utilizando un tubo de luz fluorescente o en su defecto dos bombillas eléctricas comunes cubiertas parcialmente. El interior de la caja debe pintarse de negro opaco. La caja estará provista de una tapa de vidrio para evitar que la mezcla se evapore con demasiada rapidez.

Pipetas, se usan las mismas descritas para la prueba en tubo.

Gotero de antígeno: debe calibrarse de tal manera que distribuya exactamente 0.03 ml por gota. Todos los goteros deben probarse cuidadosamente antes de su uso inicial, vertiendo en posición vertical 100 gotas de antígeno en una probeta graduada de 5 ml. Un gotero apropiado debe dar 3 ml por cada 100 gotas. Una aguja de sangría, calibre 14, de 0,5 pulgadas de largo, a la que se le haya limado la punta y colocado una perilla de goma blanda, puede convertirse en un gotero excelente, siempre que se ajuste bien la punta.

Mezclador: para mezclar el suero con el antígeno, se utilizan palillos o un mezclador de alambre grueso doblado en tal forma que cubra una superficie de 15 mm. El mezclador debe ser enjuagado con agua y secado entre cada prueba.

Para pruebas de rutina, en que interesan solamente títulos a partir de 1/50, puede utilizarse una placa de vidrio dividida en cuadros de 3 cm de lado en siete filas de 15. Es preferible utilizar el mezclador de alambre múltiple.

b) Técnica para la prueba en placa

En la caja de lectura se enciende la luz para calentar ligeramente la placa de vidrio antes de empezar a hacer las reacciones. Tanto el suero como el antígeno deben llevarse aproximadamente a temperatura ambiente, por lo que conviene sacar de la refrigeradora el reactivo y las muestras de suero una media hora antes de iniciar las pruebas. Con una pipeta para serología, sostenida en posición oblicua de 45 grados con respecto a la horizontal y tocando la placa de vidrio, se colocan 0.08; 0.04; 0.02; y 0.01 ml de la primera muestra de suero en cuatro casilleros de una misma hilera de la placa. Se agita suavemente el frasco de antígeno para asegurar una suspensión homogénea y con el gotero sostenido en posición vertical, se deja caer una gota de antígeno (0.03 ml) en cada cuadrado con suero.

Empezando por el cuadrado con 0.01 ml de suero, se mezclan bien el suero y el antígeno con un palillo o con el mezclador de alambre por medio de movimientos circulares, abarcando las áreas siguientes:

- 1/25 - 27 mm de diámetro
- 1/50 - 24 mm de diámetro
- 1/100 - 21 mm de diámetro
- 1/200 - 18 mm de diámetro

La placa de vidrio se retira de la caja y se mueve suavemente en forma rotativa para homogenizar bien las mezclas. Se vuelve a colocar la placa en la caja, se cubre con la tapa de vidrio y se apagan las luces para impedir la evaporación excesiva. Cuando no se utilice el antígeno se lo debe guardar en la refrigeradora.

c) Lectura

Las reacciones así montadas deben incubarse durante 98 minutos, antes de proceder a su lectura. La mayoría de las muestras llegan a su punto más elevado de aglutinación en este tiempo.

Tres minutos antes de la lectura, se debe sacar la placa para darle un movimiento suave de rotación, y se la vuelve a colocar en la caja; esto es muy importante. A los 8 minutos, se prenden las luces, inclinando la placa ligeramente para permitir que la mezcla fluya de un lado a otro, mientras se está haciendo la lectura. Las observaciones se hacen mejor contra el fondo negro opaco de la caja. Se hacen solamente 3 clasificaciones siguientes: aglutinación completa (+), incompleta (I) y negativa (-). Las lecturas se interpretan de la misma manera que para el método de la prueba en tubo y de acuerdo con el cuadro que figura más adelante.

Quando se desee determinar el título final del suero, por el método de placa, se puede usar el siguiente procedimiento: se agrega 1 parte de suero a 15 partes de suero bovino negativo; se hacen las mismas mezclas con el suero diluido que con el suero no diluido (0.08; 0.04; 0.02 y 0.01 ml de suero diluido más 0.03 ml de antígeno). De esta manera se obtendrán lecturas comparables con diluciones de 1/400, 1/800, 1/1600 y 1/3200 de la prueba en tubo.

d) Precauciones

Para que los resultados de la prueba en placa sean comparables con los de la prueba en tubo, debe hacerse exactamente como se ha descrito. En tal sentido, insistimos sobre los siguientes factores.

- 1) Para la distribución del suero, sosténgase la pipeta en un ángulo de 45° sobre la línea horizontal. Se ha observado que algunos técnicos de laboratorio sostienen la pipeta en posición casi horizontal con la placa, lo que permite que el suero se adhiera a los lados de la punta de la pipeta.

- 2) No deben utilizarse pipetas de bocas anchas o rotas.
- 3) Las gotas del antígeno deben dejarse caer en posición vertical. Si el gotero es mantenido en ángulo, o si se hace un movimiento como para tirar la gota, podrá variar la cantidad que caiga.
- 4) La mezcla del antígeno con el suero debe empezarse con la dilución más alta (1/200 si se utilizan 4 diluciones) y la extensión de la mezcla deberá graduarse desde un diámetro de 18 mm hasta 27 mm.
5. La mezcla debe ser completa y homogénea. Cuando la mezcla no es completa, las concentraciones más altas de aglutininas pueden causar una aglutinación parcial.
6. La luz de la caja de lectura debe apagarse después de que la mezcla esté terminada y la caja deberá cubrirse con su tapa de vidrio. En tiempo caluroso, el calentamiento preliminar de la placa de vidrio no es necesario. Si se deja prendida la luz puede producirse una evaporación excesiva, lo que dificulta o imposibilita la interpretación de los resultados.

a) Aglutinaciones falsas

En raras ocasiones se puede encontrar un suero bovino que aglutina aparentemente en diluciones de 1/25 ó 1/50 antes de la rotación de la placa para la lectura de las pruebas; al hacerse la rotación de la placa, los grumos se dispersan completamente para dar una lectura negativa, y después de 1 minuto ó 2, los grumos pueden volver a aparecer. Este fenómeno debe interpretarse como una falta aglutinación

FENOMENOS DE ZONA

En ciertas ocasiones, puede ocurrir que se encuentre aglutinación en las diluciones más altas, pero no en las más bajas. Esta inhibición en las diluciones bajas es llamada "fenómeno de zona", y el motivo exacto del mismo no se conoce. Cualquier prueba hecha por el procedimiento de rutina de diluciones que demuestre una tendencia hacia la aglutinación de 1/100 y 1/200 solamente, deberá hacerse por el procedimiento de diluciones para determinar el título final y así establecer si existe o no el fenómeno de zona.

PRUEBAS CON MUESTRAS HEMOLIZADAS

La presencia de hemólisis en las muestras de suero interfiere en la eficiencia de la prueba de aglutinación en tubo, no sólo porque la coloración turbia puede enmascarar la reacción de aglutinación, sino porque se forma un precipitado, como resultado de la acción del fenol que contiene el antígeno sobre la hemoglobina libre. Es muy difícil distinguir esta falsa precipitación de la aglutinación específica del antígeno.

La existencia de hemólisis excluye el empleo del método de tubo, por que se usan cantidades relativamente abundantes de sustancias preservadoras en esta prueba. En estos casos puede utilizarse, dentro de ciertos límites, la prueba en placa, teniendo en cuenta que en ella hay menor cantidad de sustancias preservadoras. Además, el período más corto de incubación de la prueba en placa tiende a reducir el riesgo de que se forme una falsa aglutinación. Aún así, debe reconocerse mayor grado de exactitud para las pruebas efectuadas con sueros claros que con aquéllos que muestran evidencia de hemólisis.

INTERPRETACION DE LOS RESULTADOS

En el cuadro que sigue se da la interpretación de los resultados de las pruebas de sero-aglutinación, tanto por el procedimiento de tubo, como de placa. El cuadro es una adaptación del 4º Informe del Comité FAO/OMS de Expertos en Brucelosis.

BOVINOS NO VACUNADOS O VACUNADOS A UNA EDAD MAYOR DE 8 MESES

1/25 = 25 UI/ml	1/50=50 UI/ml	1/100=100 UI/ml	1/200=200 UI/ml	Interpretación
-	-	-	-	Negativa
I	-	-	-	Negativa
+	-	-	-	Negativa
+	I	-	-	Sospechosa
+	+	-	-	Sospechosa
+	+	I	-	Sospechosa
+	+	+	-	Positiva
+	+	+	I	Positiva
+	+	+	+	Positiva

BOVINOS DE 30 MESES O MAS VACUNADOS A LA EDAD DE 4 A 8 MESES

1/25=25 UI/ml	1/50=50 UI/ml	1/100=100 UI/ml	1/200=200 UI/ml	Interpretación
-	-	-	-	Negativa
I	-	-	-	Negativa
+	-	-	-	Negativa
+	I	-	-	Negativa
+	+	-	-	Negativa
+	+	I	-	Sospechosa
+	+	+	-	Sospechosa
+	+	+	I	Sospechosa
+	+	+	+	Positiva

I = Aglutinación incompleta, + = Aglutinación completa, UI = Unidades internacionales

Bovinos no vacunados se clasifican como "sospechosos" a partir de una aglutinación incompleta a la dilución 1/50 y como "positivos" a partir de una aglutinación completa a la dilución 1/100.

De acuerdo con el criterio generalmente adoptado, animales por debajo de 30 meses de edad vacunados con la vacuna cepa 19 a la edad de 4 a 8 meses, no son sometidos a la prueba de aglutinación o, si son sometidos no se exige que den resultado negativo. Para que este criterio sea válido es necesario que cada país reglamente la elaboración y uso de la vacuna cepa 19, incluyendo la identificación oficial de los animales vacunados y su certificación.

Animales que hayan sido vacunados a una edad mayor de 8 meses deben ser examinados serológicamente, interpretándose las reacciones en este tipo de animales de la misma manera que para los animales no vacunados.

Cuando los animales tienen más de 30 meses de edad y han sido vacunados oficialmente a la edad de 4 a 8 meses, serán clasificados como "sospechosos" a partir de una aglutinación incompleta al 1/100, y como "positivos" a partir de una aglutinación completa al 1/200.

Nota: El Comité de Expertos en Brucelosis en su 4º Informe recomienda la adopción del sistema de unidades internacionales. Según esta recomendación, todas las comunicaciones en las que figuren datos referentes a pruebas serológicas para determinar aglutininas de *Brucella* deben expresar los títulos en unidades internacionales por mililitro.

El suero patrón internacional anti-*Brucella abortus* (SPIAb) contiene una cantidad de material desecado equivalente a 1.000 unidades internacionales (UI) por mililitro.

Para confirmar los resultados obtenidos, el SPIAb (o suero nacional equivalente), que contiene 1.000/UI ml deberá ensayarse por los mismos métodos. Cuando el título a que se obtenga una aglutinación de 50 por ciento al ensayar el SPIAb por el antígeno y por el método empleado sea 1/500, los títulos 1/20, 1/40, 1/80, 1/160, 1/320, indicarán más o menos, 40, 80, 160, 320, 640 UI/ml, respectivamente. Si el título con el SPIAb fuese 1/1000 y la serie de diluciones utilizadas 1/25, 1/50, 1/100, 1/200, etc., la aglutinación a estos títulos indicaría 25, 50, 100 y 200 UI/ml, respectivamente, como lo es en el caso de antígenos standard y métodos de pruebas standard que se describen en esta nota. Análogamente ocurriría con cualquier otro método.

Los títulos anteriores se refieren a la dilución final del suero en la mezcla del suero y antígeno.



.



